

Artigo / Article

Distribuição fenotípica e a frequência genotípica do sistema sanguíneo Duffy em pacientes com a doença de Jorge Lobo

Phenotypic distribution and genotypic frequency of the Duffy blood group system in Jorge Lobo's disease patients

Eliane A. Silva¹Patrícia S. Rosa¹Andréa F. F. Belone¹

A doença de Jorge Lobo é uma micose cutânea e subcutânea de evolução crônica, causada pelo *Lacazia loboi*. Os mecanismos envolvidos na suscetibilidade/resistência do hospedeiro frente ao agente não estão ainda elucidados, dentre eles encontra-se a constituição genética. Portanto, o objetivo deste trabalho é avaliar a distribuição fenotípica do grupo sanguíneo Duffy em pacientes com doença de Jorge Lobo e calcular suas frequências gênicas. Foram analisados 21 pacientes, 13 caucasóides e oito mestiços (tipo moreno claro), provenientes do estado do Acre, e 44 indivíduos, não acometidos por esta doença, habitantes da cidade de Rio Branco (AC), como grupo controle. O fenótipo Duffy foi definido pela presença dos antígenos nas hemácias pela reação de aglutinação dos eritrócitos com anti-soros anti-Fy^a e anti-Fy^b incubando-se a 37°C e aplicando-se o teste da antioglobulina humana. Os resultados mostram que a distribuição fenotípica do sistema Duffy nos pacientes difere significativamente daquela observada nos controles, pela alta frequência de indivíduos com fenótipo Fy(a-b-). Observa-se claramente que os pacientes apresentam maior frequência do alelo FY e menor do alelo FYA do que os controles. O alelo FYB (não inclui os alelos que não são expressos) tem praticamente a mesma frequência nos dois grupos. Com relação à comparação entre distribuição do grupo sanguíneo Duffy com as formas clínicas, sugere maior número de pacientes com forma localizada da doença de Jorge Lobo apresentando um predomínio do fenótipo Fy(a-b+) seguido do fenótipo Fy(a-b-) e inexistência do fenótipo Fy(a+b-). Por outro lado, temos a forma disseminada com maior incidência de fenótipo Fy(a+b-). A forma multifocal foi menos expressiva. Desse modo, podemos inferir uma provável prevalência de fenótipo Duffy negativo na região por nós estudada e os poucos dados disponíveis até o momento tornam clara a necessidade de elaborar tabelas de frequências fenotípicas para a população acometida pela doença de Jorge Lobo, bem como realizar pesquisas para melhor entendimento da função biológica dos antígenos do sistema Duffy. Rev. bras. hematol. hemoter. 2006;28(4):264-268.

Palavras-chave: Fenótipo Duffy; doença de Jorge Lobo; *Lacazia loboi*.

Introdução

A doença, descrita por Jorge de Oliveira Lobo¹ como uma micose cutânea-subcutânea de evolução crônica, causada pelo fungo *Lacazia loboi* (*L. loboi*) acomete, principalmente, trabalhadores rurais em contato com o solo e a vegetação, como é o caso dos seringueiros da Amazônia.^{1,2}

Clinicamente, a doença caracteriza-se por apresentar lesões de aspecto queloidiforme, infiltrativo, gomoso ou veruciforme, de evolução longa, não comprometendo o estado geral do paciente.^{3,4}

Ainda do ponto de vista clínico, Opromolla et al,⁵ ao descreverem 40 novos casos da doença de Jorge Lobo procedentes do estado do Acre, totalizando 295 casos descritos

¹Pesquisador Científico – Instituto Lauro de Souza Lima – Bauru (SP)

Correspondência: Eliane Aparecida Silva
Instituto Lauro de Souza Lima
Rodovia João Ribeiro de Barros Km 225/226 – Caixa Postal 3021
17034-971 – Bauru-SP – Brasil
E-mail: elianesil@yahoo.com.br

no Brasil, classificaram as lesões em monomórficas e polimórficas, de acordo com a predominância de um só tipo de lesão ou a concomitância de vários tipos no mesmo paciente. Com relação à distribuição das lesões, os autores as classificaram em: lesões localizadas (restrita a uma única área), lesões multifocais (em um membro ou segmento de membro) e lesões disseminadas (envolvendo várias regiões anatómicas distintas).⁵

Estudos com o objetivo de investigar características biológicas dessa doença, bem como detectar a existência de marcadores genéticos envolvendo suscetibilidade à infecção pelo *L. loboi* têm sido realizados. Nesse sentido, encontramos na literatura poucos trabalhos avaliando uma provável associação entre a expressão dos antígenos de grupos sanguíneos e a doença de Jorge Lobo. Recentemente, Silva & Ferasçoli,⁶ estudando os mecanismos envolvidos na sensibilidade/resistência do hospedeiro frente ao *L. loboi*, avaliaram a expressão dos antígenos ABH-Lewis nas hemácias de 13 pacientes em relação à população geral. Embora não tenham encontrado diferenças significativas, os autores sugerem suscetibilidade à doença em indivíduos com fenótipo B e com menor frequência fenotípica do antígeno Le^b.⁶

O sistema sanguíneo Duffy tem sido aplicado em outras áreas, tais como antropologia, genética, bioquímica, imunologia e evolução.^{7,8}

Além disso, está bem documentada a associação que existe entre fenótipo Duffy negativo e resistência à malária. Em populações nas quais houve fluxo gênico africano, são identificados quatro principais fenótipos Duffy Fy(a+b-), Fy(a-b+), Fy(a+b+) e Fy(a-b-).⁹

Considerando que a doença de Jorge Lobo acomete uma população de uma região restrita do Brasil e países vizinhos da região amazônica, proporcionando um excelente campo para estudar marcadores genéticos, aliada à escassez de dados que subsidiem uma associação entre suscetibilidade à doença e antígenos de grupos sanguíneos, o presente estudo teve como finalidade avaliar a frequência gênica e a distribuição fenotípica do grupo sanguíneo Duffy nos eritrócitos de pacientes com doença de Jorge Lobo.

Casística e Métodos

Para a realização deste estudo foram utilizadas amostras de sangue de 21 indivíduos portadores da doença de Jorge Lobo, 13 caucasianos e oito mestiços (tipo moreno claro), não aparentados, vinte do sexo masculino e um do sexo feminino, com idade variando de 18 a 50 anos, provenientes do estado do Acre. Os pacientes foram atendidos e esclarecidos quanto ao objetivo do trabalho, no Instituto Lauro de Souza Lima de Bauru (SP), e, com consentimento dos mesmos, foram incorporados ao estudo.

Integraram o grupo controle para o fenótipo Duffy, 44 indivíduos habitantes da cidade de Rio Branco (Acre), não acometidos por esta doença, os quais também foram esclare-

cidos sobre o propósito da pesquisa.

Foram coletadas amostras de 10 ml de sangue venoso com anticoagulante 1mg/ml de EDTA (ácido etileno-diaminotetracético, sal di-sódico) para identificação do fenótipo Duffy nas hemácias.

O fenótipo Duffy foi definido pela presença dos antígenos nas hemácias através da incubação a 37°C com anti-soros anti-Fy^a e anti-Fy^b (Diamed, AG, Switzerland) e aplicando-se o teste da antiglobulina humana.

Os resultados obtidos foram avaliados pelo teste do qui quadrado, admitindo-se o nível de significância de 5%.

Resultados

Os resultados expressos na tabela 1 mostram que a distribuição fenotípica do sistema Duffy nos pacientes difere significativamente daquela observada nos controles, pela alta frequência de indivíduos com fenótipo Fy(a-b-).

Na tabela 2 observa-se claramente que os pacientes mostram maior frequência do alelo *FY* e menor do alelo *FYA* do que os controles. O alelo *FYB* (não inclui os alelos que não são expressos) tem praticamente a mesma frequência nos dois grupos.

Com relação à tabela 3, a comparação entre distribuição do grupo sanguíneo Duffy com as formas clínicas sugere maior número de pacientes com forma localizada da doença de Jorge Lobo apresentando um predomínio do fenótipo Fy(a-b+) seguido do fenótipo Fy(a-b-) e inexistência do fenótipo Fy(a+b-). Por outro lado, temos a forma disseminada com maior incidência de fenótipo Fy(a+b-). A forma multifocal foi menos expressiva.

Tabela 1
Distribuição fenotípica do sistema Duffy nos pacientes e nos controles

Fenótipo	Pacientes		Controles	
	Nº	%	Nº	%
Fy(a+b+)	4	19,0	12	27,3
Fy(a-b-)	6	28,6	3	6,8
Fy(a+b-)	3	14,3	16	36,4
Fy(a-b+)	8	38,1	13	29,5
Total	21	100,0	44	100,0

$\chi^2 = 7,941$; 3 g. l.; $P < 0,05$

Tabela 2
Frequências gênicas corrigidas do sistema Duffy nos pacientes e nos controles

Genes	Pacientes	Controles
<i>FYA</i>	0,177	0,343
<i>FYB</i>	0,334	0,398
<i>FY</i>	0,489	0,259

Tabela 3
Distribuição fenotípica de acordo com a forma clínica dos pacientes com doença de Jorge Lobo

Fenótipo	Disseminada	Localizada	Multifocal
Fy(a+b+)		2	2
Fy(a-b-)		5	1
Fy(a+b-)	3		
Fy(a-b+)	1	7	
Total	4	14	3

Discussão

A doença de Jorge Lobo apresenta aspectos interessantes como, por exemplo, o fato dessa micose ocorrer principalmente em indivíduos que moram na região Amazônica.¹⁰ Isso sugere a existência do componente genético, somado aos fatores ambientais e comportamentais, atuando na ocorrência da doença nessa população. Sabe-se que nesta região existe uma predisposição a infecções por fungos causadores de micoses sistêmicas. Isto foi demonstrado nas diversas macrorregiões brasileiras por meio de inquéritos populacionais com intradermoreação, utilizando-se os antígenos de *Paracoccidioides brasiliensis* e de *Histoplasma capsulatum*. O isolamento desses fungos e de *Cryptococcus neoformans* de amostras ambientais e de animais tem contribuído para definir microrregiões onde se passam a exposição e a infecção humana. No entanto, em razão do pequeno número de isolamentos obtidos, permanecem desconhecidos, em grandes extensões do território brasileiro, os locais nos quais os fungos fazem o ciclo de vida saprofítica e onde poderiam infectar o homem.¹¹

O sistema de grupo sanguíneo Duffy tem sido considerado um dos mais interessantes *loci* cromossômicos para avaliar o impacto da pressão da seleção natural em diferentes regiões geográficas.^{12,13} No entanto, até o momento, não encontramos na literatura estudos da frequência fenotípica e genotípica de grupos sanguíneos Duffy nos portadores de doença de Jorge Lobo.

No presente estudo observamos que diferenças fenotípicas são de difícil interpretação, pois na espécie humana o fenótipo Fy(a-b-) é característico dos negros e ausente ou muito pouco freqüente em brancos. Em outras palavras, se a amostra de pacientes tiver, por acaso, mais negros ou mestiços do que a de controles, a diferença observada poderá ser atribuída simplesmente a diferenças raciais. Por outro lado, é possível que os negros tenham maior suscetibilidade à doença de Jorge Lobo. Nesse caso, o fenótipo Fy(a-b-) poderá mostrar uma associação espúria com essa doença, pois, na realidade, a causa da associação seria o grupo racial, por um motivo a ser descoberto.

Sabemos que a frequência fenotípica encontrada para o sistema de grupo sanguíneo Duffy em doadores de sangue da cidade de São Paulo foi de 19,8% em caucasóides e de 14,0% em negros para o fenótipo Fy(a+b-). Quanto ao fenótipo Fy(a+b+), a casuística foi de 41,4% para caucasóides e 1,6% para negros. O fenótipo Fy(a-b+) observado foi de 37,8% para caucasóides e 17,5% para negros. Em caucasóides, a frequência de fenótipo Fy(a-b-) foi de 1,1%, enquanto para os negros foi de 66,9%, sendo esse fenótipo considerado marcador da raça negra.¹⁴

Neste trabalho, os pacientes foram classificados em caucasóides e mestiços (moreno claro), com base em características fenotípicas. No entanto, sabemos que no estado do Acre é grande a influência indígena e a contribuição de brancos na miscigenação da população. Dessa forma, a alta frequência do fenótipo Fy(a-b-) nos pacientes, provavelmente seja sugestiva de susceptibilidade destes indivíduos à doença de Jorge Lobo e não devido às diferenças raciais.

Os dados de Estalote *et al*¹⁵ reforçam essa hipótese, pois estudando a fenotipagem e genotipagem do sistema sanguíneo Duffy nos grupos de euro-brasileiros, afro-brasileiros, asiático-brasileiros e ameríndios, os autores demonstraram que a população brasileira exhibe considerável diversidade biológica, enfatizando a necessidade de se determinar a variabilidade genética dos genes Duffy, especialmente nos índios brasileiros; dentre eles encontram-se os Cayapós, com frequência do alelo *FYA* 0,79 e *FYB* 0,21, bem como os Yanomama, com a frequência do alelo *FYA* 0,58 e *FYB* 0,42. Em nenhum destes dois grupos houve a presença da mutação GATA.

Em relação às formas clínicas da doença, nossos dados não nos permitem concluir que existe associação entre a clínica com a frequência fenotípica, mas nos leva a pensar se a avaliação de um número maior de pacientes comprovaria a alta frequência do fenótipo Fy(a+b-) em indivíduos que apresentassem a forma clínica disseminada. Outro dado a ser salientado é que a apresentação de pacientes com forma clínica localizada ou disseminada pode estar relacionada com os diferentes graus de resistência do hospedeiro frente ao *L. loboi*.⁵

Recentes estudos imunológicos demonstraram que a dosagem de citocinas séricas não variou entre pacientes e o grupo controle. No entanto, a quantificação de citocinas no sobrenadante de cultura de linfócitos e monócitos revelou maior produção de IL4 e IL6 e menor produção de IL2 em pacientes com doença de Jorge Lobo. Esses achados sugerem que os pacientes apresentam um predomínio da resposta de perfil Th2, porém esses resultados não podem confirmar se a resposta imunológica é o fator determinante das formas clínicas.¹⁶

Ainda quanto às formas clínicas da doença de Jorge Lobo, alguns autores sugerem que os pacientes possam ter sido infectados por cepas diferentes do *L. loboi*.¹⁷ A existência de diferenças intra-espécie do *L. loboi* foi demonstrada

por Herr *et al* (2001) em estudo filogenético utilizando como ferramenta o gene da 18s SS rDNA e o gene da quitina sintase-2 de duas amostras do fungo.¹⁸

Desse modo, a interação dos estudos da filogenia do fungo, somado aos aspectos imunológicos e genéticos do indivíduo, poderiam servir de critério para a classificação dos pacientes quanto às formas clínicas da doença.

O envolvimento do sistema Duffy em diferentes processos biológicos está bem definido.¹⁹ Tem sido demonstrado o papel biológico dos antígenos Duffy como receptores de merozoítas de *Plasmodium vivax* e do *P. knowlesi*, que são respectivamente os agentes responsáveis por diferentes formas de malária no homem e no macaco. Do mesmo modo, tem sido demonstrado que os antígenos Duffy atuam como receptores da interleucina 8 na resposta inflamatória, resultante da expressão do antígeno Duffy em outros tecidos.²⁰ A ausência desses antígenos nos eritrócitos parece ter significativo impacto na distribuição das populações humanas, como fator de suscetibilidade e resistência, nas áreas em que a malária é endêmica. Assim, podemos inferir que nossos achados concordam com estudos realizados na Amazônia brasileira,²¹ revelando uma provável prevalência de fenótipo Duffy negativo na região por nós estudada.

Os poucos dados disponíveis até o momento tornam clara a necessidade de elaborar tabelas de frequências fenotípicas para a população acometida pela doença de Jorge Lobo, bem como realizar pesquisas para melhor entendimento da função biológica dos antígenos do sistema Duffy.

Abstract

Jorge Lobo's disease is a chronic cutaneous-subcutaneous mycosis caused by the fungus Lacazia loboi. The mechanisms involved in susceptibility and resistance to infection by this pathogen, especially genetic background, are yet to be understood. The objective of the present study was to evaluate the phenotypic distribution of the Duffy blood group in Jorge Lobo's disease patients and calculate its gene frequencies. Twenty one patients were analyzed, among them 13 Caucasoid and 8 from mixed ethnical backgrounds (Afro-Brazilians) originating from the State of Acre. The control group consisted of 44 healthy individuals from the city of Rio Branco (AC). The Duffy phenotype was defined by the presence of antigens in erythrocytes as visualized by the agglutination reaction of erythrocytes in the presence of anti-Fya and anti-Fyb antisera incubated at 37°C by the human antiglobulin test. Results showed that the phenotypic distribution of the Duffy blood group system in patients was significantly different from controls, with the frequency of individuals with phenotype Fy(a-b-) being very high. Patients presented remarkably higher frequencies of the allele FY and lower frequencies of the allele FYA compared to controls. Frequencies of the allele FYB (not including non-expressed alleles) were similar in both groups. The comparison between Duffy blood group distribution with clinical forms of the disease suggests predominance of the phenotype Fy(a-b+) in patients with the localized form of Jorge Lobo's disease, followed by phenotype Fy(a-b-) and absence of phenotype (a+b-). On the other hand, we observed a higher incidence of phenotype Fy(a+b-) in patients with

the disseminated form of the disease. The multifocal forms were less expressive. Therefore, we may infer that the negative Duffy phenotype is probably more prevalent in the region studied. There is scarce data available on phenotype distributions, it is necessary to develop similar studies in populations affected by Jorge Lobo's disease in order to improve knowledge on the biological role of Duffy antigens. Rev. bras. hematol. hemoter. 2006;28(4):264-268.

Key words: *Duffy phenotype; Jorge Lobo's disease; Lacazia loboi.*

Agradecimento

Os autores agradecem ao Prof. Dr. Bernardo Beiguelman pelo apoio técnico na análise estatística dos resultados e suporte científico.

Referências Bibliográficas

- Lobo J. Um caso de blastomicose, produzido por uma espécie nova, encontrada em Recife. Rev Med Pernambuco 1931;1:763-75.
- Guimarães FN, Macedo DG. Contribuição ao estudo das blastomicoses na Amazônia (blastomicose sul-americana). Hospital 1950; 38:223-53.
- Silva D. Oito casos novos da micose queloidiforme de Jorge Lobo. An Bras Derm Sif 1965;40:307-26.
- Moraes MAP. Blastomicose tipo Jorge Lobo. Seis casos novos encontrados no estado do Amazonas, Brasil. Rev Inst Med Trop São Paulo 1962;4:187-97.
- Opromolla DVA, Taborda PROW, Taborda VBA, Viana S, Furtado JF. Lobomicose: relato de 40 casos novos. An Bras Dermatol 1999;74:135-41.
- Silva EA, Ferasçoli MO. Frequências relativas dos fenótipos eritrocitários ABO e Lewis na Doença de Jorge Lobo. Rev Bras Hematol Hemoter 2004;26(1):23-7.
- Blackwell CC. Genetic susceptibility to infections agents. Proc. Roy Coll Phys (Edinburgh) 1989;19:129-138.
- Logdberg I, Reid ME, Lamont RE, *et al*. Human blood group genes 2004: Chromosomal locations and cloning strategies. Transf Med Rev 2005;19(1):45-57.
- Beiguelman B. Sistemas sanguíneos eritrocitários. Funpec, 3ª ed, Ribeirão Preto, SP, 2003, 234p.
- Lacaz CS, Baruzi RG, Rosa MCB. Doença de Jorge Lobo. São Paulo: USP-IPSI, 1986. 92p.
- Martinez R, Vitall LH, Henriques JHS, Machado AA, Albernaz A, Lima AL. Inquérito soroepidemiológico para infecções por fungos causadores de micoses sistêmicas na Reserva Indígena Xacriabá, estado de Minas Gerais. Rev Soc Bras Med Trop 2002; 35(4):347-350.
- Hamblin MT, Di Rienzo A. Detection of the signature of natural selection in humans evidence from the duffy blood group locus. Am J hum Genet 2000; 66(5): 1669-79. Erratum in. Am J Hum Genet 2002;70(1):284.
- Hamblin MT, Thompson EE, Di Rienzo A. Complex signature of natural selection at the Duffy blood group locus. Am J Hum Genet 2002;70(2):369-83.
- Novaretti MCZ, Dorhiac-Llacer PE, Chamone DAF. Estudo de grupos sanguíneos em doadores de sangue caucasóides e negróides da cidade de São Paulo. Rev Bras Hematol Hemoter 2000;22(1): 23-32.
- Estalote AG, Proto-Siqueira R, Silva Jr WA, Zago MA, Palatnik M. The mutation G298A→Ala100Thr on the coding sequence of the Duffy antigen/chemokine receptor gene in non-caucasian Brazilians. Genet Mol Res 2005;4(2):166-173.

16. Vilani-Moreno FR, Lauris JR, Opromolla DVA. Cytokine quantification in the supernatant of mononuclear cell cultures and in blood serum from patients with Jorge Lobo's disease. *Mycopathologia* 2004;158(1):17-24.
17. Belone AFF, Rosa PS, Madeira S, Opromolla DVA. Evolução da doença de Jorge Lobo em camundongos inoculados com *Lacazia loboi* obtido de diferentes pacientes. IV Congresso Brasileiro de Micologia. 2004.
18. Herr R, Tarcha EJ, Taborda PR, Taylor JW, Ajello L, Mendoza L. Phylogenetics analysis of *Lacazia loboi* places this previously uncharacterized pathogen within the dimorphic onygenales. *J Clin Microbiol* 2001;39(1):309-314.
19. Mourant AE, Kopec AC, Domamewska-Sobezak K. The distribution of human blood group and other polymorphisms. London Oxford University Press. P.140, 1976.
20. Horuk R, Chitnis CE, Darbonne WC, Colby TJ, Rybicki A, Hadley TJ, et al. A receptor for the malarial parasite *Plasmodium vivax*: the erythrocyte chemokine receptor. *Science* 1993;261: 1.182-4.
21. Beiguelman B, Alves FP, Moura MM, Engracia V, Nunes ACS, Heckmann MIO, et al. The association of genetic markers and malaria infection in the Brazilian Western Amazonian region. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003;98(4):455-460.

Avaliação: Editor e dois revisores externos

Conflito de interesse: não declarado

Recebido 10/04/2006

Aceito 21/08/2006