



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**EXPRESSÃO DO ANTÍGENO A1:  
frequência em recém-nascidos**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Márcia Maria Vasconcellos Mikalauscas**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2011**

# **EXPRESSÃO DO ANTÍGENO A1: frequência em recém-nascidos**

**Márcia Maria Vasconcellos Mikalauscas**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Análises Clínicas e Toxicológicas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**

**Orientador: Prof. Dr. José Edson Paz da Silva**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2011**

M636e Mikalauscas, Márcia Maria Vasconcellos  
Expressão do Antígeno A1 : freqüência em recém-nascidos / por  
Márcia Maria Vasconcellos Mikalauscas. – 2011.  
74 f. : il. ; 31 cm

Orientador: José Edson Paz da Silva.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria,  
Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Farmacêuticas, RS, 2011

1. Grupos sanguíneos 2. Subgrupo sanguíneo 3. Tipagem 4.  
Recém-nascidos 5. Lactentes I. Silva, José Edson Paz da II. Título.

CDU 616.15-053.31

Ficha catalográfica elaborada por Simone G. Maisonave – CRB 10/1733  
Biblioteca Central da UFSM

© 2011

Todos os direitos autorais reservados a Márcia Maria Vasconcellos Mikalauscas. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito da autora. E-mail: miklozza@terra.com.br.

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-Graduação de Ciências Farmacêuticas**

A comissão Examinadora abaixo assinada  
aprova a Dissertação de Mestrado

**EXPRESSÃO DO ANTÍGENO A1:  
frequência em recém-nascidos**

elaborada por  
**Márcia Maria Vasconcellos Mikalauscas**

Como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciências Farmacêuticas**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**José Edson Paz da Silva, Dr.**  
(Presidente/Orientador)

**Sandra Trevisan Beck, Dr<sup>a</sup> (UFSM)**

**Marta Palma Alves, Dr<sup>a</sup> (UNIFRA)**

Santa Maria, 31 de agosto de 2011

*Dedico este trabalho às mães e suas crianças,  
que aceitaram participar desta pesquisa;  
e, também, ao meu marido e filha.*

## AGRADECIMENTOS

A *Deus*,  
por permanecer diante de todos nós, iluminando nossa mente, palavras e ações.

Ao Professor Dr. *José Edson*,  
pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho, pelos ensinamentos  
compartilhados, pela incansável dedicação ao Curso de Farmácia.

Aos *Professores e Funcionários do Curso de Mestrado da UFSM*,  
pela cooperação e atenção.

À *Geísa S. Dolci* e à *Fabríola Marchesan*, bolsistas de iniciação científica,  
pelo auxílio nas coletas, dedicação, determinação e amizade.

Aos *funcionários do setor de hematologia do LAC-HUSM*,  
pela seleção das amostras e amizade.

À *Adriana Bortolotto*, hoje colega no Hemocentro de Santa Maria,  
pelo auxílio com material para as análises, ideias e amizade.

À *Solange Capaverde*,  
pela revisão e formatação desta dissertação.

Ao meu marido, *Ricardo Lozza*,  
por toda ajuda, incentivo e compreensão durante a realização deste mestrado.

À minha querida filha, *Juliana*,  
pela paciência nos momentos de ausência.

E, às demais pessoas,  
por contribuírem, de alguma forma, para a realização e a conclusão deste trabalho.

*Devemos aprender durante toda a vida,  
sem imaginar que a sabedoria vem com a velhice.*

*PLATÃO*

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas  
Universidade Federal de Santa Maria

### **EXPRESSÃO DO ANTÍGENO A1: frequência em recém-nascidos**

AUTORA: MÁRCIA MARIA VASCONCELLOS MIKALAUSCAS

ORIENTADOR: JOSÉ EDSON PAZ DA SILVA

Local e Data da Defesa: Santa Maria, 31 de agosto de 2011

Dentro do sistema ABO existem diversos subgrupos sanguíneos: subgrupos A, subgrupos B e subgrupo H, sendo que os mais frequentemente encontrados na prática são os subgrupos A1, A2, A1B e A2B. As células de, aproximadamente, 80% da população adulta do grupo A são A1. Os 20% restantes são A2 ou subgrupos mais fracos. Porém, em recém-nascidos é muito escassa a literatura a respeito de dados quanto à frequência dos subgrupos de "A". A maioria dos lactentes do grupo sanguíneo A parece apresentar-se como pertencente ao subgrupo A2, no nascimento, já que todos os antígenos ABO não estão completamente desenvolvidos neste período. Já a carência de ferro, generalizada nesse grupo etário, muitas vezes discutida pela comunidade científica, é relacionada à desproporção entre a expansão da massa eritróide e o ferro obtido da dieta. Por volta dos quatro meses de idade, os estoques de ferro estão reduzidos pela metade, e o ferro exógeno é necessário para manter a concentração de hemoglobina durante esta fase de rápido crescimento, entre quatro e 12 meses. Os objetivos deste trabalho foram determinar a frequência de recém-nascidos pertencentes aos subgrupos A1 e A2; identificar a frequência da expressão do antígeno A1, no período entre seis e 12 meses de idade, em lactentes inicialmente tipados como pertencentes ao subgrupo A2 e verificar os níveis de hemoglobina para a detecção de anemia nestas crianças. Os resultados mostraram que a frequência de recém-nascidos pertencentes ao subgrupo sanguíneo A1 foi de 67% (319) e para o subgrupo A2 foi de 33% (152), de um total de 471 recém-nascidos pertencentes ao grupo sanguíneo A. Constatou-se uma grande predominância do subgrupo A1, contrariando a literatura que relata a prevalência de subgrupo A2 em recém-nascidos. Em relação à identificação da frequência da expressão do antígeno A1, no período entre seis e 12 meses de idade (n=40), a porcentagem de crianças que passaram a expressar o antígeno A1, depois de estarem com seis meses a um ano de idade foi de 67,5% (27), o restante permaneceu como A2 (13). A verificação dos níveis de hemoglobina nestas crianças (n=71), através do método da cianometá-hemoglobina, resultou em 34% de crianças anêmicas, apontando a presença de anemia para essa faixa etária. Os índices encontrados variaram de 6,56g/dl a 10,8g/dl. Assim, em relação à expressão do antígeno A1 entre seis e 12 meses de idade são necessários mais estudos; e, para a prevalência da anemia é necessário enfatizar, nos programas de saúde pública, medidas de intervenção mais eficazes e controle desse distúrbio nutricional.

**Palavras-Chave:** Subgrupo sanguíneo. Recém-nascidos. Lactentes. Tipagem.



## **ABSTRACT**

Master's Thesis  
Postgraduation Program in Pharmaceutical Sciences  
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

### **ANTIGEN EXPRESSION A1: frequency of newborns**

**AUTHOR:** MÁRCIA MARIA VASCONCELLOS MIKALAUASCAS

**ADVISER:** JOSÉ EDSON PAZ DA SILVA

**Defense Place and Date:** Santa Maria, August, 31, 2011

Within the ABO system there are several blood subgroups: subgroup A, subgroup B and subgroup H, and the most frequently encountered in practice are the subgroups A1, A2, A1B and A2B. The cells of, approximately, 80% of adults in group A are A1. The remaining 20% are A2 or weaker subgroups. However, in newborns is very little literature about the frequency of the subgroups of A. At birth most of the blood group A infants seems to present itself as belonging to subgroup A2, since all the ABO antigens are not fully developed in this period. Since iron deficiency, widespread in this age group, often discussed by the scientific community is related to the disproportion between the expansion of erythroid mass and iron obtained from the diet. Around four months of age, iron stores are reduced by half, and the exogenous iron is required to maintain hemoglobin concentration during this phase of rapid growth, between four and 12 months. Our objectives were to determine the frequency of newborns belonging to subgroups A1 and A2, to identify the frequency of antigen expression A1, between six and 12 months of age, infants initially typed as belonging to subgroup A2 and check the hemoglobin levels for the detection of anemia in these children. The results showed that the frequency of newborn belonging to the A1 blood subgroup was 67% (319) and the A2 subgroup was 33% (152), from a total of 471 newborns belonging to blood group A. We found a great predominance of the A1 subgroup, contradicting the literature that reports the prevalence of subgroup A2 in newborn infants. Regarding the identification of the frequency of A1 antigen expression, between six and 12 months of age ( $n = 40$ ), the percentage of children who express the A1 antigen, after being with six months to one year of age was 67.5% (27), the rest remained as A2 (13). The verification of hemoglobin levels in these children ( $n = 71$ ), by the method of cyanometa-hemoglobin, resulting in 34% of anemic children, pointing to the presence of anemia in this age group. The rates found ranged from 6.56 g/dl to 10.8 g/dl. Thus, in relation to A1 antigen expression between six and 12 months of age further studies are needed, and for the prevalence of anemia is necessary to emphasize in public health programs, intervention measures and more effective control of this nutritional disorder.

**Keywords:** Blood subgroup. Newborns. Infants. Typing.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>FIGURA 1</b> — Estrutura simplificada da membrana eritrocitária dos eritrócitos .....	20
<b>FIGURA 2</b> — Estrutura precursora das hemácias .....	20
<b>FIGURA 3</b> — Biossíntese dos antígenos do sistema de grupo sanguíneo ABO e H, nos eritrócitos humanos .....	21
<b>FIGURA 4</b> — Formação do antígeno H .....	22
<b>FIGURA 5</b> — Formação do antígeno A.....	23
<b>FIGURA 6</b> — Formação do antígeno B.....	24
<b>FIGURA 7</b> — Representação esquemática dos genes A <sup>1</sup> e A <sup>2</sup> .....	32
<b>FIGURA 8</b> — Cadeias Lineares e ramificadas dos antígenos A e H.....	35
<b>FIGURA 9</b> — Diferenças glicolípídicas entre fenótipo A1 e A2 .....	36
<b>FIGURA 10</b> — A hemoglobina fetal tem maior afinidade para o oxigênio do que a hemoglobina adulta .....	44
<b>FIGURA 11</b> — Fluxograma utilizado para a pesquisa de subgrupos A1 e A2 .....	52
<b>FIGURA 12</b> — Percentagem dos grupos sanguíneos em recém-nascidos no HUSM .....	54
<b>FIGURA 13</b> — Distribuição dos resultados dos subgrupos A1 e A2 dos recém-nascidos .....	55
<b>FIGURA 14</b> — Expressão do antígeno A1 em lactentes .....	57
<b>FIGURA 15</b> — Expressão dos subgrupos de 'A' em doadores do Hemocentro Regional de Santa Maria .....	58
<b>FIGURA 16</b> — Distribuição dos resultados do estudo sobre anemia.....	59

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> — Nucleotídeos doadores e açúcares imunodominantes responsáveis pelas especificidades para os antígenos H, A e B .....	23
<b>TABELA 2</b> — Interpretação de subgrupos sanguíneos do sistema ABO .....	28
<b>TABELA 3</b> — Fenótipos e genótipos do sistema ABO .....	30
<b>TABELA 4</b> — Frequência dos grupos sanguíneos dos recém-nascidos .....	54
<b>TABELA 5</b> — Frequência dos subgrupos de A dos recém-nascidos .....	55

## LISTA DE QUADROS

<b>QUADRO 1</b> — Características estruturais das hemácias A1 e A2.....	36
---	----

## LISTA DE REDUÇÕES

<b>ASP</b>	<i>Alleles Specific Primers</i>
<b>DBA</b>	<i>Dolichos biflorus aglutinina</i>
<b>Hgb</b>	Hemoglobina
<b>HUSM</b>	Hospital Universitário de Santa Maria
<b>LAC</b>	Laboratório de Análises Clínicas
<b>ml</b>	mililitro
<b>nt</b>	Nucleotídeo
<b>PCR</b>	Reação de Polimerase em cadeia
<b>RN</b>	Recém-nascido
<b>rpm</b>	rotações por minuto
<b>μl</b>	microlitro

## LISTA DE APÊNDICES

<b>APÊNDICE A</b> — Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	69
<b>APÊNDICE B</b> — Protocolo - Questionário .....	71
<b>APÊNDICE C</b> — Expressão do antígeno A1 entre 6 e 12 meses de idade .....	73

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	18
<b>2.1 Sistemas sanguíneos</b> .....	18
2.1.1 Sistema sanguíneo ABO .....	18
2.1.2 Formação dos antígenos A, B e H .....	19
2.1.3 Antígeno ABO em recém-nascidos .....	25
<b>2.2 Subgrupos do aglutinogênio A</b> .....	26
2.2.1 Classificação dos subgrupos de A .....	28
<b>2.3 Lectinas</b> .....	29
2.3.1 <i>Dolichos biflorus</i> aglutinina (DBA) .....	29
<b>2.4 Herança dos subgrupos de A</b> .....	30
<b>2.5 Técnicas atuais</b> .....	36
<b>2.6 Importância dos subgrupos A1 e A2</b> .....	37
2.6.1 Banco de sangue .....	37
2.6.2 Medicina legal .....	39
2.6.3 Transplante de órgãos.....	39
<b>2.7 Anemia</b> .....	40
2.7.1 Hemoglobina fetal .....	42
2.7.2 Anemia fisiológica do recém-nascido .....	44
2.7.3 Fisiopatologia .....	45
2.7.4 Avaliação laboratorial .....	47
2.7.5 Tratamento .....	47
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	49
<b>3.1 Objetivo geral</b> .....	49
<b>3.2 Objetivos específicos</b> .....	49
<b>4 MATERIAL E MÉTODO</b> .....	50
<b>4.1 Verificação para a presença de anemia</b> .....	50

<b>4.2 Retipagem do subgrupo sanguíneo e Dosagem de hemoglobina</b> .....	51
4.2.1 Obtenção da amostra de sangue aos 6 e 12 meses de idade .....	51
4.2.2 Determinação dos níveis de hemoglobina.....	52
4.2.3 Análise estatística .....	53
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	54
5.1 Grupos sanguíneos.....	54
5.2 Expressão do antígeno A1 em recém-nascidos .....	55
5.3 Expressão do antígeno A1 entre 6 e 12 meses de idade .....	57
5.4 Determinação dos níveis de hemoglobina para anemia.....	59
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	62
6.1 Considerações finais .....	62
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	63
<b>APÊNDICES</b> .....	68



# 1 INTRODUÇÃO

A descoberta de que o soro de alguns indivíduos aglutinava as hemácias de outros foi relatada como uma breve nota de rodapé em um artigo, onde o autor preocupava-se com a habilidade do soro sanguíneo em neutralizar os efeitos de enzimas (LANDSTEINER, 1900 apud WATKINS, 2001).

Este autor afirmou que o soro de humanos saudáveis não somente tinha efeito em aglutinar corpúsculos sanguíneos de animais, mas, também, corpúsculos sanguíneos de diferentes indivíduos. Isto determinou, de alguma maneira, que este fenômeno fosse resultante de diferenças individuais próprias, ou de influência de injúrias e possível infecção bacteriana. Os experimentos definitivos que mostraram que as reações não envolviam patologia sorológica e que era possível classificar a população em três grupos baseados na reação das hemácias e do soro de indivíduos normais e saudáveis foram publicados no ano seguinte. Landsteiner, em 1901, observou que somente dois antígenos (aglutinogênios), A e B, e dois anticorpos (aglutininas), anti-A e anti-B, foram necessárias para explicar os três grupos sanguíneos. Segundo sua definição, ambas as células possuíam antígenos A ou B, ou não possuíam nem A nem B (grupo C, que mais tarde nomeou de O). O quarto e mais raro grupo, AB, que apresenta ambos os antígenos na hemácia, e no soro não apresenta nenhum anticorpo, foi descrito um ano mais tarde por Decastello e Sturli (WATKINS, 2001).

Com isso, Karl Landstein abriu as portas do banco de sangue quando descobriu o primeiro sistema de grupo sanguíneo ABO. Diferentes densidades dos antígenos A ou B podem ser encontradas, sendo chamados de subgrupos de A ou B, conforme a intensidade de aglutinação dos eritrócitos com os reagentes anti-A, anti-B, anti-AB, anti-A1 e anti-H (BATISSOCO; NOVARETTI, 2003). Os dois principais alelos de 'A', A<sup>1</sup> e A<sup>2</sup> são diferenciados sorologicamente com o uso do reagente lectina anti-A1.

Dentro do sistema ABO existem diversos subgrupos sanguíneos: subgrupos A, subgrupos B e subgrupos H, sendo que os mais frequentemente encontrados na prática são os subgrupos A1, A2, A1B e A2B (BATISSOCO; NOVARETTI, 2003).

Em relação às crianças entre zero e 12 meses de idade, duas alterações

hematológicas importantes podem acontecer: uma está relacionada aos subgrupos de 'A', onde pode ocorrer um atraso no desenvolvimento do antígeno A1, que, devido a uma expressão tardia dos sítios antigênicos na superfície das hemácias, característica do grupo sanguíneo A, poderá ocorrer um identificação errônea dos subgrupos ou até mesmo do grupo, nesta faixa etária; e; a outra é a diminuição dos níveis de hemoglobina. Esta alteração costuma ser mais marcante até os seis meses.

A maior parte dos lactentes do grupo A parece ser A2 no nascimento, já que os antígenos ABO não estão completamente desenvolvidos nos eritrócitos nesse período. A maioria das células A2 do cordão umbilical eventualmente agrupar-se-á como indivíduos A1, após um determinado período de tempo (usualmente alguns meses) (HARMENING, 1992). Passado este período poderá ocorrer a expressão do antígeno do subgrupo A1, alterando, assim, a classificação inicial. Já outro autor diz que embora os antígenos ABO tenham sido detectados em eritrócitos de fetos com seis semanas de idade, eles não atingem a completa expressão do adulto nos eritrócitos até os três anos de idade (MOLLISSON, 1993 apud HENRY; BEADLING, 1999).

Esses conceitos existem de forma escassa na literatura, sendo quase inexistente quanto às frequências desses fenômenos. Apenas foi encontrado um relato para a frequência de neonatos pertencentes ao subgrupo 'A2', e nenhum para a frequência da conversão da expressão do antígeno do subgrupo 'A2' para 'A1', ao longo dos primeiros 12 meses. Já a carência de ferro, generalizada nesse grupo etário, muitas vezes discutida pela comunidade científica, é relacionada à desproporção entre a expansão da massa eritróide e o ferro obtido na dieta, que costuma acentuar a microcitose, levando a hemoglobina a diminuir até um nadir fisiológico de 11,3 ( $\pm 1,5$ ) g/dl aos seis meses, mas, tais números são obtidos mesmo em lactentes com boas reservas de ferro (FAILACE, 2003).

Por volta dos quatro meses de idade, os estoques de ferro estão reduzidos pela metade, e o ferro exógeno é necessário para manter a concentração de hemoglobina durante esta fase de rápido crescimento, entre quatro e 12 meses. A absorção de ferro requerida na dieta é de, aproximadamente, 0,8 mg por dia, o qual 0,6 mg é necessário para o crescimento, e 0,2 mg para repor as perdas (BOOTH; AUKETT, 1997).

Desta maneira, a comparação dos resultados das determinações das

tipagens sanguíneas, nos diferentes períodos da expressão dos antígenos 'A', poderá indicar maior confiabilidade para a determinação do subgrupo sanguíneo do lactente, e, também, terá a certeza da classificação sanguínea, já que a literatura registra uma imprecisão dos resultados de tipagens ao nascimento, diminuindo a probabilidade de erro nesta determinação.

Assim, pelas características apresentadas nesta faixa etária em relação à expressão dos antígenos sanguíneos, e pela oportunidade de na mesma coleta verificar a deficiência de hemoglobina, justifica-se também a detecção de seus níveis para posterior comparação com dados referentes na literatura.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Sistemas sanguíneos

#### 2.1.1 Sistema sanguíneo ABO

Antigos autores já haviam observado que, quando transfundiam ao homem o sangue de animais domésticos (carneiro, boi, cão), surgiam, via de regra, acidentes graves, às vezes fatais. Tais acidentes ficaram esclarecidos após a demonstração de Landois (1875 apud LIMA, 2001), de que o soro de uma espécie animal misturado ao sangue de outra espécie aglutina os glóbulos desta, demonstrando-se, assim, o fenômeno da heteraglutinação.

Somente em 1900, Landsteiner demonstrou o fenômeno da isoaglutinação, a mistura do soro de um indivíduo com os glóbulos de outro da mesma espécie é acompanhada, por vezes, de aglutinação. Esclareceu-se, assim, a razão pela qual certos sangues humanos provocam acidentes, quando se praticam transfusões, ou seja, o soro humano pode conter isoanticorpos naturais que aglutinam e hemolisam os glóbulos do sangue transfundido (LIMA, 2001).

A teoria para a herança dos grupos sanguíneos foi descrita por Bernstein em 1924. Ele demonstrou que cada indivíduo herda um gene ABO de cada um dos pais e que estes genes determinariam qual antígeno estaria presente na superfície das hemácias. Os antígenos ABO não estão restritos apenas à membrana dos eritrócitos, podem ser encontrados, também, em uma grande variedade de células como linfócitos, plaquetas, endotélio capilar venular e arterial, células sinusoidais do baço, medula óssea, mucosa gástrica, além de secreções e outros fluidos como saliva, urina e leite (BATISSOCO; NOVARETTI, 2003).

O sistema de grupos sanguíneos ABO é o mais importante para a transfusão de sangue. Os antígenos deste sistema são produtos genéticos facilmente detectáveis, por isso constituem excelentes marcadores genéticos (HERMÁNDEZ et al, 1997). A demonstração da diversidade entre sangues de indivíduos da mesma

espécie constitui descoberta fundamental, permitindo a Landsteiner classificar os três grupos, baseado na prova de aglutinação. Um ano mais tarde, 1902, Decastello e Sturli, discípulos de Landsteiner, estabeleceram a existência de um quarto grupo, grupo sanguíneo AB, muito menos frequente (LIMA, 2001).

### 2.1.2 Formação dos antígenos A, B e H

Os genes ABO não codificam a produção de antígenos ABH, mas, produzem glicosiltransferases específicas que acrescentam açúcares à substância precursora básica na hemácia. Uma posição, ou locus, em cada cromossoma 9 (9q34) é ocupada por um gene A, B ou O (HARMENING; FIRESTONE, 2006). Já os alelos são formas alternativas de genes, que ocupam um único *locus* em cromossomas homólogos. Os principais alelos do gene ABO são: A1, B e O, que darão origem aos quatro grupos sanguíneos: A, B, AB e O (VENGELEN-TYLER V.,1999). Outros alelos muito raros, do sistema ABO, foram determinados por meio da genética molecular: A3, Ax, Am, B3, B(A), cis-AB (LORENZI, 1999).

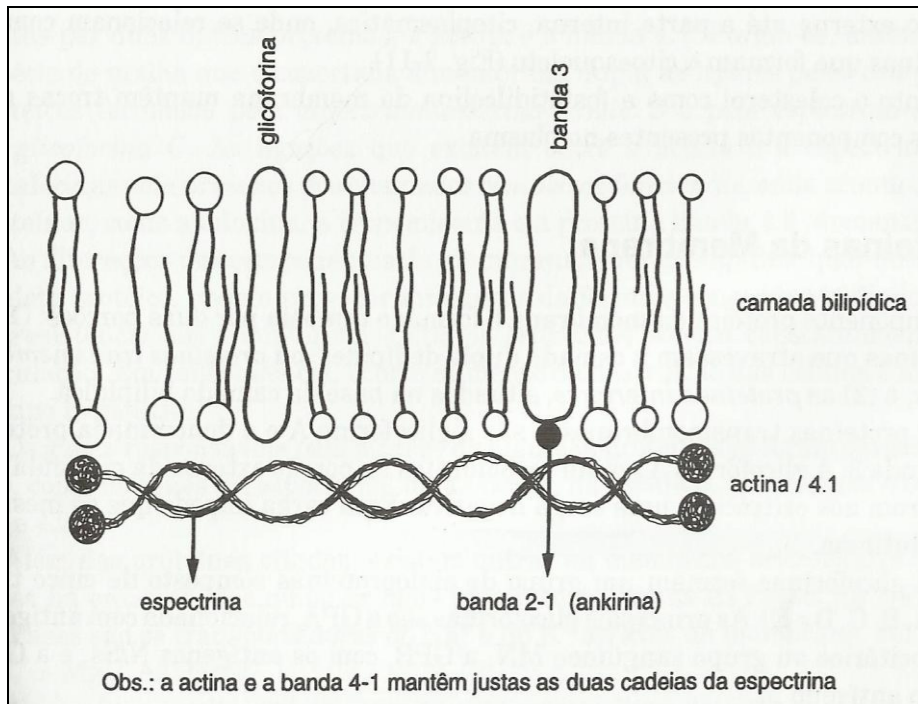
As estruturas antigênicas da membrana estão unidas a ela por meio das proteínas integrais (glicoforinas A/B e banda 3) e alguns esfingolípides. A ligação das proteínas membranosas (ou lípidos) a cadeias de carboidratos possuidores de estruturas diferentes dá origem a diferentes especificidades denominadas grupos sanguíneos (LORENZI, 1999) (Figura 1).

A ação do gene H, que é herdada independentemente dos genes ABH, está intimamente relacionada à formação dos antígenos ABO. Os antígenos A, B e H são formados a partir do mesmo material precursor básico, que é um produto genético propriamente dito, e representa um paraglobosídeo (Figura 2).

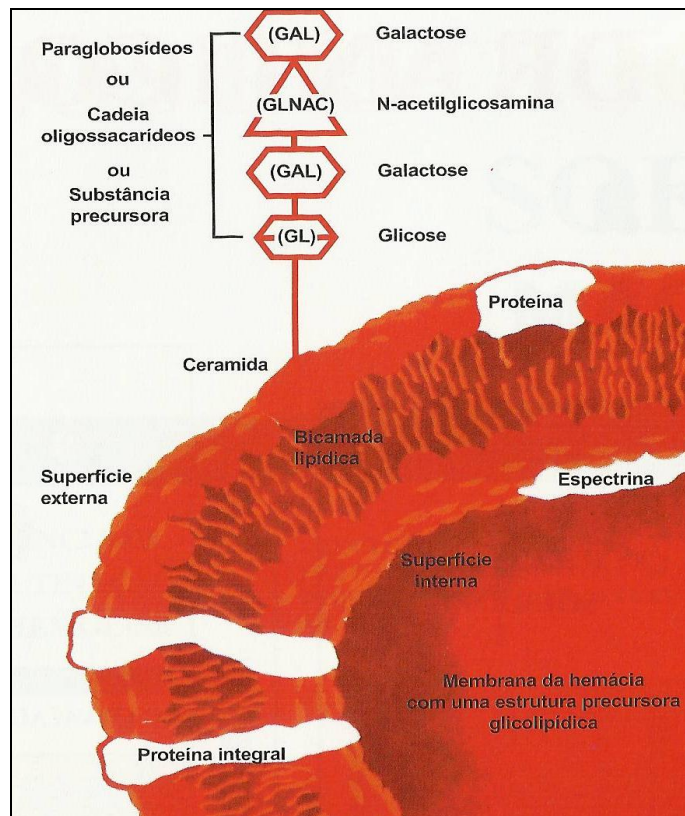
O gene H é expresso tanto no estado homocigoto (*H/H*) como no estado heterocigoto (*H/h*). O gene *hh* é extremamente raro, e, nessa situação, nenhuma substância H é produzida, sendo este fenótipo chamado de Bombay (*Oh*) (WATKINS et al., 1998) (Figura 3).

A substância precursora nos eritrócitos é denominada Tipo 2 porque utiliza a ligação beta 1-4 para fixar a galactose terminal da substância precursora a N-acetilglicosamina. A Tipo 1 utiliza a ligação beta 1-3 entre a galactose e a N-

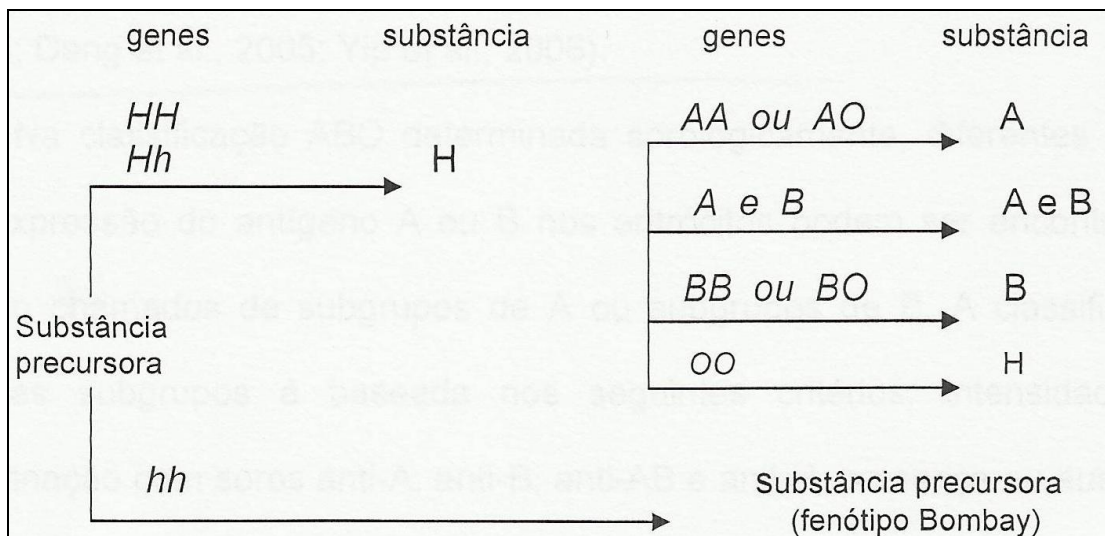
acetilglicosamina.



**Figura 1** – Estrutura simplificada da membrana dos eritrócitos. Fonte: LORENZI, 1999, p.73.



**Figura 2** – Estrutura precursora das hemácias. Fonte: HARMENING, 2006, p.97.



**Figura 3** – Biossíntese dos antígenos do sistema de grupo sanguíneo ABO e H, nos eritrócitos humanos. Fonte: MOLLISON; ENGELFRIET, 1997, p.150.

Independentemente, a síntese do antígeno H é controlada pela  $\alpha$ -2-L-fucosiltransferase codificada pelo gene H (FUT-1) no locus H localizado no cromossoma 19 (19q13.3) procedente de um oligossacarídeo Tipo 2. Em indivíduos com fenótipo secretor, o gene SE (FUT-2) codifica uma  $\alpha$ -2-L-fucosiltransferase similar que é capaz de sintetizar antígeno H de um oligossacarídeo precursor Tipo 1 em outros tecidos (MATTOS; MOREIRA, 2004).

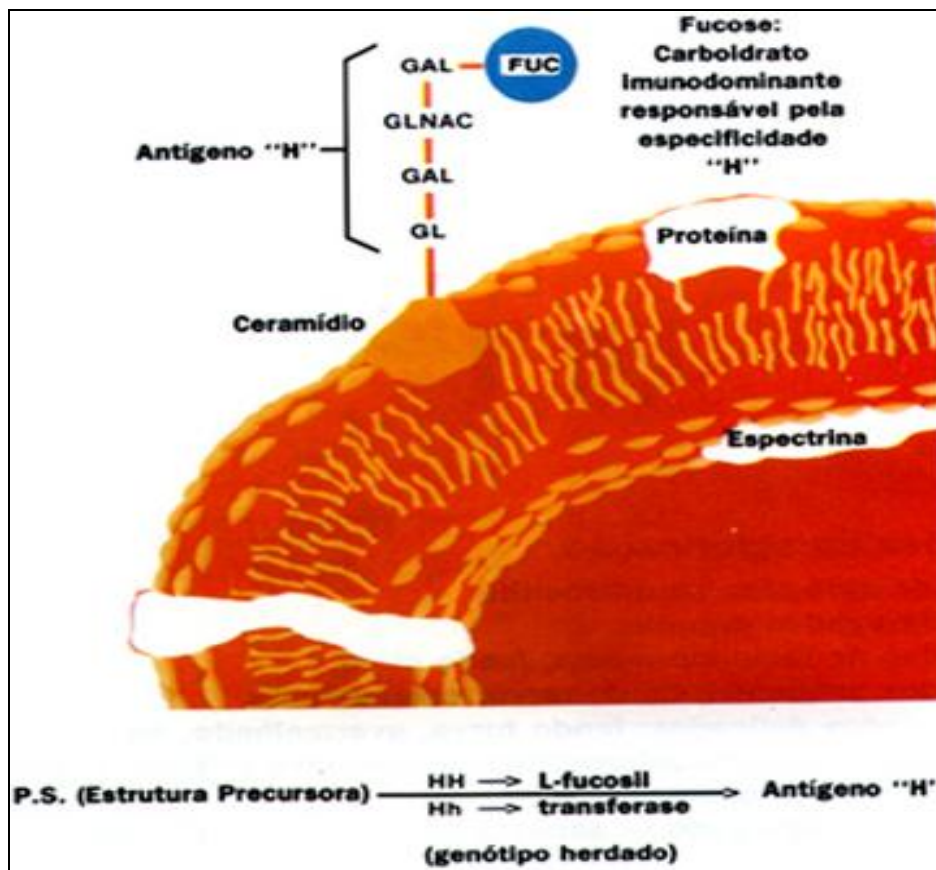
Podem-se salientar algumas diferenças entre a formação das substâncias solúveis A, B e H, e a formação dos antígenos A, B e H nas hemácias:

- As substâncias secretadas são glicoproteínas; os antígenos das hemácias são glicolipídios;
- O primeiro açúcar no resíduo de carboidrato comum da substância precursora é o N-acetilgalactosamina para as secreções de glicoproteínas e glicose, para os antígenos das hemácias;
- A  $\alpha$ -2-L-fucosiltransferase produzida pelo gene H (FUT 1) é expressa, principalmente, na linhagem eritrocitária, enquanto que a  $\alpha$ -2-L-fucosiltransferase, produzida pelo gene Se (FUT 2), é expressa nos tecidos secretórios (HARMENING; FIRESTONE, 2006).

Esta substância H deve ser formada para que outros açúcares se fixem em resposta a um gene herdado A e/ou B. Os açúcares que ocupam as posições

terminais desta cadeia precursora e conferem a especificidade do grupo sanguíneo são chamados açúcares imunodominantes (HARMENING; FIRESTONE, 2006) (Figura 4).

Os determinantes A e B são estruturas de carboidratos, presentes na membrana da hemácia que possui estruturas glicolípídicas e glicoproteicas. As cadeias de carboidratos são formadas a partir da ação de glicosiltransferases, enzimas que catalisam a transferência de monossacarídeos específicos de um nucleotídeo doador para um substrato receptor. Estas estruturas glicolípídicas e glicoproteicas formam o esqueleto ao qual os açúcares se fixam em resposta às enzimas transferases (HARMENING; FIRESTONE, 2006) (Tabela 1).



**Figura 4** – Formação do antígeno H. Fonte: HARMENING; FIRESTONE, 2006, p.97.

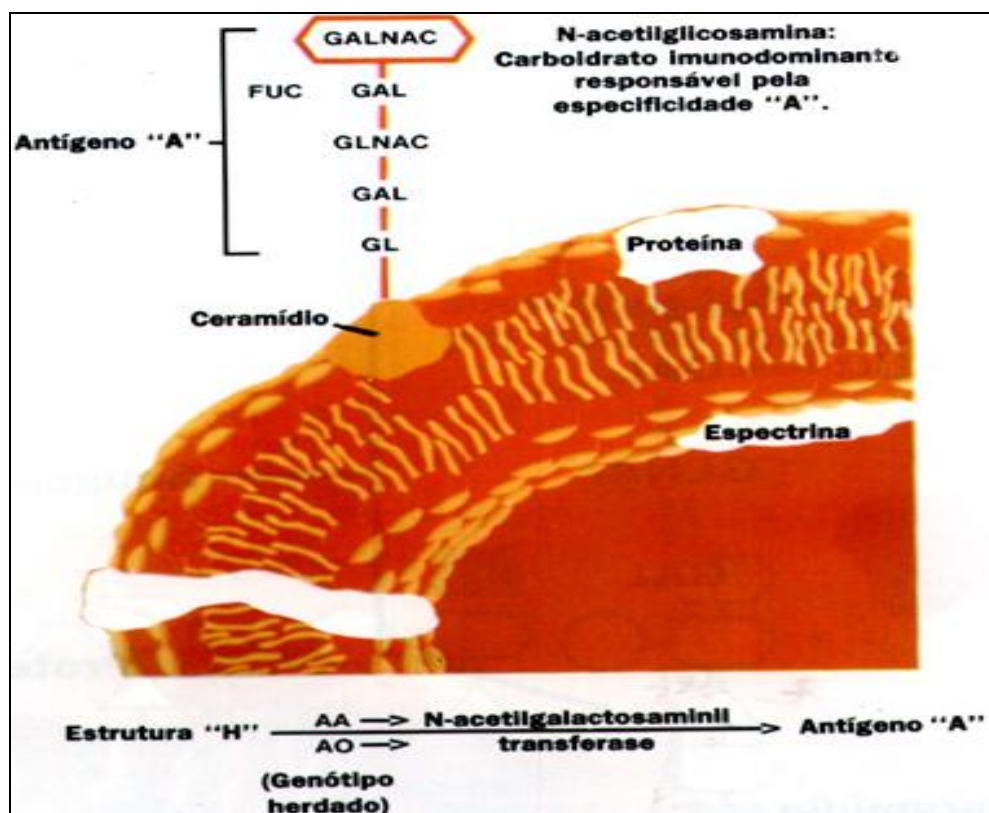


**Tabela 1** – Nucleotídeos doadores e açúcares imunodominantes responsáveis pelas especificidades para os antígenos H, A e B.

Gene	Glicosiltransferase	Nucleotídeo Açúcar doador	Açúcar dominante	Antígeno
H	$\alpha$ -2-L-fucosiltransferase	GDP-Fuc	L-fucose	H
A	$\alpha$ -3-N-acetilgalactosaminiltransferase	UDP-GalNAc	N-acetil-D-galactosamina	A
B	$\alpha$ -3-D-galactosiltransferase	UDP-Gal	D-galactose	B

Fonte: HARMENING; FIRESTONE, 2006.

O gene A produz a enzima que transfere o monossacarídeo N-acetilgalactosamina do substrato doador uridina-difosfato (UDP)-N-acetilgalactosamina para o resíduo final de galactose-fucose do antígeno H, para produzir a estrutura ativa A (Figura 5).

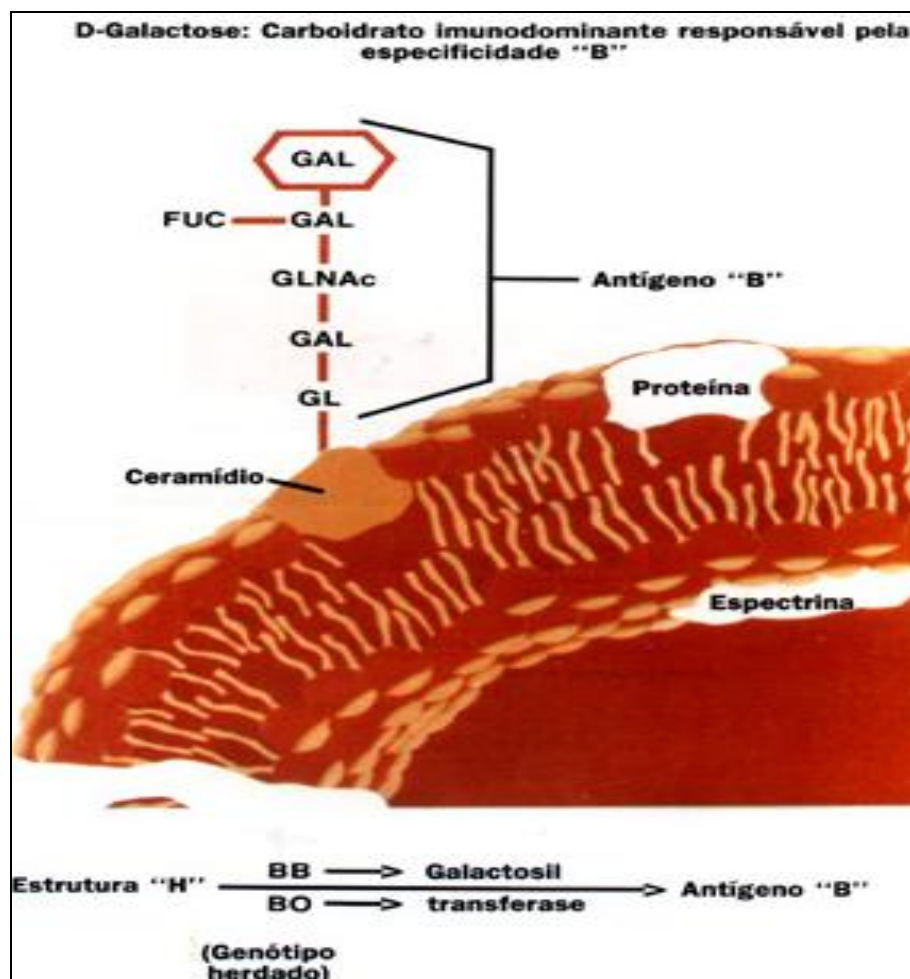


**Figura 5** – Formação do antígeno A. Fonte: HARMENING; FIRESTONE, 2006, p.97.

O produto do gene B é a enzima que transfere a D-galactose do UDP-galactose para o resíduo final de galactose- fucose do H, para produzir a estrutura ativa B (Figura 6).

O alelo O não produz enzima ativa, somente as hemácias do grupo O não convertem o antígeno H (DANIELS, 2005). Essa inabilidade do gene O em codificar as transferases A e B é devida a uma diferença estrutural em relação aos nucleotídeos o que resulta em uma proteína inativa, completamente diferente, incapaz de modificar o antígeno H(YAMAMOTO, 1990).

O modelo com três genes A, B e O, proposto para explicar seu modelo de herança, foi confirmado com a clonagem e o sequenciamento do *locus* ABO no início dos anos 1990 e, a partir desses conhecimentos as diferenças na sequência de nucleotídeos dos genes tornaram-se conhecidas e passíveis de serem utilizadas na genotipagem de populações.



**Figura 6** – Formação do antígeno B. Fonte: HARMENING; FIRESTONE, 2006, p.98.

Os genes A e B diferem em sete substituições de nucleotídeos localizadas nas posições 297, 526, 657, 703, 796, 803 e 930 e o gene O<sup>1</sup> é idêntico ao gene A, exceto pela deleção de uma base nitrogenada guanina na posição 261 do exon 6. Essas diferenças contribuem para a troca de quatro aminoácidos nas posições 176, 235, 266 e 268 das transferases A e B e, portanto, determinam suas especificidades (MATTOS; MOREIRA, 2004). Segundo afirmação de D'Adamo, o grupo sanguíneo "O" teria sido o primeiro grupo sanguíneo a aparecer na espécie humana. Para tal afirmação seria necessário admitir que somente o *locus* H existia em humanos não-primatas (MATTOS; MOREIRA, 2004). Muitos artigos publicados, entre 1993 e 2000, demonstraram a presença dos antígenos ABO e das glicosiltransferases responsáveis pela síntese do antígeno A em tecidos e secreções coletadas de outros primatas não-humanos. Logo, tal afirmação não pode ser aceita de que o gene O surgiu antes dos genes A e B no *locus* ABO. Após a construção de um sistema filogenético de alelos ABO de humanos e não-humanos, Saito e Yamamoto concluíram que o gene 'A' representaria a forma ancestral dentro no *locus* ABO (MATTOS; MOREIRA, 2004). Assim, no sentido da evolução, é difícil de acreditar que um gene normal como o 'A' e 'B' tenham evoluído de um gene anormal como o 'O'.

### 2.1.3 Antígenos ABO em recém-nascidos

A conversão do antígeno H em A ou B não é idêntica em todos os indivíduos. As transferases também não estão completamente desenvolvidas ao nascimento e, inicialmente, só têm atuação sobre cadeias precursoras não-ramificadas, de composição bioquímica mais simples; atividade normal somente é observada após os dois anos de idade. Dessa forma os recém-nascidos apresentam uma menor quantidade de antígenos 'A' ou 'B' nas hemácias e, por conseguinte, maior concentração de H, do que um adulto (VERRASTRO; LORENZI; NETO, 2005).

Os antígenos ABH se desenvolvem precocemente, por volta do 37° dia de vida fetal, mas não aumentam sua potência durante o período gestacional. Tipicamente, a reatividade ABH do eritrócito neonatal não é tão forte quanto a da célula adulta. As hemácias do recém-nascido possuem cerca de 25% a 50% do

número de sítios antigênicos encontrados em uma hemácia adulta. Além da idade, a expressão fenotípica dos antígenos ABH pode variar com raça, interação genética e estados patológicos (HARMENING; FIRESTONE, 2006).

Em relação às crianças entre zero e 12 meses de idade, uma das alterações hematológicas importantes que podem acontecer é em relação aos subgrupos de 'A', onde pode ocorrer um atraso no desenvolvimento do antígeno A1, que, devido a uma expressão tardia dos sítios antigênicos na superfície das hemácias, característica do grupo sanguíneo 'A', poderá ocorrer uma identificação errônea dos subgrupos ou, até mesmo, do grupo.

A maior parte dos lactentes do grupo 'A' parece ser A2 no nascimento, já que os antígenos ABO não estão completamente desenvolvidos nos eritrócitos nesse período. A maioria das células A2 do cordão umbilical eventualmente agrupar-se-á como indivíduos A1, após um determinado período de tempo, usualmente alguns meses (HARMENING, 1992).

Já outro autor nos diz que embora os antígenos ABO sejam detectados em eritrócitos de fetos com seis semanas de idade, eles não atingem a completa expressão do adulto nos eritrócitos até os três anos de vida. (MOLLISON, 1993 apud HENRY; BEADLING, 1999).

Segundo Harmening e Firestone (2006) os recém-nascidos possuem uma deficiência de antígenos H3 e H4 ramificados e, portanto, também de Ac e Ad, o que possivelmente explica o fenótipo A2. As células adultas contêm uma concentração mais elevada de estruturas ramificadas H3 e H4 e, conseqüentemente, apresentam determinantes Ac e Ad nos indivíduos A1.

## **2.2 Subgrupos do aglutinogênio A**

Dentro do sistema ABO existem diversos subgrupos sanguíneos: subgrupos 'A', subgrupos 'B' e subgrupos 'H', sendo que os mais frequentemente encontrados na prática são os subgrupos A (BATISSOCO; NOVARETTI, 2003).

Em 1911, Von Dungern descreveu dois diferentes antígenos 'A', baseado nas reações com anti-soros anti-A e anti-A1. As hemácias A1, que reagem somente com

anti-A e não com anti-A1, são classificadas como subgrupo A2. Os eritrócitos que reagem com anti-A e anti-A1 são classificados como A1 (HARMENING; FIRESTONE, 2006). Além da diferença quantitativa, as reações com as aglutininas anti-A e anti-A1 demonstraram, também, diferença qualitativa entre os subaglutinogênios A1 e A2. Assim, segundo Wiener (1941, apud LIMA et al, 2001), os indivíduos dos subgrupos A2 e A2B podem, excepcionalmente, imunizar-se aos indivíduos do subgrupo A1, por transfusões, ou as mulheres, por gestação de feto cujo sangue contenham o subaglutinogênio A1.

A classificação dos fenótipos A1 e A2 contribui com 99% de todos os indivíduos do grupo 'A'. Os fenótipos do grupo 'A' que demonstram reatividade sorológica mais fraca do que A2 são designados como subgrupos fracos. Estes subgrupos formam 1% do total de subgrupos de 'A'. A presença ou ausência de anti-A1 no soro, bem como estudos secretores e testes de adsorção-eluição podem ser utilizados para subdividir os indivíduos 'A' em A3, Ax, Aend, e outros (HARMENING; FIRESTONE, 2006). Dentre as variantes raras de antígeno 'A', a mais frequente é a A3, e que foi observada com frequência de cerca de 1:1.000 na população dinamarquesa (BEIGUELMAN, 2003). Segundo outros autores, as variantes do antígeno 'A' são classificadas em duas categorias, com frequências de cerca de 1:40.000 ou menos. A primeira delas é denominada Ax e inclui os antígenos descritos sob as designações Ax, A4, A5, Az e A<sub>0</sub>. A segunda categoria é denominada Am (WIENER; GORDON, 1956 apud BEIGUELMAN, 2003). Os subgrupos mais fracos que o A2 ocorrem raramente e, em geral, são caracterizados por números decrescentes de sítios antigênicos de 'A' nas hemácias, com um aumento recíproco da atividade do antígeno H. Os genes responsáveis constituem menos de 1% do conjunto total de genes A (FRESENIUS HEMOCARE, 2006).

De modo similar, existem subgrupos de B determinados sorologicamente (B3, Bx, Bm, Bel), porém muito raros. Os subgrupos de 'A' e subgrupos de 'B', resultam de mutações da estrutura do gene da glicosiltransferase (DOMINGUES, 2007) (Tabela 2).

**Tabela 2** – Interpretação de subgrupos sanguíneos do sistema ABO. Reações das hemácias com anti-soros e Reações dos soro e/ou plasma com hemácias-teste.

FENÓTIPO	Soro Anti-A	Soro Anti-B	Soro Anti-AB	Lectina Anti-H	Lectina Anti-A <sub>1</sub>	He A <sub>1</sub>	He A <sub>2</sub>	He B	He 0	Saliva do secretor
A <sub>1</sub>	4+	0	4+	0	4+	0	0	4+	0	A e H
A <sub>int</sub>	4+	0	4+	3+	2+	0	0	4+	0	A e H
A <sub>2</sub>	4+	0	4+	2+	0	**	0	4+	0	A e H
A <sub>3</sub>	2+CM	0	2+CM	3+	0	**	0	4+	0	A e H
Am	0/+	0	0/+	4+	0	0	0	4+	0	A e H
Ax	0/+	0	+2+	4+	0	2+/ 0	0/+	4+	0	H
Ael	0	0	0	4+	0	2+/ 0	0	4+	0	H
B	0	4+	4+	0	--	4+	4+	0	0	B e H
B <sub>3</sub>	0	+/CM	2+/CM	4+	--	4+	4+	0	0	B e H
Bm	0	0	0/+	4+	--	4+	4+	0	0	B e H
Bx	0	0/+	0/2+	4+	--	4+	4+	0	0	H

Fonte: VENGELEN-TYLER, apud DOMINGUES, 2007, p.7.

+ - = intensidade fraca de aglutinação; CM = campo misto; He = hemácia

### 2.2.1 Classificação dos subgrupos de A

A classificação dos indivíduos dos subgrupos de 'A' e 'AB' pode ser feita com auxílio de anti-soros preparados a partir do soro sanguíneo de indivíduos do grupo B, adsorvidos com hemácias A<sub>2</sub> sendo denominados anti-soros anti-A<sub>1</sub> adsorvidos. Existe também, a lectina anti-A<sub>1</sub>, descoberta por Bird (1952 apud BEIGUELMAN, 2003), extraída de sementes de *Dolichos biflorus*, a qual é um excelente reagente para a detecção de hemácias A<sub>1</sub> e A<sub>1</sub>B.

Outra fonte de anti-soros anti-A<sub>1</sub> é constituída por cerca de 2% dos indivíduos do grupo sanguíneo A<sub>2</sub> e 25% dos indivíduos A<sub>2</sub>B, os quais apresentam em seu sangue o anticorpo anti-A<sub>1</sub>. Em algumas populações, a proporção de indivíduos A<sub>2</sub> e A<sub>2</sub>B com anticorpos anti-A<sub>1</sub> no soro sanguíneo pode ser bem maior. Lenkiewicz e Sarul (1971) constataram a presença de anti-A<sub>1</sub> no soro sanguíneo de 14% dos indivíduos do grupo A<sub>2</sub> e em 51% dos do grupo A<sub>2</sub>B (BEIGUELMAN, 2003).

A importância da subdivisão do aglutinogênio 'A' reside na diferença quantitativa apreciada na reação dos subaglutinogênios A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub> em face do soro padrão anti-A. Os glóbulos do subgrupo A<sub>2</sub>, sobretudo os do A<sub>2</sub>B, reagem menos intensamente do que os dos A<sub>1</sub> e A<sub>1</sub>B: pode a aglutinação passar despercebida, a

menos que se use soro anti-A de título elevado ou, de preferência, titulado com glóbulos dos subtipos A2 e A2B, previamente identificados (LIMA, 2001).

Com o avanço da biologia molecular, a classificação dos subgrupos sanguíneos também pode ser feita, com o conhecimento de seus diferentes alelos ABO, através de diversas técnicas de genotipagem que envolvem a reação de polimerase em cadeia (PCR).

### 2.3 Lectinas

São proteínas receptoras específicas presentes nas sementes de plantas e em alguns animais invertebrados e vertebrados inferiores. Pode-se citar algumas utilizadas para determinação de grupos e subgrupos sanguíneos:

- Lectina anti-H preparada a partir do *Ulex europaeus*;
- Lectina anti- A1 preparada a partir do *Dolichos biflorus*;
- Lectina anti- N preparada da *Vicia graminea*, entre outras.

#### 2.3.1 *Dolichos biflorus* aglutinina (DBA)

A aglutinina *Dolichos biflorus* (DBA) é uma glicoproteína com peso molecular de aproximadamente 120kD e consiste de quatro subunidades de tamanhos aproximadamente iguais. Esta lectina apresenta pH em torno de 5,5 e um carboidrato específico em direção a  $\alpha$ -N-acetilgalactosamina ligada. DBA é cerca de 5 mil vezes mais ativa na aglutinação de células do subgrupo A1 *versus* células A2, sendo usada para distinguir estes grupos na rotina sorológica. É também utilizada para classificar indivíduos A1 secretores através da técnica de inibição da hemaglutinação e apresenta potencial aplicação na investigação de tumores os quais influenciam nas substâncias grupo-específicas (VECTOR LABORATORIES, 2011).

## 2.4 Herança dos subgrupos de A

Landsteiner e Levine foram os primeiros a mostrar, em 1927, que os subgrupos A1 e A2 são transmitidos por herança. Os pesquisadores Thomsen, Friedenreich e Worsae, estudando estes subgrupos e sua herança, em 1930, demonstraram que se transmitem hereditariamente por dois genes alélicos, A<sup>1</sup> e A<sup>2</sup>, os quais, unidos aos genes B e O, somam quatro genes alélicos: A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup>, B e O, em vez de três admitidos por Bernstein. Os genes A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup> e B são dominantes sobre O, e, por sua vez, o gene A<sup>1</sup> domina o A<sup>2</sup>. Estes quatro genes alélicos permitem reconhecer seis fenótipos A1, A2, B, A1B, A2B e O e 10 genótipos, quatro homozigotos e seis heterozigotos, conforme Tabela 3 (LIMA et al., 2001).

**Tabela 3** – Fenótipos e Genótipos do sistema ABO.

Fenótipos	Genótipos	
	Homozigotos	Heterozigotos
A <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> A <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> , O, A <sub>1</sub> A <sub>2</sub>
A <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> O
B	BB	BO
A <sub>1</sub> B	-	A <sub>1</sub> B
A <sub>2</sub> B	-	A <sub>2</sub> B
O	OO	-

Fonte: LIMA et al., 2001.

Desta maneira é possível observar alguns parâmetros:

- A propriedade A1 não pode aparecer nos glóbulos de um filho se não existir em um ou ambos os progenitores. A propriedade A2, sendo recessiva em relação a A1, pode aparecer no filho, embora aparentemente não exista nos progenitores do subgrupo A1;
- Da união de dois progenitores A1B, não nascem filhos A2; e de dois progenitores A2B, não podem nascer filhos A1;
- Dos cruzamentos A1BxB e A1BxA1B, não podem nascer filhos do subgrupo A2B.

A herança do gene A<sup>1</sup> leva à produção de altas concentrações da enzima α3-N-acetilgalactosaminiltransferase, que converte quase toda a estrutura precursora H



em antígenos A1 nas hemácias. A<sup>1</sup> é um gene muito potente que cria de 800mil a 1.170mil sítios antigênicos A1 em uma hemácia adulta. A herança de um gene A<sup>2</sup> resulta na produção de somente 240mil a 290mil sítios antigênicos A2 na hemácia A2 adulta. Essas diferenças quantitativas se refletem também, na concentração das transferases, pois estas enzimas demonstraram maior atividade no soro de indivíduos A1 do que nos indivíduos A2 evidenciada pela capacidade de converter células do grupo 'O' em células 'A' (HARMENING; FIRESTONE, 2006).

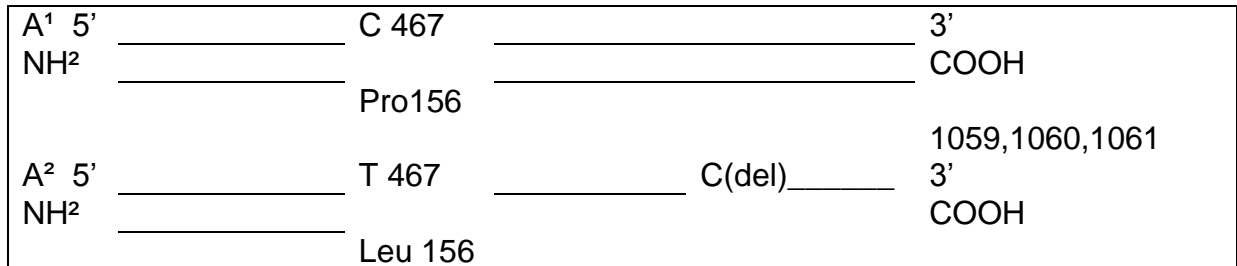
Nos subgrupos mais raros, a quantidade de antígenos "A" decresce, continuamente, de A1 até Am. A reação antígeno/anticorpo somente é visível (hemaglutinação) quando o número de sítios antigênicos é superior a 2 mil. Portanto, em alguns subgrupos, em que os açúcares estão muito fracamente expressos, podem-se observar até mesmo reações negativas na prova direta, com soro anti-A, discrepantes dos resultados obtidos na prova reversa. Tem-se como exemplos os subgrupos Am, Ay.

Schenkel-Brunner (1982) observou que a habilidade da N-acetilgalactosaminiltransferase dependente do gene A<sup>1</sup> é maior para converter todo o tipo de precursor H em determinantes antigênicos A1, enquanto a ação da transferase A2 fica limitada a um número específico de estruturas H, deixando-as inalteradas. Estes resultados contribuíram para um melhor entendimento das diferenças quantitativas entre as células A1 e A2.

Tilley (1978) em seu estudo observou que o nível de transferase era mais alto em adultos A1 do que em adultos A2. O nível de transferase A1 em gestantes foi apreciavelmente menor que em não-gestantes. O nível de N-acetilgalactosaminiltransferase no soro de recém-nascidos A1 era mais alto que no soro de não-gestantes. O nível de N-acetilgalactosaminiltransferase em recém-nascidos A2 foi, no mínimo, tão alto quanto o nível em mulheres A2 adultas não-gestantes. O maior nível de atividade foi descoberto em um recém-nascido A1 de mãe A2. Este estudo confirmou resultados observados por Schachter et al. (1971), que o nível de transferase A1 diminui durante a gestação e é mais alta em recém-nascidos A1.

O fenótipo A2, produto do gene A<sup>2</sup> (A201), é caracterizado pela substituição de uma única base no nucleotídeo 1059. Em consequência disso, são adicionados à transferase 'A' 21 aminoácidos, o que altera sua capacidade de adicionar açúcares imunodominantes sobre a estrutura precursora das hemácias, levando a uma diminuição quantitativa de sítios antigênicos, mas, que nem sempre significarão uma

diferença de reatividade na fenotipagem com o soro anti-A (GIRELLO; KÜHN, 2007). Na Figura 7 a representação esquemática dos genes A<sup>1</sup> e A<sup>2</sup> e proteínas codificadas por eles.



**Figura 7** – Representação esquemática dos genes A<sup>1</sup> e A<sup>2</sup> (linha superior) e proteínas codificadas por eles (linha inferior). Fonte: Construção da autora.

A mudança estrutural no alelo A<sup>1</sup> que dará origem ao A<sup>1</sup>variante ou A<sup>1</sup>v (A102) é decorrente da mutação no nucleotídeo (nt) 467, que resulta na substituição do aminoácido Pro156Leu. Os dois alelos são extremamente diferentes nas poucas populações estudadas. Outros dois alelos A<sup>1</sup> mutantes foram descritos, sendo que o primeiro apresenta as substituições C467T (Pro156Leu) e C564T, e o segundo, a mutação silenciosa A297G, não afetando a atividade das transferases (OLSSON, 2001 apud BATISSOCO; NOVARETTI, 2003).

O alelo A<sup>2</sup> (A201) é caracterizado pela substituição de uma única base no nucleotídeo (nt) 467 e uma deleção no nt 1060. Essa deleção ocorre em um dos três resíduos consecutivos de citosina (C), próximo à carboxila terminal. Em consequência, são adicionados à transferase A, 21 aminoácidos, o que diminui sua atividade e leva a um espectro limitado de substrato aceptor. A mutação no nt 467, C –T, leva à troca do aminoácido prolina pela leucina, não apresentando nenhuma relação quanto à atividade da transferase (NOVARETTI, 2003; YAMAMOTO, 2000 apud BATISSOCO; YAMAMOTO, 1992 apud SVENSSON et al., 2009).

Recentemente, alguns estudos demonstraram a presença de outros três variantes em indivíduos detectados sorologicamente como A<sup>2</sup> : A106, A107 e R101 (SCHENBEL-BRUNNER, 2001 apud BATISSOCO; NOVARETTI, 2003).

Ogasawara et al. (1998), estudando o desequilíbrio entre os fenótipos A2 e A2B em japoneses, onde a frequência de A2B é bem mais alta que A2, observaram que o alelo R101 é frequente em indivíduos A2B e menos frequente em indivíduos

A2. O alelo R101 seria responsável pelo fenótipo A2 em heterozigotos com alelos B, e responsável pelo fenótipo A1 em heterozigotos com alelos O. As frequências relativas dos fenótipos A2 e A2B em indivíduos A e AB positivos, respectivamente, são quase iguais na população caucasiana (VOAK; MOURANT, 1970, 1976 apud OGASAWARA et al., 1998). Em contraste, em algumas populações negras e orientais, incluindo os japoneses, a frequência de A2B é significativamente maior que a frequência de A2 (YAMAGUCHI, 1967 apud OGASAWARA et al., 1998). Geralmente diz-se que A1 possui dois antígenos, 'A' e A1, enquanto que A2 possui um, o antígeno 'A' (HARMENING; FIRESTONE, 2006). Essa característica explicaria porque o subgrupo A1 reage melhor com anti-A1 e anti-A e o subgrupo A2 reage com anti-A.

Bioquimicamente, a transferase A2 não consegue ligar carboidratos nas cadeias H ramificadas, mas, somente nas lineares, conduzindo às diferenças quantitativas entre os dois fenótipos. Esse fato também é demonstrado pela ocorrência, em aproximadamente 4% dos indivíduos A2, de anticorpos naturais anti-A1. Por isso, utiliza-se a lectina anti-A1 (extrato de *Dolichos biflorus*) para a definição de subgrupos 'A'. Essa lectina reage especificamente com açúcares ligados somente às estruturas H do tipo ramificadas, presentes, portanto, somente nos indivíduos de fenótipo A1 (GIRELLO; KÜHN, 2007).

Também existem diferenças qualitativas, considerando que 1% a 8% dos indivíduos A2 produzem anti-A1 em seus soros, e 25% dos indivíduos A2B produzem anti-A1; esta característica ocorre devido a alguma alteração na estrutura antigênica, porque os indivíduos A2 e A2B não podem reconhecer o antígeno A1 como parte da estrutura de sua hemácia e são imunologicamente estimulados a produzir anticorpos específicos A1 (HARMENING; FIRESTONE, 2006).

Uma teoria mais detalhada, dos subgrupos ABO, foi proposta pela identificação de quatro formas diferentes de antígenos H, duas são cadeias retas não ramificadas (H1, H2), e as outras duas são cadeias complexas ramificadas (H3, H4). H1 e H4 correspondem a estruturas precursoras nas quais a enzima A pode atuar para converter o antígeno H em glicolipídios ativos do grupo sanguíneo 'A'. Estudos sobre as características químicas e físicas das enzimas transferases A1 e A2 demonstraram que essas duas enzimas são diferentes qualitativamente. Glicolipídios H1 e H2 (cadeias Tipo 1 e Tipo 2) de cadeia reta podem ser convertidos em antígenos Aa e Ab, respectivamente, por enzimas A1 e A2, sendo a

enzima A2 menos eficiente. As estruturas ramificadas mais complexas H3 e H4 (cadeias Tipo 3 e Tipo 4) podem ser convertidas em antígenos Ac e Ad pela enzima A1 e somente muito fracamente pela enzima A2 (Figura 8).

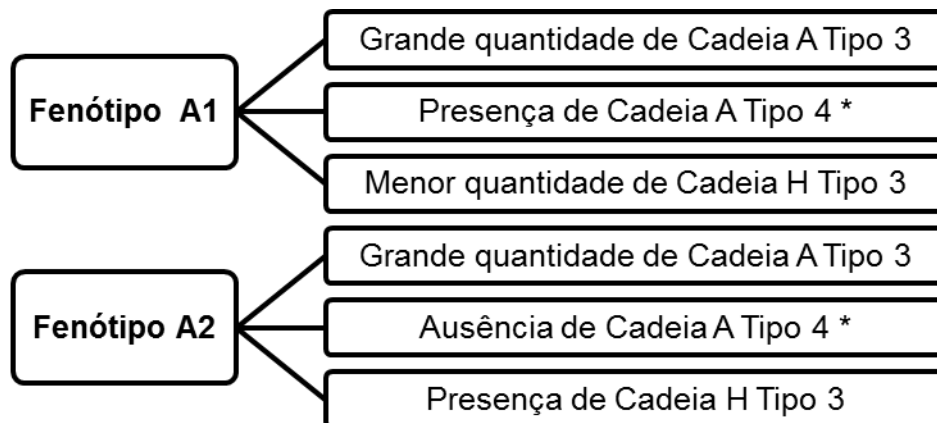
Conseqüentemente, mais antígenos H não convertidos estão disponíveis nas hemácias do grupo A2 e somente os determinantes Aa e Ab são formados a partir das estruturas H1 e H2. Nas hemácias de alguns indivíduos A2, Ac é extremamente baixo e Ad está completamente ausente. É de se esperar que estes sejam os indivíduos nos quais se encontraria Anti-A1 no soro. Este anticorpo anti-A1 pode realmente ser anticorpo contra os determinantes Ac e Ad, os quais estes indivíduos A2 não possuem (HARMENING; FIRESTONE, 2006) (Quadro 1).

Em meados do século XX, foram publicados artigos relativos a diferenças qualitativas entre os subgrupos A1 e A2. O consenso de tais publicações foi de que a base química do fenótipo A1 é constituída pela presença de grande quantidade de cadeias A Tipo 3, quantidade moderada de cadeias A Tipo 4 e menor quantidade de cadeias H Tipo 3. Inversamente, o subgrupo A2 é caracterizado pela ausência, ou pela presença moderada de cadeia A Tipo 3, ausência de cadeias A Tipo 4, e presença de cadeia H Tipo3. Em relação a tais afirmações, Svensson et al. (2009) demonstraram que a maior diferença glicolipídica entre os fenótipos A1 e A2 está na dominância dos glicolipídios de cadeia A Tipo 4 no fenótipo A1 (Figura 9).



Hemácias	Características
A2	Predominantemente Aa e Ab e sítios antigênicos H3 e H4 não-convertidos
A1	Determinantes Aa, Ab, Ac e Ad e sítios antigênicos H3 e H4 não-convertidos

**Quadro 1** – Características estruturais das hemácias A1 e A2. Fonte: HARMENING; FIRESTONE, 2006.



**Figura 9** – Diferenças glicolípídicas entre os fenótipos A1 e A2. Fonte: Construção da autora.

Como já foi dito, a maioria dos lactentes do grupo 'A' parece ser A2 ao nascimento, com o subsequente desenvolvimento de A1 alguns meses mais tarde. Os recém-nascidos possuem uma deficiência de antígenos H3 e H4 ramificados e, portanto, também de antígenos Ac e Ad, o que possivelmente explica o fenótipo A2. As células adultas contêm uma concentração mais elevada de estruturas ramificadas H3 e H4 e, conseqüentemente, apresentam determinantes Ac e Ad nos indivíduos A1 (HAKOMORI, 1999; HARMENING; FIRESTONE, 2006).

## 2.5 Técnicas atuais

Existem várias metodologias utilizadas para a investigação dos subgrupos A1 e A2, o gel teste é o que mais se destaca e seu emprego é frequente. Este teste é realizado em cartão-gel e utiliza a presença de anti-A1 (humano) ou anti-H (monoclonal), o que representa uma nova forma de leitura das reações de aglutinação. Estes testes possuem maior sensibilidade, procedimentos

padronizados e de simples execução, são estáveis por dias, oferecem maior biossegurança e resultados objetivos (DIAMED, 2009).

Além das técnicas com antissoros (tubo e cartão gel) para a detecção de subgrupos sanguíneos, ainda se pode utilizar métodos mais específicos como a genotipagem por PCR (Reação de Polimerase em Cadeia). Os avanços na biologia molecular na última década têm providenciado o conhecimento de diferentes alelos ABO, assim como diversas técnicas para sua detecção (BATISSOCO; NOVARETTI, 2003).

Entre os mais frequentes métodos descritos para a genotipagem destacam-se a PCR juntamente com o estudo do polimorfismo de comprimento de fragmentos de DNA, a amplificação do DNA por meio de primers alelos específicos (ASP), a detecção de alterações de conformação das cadeias simples do DNA e outras diversas técnicas como o sequenciamento automático (TERGUSON-SMITH et al., 1976).

## **2.6 Importância dos subgrupos A1 e A2**

### **2.6.1 Banco de sangue**

A presença do Antígeno A2 pode causar problemas em transfusões de hemocomponentes. Segundo Harmening (2006), 1% a 8% dos indivíduos A2 produzem anti-A1 em seus soros e 25% dos indivíduos A2B produzem anti-A1.

Estudando o envolvimento dos subgrupos de 'A' nas reações transfusionais, Wiener (1941) concluiu que a maioria dos grupos 'A' e 'AB' não continham anticorpos irregulares anti-A1, e que, quando presentes, são minimamente ativos à temperatura corporal. Portanto a transfusão de hemácias do grupo A1 a um receptor com este anticorpo raramente leva a uma reação transfusional hemolítica. Esses anticorpos não causam Doença Hemolítica do Recém-Nascido (HARMENING; FIRESTONE, 1992; LIMA et al., 2001).

Porém, essa crioaglutinina IgM é detectada no teste de compatibilidade e na tipagem inversa, o que pode fazer com que várias bolsas de sangue sejam

descartadas por uma 'falsa' incompatibilidade. É um fator de discrepância ABO (LEE, 1998). Também está presente a possibilidade de se fazer uma tipagem incorreta das hemácias doadoras. Como A2 é um antígeno fraco, os eritrócitos podem ser tipados como do grupo O. Se o receptor A2 recebe hemácias do grupo O, isso não traz nenhum prejuízo. Se, entretanto hemácias do grupo A2 são administradas a um receptor do grupo O, o resultado pode ser uma reação hemolítica intravascular transfusional, pois o anti-A do receptor destruirá as células A2 (LEE et al., 1998).

Na maioria das vezes o anticorpo anti-A1 é um anticorpo frio e não causa problemas transfusionais, mas ele pode, esporadicamente, atuar a quente, e sua presença em indivíduos A2 que receba sangue de um doador A1 poderá provocar reação transfusional. De qualquer modo, independentemente de o anticorpo anti-A1 atuar a frio ou a quente, é importante detectar os indivíduos A2 e A2B que possuem esse anticorpo, pois eles causam problemas nos testes de compatibilidade sanguínea (BEIGUELMAN, 2003).

Com relação à expressão antigênica do subgrupo A2, pode-se relatar um caso, ocorrido na cidade de Porto Alegre, onde uma transfusão ABO incompatível, de concentrado de hemácias A2 em receptor do grupo sanguíneo B não resultou em hemólise imediata, provavelmente, devido à baixa expressão antigênica das hemácias A2 do doador e/ou o baixo título de anticorpos anti-A do receptor. Embora o paciente não tenha sofrido reação hemolítica fatal, este erro certamente contribuiu para retardar seu pronto restabelecimento (CAMPOS et al., 2010). Pela necessidade de transfusões de concentrado de plaquetas em pacientes da clínica de hematologia-oncologia torna-se pertinente ressaltar a importância dos antígenos ABO expressos na superfície das plaquetas.

Em estudos realizados entre os anos de 2005 e 2009 foi relatada a importância do subgrupo sanguíneo A2 nas transfusões de concentrado de plaquetas (COOLING et al., 2005; JULMY et al., 2009). Os autores constataram que a identificação do subgrupo A2 em doadores de plaquetas, para uma transfusão ABO incompatível, isto é, receptor do grupo 'O' ou 'B' resultava em bom rendimento da sobrevivência das plaquetas. Os doadores do subgrupo A2 apresentam uma menor expressão de antígenos A, também na superfície das plaquetas, o que elevaria o rendimento desta transfusão.

Os dados apresentados por Julmy et al, (2009) indicaram claramente que em



crianças a transfusão de plaquetas, por aférese tem menor eficácia, com exceção de plaquetas de doadores subgrupo A2. Com concentrado de plaquetas mostrou comparável eficácia para transfusões ABO idênticas.

Clinicamente, transfusão de plaquetas ABH-incompatíveis pode estar associada com a diminuição na recuperação, sobrevida encurtada, e um aumento na incidência e início da refratariedade HLA-imune. Incompatibilidade ABH pode levar a provas cruzadas positivas plaquetárias, agindo sinergicamente com incompatibilidade HLA ocasionando um decréscimo na recuperação e sobrevida pós-transfusão de plaquetas (COOLING et al., 2005).

### 2.6.2 Medicina legal

A investigação dos subgrupos de 'A' adquire grande importância quando se observa que os estudos de investigação de paternidade podem utilizar como marcadores os fenótipos A1 e A2 (VALDÉS et al., 1997).

### 2.6.3 Transplante de órgãos

Segundo Nelson et al. (1992), em certas circunstâncias, órgãos de doadores pertencentes ao subgrupo sanguíneo A2 podem ser transplantados em receptores do grupo 'O' ou 'B', levando-se em conta a baixa expressão antigênica do subgrupo A2. Além disso, soro de receptores foram analisados para as formas de imunoglobulina G (IgG) e imunoglobulina M (IgM) de anticorpos contra eritrócitos A1 e A2, existindo uma forte correlação entre um baixo (menor ou igual a 1:8) título de IgG anti-A1 e a função do enxerto a curto e longo prazo. Receptores com títulos maiores que 1:8 no soro, antes do transplante, têm muito mais chances de falha no enxerto. O mesmo autor não recomenda transplante de rim, de indivíduos A2 para receptores 'B' ou 'O', com títulos maiores que 1:8, sendo que a escolha de receptores com títulos menores possuem igual função que pacientes ABO compatíveis (NELSON, 1992). O mesmo autor observou que pacientes pertencentes

ao grupo sanguíneo 'B' apresentam, ao longo do tempo, menor título de anti-A1 IgG que os pacientes do grupo 'O'. A sobrevivência do transplante foi de 89% se comparada com 58% dos receptores do grupo 'O'. Sendo assim, recomenda-se a triagem de todos os doadores de órgãos para o grupo sanguíneo A2 e que este transplante pode ser seguro e bem-sucedido em certos pacientes com grupo sanguíneo 'B' ou 'O'.

Em relação aos transplantes de fígado, Fishbein et al,(1999), em trabalho realizado com seis doadores pertencentes ao subgrupo A2 para transplantes em receptores 'O', sem aumento do uso de imunossupressores e sem restrição no que diz respeito aos títulos de anticorpos, todos os seis pacientes tinham altos títulos de anti-A (>1:8), e todos os transplantes funcionaram normalmente. Para os autores, transplante de fígado de doadores do grupo sanguíneo A2 para receptores 'O' é seguro e pode ser realizado sem a perda do transplante e sem considerar o título de anti-A. O transplante de fígado de A2 para receptores 'O' pode, parcialmente, compensar o maior uso de fígados 'O' para outros grupos sanguíneos.

Nos anos 1970, ensaios clínicos foram iniciados transplantando rins de subgrupos sanguíneos A2 para receptores 'O'. Os tecidos de indivíduos A2 expressam reduzidos antígenos se comparados com o subgrupo A1 e os receptores não teriam especial pré-tratamento padrão para imunossupressão.

Em crianças menores de três anos de idade, muitos transplantes de fígado ABO incompatíveis têm sido bem-sucedidos, especialmente com doadores vivos. Em relação a transplantes coração/coração, pulmão/pulmão, há relatos de poucos sucessos. Recentemente, uma série de transplantes de coração ABO incompatíveis realizados em crianças pequenas foram relatados com uma alta taxa de sucesso (RYDBERG, 2001).

## **2.7 Anemia**

Considerando que a partir do nascimento o recém-nascido sofre importantes modificações do seu quadro hematológico com a finalidade de se adaptar ao meio extra-uterino e pelo risco do desenvolvimento da anemia que acomete, principalmente, as crianças entre 6 e 12 meses de idade torna-se necessária a

abordagem deste tema.

Anemia é uma afecção caracterizada por deficiência de oxigenação tecidual decorrente de alteração dos transportadores de oxigênio, da capacidade de liberá-lo às células e, destas, de aproveitá-lo (MARCONDES et al., 2003). A anemia é definida pela diminuição da taxa de hemoglobina abaixo dos mínimos arbitrados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 13g/dl para homens adultos, 12 g/dl para mulheres adultas e crianças de 6 a 12 anos, e 11 g/dl para gestantes e crianças de seis meses a seis anos (FAILACE, 2003). Quando este quadro ocorre devido à deficiência de ferro é denominada anemia ferropriva, sendo esse o tipo mais comum de anemia nutricional na infância, e de grande relevância não só nos países em desenvolvimento, como naqueles altamente industrializados (BRANDALISE; MATSUDA, 1981).

De modo geral, a anemia instala-se em consequência de perdas sanguíneas e/ou por deficiência prolongada da ingestão de ferro alimentar, principalmente em períodos de maior demanda, como crianças e adolescentes que apresentam acentuada velocidade de crescimento. Além disso, a gestação e lactação também são períodos de maior demanda de ferro (QUEIROZ; TORRES, 2000).

Ao nascimento, 60% a 80% da hemoglobina total do recém-nascido é constituída pela hemoglobina F (fetal com maior afinidade pelo oxigênio). A dosagem média de hemoglobina total no cordão é de  $16,9 \pm 1,6$ g/dl e, no caso de prematuros,  $15,9 \pm 2,4$ g/dl. A concentração de hemoglobina total/hematócrito decresce gradualmente nas primeiras semanas de vida, fato chamado de 'anemia fisiológica'. É considerada fisiológica por ser autolimitada, geralmente bem tolerada e não associada à anormalidade na infância. A taxa de declínio depende da idade gestacional ao nascimento; a dosagem de hemoglobina total/hematócrito pode ser de até 7g/dl/ 20% em recém-nascidos com quatro semanas de vida e que nasceram com menos de 1kg. A 'anemia fisiológica' requer tratamento somente se sintomática. Embora uma redução da quantidade de hemoglobina circulante diminua a capacidade carreadora do oxigênio do sangue, poucas alterações ocorrem até que o nível de hemoglobina caia abaixo de 7-8g/dl. Abaixo disso, a palidez torna-se evidente na pele e membranas mucosas (HOSPITAL SÍRIO-LIBANÊS, 2005).

Entretanto, fraqueza, taquipnéia, dispnéia aos esforços, taquicardia, dilatação cardíaca e insuficiência cardíaca congestiva resultam da anemia crescente, independente de sua causa (BEHRMAN; KLIEGMAN; JENSON, 2005). O ferro é um

dos micronutrientes mais estudados e melhor descritos na literatura, desempenhando importantes funções no metabolismo humano, tais como transporte e armazenamento de oxigênio, reações de liberação de energia na cadeia de transporte de elétrons, conversão de ribose a desoxirribose, cofator de algumas reações metabólicas essenciais (COOK, 1982 apud PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000). O ferro pode ser encontrado sob duas formas: ferrosa ( $Fe^{++}$ ) e férrica ( $Fe^{+++}$ ) e seu conteúdo corpóreo é de 3 a 5g, sendo que, parte desempenha funções metabólicas e oxidativas (70% a 80%) e outra, encontra-se sob a forma de armazenamento como ferritina e hemossiderina no fígado, baço e medula óssea (20% a 30%) (QUEIROZ; TORRES, 2000).

Segundo alguns cálculos, a deficiência de ferro e a anemia ferropênica afetam mais de 3,5 milhões de seres humanos. Os grupos mais afetados pela anemia ferropênica em países industrializados são as gestantes (56%), os escolares (53%) e os pré-escolares (42%). Esta situação pode ser agravada pela presença de enfermidades como a malária, as infestações parasitárias, as enfermidades infecciosas frequentes e outras deficiências alimentares, que podem afetar indiretamente a formação da hemoglobina, em muitos casos, devido às perdas de sangue que ocasionam. Os principais fatores de risco são a idade e a desigualdade social (nível socioeconômico precário, baixa renda familiar e aglomerações). Em geral, as crianças são especialmente susceptíveis à anemia, tanto em países menos industrializados como em zonas suburbanas de países industrializados (GARIBAY, 2003). Em sua fase mais avançada, está associada a sintomas clínicos como fraqueza, diminuição da capacidade respiratória e tontura. Mesmo na ausência de anemia, a deficiência de ferro pode acarretar distúrbios neurocognitivos (COOK, 1982 apud PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000). Como pode ocorrer em decorrência de múltiplas causas é uma síndrome. Sua prevalência, liderada pela anemia ferropênica, é tão elevada que se constitui em problema mundial de saúde pública (FAILACE, 2003).

### 2.7.1 Hemoglobina fetal

Nos fetos, a obtenção de oxigênio a partir do sangue da mãe é conseguida

devido ao desenvolvimento da hemoglobina fetal. Duas das quatro cadeias da hemoglobina fetal e do adulto (cadeias  $\alpha$ , alfa) são idênticas, mas, a hemoglobina no adulto tem duas cadeias  $\beta$  (beta), enquanto que o feto tem duas cadeias  $\gamma$  (gama). As cadeias  $\beta$  normais ligam-se ao difosfoglicerato, o seu regulador natural, que participa na liberação do oxigênio. As cadeias  $\gamma$  não se ligam da mesma forma ao difosfoglicerato e por consequência têm uma maior afinidade para com o oxigênio. Esta pequena diferença na afinidade medeia a transferência de oxigênio da mãe para o feto. No feto, a mioglobina do músculo possui uma afinidade ainda maior para o oxigênio, de forma que as moléculas do oxigênio passam da hemoglobina fetal para serem armazenadas e usadas no músculo. A hemoglobina fetal não é prejudicial na infância, e nos humanos, a reposição da hemoglobina fetal pela hemoglobina adulta não se completa antes dos seis meses de vida (Figura 10).

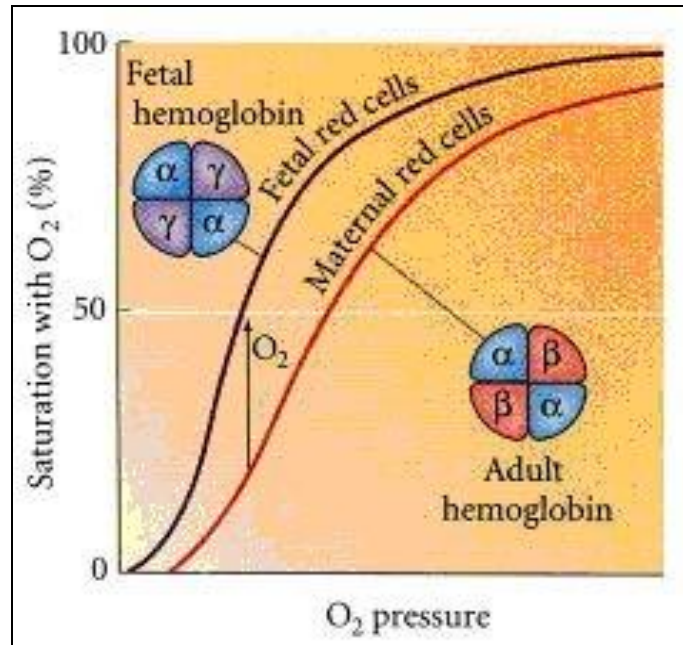
Após a 8ª semana gestacional, a Hb F é a hemoglobina predominante; na 24ª semana ela constitui 90% de hemoglobina total. Durante o terceiro trimestre, um declínio gradual ocorre, de maneira que, ao nascimento, representa 70%, em média, do total. A síntese de Hb F diminui rapidamente no pós-natal, e entre 6-12 meses de idade apenas um traço está presente (BEHRMAN; KLIEGMAN; JENSON, 2005).

Cerca de 80% da hemoglobina do recém-nascido é constituída pela hemoglobina fetal. Essa hemoglobina possui maior afinidade com o oxigênio do que a do adulto, levando a uma transferência de oxigênio da mãe para o feto. Os níveis mais reduzidos de 2,3 DPG e a hemoglobina fetal resultam em melhor transporte de oxigênio para os tecidos, embora ainda inferior ao transporte de hemoglobina A. Esta situação vai se modificando progressivamente até que, entre os quatro e seis meses, se iguala à situação do adulto, embora a hemoglobina fetal seja completamente substituída pela hemoglobina A ao final do primeiro ano de vida (ELIAS; SOUZA, 2009).

A partir do nascimento o recém-nascido sofre importantes modificações do quadro hematológico com a finalidade de se adaptar ao meio extrauterino. As reservas de ferro acumuladas pelo feto são mobilizadas, a partir do nascimento, para suprir as necessidades do nutriente, impostas pelo crescimento acelerado e pela reposição das perdas por meio das fezes e urina (OSÓRIO, 2002).

Para o recém-nascido, as reservas de ferro formadas durante a gestação são particularmente importantes, pois constituirão importante fonte de ferro endógeno que, juntamente com a fonte exógena proveniente do leite materno, garantirão as

necessidades de ferro até os 4-6 meses de vida (QUEIROZ; TORRES, 2000).



**Figura 10** – A hemoglobina fetal tem maior afinidade para o oxigênio do que a hemoglobina adulta.  
 Fonte: <http://medicina.med.up.pt/bcm/trabalhos/2006/aminhaproteinafavorita/fetal.jpg>.

### 2.7.2 Anemia fisiológica do recém-nascido

Observa-se nas primeiras semanas de vida uma queda acentuada, autolimitada, da taxa de hemoglobina, comum a todos os lactentes e inversamente proporcional à maturidade fetal. Trata-se de uma queda fisiológica da concentração de hemoglobina, cujo pico ocorre na oitava semana de vida. Esta queda é conhecida como *anemia fisiológica do lactente*, não sendo evitada por qualquer medida preventiva e nem acompanhada de qualquer anomalia (STEKEL, 1984 apud OSÓRIO, 2002). Em torno da oitava e décima segunda semana de vida ocorre a retomada de produção da eritropoiese e o ferro armazenado será reutilizado (BRANDALISE; MATSUDA, 1981; SIGULEM, 1988). Essa reserva de ferro ao nascer é constituída durante a vida intra-uterina, fase em que o feto necessita manter uma taxa elevada de hemoglobina para compensar a hipóxia da circulação placentária (DUARTE et al., 2007).

A anemia fisiológica não requer tratamento além da dieta que contenha nutrientes essenciais necessários para a hematopoese normal, especialmente ácido fólico e ferro (BEHRMAN; KLIEGMAN; JENSON, 2005). As reservas de ferro, do nascimento aos seis meses de idade, quando a criança recebe com exclusividade o leite materno, atendem às necessidades fisiológicas da criança, não necessitando de qualquer forma de complementação e nem de introdução de alimentos sólidos (OSÓRIO, 2002). Isto se deve à biodisponibilidade elevada do ferro no leite humano, sendo cerca de 50% de seu ferro absorvido, o que compensa a sua baixa concentração (0,5-1 mg de ferro/litro). Por outro lado, segundo alguns autores, crianças com aleitamento materno exclusivo devem receber suplementação aos quatro meses de idade. Ou seja, um bebê está em situação precária com relação ao ferro, quando a dieta se torna inadequada ou há perda de sangue externa, a anemia surge rapidamente (BEHRMAN; KLIEGMAN; JENSON, 2005).

Para o recém-nascido a termo e com peso adequado à idade gestacional, o estoque deste nutriente ao nascimento (75mg/kg) garante o suprimento até o quarto ou sexto mês, quando o ferro da dieta passa a ser fundamental na prevenção da anemia, visto que, neste período de vida, a intensa velocidade de crescimento provoca esgotamento das reservas férricas do bebê (LOGGETTO; FISBERG; BRAGA, 1995; SARFARC; STEFANINI; LERNER, 1995; SIGULEM, 1988). Os lactentes, particularmente, estão submetidos a uma maior dependência das fontes dietéticas de ferro, em razão dos elevados requerimentos fisiológicos deste elemento para atender à intensa velocidade de crescimento (SOUZA et al., 1997). A partir dos seis meses, ocorre o esgotamento das reservas de ferro, e a alimentação passa a ter papel predominante no atendimento às necessidades deste nutriente. É necessário que o consumo de ferro seja adequado à demanda requerida para este grupo etário (OSÓRIO, 2002). O padrão dietético comum observado nas crianças com deficiência de ferro é o consumo de grandes quantidades de leite de vaca e de alimentos não suplementados com ferro (BEHRMAN; KLIEGMAN; JENSON, 2005).

### 2.7.3 Fisiopatologia

A deficiência de ferro desenvolve-se no organismo em três estágios. No

primeiro estágio, há diminuição da ferritina sérica, que está diretamente relacionada com as reservas de ferro. No segundo estágio, há declínio da concentração de ferro sérico e aumento da capacidade de ligação do ferro. Quando há restrição na síntese de hemoglobina, ocorre o terceiro estágio, podendo-se instalar a anemia (HADLER JULIANO; SIGULEM, 2002).

O déficit de ferro pode levar a alterações da pele e mucosas gastrintestinais, peso baixo para a idade, redução do trabalho físico e da função imunitária (VANNUCCHI; FREITAS; SZARFARC, 1992). A palidez é o sinal mais importante da deficiência. Quando o nível de ferro cai para menos de 5g/dl, a irritabilidade e a anorexia são proeminentes. Um número de descrições sugere que nesta anemia, e mesmo nas deficiências férricas sem anemia significativas, são afetados a atenção, a concentração e o aprendizado das crianças e adolescentes (BEHRMAN; KLIEGMAN; JENSON, 2005). Quando a deficiência de ferro ocorre durante os primeiros anos de vida, há evidências de atraso no desenvolvimento psicomotor e alterações de comportamento (LOZOFF, 1987 apud CARDOSO; PENTEADO, 1994).

Segundo trabalho realizado em 1994, na cidade de São Paulo, verificou-se que a anemia atinge mais as crianças do sexo masculino (63,1%) que as do feminino (55,2%). Nas faixas etárias de seis a oito meses e de 18 a 23 meses foram detectadas, respectivamente, 55,5% e 55,8% de crianças anêmicas, percentual significativamente inferior ao encontrado em crianças de nove a 11 meses e de 12 a 17 meses, 62,8%. A maior ocorrência de anemia no sexo masculino talvez possa ser explicada pela maior velocidade de crescimento apresentada pelos meninos, nesta faixa etária, acarretando maior necessidade de ferro pelo organismo, não suprida pela dieta (TORRES; SATO; QUEIROZ, 1994).

A anemia maior nos meninos com idades entre seis e 12 meses, também foi relatada em um estudo realizado por Spinelli et al. (2005) em várias regiões do Brasil, com 67,6% de anêmicos. Em linhas gerais a Região Sul foi a de menor risco para a anemia, enquanto a Região Sudeste foi a região de maior risco, tomando o Sul como referência. Segundo este estudo a anemia esteve significativamente associada com a região de moradia, a escolaridade materna, a idade materna, o tempo de gestação, o peso ao nascer, o estado nutricional, o sexo, a situação atual de aleitamento e o consumo de alimentos com ferro.



#### 2.7.4 Avaliação laboratorial

Em relação à forma de se avaliar a anemia, a dosagem de hemoglobina, medindo apenas um elemento, não serve isoladamente com critério de diagnóstico, sem o conhecimento do volume sanguíneo total. Como na prática não é feita a determinação do volume total sanguíneo, a avaliação da anemia se baseia apenas na determinação da hemoglobina, contagem de glóbulos vermelhos e hematócitos, levando em consideração as situações em que se pode encontrar falsas anemias por hemodiluição ou resultados normais, por hemoconcentração. A medida da massa sanguínea total é muito importante, pois é a massa total que assegura o transporte de oxigênio para os tecidos (VERRASTRO, 2005).

Segundo alguns autores a alternativa para países em desenvolvimento, onde nem sempre é possível o uso de vários parâmetros combinados, é utilizar a concentração de hemoglobina isoladamente; entretanto, deve-se considerar que nesse caso o diagnóstico de anemia não é específico para deficiência de ferro (PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000). A avaliação de deficiência de ferro no organismo é melhor realizada em combinação de vários parâmetros hematológicos e bioquímicos. Na sua impossibilidade, a alternativa é o uso isolado da dosagem de hemoglobina (PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000).

#### 2.7.5 Tratamento

O paradigma historicamente mais remoto dos modelos de prevenção e tratamento consistia no emprego de um prego implantado em um limão, utilizando-se o suco de fruta no dia seguinte, constituindo uma engenhosa estratégia de uso simultâneo de ferro (a conhecida 'ferrugem', que manchava de vermelho escuro o limão) e vitamina C, até então desconhecida. É também desta fase a recomendação de se usar o sangue de vísceras dos animais na alimentação como meio de combater as anemias. Estas experiências precederam a utilização farmacológica do ferro em escala industrial, mediante diferentes combinações de compostos orgânicos e inorgânicos em geral (FILHO; FERREIRA, 1996).

A estratégia ideal para prevenir a deficiência de ferro consiste em praticar o aleitamento materno exclusivo por seis meses, com administração de sais de ferro a partir do terceiro ou quarto mês de vida. A maneira mais adequada para prevenir a deficiência de ferro quando o lactente não recebe leite materno é com o uso de fórmulas suplementadas com ferro durante o primeiro semestre de vida. A partir dos seis meses de idade, a alimentação complementar deve basear-se em cereais suplementados com ferro (fumarato ferroso), em carnes ou com suco de alimentos primários. Em crianças de um a cinco anos de idade se recomenda implementar três principais mudanças para satisfazer as necessidades de ferro: na medida em que as condições econômicas da família permitam, a carne, o pescado e as aves devem ser consumidas com regularidade (GARIBAY, 2003).

A terapêutica com ferro deve ser feita após o diagnóstico causal para se evitar a recidiva da anemia. O ferro deve ser administrado de preferência pela via oral, reservando a parenteral para os casos de intolerância ou quando há necessidade de doses elevadas diárias (VERRASTRO, 2005). Os sais ferrosos (sulfato, fumarato, gluconato, succinato, citrato, entre outros) são mais baratos e absorvidos mais rapidamente, porém, produzem mais efeitos colaterais. Sua absorção é maior quando administrado uma hora antes das refeições (QUEIROZ; TORRES, 2000). O conteúdo de ferro varia nos diferentes sais. A posologia sugerida é de 3 a 5 mg de ferro elementar por quilo de peso por dia, dividida em 2 a 3 doses. Para que a eritropoiese se restabeleça, é fundamental que a dieta oferecida durante o tratamento seja balanceada, assegurando nutrientes essenciais para aumentar a biodisponibilidade de ferro da dieta.

A resposta ao tratamento é rápida, e o tempo de duração depende da intensidade da anemia (QUEIROZ; TORRES, 2000).

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo geral**

Teve por objetivo determinar a frequência de recém-nascidos pertencentes aos dois principais subgrupos de 'A' (A1 e A2) logo após ao nascimento, buscando possível alteração deste parâmetro após 6 e 12 meses de vida e verificar, paralelamente, os níveis de hemoglobina para a detecção de anemia.

### **3.2 Objetivos específicos**

- Determinar a frequência de recém-nascidos pertencentes aos subgrupos A1 e A2;
- Identificar a frequência da expressão do antígeno 'A1' no período entre seis e 12 meses de idade, em lactentes inicialmente tipados como pertencentes ao subgrupo A2;
- Verificar os níveis de hemoglobina para detecção de anemia nos recém-nascidos acompanhados durante o período estudado.

## 4 MATERIAL E MÉTODO

Como considerações bioéticas, os procedimentos atenderam à Resolução n.196/96 (BRASIL, 1996) sobre pesquisa envolvendo seres humanos. O projeto foi submetido à apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria. Os dados foram coletados mediante aquiescência da instituição e dos sujeitos de pesquisa, aos quais foram garantidos o sigilo e o anonimato, por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A). O projeto foi aprovado e registrado sob protocolo CAAE: 0058.0.243.000-07.

Foram triadas, inicialmente, 1143 amostras provenientes do cordão umbilical de Recém-nascidos atendidos no HUSM. Entre estas, foram selecionadas para o estudo 471 amostras do grupo sanguíneo “A”, independente do gênero do RN, excluindo-se amostras dos demais grupos sanguíneos.

Após obtenção das amostras de RN com tipagem sanguínea do grupo “A”, foi realizada a extratificação destas amostras em dois subgrupos sanguíneos A1 e A2. Após identificados os RN com grupo sanguíneo A2 entrou-se em contato com a mãe destes RN.

No momento da entrevista com as mães foi entregue o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A) e após aplicado um questionário (Apêndice B) para obtenção de dados maternos e do RN que incluíam: nome da mãe, tipo sanguíneo da mãe/pai da criança, endereço, nome da criança, peso ao nascer, sexo.

Os procedimentos para a verificação do grupo sanguíneo e dosagem de hemoglobina foram realizados, novamente, entre 6 e 12 meses do recém-nascido.

### 4.1 Pesquisa de subgrupos de A

As amostras que apresentaram tipagem ‘A’, foram testadas com lectina anti-A1 obtida a partir do *Dolichos biflorus*, da Fresenius Home Care Brasil Ltda., para determinação do subgrupo ABO. Essa técnica foi realizada em tubos de vidro de

10x75 mm, limpos e identificados, onde foram adicionados 50µl da suspensão de hemácias a 5% (preparada previamente) e 50µl de anti-A1; em seguida, as amostras foram homogeneizadas e incubadas em temperatura ambiente por 15 minutos, determinados de acordo com as instruções constantes na bula do fabricante. Passado este período de incubação, estes tubos contendo as amostras e o antissoro foram então centrifugados a 3.400 rpm em centrífuga de mesa (Hemofuge I), por 15 segundos. Após a centrifugação, foi observada a presença ou não de aglutinação e os resultados registrados. Uma vez registrado o subgrupo, as amostras tipadas como A2 foram escolhidas para a entrevista com as mães dos recém-nascidos.

## **4.2 Retipagem do subgrupo sanguíneo e Dosagem de hemoglobina**

Após identificados os RN do subgrupo A2, foi contactada a mãe do RN, e obtido o consentimento para a verificação do subgrupo sanguíneo e dosagem de hemoglobina dos seis e doze meses do RN. No mesmo momento, foi aplicado um questionário para obtenção de dados maternos e do RN como: peso, idade, nome da criança.

### **4.2.1 Obtenção da amostra de sangue aos 6 e 12 meses de idade**

Neste retorno para a retipagem, foi aproveitada a mesma punção do calcanhar para a realização da coleta de sangue para a verificação dos níveis de hemoglobina.

A coleta do calcanhar teve por finalidade oferecer o menor desconforto para a criança, de acordo com os procedimentos a seguir descritos e o fluxograma da Figura 11.

- a criança foi colocada no colo da mãe;
- foi utilizada compressa úmida quente no local ( $\pm$  5 minutos) para melhorar o fluxo sanguíneo;

- foi feita assepsia do calcanhar com álcool a 70%;
- a punção da pele foi feita na superfície pósterolateral do calcanhar;
- o desconforto se resume à picada da lanceta, sendo que após a coleta o local não requer nenhum cuidado especial;
- o sangue foi colhido em lâmina para o teste com reagente anti-A1, e foi, também, utilizado para o teste de dosagem de hemoglobina e hematócrito;
- após esse procedimento, foi colocado curativo no local da punção;
- a criança permaneceu no colo da mãe ou responsável durante todo o procedimento da coleta para o seu bem-estar;
- esta técnica não envolve risco de vida ou contaminação aos pacientes.

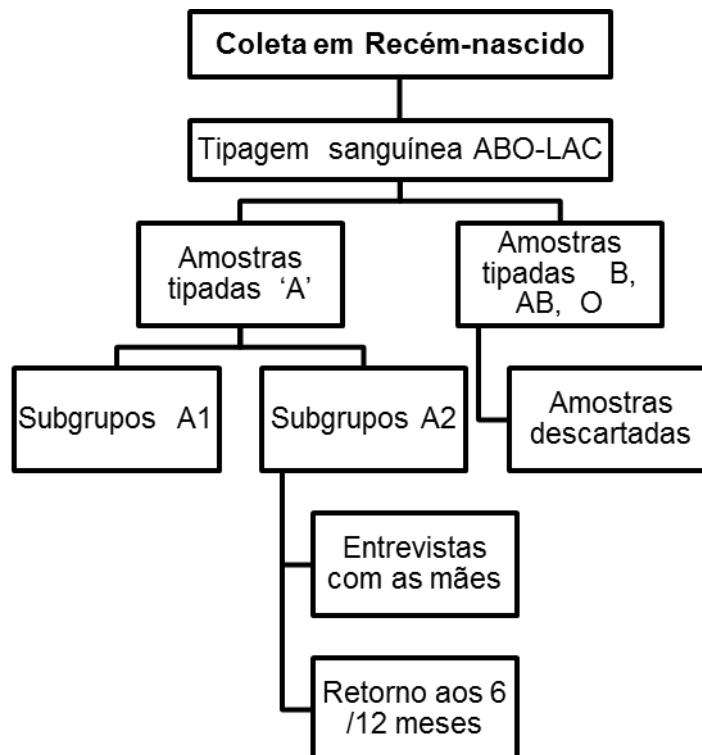


Figura 11 – Fluxograma utilizado para a pesquisa de subgrupos A1 e A2.

#### 4.2.2 Determinação dos níveis de hemoglobina

- As amostras obtidas dos retornos aos seis meses foram utilizadas para

verificação dos níveis de hemoglobina para anemia.

- O sangue coletado foi adicionado a uma solução contendo ferricianureto de potássio e cianureto de potássio (reativo de Drabkin), produzindo um pigmento estável.
- Foram coletados 20µl de sangue, da coleta do calcanhar, e colocados em um frasco contendo 6ml de reativo de Drabkin, produzindo um pigmento estável (LIMA,2001). A intensidade da cor desta mistura foi determinada em espectrofotômetro do Laboratório de Hematologia do Departamento de Análises Clínicas.
- Uma vez realizada a leitura para os níveis de hemoglobina, os resultados foram registrados para posterior contato com as mães.
- Após a obtenção dos resultados para a expressão do antígeno A1 e dosagem de hemoglobina entre 6 e 12 meses foram analisadas as variáveis principais para estes dois parâmetros.

#### 4.2.3 Análise estatística

As variáveis foram apresentadas através de Análise Estatística Descritiva, cujo objetivo é organizar e descrever os dados por meio de tabelas e gráficos.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

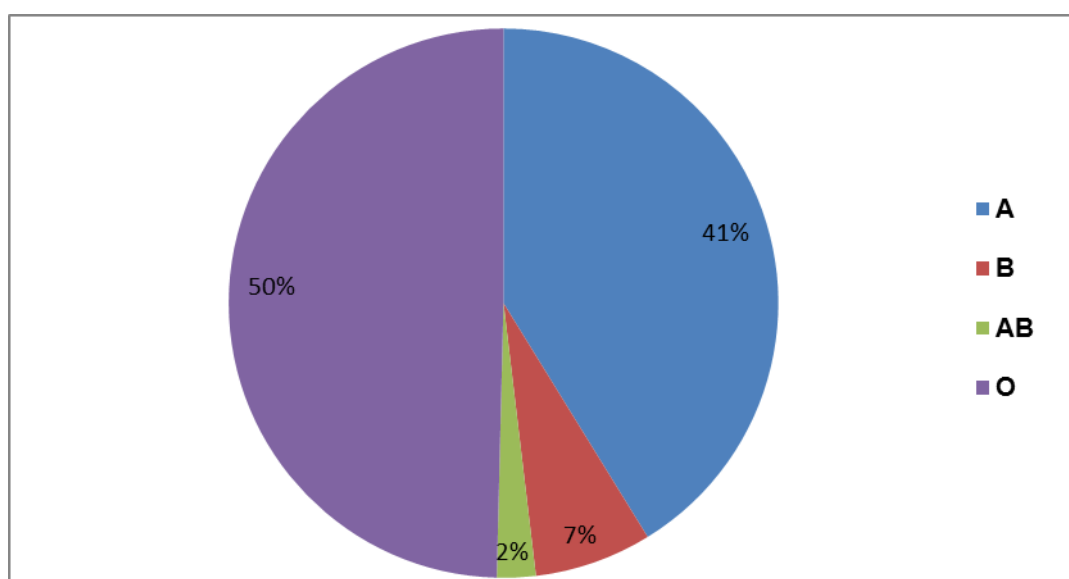
### 5.1 Grupos sanguíneos

Os resultados das determinações dos grupos sanguíneos encontram-se tabulados (Tabela 4) e sua distribuição pode ser melhor visualizada na Figura 12.

**Tabela 4** – Frequência dos grupos sanguíneos dos recém-nascidos.

Tipos Sanguíneos	N	%
A	471	41
B	79	7
AB	26	2
O	567	50
<b>TOTAL</b>	<b>1143</b>	<b>100</b>

A determinação do grupo sanguíneo ABO foi realizada pelo Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Santa Maria (LAC-HUSM). Os resultados demonstraram que o grupo sanguíneo O foi o de maior prevalência, e o grupo AB o de menor prevalência entre os recém-nascidos do Hospital Universitário.



**Figura 12** – Porcentagem dos grupos sanguíneos em recém-nascidos no HUSM.



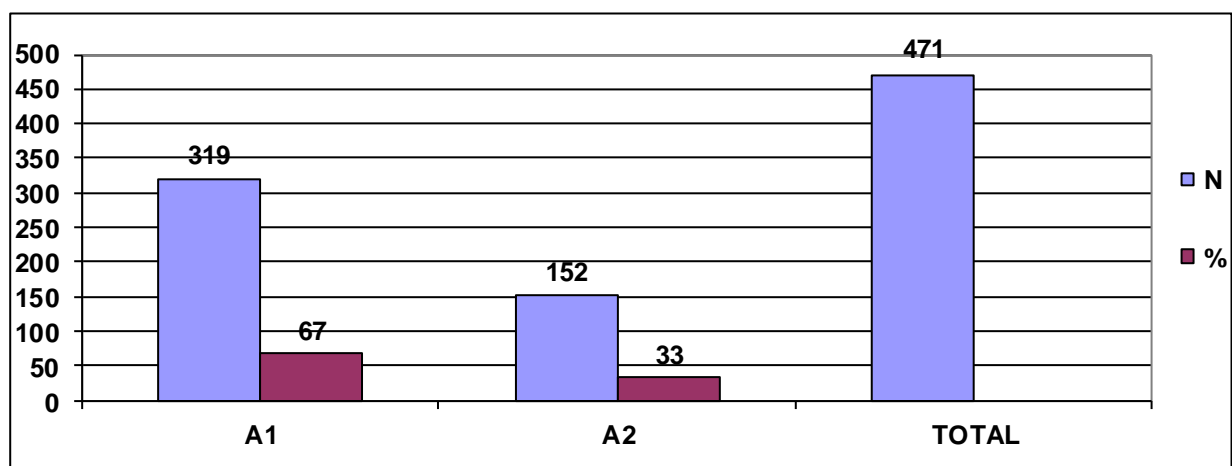
## 5.2 Expressão do antígeno A1 em recém-nascidos

Na primeira etapa desse trabalho foram tipadas, no período de setembro de 2008 a setembro de 2009, 1143 recém-nascidos, sendo que 471 (41%) pertenciam ao grupo sanguíneo 'A'. Estas 471 amostras de sangue do grupo A foram tipadas em tubo utilizando anti-soro anti-A1 para a determinação dos dois principais subgrupos de 'A' (A1 e A2). Desses, 319 (67%) reagiram de modo a pertencer ao subgrupo A1 e sendo os 152 restantes (33%) considerados como pertencentes ao subgrupo A2 (Tabela 5).

**Tabela 5** – Frequência de subgrupos de 'A' dos recém-nascidos.

Subgrupos 'A'	Nº	%
Subgrupo A1	319	67
Subgrupo A2	152	33
<b>Grupo 'A'</b>	<b>471</b>	<b>41</b>

Foi constatada uma grande predominância do subgrupo A1 contrariando a literatura que relata a prevalência de subgrupo A2 em recém-nascidos (Figura 13).



**Figura 13** – Distribuição dos resultados dos subgrupos A1 e A2 dos recém-nascidos.

Segundo Harmening e Firestone (2006) a maioria dos lactentes do grupo A parece ser A2 ao nascimento, considerando que os antígenos ABH não estão completamente desenvolvidos nesse momento. Como a literatura é escassa sobre este tema torna-se difícil confirmar que ocorre uma predominância de subgrupo A2 em recém-nascidos. No presente estudo observou-se semelhança com os resultados obtidos por Silva et al. (1999) que relataram porcentagens muito próximas.

A maior frequência do subgrupo A1 nos recém-nascidos poderia ser explicada devido à alta concentração da enzima responsável pela conversão das células do grupo 'O' em antígenos A1. Nas hemácias A2 a atividade desta enzima é inferior, resultando em menor conversão das células 'O' em células A. Schenkel-Brunner (1982) observaram que a habilidade da N-acetilgalactosaminiltransferase dependente do gene A<sup>1</sup> é maior para converter todo o tipo de precursor H em determinantes antigênicos A1, enquanto a ação da transferase A2 fica limitada a um número específico de estruturas H, deixando-as inalteradas. Em um estudo Tilley et al. (1978) comparando níveis de N-acetilgalactosaminiltransferase em soro de RN e mulheres adultas não-gestantes verificou que no soro de recém-nascidos A1 o nível de N-acetilgalactosaminiltransferase era mais alto do que no soro de não-gestantes. O nível de N-acetilgalactosaminiltransferase em recém-nascidos A2 foi, no mínimo, tão alto quanto o nível em mulheres A2 adultas não-gestantes. Schachter et al. (1971) relatou que o nível de transferase A1 diminui durante a gestação e é mais alta em recém-nascidos A1.

Assim, verifica-se que a frequência dos RN do grupo sanguíneo A1, em relação aos A2, é semelhante a encontrada em adultos, onde a maioria da população adulta é A1(HARMENING,2006). Porém esta proporção de 67% encontrada entre os RNs é menor (Tabela 5) do que a relatada para adultos (80%) (SILVA et al,1999). Portanto, é provável que ocorra mudança na expressão do antígeno A2 durante o crescimento.

### 5.3 Expressão do antígeno A1, entre 6 e 12 meses de idade, dos RNs inicialmente classificados como grupo sanguíneo A2

Dos 152 recém-nascidos pertencentes ao subgrupo sanguíneo A2 no momento do nascimento, foi possível realizar a reavaliação entre 6 e 12 meses de idade em apenas 40 crianças. Como resultados obtiveram-se 13 crianças (32,5%) que permaneceram como subgrupo A2 e 27 crianças (67,5%) que desenvolveram o antígeno A1 (Figura 14).

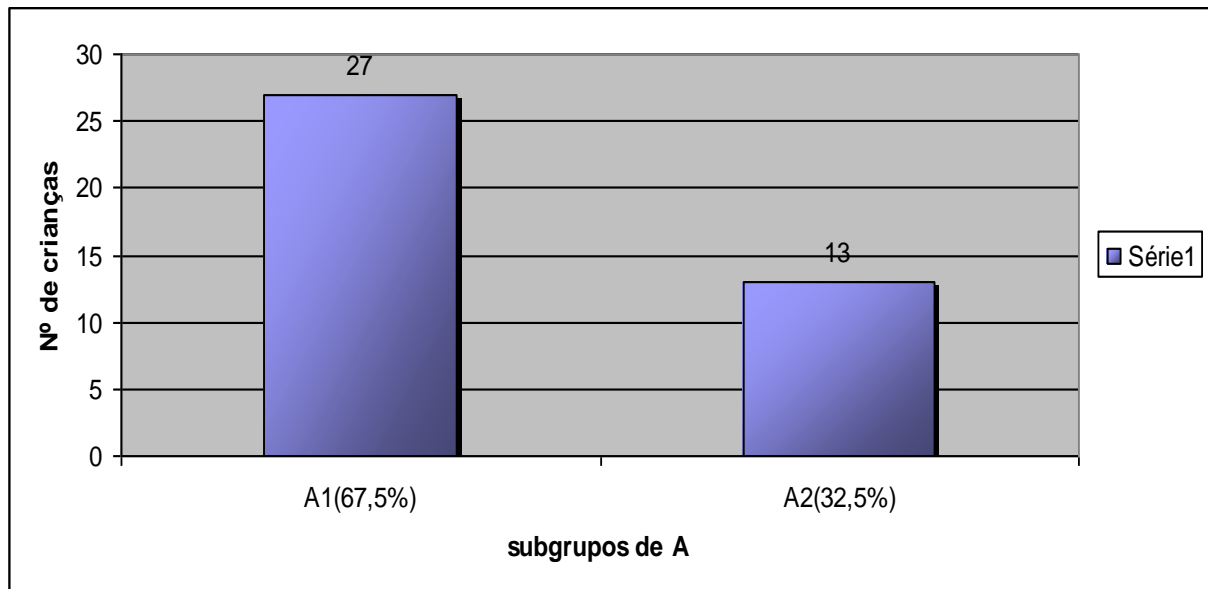
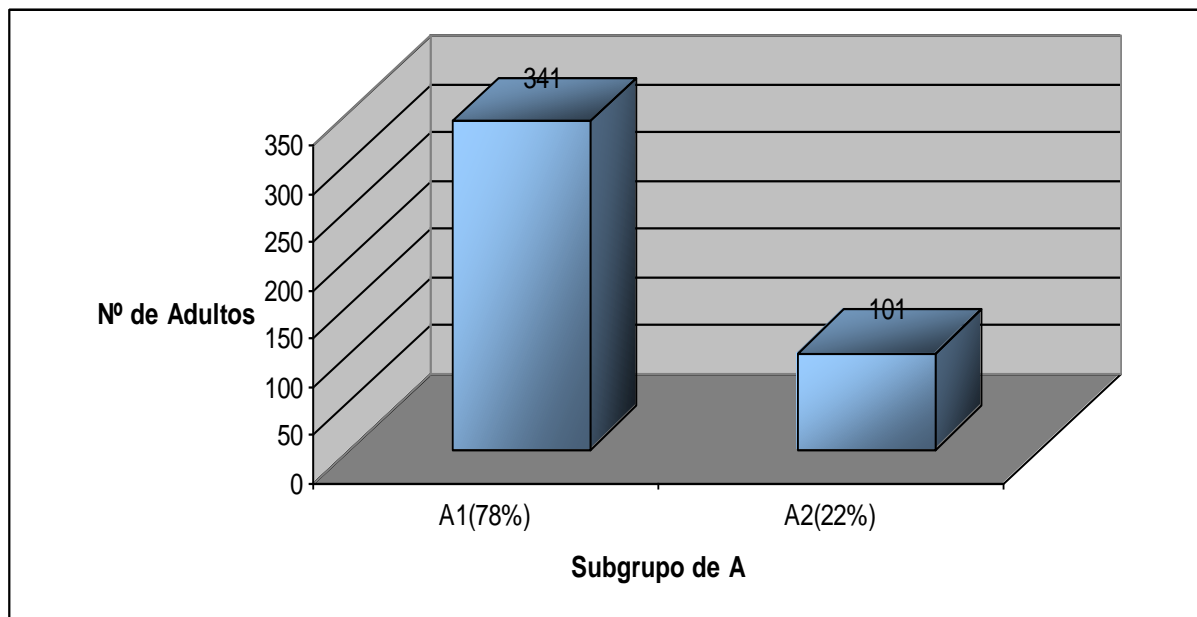


Figura 14 – Expressão do antígeno A1 entre 6 e 12 meses de idade.

Os antígenos ABO e H estão expressos nos precursores eritróides desde a quinta semana de vida intrauterina, embora, ao nascer, os bebês apresentem menor número de sítios antigênicos que os adultos (aproximadamente 1/3 dos sítios antigênicos totais de A/B). Segundo Mollison et al,(1997) a expressão plena desses antígenos é alcançada entre dois e quatro anos de idade.

Conforme mostra a Figura 14, a porcentagem de crianças que passaram a expressar o antígeno A1, depois de estarem com seis meses a um ano de idade foi de 67,5%; o restante permaneceu como A2.

O número de neonatos tipados como A1 (ao nascimento) somados àqueles que passaram a expressar este subgrupo (6-12 meses de idade) atingiu a frequência de 89%. A conhecida frequência do subtipo A1 em adultos é de, aproximadamente, 80%. Valor este ratificado por um estudo piloto realizado em 442 doadores de sangue do Hemocentro de Santa Maria, pertencentes ao grupo sanguíneo 'A', onde 341 doadores foram tipados como pertencentes ao subgrupo A1 (78%) (Figura 15).



**Figura 15** – Expressão dos subgrupos de 'A' em doadores do Hemocentro Regional de Santa Maria (estudo piloto/2010).

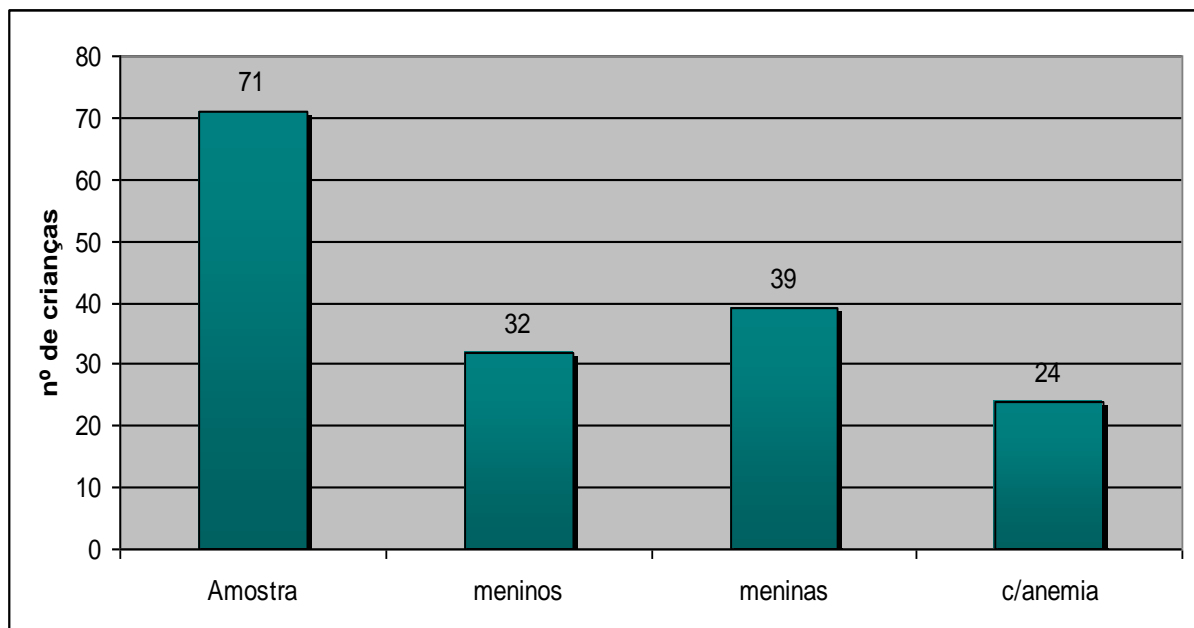
O valor então obtido para o grupo dos lactentes do subgrupo A1, um tanto acima do encontrado na literatura, pode ser explicado pelo chamado erro estatístico ( $e_0=10\%$ ), já que para 152 neonatos tipados inicialmente como A2 houve um retorno de 40 lactentes, ou seja 26,3% do grupo inicial. Com relação a esta porcentagem de crianças participantes nesta etapa do trabalho, explica-se pela dificuldade de contatar com as mães, pois, muitas vezes, o número de telefone tinha sido trocado ou não existia. Algumas crianças se encontravam em tratamento médico e suas mães não aceitaram realizar uma nova coleta. Ainda, em algumas situações, determinados pais não deixaram suas crianças participarem, pois acreditavam que deveriam pagar pelo trabalho realizado, mesmo sendo afirmado que isso não aconteceria. Ocorreu, também, certa dificuldade em contatar as mães para a

retipagem aos 6-7 meses, postergando a identificação da expressão do antígeno A1 (Apêndice C).

Ainda, dentro desta análise, é pertinente considerar que o trabalho realizado, em recém-nascidos e crianças pequenas está suscetível a resultados controversos devido às mudanças inerentes ao crescimento, e ao desenvolvimento das funções bioquímicas e fisiológicas do organismo, especialmente no que diz respeito à expressão dos antígenos para os subgrupos sanguíneos A1 e A2.

#### 5.4 Determinação dos níveis de hemoglobina para anemia

No total de 71 crianças estudadas (39 meninas e 32 meninos), 34,00% apresentaram anemia. Em relação às meninas 33,33% delas apresentaram anemia, contra 34,37% dos meninos anêmicos, não havendo diferença estatisticamente significativa (0,9295). Deste total, 55% (39 crianças) faziam uso de sulfato ferroso. A média de Hgb encontrada entre as crianças foi de 9,69 g/dl, caracterizando uma anemia leve. Os índices encontrados, entre as crianças que apresentaram anemia, variaram de 6,56 g/dl a 10,8 g/dl, podendo estas crianças apresentarem desde irritabilidade até dispnéia a esforços físicos (Figura 16).



**Figura 16** – Distribuição dos resultados do estudo sobre anemia.

Em relação à saúde das crianças estudadas: a maioria apresentou somente resfriados; algumas evidenciaram reações alérgicas, como asma e bronquite; e, três crianças desenvolviam refluxo-gastroesofágico e estavam em tratamento, sem apresentarem anemia. Conforme características das crianças participantes desse estudo foram relacionadas algumas variáveis que podem estar associadas à prevalência de anemia, como: sexo, suplementação de ferro na dieta e *status* socioeconômico.

A OMS define a anemia como a condição na qual o conteúdo de hemoglobina no sangue está abaixo do normal, como resultado de carência de um ou mais nutrientes essenciais, seja qual for a causa da deficiência (MOREIRA, 2004). No Brasil, a proporção de anemia em crianças com idades inferiores a dois anos situa-se entre 50% a 83,5% (SILVA et al., 2001). Estudos apontam elevada prevalência de anemia, principalmente, em crianças menores de cinco anos, sendo a faixa etária de seis a 23 meses a de maior risco para o desenvolvimento desta doença (CARVALHO; BARACAT; SGARBIEN, 2006).

No presente estudo, a porcentagem de crianças anêmicas que apresentaram níveis de hemoglobina abaixo do recomendado pela OMS foi relativamente alto. Verificou-se maior incidência de anemia entre os meninos. Contudo, não há diferença estatisticamente significativa para o número de meninos e meninas que estão com anemia. Ainda, nesta pesquisa foi possível observar dificuldades relacionadas ao consumo dos suplementos de ferro, que, muitas vezes, produziram efeitos colaterais como náuseas, cólicas abdominais e diarreias, dificultando a absorção deste nutriente nas crianças que faziam uso de ferro oral. Algumas mães suspendiam a medicação por algum tempo ou abandonavam o tratamento dos lactentes. O uso do sulfato ferroso pode ter contribuído para que os níveis de hemoglobina não se apresentassem tão baixos nas crianças com anemia, pois a média de hemoglobina foi de 9,69g/dl.

Segundo Colli e Szarfac (2003) muitos estudos de intervenção destacam a suplementação profilática como a forma mais econômica de intervenção. No entanto, sua eficácia é reduzida pela baixa aceitação do suplemento, diminuindo assim a adesão ao tratamento.

O Ministério da Saúde do Brasil, em 2005, instituiu o Programa Nacional de Suplementação de Ferro, que se destina a combater a anemia ferropriva entre crianças, gestantes e lactentes, através da suplementação medicamentosa. Por

outro lado, de acordo com a literatura, o consumo de carne representa um fator de proteção. Para a criança nessa faixa etária, o consumo de carne se torna difícil, pois, necessariamente deve ser triturada, podendo acarretar perda de seu valor nutritivo (SILVA; PRIORE; FRANCESCHINI, 2007; SPINELLI et al., 2005). Outro fator, não menos importante, envolve o custo da inclusão diária deste alimento na dieta da criança, já que a população estudada é, predominantemente, de baixo nível socioeconômico. Mesmo presente de maneira significativa em todos os estratos sociais, a prevalência de anemia tende a ser menor nos estratos de renda superiores (MONTEIRO et al., 2000). O menor poder aquisitivo pode, também, estar relacionado a menor variedade alimentar, resultando numa baixa disponibilidade de nutrientes, entre eles o ferro.

Em relação à utilização de frutas em forma de suco, percebeu-se que a maioria das mães tinha conhecimento da importância da inclusão do suco de laranja na dieta da criança, disponibilizando-o diariamente.

## 6 CONCLUSÕES

- As frequências dos subgrupos A1 e A2 foram semelhantes às encontradas em trabalho realizado anteriormente, nesta mesma faixa etária, confirmando os resultados encontrados no presente estudo;
- A frequência observada para a expressão do antígeno A1 entre seis e 12 meses de idade requer mais estudos, pois seria importante um número maior de crianças na retipagem, para melhor comparação dos resultados;
- As baixas concentrações de hemoglobina e a alta proporção de crianças apresentando anemia indicam a necessidade de enfatizar, nos programas de saúde pública, medidas de intervenção eficazes e controle desse distúrbio nutricional;

### 6.1 Considerações finais

- Sugere-se que, além da pesquisa realizada com antissoro A1 (lectina anti-A1) seria interessante a utilização de metodologia por biologia molecular para confirmar a presença dos subgrupos A1 e A2;
- A realização de estudos em longo prazo, que acompanhem o desenvolvimento das crianças até a idade de 12 meses a dois anos, aproximadamente, é de suma importância para o conhecimento de particularidades do crescimento, principalmente com relação aos subgrupos sanguíneos, e que colaborarão com a melhoria da saúde infantil.



## REFERÊNCIAS

BATISSOCO, A.C; NOVARETTI, M.C.Z. Aspectos Moleculares do Sistema Sanguíneo ABO. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v.25, n.1, p. 47-58, 2003.

BEHRMAN, R.E.; KLIEGMAN, R.; JENSON, H.B. **NELSON: Tratado de Pediatria**. Rio de Janeiro. 17. ed. São Paulo: Elsevier, 2005. [Parte XX – Doenças do Sangue. v.2, p. 1701-19].

BEIGUELMAM, B. **Os Sistemas Sanguíneos Eritrocitários**. 3. ed. Ribeirão Preto (SP): FUNPEC, 2003.

BOOTH, I.W; AUKETT, M.A. Iron deficiency anaemia in infancy and early childhood. **Archives of Disease in Childhood**. London, v.76, p. 549-99, 1997.

BRANDALISE, S.R; MATSUDA, E. Anemias carenciais. In: NÓBREGA, F. **Desnutrição intrauterina e pós-natal**. Panamed editorial. São Paulo, 1981. p.395-405.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução 196/96, sobre pesquisa envolvendo seres humanos. Brasília: MS, 1996.

CAMPOS, L. et al. Transfusão de concentrado de hemácias A2 em receptor do grupo sanguíneo B. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, supl.5, p. 304, 2010.

CARDOSO, M.A; PENTEADO, M.V.C. Intervenções Nutricionais na Anemia Ferropriva. **Cad. Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v.10, n.2, p.231-40, 1994.

CARVALHO, M.C. de; BARACAT, E.C.E.; SGARBIEN, V.C. Anemia Ferropriva e anemia de Doenças Crônicas: Distúrbios do Metabolismo de Ferro. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v.13, n.2, p. 54-63, 2006.

COLLI, C.; SZARFARC, S.C. Reflexões sobre a deficiência de ferro no Brasil. **Cadernos de Debates**, v.10, p.77-88, 2003.

COOLING, L.L.W. et al. Determinants of ABH expression on human blood platelets. **Blood**, v.105, n.8, p.3356-64, 2005.

DANIELS, G. The molecular genetics of blood group polymorphism. **Transplant Immunology.UK**, v.14, p.143-53, 2005.

DIAMED. **Princípios do gel teste Diamed – ID – Micro Typing System**. Setembro, 2009. Disponível em: <<http://www.diamed.com.br>>. Acesso em: 20 set. 2009.

DOMINGUES, A.E. **Estudo das alterações moleculares do gene ABO em doadores de sangue fenotipados como A3 e A3B**. 2007. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

DUARTE, L.S et al. Aleitamento materno e níveis de hemoglobina em crianças menores de 2 anos em município do estados de São Paulo, Brasil. **Revista de Nutrição**, Campinas, mar./abr. v.20, n.2, p. 149-57, 2007.

ELIAS, D.O.; SOUZA, M. H. Bases e Técnicas da Perfusão Neonatal - Ductus Arteriosus no Neonato. CURSO: Introdução à Perfusão Neonatal. 2009. Disponível em: <<http://perflin.com/neonatal/aula0499.html>>. Acesso em 10 abr. 2011.

FAILACE, R. **Hemograma**: manual de interpretação. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2003. p.73.

FILHO, M.B.; FERREIRA, L.O.C. Prevenção e Tratamento da anemia nutricional ferropriva: novos enfoques e perspectivas. **Cad Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.12, n.3, p.411-5, 1996.

FISHBEIN, T.M. et al. Safe Transplantation of Blood Type A2 Livers to Blood Type O Recipients. **Transplantation journal**, v.67, n.7, p. 1071-73, April.1999.

FRESENIUS HEMOCARE. **Transfusion technology**: Sistemas de Grupos Sanguíneos-A, H e Le. 2006. p. 2-11.

GARIBAY, E.M.V. La anemia em la infância. **Rev Panam Salud Publica/ Pan Am J Public Health**, México, v.6, n.13, p.349-51, 2003.

GIRELLO, A.L; KÜHN, T.I.B.B. **Fundamentos da Imuno-hematologia eritrocitária**. 2. ed. atual. e ampl. São Paulo: Senac, 2007.

HADLER, M.C.C.M; JULIANO, Y.; SIGULEM, D.M. Anemia do Lactente: etiologia e prevalência. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro. v.78, n.4, p.321-6, 2002.

HAKAMORI, S.I. Antigen structure and genetic basis of histo-blood groups A, B and O: their changes associated with human cancer. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1473, p.247-66, 1999.

HARMENING. D. **Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão**. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1992.

HARMENING, D.M; FIRESTONE, D. O sistema de grupo sanguíneo ABO. In: HARMENING, D. **Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão**. 4.ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2006. p.91-106.

HENRY, J.B.; BEADLING, W.V. Imunoematologia. In: Diagnósticos Clínicos e Tratamentos por Métodos Laboratoriais. 19.ed. São Paulo: Manole, 1999. Cap. 30. p. 730-791.

HERMÁNDEZ, A.B. et al. Frecuencia de los grupos sanguíneos A1, A2, Aint, Ael, B y O en donates de sangre. **Rev Cubana Hematol Immunol Hemoter**, v.13, n.2, p.122-31, 1997.

HOSPITAL SÍRIO-LIBANÊS. **Guia de Condutas Hemoterápicas: Hemocomponentes em crianças**. São Paulo, 2005. p. 60.

JULMY, F. et al. Transfusion efficacy of ABO major-mismatched platelets (PLTs) in children is inferior to that of ABO-identical PLTs. **Transfusion**, v.49, p.21-32, 2009.

LEE, G.R. et al. **Wintrobe: Hematologia Clínica**. São Paulo: Manole, 1998.

LIMA, A.O. et al. **Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica: Técnicas e Interpretações**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

LOGGETTO, S.R.; FISBERG, M.; BRAGA, J.A.P. Diagnóstico diferencial das anemias na infância. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo, v. 8, n.10, p.43-9, 1995.

LORENZI, T.F. **Manual de Hematologia: Propedêutica e Clínica**. Rio de Janeiro: MEDSI, 1999.

MARCONDES, E. et al. **Pediatria Básica: Tomo I – Pediatria Geral e Neonatal**. 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2003.

MATTOS, L.C; MOREIRA, H.W. Genetic of the ABO blood system and its link with the immune system. **Rev Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. São Paulo, v.26, n.1, p.60-3, 2004.

MOLLISON, P.L.; ENGELFRIET, C.P. **Blood transfusion in clinical Medicine**. 10<sup>th</sup> ed. London: Blackwell Science Publication, 1997.

MONTEIRO, C.A. et al. Tendência secular da anemia na infância na cidade de São Paulo (1984-1996). **Rev Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, supl. 6, p.62-72, 2000.

NELSON, P.W. et al. Current experience with renal transplantation across the ABO barrier. **Am Journal Surg**. v.164, n.5, p.541-4, discussion 544-5, 1992.

OGASAWARA, K. et al. Different Alleles Cause an Imbalance in A2 and A2B Phenotypes of the ABO Blood Group. **Vox Sanguinis**, n. 74. p. 242-7, 1998.

OSÓRIO, M.M. Fatores determinantes da anemia em crianças. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro. v. 78, n.4, p.269-78, 2002.

PAIVA, A.A; RONDÓ, P.H.C.; GUERRA-SHINOHARA, E.M. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. **Rev Saúde Pública**. São Paulo. v. 34, n. 4, p.421-6, 2000.

QUEIROZ, S.S; TORRES, M.A. de A. Anemia ferropriva na infância. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro, v.76, Supl.3, p.S298-S304, 2000.

RYDBERG, L. ABO-incompatibility in solid organ transplantation. **Transfusion Med**, v.11, n.4, p. 325-42, 2001.

SCHACHTER, H.; MICHAELS, M.A.; CROOKSTON, M.C.; TILLEY, C.A.; CROOKSTON, J.H. A quantitative difference in the activity of blood group A-specific N-acetyl-galactosaminyltransferase in serum from A1 and A2 human subjects. **Biochem.biophys. Res Commun**, v.45, p.1011, 1971.

SCHENKEL-BRUNNER. H. Studies on Blood-Groups A1 and A2-further Evidence for the Predominant Influence of Quantitative Differences in the Number of A Antigenic Sites Present on A1 and A2 Erythrocytes. **Eur Journal Biochem**, v.122, p. 511-4, 1982.

SIGULEM, D.M. Epidemiologia da anemia ferropriva na infância. **Revista da Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Rio de Janeiro, v.10, n. 149, 1988.

SILVA, D.G.; PRIORE, S.E.; FRANCESCHINI, S.C.C. Risk factors for anemia in infants assisted by public health services: the importance of feeding practices and iron supplementation. **J Pediatr**, Rio de Janeiro, v.83, n.2, p.149-156, 2007.

SILVA, J.E. et al. Determinação da frequência de recém-nascidos pertencentes ao subgrupo A2 no Hospital Universitário de Santa Maria-RS. **Saúde**, v. 25, n. 1-2, p.50-3, 1999.

SILVA, L.S.M. et al. Prevalência e determinantes de anemia em crianças de Porto Alegre, RS, Brasil. **Rev Saúde Pública**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 66-73, 2001.

SOUZA, S.B. et al. Anemia no primeiro ano de vida em relação ao aleitamento materno. **Rev Saúde Pública**. São Paulo, v.31, n.1, p. 15-20, 1997.

SPINELLI, M.G.N.; MARCHIONI, D.M.L.; SOUZA, J.M.P.; SOUZA, S.B. de; SZARFARC, S.C. Fatores de risco para anemia em crianças de 6 a 12 meses no Brasil. **Rev Panam Salud Publica**, México, v.17, n.2, p. 84-91, 2005.

SVENSSON, L. et al. Blood group A1 and A2 revisited: an immunochemical analysis. **Vox Sanguinis**, v.96, p 56-61, 2009.

SZARFARC, S.C.; STEFANINI, M.L.R.; LERNER, B.R. Anemia Nutricional no Brasil. **Cadernos de Nutrição**, São Paulo, v.9, p.5-24, 1995.

TERGUSON-SMITH, M.A; AITKLEN, D.A; TURLEAU, C; GROUCHY, I. Localization of the human ABO: Np-1: AK-1 linkage group by regional assignment of AK-1 to 9q34. **Hum Genet**, v.34, p.35-43, 1976.

TILLEY, C.A. et al. Human Blood-Group A and H especified glycosyltransferase Level in the Sera of Newborn Infants and their Mothers. **Vox Sanguinis**, v.34, p.8-13, 1978.

TORRES, M.A.A; SATO,K; QUEIROZ, S.S. Anemia em crianças menores de dois anos atendidas nas unidades básicas de saúde no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública**, São Paulo, v.28, n.4, p. 290-4, 1994.

VALDÉS, Y.A. et al. Incidencia de la deficiencia de sustancia H en los eritrocitos de los grupos A y AB. **Rev Cubana Hematol Imminol Hemoter**, Cuba, v.13, n.2, p.132-7, 1997.

VANNUCCHI, H.; FREITAS, M.L.S.; SZARFARC, S.C. A prevalência de anemias nutricionais no Brasil. **Cadernos de Nutrição**, v. 4, p. 07-26, 1992.

VECTOR LABORATORIES. *Dolichos Biflorus Agglutinin* (DBA). Disponível em: <<http://www.vectorlabs.com/catalog.aspx?catID=215>>. Acesso em 13 jun. 2011.

VENGELEN-TYLER V. Technical Manual. 12. ed. Bethesda, Maryland: American Association of Blood Banks, 1999.

VERRASTRO, T.; LORENZI, T.F.; NETO, S.W. **Hematologia e Hemoterapia: Fundamentos de Morfologia, Patologia e Clínica**. São Paulo: Atheneu, 2005.

WATKINS, W.M. The ABO blood group system: Historical Background. **Transfusion Medicine**, London, v.11, p. 243-65, 2001.

WATKINS, W.N.; GREENWELL, P.; YATES, A.D.; JOHNSON, P.H. Regulation of expression of carbohydrate blood group antigens. **Biochimie**, v.70, p.1597-611, 1998.

YAMAMOTO,F; CALUSEN H.; WHITE T., MARKEN J.;HAKOMORI S. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. **Nature**. v. 345, p.229-233,1990.

---

## APÊNDICES

---

---

## APÊNDICE A

---

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFSM está desenvolvendo o projeto de pesquisa “EXPRESSÃO DE ANTÍGENO A1: DETERMINAÇÃO DA IDADE MAIS PROVÁVEL EM NEONATOS”, através da mestrandia Márcia Maria V. Mikalauscas, orientada pelo Prof José Edson Paz da Silva. Este projeto tem como objetivos determinar a frequência de recém-nascidos pertencentes aos dois principais subgrupos de “A” (A1 e A2) e verificar, paralelamente, os níveis de hemoglobina para a detecção de anemia.

Benefícios: as crianças que participarem deste projeto terão a certeza da classificação sanguínea, já que a literatura registra uma imprecisão dos resultados de tipagem (classificação) ao nascimento.

A senhora está sendo convidada a participar deste projeto, que visa investigar a frequência de recém-nascidos pertencentes ao grupo sanguíneo A. Todas as informações necessárias ao projeto serão confidenciais, sendo utilizadas apenas para a presente pesquisa e o paciente não será identificado. A participação na pesquisa consistirá em: 1) entrevista com a mãe do recém-nascido 2) aplicação de um questionário 3) coleta de sangue do calcanhar, o qual será realizada com 6 meses e 12 meses de idade, na residência da criança, para confirmação do grupo sanguíneo e verificação da presença ou não de anemia. Os métodos de avaliação não oferecem riscos para a criança. Será realizada uma coleta de sangue do calcanhar. O desconforto se resume à picada de uma pequena lâmina, sendo que após a coleta, o local não requer nenhum cuidado especial voltando ao normal em poucas horas. Todo material utilizado para a coleta será jogado fora e/ou desinfetado. Este estudo não envolve risco de vida ou contaminação aos pacientes. As amostras serão tratadas de acordo com os registros experimentais estabelecidos.

Os resultados obtidos com o paciente durante a pesquisa serão conhecidos pelos pais ou responsável, que receberão orientações sobre a melhor conduta a ser adotada.

Fica garantido que os dados coletados ficarão sob responsabilidade do pesquisador e que os mesmos serão utilizados apenas para uma dissertação de mestrado, sem que o paciente seja identificado, garantindo assim o anonimato.

A participação deste estudo é livre e voluntária, sendo que não haverá nenhuma forma de compensação financeira ou custos para o participante. A recusa na participação não leva nenhum prejuízo ou comprometimento dos cuidados médicos aos pacientes.

Pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, declaro que estou de acordo em participar deste projeto de pesquisa, livre de qualquer constrangimento, pois fui informado de forma clara e detalhada dos objetivos e dos

procedimentos que serão realizados. Fui igualmente informado da garantia de receber respostas a qualquer dúvida que ainda puder ter sobre assuntos relacionados com a pesquisa, e da liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que haja prejuízo de qualquer ordem.

Ciente e de acordo com o que foi anteriormente exposto, eu \_\_\_\_\_ estou de acordo em participar desta pesquisa, assinando este consentimento.

Santa Maria, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ 20\_\_.

Nome Paciente	Identidade
Assinatura de responsável	Identidade

(nos casos em que o paciente for menor de 18 anos)

Assinatura do pesquisador

Em caso de dúvidas, entrar em contato com o Orientador Prof. Dr. José Edson Paz da Silva, fone: (55) 3220.8464, com Márcia Mikalauscas (pesquisadora), fone: (55) 3223.7957, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFSM

Avenida Roraima, 1000 – Prédio da Reitoria – 7º andar – sala 702

Cidade Universitária – Bairro Camobi

97105-900 – Santa Maria – RS

Tel.: (55) 3220.9362 – e-mail: comiteeticapesquisa@mail.ufsm.br



---

## APÊNDICE B

---

### PROTOCOLO / QUESTIONÁRIO

Questionário aplicado em mães de RN pertencentes ao subgrupo sanguíneo A2, para posterior retipagem com seis e 12 meses, no HUSM.

<b>Data da coleta</b>		
Reside em Santa Maria	Sim ( )	Não ( )
<b>Nome completo da mãe</b>		

<b>Idade</b>				
Tipo sanguíneo mãe	O	A	B	AB
Tipo sanguíneo pai	O	A	B	AB

<b>Endereço</b>	Rua	
<b>Ponto de Referência</b>		
<b>Bairro</b>		
Residência própria	Sim ( )	Não ( )

Nome e endereço dos avós da criança (ou parente mais próximo)
---

<b>Telefone (residencial/celular)</b>	
<b>Telefone dos avós, ou parente mais próximo</b>	

<b>PROFISSÃO</b>	
<b>Pai</b>	
<b>Mãe</b>	

<b>RN de</b>		
<b>Nome que será dado à criança</b>		
<b>Deseja permanecer com a criança?</b>	Sim ( )	Não ( )

<b>Peso</b>		
<b>Sexo</b>	F ( )	M ( )

OBS.: no retorno, a criança será retipada e verificados os níveis de Hg para a A

### QUESTIONÁRIO DE 6 E 12 MESES

<b>Data da coleta</b>	
<b>Nome completo da mãe</b>	

<b>Endereço</b>	Rua	
<b>Ponto de Referência</b>		
<b>Bairro</b>		
<b>Residência própria</b>	Sim (   )	Não (   )

Nome e endereço dos avós da criança (ou parente mais próximo)
---

<b>NOME DA CRIANÇA</b>	
<b>Apresentou algum problema de saúde?</b>	
<b>Peso</b>	

<b>TIPAGEM COMPLETA</b>	
<b>Original</b>	
<b>Atual</b>	
<b>Hg</b>	

## APÊNDICE C

### EXPRESSÃO DO ANTÍGENO A1 ENTRE 6 E 12 MESES DE IDADE

GÊNERO	6-7 MESES	8-9 MESES	10-12 MESES
Feminino	s/contato	s/contato	A1 ( 10 meses)
Feminino			A1 ( 12 meses)
Masculino			A1 ( 12 meses)
Feminino			A1 ( 12meses )
Feminino			A1 ( 12 meses)
Masculino			A1 ( 12 meses)
Masculino			A1 ( 11 meses)
Masculino	A1		
Masculino	A2 ( 7 meses)*		A2 *
Masculino	A1		
Masculino	A1		
Masculino	s/contato	A2 ( 8 meses) *	A2 *
Masculino	s/contato	A1 ( 8 meses)	
Masculino	A1		
Feminino	s/contato	A1 ( 8 meses)	
Masculino	s/contato	A1 ( 9 meses)	
Feminino	s/contato	A1 ( 8 meses)	
Feminino	s/contato	A1 ( 8 meses)	
Feminino	s/contato	A1 ( 8 meses)	
Masculino	A2 ( 6 meses) *		A2 *
Feminino	A1		
Masculino	A1		
Feminino	A2		A1 (12 meses)
Feminino	s/contato	s/contato	A2 *
Masculino	A1		
Feminino	A1		
Masculino	A2 ( 6 meses) *		A2 *
Feminino	A1		
Feminino	A1		
Feminino	A1		
Masculino	A2 ( 6 meses)		A2*
Masculino	A2 ( 6 meses)		A2*
Feminino	A1		
Feminino	A2 ( 6 meses)		A2*
Masculino	A1		
Feminino	A2 ( 6 meses)		A2*
Masculino	A2 ( 6 meses)		A2*
Masculino	A2 ( 6 meses)		A2*
Masculino	A2 ( 6 meses)		A2*
Feminino	A2 ( 6 meses)		A2*

\* = Crianças que permaneceram subgrupo A2.