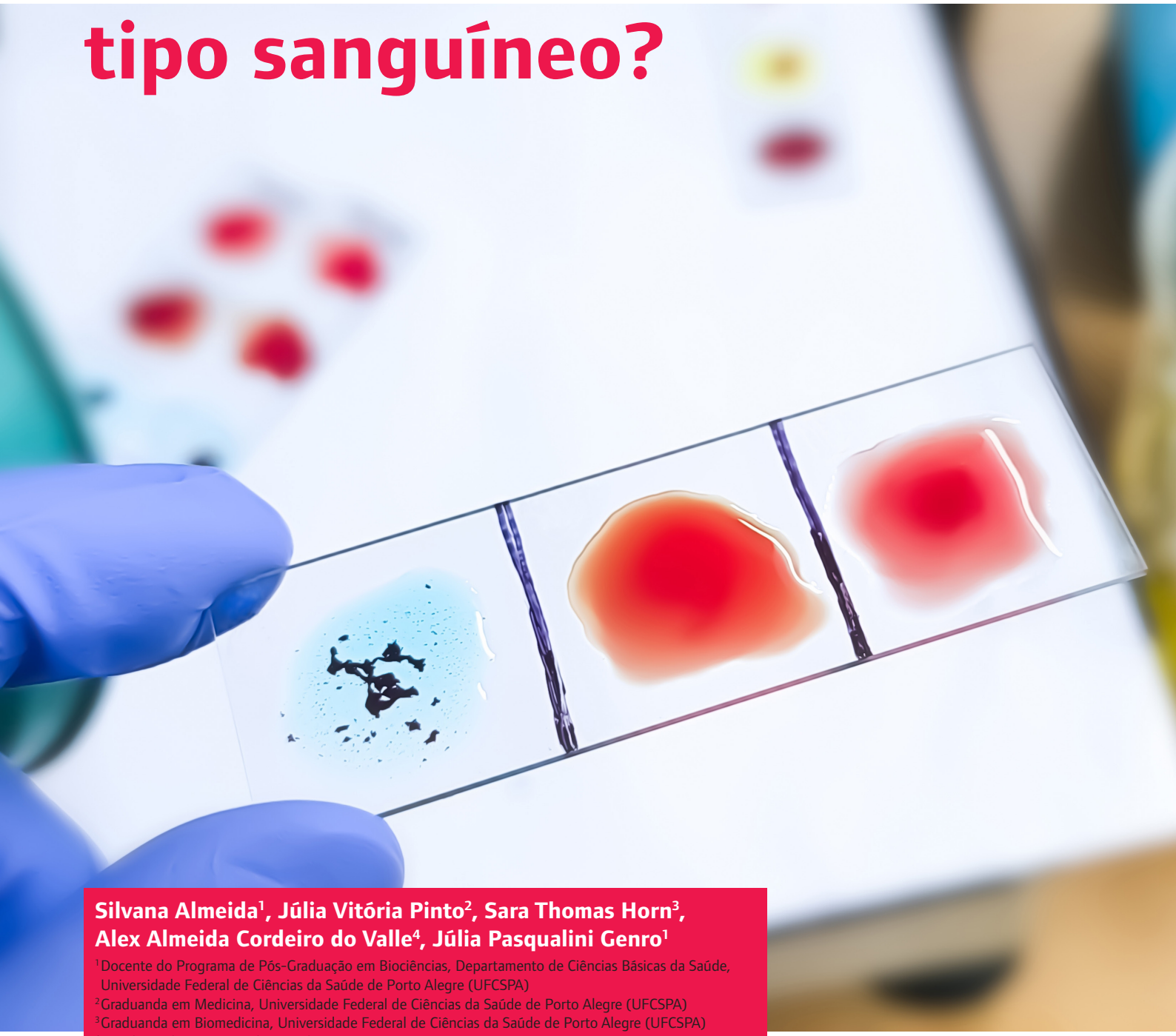
Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

# Como o gene *ABO* e suas variações determinam seu tipo sanguíneo?



**Silvana Almeida[1], Júlia Vitória Pinto[2], Sara Thomas Horn[3], Alex Almeida Cordeiro do Valle[4], Júlia Pasqualini Genro[1]**

[1]Docente do Programa de Pós-Graduação em Biociências, Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)
[2]Graduanda em Medicina, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)
[3]Graduanda em Biomedicina, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)
[4]Estudante do Ensino Médio, Escola Marista Rosário

Autor para correspondência - salmeida@ufcspa.edu.br

**Palavras-chave:** sistema ABO de grupos sanguíneos, incompatibilidade de grupos sanguíneos, doença hemolítica do recém-nascido, reação transfusional, mutações

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

O gene *ABO*, localizado no cromossomo 9, codifica as enzimas glicosiltransferases, responsáveis pela síntese das moléculas que caracterizam os tipos sanguíneos do sistema ABO. O *ABO* possui 6.478 nucleotídeos organizados em sete éxons. Muitas variações já foram descritas em sua sequência, sendo que algumas ocasionam alterações na estrutura e/ou atividade das enzimas sintetizadas. A presença de sete variações, sendo quatro mutações do tipo *missense* (mutação com substituição de aminoácido), diferenciam os alelos responsáveis pela produção das glicosiltransferases A e B (tipo A e B), enquanto os alelos responsáveis pela produção da glicosiltransferase inativa (tipo O) possuem uma mutação do tipo *frameshift* (mutação de quadro de leitura).

## O que são grupos sanguíneos?

O nosso sangue possui diferentes células em circulação e, dentre essas, destacam-se as hemácias, também chamadas de eritrócitos ou células vermelhas, por serem as células presentes em maior quantidade. Assim como outras células do nosso corpo, as hemácias possuem moléculas em sua membrana celular. A partir do reconhecimento de regiões destas moléculas, também chamadas de epítopos dos antígenos, o organismo, através do sistema imunológico, diferencia o que é próprio do que é não próprio. No caso dos eritrócitos, os epítopos e antígenos na superfície celular caracterizam os tipos sanguíneos.

Quando nos referimos aos tipos sanguíneos, na grande maioria dos casos, a referência é feita a dois grupos ou sistemas independentes, ABO e Rh, que, combinados, nos informam o tipo sanguíneo ou fenótipo sanguíneo. Na Figura 1, temos a representação esquemática dos fenótipos sanguíneos dos dois sistemas. Esses dois sistemas são os mais conhecidos, por terem maior capacidade de provocar uma resposta imune e por apresentarem diversas consequências clínicas nas transfusões sanguíneas e na origem da doença hemolítica do feto e do recém-nascido (eritroblastose fetal). No entanto, embora os grupos sanguíneos ABO e Rh sejam os mais conhecidos, a Sociedade Internacional de Transfusão Sanguínea (ISBT, do inglês *International Society of Blood Transfusion*) já descreveu 366 antígenos de grupos sanguíneos, 47 sistemas e 52 genes envolvidos com a expressão deles. Alguns dos tipos sanguíneos (antígenos) desses 47 sistemas são considerados raros, pois têm frequências baixas em algumas populações.

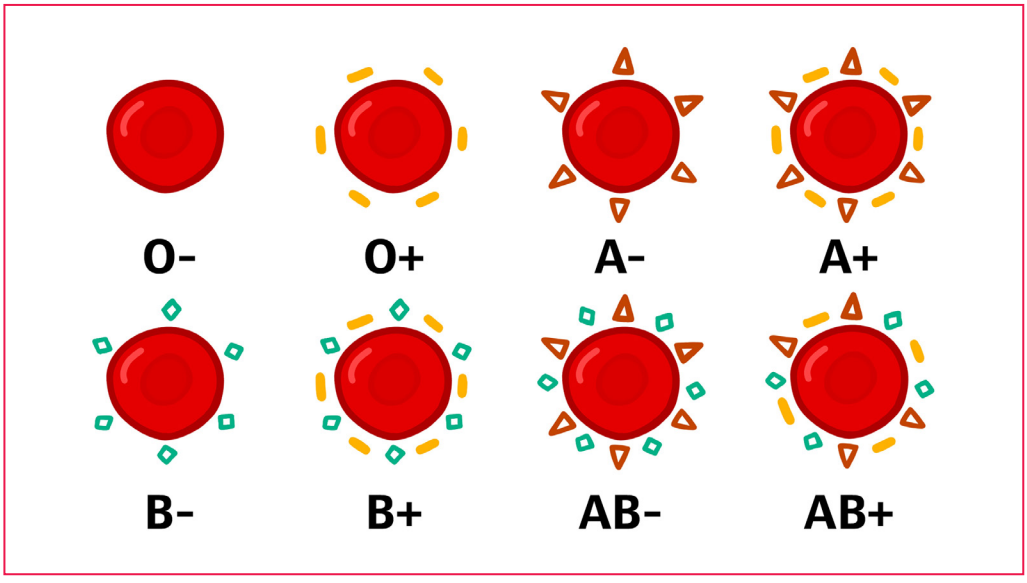



**Figura 1.**
**Representação das hemácias com os antígenos dos grupos sanguíneos ABO e Rh.** O traço cor de laranja, representa o antígeno Rh, triângulo vermelho caracteriza o antígeno A e o losango verde, o antígeno B.

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

Os grupos sanguíneos são uma forma de caracterização do sangue a partir da presença ou ausência de antígenos na superfície das hemácias. Porém, o que faz com que as pessoas tenham tipos sanguíneos diferentes? Ou seja, apresentem um ou outro antígeno na superfície das hemácias? A resposta para essa pergunta está na sequência de DNA de cada pessoa, ou seja, nos seus genes!

## O DNA e o grupo sanguíneo ABO

No núcleo de cada célula do nosso corpo, os genes estão localizados nos cromossomos. Considerando que o zigoto é formado pela união dos gametas dos genitores, fica fácil entender que, nele, cada par de cromossomos homólogos é formado por duas moléculas de DNA com genes correspondentes, uma proveniente da mãe e, outra, do pai. Variações na sequência dos pares de bases nitrogenadas dos genes formam o que chamamos de alelos e o conjunto dos dois alelos de um indivíduo forma o genótipo. O resultado da combinação dos alelos, algumas vezes influenciado pelo ambiente em que o indivíduo está inserido, é chamado de fenótipo e resulta em características que podem ser observadas ou mensuradas. Desse modo, os tipos sanguíneos ABO que conhecemos, A, B, AB e O, são o fenótipo resultante de variações no gene *ABO*.

No sistema ABO, o gene responsável por codificar as proteínas que irão produzir os diferentes antígenos presentes nas hemácias é o *ABO*, localizado no braço longo do cromossomo 9 (região 9q34.1-34.2). O gene possui 7 éxons (Figura 2), ou seja, regiões do gene que irão efetivamente ter as informações para codificar a proteína glicosiltransferase. Na base de dados GenBank, a sequência genômica de referência deste gene é a NG_006669.2 e a sequência de referência do transcrito é a NM_020469.4. Esse gene possui 6.478 nucleotídeos e codifica uma proteína com 354 aminoácidos. A proteína produzida tem a capacidade de promover reações químicas, ou seja, é uma enzima denominada glicosiltransferase e propicia a adição de um açúcar (carboidrato) em uma estrutura receptora na membrana celular.

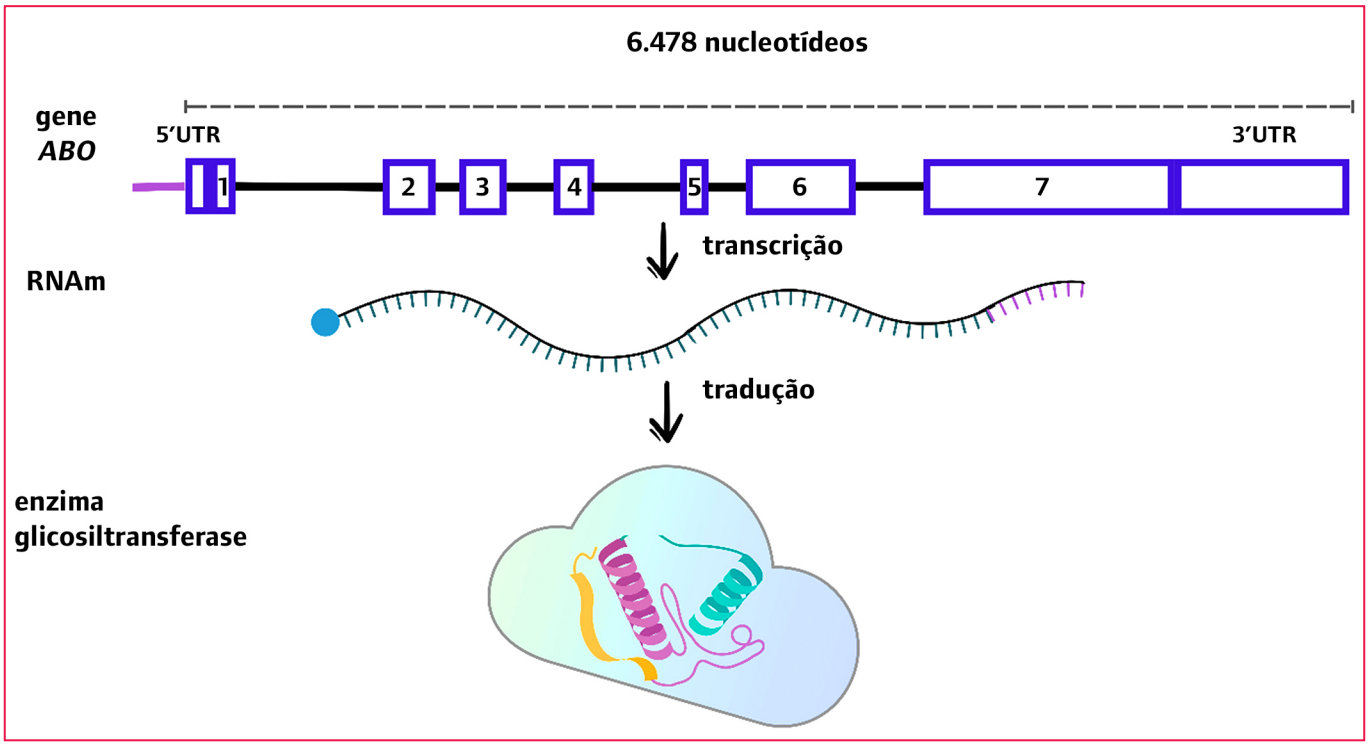



**Figura 2.**
**Representação do gene *ABO* e a síntese da enzima glicosiltransferase.** Na parte superior, um esquema do gene *ABO*. Os retângulos azuis representam os sete éxons, sendo que o primeiro e o último incluem as suas regiões 5'e 3'não-traduzidas (UTRs), respectivamente. As linhas pretas indicam os íntrons e a linha roxa, a região promotora. Abaixo são demonstradas a transcrição, a partir do gene, com a produção do RNAm e a tradução para a síntese da enzima glicosiltransferase.

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

# Quais são as enzimas envolvidas na determinação dos tipos sanguíneos?

Antes de seguir a explicação sobre o papel das variações genéticas na determinação dos tipos sanguíneos A, B, AB e O, é importante explicar como funciona a enzima codificada pelo gene *ABO* e caracterizar uma estrutura de membrana celular muito importante, o antígeno H. O antígeno H é um carboidrato, adicionado pela enzima fucosiltransferase 1 a uma proteína precursora situada na membrana das hemácias. A fucosiltransferase 1 é codificada pelo gene *FUT1* localizado no cromossomo 19. Como pode ser visualizado na Figura 3, é no antígeno H que as glicosiltransferases A e B, codificadas pelo gene *ABO*, adicionarão os carboidratos N-acetilgalactosamina ou galactose, respectivamente, e converterão o antígeno H nos tipos sanguíneos A e B. Uma curiosidade é que também existe uma enzima fucosiltransferase 2, que está relacionada à presença dos antígenos A e B nas secreções, como saliva e lágrimas, e é codificada pelo gene *FUT2*.

As glicosiltransferases A e B catalizam as reações de transglicosilação entre o substrato aceptor (N-acetilgalactosamina ou galactose) e o açúcar receptor (antígeno H). A ação dessas transferases dependerá de sua estrutura conformacional, que permitirá ou não sua ligação específica a cada um dos substratos. O tipo sanguíneo O é determinado por uma glicosiltransferase inativa, ou seja, sem a capacidade de catalisar a ligação da N-acetilgalactosamina ou galactose ao antígeno H. As glicosiltransferases possuem três domínios: um N-terminal, um transmembranar hidrofóbico e um C-terminal. Alguns estudos demonstraram que a porção C-terminal é ativa cataliticamente, mesmo na ausência dos domínios N-terminal e da transmembranar hidrofóbica. A porção C-terminal é codificada pelos éxons 6 e 7, que correspondem a cerca de 90% da sequência codificadora do gene *ABO*.

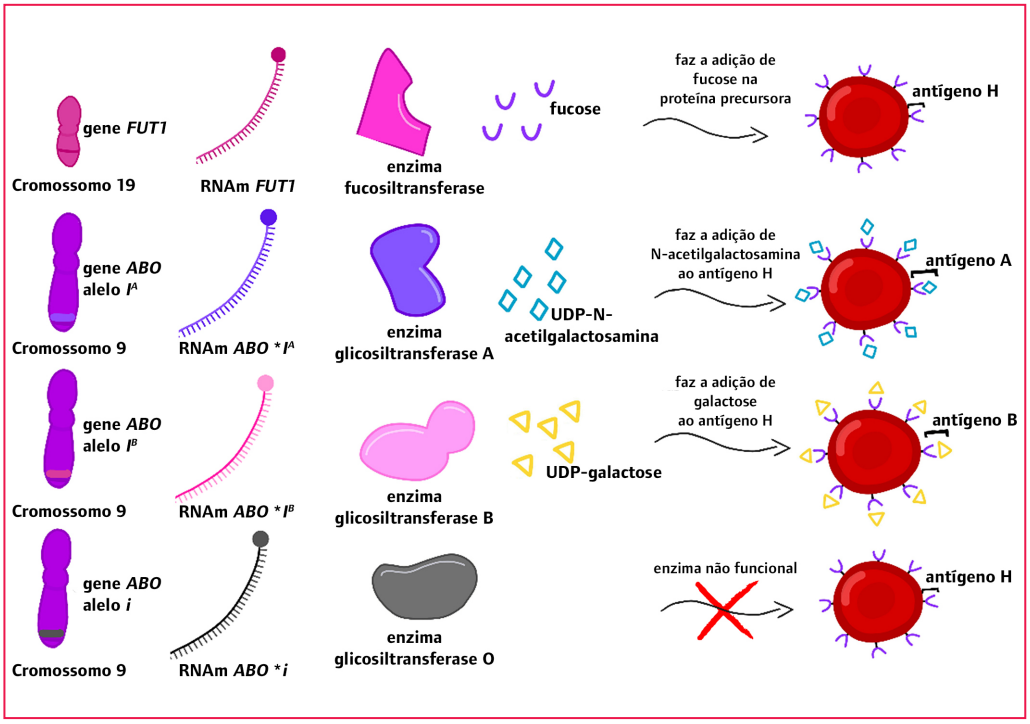



**Figura 3.**
Na parte de cima da figura, representação esquemática da expressão do gene *FUT1*, ocasionando a síntese da enzima fucosiltransferase (rosa forte) que será responsável pela adição de fucose (U roxo) à proteína precursora na membrana da hemácia, produzindo o antígeno H. Nas linhas abaixo, a expressão dos diferentes alelos do gene *ABO*, $I^A$, $I^B$ e *i*, sintetizando as glicosiltransferases A (azul), B (rosa claro) e O (cinza), respectivamente. A glicosiltransferase A catalisa a adição do açúcar N-acetilgalactosamina ao antígeno H, gerando o antígeno A na superfície da célula. A glicosiltransferase B propicia a ligação de UDP-galactose ao antígeno H e produz o antígeno B, enquanto a glicosiltransferase O é uma enzima não funcional e, portanto, o antígeno H permanece sem modificações na superfície da hemácia.

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

# As variações genéticas do gene *ABO* e os tipos sanguíneos A, B, AB e O

As glicosiltransferases A e B, também denominadas de alpha 1-3-N-acetilgalactosaminil transferase e alpha 1-3-galactosil transferase, respectivamente, são codificadas por diferentes alelos do gene *ABO* (os famosos $I^A$ e $I^B$ dos livros didáticos). Oficialmente, os alelos referência no sistema ABO são denominados como *ABO*A1.01* e *ABO*B.01* pela ISBT. Estes dois alelos referência possuem sete trocas de um nucleotídeo por outro que os diferenciam, são os chamados SNVs (*single nucleotide variants* ou variantes de nucleotídeos únicos). No entanto, é importante esclarecer que, além dos dois alelos referência, a ISBT já incluiu em suas listas de variantes genéticas cerca de 80 alelos molecularmente diferentes que determinam o tipo sanguíneo A e 40 alelos para o tipo sanguíneo B. Em geral, os alelos registrados para os tipos sanguíneos desse sistema são determinados pela combinação de mais de uma variação genética. Como exemplo, já citamos que as diferenças genéticas entre os alelos de referência *ABO*A1.01* e *ABO*B.01* são sete SNVs, sendo que quatro são mutações do tipo *missense* e, portanto, ocasionam a troca de aminoácido na proteína. Nos demais SNVs, as variações na sequência do DNA geram mutações silenciosas (sinônimas) que, apesar da alteração na sequência de DNA, não causam trocas de aminoácidos na proteína.

A glicosiltransferase A possui dois fenótipos principais, o $A_1$ e $A_2$, sendo que a atividade enzimática das enzimas $A_1$ é muito maior do que a atividade das enzimas do fenótipo $A_2$. Ou seja, $A_1$ é mais ativa em fazer a adição do substrato N-acetilgalactosamina ao antígeno H e produzir o antígeno A na superfície das hemácias. O primeiro fenótipo descrito acima é determinado pelos alelos *ABO*A1.01* (referência) e *ABO*A1.02*. A diferença entre os dois se dá por um SNV, c.467C>T, com a troca do aminoácido prolina por uma leucina na posição 156 da proteína. Os alelos $A_2$ diferem do alelo de referência por deleção de um C, na posição 1061 do gene, e/ou por outros SNVs que causam trocas de aminoácidos nas proteínas produzidas. A deleção na posição 1061 ocasiona uma mutação do tipo *frameshift*, ou seja, um deslocamento do quadro de leitura que determina a alteração da sequência dos aminoácidos na proteína a partir da mutação. Além desses fenótipos, o tipo sanguíneo A possui outros fenótipos menos frequentes como $A_3$, $A_x$, $A_{weak}$, $A_{finn}$ e $A_{bantu}$. Alguns desses fenótipos são causados por mutações do tipo *missense* (mutação de sentido trocado) e os dois últimos por alteração de *splicing*. O *splicing* (ou recomposição) corresponde ao processo de retirada de íntrons do pré-RNAm e manutenção dos éxons no RNAm maduro. Alterações nesse processo podem ocasionar mudanças estruturais importantes nas proteínas produzidas. Algumas alterações, em nível de DNA, podem causar erros no processo de *splicing*, ocasionando mudanças estruturais no RNAm e, consequentemente, na proteína, que influenciam, significativamente, na sua atividade catalítica.

O alelo *ABO*B.01* é o principal relacionado ao tipo sanguíneo B e codifica a glicosiltransferase B (α1,3-galactosil transferase). Como já mencionado anteriormente, essa variante possui sete SNVs que a distinguem da sequência consenso do gene *ABO* (alelo *ABO*A1.01*): c.297A>G, c.526C>G (Arg176Gly), c.657C>T, c.703G>A (Gly235Ser), c.796C>A (Leu266Met), c.803G>C (Gly268Ala) e c.930G>A (Figura 4), causando a alteração de quatro aminoácidos na enzima (demonstradas entre parênteses). Essas alterações produzem uma enzima com afinidade pelo substrato galactose e não pela N-acetilgalactosamina, como a transferase A. Dessa forma, os portadores deste alelo produzem enzimas que fazem a adição da galactose ao antígeno H, gerando o antígeno B na superfície das hemácias. Assim como o tipo sanguíneo A, o tipo B também possui alguns fenótipos

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

diferentes do codificado pelo alelo referência, os quais irão diferir em afinidade pelo substrato, atividade ou nível de expressão gênica. O fenótipo B é determinado pelos alelos *ABO*B.01*, *ABO*B.02* e *ABO*B.03*, os demais fenótipos descritos pela ISBT são $B_3$, $B_{weak}$ e $B_{el}$. As diferenças genéticas responsáveis pela formação dos diversos fenótipos são principalmente mutações do tipo *missense*, mas uma alteração de sítio de *splicing* também já foi detectada.

A grande maioria das pessoas com o tipo sanguíneo AB possui um alelo que determina o tipo sanguíneo A e outro que determina o tipo B, produzindo as glicosiltransferases A e B. No entanto, existem algumas variantes do gene *ABO* que determinam os fenótipos cisAB e B(A), enzimas denominadas promíscuas, pois reconhecem e catalisam a ligação dos dois diferentes substratos (N-acetilgalactosamina ou galactose). Assim, sendo, as enzimas promíscuas formam tanto o antígeno A quanto B. As variações genéticas entre os alelos que determinam estes fenótipos, em relação ao alelo de referência, são basicamente mutações do tipo *missense* nos éxons 6 e 7.

Já para a determinação do tipo sanguíneo O, o que ocorre é um pouco diferente. A mutação que corresponde ao alelo *ABO*O.01.01* (conhecido como i) acarreta a síntese de uma enzima não funcional, que não consegue adicionar açúcar ao antígeno H. Desse modo, não há a formação nem do antígeno A e nem do B. O alelo que mais comumente está associado a esse fenótipo é o *ABO*O.01.01*, formado a partir de uma deleção (c.261delG) no gene *ABO*. Essa mutação é do tipo *frameshift* e gera um códon de parada da tradução prematuro, resultando em glicosiltransferase inativa. O antígeno H, portanto, fica livre de ligantes na membrana celular da hemácia. Já foram descritos outros 63 alelos que determinam o grupo sanguíneo O, sendo que todos os alelos possuem a deleção (c.261delG) juntamente com outras mutações em outras posições do gene. A maioria das outras mutações descritas são do tipo *missense*, mas uma outra mutação do tipo *frameshift* também já foi descrita.

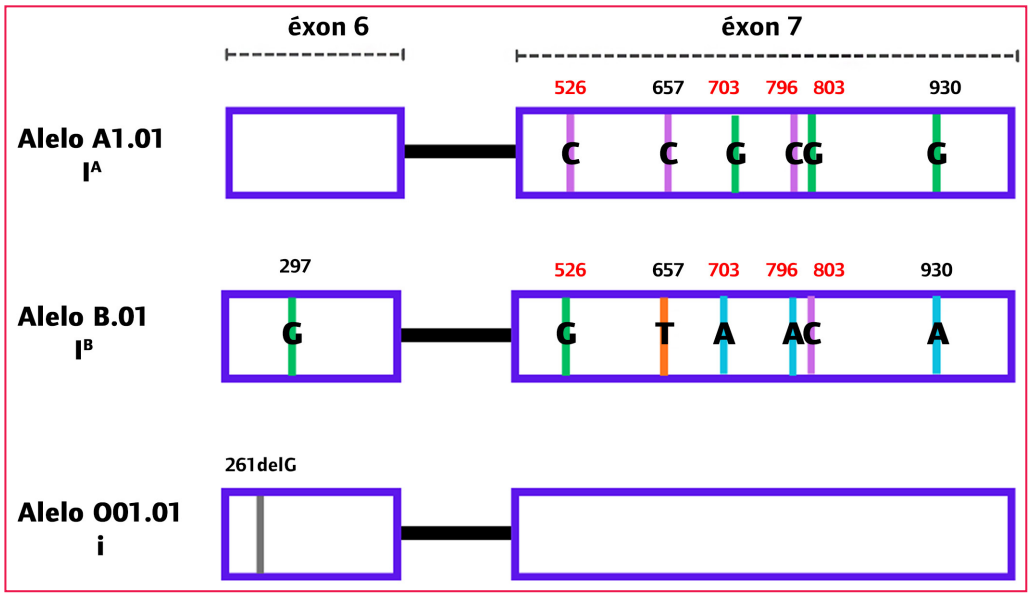



**Figura 4.**
Representação dos éxons 6 e 7 do gene *ABO* e a localização das mutações nos alelos de referência *ABO*A1.01*, *ABO*B.01* e *ABO*O.01.01*. Os retângulos azuis representam os dois éxons. As linhas transversais representam a presença das bases nitrogenadas em cada uma das posições indicadas na parte superior dos retângulos, roxa: citosina; verde: guanina; laranja: timina; azul: adenina e cinza representa uma deleção. As posições que estão destacadas com vermelho são as mutações do tipo *missense*, ou seja, que ocasionam alteração de aminoácidos na proteína.

No entanto, existem casos chamados de falso O (fenótipo Bombaim), quando mutações no gene *FUT1* produzem a enzima fucosiltransferase não funcional, incapaz de adicionar o carboidrato na proteína precursora, impedindo a formação do antígeno H na membrana dos eritrócitos (Figura 5). Em tipagens sanguíneas mais simples, que testam apenas a presença dos antígenos A e B na superfície das hemácias, o resultado será de um sangue do tipo O, mesmo que o indivíduo tenha as glicosiltransferase A e/ou B funcionais. Este é um exemplo clássico do fenômeno que chamamos de epistasia, por meio do qual um gene (*FUT1*) pode influenciar a expressão de outro (*ABO*) relacionado ao mesmo fenótipo.

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

# O sistema sanguíneo ABO e o ensino de genética e biologia molecular

O sistema sanguíneo ABO é frequentemente utilizado, no ensino de genética clássica, tanto no ensino básico quanto no ensino superior, como exemplo de alelos múltiplos ($I^A$, $I^B$ e i), de codominância ($I^A$ versus $I^B$) e dominância/recessividade ($I^A$ versus i e $I^B$ versus i). Por ser fenótipo conhecido e de fácil detecção, ele se torna uma ferramenta potente para o ensino. No entanto, com a ampliação dos conhecimentos moleculares, a catalogação dos diferentes alelos e fenótipos e a detecção de interação entre proteínas, esse sistema pode contribuir ainda mais para o ensino de genética molecular. Algumas das possibilidades seriam: exemplo de epistasia pelo fenótipo Bombaim (assunto apresentado anteriormente na Genética na Escola, v.19, n.1, 2024), exemplo de diferentes tipos de mutações e suas consequências na expressão gênica, como apresentado no presente artigo.

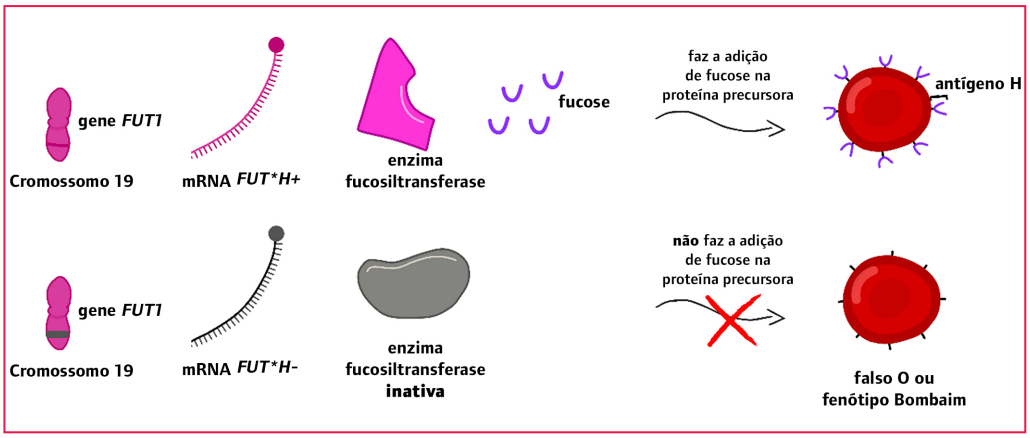



**Figura 5.**
Expressão dos alelos do gene *FUT1* e o fenótipo Bombaim. Na parte superior da figura, o alelo FUT1*H+ proporcionando a síntese de uma enzima funcional (cor de rosa) que realiza a adição da fucose (U roxo) na proteína precursora, gerando antígeno H. O antígeno H pode ser modificado pelas glicosiltransferase A e B, para gerar os tipos sanguíneos A ou B, ou se permanecer sem adição de carboidratos será considerado do tipo O. Na parte de baixo da figura, o alelo FUT1*H- que ocasiona a produção de uma enzima inativa (cinza). Como a enzima não tem atividade, na superfície da hemácia permanecerá presente apenas a proteína percursora, sem o antígeno H, o que impede a produção dos antígenos A e B nos eritrócitos, mesmo com a presença das glicosiltransferase A e B funcionais, caracterizando o fenótipo Bombaim ou falso O.

No entanto, os avanços nos conhecimentos moleculares também trazem a necessidade de cuidado sobre generalizações e simplificações no ensino formal. Dentre as situações especiais que merecem esse cuidado, podemos destacar as implicações que o fenótipo Bombaim e as variantes cisAB e B(A) teriam na predição dos fenótipos sanguíneos dos filhos a partir dos fenótipos paternos. Muitas vezes são propostas atividades escolares para esta predição. Elas têm o objetivo de trabalhar com os conceitos de alelos múltiplos, dominância/recessividade e codominância. Contudo, as situações especiais não são mencionadas ou são ignoradas. Atualmente, ainda é possível utilizar este tipo de atividade, porém, é preciso explicar nos enunciados as exceções, para evitar que os alunos sejam impactados com eventuais inconsistências que às vezes ocorrem nas famílias. Apesar das situações especiais adicionarem mais complexidade ao ensino, elas também acrescentam aspectos que podem gerar maior curiosidade e engajamento dos alunos.

## Para saber mais

YAMAMOTO F. Molecular Genetics of ABO. *Vox Sang.* 2000;78 Suppl 2:91-103. PMID: 10938936. https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2000.tb00045.x

LEE A. H.; REID M. E. ABO blood group system: a review of molecular aspects. *Immunohematology*. v. 16, n. 1, p. 1-6, 2000. PMID: 15373627.

BATISSOCO A. C.; NOVARETTI M. C. Z. Aspectos moleculares do Sistema Sanguíneo ABO. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* v. 25, n.1, p. 47-58, 2003.