

Resumo de Tese / Thesis

## Estudo das alterações moleculares do gene *ABO* em doadores de sangue fenotipados como $A_3$ e $A_3B$

*ABO* gene molecular studies in  $A_3$  and  $A_3B$  blood donors

Alexandre E. Domingues

### Orientador

Marcia Cristina Zago Novaretti

### Resumo

O sistema ABO é o mais importante sistema de grupo sanguíneo na medicina transfusional. Atualmente, a determinação do tipo sanguíneo dos doadores de sangue é feita com o uso de testes sorológicos, porém outros testes realizados com o DNA humano, tornam-se complementos valiosos para a determinação correta do grupo sanguíneo do doador e do receptor, aumentando a segurança transfusional. Estudos moleculares realizados em amostras classificadas como  $A_3$  e  $A_3B$  demonstraram que esse subgrupo possui um alto grau de heterogeneidade, uma vez que diversos eventos moleculares foram associados a ele, embora apenas um pequeno número de amostras tenha sido testado até hoje. Nesse trabalho, foi investigada a frequência e os tipos de eventos moleculares em 100 amostras de doadores de sangue de grupo sanguíneo classificadas como  $A_3$  e  $A_3B$ . A partir de 12.283 amostras de doadores de sangue de ambos os sexos dos grupos sanguíneos A e AB, obtidas na Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo, obtivemos 13 amostras  $A_3$  e 87 amostras  $A_3B$  pelos métodos teste em tubo e gel teste. Foi utilizada a amplificação do DNA pela técnica de reação da polimerase em cadeia PCR-RFLP (para a região 871G>A) e alelo específico (PCR-ASP) para as regiões 467C>T, 829G>A, 871G>A e 1060delC do éxon 7 do gene *ABO*, seguida por seqüenciamento direto nas amostras com resultado de PCR inconclusivo. Novos alelos  $A_3$  foram detectados em cinco (38,5%) amostras classificadas sorologicamente como  $A_3$  e em 38 (43,7%) amostras  $A_3B$ . Detectou-se também o genótipo *A302/A301* em 30,7% das amostras  $A_3$  e o genótipo *A302/B104* em 17,1% das amostras  $A_3B$ . Outros genótipos já descritos para subgrupo  $A_3$  (*A301/A301*, *A302/A302*, uma amostra de cada) foram também detectados nesse estudo. A mutação 871G>A, previamente reportada apenas em indivíduos  $A_2B$  foi, pela primeira vez, observada em amostras  $A_3$  (n=9). Mutações nas regiões 467C>T e 1060delC, anteriormente descritas

somente em indivíduos  $A_2$  e  $A_2B$ , são frequentes em indivíduos  $A_3$  e  $A_3B$  (72,4% e 87,1%, respectivamente). Esse é o primeiro estudo em que foram detectadas mutações entre os nucleotídeos 441 e 450 no éxon 7 do gene *ABO* (n=39). Conclusão: Esse é o primeiro estudo com grande tamanho amostral em que amostras classificadas sorologicamente como  $A_3$  e  $A_3B$  foram estudadas molecularmente. Novas variantes ABO foram detectadas. Mutações entre os nucleotídeos 441 e 450 no éxon 7 do gene *ABO* parecem ser críticas para a expressão da transferase A são frequentes nos subgrupos  $A_3$  e  $A_3B$ .

**Palavras-chave:** Sistema do grupo sanguíneo ABO; genes; reação em cadeia da polimerase; alelos; biologia molecular.

### Abstract

ABO system is the most important blood group system in transfusion medicine. Routinely, ABO blood group type is determined by serological tests; however DNA testing has become a valuable tool for accurate ABO determination and optimizing transfusion safety. Studies on  $A_3$  and  $A_3B$  subgroups have demonstrated molecular heterogeneity, with various and associated molecular changes, although in small sample size tested. Our purpose was to study molecular events on exon 7 of *ABO* gene in 100  $A_3$  and  $A_3B$  blood donors' samples. From 12,283 blood donors samples typed as A and AB of Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo, we have found out 13  $A_3$  and  $A_3B$  87 samples by tube test technique and gel test. DNA amplification was obtained using by allelic specific polymerase chain reaction (PCR-ASP). It was studied exon 7 *ABO* gene mutations 467C>T, 829G>A, 871G>A and 1060delC, followed by direct DNA sequencing in inconclusive PCR results samples. New  $A_3$  alleles were detected in 5 (38.4%) of  $A_3$  and in 34 (39.0%) of  $A_3B$  samples. We also detected *A302/A301* genotype in 30.7%  $A_3$  and *A302/B104* in 17.1% of  $A_3B$  samples. The mutation 871G>A only described in  $A_3B$  was detected in 9 blood samples tested as  $A_3$  in our study. Mutations as 467C>T and 1060delC, previously reported only in  $A_2$  and  $A_2B$  individuals were frequent in our study (72.4% in  $A_3$  and 87.1% in  $A_3B$ ). This is the first report of mutations on 441 to

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção de título de Mestre em Ciências Médicas.  
Área de concentração: Hematologia

**Correspondência:** Marcia Cristina Zago Novaretti  
Av. Dr. Enéas Carvalho de Aguiar, 155 - 1º andar - sala 114  
05403 000 - São Paulo - SP-Brasil  
E-mail: marcia@iqs.med.br

450 nucleotides of exon 7 of *ABO* gene (n=39). Conclusion: this is the first large molecular study on samples typed as A<sub>3</sub> and A<sub>3</sub>B. New ABO alleles were detected. Mutations between 441 to 450 nucleotides of exon 7 of *ABO* gene which seem to be critical for transferase A expression are frequent in A<sub>3</sub> and A<sub>3</sub>B samples.

**Key-words:** ABO blood-group system, genes, polymerase chain reaction, alleles, molecular biology

Avaliação: A Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia publica os resumos e abstracts de teses da área apresentados em entidades que tenham programas de pós-graduação reconhecidos pelo MEC/Capes e considera a obtenção do título suficiente para sua publicação na forma como se propõe a seção.

Recebido: 02/10/2007

Aceito: 02/10/2007