

Encontrado Genótipo Raro de Sistema Dombrock em população centro serrana do Espírito Santo

Rare genotype of the Dombrock System found in a population in the mountain center of Espírito Santo

Jéssica de Souza Campos¹, Letícia Karolini Walger Schultz¹, Maiara Loterio¹, Silvia Ramira Lopes^{2*}

¹Graduação em Biomedicina da Escola Superior São Francisco de Assis, Rua Bernardino Monteiro, Dois Pinheiros, Santa Teresa, ES, CEP: 29650-000.

²Docente do Curso de Graduação em Biomedicina da Escola Superior São Francisco de Assis, Rua Bernardino Monteiro, Dois Pinheiros, Santa Teresa, ES, CEP: 29650-000.

*Autor para correspondência: silviamira@gmail.com

Resumo O Sistema Dombrock (SD) foi descrito primeiramente em 1965 e reconhecido em 1985, desde então diversos fenótipos já foram descobertos, dentre os quais se destaca o fenótipo raro Hy-, que possui alta prevalência em indivíduos de ascendência negra. O estudo teve como objetivo investigar a prevalência dos genótipos Dombrock na população Centro Serrana do Estado do Espírito Santo. Foram analisadas 67 amostras que tiveram seu DNA extraído, o material obtido foi submetido à reação em cadeia da polimerase (PCR) os produtos amplificados foram submetidos à digestão pelas enzimas de restrição Eam11051 e ALW 261, verificados por eletroforese e gel de agarose a 3%. Das 67 amostras, 27 (40,29%) apresentaram algum alelo do SD, dentre os quais foi identificado um doador portador do fenótipo raro Hy-. O conhecimento da prevalência dos alelos Dombrock abre as portas para a possibilidade de uma continuação da pesquisa em um número maior de amostras providas do HEMOES (Hemocentro do Estado do Espírito Santo).

Palavras-chave: Genótipo raro, alelos raros, Sistema Dombrock.

Abstract PThe Dombrock System (SD) was first

described in 1965 and recognized in 1985, since then several phenotypes have been discovered, among which is the rare Hy- phenotype, which has a high prevalence in individuals of black descent. The study aimed to investigate the prevalence of Dombrock genotypes in the Centro Serrana population of Espírito Santo State. Sixty-six samples were analyzed and their DNA extracted, the obtained material was submitted to polymerase chain reaction (PCR), the amplified products were subjected to digestion by restriction enzymes Eam11051 and ALW 261, verified by electrophoresis and 3% agarose gel. . Of the 67 samples, 27 (40.29%) presented some SD allele, among which a donor with the rare Hy- phenotype was identified. Knowledge of the prevalence of Dombrock alleles opens the door to the possibility of further research in a larger number of samples from HEMOES (State of Espírito Santo Hemocenter).

Keywords: Rare genotype, rare alleles, Dombrock System.

O Sistema Dombrock (SD), descrito por SWANSON e colaboradores (1965) com a

identificação de um anticorpo para o antígeno Doa no soro sanguíneo de um paciente de sobrenome Dombrock, foi reconhecido pela Sociedade Internacional de Transfusão de Sangue (ISBT) em 1985 (LEWIS *et al.*, 2003) com a visualização dos antígenos de alto índice de prevalência nos soros dos pacientes, sendo eles: Gya (Gregory), Hy (Holley) e Joa (Joseph), (JENSEN *et al.*, 1972). Esses alelos então, desde a década de 90 foram implementados no SD após a confirmação de que eles estavam situados na mesma glicoproteína (SPRING; REID; NICHOLSON, 1994) sendo fenotipicamente relacionados (BANKS; HEMMING; POOLE, 1995). Ser portador dos alelos SD implica na possibilidade da manifestação de fenótipos que levam a reações hemolíticas devido a anticorpos imunes, caso uma transfusão sanguínea seja feita de forma errônea, podendo levar a produção de aloanticorpos ou levar um indivíduo a óbito (PIASSI, 2010).

A fim de se verificar quais os alelos de prevalência na população Centro Serrana do ES foram investigados 67 doadores voluntários. As amostras de sangue periférico coletadas em tubo EDTA, tiveram seu DNA extraído seguindo o protocolo de extração de DNA de sangue adaptado de CRISPIM *et al.*, (2016). Os extratos obtidos foram verificados em eletroforese de gel de agarose 1%. Em seguida o material obtido foi submetido à reação em cadeia da polimerase (PCR) seguindo o perfil descrito por BALEOTTI *et al.* (2006) com modificações. Das 67 amostras, 27 (40,29%) apresentaram algum alelo do SD. Com a amplificação de um produto, com 257 pares de base (pb), do éxon 2 do gene DO que caracteriza os alelos DOA/DOB, um produto de 291 pb do éxon 3 do gene DO que caracteriza os alelos HY1/HY2. Os genótipos foram obtidos através da técnica de PCR-RFLP onde os produtos amplificados de PCR foram submetidos à digestão pelas enzimas de restrição Eam11051 e ALW 261, verificando assim qual alelo estava presente através de eletroforese verificado em gel de agarose a 3%. Para os alelos HY1/HY2, o genótipo HY1/HY1 revelou uma prevalência de 7,41%; HY2/HY2 18,52% e HY1/HY2 3,70% sendo HY1 em homozigose o maior descrito na literatura brasileira e os demais genótipos sendo registrados de forma pioneira no presente estudo.

A frequência encontrada entre os alelos

HY1 e HY2 foi maior que as frequências descritas por BALEOTTI (2006) e PIASSI (2010), onde os autores não descrevem a presença da homozigose em HY*2, e a presença de 0,38% para HY1/HY1

Dos alelos encontrados em heterozigose a frequência encontrada é significativa quando comparada a dos outros autores obtendo cerca de 7% de diferença dos resultados obtidos em outros trabalhos. O fenótipo Hy- está associado à presença dos alelos HY1 e HY2. O alelo HY1 é caracterizado pelo polimorfismo de base única (SNP) 898C/G que promove a substituição da leucina pela valina, e o alelo HY2 é caracterizado pelo SNP 323G/T que substitui a glicina pela valina.

Menciona-se nas literaturas que pessoas com descendência africana possuem expressão do fenótipo Hy- e baixa expressão do antígeno Gya, em contrapartida pessoas de origem caucasiana não são capazes de expressar o antígeno Hy, porém possuem expressão do fenótipo Gya (-a). Após exposição, seja por via gestacional ou transfusional, indivíduos portadores de fenótipos raros podem desenvolver anticorpos contra antígenos (PIASSI, 2010).

O anticorpo anti-Hy foi encontrado pela primeira vez em 1967 por Schmidt *et al.*, em uma mulher negra durante o parto (SCHMIDT, 1967), desde então outros casos foram relatados. Estudos indicaram que há uma maior probabilidade de ser identificado o fenótipo Hy- em indivíduos de origem africana por possuírem uma maior prevalência desses alelos (CHAPEL *et al.*, 2009). A população brasileira é extremamente heterogênea, explicado pela miscigenação entre os escravos africanos, colonizadores europeus e indígenas, e pela grande extensão territorial e os movimentos migratórios dentro do território brasileiro. Quando marcadores moleculares são avaliados, a contribuição de cada um desses grupos na ancestralidade brasileira varia entre as diversas regiões do país (PENA *et al.*, 2009).

A região Centro Serrana possui um maior contingente de indivíduos caucasianos, entretanto, há uma grande miscigenação da população, podendo explicar a presença desse fenótipo raro, apesar do fenótipo Hy- ter sido descrito em pessoas com descendência negra. A alta frequência dos alelos HY evidenciadas no presente estudo indica a probabilidade de estados homozigotos para esse alelo, tornando essa população de doadores alvo de

investigação do fenótipo raro Hy-.

O conhecimento da prevalência dos alelos Dombrock em doadores de sangue voluntários da região centro serrana do Espírito Santo contribuiu para investigação da prevalência desse variante tipo sanguíneo no estado, abrindo as portas para a possibilidade de uma continuação da pesquisa em um número maior de amostras provindas do HEMOES (Hemocentro do Estado do Espírito Santo).

Referências Bibliográficas

BALEOTTI, W. et al. Dombrock gene analysis in Brazilian people reveals novel alleles. **Vox Sanguinis**, v. 91, n. 1, p. 81–87, 2006.

BANKS, J. A.; HEMMING, N.; POOLE, J. Evidence that the Gy(a), Hy and Jo(a) Antigens Belong to the Dombrock Blood Group System. **Vox Sanguinis**, v. 68, p. 177–182, 1995.

CHAPEL-FERNANDES S., CALLEBAUT I., HALVERSON G.R., REID M.E., BAILLY P., CHIARONI J. Dombrock genotyping in native Congolese cohort reveals two novel alleles. **Transfusion, Philadelphia**, v.49, n.8, p.1661-1671, 2009.

CRISPIM, B. DO AMARAL et al. Avaliação de protocolos para extração de DNA Genômico de sangue Bovino. **Journal of the Selva Andina Research Society**, v. 7, n. 2, p. 95–103, 2016.

JENSEN, L. et al. Anti-Jo a : An Antibody Defining a High-frequency Erythrocyte Antigen. **Transfusion**, v. 12, n. 5, p. 322–324, 1972.

LEWIS, M. et al. International Society of Blood Transfusion working party on terminology for red cell surface antigens. **Vox Sanguinis**, v. 80, n. 3, p. 193–196, 2003.

PENA S.D.J., BASTOS- RODRIGUES L., PIMENTA J.R., BYDŁOWSKI, S.P. DNA tests probe the genomic ancestry of Brazilians. **Braz J Med Biol Res**, v. 42, n.10, p.870-876, 2009.

PIASSI, F. C. C. **ANÁLISE GENOTÍPICA DO SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO DOMBROCK EM DOADORES DE SANGUE DO ESTADO DE MINAS GERAIS UNIVERSIDADE**. Biblioteca Digital UFMG, 2010.

SCHIMIDT RP, FRANK S, BAUGH M. New antibodies to high incidence antigenic determinants (anti-So, anti-E1, anti-Hy and anti-Dp) (abstract). **Transfusion**, Philadelphia, v.7, n.5, p.386, 1967.

SPRING, F. A.; REID, M. E.; NICHOLSON, G. Evidence for Expression of the Joa Blood Group Antigen on the Gya/Hy-Active Glycoprotein. **Vox Sanguinis**, v. 66, n. 1, p. 72–77, 1994.

SWANSON, J. et al. A New Blood Group Antigen, Doa. **Nature**, v. 206, n. 498, p. 313, 1965.