

Resumo de Tese

Correlação dos fenótipos ABO, Lewis, secretor e polimorfismo molecular do *locus* ABO em pacientes infectados e não infectados pelo *Helicobacter pylori****Correlation of ABO, Lewis, secretor and polymorphism phenotypes of the ABO locus in Helicobacter pylori infected and non-infected patients***

Luiz Carlos de Mattos

Orientador:

Haroldo Wilson Moreira

Resumo

Estudos epidemiológicos realizados na década de 50 evidenciaram uma alta frequência do tipo O e do fenótipo não secretor dos antígenos ABH entre pacientes com úlceras pépticas. Desde que o *Helicobacter pylori* foi estabelecido como o agente causal destas doenças, várias controvérsias surgiram quanto a contribuição dos fenótipos ABO, Lewis, secretor e não secretor na suscetibilidade a infecção por este bacilo.

Os objetivos deste trabalho foram: aplicar a metodologia molecular na verificação do polimorfismo genotípico do *locus* ABO em doadores de sangue; investigar a distribuição dos fenótipos ABO, Lewis, secretor e não secretor em pacientes infectados e não infectados pelo *H. pylori*; verificar a variabilidade genotípica do *locus* ABO nestes pacientes; detectar por amplificação gênica a presença deste bacilo em amostras de biópsias gástricas e analisar a aplicabilidade deste procedimento no rastreamento contínuo populacional.

Um protocolo inicialmente desenvolvido para a investigação do polimorfismo genotípico do *locus* ABO, a partir das análises de uma amostra de doadores de sangue da região noroeste do estado de São Paulo, Brasil, foi posteriormente aplicado ao estudo de pacientes com sintomas de dispepsias e submetidos a endoscopia digestiva alta, infectados e não infectados pelo *H. pylori*.

As análises do *locus* ABO a partir do DNA genômico de 324 doadores de sangue, amplificado por PCR e digerido com enzimas de restrição, permitiram a identificação de quatorze genótipos, todos concordantes com os fenótipos eritrocitários previamente definidos por sorologia. Diante da variabilidade genotípica verificada nos grupos A, B e O, esses resultados demonstram o elevado polimorfismo do *locus* ABO e reforçam sua importância como marcador genético.

Uma amostra constituída de 120 pacientes com sintomas de dispepsia e indicação de endoscopia digestiva alta foi analisada quanto aos fenótipos ABO, Lewis, secretor e não secretor. As diferenças verificadas com relação ao sistema ABO foram significantes entre os pacientes infectados (61,7%) e não infectados (38,3%) pelo *H. pylori*. Entre os pacientes infectados, 56,8% eram do grupo O e 27% do grupo A, enquanto que entre os pacientes não infectados, 24% pertenciam ao grupo O e 58,7% ao grupo A. Os fenótipos Lewis, secretor e não secretor apresentaram frequências semelhantes entre os grupos analisados. Estes resultados sugerem que suscetibilidade à infecção pelo *H. pylori* pode ser influenciada pelos fenótipos O e A, mas não pelos fenótipos Lewis, secretor e não secretor. As análises do polimorfismo genotípico do *locus* ABO entre os pacientes infectados revelaram a seguinte distribuição de genótipos: $O^1 O^1$ 32,4%; $O^1 O^{1v}$ 13,5%; $O^{1v} O^{1v}$ 8,1%; $O^1 O^2$ 2,7%; AA 6,7%; AO^1 17,6%; AO^{1v} 2,7%; BO^1 4,1%; BO^{1v} 8,1%; AB 4,1%. Por sua vez, entre os pacientes não

infectados foram verificadas as distribuições: O^1 O^1 8,7%; O^1 O^{1v} 8,7%; O^{1v} O^{1v} 6,5%; AA 23,9%; AO^1 30,4%; AO^{1v} 2,2%; AO^2 2,2%; BB 2,2%; BO^1 8,7%; BO^{1v} 2,2%; AB 4,3%. Estes resultados evidenciaram diferenças significantes na prevalência do genótipo O^1 O^1 entre os pacientes infectados quando comparados aos genótipos AA e AO^1 dos não infectados. Por outro lado, a maior suscetibilidade do grupo O à infecção não parece depender de um genótipo particular, mas muito mais do efeito exercido pelo fenótipo O.

Dentre os diferentes métodos usados na detecção do *H. pylori* a amplificação gênica por PCR tem apresentado elevada sensibilidade e especificidade. Esta característica foi constatada no presente trabalho, como método auxiliar no diagnóstico dessa infecção. Entre os 120 pacientes analisados, a infecção mostrou-se presente em 61,7% (74/120) e ausente em 38,3% (46/120). Estes resultados demonstram a elevada prevalência da infecção em pacientes adultos e confirmam a associação entre a infecção e a presença de úlceras pépticas.

Abstract

Epidemiologic studies in the 50s showed high frequencies of the O group and non secretor phenotype of ABH antigens in patients with peptic ulcers. Since Helicobacter pylori has been reported to be as a causal agent for those diseases, there are some controversies in relation to the susceptibility of ABO, Lewis, secretor and non secretor phenotypes to that pathogen infection.

The purposes of this study were: to use a molecular approach to verify the genotypic polymorphism at the ABO locus in blood donors; to investigate the ABO, Lewis, secretor and non secretor phenotypes distribution in patients infected and non infected by H. pylori; to observe the genotypic variability of ABO locus in those patients; to detect H. pylori by PCR technique in gastric biopsy and analyse that procedure in further patient's investigation.

A protocol initially developed to investigate the genotypic polymorphism of the ABO locus in blood donor from northwestern region of São Paulo state, Brazil was used in patients with dyspeptic symptom and who were undergoing endoscopy, infected and non infected by H. pylori.

The effective protocol was based on 324

genomic DNA samples from blood donors, amplified by PCR and analysed by restriction enzyme digestion in strategic sites to define ABO alleles. By that procedure, fourteen genotypes were defined and all of them were according to the serologic phenotypes.

The great variability was observed in the O blood group in which 6 different genotypes were identified. Those results have reinforced the high polymorphism of ABO locus and its effectiveness as a genetic marker.

The ABO, Lewis, secretor and non secretor phenotypes were analysed in a hundred twenty patients with dyspeptic symptoms who underwent endoscopy. The differences observed in ABO blood group phenotypes distribution among infected (61.7%) and non infected patients (38.3%) patients by H. pylori were significant. Among the infected patients, 56.8% were from the O group and 27% from A group; whereas the non infected patients, 24% from the O group and 58.7%, A group. Lewis, secretor and non secretor phenotypes showed no significant differences among those analysed groups. Those results suggest that susceptibility to H. pylori infection might be by ABO blood group system but not by Lewis, secretor and non secretor phenotypes.

Genotypic polymorphism of ABO locus analysis among infected patients showed the following genotypic distribution: O^1 O^1 32.4%; O^1 O^{1v} 13.5%; O^{1v} O^{1v} 8.1%; O^1 O^2 2.7%; AA 6.7%; AO^1 17.6%; AO^{1v} 2.7%; BO^1 4.1%; BO^{1v} 8.1%; AB 4.1%. On the other hand, non infected patients showed this distribution: O^1 O^1 8.7%; O^1 O^{1v} 8.7%; O^{1v} O^{1v} 6.5%; AA 23.9%; AO^1 30.4%; AO^{1v} 2.2%; AO^2 2.2%; BB 2.2%; BO^1 8.7%; BO^{1v} 2.2%; AB 4.3%. Those results showed significant differences on the prevalence of O^1 O^1 genotype among infected patients when compared to AA and AO^1 genotypes of non infected. Whereas, the susceptibility of O phenotype to infection might not depend on a particular genotype but mostly by the O phenotype effect.

Different diagnostic approaches have been used to detect H. pylori; the PCR amplification has showed high sensibility and specificity. That characteristic was observed in this study as a diagnostic procedure to detect this pathogen. Among those analysed patients, 61.7% (74/20) were infected and 38.3% (46/120) non infected. Those results showed a high prevalence of the infection in adult patients and a relationship between the infection and peptic ulcers.