

PESQUISA DE ANTÍGENOS ABH EM ERITRÓCITOS E NA SALIVA DE PACIENTES HANSENIANOS

Eliane A. Silva¹
Eliana M. Rúbio²
Somei Ura¹

RESUMO — Os poucos estudos já publicados sobre a determinação de fenótipo secretor dos antígenos ABH na saliva de hansenianos têm demonstrado não haver uma correlação significativa entre estas substâncias e a suscetibilidade à doença. No presente estudo avaliamos 74 pacientes, sendo 27 virchovianos, 23 tuberculóides e 24 dimorfos, quanto à presença de antígenos ABH nos eritrócitos e na saliva, pela reação de aglutinação em tubo e inibição de aglutinação. A frequência dos grupos sanguíneos ABO e do fenótipo secretor e não secretor nestes pacientes e no grupo controle foram: O= 40,5%(49%); A= 41,9%(36,5%); B= 10,8%(10,9%); AB= 6,8%(3,6%); secretor= 68,9%(82,5%) e não secretor= 31,1%0 7,5%).

Analisando-se os resultados apresentados nos hansenianos, observamos que não houve diferença significativa dos encontrados no grupo controle, com relação à distribuição dos antígenos ABH pesquisados nos eritrócitos e na saliva.

Palavras-chave: Antígenos ABH, hanseníase, fenótipo secretor.

1. INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença decorrente da infecção pelo *Mycobacterium leprae*, mas a infecção não é, necessariamente, seguida por doença. Uma variedade de fatores tem sido invocada para explicar esta suposta variação na suscetibilidade, como dieta, incidência de doenças debilitantes e a constituição genética (Spicket, 1962).

A possível transmissão da hanseníase através das mucosas tem sido descrita por vários pesquisadores (Davey e Rees, 1974; Chehl et al., 1984), embora existam controvérsias. Uma das evidências que sustenta essa possibilidade seria a detecção de anticorpos tipo secretor contra o *M. leprae* nas secreções

nasal e oral dos pacientes (Abe et al., 1986). A imunidade local, portanto, poderia oferecer uma alternativa nos mecanismos de defesa contra o bacilo, envolvendo uma possível aderência da micobactéria inalada às superfícies da mucosa (Cree et al., 1988). Embora os mecanismos envolvidos na aderência do *M. leprae* à célula não estejam totalmente compreendidos, a aderência de outras bactérias à superfície das mucosas pode envolver receptores específicos (Dudley, J.P. 1982), ou pode depender da hidrofobicidade dos organismos (Gibbons, Ettherden, 1983).

Nesse sentido, estudos realizados com saliva têm demonstrado que ela exhibe várias substâncias como a alfa amilase (Douglas, 1983), lisozima (Pollock apud Ligtenberg et al., 1990), IgA secretora (Bratthall,

¹Pesquisador Científico do Instituto Lauro de Souza Lima de Bauru

²Profa. Dra do Departamento de Urologia da Faculdade de Medicina, Botucatu(UNESP)

Carlen apud Ligtenberg et al., 1990) e glicoproteínas do grupo sanguíneo ABH (Gibbons e Qureshi, 1978), que poderiam promover a remoção dos bacilos na boca (Mandel, 1979).

Os antígenos ABH, solúveis em água, são glicoproteínas que podem ser encontradas na maioria dos fluidos e secreções orgânicas. A ocorrência desses antígenos pode ser explicada geneticamente por intermédio de um par de alelos autossômicos responsáveis pela determinação dos fenótipos secretor/não-secretor dessas glicoproteínas nos indivíduos (Mourant, et al., 1978).

Em 1967, Sehgal e Dube pesquisaram os antígenos ABH (hidro-solúveis) na saliva de pacientes hansenianos, porém não encontraram diferenças significativas do componente secretor/ não-secretor no grupo estudado.

Devido à escassez de conhecimentos sobre a distribuição das glicoproteínas ABH na hanseníase e o possível envolvimento dessas na agregação bacteriana às células epiteliais da boca, entendemos que há necessidade de se avaliar e se comparar a frequência dos fenótipos secretor e não-secretor nos pacientes hansenianos, agrupados conforme a classificação no espectro da doença.

2. MATERIAL E MÉTODOS

1. Casuística

Foram estudados 74 pacientes hansenianos caucasóides, não aparentados, de ambos os sexos, com idade variando entre 18 e 80 anos, atendidos no Instituto Lauro de Souza Lima, de Bauru/SP, e classificados, segundo os critérios propostos no VI Congresso Internacional de Leprologia, realizado em Madri(1953), em virchovianos(27), tuberculóides(23) e dimorfos(24).

Ao serem incorporados ao estudo, os pacientes foram esclarecidos sobre os propósitos dos procedimentos a serem adotados, os quais só foram realizados com plena concordância dos mesmos.

Integraram o grupo-controle, para o fenótipo secretor 40 profissionais sadios, de

ambos os sexos, do Instituto Lauro de Souza Lima. Para o fenótipo ABO, as frequências dos tipos sanguíneos foram comparadas com as encontradas em 43.262 doadores de sangue saudáveis, de ambos os sexos, do Hemocentro da Faculdade de Medicina de Botucatu.

2. Coleta

As amostras de sangue foram coletadas por punção venosa, usando-se como anticoagulante o EDTA (1 mg/ml), para posterior identificação do fenótipo ABO.

As salivas utilizadas para determinação do fenótipo secretor, foram obtidas em recipientes limpos e secos. As amostras foram fervidas em banho-maria por 15 minutos, centrifugadas durante 2 minutos a 3.000 rpm e o sobrenadante estocado a -20° C até o momento do uso.

3. Determinação dos Grupos Sanguíneos ABO

Os fenótipos ABO foram definidos pela presença dos antígenos nas hemácias através dos soros anti-AB, anti-A e anti-B (prova direta de Beth Vincent) e confirmados pela presença dos anticorpos no soros, através de hemácias-padrão dos grupos A1, A2 e B.

Os soros utilizados foram de procedência nacional (Biotest S.A.) e adotados tanto para a tipagem ABH no sangue quanto na saliva.

4. Determinação do Fenótipo Secretor

O fenótipo secretor foi determinado pelo teste de reação de inibição de aglutinação, usando a técnica de Dunsford e Bowley (apud Saldanha, 1982).

Duas séries de tubos de ensaio foram utilizadas, sendo que em uma delas os tubos foram identificados por 1 A, 1 B e 1H e na outra por 2A, 2B e 2H. Nas duas séries foram pipetadas uma gota de anti-soro diluído nos tubos A, B e H correspondentes. Tais anti-soros foram previamente titulados contra suspensões salinas de hemácias A2, B e O a 5%.

A seguir, acrescentou-se uma gota da saliva a ser testada em cada um dos tubos da série 1. Na série 2 adicionou-se uma gota de solução salina (controle negativo). Após esses tubos terem ficado em repouso por 15 minutos, à temperatura ambiente, acrescentou-se uma gota de suspensão a 5% de hemácias A2 aos tubos A, de hemácias B nos tubos B e de hemácias O nos tubos H. A leitura foi realizada após um período de 60 minutos à temperatura ambiente.

A inibição da aglutinação foi interpretada como manifestação do fenótipo secretor das substâncias ABH correspondentes aos anti-soros. Em oposição, a aglutinação demonstrou que o indivíduo não possui fenótipo secretor.

5. Análise Estatística

Os resultados obtidos foram avaliados pelo teste do χ^2 para comparação de prevalência dos fenótipos secretor e não secretor, e do sistema ABO, adotando-se o nível de significância de 5%.

4. RESULTADO

Os resultados expressos na Tabela 1 e 2 mostram, respectivamente, as freqüências

dos grupos sanguíneos ABO e dos fenótipos secretor e não-secretor dos pacientes, doadores de sangue e controles.

A comparação da distribuição dos grupos sanguíneos do sistema ABO nos pacientes virchovianos, tuberculóides e dimorfos favoreceu a hipótese de inexistência de diferenças significativas entre essas três amostras ($\chi^2 = 4,984$; 6G.L.; $0,50 < p < 0,70$). Por isso todos os pacientes foram reunidos em uma única amostra, para comparação com os doadores de sangue, quanto à distribuição desses grupos sanguíneos. Novamente, não foi possível detectar diferença significativa entre as duas distribuições ($\chi^2 = 3,621$; 3G.L.; $0,30 < p < 0,50$).

No que se refere à distribuição dos fenótipos secretor e não-secretor, a comparação das três amostras de pacientes revelou que, também nesse caso, as diferenças entre as proporções não foram significativas ($\chi^2 = 3,849$; 2G.L.; $0,10 < p < 0,20$), o que permitiu reunir os hansenianos estudados em uma única amostra de 74 indivíduos, 68,9% dos quais secretores e 31,1% não-secretores de substâncias ABH. Do mesmo modo, a comparação desses pacientes com o grupo controle mostrou não haver diferenças significativas entre eles quanto às proporções de secretores e não-secretores de substâncias ABH ($\chi^2 = 2,470$; 1 G.L.; $0,10 < p < 0,20$).

Tabela 1. Distribuição, em porcentagem, dos pacientes hansenianos e dos doadores de sangue, segundo os grupos sanguíneos do sistema ABO

Série estudada	Nº. de indivíduos	O	A	B	AB
Doadores de sangue	43.262	49,0	36,5	10,9	3,6
Virchovianos	27	40,7	40,7	14,8	3,8
Tuberculóides	23	43,5	30,4	13,11	13,0
Dimorfos	24	37,5	54,1	4,2	4,2
Total de Hansenianos	74	40,5	41,9	10,8	6,8

Tabela 2. Distribuição, em porcentagem, dos pacientes hansenianos e dos controles, segundo os fenótipo-secretor

Série estudada	Nº.	Secretor
Controle	40	82,5
Virchovianos	27	74,1
Tuberculóides	23	78,3
Dimorfos	24	54,2
Total de hansenianos	74	68,9

4. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Desde a identificação dos grupos sanguíneos no homem, tem-se procurado estabelecer uma associação entre eles e certas doenças (Weiner 1962). Assim, encontramos na literatura uma série de estudos que sugerem a possibilidade de associação entre fenótipos ABH secretor e não-secretor e os seguintes estados patológicos: úlcera duodenal (Clarke et al., 1959); endocardite reumática (Glynn e Holborow, 1969); alcoolismo (Camps et al., 1969); cárie dental (Arneberg et al., 1976) e nefropatia refluxa e fibrose renal (Jacobson e Lombery, 1990).

Os antígenos dos grupos sanguíneos, particularmente do grupo ABO, estão distribuídos em quase todas as células e isso tem levado a acreditar que eles podem comportar-se como estruturas alvos à aderência microbiana, predispondo assim os hospedeiros a suscetibilidade a infecções (Williams e Gibbons 1975 e Kallenius et al., 1981).

No nosso estudo, a distribuição do sistema ABO (Tabela 1), mostrou que os resultados obtidos não diferem do grupo controle, mas divergem em parte do encontrados por Beiguelman (1964), que

evidenciam a maior frequência do grupo sanguíneo A entre os pacientes virchovianos.

Com relação à distribuição de antígenos ABH na saliva, o fenótipo secretor foi observado em 68,9% do grupo de pacientes hansenianos e em 82,5% do grupo controle, não apresentando diferença significativa entre os dois grupos estudados.

Ao estudarmos essas frequências fenotípicas com os dados da literatura, observamos que elas não diferem das encontradas por Marcus (1969) de 75% a 80%, e por Sehgal e Dube (1967) 76,2% e 65,3%.

Existem evidências da participação das glicoproteínas ABH salivares na agregação bacterianas da cavidade oral (Williams e Gibbons 1975). A bactéria em contato com os sacarídeos dessas substâncias promovem agregações bacterianas que podem ser medidas por vários métodos, sendo um deles por espectrofotometria (Ericson et al., 1975). Em nosso estudo esse procedimento é inviável, devido ao fato do *M. leprae* não ser cultivável in vitro, impossibilitando tal demonstração.

Concluindo, os resultados encontrados sugerem que não há participação dos antígenos ABH eritrocitários e salivares na suscetibilidade à hanseníase.

ABSTRACT - The few studies that have already been published about the determination of secretor phenotypes of the salivary ABH antigens of leprosy patients, have shown there isn't a significant correlation between these substances and susceptibility to the disease. In the present study 74 patients were evaluated, being 27 lepromatous, 23 tuberculoid and 24 borderline, about the presence of ABH antigens on the erythrocytes and in the saliva, by technics of agglutination reaction in tube and inhibition of agglutination. The frequency of ABO blood groups and secretor/non-secretor phenotype in these patients and in the control group were: O= 40,5%(49%); A= 41,9%(36,5%); B= 10,8%(10,9%); AB= 6,8%(3,6%); secretor= 68,9%(82,5%) and non-secretor= 31,1 %(17,5%).

By the analysis of the results in leprosy patients, significant difference was not observed when comparing these distribution of ABH antigens, on the erythrocytes and in the saliva, with controle group.

Key words: ABH antigens, leprosy, secretor phenotype.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABE, M., MIYAJI, I., OZAWA, T., MINAGAWA, F., YOSHINO, Y., SAKAMOTO, Y., SAIKAWA, K. Anti-mycobacterial antibodies in saliva. *Leprosy Review*, v.57, p.213-223, 1986.
2. ARNEBERG, P., KORNSTAD, L., NORDBO, H., GJERINO, P. Less dental caries among secretors than among non-secretors of blood group substance. *Scand. J. Dent. Res.*, v.84, p.362-366, 1976.
3. BEIGUELMAN B. Sistema ABO e epidemiologia de lepra. *Rev. Paul. Med.*, v.65, p.80-86, 1964.
4. BETH VINCENT. Técnicas aplicadas à imunohematologia eritrocitária. In. Alves de Lima, L., Callado, M. R. L., Santos, J. A. *Curso de Imunohematologia*. Botucatu. Faculdade de Medicina, p. 122, 1992.
5. BRATTHALL, D., CARLEN, A. apud LIGTENBERG, A.J.M., VEERMAN, E.C.I., GRAAFF DE J., NIEUW AMERONGEN, A.V. Influence of the blood group reactive substances in saliva on the aggregation of *Streptococcus rattus*. *Antonie van Leeuwenhoek*, v.57, p.97-107, 1990.
6. CAMPS, F.E., DODD BARBARA E., LINCOLN, P. J. Frequencies of secretors and non-secretors of ABH group substances among 1.000 alcoholic patients. *Brit. Med. J.*, v.4, p.457-459, 1969.
7. CHEHL, S. K., JOB, C. K., HASTINGS, R. C. Transmission of leprosy in nude (nu/nu) mice using various portals of entry. XII International leprosy Congress *Proceedings*, New Delhi, p.522-524, 1984.
8. CLARKE C. A., EVANS D. A. P., McCONNELL R. B., SHEPPARD P. M. Secretion of blood group antigens and peptic ulcer. *Brit. Med. J.*, p.603-607, 1959.
9. CONGRESSO NACIONAL DE LEPROLOGIA 6º, Madrid, 1953. *Memória*. Madrid, Association International de lepra, 1953. 1344p.
10. CREE, I. A., SMITH, W.C.S., BECK, J.5. Serum antibody responses to mycobacteria in leprosy patients and their contacts. *Leprosy Review*, v.59, p.317-327, 1988.
11. DAVEY, T. F., REES, R.J.W. The nasal discharge in leprosy. Clinical and bacteriological aspects. *Leprosy Review*, v.45, p.121-134, 1974.
12. DOUGLAS, C.W.I. The binding of human salivary - amylase by oral strains of streptococcal bacteria. *Arch. Oral Biol.*, v.28, p.567-573, 1983.
13. DUDLEY, J.P. Adherence of microorganisms in infections of the respiratory tract. *Laryngoscope*, v.92, p.68-69, 1982.
14. DUNSFORD I., BOWLEY C.C. apud SALDANHA, S.G. ABO blood groups and salivary secretion of ABH substances among three racial groups in São Paulo. *Rev. Brasil. Genet.*, v.1, p.175-186, 1982.
15. ERCSO, T.H., PRUITT, K., WEDEL, H. The reaction of salivary substances with bacteria. *J. Oral Patol.*, v.4, p.307-323, 1975.
16. GIBBONS, R.J., ETHERDEN, I. Comparative hydrophobicities of oral bacteria and their

- adherence to salivary pellicles. *Infect. Immun.*, v.41, p.1190-1196, 1983.
17. GIBBONS, R.J., QURESHI, J.V. Selective binding of blood group-reactive salivary mucins by *Streptococcus mutans* and other oral organisms. *Infect. Immun.*, v.22, p.665-671, 1978.
 18. GLYNN, L. E., HOLBOROW E. J. Blood groups and their secretion in rheumatic fever. *Rheumatology*, v.2, p.113-130, 1969.
 19. JACOBSON, S.H., LOMBERG, H. Overrepresentation of blood group non-secretors in adults with renal scarring. *Scand. J. Urol. Nephrol.* v.24, p.145-150, 1990.
 20. KALLENIOUS, G., SVENSON, S.B., MÖLLBY, R., CEDERGREN, B., HULTBERG, H., WINBERG, J. Structure of carbohydrate part of receptor on human uroepithelial cells for pyelone-phritogenic *Escherichia coli*. *Lancet*. p.604-606, 1981.
 21. MANDEL, I.D., In defence of the oral cavity. pp 473-491 In: KLEINBERG I, Ellison A.S., MANDEL I.D. *Saliva and dental caries* (a special supplement to Microbiology Abstracts). Information Retrieval. Inc, Washington DC. 1979.
 22. MARCUS D.M. The ABO and Lewis blood-group system. Immunochemistry, genetics and relation to human disease. *N. Engl. J. Med.*, v.280, p.994-1006, 1969.
 23. MOURANT, A.E., KOPEC, A.C. & DOMA-MIEWSKA-SOBEZA, K. *The blood groups and other polymorphic systems*. Oxford University Press, 1978.
 24. POLLOCK apud LIGTEMBERG, A.J.M., VEERMAN, E.C.I., GRAAFF, J. NIEUW AMERONGEN, A.V. Influence of the blood group reactive substances in saliva on the aggregation of *Streptococcus rattus*. *Antonie van Leeuwenhoek*, v.57, p.97107, 1990.
 25. SALDANHA, S.G. ABO blood groups and salivary secretion of ABH substances among three racial groups in São Paulo city. *Rev. Brasil. Genet.*,v.1, p.175-186, 1982.
 26. SEHGAL, V.N. DUBE, B. Secretion of blood group-specific substances in the saliva of leprosy patients. *Int. J. Leprosy*, v.35, p.375-376, 1967.
 27. SPICKET, S.G. Genetics and the epidemiology of leprosy. I. The incidence of leprosy. *Leprosy Review*, v.33, p.76-93, 1962
 28. WEINER, A.S. Blood groups and disease. *Lancet.*, p.813-816, 1962.
 29. WILLIAMS, R.C., GIBBONS, R.J. Inhibition of streptococcal attachment on human buccal epithelial cells by antigenically similar salivary glycoproteins. *Infect. Immun.*, v.11, p.711-718, 1975.