

Universidade Federal do Rio de Janeiro  
Centro de Ciências da Saúde  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Medicina  
Área de Concentração em Dermatologia

**PITIRIASE RÓSEA E SUSCEPTIBILIDADE CONFERIDA POR HLA:  
UM ESTUDO REALIZADO EM PACIENTES DE ETNIA AFRO-  
BRASILEIRA**

SANDRA MARIA BITENCOURT MIRANDA

Rio de Janeiro  
2005

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

PITIRIASE RÓSEA E SUSCEPTIBILIDADE CONFERIDA POR HLA: UM  
ESTUDO REALIZADO EM PACIENTES DE ETNIA AFRO-BRASILEIRA

**Sandra Maria Bitencourt Miranda**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Dermatologia).

Orientadores: Prof. Dr. Absalom Lima Filgueira  
Prof<sup>a</sup>. Dra. Luciane Faria de Souza Pontes

Rio de Janeiro  
Outubro/2005

Miranda, Sandra Maria Bitencourt

Pitiríase rósea e susceptibilidade conferida por HLA: um estudo realizado em pacientes de etnia afro-brasileira / Sandra Maria Bitencourt Miranda – Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Medicina, 2005.

xv, 111 f. : il. ; 31 cm.

Orientadores: Absalom Lima Filgueira e Luciane Faria de Souza Pontes

Tese (Doutorado) – UFRJ, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina – Dermatologia, 2005.

Referências Bibliográficas: f. 112-129

1. Pitiríase rósea. 2. antígenos HLA. 3. Dermatologia – Tese. I. Filgueira, Absalom Lima. II. Pontes, Luciane Faria de Souza. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina – Dermatologia. IV. Título

# PITIRIASE RÓSEA E SUSCEPTIBILIDADE CONFERIDA POR HLA: UM ESTUDO REALIZADO EM PACIENTES DE ETNIA AFRO-BRASILEIRA

Sandra Maria Bitencourt Miranda

Orientadores: Prof. Dr. Absalom Lima Filgueira  
Prof<sup>a</sup>. Dra. Luciane Faria de Souza Pontes

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Dermatologia).

Aprovada por:

Presidente,  
Profa. Dra. Maria Leide Wand Del Rey de Oliveira

Profa. Dra. Jane Marcy Neffá Pinto

Prof. Dr. Luis Cristóvão de Moraes Sobrino Pôrto

Profa. Dra. Ryssia Alvarez Florião

Profa. Dra. Sueli Coelho da Silva Carneiro

Rio de Janeiro  
Outubro/2005

Ao meu querido esposo João Nestor, companheiro e cúmplice em todas as minhas escolhas.

Aos meus filhos Gabriel, Marcus e Paulo, meus maiores amores.

## AGRADECIMENTO

---

A Deus, muito obrigada, por ter me proporcionado perseverança e entusiasmo, mesmo nos momentos de maior adversidade enfrentados no decorrer da elaboração do trabalho. Estou certa que me cumulateste de toda a ajuda espiritual, material e das pessoas tão necessárias para conclusão dessa pesquisa.

Ao Professor Doutor Absalom Lima Filgueira, Professor Titular de Dermatologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ e coordenador do Curso de Pós-Graduação em Dermatologia UFRJ, pela confiança que sempre depositou na minha formação científica.

À Professora e Doutora Luciane Faria de Souza Pontes, Farmacêutica, Doutora em Ciências e Professora do Curso de Especialização em Histocompatibilidade da UERJ, pelo seu empenho, profissionalismo e orientação criteriosa nas etapas decisivas do processo de elaboração desta pesquisa.

Ao Professor Doutor Luiz Cristóvão de Moraes Sobrinho Porto, Diretor Científico do Laboratório de Histocompatibilidade do IBRAG / UERJ, Especialista em Imunogenética, não só por ter proporcionado a viabilização das tipificações HLA, mas, sobretudo pela preciosa ajuda com observações e sugestões tão valiosas na concretização do trabalho.

Ao Professor Délio Delmaestro, Prof. Titular de Dermatologia da Universidade Federal do Espírito Santo UFES e Chefe do Serviço de Pós-Graduação em Dermatologia do HUCAM / UFES, não só pelo suporte técnico colocando o Serviço de Dermatologia e a equipe que coordena a favor da realização deste trabalho, mas ainda por ter sido sempre a referência de profissionalismo na minha formação em Dermatologia.

A Maria Teresa Queiroz Marques, Bióloga do Laboratório de Histocompatibilidade do IBRAG/UERJ pela priorização na realização das tipificações HLA.

Aos colegas que constituem a equipe do Serviço de Pós-Graduação em Dermatologia do Hospital Universitário Cassiano de Moraes, HUCAM-UFES, dentre eles a Dra. Edilaine Brandão Schmidt e Maria Angélica Peçanha, pelo apoio e

compreensão nos períodos de ausência do ambulatório decorrentes da maior dedicação à tese.

Em especial aos Drs. Carlos Alberto Pimentel e Tânia Mara Marinhos, Dermatologistas do Serviço de Pós-Graduação do HUCAM-UFES, pela solidariedade e espírito de equipe demonstrada, pelo encaminhamento de muitos pacientes para participarem do trabalho.

Às Doutoradas Alessandra, Regina e Valéria, então residentes de Dermatologia Serviço de Pós-Graduação do HUCAM-UFES, pelo auxílio na coleta de dados e realização dos exames complementares.

Ao Serviço de Pós-Graduação em Dermatologia Escola de Medicina da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, EMESCAM, pelo inicial apoio ao meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Elton Lucas, Professor Adjunto de Patologia da Universidade Federal do Espírito Santo, UFES pela realização de parte dos exames Histopatológicos.

Ao Dr. Christiano Rezende, responsável pelo Laboratório de Análises Clínicas LUAP por ter facilitado a coleta de sangue dos participantes.

Ao Thiago Sobreiro Marques, por ter fornecido alguns artigos sobre imigração e características racial utilizados na tese sobre antropologia.

Ao meu esposo, Prof. Dr. João Nestor Rodrigues de Miranda, Professor de Patologia da Escola de Medicina da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, EMESCAM pela participação na realização de parte dos exames histopatológicos.

Aos meus queridos filhos Paulo e Gabriel não só pelo apoio emocional, mas também pela assistência nas confecções das tabelas na ajuda no enquadramento da tese às normas da ABNT e especialmente ao meu filho Marcus, pelo fornecimento de vários artigos e de alguns esclarecimentos referentes à imunogenética.

A Eliane Maria Ferreira Bittencourt, irmã e amiga, presença constante tão importante para superação nas etapas mais difíceis do trabalho.

Aos meus queridos pais, Norico Bittencourt e Maria Aparecida Ferreira Bittencourt, lembrança encorajadora, que permanece presente em minha vida.

Aos pacientes e voluntários, pelo despojamento, confiabilidade e compreensão, tão essenciais para a realização da tese.

## RESUMO

---

### PITIRIASE RÓSEA E SUSCEPTIBILIDADE CONFERIDA POR HLA: UM ESTUDO REALIZADO EM PACIENTES DE ETNIA AFRO-BRASILEIRA

Sandra Maria Bitencourt Miranda

Orientadores: Prof. Dr. Absalom Lima Figueira  
Prof<sup>a</sup>. Dra. Luciane Faria de Souza Pontes

Resumo da Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Dermatologia).

**Objetivo:** Os Antígenos Leucocitários Humanos (HLA) têm sido intensamente relatados com fatores de susceptibilidade genética para inúmeras doenças. Esse estudo avalia o potencial de risco genético na Pitíriase rósea (PR), através da tipificação molecular do HLA. **Método:** O método usado foi, Reação em Cadeia Polimerase, com *primers* de seqüência específicas (PCR-/SSP-One Lambda, Inc-CA-USA), com determinação dos alelos da classe I (HLA-A, HLA-B e HLA-C) e classe II (HLA-DRB1, DRB3, DRB4 e DQB5), em 30 pacientes Afro-brasileiros (PR) e 45 indivíduos saudáveis do grupo controle (PR-C). **Resultado:** A análise do resultado HLA dos grupos mostrou significativa, risco relativo RR 4,00, intervalo de confiança IC 95% 1,20-13,28, valor p 0,018 para o alelo classe II, HLA-DQB1\*04, detectado em 33,3% PR contra 11,1% PR-C. Observamos ainda, que 3 dos 6 alelos B\*51 e 3 dos 6 alelos B\*53 detectados nos pacientes com PR, estavam juntos com o alelo DQB1\*04. **Conclusão:** A significativa predominância do alelo DQB1\*04, nos 30 pacientes PR de etnia afro-brasileira estudados, sugere-nos que este alelo possa estar envolvido como importante fator na susceptibilidade genética para a PR. Entretanto, achamos conveniente que a pesquisa seja realizada em populações de outras etnias e preferencialmente com técnicas de alta resolução de tipagem do DNA.

**Palavras-chave:** Pitíriase rósea, antígenos HLA, Dermatologia.

Rio de Janeiro

Outubro / 2005

## ABSTRACT

---

### CORRELATION BETWEEN HLA AND PITYRIASIS ROSEA SUSCEPTIBILITY IN BRAZILIAN BLACKS

Sandra Maria Bitencourt Miranda

Orientadores: Prof. Dr. Absalom Lima Filgueira  
Prof<sup>a</sup>. Dra. Luciane Faria de Souza Pontes

Abstract da Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Dermatologia).

**Objectives** The human leukocytes antigen (HLA) has been intensely related to susceptibility factors of several diseases. This study is aimed at the potential genetic susceptibility of patients with Pityriasis rosea (PR) through HLA molecular typing analysis. **Methods** The method of choice was Polymerase chain reaction with sequence-specific primers ((PCR-/SSP) low resolution typing kits, with determination of the alleles class I, (HLA-A, HLA-B, and HLA-C) and class II (HLA-DRB1, DRB3,DRB4,DRB5, and DQB1) performed in 30 Afro-Brazilian PR diagnosed patients and 45 healthy individuals, the control group (PR-C). **Results** The analysis of the HLA typing results showed that the relative risk (RR) of 4.00 (95% confidence interval (95% CI) 1.20-13.28, two-tailed  $p = 0.018$ ) for allele HLA-DQB1\*04 class II, detected in 33.3% of PR patients, was significant. By contrast, the control group had only 11.1% of subjects had that allele. Three out six B\*51 alleles and three out of six B\*53 alleles detected in PR and were found, together with the allele DQB1\*04. **Conclusion** We suggest that alleles DQB1\*04 may be involved in the genetic susceptibility of PR based on the significant predominance of those alleles observed in the black PR patients. We also recommended that more studies are conducted on populations of other ethnic origins, preferentially with higher resolution techniques of DNA typing.

**Key words:** pityriasis rosea, HLA antigens.

Rio de Janeiro  
Outubro/2005

# SUMÁRIO

---

<b>LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS .....</b>	<b>X</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>XII</b>
<b>LISTA DE QUADROS .....</b>	<b>XIV</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>XV</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>3</b>
2.1 PRINCIPAL.....	3
2.2 SECUNDÁRIO.....	3
<b>3 REVISÃO LITERÁRIA .....</b>	<b>4</b>
<b>3.1 PITIRÍASE RÓSEA.....</b>	<b>4</b>
3.1.1 Aspectos Gerais .....	4
3.1.2 Epidemiologia .....	5
3.1.3 Etiologia.....	7
3.1.4 Quadro clínico .....	14
3.1.5 Exames complementares .....	18
3.1.5.1 Exame histopatológico.....	19
3.1.6 Diagnóstico Diferencial.....	20
3.1.7 Doenças Associadas .....	21
3.1.8 Tratamento .....	22
<b>3.2 O SISTEMA HLA .....</b>	<b>24</b>
3.2.1 Aspectos gerais do MHC.....	24
3.2.2 Nomenclatura .....	29
3.2.3 Métodos de detecção das moléculas MHC .....	30
3.2.4 Estrutura das moléculas MHC.....	32
3.2.5 Organização das moléculas MHC .....	37
3.2.6 Expressão das moléculas HLA nos tecidos.....	43
3.2.7 Vias de processamento e geração de peptídeos-MHC .....	46
3.2.8 Interação peptídeo-MHC .....	49

3.2.9	<i>Restrição às moléculas MHC</i> .....	51
3.2.10	<i>Polimorfismo e Poligenia das moléculas MHC</i> .....	53
3.2.11	<i>Complexo peptídeo-MHC e receptores de células T</i> .....	55
3.2.12	<i>Desequilíbrio de Ligação</i> .....	58
3.2.13	<i>MHC e suscetibilidade às doenças</i> .....	59
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>67</b>
4.1	<b>DELINEAMENTO DO ESTUDO</b> .....	<b>67</b>
4.2	<b>PARTICIPANTES</b> .....	<b>67</b>
4.2.1	<i>Critério de Elegibilidade</i> .....	67
4.2.2	<i>Critérios de Inclusão</i> .....	68
4.2.2.1	Pacientes.....	68
4.2.2.2	Grupo controle .....	69
4.3	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>69</b>
4.3.1	<i>Entrevista e Exame clínico</i> .....	69
4.3.1.1	Os Indivíduos do grupo de pacientes (PR) foram submetidos ainda: .....	70
4.3.2	<i>Exames laboratoriais</i> .....	70
4.3.2.1	Biopsia de pele.....	70
4.3.2.2	Exames de sangue laboratoriais gerais .....	71
4.3.2.3	Tipificação do HLA classe I e II .....	71
4.4	<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	<b>76</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>79</b>
5.1	<b>CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA</b> .....	<b>79</b>
5.2	<b>CARACTERÍSTICA CLÍNICA DA PR NO GRUPO DOS PACIENTES PR</b> .....	<b>81</b>
5.3	<b>EXAMES COMPLEMENTARES DOS PACIENTES DE PR</b> .....	<b>85</b>
5.4	<b>EXAME HISTOPATOLÓGICO DOS CASOS DE PR</b> .....	<b>85</b>
5.5	<b>ANÁLISE EXPLORATÓRIA DA TIPIIFICAÇÃO HLA CLASSE I E II</b> .....	<b>86</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>96</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>110</b>
<b>8</b>	<b>SUGESTÕES</b> .....	<b>111</b>

**REFERÊNCIAS.....112**

**ANEXOS.....130**

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

---

ABC	ATP-binding cassette
AIR-1	“activator of immune response 1”
APCs	Células apresentadoras de antígenos
Anti-HIV 1 e 2	“Anti-human immunodeficiency vírus antibody”
BRC	Receptor de células B
CDR	Região de complementaridade
CIITA	Gene classe II transativador, “class II transactivador”
CLIP	Peptídeo da cadeia invariante associado à classe II ou “class associated invariant chain peptide”
CMV	Citomegalovirus
CPH	Complexo principal de Histocompatibilidade
CTLA-4	Receptor de alta afinidade para moléculas B7 presente em células T
EBV	Epstein – Barr vírus
FTA-ABS	“Fluorescent treponemal antibody absorption”
HbsAg	“Test hepatitis B surface antigen”
HCV	“Anti hepatitis C vírus antibody”
HHV-6	Herpes vírus humano 6
HHV-7	Herpes vírus humano 7
HLA	Antígeno leucocitário humano, “human leukocytes antigen”
IFN $\gamma$	Interferon gama
ITAM	Imunoreceptor da tirosina
li	Proteína invariante
LMP ou PSMB	Genes que codificam subunidades do proteossoma, “proteasome-like genes”.
ME	Microscópio eletrônico
MIIC	Compartimento MHC classe II
MHC	Major Histocompatibility Complex
PBMC	Células mononucleares no sangue periférico

PCR	Reação da cadeia polimerase, “Polymerase Chain Reaction”
PR	Pitíriase roséa
PR grupo	Pacientes com pitíriase rósea
PR-C	Indivíduos do grupo controle
PCR-SSP	Polymerase Chain Reaction com “sequence-specific Primers”
PCR-SSOP	Polymerase chain reaction, “sequence-specific oligonucleotide probe”
RE	Retículo endoplasmático
RPR	“Rapid plasma reagin”
RR	Risco relativo
TAP1 e 2	Genes Transportadores 1 e 2 do processamento antígeno, “transporters associated with Antigen Processing 1-2”
TCR	Receptor de células T
TNF	Fatores de necrose tumoral
VDRL	“Venereal disease reference laboratory”

## LISTA DE FIGURAS

---

<b>Figura 1</b>	Organização simplificada dos genes MHC humano e murino.....	28
<b>Figura 2</b>	Diagrama esquemático dos domínios das moléculas MHC. ....	33
<b>Figura 3</b>	Molécula MHC I representação dos domínios: a - estrutural, b - esquemática.....	34
<b>Figura 4</b>	Representação estrutural do sulco de ligação da molécula MHC classe I, formado pelas cadeias $\alpha_1$ , $\alpha_2$ . Os terminais da fenda são fechados. ....	35
<b>Figura 5</b>	Molécula MHC classe II Representação dos domínios: a – estrutural b- Representação esquemática.....	36
<b>Figura 6</b>	Representação estrutural do sulco de ligação da molécula MHC classe II, formado pelas cadeias $\alpha_1$ e $\beta_1$ , aberto em ambas as extremidades. ....	36
<b>Figura 7</b>	Mapa genômico detalhado do MHC humano. ....	38
<b>Figura 8</b>	Representação esquemática das vias de processamento intracelular.....	47
<b>Figura 9</b>	Seleção positiva e negativa dos LT no timo. ....	52
<b>Figura 10</b>	Representação evolutiva do crescente número de alelos identificados pelos métodos sorológicos e de tipificação molecular.....	55
<b>Figura 11</b>	Interpretação do gel de eletroforese após amplificação do DNA na tipificação HLA. ....	76
<b>Figura 12</b>	Distribuição dos grupos segundo sexo.....	79
<b>Figura 13</b>	Idade média e desvio padrão dos grupos. ....	80
<b>Figura 14</b>	Classificação quanto ao tipo de pele.....	80
<b>Figura 15</b>	Tempo de evolução da doença na consulta (HDA) e tempo de evolução total dos pacientes com pitíriase rósea.....	83
<b>Figura 16</b>	Local de localização da lesão de placa mãe os pacientes com Pitiríase Rósea. ....	84

<b>Figura 17</b>	Mês de ocorrência dos casos dos pacientes com Pitiríase Rósea.....	84
<b>Figura 18</b>	Esquema gráfico ressaltando o ( <b>RR 4,00</b> ), <b>p 0,018</b> dos alelos HLA-DQ*04 nos grupos (PR e PR-C) com os outros alelos classe II. ....	92

## LISTA DE QUADROS

---

<b>Quadro 1</b>	Número oficial de alelos nos locus dos genes HLA. ....	40
<b>Quadro 2</b>	Número de genes identificados na região HLA .....	41
<b>Quadro 3</b>	Relação mais detalhada dos genes na região HLA. ....	42
<b>Quadro 4</b>	Expressão das moléculas MHC nos diferentes tecidos.....	45
<b>Quadro 5</b>	Propriedades das moléculas do MHC humano classe I e II.....	51
<b>Quadro 6</b>	Doenças auto-imunes associadas aos antígenos HLA .....	63
<b>Quadro 7</b>	Protocolo para termociclador em amplificação dos genes HLA. ....	75
<b>Quadro 8</b>	Característica clínica dos pacientes com Pitiríase rósea.....	82

## LISTA DE TABELAS

---

<b>Tabela 1</b>	Risco relativo e doenças associadas aos antígenos HLA.....	62
<b>Tabela 2</b>	Análise estatística da freqüência fenotípica dos alelos hla-a*, incluindo risco relativo (RR), intervalo de confiança IC 95% e <i>P</i> , dos indivíduos afro-brasileiros pertencentes ao grupo de pacientes com pitiríase rósea (PR) e ao grupo controle (PR-C).....	87
<b>Tabela 3</b>	Análise estatística da freqüência fenotípica dos alelos HLA-B*, incluindo risco relativo (RR), intervalo de confiança IC 95% e <i>P</i> , dos indivíduos afro-brasileiros pertencentes ao grupo de pacientes com pitiríase rósea (PR) e ao grupo controle (PR-C).....	88
<b>Tabela 4</b>	Análise estatística da freqüência fenotípica dos alelos HLA-CW*, incluindo risco relativo (RR) intervalo de confiança IC 95% e <i>P</i> , dos indivíduos afro-brasileiros pertencentes ao grupo de pacientes com pitiríase rósea (PR) e ao grupo controle (PR-C). .....	89
<b>Tabela 5</b>	Análise estatística da freqüência fenotípica dos alelos classe II incluindo, risco relativo (RR) intervalo de confiança IC 95% e <i>P</i> , dos indivíduos afro-brasileiros pertencentes ao grupo de pacientes com pitiríase rósea (PR) e ao grupo controle (PR-C).....	90
<b>Tabela 6</b>	Análise comparativa da freqüência fenotípica dos alelos da classe II entre os grupos: pitiríase rósea (PR) e grupo controle (PR-C) com a população afro-americana <i>Southeast USA</i> . .....	94
<b>Tabela 7</b>	Análise estatística comparativa entre a freqüência fenotípica dos alelos DQ* dos grupos (PR) e PR-C com as populações do estado de São Paulo e também com a população “mulata” dos estados do sul do Brasil. ....	95

# 1 INTRODUÇÃO

---

Pitiríase rósea (PR) é uma dermatose inflamatória de evolução aguda ou subaguda, clinicamente caracterizada por lesões eritemato papulo-escamosas, de curso definido, evolução autolimitada e etiologia desconhecida. Ambos os sexos são acometidos e é mais freqüentemente observada em jovens na faixa etária entre 10 a 35 anos. Não apresenta predileção racial sendo, desse modo, observada em todo o mundo.

Atualmente, duas hipóteses são as mais admissíveis na explicação da provável causa da doença. A causa infecciosa, viral ou bacteriana apóia-se principalmente nas características clínicas e epidemiológicas da doença. No entanto, tal proposição, devido aos controversos resultados das recentes pesquisas, ainda não está totalmente esclarecida.

A hipótese auto-imune de predisposição genética, apesar do crescente apoio da comunidade científica, também necessita de provas mais elucidativas para a sua consolidação.

O ainda real desconhecimento de sua etiologia apesar das inúmeras pesquisas, a sua incidência relativamente comum nos ambulatórios de dermatologia e o fato de não ser considerada uma doença transmissível, devido aos poucos relatos de casos em ambientes chamados “fechados”, motivaram-me à elaboração desse estudo.

O objetivo do trabalho foi o de verificar um possível fator de susceptibilidade genética na Pitiríase rósea (PR), através da análise comparativa da freqüência fenotípica por meio de tipificação molecular de grupos alélicos, dos antígenos

leucocitários humanos (*human leukocyte antigens* - HLA) classe I e classe II. Utilizamos o método da reação em cadeia da polimerase com iniciadores de seqüência específica (*Polymerase Chain Reaction with Sequence-specific Primers* - PCR-SSP), e *Kits* de baixa resolução, em 30 pacientes com PR e 45 indivíduos (grupo controle) todos de etnia afro-brasileira e residente na região sudeste do país, região metropolitana de Vitória, ES.

Para o estudo escolhemos uma amostragem populacional que apesar de ter sofrido certo grau de miscigenação, exibia evidentes os traços fenotípicos comuns aos a raça negra.

Buscando maior confiabilidade nos resultados encontrados, acrescentamos ao estudo a análise comparativa com outras populações de semelhante etnia, envolvendo HLA em amostragens populacionais saudáveis e divulgados na literatura especializada, realizados no Brasil e na população afro-americana. Isto, devido ao fato de não ter sido encontrado na revisão literária, trabalho anterior de tipificação de HLA na PR que pudesse servir como referencial.

## **2 OBJETIVOS**

---

### **2.1 PRINCIPAL**

Estudo da susceptibilidade genética da Pitiríase rósea pela tipificação molecular dos antígenos leucocitários humanos (HLA) classe I e classe II, pela técnica da reação em cadeia da polimerase com iniciadores de seqüência específica, (*Polymerase Chain Reaction with Sequence-specific Primers-PCR-SSP*), em 30 pacientes com PR de etnia afro-brasileira, residentes na região sudeste do país, região metropolitana de Vitória, ES.

### **2.2 SECUNDÁRIO**

Avaliar os resultados encontrados, tendo como parâmetro outros estudos realizados de tipificação de HLA, em amostragem populacional considerada saudável de etnia negra realizados no Brasil e na população afro-americana.

## 3 REVISÃO LITERÁRIA

---

### 3.1 PITIRÍASE RÓSEA

#### 3.1.1 Aspectos Gerais

Pitiríase rósea (PR) é uma doença inflamatória aguda ou subaguda da pele, de curso evolutivo definido, autolimitado e de etiologia desconhecida. Clinicamente é caracterizada pelo aparecimento de típicas lesões, eritemato-papulo-escamosas, que regredem espontaneamente, sem deixar cicatrizes num período médio de 4 a 8 semanas. Atinge todas as idades, todavia, é mais habitualmente observada na faixa etária entre 10 e 35 anos de idade. (NILES; CLUMP, 1940).

A doença é considerada uma afecção de pele de incidência relativamente comum, correspondendo aproximadamente 0,6% a 2% dos atendimentos nos ambulatórios de Dermatologia. (PARSONS, 1986).

Usualmente apresenta comportamento sazonal, e as pequenas alterações da incidência de ano para ano, são consideradas como estaticamente insignificantes.

Foi inicialmente descrita por Camille Melchior Gibert (1860). O termo “*pitiriasis*” deriva do grego, que significa “escamas finas” e “rósea” do latim, igual a “salmão” ou “*pink*” em inglês. Todavia, possivelmente a doença foi anteriormente citada por Willian (1798) como “*roseola anulata*”, por Rayer (1828) como “*eritema anulatum*” e por Wilson (1857) como “*líquen anulatus*”.

Mas devemos a Gibert a sua denominação e a descrição das típicas lesões da doença. (GIBERT, 1860 apud PERCIVAL, 1932).

Posteriormente, vários aspectos clínicos e as variedades atípicas foram acrescentados ao estudo da doença, que só foi reconhecida como uma entidade nosológica em 1900.

Vidal (1882), ao relatar a presença de *microsporum* nas lesões de PR, deu início aos inúmeros trabalhos na busca do esclarecimento de sua etiopatogenia.

Apesar da plausível origem viral, trabalhos recentes mostraram resultados conflitantes na confirmação do agente causal responsável pela doença. (CHUH; CHIU, PEIRIS, 2001; CHUH; CHAN; ZAWAR, 2004 e DRAGO et al, 1997ab; KEMPF et al, 1999; KOSUGE et al, 2000).

Igualmente plausíveis outros fatores, levam à aceitação de que a PR possa ser de causa multifatorial, induzida por antígenos infecciosos ou não infecciosos (drogas), definindo deste modo a hipótese auto-imune e a susceptibilidade genética para PR. (BURCH; ROWELL, 1970; CHUH; CHAN; ZAWAR, 2004).

### 3.1.2 Epidemiologia

A pitiríase rósea não apresenta predileção racial e tem distribuição universal. (PERLMAN; LUBOWE, 1952). Um estudo realizado no Brasil com 146 casos no estado do Paraná evidenciou uma significativa predominância (86%) em indivíduos de cor branca. (MINELLI, 1984).

A doença acomete ambos os sexos, mas alguns estudos epidemiológicos demonstraram discreta predominância no sexo feminino. (CHUANG et al, 1982; NILES; CLUMP, 1940; PERCIVAL, 1932; WEISS; LANE; SHOWMAN, 1927).

Normalmente, apresenta incidência sazonal, com algumas variações dependendo da situação geográfica ou climática do país. Nos países temperados comumente é mais observada nos meses do outono, primavera e inverno.

(BJORNBERG; HELLGREN, 1962). Na América do Norte é mais prevalente nos meses frios (CHUANG et al, 1982) ou no início da estação das chuvas. (OLUMIDE, 1987). Estudo realizado no Sudão também constatou maior incidência nos meses chuvosos. (AHMED, 1986).

Trabalhos realizados no Brasil e em Singapura demonstraram, em ordem decrescente, maior incidência da doença nos meses do outono, primavera, inverno. (CHEONG; WONG, 1989; MINELLI, 1984; SOUZA SITTART; TAYAH; SOARES, 1984). Variação sazonal da doença não foi notada em países como: Uganda (VOLLUM, 1973), Nigéria (JACYK, 1980), Turquia (HARMAN et al, 1998) e Singapura (TAY; GOH 1999).

A prevalência estimada na população em geral está entre 0,13 a 0,14%. (CHUANG et al, 1982). No Brasil estima-se que sua incidência em relação à população, esteja por volta de 0,39%. (SOUZA FILHO, 1998; SOUZA SITTART; TAYAH; SOARES, 1984). Além disso, é considerada uma doença de pele relativamente comum, correspondendo em torno de 1 a 3 % das dermatoses atendidas em clínicas dermatológicas. (BJORNBERG; HELLGREN, 1962).

Atinge todas as idades, no entanto é mais habitualmente observada em crianças e adultos jovens, entre 10 a 35 anos. Raramente afeta crianças com menos de 10 anos, e adultos idosos.

O acometimento em crianças menores de 2 anos tem sido descrito em apenas 0,1% a 0,3% dos casos. (HENDRICKS; LOHR 1979; REPISO et al, 1995). No entanto, existe relato de PR em criança de 3 meses e em idoso de 83 anos. (BJORNBERG; HELLGREN, 1962; HYATT, 1960).

A PR não é considerada uma doença transmissível e são poucas as citações na literatura de casos de ocorrência em familiares, escolas, estabelecimentos

militares ou em outros ambientes fechados. (MESSENGER et al, 1982; MILLER, 1941; TRAORE et al, 2001).

Recidiva é raramente descrita, equivalendo em torno de 2,8% dos casos. (BJORNBERG; HELLGREN, 1962; PARSONS, 1986). Chuang et al, (1982), num estudo de 939 pacientes com PR observou recorrência de recidiva em apenas 17 dos casos (1,8%) num período de 4 a 5 anos de acompanhamento. Podemos considerar um caso como recidiva, quando o paciente apresenta outro quadro eruptivo da doença num intervalo maior do que 12 meses após a cura da manifestação anterior. Intervalos menores são tidos como episódios de exarcebação. Existem ainda relatos de PR de evolução mais prolongada 5 a 6 meses de duração, (NILES; CLUMP, 1940) e casos bastante crônicos de até 5 anos de evolução, que normalmente cursam com períodos de reativação da doença em intervalos inferiores a 1 ano, PR recorrente. (HALKIER-SORENSEN, 1990).

### 3.1.3 Etiologia

Apesar das várias hipóteses sugeridas, a etiologia da PR ainda permanece desconhecida.

Inicialmente, devido ao aspecto morfológico das lesões, os fungos foram os primeiros a serem considerados como os prováveis agentes causais. Vidal (1882) e Brocq (1887) comunicaram a detecção de micélios de *Microsporum anomoeon* nas escamas provenientes da lesão da placa mãe, mas em seguida constatou-se que os tais micélios tratavam-se de artefatos. (THOMSON; CUMINGS, 1931).

Outras causas, como picadas de inseto também foram atribuídas para explicar a doença. No entanto, em seguida observou-se a ocorrência de lesões de “placa mãe” em sítios de cicatrizes antigas provocadas não só por picadas de

insetos, mas também por injeções intramusculares e ferimentos provocados por armas de fogo, sugerindo assim a existência de provável resposta isomórfica. (LAUDE, 1981).

Wile (1927) obteve transmissão experimental, ao provocar o aparecimento de lesões semelhantes a PR em voluntários, após injeção via percutânea de material adquirido através de escarificações de lesões primária ou secundária de PR. Todavia, as análises bacteriológicas do material colhido foram totalmente negativas.

Ainda em 1927, Pèrin (1927) mencionou a doença como uma forma abortiva de impetigo contagioso, e considerou o estreptococo como o provável agente causal da doença.

Alguns autores associaram a PR ao exantema tóxico, portanto a doença seria determinada por uma infecção gastrointestinal oculta. Ao mesmo modo, doenças como, sífilis e tuberculose foram igualmente citadas na etiologia da PR. (BENEKET, 1942).

Em 1962, Bjornberg e Hellgren, fizeram referência à presença mais freqüente de PR em pacientes com furúnculo, carbúnculo e impetigo. (BJORNBERG; HELLGREN, 1962).

Os autores ao mesmo tempo, valorizaram na patogenia da doença a importância de alguns fatores precipitantes tais como: gravidez, asma, eczemas, dermatite seborréica e medicações.

Outro argumento interpretado como a favor da causa infecciosa, foi o relato de alguns casos que tiveram o curso evolutivo da doença reduzido, pelo tratamento com gamaglobulina ou plasma específico de convalescentes. (SALIN; CURTIS; WHEELER, 1957).

A causa psicogenética foi também sugerida na etiologia da doença, isto se

deve à constatação de ser a PR mais usualmente diagnosticada em pessoas sob estado de grande estresse. (BJORNBERG; HELLGREN 1962; GARRIE; GARRIE, 1978).

Também, o *Mycoplasma pneumoniae* foi citado como o provável agente determinante da doença. (GRAYSTON et al, 1965). Chuang *et al*, ressaltaram a associação da PR com recente infecção do trato respiratório superior (CHUANG et al, 1982). Em seguida, um estudo de seguimento utilizando a mesma amostragem dos casos de PR e de 249 casos pertencentes ao grupo controle do trabalho anterior, os autores confirmaram uma pequena, mas estatisticamente significativa associação entre PR e infecção bacteriana do trato respiratório superior e a ressaltaram como um importante fator determinante da doença. (CHUANG et al, 1983).

Posteriormente, Hudson et al (1981) não verificaram evidências de infecção pelo *Mycoplasma pneumoniae* nos casos de PR. (HUDSON; ADELMAN; LEWIS, 1981). Neste estudo foi realizada pesquisa de anticorpos para o antígeno, específico em 23 casos na fase aguda e em 11 na fase de convalescença da doença.

Semelhante investigação foi feita em outros 30 pacientes de PR, mas apenas 1 apresentou significativa elevação dos títulos de anticorpos para a bactéria. (ISHIBASHI; UEDA; FUJITA, 1985).

Recentemente, Chuh e Chan, através de estudos sorológicos, não detectaram associação entre PR e comuns agentes etiológicos de infecção do trato respiratório superior tais como: Legionella, Clamidia e Micoplasma (CHUH; CHAN, 2002).

A hipótese infecciosa viral, presentemente considerada por muitos autores a mais admissível, alicerça-se, sobretudo nas características clínicas e

epidemiológicas da doença assim como: ocorrência sazonal, involução espontânea, sintomas prodrômicos, baixa incidência de recidiva e aumento da prevalência em estados como gravidez e outros que proporcionam decréscimo da imunidade. Acrescidos a esses fatores, existem ainda alguns relatos de PR ocorridos em familiares, estabelecimentos militares e educacionais. (Messenger et al, 1982; MILLER, 1941; TRAORE et al, 2001).

A citação da ocorrência, em alguns casos, de discreto aumento da velocidade de hemossedimentação eritrocitária, VHS. (BJORNBERG; HELLGREN, 1962). Decréscimo transitório dos linfócitos T e o número aumentado de linfócitos B na fase aguda da doença, (KERMANI-ARAB; ROBERTS; LESLIE, 1978) são dados que, para muitos, justificam a hipótese infecciosa.

A presença no exame histopatológico de células disceratóticas, vista em 55% dos casos e o casual achado de células gigantes multinucleares na epiderme, foi igualmente interpretado por alguns pesquisadores como um argumento a mais, a favor da origem viral para PR. (OKAMOTO et al, 1982).

Ainda a favor da causa infecciosa são as citações na literatura veterinária, de casos semelhantes a PR em suínos, com acometimento de vários animais da mesma ninhada. Esta moléstia é conhecida por “dermatite pustular psoriasiforme juvenil” dos porcos. E esporadicamente acomete os animais jovens de 8 a 12 semanas de idade. (CORCORAN, 1964; DAVIS; KYLE, 1969).

Raskin em 1968 ressaltou ainda mais a causa viral, ao mencionar seus achados através de estudos pela microscopia eletrônica (ME) de partículas intranucleares, similares a picornavírus na pele de macacos verdes africanos mantidas em cultura de tecido, previamente inoculados por suspensão de escamas de lesões de PR. (RASKIN, 1968). Posteriormente, Metz (1977), do mesmo modo

evidenciou partículas intracitoplasmáticas e intranucleares nos ceratinócitos da epiderme análogas ao picornavírus. (METZ,1977). Igualmente, Aoshima *et al* (AOSHIMA; KOMURA; OFUJI, 1981) mencionaram o encontro de partículas similares a togavírus ou arenovírus nos ceratinócitos de lesões provenientes da placa mãe.

Entretanto, Aracting *et al*, por meio de hibridização “*in situ*” não comprovaram infecção por picornavírus em material obtidos de biópsias em áreas de pele normal e lesional em voluntários com PR. (ARACTINGI *et al*, 1996).

Os vírus responsáveis pelas viroses respiratórias (adenovírus, vírus influenza A e B, parainfluenza 1 e 2 e vírus respiratório sinciciais), foram afastados como possíveis agentes etiológicos, por meio de estudos sorológicos de fixação de complemento e pesquisa de anticorpos em pacientes, na fase aguda e de convalescença de PR. (HUDSON; ADELMAN; LEWIS, 1981).

Outros vírus como: citomegalovírus (CMV) e Epstein-Barr vírus (EBV) e parvovírus B19, foram ainda estudados, entretanto, as pesquisas não demonstraram associação entre a PR e esses vírus. (BONAFE *et al*, 1982; CHUH, 2002).

Em 1997, Drago *et al*, foram os primeiros a associarem a infecção pelo herpes vírus humano (HHV-7) com a provável causa da PR. (DRAGO *et al*, 1997ab). Os estudos foram realizados com microscopia eletrônica (ME) e reação em cadeia da polimerase (PCR) em amostras de biópsias de pele, plasma e células mononucleares do sangue periférico (PBMC), em 12 pacientes com PR, em 25 pessoas saudáveis e em 12 pessoas com outras afecções de pele. Os autores observaram indícios de positividade do DNA do HHV-7 em 100% nas amostras do plasma, PBMC e nas biópsias de pele dos casos de PR, contra negatividade de partículas virais no grupo controle no plasma e nas amostras de pele em todos os

indivíduos. No PBMC a positividade ocorreu em 11 voluntários do grupo controle. Baseados nos resultados encontrados, concluíram que a PR poderia ser determinada pela reativação do HHV-7. (DRAGO et al, 1997ab; DRAGO et al, 2002).

Mais recentemente, os autores receberam apoio de Watanabe *et al*, em similar pesquisa, onde incluíram o estudo do HHV-6. Eles aludiram que PR esteja relacionada à infecção sistêmica ativa, de ambos os vírus HHV-6 e HHV-7. (WATANABE et al, 2002).

Todavia, resultado contraditório foi observado por Kempf *et al*, (1999) num trabalho análogo ao do Drago usando PCR para detecção do HHV-7. (KEMPF et al, 1999). Os autores encontraram positividade em apenas 8% nas amostras das lesões de PR e em 14% nas pessoas do grupo controle. O autor posteriormente em um artigo de revisão questionou a origem viral para PR. (KEMPF; BURG, 2000). Também (KOSUGE et al, 2000) em uma análise para HHV-6 e HHV 7 por meio do PCR e imunofluorescência concluíram que estes vírus não seriam os prováveis agentes causais da PR.

Em 2001, Wong *et al*, (2001) constataram negatividade pelo PCR para HHV-6 e HHV-7 em todas as amostras de biopsias em 24 pacientes com PR. Na mesma época Chuh *et al*, em trabalho visando à identificação pelo PCR dos vírus HHV-7 e HHV-6 em amostras de pele, plasma e PBMC, em 15 pacientes de PR na fase ativa e de convalescença da doença e em 15 pessoas do grupo controle, não demonstraram provas de infecção ativa dos vírus em ambos os grupos. (CHUH; CHIU; PEIRIS, 2001).

Em 2002, Drago *et al*, num estudo de 21 pacientes na fase aguda da PR, através de exames pela ME observaram em 15 pacientes evidências de partículas vírus-like. (DRAGO et al, 2002). Porém, ao mesmo tempo a associação entre o HHV

-7 e a patogênese da PR foram questionadas mais uma vez por Karabulut et al, em pesquisa realizada para identificação do HHV-7 por PCR não observaram substancial positividade em amostras de biópsias referentes a 21 pacientes de PR. (KARABULUT et al, 2002).

A suposição de ser a PR determinada por agentes não infecciosos exógenos (drogas) ou agentes endógenos (auto-antígenos – neoplasias) motivaram a hipótese auto-imune para PR, proposta inicialmente por Burch e Rowell. (BURCH; ROWELL, 1970). Os autores sugeriram que a PR poderia ser provocada por uma mutação genética por diversos estímulos antigênicos em pessoas geneticamente predispostas.

Outro argumento a favor dessa causa e o relato de alguns casos com admissível resposta isomórfica da pele para trauma como lesões em sítios de picada de insetos e de cicatrizes. (GIBNEY; LEONARDI, 1997; LAUDE, 1981; THUHAN, 1984).

Takaki *et al*, (TAKAKI; MIYAZAKI, 1976) demonstraram presença de anticorpos da classe IgM e ou C3, no soro e no citoplasma do ceratinócitos em lesões de PR. Estudos realizados por Mobacken et al (1983) não comprovaram a presença desses anticorpos no estágio secundário da PR.

Pesquisas por tipificação no tecido e ME, detectaram a presença de antígenos linfocitários humano da classe HLA-DR, na superfície dos ceratinócitos adjacentes a células de Langerhans, além da confirmação da maior presença dessas células no infiltrado perivascular pelo uso do anticorpo monoclonal OKT6. (AIBA; TAGAMI, 1985). Tal achado pode explicar a casual presença de disceratose nos ceratinocitos adjacentes a células de Langerhans. (EL SHIEMY et al, 1987).

Em acréscimo a esta suposição, a PR tem sido também relatada em

pacientes com doença de Behcet. (DURUSOY; ALPSOY; YILMAZ, 1999).

Recentemente, estudo comparativo demonstrou maior positividade de anticorpos antinucleares (ANA), em 18 pacientes com PR, os quais não apresentavam história familiar e progressiva de doenças auto-imunes. (CHUH 2003a). No entanto o autor ponderou que este estudo deva ser estendido em uma amostragem maior de pacientes com PR.

#### 3.1.4 Quadro clínico

A PR geralmente é doença assintomática e em cerca de 80% apresenta um quadro clínico típico tanto em lesões dermatológicas como em curso evolutivo. Porém, aproximadamente 5% dos casos podem apresentar sintomas prodrômicos tais como: cefaléia, artralgias, astenia, vômitos e diarreia.

Outros sintomas sugestivos de infecção como: tonsilite, amidalites, faringites e de linfadenopatia generalizada, podem mais raramente ser referidos como pródromos. (ALLEN; JANNIGER; SCHWARTZ, 1995; CRISSEY, 1956; PARSONS, 1986).

A lesão clínica inicial ou precursora é conhecida por "*herald patch*", "medalhão" ou "placa mãe". (BROCQ, 1887). Esta lesão ocorre em aproximadamente 50% a 94 % dos casos como uma única placa, solitária eritemato-escamosa, de crescimento centrifugo, de forma arredondada ou ovolada, medindo cerca de 2 a 10 cm de diâmetro. O centro da lesão tem aparência mais clara e a borda externa é mais rósea e exhibe um delicado "*colarette*" periférico de escamas finas. (NILES; CLUMP, 1940; STULBERG; WOLFREY, 2004).

A lesão da "placa mãe" geralmente precede em média 7 a 14 dias o aparecimento das lesões secundárias. Este intervalo entre o aparecimento da placa

mãe e a erupção generalizada é conhecido por “período de incubação secundário.” Porém este período pode ser bastante curto, com apenas 3 horas, ou alongar-se por 3 meses.

A “placa mãe” habitualmente é mais observada na região anterior do tórax, podendo em ordem decrescente ocorrer em outros sítios tais como: pescoço, dorso, abdome e raiz das extremidades. Além disso, mais raramente outras localizações têm sido referidas tais como: região frontal, nariz, genitália e dorso dos pés. (BJORNBERG; HELLGREN, 1962).

O segundo período da doença conhecido por, “erupção secundária,” “*rash*” secundário ou período eruptivo, caracteriza-se pelo aparecimento de múltiplas lesões eritêmato, papulo-escamosas de aspecto semelhante à placa mãe. Contudo, estas lesões são menores e medem cerca de 0,5 a 1,5 cm de diâmetro.

Freqüentemente, se localizam no pescoço, tronco e raiz dos membros, (PARSONS, 1986). No tronco, as lesões geralmente se distribuem em paralelo, ao longo das linhas de clivagem da pele “*Langer's lines*”, dando o típico aspecto descrito como “árvore de natal” - *Christmas tree*. (CRISSEY, 1956).

O curso evolutivo das lesões secundárias em regra aumenta em intensidade por um período de até 2 semanas, seguido por um período de estabilização resultante da resolução das primeiras lesões e sucessivamente o aparecimento de outras lesões, que surgem gradativamente em menor intensidade. Por conseguinte, podemos verificar lesões em diferentes estágios evolutivos. O estágio secundário geralmente regride em 2 a 4 semanas. Totalizando a doença, fase inicial com o aparecimento da placa mãe e a erupção secundária correspondem a uma evolução total média de 8 semanas, podendo se estender até 12 semanas. Entretanto, existem casos mais crônicos de 6 meses evolução. (BJORNBERG; HELLGREN,

1962) e casos recorrentes, que cursam com episódios de recorrência, com 5 anos de duração. (HALKIER-SORENSEN, 1990).

Normalmente, a PR resolve sem deixar cicatrizes, contudo, alguns casos podem determinar lesões de hiperpigmentação e hipopigmentação residual pós-inflamatória (NILES; CLUMP, 1940), e em um caso em associação com distrofia ungueal após PR. (BJORNBERG; HELLGREN, 1962).

Prurido é um sintoma relativamente comum na PR, mas em regra é de pouca intensidade. Obstante, tendo sido descrito como grave em cerca de, 25% dos casos. (ALLEN; JANNIGER; SCHWARTZ, 1995; PARSONS, 1986).

Lesões orais podem ocorrer e lembram as aftas. Jacyk *et al*, encontraram lesões orais em 9% num estudo de 138 pacientes nigerianos com PR. (JACYK *et al*, 1980).

Para alguns autores a lesão oral pode ser mais freqüente e pôr ser geralmente assintomática, é pouco relatado. Um estudo na clínica de Cleveland mostrou uma incidência de 16% lesões orais dos casos estudados. (VIDIMOS; CAMISA, 1992). As lesões orais podem apresentar-se como: hemorragias puntiformes, erosões ou ulcerações, lesões anulares e máculas ou placas eritematosas. (KAY; RAPINI; FRITZ, 1985).

As palmas das mãos podem ser acometidas em 7% dos casos e as plantas dos pés em 2%. (BAKOS, 1986; CHUANG *et al*, 1982).

Formas atípicas de PR têm sido descritas e ocorrem

A PR cefálica, inversa, unilateral, localizada e a variante acral, são formas atípicas de PR relacionadas com a distribuição topográfica das lesões. (HURLEY, 1961). A PR rósea pode apenas manifestar-se como uma única lesão inicial à placa mãe. Essa forma e a PR localizada são consideradas formas abortivas da doença. (AHMED; HOLMES, 2000; DEL CAMPO et al, 1983).

A PR inversa caracteriza-se pela presença de lesões localizadas na face, axila, pescoço, couro cabeludo, virilhas e são mais freqüentemente descritas em negros (MACLAURIN, 1983) e em crianças. (HARTLEY, 1999; HENDRICKS; LOHR, 1979; IMAMURA et al, 1985). Quando a doença se apresenta com poucas lesões de dimensão grande e aparência similar à da placa mãe, é conhecida por PR gigante “*gigantea*”.

Essas lesões podem assumir grandes proporções e adquirir aspecto circinado, geralmente limitado no tronco, é conhecida por “*Pytiriasis circinata et marginata of Vidal*”. Essa forma atípica de PR se diferencia também por apresentar um curso evolutivo prolongado. (PARSONS ,1986; VIDAL, 1882).

Em relação à morfologia das lesões são descritas as variantes: PR papular, liquenoide, generalizada esfoliativa, PR purpúrica (hemorrágica). (PALLER et al, 1982; PIERSON; DIJKSTRA; ELSTON, 1993; SEZER et al, 2003; VERBOV, 1980), PR urticada, eritema multiforme-*like*, PR pustular e PR vesicular. (WEISS; LANE; SHOWMAN, 1927).

A variedade papular, é mais comum em crianças, mulheres grávidas e em negros. A forma urticarial tem sido mais notada em pessoas sob grande estresse. (NILES; CLUMP, 1940) A presença de lesões em forma de “íris” típicas do eritema multiforme da origem a forma eritema multiforme-*like* da PR. (FRIEDMAN, 1987).

A forma vesicular também é mais usualmente observada em crianças e

jovens. As lesões vesiculares podem ser generalizadas e geralmente incluem as regiões palmar ou plantar. (BAKER, 1971; GARCIA 1976; MIRANDA; LUPI; LUCAS, 2004; WEISS; LANE; SHOWMAN, 1927).

Apesar da diversidade do quadro clínico das variantes atípicas da PR, capaz de sugerir maior gravidade, normalmente não existe alteração no curso evolutivo e do prognóstico da doença. (ALLEN; JANNIGER; SCHWARTZ, 1995; IMAMURA et al, 1985; PIERSON; DIJKSTRA; ELSTON, 1993; TRUHAN ,1984).

### 3.1.5 Exames complementares

Solicitação de reações sorológicas não treponêmicas, “*venereal disease reference laboratory*” (VDRL) ou “*rapid plasma reagin*” (RPR), são imprescindíveis para diagnóstico diferencial com a sífilis secundária. Em alguns casos, devido ao fenômeno prozona, o FTA-ABS “*fluorescent treponemal antibody absorption*” deve ser requerido. Em casos atípicos e severos devemos solicitar a sorologia de anticorpos anti-HIV 1-2.

Também em alguns casos, o exame micológico direto e cultura, podem ser necessários para afastar o diagnóstico de dermatofitose, especialmente nos casos que apresentam exclusivamente a placa mãe ou na PR de largas placas.

O hemograma e a velocidade de hemossedimentação (VHS) podem ser solicitados quando o diagnóstico diferencial de viroses se impõe. Relativa, elevação da VHS, leucocitose, linfocitose e neutrofilia, têm sido demonstrados na fase inicial da doença. Relativo aumento da taxa de  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  globulinas e albumina podem ser ainda detectados. (BJORNBERG; HELLGREN, 1962; OLUMIDE, 1987)

Finalmente, durante a fase aguda da doença pode ocorrer alguma redução dos linfócitos T e pequena elevação dos linfócitos B circulantes. (KERMANI-ARAB;

ROBERTS; LESLIE, 1978).

### *3.1.5.1 Exame histopatológico*

A histopatologia da PR não é específica e mostra um quadro de uma dermatite inflamatória aguda ou subaguda.

Padrão este comumente observado no grupo dos eczemas, carecendo assim de uma boa correlação clínico-patológica para o diagnóstico histopatológico compatível. Não existe diferença no quadro histológico entre as lesões da placa mãe e nas lesões do surto eruptivo. (PANIZZON; BLOCH, 1982).

Geralmente caracteriza-se por apresentar na epiderme, paraceratose focal, hipogranulose, moderada acantose, espongirose e discreta exocitose. Além de infiltrados inflamatórios perivascularares, constituídos por células mononucleares localizado principalmente na derme papilar.

Podemos casualmente verificar presença de células disceratóticas e células gigantes multinucleares na epiderme. (OKAMOTO et al, 1982). Também a observação eventual de disceratose acantolítica focal não invalida o diagnóstico compatível com PR. (STERN; WOLF JR; ROSEN, 1979). A ausência ou redução da camada granulosa sem concomitância de paraceratose suprajacente, é outro aspecto citado na PR. (PANIZZON; BLOCH, 1982). As formas vesiculosas da PR podem apresentar vesícula espongiótica intraepidérmica. (ACKERMAN ,1978).

Freqüentemente podemos ainda notar extravasamento de hemácias sem evidência de vasculite da derme papilar. Tal quadro é especialmente visto nas formas purpúricas da doença. As lesões antigas podem mostrar um relativo aumento de eosinófilos no infiltrado inflamatório dificultando deste modo, o diagnóstico sugestivo de PR. (ACKERMAN ,1978).

Assim sendo a presença de alguns aspectos histopatológicos acima mencionados, dependem principalmente da forma clínica da PR da fase evolutiva da lesão analisada.

### 3.1.6 Diagnóstico Diferencial

Apesar ser a PR uma doença, habitualmente apresenta típico quadro clínico a lesão inicial “placa mãe” ou a PR de grandes placas podem mimetizar, tinha corporis e o eczema numular.

Na fase secundária da doença faz-se sempre necessário o diagnóstico diferencial com a sífilis secundária que deve ser sempre descartada, por meio dos exames sorológicos não treponêmicos tais como: RPR e VDRL e mais raramente o FTA-ABS. Autores enfatizam que em 18% dos casos de sífilis secundária foi inicialmente diagnosticado como PR. (HORN; KAZAKIS, 1987; BENEDEK, 1949).

Por se incluir no grupo das doenças eritemato-escamosas algumas vezes é imprescindível o diagnóstico diferencial com a psoríase gutata e parapsoríase. (ESLICK, 2002) Em caso generalizado pode prestar confusão com a dermatite seborreica eritodérmica. Líquen plano, outras erupções liquenóides a drogas, pitiríase liquenóide variceliforme aguda (PLEVA) e escabiose podem lembrar a PR papular e liquenóide. (ROOK; WILKINSON; EBLING, 1998). Em crianças, a PR invertida pode sugerir a doença de Gianotti-Crosti. (BJORNBERG; HELLGREN, 1962; PARSONS, 1986).

O acometimento preferencial da PR pelo tronco, aspecto em “árvore de natal” e a freqüente hiperpigmentação pós-inflamatória, nas recentes lesões involutivas, pode eventualmente sugerir o diagnóstico de *erythema dischromicum perans*. (LAMBERT; SCHWARTZ; HAMILTON, 1986).

Além disso, quadros eczematosos como eczemas numular podem lembrar a PR. Igualmente, linfadenomegalias e a presença de lesões na mucosa oral podem induzir o diagnóstico de doença viral exantemática.

Erupção a drogas “*pityriasis rosea-like*” necessitam sempre ser descartada através de uma minuciosa anamnese. Vários medicamentos têm sido relacionados como indutores de PR-*like*, barbitúricos, cetotifeno (WOLF R; WOLF D; LIVNI, 1985) captopril (WILKIN; HAMMOND; KIRKENDALL, 1980), cloroquina (CORKE et al, 1983), ouro (WILE, 1940), arsênico, (BJORNBERG; HELLGREN, 1962) isotretinoína, (HELFMAN; BRICKMAN; FAHEY, 1984), penicilamina, metronidazol, (MAIZE; TOMECKI, 1977) levamizole, bismuto, (DOBES; ADEN, 1949), vacina difitérica (REISS, 1941) vacina antivariólica (WITHERSPOON; THIBODAUX, 1957), vacinação pelo bacilo de Calmette Guérin (BCG). (KAPLAN; GRUNWALD; HALEVY, 1989).

### 3.1.7 Doenças Associadas

Algumas doenças têm sido mencionadas como mais freqüentemente relacionadas com a PR. Tal ocorrência foi enfatizada inicialmente por Bjornberg e Hellgren (1962) num estudo de 108 casos de PR, os autores ressaltaram significativa freqüência de PR relacionada com asma e eczemas. Eles referiram ainda a dermatite seborreica como um dos fatores predisponente para a doença.

Posteriormente, Chuang *et al*, citaram que em 16.3 % dos 939 casos de PR por eles estudados, apresentavam história familiar ou pessoal de asma, febre do feno ou dermatite atópica. (CHUANG et al, 1982) Destacaram ainda que, em aproximadamente 21 % dos seus casos, estavam presentes histórias de infecções cutâneas ou não cutâneas de até mesmo um período de 3 meses anterior à PR.

Entretanto, em estudo subsequente comparativo, com inclusão na avaliação os casos controle, que participaram do estudo anterior, os autores observaram incidência de infecções respiratórias anterior em apenas 8% dos casos de PR contra 2% no grupo controle. (CHUANG et al, 1983). Baseados nesse dado estatístico, eles enfatizaram que a história pregressa de infecção respiratória superior pode, sim, ser um fator de predisposição para a doença. Os autores ainda nesse estudo concluíram que a PR não está relacionada com atopia.

Erupção “*like-PR*” tem sido descrita, em pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (KAPLAN et al, 1987) e em indivíduos com neoplasias. (SPELMAN et al, 1994).

### 3.1.8 Tratamento

A PR é uma doença de evolução autolimitada, com resolução espontânea em 5 a 8 semanas em 80% dos casos; desse modo a grande maioria dos pacientes tem os seus sintomas abrandados apenas com a terapêutica tópica. O prurido pode ser aliviado com corticóide tópico, loções tópicas com mentol ou calamina.

Anti-histaminico oral também está indicado para debelar os casos, com prurido mais intenso. Seu uso não interfere no curso evolutivo da doença e atualmente podemos utilizar preferencialmente os pertencentes à categoria não sedante.

Em casos mais severos de PR, têm sido utilizados a radiação ultravioleta (UV), corticoide sistêmico e eritromicina oral.

Tais esquemas terapêuticos objetivam não só o controle do prurido e melhora das lesões cutâneas, como também a redução do tempo de evolução da doença. (PARSONS, 1986).

O efeito benéfico da radiação ultravioleta (UV) na PR foi primeiramente demonstrado por Hazen (1928), através da exposição de UVB com dose eritrodérmica, em aplicações diárias em 5 secções consecutivas. (HAZEN,1928 apud ARNDT et al, 1983). Posteriormente, ressaltou-se que a exposição UVB só ocasionaria alguma melhora no curso da doença, quando administrada na primeira semana da erupção. (ARNDT et al, 1983). Recente estudo não mostrou comparativamente significativa melhora do prurido ou na severidade lesões, por meio da aplicação unilateral de UVB em 17 pacientes na fase inicial da erupção. (Merchant et al, 1974) Os autores consideraram que esta terapêutica pode, além disso, aumentar o risco de hiperchromia residual, pós-inflamatória. (LEENUTAPHONG; JIAMTON, 1995).

Ocasionalmente nos casos generalizados podemos empregar corticóide sistêmico, preferencialmente prednisona nas doses de 15mg/d ou triancinolona 20 a 40mg dose única intramuscular. (TAY; GOH, 1999). Alguns autores não recomendam o uso de esteróides sistêmico e advogam que altas doses são necessárias para a resolução do prurido e melhora das lesões, podendo até, em alguns casos, inclusive exacerbar e prolongar o tempo de evolução da doença. (ALLEN; JANNIGER; SCHWARTZ, 1995; LEONFORTE, 1981).

O uso de dapsona na dose de 200mg por dia foi utilizado com boa resposta terapêutica em apenas um caso severo de PR vesiculosa, que não tinha respondido a utilização prévia de corticóide sistêmico. (ANDERSON, 1971).

Eritromicina oral (estearato) na dose de 250 mg de 6/6h (1g) por dia, em 10 dias, foi utilizado por em 45 casos típicos de Pitiríase rósea. O autor considerou expressiva redução do tempo de manifestação da doença em 30 casos. (SHARMA et al, 2000). Recentemente, a eritromicina oral foi igualmente usada em um caso da

forma atípica vesiculosa da doença. Os autores obtiveram significativa melhora do quadro com uma rápida involução das lesões. (MIRANDA; LUPI; LUCAS, 2004).

## 3.2 O SISTEMA HLA

### 3.2.1 Aspectos gerais do MHC

As primeiras citações da existência de genes capazes de influenciar a rejeição do tecido tumoral nos transplantes alogênicos foram feitas em 1916 por Little e Tyzzer. (LITTLE; TYZZER, 1916).

Porém, o conceito de antígenos de histocompatibilidade foi primeiramente utilizado por Peter Gorer em 1937, através de estudos de transplantação de tumores em linhagens de camundongos endocruzados. O autor referiu a existência de genes responsáveis pela rejeição nesses tecidos e os denominou por “*antigen II*”. (GORER; 1937).

Posteriormente, em 1948, Lyman e Snell, dando prosseguimento aos trabalhos iniciais de Gorer, através de estudos de enxertos em linhagens de camundongos, propuseram para o referido complexo gênico, capaz de induzir a reação de Histocompatibilidade, a denominação de complexo H-2. (GORER; LYMAN; SNELL, 1948).

Dausset (1958), demonstrou em trabalhos realizados por meio de transfusões sanguíneas em mulheres multíparas com sistema ABO incompatível, serem os leucócitos e não as células da linhagem eritrocitária, as células responsáveis pela produção de iso-leuco-anticorpos dirigida contra os antígenos de transplantação, substâncias essas capazes de promover a rejeição aos transplantes

ou reações nas transfusões sanguíneas. (DAUSSET, 1958). Em seguida, a constatação de que os leucócitos seriam as células responsáveis pela histocompatibilidade foi endossada por. (PAYNE; ROLFS, 1958; VAN ROOD; EERNISSE; VAN LEEUWEN, 1958) e estes genes foram referidos como isoantígenos. (SNELL, 1964).

Estes genes estão agrupados em uma única região cromossômica designada por Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH) ou *Major Histocompatibility Complex* (MHC). Nos humanos são conhecidos como Antígenos Leucocitários Humanos - *Human Leukocyte Antigens* (HLA) e localizam-se no braço curto do cromossomo, 6 (p21.3) correspondendo a aproximadamente (4000 kilobases) de DNA, com *crossing-over* em mais de 4% em cada meiose (figura 1). (JANEWEY et al, 2002). Essa região possui centenas de genes que desempenham importantes funções imunológicas e também não imunológicas. No entanto, muitas das moléculas codificadas por estes genes ainda têm função desconhecida. (LAMM et al, 1974; SNELL, 1981; VAN DEN BERG, 2003; VAN SOMEREN et al, 1974)

O MHC humano e o de camundongo são estruturalmente e funcionalmente muito semelhantes. Apesar de algumas diferenças na organização dos genes, ambos MHC são constituídos por vários *loci* gênicos, com inúmeros *locus* de genes convencionalmente organizados em 3 distintas classes representadas na (figura1).

Os genes HLA classe I estão localizados na região telomérica do cromossomo 6 e compreendem 3 *loci* principais: HLA-A, -B e -C. Os genes da classe II se localizam na região centromérica do cromossomo e correspondem a 3 principais grupos de *loci*: HLA-DP, -DQ e -DR. Os genes para  $\beta_2$ -microglobulina que também compõem a estrutura de moléculas HLA classe I está localizado nos humanos no cromossomo 15. (PENN; POTTS, 1999).

Já os genes correspondentes à classe III, embora estejam incluídos dentro do complexo MHC, consistem de genes que codificam componentes do complemento, citocinas inflamatórias, fator de necrose tumoral e proteínas do choque térmico (figura 1). (JANEWAY et al, 2002).

O MHC equivale a 0.1% do genoma humano. Hoje, através do emprego de anticorpos específicos capazes de reconhecer as inúmeras variantes dos diversos locos MHC é considerado o complexo gênico que apresenta maior polimorfismo em seres humanos. (KLEIN; SATO, 2000 ab).

Tanto os genes MHC de origem paterna como os maternos são geralmente herdados em bloco nos respectivos cromossomos 6. O conjunto de genes oriundos do cromossomo materno ou paterno é denominado haplotipo. Assim sendo, um indivíduo expressa os genes HLA recebidos do pai e da mãe, que geralmente resultam em 4 combinações principais se não ocorrer o *crossing-over*.

Os genes HLA são expressos de forma co-dominante e acompanham a segregação Mendeliana clássica. Teoricamente em uma prole de progenitores com haplotipos *ab* e *cd* é constituída por indivíduos com os haplotipos *ac*, *ad*, *bc* e *bd*. Assim sendo, dois irmãos têm a chance teórica de 25% de herdarem os mesmos haplótipos de origem materna e paterna e são ditos HLA idênticos. Em 50% das vezes eles compartilham o haplótipo materno ou o paterno, sendo considerados haplotipos-idênticos. Nos demais 25% dos casos, dois irmãos, dos mesmos pais de uma população heterozigótica não compartilham nenhum dos dois haplotipos HLA, sendo então chamados HLA-distintos. (JANEWEY et al, 2002).

Os genes de HLA classe I e II codificam moléculas glicoprotéicas especializadas, descritas como moléculas MHC, que se expressam junto à membrana plasmática na grande maioria das células somáticas. Essas moléculas só

são capazes de se ligarem a fragmentos de peptídeos antigênicos processados no interior das células e apresentar ao linfócito T. Os receptores dos linfócitos T (TCR) não reconhecem antígenos protéicos (peptídeos) na forma livre ou solúvel, mas apenas quando combinados a uma molécula MHC. Na dependência do modo que o antígeno é processado na célula, este se liga a uma classe específica de molécula MHC; desse modo, os antígenos ligados aos HLA classe I são reconhecidos pelos linfócitos T CD8<sup>+</sup> e aos HLA classe II pelos linfócitos T CD4<sup>+</sup>. (WHITELEGG; BALBER, 2004).

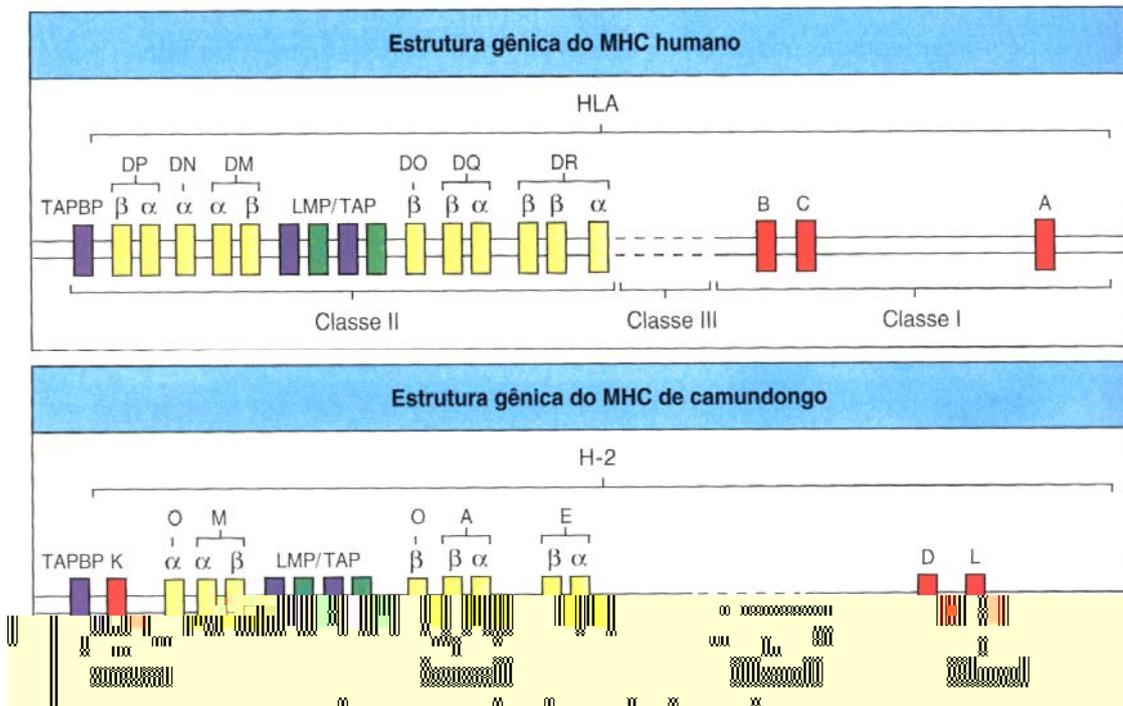
O reconhecimento pelo linfócito T do peptídeo antigênico, ligado ao MHC é essencial para a formação da resposta imunológica adaptativa. (GARCIA et al, 1998).

Acredita-se que os genes MHC estejam envolvidos na patogênese de muitas doenças, especialmente as consideradas auto-imunes. A relevância da associação dos genes MHC com o risco genético para algumas doenças teve seu relato inicial nos humanos em 1967, com a verificação da presença de alta frequência de certo gene do MHC com a doença de Hodgkin. (AMIEL, 1967 apud VAN SOMEREN, 1974).

As funções não imunológicas das moléculas MHC decorrem de sua ligação com outros receptores na superfície das células, em particular com o receptor de transferrina (TfR), com o receptor do fator de crescimento epidérmico e vários receptores hormonais, como para insulina e hormônio luteinizante. Também, tanto os genes do MHC humano e do camundongo agem no mecanismo de reprodução, favorecendo a fertilização seletiva, pela indução de abortos seletivos. (JIN K et al, 1995; PAYNE; ROLFS, 1958).

Podemos acrescentar ainda a relevante função do MHC na sobrevivência da

população (espécie) como um todo. A grande diversidade de moléculas do MHC (polimorfismo) possibilita a sua ligação com diferentes peptídeos antigênicos: logo, em caso de uma grande epidemia, sempre existirão sobreviventes.



**Figura 1** Organização simplificada dos genes MHC humano e murino.

Fonte: Adaptação de Janeway et al. *Imunobiologia* p. 190, 2002 (figura 5.10).

O maior conhecimento do MHC, da expressão e interações das moléculas codificadas pelo Sistema HLA não só colaboram com a melhor compreensão do funcionamento do sistema imune adaptativo e do mecanismo envolvido no desenvolvimento das doenças, como também propicia a sua aplicação em varias áreas da ciência, especialmente nas investigações antropológicas, nos testes de paternidade e na clínica médica. Por conseqüência, propicia um crescente avanço das técnicas de imunodiagnóstico e imunotratamento por meio do desenvolvimento de novas vacinas imunogênicas visando o melhor controle da rejeição de enxertos e o tratamento das diversas doenças com as novas drogas imunomoduladoras.

(ABAAS; LICHTMAN; PODER et al, 2003; JANEWEY et al, 2002; KLEIN; SATO, 2000 ab).

### 3.2.2 Nomenclatura

Indivíduos da mesma espécie apresentam determinantes antigênicos que conferem características alogenéticas peculiares, que os diferem dos demais membros da mesma espécie. Portanto, chamamos de aloantígenos o produto de genes polimórficos que capacitam a distinção entre os tecidos estranhos dos próprios.

Os genes MHC nos humanos estão agrupados em vários *loci* (locos) de genes no cromossomo 6, dispostos separadamente e vários *locus* (loco) reconhecidos por uma ou mais letras precedidas pela sigla HLA, como por exemplo: HLA-A, HLA-B.

As variantes gênicas em um mesmo *locus* são conhecidas por “alelos” que são representados por números arábicos descritos após asterisco com a letra do respectivo *locus* HLA-B\*35.

As cadeias que formam os heterodímeros das moléculas HLA são designadas pelas letras gregas  $\alpha$  e  $\beta$ , e os genes que codificam essas cadeias são representados pelas letras A e B.

No caso da classe I, o polimorfismo das moléculas ocorre apenas na cadeia  $\alpha$  das moléculas HLA, desse modo à nomenclatura oficial mantém ainda hoje, as mesmas especificidades quanto à qualificação do grupamento alélico (*locus*) anteriormente determinadas pelos métodos sorológicos como (por ex. HLA-A11) pelas técnicas moleculares de baixa resolução (HLA-A\*11) ou de alta resolução (HLA-A\*1101).

Nos alelos da classe II, que apresentam polimorfismo tanto nas cadeias  $\alpha$  quanto  $\beta$ , foram acrescentadas as letras dos respectivos genes (A ou B) logo após a denominação dos *locus*. Por exemplo, a molécula HLA-DR1 denominada anteriormente pela sorologia passou a ser designada pelo grupo alélico que o codifica, como por exemplo: HLA-DRB1\*01.

A letra w, inicialmente empregada quando a identificação sorológica não era inteiramente definida, hoje é usada somente para o *locus* C, (por ex: HLA-Cw\*06) para diferenciá-los dos componentes do complemento.

O conjunto total de alelos do MHC presentes em cada cromossomo é chamado por haplótipo do MHC. Cada indivíduo herda 2 haplótipos, um paterno e outro materno. (BUNCE et al, 1999; JANEWEY et al, 2002; SANTAMARIA et al, 1996; SNELL, 1981).

### 3.2.3 Métodos de detecção das moléculas MHC

O número de especificidades alélicas foi definido através das técnicas de cultura mista de linfócitos reativos e por meio de anti-soros (método sorológico). (SACHS, 1973; VAN ROOD; LEEUWEN, 1963). Posteriormente, com a introdução das técnicas de tipificação molecular o polimorfismo do sistema HLA tornou-se ainda mais evidente. (WAKE, LONG; MARSH, 1982).

O método clássico de tipificação HLA é o de microlinfocitotoxicidade celular (método sorológico) mediada por anticorpos anti-HLA. Esta reação ocorre na dependência do complemento. Após a coleta do sangue com heparina e obtenção da nuvem de leucócitos, através de centrifugação com Ficoll-Hypaque, são separadas predominantemente células mononucleares vivas, ou seja, linfócitos (LT, LB) e monócitos. Portanto, a tipificação HLA é realizada em células mononucleares

vivas. Essa suspensão de linfócitos totais é colocada nas cavidades da placa “Terasaki” contendo os anticorpos monoclonais anti-HLA, promovendo desse modo uma reação antígeno-anticorpo; em seguida, o complemento e um corante eosina são adicionados à suspensão. Nas cavidades onde os anticorpos anti-HLA reconhecem o antígeno presente na superfície das células, ocorre a formação de imunocomplexos e a conseqüente fixação do complemento que promove lise da membrana celular, permitindo assim a entrada do corante nas células, tornando possível a caracterização do HLA pela visualização das células mortas coradas. A tipificação HLA por esta técnica é considerada positiva quando mais de 80% das células são coradas na reação em uma determinada cavidade da placa. (YUNIS, 1971).

A limitação dessa técnica é resultante do fato de que os linfócitos T obtidos através do sangue periférico não expressam constitutivamente, moléculas HLA classe II. Portanto, apenas os linfócitos B são utilizados para tipificar os antígenos HLA-DR e DQ. Este método sorológico é limitado por não permitir a determinação precisa da grande variedade dos alelos HLA, principalmente os de classe II.

Atualmente, para a tipificação HLA vem sendo, mas realizada com as técnicas de biologia molecular que tiveram um grande avanço no final da década de 80. O DNA pode ser extraído das células nucleadas do sangue periférico, células de tecido como a pele, ossos etc. O DNA é amplificado pela reação em cadeia da polimerase (*polymerase chain reaction* - PCR) utilizando oligonucleotídeos específicos para amplificar esta região do genoma estudado. No método PCR-SSP (*sequence-specific primers*), são realizadas várias reações de amplificação, cada uma com um par de iniciadores capazes de identificar um grupo ou um alelo específico. Os produtos de amplificação são submetidos à eletroforese em gel de

agarose contendo brometo de etídio, substância fluorescente tornando fluorescentes os produtos de amplificação quando o gel é submetido à luz ultravioleta.

O método *sequence-specific oligonucleotide probe* (PCR-SSOP), é um método mais acurado, rápido e de alta resolução, cujas reações de amplificação também utilizam um par de iniciadores para amplificar o gene. O DNA amplificado é desnaturado e fixado em membranas de náilon, que em seguida é hibridizado com sondas de oligonucleotídeos marcadas, com material radiativo ou substâncias fluorescentes e incubadas em temperaturas adequadas.

Os métodos de biologia molecular são capazes de reconhecer os diversos grupos de alelos dos genes com maior ou menor especificidade na dependência dos *Kits* e técnica de (baixa ou alta resolução) empregados. (BUNCE et al, 1993; FERNANDES et al, 2003; GOLDSBY; KINDT; OSBORNE, 2002; ROITT; BROSTOFF; MALE, 2003).

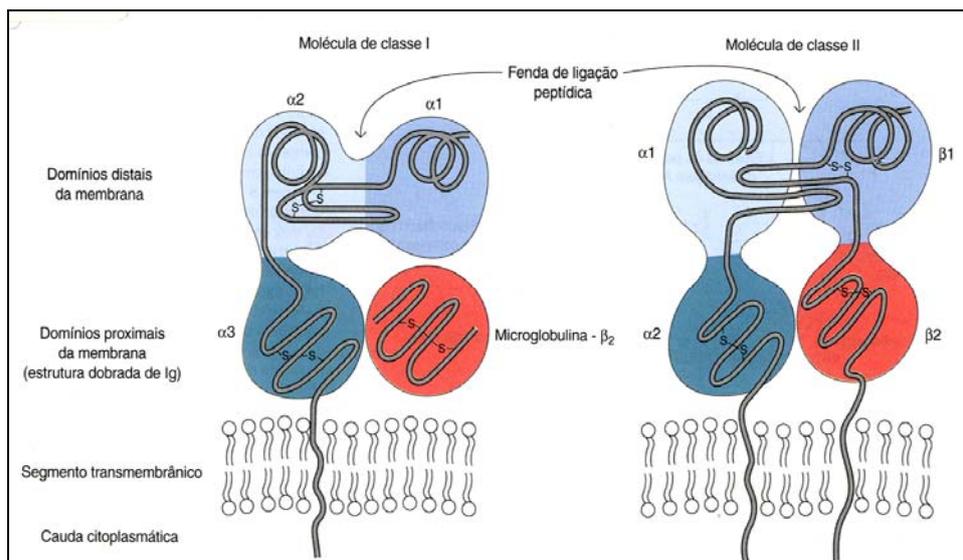
#### 3.2.4 Estrutura das moléculas MHC

As moléculas do MHC de classe I e II são glicoproteínas, ligadas à membrana celular, com similares estruturas tridimensionais heterodímeras e foram mais bem elucidadas por análises cristalográficas de raio X.

Tanto as moléculas da classe I e II apresentam 3 domínios de localização, ou seja: 1 domínio extracelular, 1 domínio transmembrana e 1 domínio intracitoplasmático. A porção amino-terminal (N-terminal) externa pertence ao segmento distal do domínio externo. A porção carboxila-terminal corresponde à cauda citoplasmática (domínio citoplasmático). (BJORKMAN et al, 1987; BROWN, 1993), (figura 2).

O segmento N-terminal do domínio MHC externo é capaz de formar complexos estáveis com os peptídeos antigênicos, tornando-os aptos a nível da superfície celular das respectivas células apresentadoras de antígenos (células alvo), para o reconhecimento pelas células T.

As moléculas HLA classe I, melhor elucidadas em (1987), possuem duas cadeias polipeptídicas ligadas não-covalentemente, uma grande cadeia- $\alpha$  (pesada) polimórfica, codificada no MHC de 44 a 47 KD e uma subunidade de 12 KD, não polimórfica e não codificada no MHC e sim no cromossomo 15, designada  $\beta_2$ -microglobulina. (BJORKMAN et al, 1987). (figura 2).



**Figura 2** Diagrama esquemático dos domínios das moléculas MHC.

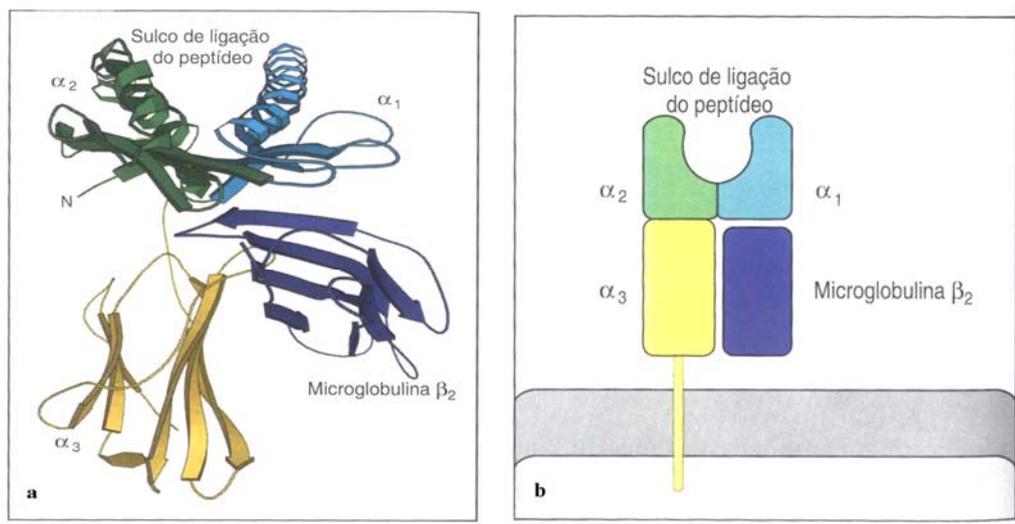
Fonte: Goldsby et al, Kuby Imunologia, p 178, 2002. figura 5.7)

Cada cadeia  $\alpha$  é orientada em cerca de três quartos do polipeptídeo completo para o meio extracelular, ou seja, por três domínios externos ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_3$ ). Os segmentos aminoterminais (N terminal)  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$ , cada um com aproximadamente 90 aminoácidos, e um segmento menor hidrofóbico  $\alpha_3$  que se estende na membrana

celular (segmento transmembrana). Os resíduos carboxiterminal constituem a cauda citoplasmática.

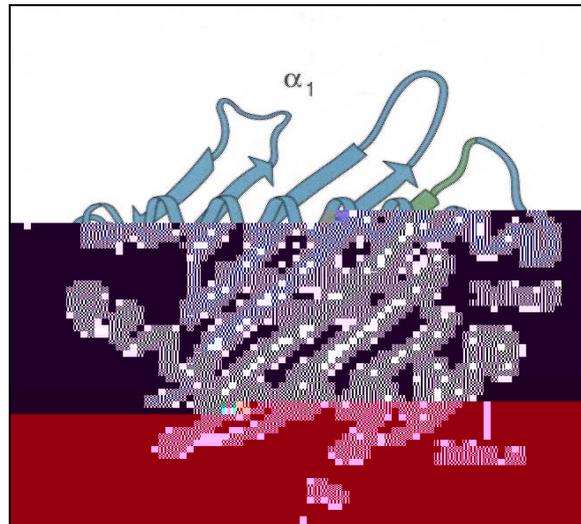
O domínio  $\alpha_3$  interage fortemente com a cadeia da  $\beta_2$  microglobulina e menos intensamente com os domínios  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  e parece ser altamente conservado entre as moléculas MHC classe I e pode interagir com a molécula de membrana do coreceptor CD8 presente na célula T citotóxica. Os domínios  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  são os que conferem as especificidades alélicas relacionadas ao pleomorfismo das moléculas classe I. A  $\beta_2$  microglobulina é estruturalmente homóloga ao segmento Fab da imunoglobulina (Ig) e é invariante em todas as moléculas MHC classe I e por esta similaridade é considerado membro da superfamília das imunoglobulinas. A interação da  $\beta_2$  microglobulina e a cadeia  $\alpha_3$  da classe I são essenciais para a expressão do MHC ao nível da membrana (figura 3).

A fenda ou sulco de ligação peptídeo-MHC classe I, é formada pelas cadeias  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  e parte do assoalho pela  $\beta_2$  microglobulina, que se apresenta estrutural mente pregueada arranjadas em 8 fitas paralelas (figura 3 e 4).



**Figura 3** Molécula MHC I representação dos domínios: a - estrutural, b - esquemática.

Fonte: Janeway CA, et al, Imunobiologia p. 134, 2002 (figura 3.20bd).

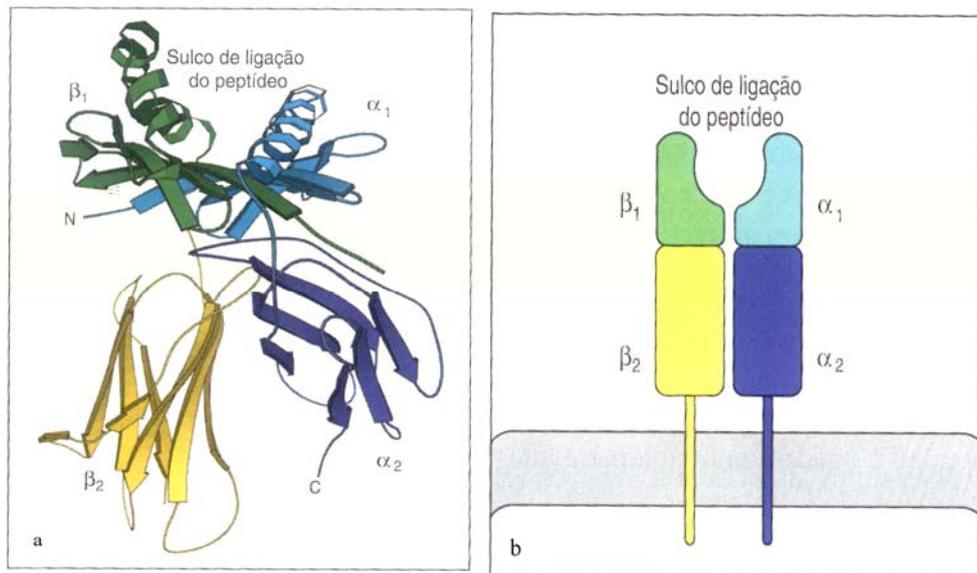


**Figura 4** Representação estrutural do sulco de ligação da molécula MHC classe I, formado pelas cadeias  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ . Os terminais da fenda são fechados.

Fonte: Janeway CA, et al, Imunobiologia p. 134, 2002 (figura 3.20c).

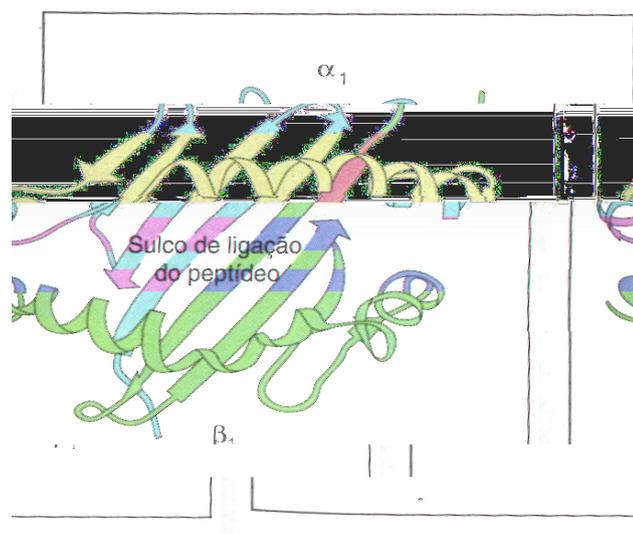
O conhecimento mais aperfeiçoado da estrutura das moléculas MHC classe II ocorreu mais tardiamente (1993), são glicoproteínas de membrana compostas por duas cadeias polipeptídicas que se interagem não-covalentemente, uma cadeia  $\alpha$  de 32 a 34 kD e uma cadeia  $\beta$  de 29 a 32 kD. (BROWN, 1993). (figura 2).

Assim como a molécula classe I apresenta os três domínios; o externo, transmembrana e citoplasmático. Uma molécula classe de classe II apresenta os segmentos  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  em uma cadeia e  $\beta_1$  e  $\beta_2$  na outra cadeia (figura 5). A porção distal do domínio externo é composta pelos domínios  $\alpha_1$  e  $\beta_1$ , que formam a fenda de ligação peptídica. As principais diferenças nas estruturas das duas moléculas, residem nas extremidades do sulco de ligação do peptídeo, que são mais abertas na classe II permitindo a sua interação com fragmentos peptídeos antigênicos, maiores, constituídos por 13 a 18 aminoácidos. (GOLDSBY; KINDT; OSBORNE, 2002; JANEWEY et al, 2002). (figura 6).



**Figura 5** Molécula MHC classe II Representação dos domínios: a – estrutural b- Representação esquemática.

Fonte: Janeway CA, et al, Imunobiologia, p. 135, 2002 (figura 3.21b).



**Figura 6** Representação estrutural do sulco de ligação da molécula MHC classe II, formado pelas cadeias  $\alpha_1$  e  $\beta_1$ , aberto em ambas as extremidades.

Fonte: Janeway CA, et al. Imunobiologia. p.135, 2002 (figura 3.21c).

Os resíduos polimórficos dos diversos alelos das moléculas MHC classe II, estão localizados nas cadeias  $\alpha_1$  e  $\beta_1$  na fenda de ligação peptídica. Os segmentos  $\alpha_2$  e  $\beta_2$  não são polimórficos. Uma alça no segmento  $\beta_2$  é o sítio de ligação para o

CD4.

O polimorfismo estrutural apresentado tanto nas cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  nas moléculas classe II, possibilita pareamentos heterólogos (por ex:  $DQ\alpha$  de um cromossomo com  $DQ\beta$  de outro). Assim sendo, o número total de moléculas de classe II pode ser de 10 a 20 vezes maior do que as da classe I nos indivíduos heterozigóticos.

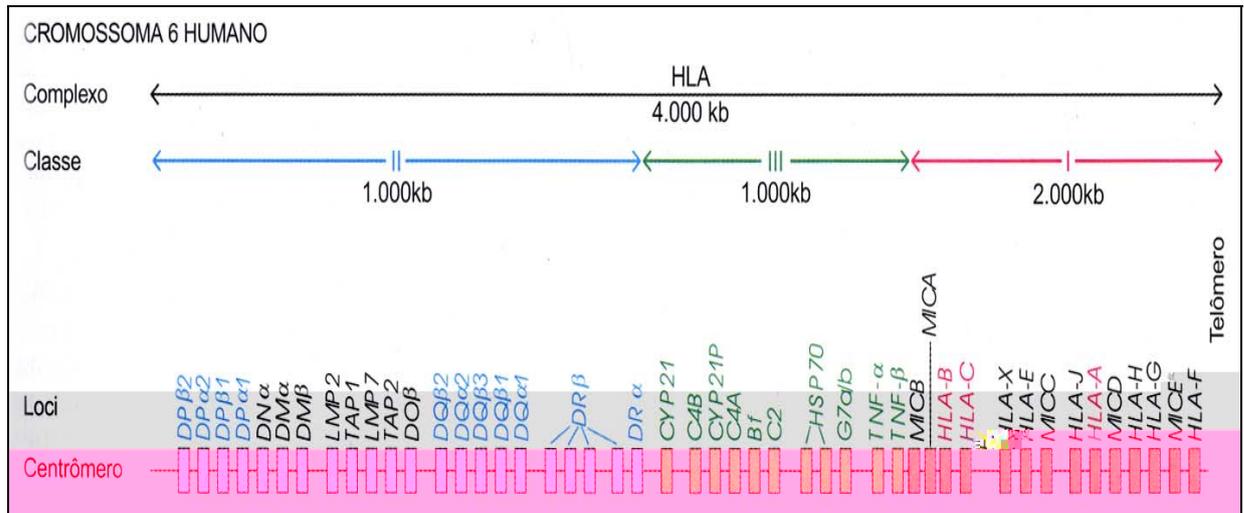
Portanto, os locais de maiores polimorfismo das moléculas MHC classe I e II, estão na região da fenda, onde ocorre a ligação do peptídeo ao MHC.

O *éxon* que codifica as seqüências líder e sinalizadora que orienta as proteínas endereçadas ao reticulo endoplasmático (RE), posteriormente é clivado e não é encontrado na molécula madura. Cada um dos segmentos extracelulares com aproximadamente 90 resíduos (ex: *alfa1*, 2, 3 na classe I e *alfa1*, 2, *beta1*, 2 na classe II) é codificado por um grande *éxon*, separado. Os domínios aminoterminais das proteínas, responsáveis pelo polimorfismo dos genes HLA estão contidas dentro destes *éxons*. Os domínios transmembrana e citoplasmático são codificados por outros pequenos *éxons*. (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2003; BROWN, 1993; JANEWEY et al, 2002).

### 3.2.5 Organização das moléculas MHC

A organização genética do Sistema HLA se insere num segmento contínuo do cromossomo 6 p 21.3. Os genes HLA ocupam um grande segmento do DNA estendendo-se ao longo de cerca de 4000 quilobases (Kb).

Os genes HLA classe I estão próximos ao telômero, enquanto que os genes de classe II organizam-se próximos ao centrômero. Entre os genes classe I e II, estão os genes, correspondentes à classe III (figura 7).



**Figura 7** Mapa genômico detalhado do MHC humano.

Fonte: Goldsby et al, Kuby Imunologia. p. 189, 2002. (figura 7.15)

Nota: Gene (proteína codificada) do MHC clássicas e não clássicas: em vermelho os genes do MHC classe I, em azul da classe II e em verde MHC classe III.

C2, C4A, C4B, Bf componentes do complemento

CYP21, CYP21P 21-hidrolase esteróide

G7a/b sintetase Valil-t RNA

HSP 70 proteína do choque térmico

LMP 2, LMP 7 subunidades do proteossomo

TAP 1, TAP 2 subunidades transportadoras do peptídeo.

TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$  fatores de necrose tumoral  $\alpha$  e  $\beta$ .

Essa região tanto nos humanos como nos camundongos, diferentemente à da classe MHC I e II, não codificam moléculas MHC, e apresentam genes relacionados a diversos componentes do complemento incluindo (C2, C4a, C4b e o fator B), duas enzimas 21-hidrolases esteroides (21-OHA e 21-OHB), citocinas inflamatórias como os fatores de necrose tumoral (TNF- $\alpha$  e TNF- $\beta$ ) e duas proteínas do choque térmico (*heat-shock*-HSP).

Alguns autores defendem a distinção de uma região IV do MHC, situada entre a região telomérica da classe III e a centromérica da classe I. Essa região acomodaria genes relacionados com a inflamação como: os genes da família do fator de necrose tumoral constituída pelos genes (TNF- $\alpha$ , linfotóxina- $\alpha$  LTA ou TNF- $\beta$  e LTB ou TNF-C), os genes conhecidos por B144, IC7, AIF-1, BAT1e os dos dois

genes das proteínas de choque térmico (HSP70 e SK12W). Os genes que compõem a família MICA e MICB, pseudogenes da classe I também são estudados por estes autores, na ainda não convencional classe IV de MHC (GRUEN; WEISMAN, 1997).

MHC classe I apresenta um total de 19 *loci* de genes: 6 são expressos a nível de membrana, deles: 3 são clássicos HLA-A, HLA-B e HLA-C os outros genes expressos na membrana celular HLA-E, -F, -G, por apresentarem pouco polimorfismo e serem restritos a poucos tecidos são considerados genes não clássicos (figura 7). Os outros genes adicionais que codificam moléculas semelhantes à classe I são conhecidos como genes (MHC classe IB). (ALFONSO; KARLSSON, 2000; SHIINA et al, 2004) (quadro 1,2 e 3).

A região MHC da classe II apresenta 34 *loci* de genes sendo que 16 deles são expressos a nível de membrana celular: 3 genes clássicos HLA-DP, HLA-DQ e HLA-DR, 15 não clássicos (pseudogenes) e outros 3 são considerados ainda como candidatos a genes. (GOLDSBY; KINDT; OSBORNE, 2002; MARSH, 2005; SHIINA et al, 2004) (figura 7) e (quadro 1, 2 e 3).

Os genes não clássicos, de ambas as classe de moléculas MHC, apresentam função ainda não totalmente esclarecida. Parece que alguns destes genes possam ainda ser usados como reservatórios de seqüências codificadores de DNA para o processo de “conversão gênica” na geração das seqüências polimórficas dos genes MHC classe I e II. (ALBERTS et al, 2002; GOLDSBY et al, 2002; JANEWEY et al, 2002; MCDEVITT, 2000).

Tanto os genes do MHC da classe I e II são franqueados por seqüências promotoras que se ligam aos fatores de transcrição específicos mediados por elementos positivos e negativos como o interferon (IFN) e prostaglandinas.

<b>Locus</b>	<b>número de alelos</b>
HLA-A	349
HLA-B	627
HLA-C	182
HLA-E	5
HLA-F	2
HLA-G	15
HLA-DRA	3
HLA-DRB1	394
HLA-DRB2	1
HLA-DRB3	41
HLA-DRB4	13
HLA-DRB5	18
HLA-DRB6	3
HLA-DRB7	2
HLA-DRB8	1
HLA-DRB9	1
HLA-DQA1	28
HLA-DQB1	61
HLA-DPA1	22
HLA-DPB1	116
HLA-DOA	8
HLA-DOB	9
HLA-DMA	4
HLA-DMB	7
TAP1	7
TAP2	4
MICA	57
MICB	18

**Quadro 1** Número oficial de alelos nos locus dos genes HLA.

Fonte: Marsh et al, Tissue Antigens. v. 65, p. 301-369, 2005.

	Expressados	*Candidatos	Não codificados	Pseudo genes	Total
Genes HLA Classe I	6	0	0	13	19
Genes HLA classe II	11	2	0	6	19
Genes MIC	2	2	0	5	7
Total de genes HLA-like	19	2	0	24	45
Genes não MHC	111	15	4	64	194
Total de genes	<b>130</b>	<b>17</b>	<b>4</b>	<b>88</b>	<b>239</b>
Região classe I	41	12	3	66	122
Região classe II	16	3	0	15	34
Região de extensão classe II	15	0	1	5	21
Região classe III	58	2	0	2	62

**Quadro 2** Número de genes identificados na região HLA

\*candidatos: necessitam de mais estudos para serem considerados genes HLA.

Fonte: Shina et al, Tissue Antigens, v. 64, p. 631-649, 2004.

Nome HLA	Equivalente	Característica molecular
HLA-A	-	Cadeia $\alpha$ de classe I
HLA-B	-	Cadeia $\alpha$ de classe I
HLA-C	-	Cadeia $\alpha$ de classe I
HLA-E	E, '6.2'	Classe I associado com fragmento 16.2-kB de Hind III
HLA-F	F, '5.4'	Classe I associado com fragmento 15.4-kB de Hind III
HLA-G	G, '6.0'	Classe I associado com fragmento 16.0-kB de Hind III
HLA-H	H, AR, '12.4', HLA 54	Pseudogene associado com fragmento 5.4 de Hind III
HLA-J	cda 12, HLA 59	Pseudogene associado com fragmento 5.9 de Hind III
HLA-K	HLA-70	Pseudogene associado com fragmento 7.0 de Hind III
HLA-L	HLA-92	Pseudogene associado com fragmento 9.2 de Hind III
HLA-N	HLA-30	Fragmento de gene classe I associado com 1 Hind III frag 1.7
HLA-S	HLA-17	Fragmento de gene classe I associado com 1 Hind III frag. 3.0
HLA-X	HLA-X	Fragmento de gene classe I associado com 1 Hind III frag. 3.0
HLA-Z	HLA-Z1	Fragmento de gene classe I
HLA-DRA	DR $\alpha$	Cadeia $\alpha$ DR

HLA-DRB1	DR $\beta$ , DR1B	Cadeia- $\beta$ 1 determina as especificidades DR1 a DR8
HLA-DRB2	DR $\beta$ II	Pseudogene com seqüência DR $\beta$ -like
HLA-DRB3	DR $\beta$ III, DR3B	Cadeia- $\beta$ 3 DR e ecificidade para os epitopos Dw25 e Dw26
HLA-DRB4	DR $\beta$ IV,DR4B	Cadeia- $\beta$ 4 DR que determina a especificidade DR53
HLA-DRB5	DR $\beta$ III	Cadeia- $\beta$ 5 DR que determina a especificidade DR51
HLA-DRB6	DRBX, DRB $\sigma$	Pseudogene DRB nos haplotipos DR1, DR2 e DR10
HLA-DRB7	DRB $\Psi$ 1	Pseudogene DRB nos haplotipos DR4, DR7 e DR9
HLA-DRB8	DRB $\Psi$ 2	Pseudogene DRB nos haplotipos DR4, DR7 e DR9
HLA-DRB9	M4.2 $\beta$ ?exon	Fragmento isolado de pseudogene DRB
HLA-DQA1	DQ $\alpha$ 1, DQ1A	DQ expresso como cadeia $\alpha$
HLA-DQB1	DQ $\beta$ 1, DQ1B	DQ expresso como cadeia $\beta$
HLA-DQA2	DX $\alpha$ , DQ2A	DQ cadeia $\alpha$ não expressada
HLA-DQB2	DX $\beta$ , DQ2B	DQ cadeia $\beta$ não expressada
HLA-DQB3	DV $\beta$ , DQB3	DQ cadeia $\beta$ não expressada
HLA-DOA	DZ $\alpha$ ,DO $\alpha$ , DNA	Cadeia $\alpha$ de DO
HLA-DOB	DO $\beta$	Cadeia $\beta$ de DO
HLA-DMA	RING6	Cadeia $\alpha$ de DM
HLA-DMB	RING7	Cadeia $\beta$ de DM
HLA-DPA1	DP $\alpha$ 1, DP1A	DP expressa como cadeia $\alpha$
HLA-DPA2	DP $\alpha$ 2, DP2A	Pseudogene cadeia $\alpha$ -referida de DP
HLA-DPA3	DPA3	Pseudogene cadeia $\alpha$ -referida de DP
HLA-DPB1	DP $\beta$ 1, DP1B	Cadeia $\beta$ expressada de DP
HLA-DPB2	DP $\beta$ 2, DP2B	Pseudogene de cadeia $\beta$ DP
TAP1	ABCB2, RING4	ABC transporte (ATP binding cassette)
TAP2	ABCB3, RING11	ABC transporte (ATP binding cassette)
PSMB9	LMP2, RING12	Relacionado com o proteossoma
PSMB8	LMP7, RING10	Relacionado com o proteossoma
MICA	MICA, PERB11.1	Gene relacionado com classe I
MICB	MICB, PERB11.2	Gene relacionado com classe I
MICC	MICC, PERB11.3	Pseudogene relacionado com classe I
MICD	MICD, PERB11.4	Pseudogene relacionado com classe I
MICE	MICE, PERB11.5	Pseudogene relacionado com classe I

**Quadro 3** Relação mais detalhada dos genes na região HLA.

Fonte; Marsh et al. Tissue Antigens, v. 65, p.301-369, 2005.

O *IFN- $\gamma$*  é o mais potente indutor da expressão dos genes MHC classe II. A expressão de todas essas moléculas induzidas pelo *IFN- $\gamma$*  opera na região promotora dos genes do MHC classe II, conhecida por transativadora do gene classe II ou (*class II transactivator*-CIITA). O CIITA está localizado no *locus* ativador 1 da resposta imune “*activator of immune response 1*” (AIR-1) e é o maior controlador da expressão imune dos genes do MHC classe II frente a um agente infeccioso. (ACOLLA et al, 2001).

Os genes HLA-DMA e HLA-DMB codificam as moléculas HLA-DM não expressas na superfície celular e sim no chamado compartimento MHC de classe II (MIIC) e estão envolvidos na ligação do peptídeo ao MHC.

Nas células do timo e nas células B uma outra molécula HLA-DO é expressa no MIIC, essa molécula é codificada pelos genes HLA-DN $\alpha$  e HLA-DO $\beta$  (figura 7).

### 3.2.6 Expressão das moléculas HLA nos tecidos

As moléculas MHC de classe I e II têm expressão distinta entre as diversas células do organismo. Nos humanos existem 3 pares de genes clássicos de cadeia  $\alpha$  da molécula MHC classe I, HLA-A, -B e -C e 3 pares de genes de classe II produto, ou seja, HLA-DR, -DP, -DQ. O DR contém um gene extra de cadeia  $\beta$  cujo produto pode parar com o da cadeia DR $\alpha$ , podendo da origem a quatro moléculas MHC classe II. Nos indivíduos homozigóticos, até três diferentes moléculas de classe I e até quatro moléculas da classe II, podem ser expressas se as duas cópias dos cromossomos apresentam alelos análogos. Nos heterozigóticos as duas cópias de cromossomos, ao serem transcritas, podem dobrar o número de moléculas MHC expressas. Desse modo, é possível a expressão de até 6 diferentes moléculas MHC classe I e até 8 de classe II.

As possibilidades de expressão do sistema HLA em população miscigenada podem ser ainda maiores e, por conseguinte, o indivíduo que apresenta grande heterogeneidade nos genes em seus haplótipos, pode apresentar até 10 a 14 diferentes moléculas MHC, aumentando ainda mais a diversidade individual e numa dada população como um todo. (KASAHARA et al, 1995; KASAHARA, 1999; PENN; POTTS, 1999). A expressão das moléculas MHC na membrana celular é co-dominante; isso significa que todos os principais *loci* de genes de origem materna e paterna podem ser expressos em um indivíduo. No entanto, apesar desta grande possibilidade de expressão gênica, a pessoa não pode expressar mais de 2 alelos de um mesmo *locus* HLA.

Em geral, as moléculas MHC da classe I clássicas são expressas em quase todas as células nucleadas, mas com distintos níveis de expressão. Níveis mais elevados das moléculas MHC classe I são expressos nos linfócitos.

Em contraste, os fibroblastos, as células musculares, os hepatócitos e as células neurais exibem baixos níveis de expressão das moléculas MHC classe I.

Diferente das moléculas MHC classe I, as moléculas da classe II são expressas somente pelas células apresentadoras de antígenos (APCs). Os macrófagos, monócitos, linfócitos B e as células dendríticas são conhecidos como células apresentadoras de antígenos “primárias” ou profissionais.

As células dendríticas, as células de Langerhans e as células B maduras, expressam os níveis mais elevados de moléculas MHC classe II. Os macrófagos e monócitos necessitam ser previamente ativados pela fagocitose de microorganismo ou pela molécula co-estimuladora de membrana B7 para elevar os níveis de expressão de moléculas MHC de classe II.

Outras células apresentadoras de antígenos (APCs) consideradas não

profissionais como os fibroblastos, células gliais, célula beta pancreáticas, as células epiteliais do timo, da tireóide e as células endoteliais vasculares podem eventualmente ser induzidas, a expressar moléculas do MHC de classe II ou a molécula co-estimuladora B7 por curtos períodos, durante uma resposta inflamatória contínua. Quase todas as células nucleadas que expressam as moléculas MHC classe I pode atuar funcionalmente como células alvo e apresentador de antígenos endógenos às células T citotóxicas (Tc). Apenas algumas células APC que expressam moléculas MHC classe II podem mais raramente expressar moléculas MHC classe I (quadro 4).

<b>Tecido</b>	<b>MHC de classe I</b>	<b>MHC de classe II</b>
<b>Tecidos linfóides</b>		
Células T	+++	+*
Células B	+++	+++
Macrófagos	+++	++
Outras células APCs (ex ,células de Langerhans)	+++	+++
Células epiteliais do timo	+	+++
<b>Outras células nucleadas</b>		
Neutrófilos	+++	—
Hepatócitos	+	—
Células renais	+	—
Células nervosas (cérebro)	+	-**
<b>Células não nucleadas</b>		
Hemácias	—	—

**Quadro 4** Expressão das moléculas MHC nos diferentes tecidos.

Nota: (\*) No homem as células T ativadas podem expressar moléculas MHC classe II, enquanto que nos camundongos são MHC classe II negativas.

(\*\*) As células nervosas são MHC II negativas, com exceção das células da glias que são MHC II positiva.

Fonte: Janeway et al, Imunobiologia p.133, 2002. (Adaptação da figura 3.19).

### 3.2.7 Vias de processamento e geração de peptídeos-MHC

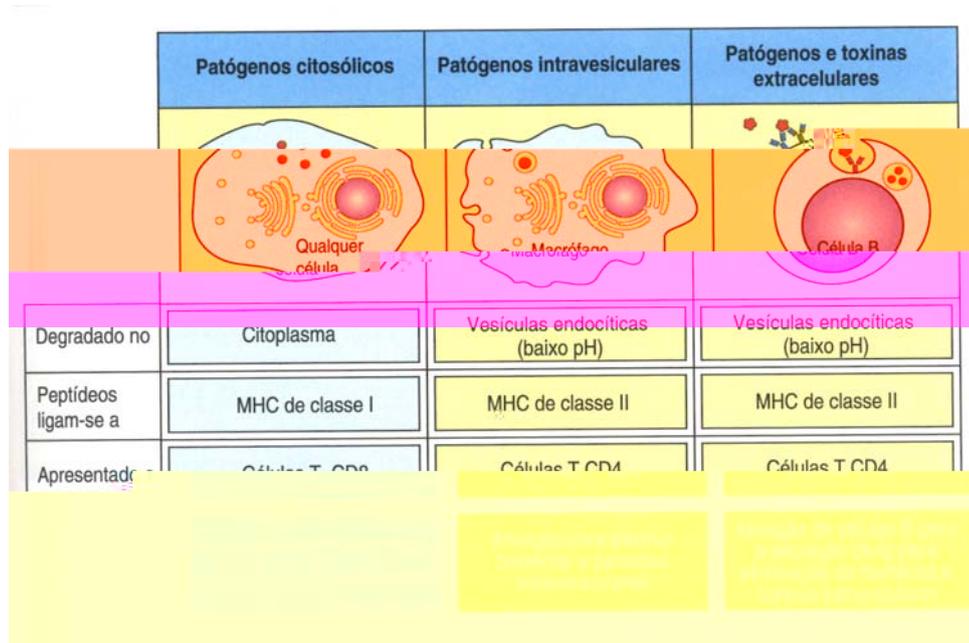
A associação dos peptídeos antigênicos as respectivas moléculas MHC está na dependência do modo de penetração do antígeno na célula e seu subsequente processamento, gerando, por conseguinte, distintas respostas imunes.

Os antígenos endógenos, tais como aqueles induzidos pela replicação de vírus, acarretam a formação de complexos protéicos intracelulares que são degradados em pequenos peptídeos por um sistema proteolítico citosólico no proteossoma em todas as células eucarióticas (via citosólica).

Na via citosólica, estes antígenos para serem degradados em fragmentos de peptídeos se ligam primeiramente à ubiquitina, formando na dependência da molécula trifosfato adenosina (ATP), o conjugado peptídeo-ubiquitina. Esse complexo é degradado em pequenos peptídeos antigênicos por um complexo intracitoplasmático de proteases multifuncionais no citosol pertencente ao (proteossomo), que subsequente são transportados ao retículo endoplasmático (RE), através dos genes transportadores associados com o processamento antigênicos (TAP). Os genes TAP1 e TAP2 codificam proteínas heterodímeras ancoradas na membrana do RE, que apresentam um domínio hidrofílico que se projeta para o lúmen e outro domínio que se projeta para o citosol. Estes genes se localizam no MHC classe II adjacentes aos genes que codificam subunidades de proteossoma LMP 2 e LMP 7, os quais são capazes de favorecer no citosol a produção de peptídeos contendo 8 a 10 aminoácidos carboxiterminais, hidrofóbicos ou hidrobásicos mais sujeitos a captura pelo TAP e aptos a se ligarem às moléculas MHC classe I na fenda de ligação peptídica. (ALBERTS et al, 2002).

Os componentes da cadeia  $\alpha$  e da  $\beta_2$ -microglobulina da molécula MHC classe I são sintetizados nos polissomas ao longo do RE. A cadeia  $\alpha$  se associa à

calnexina uma molécula chaperona da membrana do RE. A calnexina é liberada na subsequente ligação com a  $\beta_2$ -microglobulina, permitindo a associação da molécula MHC classe I com as chaperoninas, calcireticulina e tapaxina. A tapaxina, proteína associada à TAP que favorece a captura do peptídeo antigênico pelo MHC classe I, antes que ele seja exposto e rapidamente degradado no lúmen do RE. A ligação peptídeo molécula MHC classe I, ao se estabilizar, promove a dissociação da calcireticulina e tapaxina, libera-se do RE e chega estável via Golgi à superfície da membrana celular e, por conseguinte, favorece a apresentação do peptídeo ao referente linfócito T CD8<sup>+</sup>, cuja essencial função é a de destruir as células infectadas (figura 8).



**Figura 8** Representação esquemática das vias de processamento intracelular.

Fonte: Janeway et al, Imunobiologia. p. 179 , 2002 (figura 5. 2).

Os antígenos que chegam aos compartimentos vesiculares para serem processados pela via endossômica se ligam às moléculas MHC classe II. Normalmente são os patógenos exógenos e toxinas extracelulares são



removido através do HLA-DM (molécula HLA não clássica) que catalisa a troca do CLIP pelo peptídeo antigênico. Os genes  $DM\alpha$  e  $DM\beta$  situam-se especialmente próximos aos genes TAP e LMP do complexo MHC humano.

Finalmente, o complexo peptídeo molécula MHC classe II é transportado para a membrana plasmática, onde o pH neutro possibilita uma ligação estável e compacta, sendo desse modo é apresentado ao linfócito T  $CD4^+$  competente. (JANEWAY et al 2001; KLEIN; SATO, 2000ab; VAN DEN BERG; RAND, 2003; WANDSTRAT; WAKELAND, 2001).

### 3.2.8 Interação peptídeo-MHC

Apesar do número limitado de moléculas do MHC, que cada indivíduo expressa, essas moléculas são capazes de se ligarem a uma enorme variedade de diferentes peptídeos antigênicos e apresentar às células T, permitindo assim ao sistema imunológico responder especificamente a uma grande variedade de estímulos antigênicos.

As moléculas do MHC de classe I se ligam aos peptídeos antigênicos, normalmente produtos da replicação e degradação de vírus e os apresentam às células T citotóxica ( $T_c$ )  $CD8^+$ . Estes peptídeos são derivados de proteínas intracelulares endógenas, digeridas no citosol e são transportados na fenda de uma molécula classe I até a membrana celular. Esse processo é conhecido por via de processamento citosólica ou endógena. A função da célula T  $CD8^+$  é a de matar as células infectadas do hospedeiro.

Os peptídeos ligados às moléculas MHC classe I possuem 8 a 10 resíduos de aminoácidos, chamados “resíduos de ancoramento” e são compatíveis com o tamanho da fenda de ligação peptídica, a qual apresenta ambas as extremidades

fechadas. Assim sendo, a expressão estável de uma molécula completa de classe I nas superfícies celulares requer a presença dos três componentes do heterotrímero, ou seja, de uma cadeia  $\alpha$ , de uma  $\beta_2$ -microglobulina e de um peptídeo antigênico. (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2003).

As moléculas do MHC classe II se ligam aos peptídeos processados pela via endocítica, e são apresentados às células T auxiliares (Th) *helper*, CD4<sup>+</sup>.

Em geral, os peptídeos associados às moléculas MHC classe II apresentam 13 a 18 resíduos de aminoácidos. A fenda de ligação dessas moléculas é aberta em ambas as extremidades, permitindo assim o ancoramento de um resíduo de maior tamanho.

Para impedir que peptídeos de origem endógena se liguem às moléculas MHC classe I, estas se associam previamente a outra proteína de cadeia *invariante* (*Ii*) na fenda de ligação peptídica conferindo assim a especificidade da ligação peptídica – MHC. (JANEWAY et al, 2002).

Desse modo, a expressão estável da molécula completa MHC classe II nas superfícies celulares requer a presença de todos os três componentes do heterotrímero: uma cadeia  $\alpha$  e uma cadeia  $\beta$  da molécula e um peptídeo antigênico ligado a ela. (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2003).

Visto que cada indivíduo possui um número limitado de moléculas HLA nas superfícies de suas células, concluímos assim que uma mesma molécula HLA possa acomodar os diversos tipos de peptídeos. Essa multiplicidade de possibilidades de ligação do HLA aos peptídeos antigênicos é de tal ponto, que não ocorre discriminação entre os peptídeos estranhos derivados de agentes patogênicos daqueles que são do próprio indivíduo. Para melhor entendimento, as principais propriedades das moléculas MHC de classe I e II estão sintetizadas e ilustradas no

quadro 5. (GOLDSBY; KINDT; OSBORNE, 2002).

Propriedades	Classe I	Classe II
<b>Locus genéticos, principais.</b>	HLA-A, -B, -C	DP, DQ, DR,
<b>Estrutura da cadeia</b>	Cadeia $\alpha + \beta_2$ microglobulina	Cadeia $\alpha +$ cadeia $\beta$
<b>Domínios polimórficos</b>	$\alpha_1 + \alpha_2$	$\alpha_1 + \beta_1$
<b>Distribuição celular</b>	Maioria das células nucleadas	APC (macrófagos, células dendríticas), etc.
<b>Natureza da fenda de ligação peptídica</b>	Fechada nas extremidades	Aberta em ambos às extremidades
<b>Tamanho dos peptídeos ligados</b>	8-10 resíduos de aminoácidos	13-18 resíduos de aminoácidos
<b>Processamento dos antígenos</b>	Via citosólica	Via endocítica
<b>Antígenos</b>	Intracelulares (vírus)	Extracelulares (patógenos e toxinas). Patógenos intracelulares nos endossomas
<b>Apresentação do antígeno</b>	Células T CD8 <sup>+</sup>	Células T CD4 <sup>+</sup>

**Quadro 5** Propriedades das moléculas do MHC humano classe I e II.

Fonte: Texto adaptado do Goldsby; Kindt; Osborne. Kuby Imunologia, p.182, 2002.

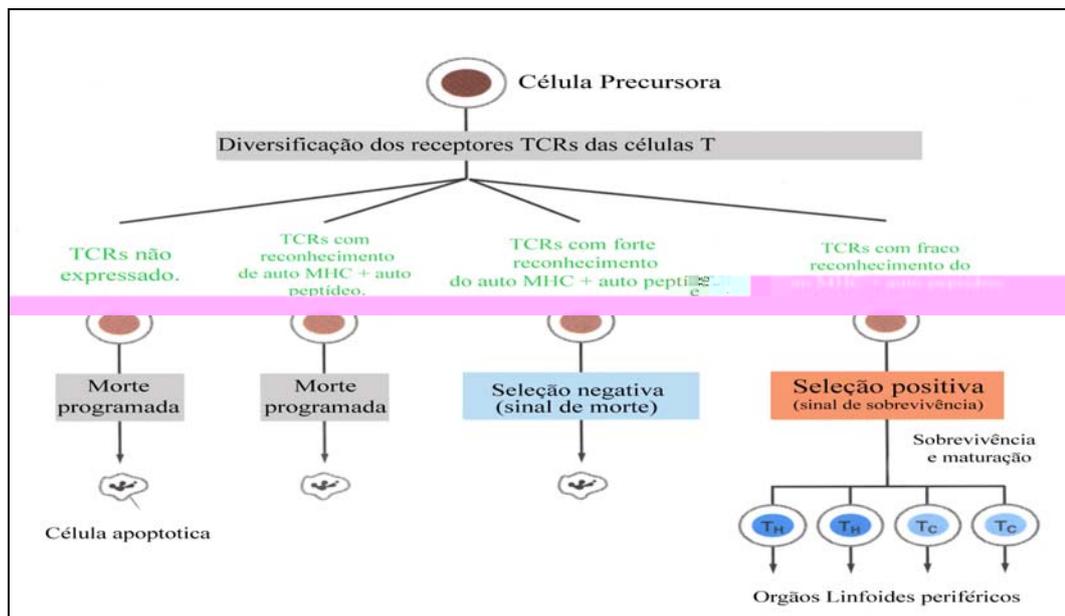
### 3.2.9 Restrição às moléculas MHC

A célula T só apresenta potencial de reconhecimento do peptídeo antigênico compatível ligado ao MHC próprio. Essa restrição resulta de um processo de seleção positiva durante a maturação das células T no timo. Durante o desenvolvimento dos tímocitos, os que apresentam receptores de células T (TCR) com baixa afinidade para os antígenos próprios e moléculas MHC próprias (autopeptídeo-MHC), não são eliminadas na fase de maturação é o que chamamos por “seleção positiva”, resultando em restrição ao MHC (figura 9).

Os tímocitos TCR com alta afinidade para moléculas MHC próprias, isoladas

ou ligadas a peptídeos antigênicos próprios (autoantígenos) são eliminados por apoptose, “seleção clonal negativa”.

A seleção negativa resulta na “autotolerância”, que protege o indivíduo ao desenvolvimento das doenças auto-imunes. (ALBERTS et al, 2002; JANEWAY, 2002). (figura 9).



**Figura 9** Seleção positiva e negativa dos LT no timo.

Fonte: Alberts et al. Molecular Biology of the Cell. p. 1408, 2002. Adaptação da (figura 24. 61).

Trabalhos experimentais demonstraram que 1 a 10% das células T de um indivíduo pode reagir com peptídeo MHC estranho. Essa propriedade de reconhecimento do não próprio, mesmo em indivíduos da mesma espécie, é conhecida como “alorreconhecimento” (reconhecimento de alelos diferentes).

A propriedade de alorreconhecimento da célula T “restrição da célula T”, consiste na especificidade de reconhecer peptídeos ligados ao MHC compatível. Além das possíveis multiplicidades de moléculas MHC, existe também uma grande variedade de combinações peptídicas ao domínio MHC. (SHEVACH, 2000).

### 3.2.10 Polimorfismo e Poligenia das moléculas MHC

A diversidade das moléculas MHC em uma espécie dá origem ao polimorfismo, conferido pela presença de múltiplos alelos em um determinado locus gênico peculiar a cada indivíduo de uma espécie, sendo desse modo o MHC o complexo genético mais polimórfico conhecido nos vertebrados superiores. Recentes análises de biologia molecular em HLA humano com técnicas de PCR de alta resolução mostram uma enorme possibilidade de alelos em cada *locus* e que essa expressão alélica é bastante variável, de tal modo que, por exemplo, a cadeia  $\beta$  do HLA-DR apresenta cerca de 323 diferentes alelos, em contraste com a cadeia  $\alpha$  do HLA-DR, praticamente idêntica em todos os indivíduos estudados (quadro 1, 2,3).

Os genes HLA podem variar sua seqüência numa freqüência relativamente alta dentro de uma população, aproximadamente 1%. As recombinações genéticas geram novas combinações alélicas, que aumentam com o decorrer da evolução das descendências. Portanto, é cada vez mais raro indivíduo em populações de descendência heterozigótica apresentar genes de HLA idênticos. (MCDEVITT, 2002).

No caso das moléculas HLA de classe II, como a fenda de ligação é formada pela interação de ambas as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$ , o polimorfismo é muito mais acentuado porque todas as cadeias das estruturas que as compõem moléculas podem apresentar polimorfismo, com exceção da cadeia DR $\alpha$  que, tanto nos humanos como nos camundongos, são chamadas “monomórficas”. (JANEWAY, JR. et al 2002; ROITT; BROSTOF; MALE, 2003). (figura 6 e quadro 3).

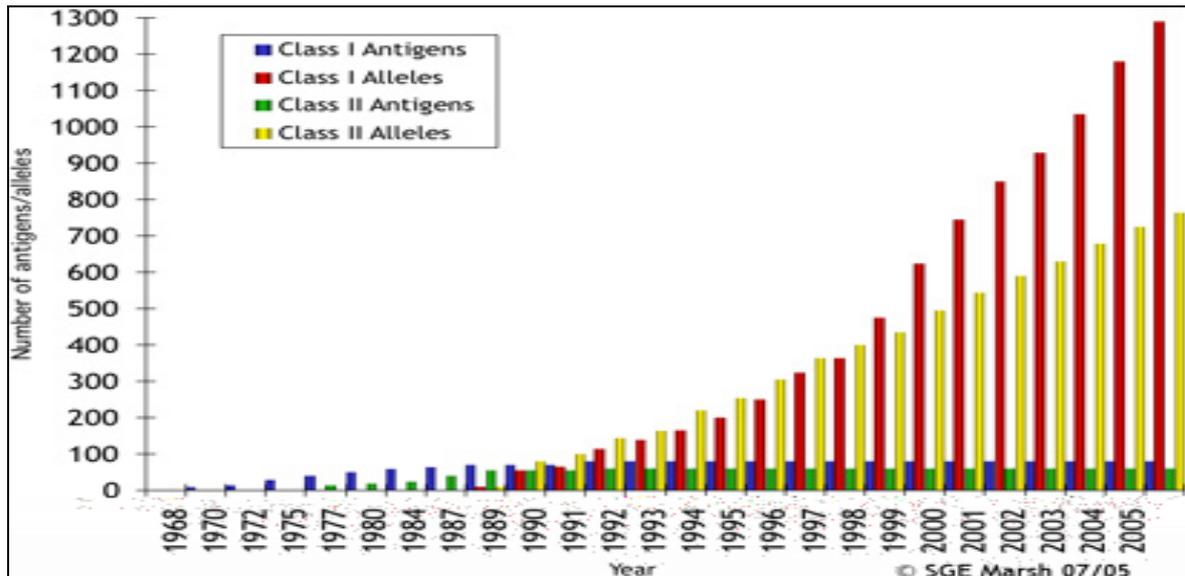
A região onde as moléculas MHC mais apresentam polimorfismo localiza-se exatamente na fenda ligação onde ocorre a ligação MHC ao peptídeo antigênico, ou seja, diferentes moléculas MHC possuem diferentes capacidades para o encaixe de

peptídeos.

A presença do polimorfismo faz reduzir a possibilidade de um antígeno estranho escapar da detecção das moléculas MHC em todos os indivíduos em uma população, o que significa que, em caso de epidemia, sempre haverá sobreviventes. Todavia, esse grande polimorfismo de alelos hoje conhecidos provavelmente está abaixo da provável diversidade mundial dos genes MHC, isto porque os dados mais detalhados, hoje obtidos através das técnicas mais avançadas, foram realizados em grupos populacionais de etnias mais puras. (GOLDSBY; KINDT; OSBORNE, 2002).

Entretanto, o sistema MHC é ainda mais complexo porque a diversidade das moléculas do MHC em um indivíduo é resultante não só do fato de possuir diferentes alelos em cada *locus*, mas também da presença de genes duplicados com funções e estruturas similares, no entanto não idênticos. Portanto, o complexo MHC, é também considerado “poligênico”. (JANEWAY et al 2002).

O Comitê Internacional responsável pela normatização da denominação dos alelos de histocompatibilidade “*WHO - Nomenclature Committee for Factors of the HLA System*”, vem divulgando desde 1968 os novos alelos na literatura especializada. A partir de 1989, com os avanços das técnicas de biologia molecular a divulgação total dos alelos, passou a ser anual. Hoje são conhecidos, 239 de genes no *loci* MHC humano e 2182 seqüências de alelos (MARSH et al, 2005; SCHREUDER et al, 2004; SHIINA et al, 2004). A escala evolutiva de identificação de novos alelos está representada na (figura 10) <http://www.anthonynolan.org.uk/HIG/>



**Figura 10** Representação evolutiva do crescente número de alelos identificados pelos métodos sorológicos e de tipificação molecular.

Fonte: <http://www.anthonynolan.org.uk/HIG/>

### 3.2.11 Complexo peptídeo-MHC e receptores de células T

Diferentemente das células B, que interagem através dos anticorpos com patógenos e seus produtos tóxicos (antigênicos) nos espaços extracelulares, as células T, reconhecem os antígenos internos ou externos processados do meio intracelular que são expostas ao nível da superfície celular junto com o correspondente MHC.

As células T apresentam uma área de alta especificidade denominada receptor de antígenos da célula T (TCR) capaz de fazer o reconhecimento do antígeno específico, combinado à molécula MHC. Esta especificidade de reconhecimento da molécula MHC é conhecida por “restrição ao MHC próprio”.

A molécula responsável pela especificidade do TCR é uma seqüência de aminoácidos heterodímeros ligados à membrana celular e é constituída, em sua grande maioria, pelas cadeias denominadas  $\alpha\beta$  ou  $\gamma\delta$ , unidas por pontes de

dissulfeto, que permitem o reconhecimento de uma ampla variedade de antígenos. O TCR é gerado por quatro conjuntos de genes  $\alpha$  e  $\beta$ , expressos na maioria das células T periféricas e  $\gamma$  e  $\delta$ , expressos em população de células T tímicas e uma pequena população de células T periféricas. A afinidade de ligação de um peptídeo antigênico no complexo TCR-MHC-peptídeo, é o fator determinante da ativação da célula T. Os TCRs estão associados ao nível da membrana das células a um complexo de transdução de sinal denominado CD3 (complexo TCR-CD3).

O TCR, semelhante à molécula MHC, apresenta um segmento proximal de membrana, um segmento transmembrana e uma pequena cauda citoplasmática. O segmento externo contém a porção aminoterminal, e a cadeia  $\alpha$  inclui a região de maior variabilidade de aminoácidos e é responsável pelo reconhecimento do MHC-peptídeo, enquanto que a cadeia  $\beta$  é sempre constante. A diversidade do TCR é significativamente maior do que as dos receptores de células B (BCR).

O segmento transmembrana de ambas as cadeias do TCR contém aminoácidos carregados positivamente, capazes de interagir com as cadeias do complexo CD3, transdutor de sinal. O segmento TCR citoplasmático constitui porção carboxiterminal.

A cauda citoplasmática de cada cadeia CD3 contém uma seqüência de imunotransmissores conhecidos como motivo de ativação imunoreceptor da tirosina (ITAM). O ITAM está envolvido na transdução de sinal após a interação do TCR com um complexo peptídeo-MHC. (ALBERTS et al 2002; JANEWEY et al, 2002).

As células T são ativadas por co-receptores específicos (CD4 e CD8) capazes de efetivar o reconhecimento do peptídeo ligado ao MHC compatível. As células T CD4<sup>+</sup> são conhecidas por células T auxiliares ou ("*helper*"-T<sub>H</sub>) e reconhecem o antígeno que está combinado com o MHC classe II, já as células T

CD8<sup>+</sup>, conhecidas por células T citotóxicas, reconhecem os antígenos combinados com as moléculas MHC de classe I. O CD1 é uma molécula semelhante ao MHC classe I cuja especificidade é a apresentação de antígenos lipídicos e glicolipídicos. A formação do complexo ternário TCR e complexo peptídeo antigênico–MHC são essenciais para a resposta imune. (ROITT, BROSTOFF, MALE, 2003).

Além dos co-receptores CD3, CD4 e CD8, existem ainda outros co-receptores considerados acessórios, tais como: CD2 ou LFA-2 (ligante de CD58), LFA-1 (ligante de CD54), CD28 (ligante de B7), CTLA-4 (ligante de B7), CD45R (ligante de CD22) e CD5 (ligante de CD27) que interagem com os respectivos ligantes e podem também agir na transdução de sinal.

Entretanto, as células T não respondem exclusivamente aos complexos de antígenos peptídicos e molécula MHC, mas ainda, às moléculas MHC estranhas em si (MHC alogênético), determinando a rejeição do enxerto (células T aloreativas). Cerca de apenas 1-10% das células T são capazes de determinar a aloreatividade. Atualmente esta função é explicada pela reatividade cruzada, ou seja, o TCR que normalmente reconhece os peptídeos estranhos ligados ao MHC pode ao reconhecer uma molécula de MHC estranha, determinar a ativação de clone de célula T ativada, responsável pela rejeição do órgão transplantado. (PAUST; CANTOR, 2005; THEOFILOPOULOS, 1995ab; VUKMANOVIC; NEUBERT; SANTORI, 2003).

O grande polimorfismo de alelos HLA e a ampla diversidade de receptores de linfócitos T (TCR) são essenciais para a modulação da resposta imune, concorrendo para aumentar ainda mais a complexidade desta resposta imune. Isto porque as células T capazes de fazer o reconhecimento antígeno específico são em número insuficiente para gerar resposta imune efetiva, desse modo, é necessária à

ativação da produção de clones de linfócitos antígeno específicos “expansão clonal”, diferenciados em “células T efectoras”, capazes de gerar uma resposta imune eficaz. (JANEWEY et al, 2002).

### 3.2.12 Desequilíbrio de Ligação

A grande diversidade do MHC humano conferida pela herança de diversos haplótipos de ambos os progenitores nem sempre é verdadeira. Tal estimativa teórica da diversidade de alelos, na prática, em estudos randomizados, tem sido observada em menor frequência do que a presumível. Isto decorre do fato de que certos alelos podem ser herdados em conjunto em *loci* MHC. Este fenômeno é conhecido por “desequilíbrio de ligação”, ou seja, a frequência estimada para uma determinada combinação alélica numa dada população é menor que a frequência observada nesta população estudada. Por exemplo, a frequência presumível do gene HLA-A1 em um grupo populacional é de 16% dos indivíduos (frequência de 1,6) e o HLA-B8 é de 9% (frequência de 0,9). No entanto os dados demonstraram que na amostra populacional estudada com características étnicas semelhantes, esta combinação de alelos só foi observada em 14% (frequência de 1,4) para o HLA-A1 e de 8% (frequência de 0,8) para o HLA-B8.

As razões para o desequilíbrio de ligação não são ainda totalmente compreendidas. Uma das hipóteses para explicar este fenômeno é que provavelmente as ligações cruzadas ocorrem com maior frequência em determinadas regiões da sequência do DNA, a presença ou a ausência das regiões predispostas para as ligações cruzadas (*hotspots*), entre os alelos pode ditar a frequência da associação dos alelos. Portanto, parece que a distribuição dos alelos não é feita ao acaso. (DUNNING et al, 2000).

Apesar da ocorrência do desequilíbrio de ligação, ainda assim existe um grande polimorfismo das moléculas MHC humano, mesmo em indivíduos pertencentes ao mesmo grupo étnico. (BEGOVICH et al, 1992; KNIPER et al, 2000; PRITCHARD; PRZEWORSKI, 2001; ROBINSON et al, 1989).

### 3.2.13 MHC e susceptibilidade às doenças

As primeiras referências de associação entre HLA e doenças foram as de Amiel em (1967), ao reportar a provável correlação de um gene e a doença de Hodgkin (AMIEL, 1967 apud VAN SAMOREN et al, 1974). A associação da frequência de determinados alelos à maior susceptibilidade a doença é respaldada principalmente pelo grande polimorfismo das moléculas HLA. Atualmente, a associação entre MHC e susceptibilidade genética, tem sido enfatizada principalmente nas doenças auto-imunes e em algumas doenças virais e alérgicas. (MERRINAN; TODD, 1995; NEPOM; ERLICH, 1995; SHIINA et al, 2004).

O estudo da susceptibilidade à doença por meio do MHC é feito pela análise quantitativa dos alelos encontrados na doença analisada.

Dois tipos de estudos têm sido utilizados para abordar associação entre os marcadores de histocompatibilidade com as doenças; o estudo realizado em famílias e o estudo populacional, que é considerado o mais fácil de ser realizado.

Em relação ao estudo populacional, a frequência dos alelos determinada em uma doença é analisada levando em consideração uma população controle semelhante à da doença pesquisada e a frequência previamente estimada destes alelos num grupo etnicamente semelhante. Portanto, a susceptibilidade à doença estudada pode ser quantificada através do cálculo do risco relativo (RR), que expressa o aumento da probabilidade de que o indivíduo que apresenta um dado

alelo valorizado como RR tem em desenvolver a doença em questão, comparado aos indivíduos que não apresentam tal alelo. Normalmente pode ser valorizado um provável indicador estatístico de suscetibilidade quando o RR é maior que 1. Nos casos em que o RR é menor poderá ter até um significado inverso, ou seja, este alelo pode ser valorizado como fator de proteção (PF) ao desenvolvimento da doença.

Quanto maior o risco relativo determinado para um alelo em uma doença, maior é a susceptibilidade genética à doença. Por exemplo, os indivíduos que possuem o HLA-B27 têm uma probabilidade 87 vezes maior (risco relativo de 87) de apresentar espondilite anquilosante, do que os indivíduos com alelos HLA-B diferentes. No entanto, o mecanismo no desenvolvimento da doença é ainda mais complexo e a associação à doença não deve ser interpretada assim tão simplesmente, levando em consideração apenas a frequência de alelos. No caso da espondilite anquilosante, outros fatores, como a estreita associação dos genes  $TNF\alpha$  e  $TNF\beta$  com o gene HLA-B27, são importantes para o surgimento da doença.

Além disso, deve ser levada em conta a prevalência da doença na população, que determina em última análise o “risco absoluto” que o indivíduo apresenta em desenvolver a doença.

Baixos valores do risco relativo, dependendo da frequência do alelo e da afecção na população estudada, podem ser valorizados na estimativa da susceptibilidade de uma determinada doença. Além disso, o achado de múltiplos genes com baixo risco relativo, ao mesmo tempo, pode ser enfatizado na susceptibilidade das doenças devido ao fenômeno de “epistasia”, ou seja, a ocorrência de interferência de genes de *locus* diferentes na expressão fenotípica em uma doença. (JANEWAY et al, 2002; WANDSTRAT; WAKELAND, 2001).

A complexidade com que os alelos conferem susceptibilidade as doenças exige a compreensão de muitos fatores básicos inerentes a esse tema, tais como: (GEBE; SWANSON; KWOK 2002; THEOFILOPOULOS, 1995ab; WICKER, 1997). (Tabela 1 e Quadro 6).

- Existem vários sítios de polimorfismo nas moléculas MHC classe II que podem interagir para formar um sítio que propicia a apresentação do elemento determinante para a doença;
- Múltiplos alelos podem ser determinados no estudo do risco genético a uma determinada doença, o que pode afetar a susceptibilidade e a severidade da mesma;
- Alelos protetores para o desenvolvimento da doença podem ser identificados. (TROWSDALE, 1993);
- O desequilíbrio de ligação aumenta ainda mais a dificuldade na valorização da associação da probabilidade de alelos identificados numa determinada doença;
- Outros *loci* genéticos, localizados ou não no MHC, contribuem com a susceptibilidade à doença e podem modular o impacto da importância dos alelos MHC na mesma;

**Tabela 1** Risco relativo e doenças associadas aos antígenos HLA

<b>Doença</b>	<b>HLA associado</b>	<b>Risco relativo</b>
Espondilite anquilosante	B27	<b>87.4</b>
Uveíte anterior aguda	B27	<b>10</b>
S. de Goodpasture	DR2	<b>15.9</b>
Esclerose múltipla	DR2	<b>4.8</b>
Diabetes Melitus tipo 1	Heterozigoto DR3/DR4	<b>~25</b>
Doença de Graves	DR3	<b>3.7</b>
Tireoidite de Hashimoto	DR5	<b>3.2</b>
Lúpus eritematoso sistêmico	DR3	<b>5.8</b>
Pênfigo vulgar	DR4	<b>14.4</b>
Miastenia Gravis	DR3	<b>2.5</b>
Artrite reumatóide	DR4	<b>4.2</b>

Fonte: Janeway et al, *Imunobiologia*, v.13, p. 531, 2002.

Nota: ~ associação de fato é com o gene HLA-DQ

<b>Doenças autoimunes</b>	<b>Alelo HLA associado</b>
Doença de Adison	DRB1*0404
Hipotireoidismo autoimune	DRB1*0301*0401
Doença celíaca	DQB1*0201, DQB1*0302
Artrite crônica de Lyme	DRB1*4, DRB1*1501
Síndrome de Goodpasture	DRB1*15
Doença de Giave	DRB1*0301
Síndrome insulínica autoimune	DRB1*0406
Diabetes melitus insulino-dependente	DQB1*0302, DQB1*0201
Miastenia Gravis	DRB1*0301
Miastenia Gravis Lambert-Eaton	DRB1*0301, DQB1*0201
Artrite reumatóide pauciarticular juvenil	DRB1*0801, DRB1*11
Pênfigo foliáceo	DRB1*0404, DRB1*14
Pênfigo vulgar	DRB1*0402
Artrite reumatóide em caucasiano	DRB1*0404, DRB1*0101, DRB1*0401
Artrite reumatóide no Japão	DRB1*0405
Escleroderma	DRB1*11
Síndrome de Sjogren	DRB1*03, DQB1*0201
Dermatomiosite juvenil	DQA1*0501
Esclerose múltipla	DRB1*4, DRB1*1501

**Quadro 6** Doenças auto-imunes associadas aos antígenos HLA

Fonte: Gebe et al, Tissue Antigens; v. 59, p. 78-87, 2002.

Em relação às doenças auto-imunes outros fundamentos também contribuem para o surgimento da doença, tais como:

- O fracasso na seleção negativa acarretaria a perda da tolerância imunológica para os antígenos próprios ou *self-antigens*. Desse modo, clones de células T com receptores com alta afinidade para os produtos de peptídeos antigênicos “próprios”-MHC (*self-peptídeo-MHC*), que deveriam ser eliminados no timo (tolerância recessiva) da

origem a produção de células T “autoreativas”, (CAMPBELL; MILNER, 1993; DIAMOND, 2005);

- Reatividade cruzada entre alelos específicos ligados a peptídeos próprios e antígenos estranhos;
- Fatores não genéticos podem precipitar uma doença auto-imune, como por exemplo, os ambientais;
- Muitas doenças auto-imunes não mostram associação específica ou consistente com patógenos exógenos. (THEOFILOPOULOS 1995ab; VULMANOMIC et al, 2003);
- Muitas doenças auto-imunes são multifatoriais, e peptídeos antigênicos não necessariamente agentes infecciosos podem estar envolvidos;
- Alelos associados a doenças auto-imunes podem ser encontrados em indivíduos sadios;
- A associação dos alelos HLA-DR e HLA-DQ com as doenças auto-imunes têm sido mais valorizados, isto porque as moléculas HLA classe II estão envolvidas na seleção e ativação de células T CD4<sup>+</sup>. (ALTMANN; SANSOM; MARSH, 1991; ALTMANN, 1992; SHINDO et al, 1994; SCHREUDER et al, 1999; KINIPPER et al, 2001; GEBE et al, 2002);
- Muitas das doenças auto-imunes são decorrentes de mecanismos que afetam o MHC em decorrência de outros fatores, tais como: os ligados aos genes dos receptores da célula T (TCR), das imunoglobulinas e das citocinas. (THEOFILOPOULOS et al, 1995a);

- A extensa heterogeneidade genética pode propiciar a interação de múltiplos genes de *loci* diferentes, epistasia, afetando a expressão fenotípica no desenvolvimento das doenças. (WANDSTRAT; WAKELAND, 2001);
- Células T reativas a antígenos próprios podem ser encontradas periféricamente mesmo em indivíduos saudáveis sem, contudo, ocorrer à formação de auto-antígenos. (COFFER; BURGERING, 2004);
- As doenças auto-imunes podem ser induzidas pelo sinergismo dos genes acionados pela produção de altos níveis de citocinas pró-inflamatórias no local do envolvimento, em resposta ao estresse traumático;
- As células T auto-reativas CD4<sup>+</sup>, podem ser inibidas por subpopulações de células CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, conhecidas como células T reguladoras da autoreatividade, células *Natural Tregs*. (PAUST; SCHWARTZ, 2005);
- As células T efetoras auto-reativas CD4<sup>+</sup>, também podem sofrer ação supressiva de sua ativação pelas células T CD8<sup>+</sup>. (SARANTOPOLOS; CANTOR, 2004; VON BOEHMER, 2005);
- A identificação do desequilíbrio de ligação no estudo da susceptibilidade nas doenças é essencialmente mais preciso nas doenças monogênicas e extremamente difícil nas multigenéticas.

Em relação à associação MHC e infecção, apesar dos inúmeros trabalhos já desenvolvidos, as associações hoje referidas ainda carecem de maior elucidação

molecular que explique o envolvimento dos diferentes alelos MHC na susceptibilidade ou resistência as doenças infecciosas. Podemos citar, por exemplo, a correlação do alelo HLA-B53 com o aumento da resistência para a forma severa de Malária em Gâmbia, e também a ligação do HLA-B\*35 e a resistência para o herpes vírus tipo 1 (HSV-1). O HLA-B35 e Cw4 foram associados com a rápida progressão para AIDS em contraste com os alelos HLA-B57, B27 e Cw14 que foram relacionados com a proteção para o a doença. Também o HLA DQB1\*0301 e – DRB1\*11 foram associados à resistência para persistência do vírus da hepatite C. (NIKOLICH-ZUGICH et al, 2004). A base para a susceptibilidade genética a agentes infecciosos é potencialmente poligênica. (DORFFMAN; GERMAIN, 2002; HILL, 2001; NIKOLICH-ZUGICH et al, 2004; BELKAID; ROUSE, 2005).

As células T reguladoras CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, Natural *Tregs*, exercem ação significativa na modulação da resposta imune às infecções crônicas. A redução da função ou do número das células reguladoras *Tregs*, leva à eliminação do patógeno no hospedeiro, mas pode acarretar um excessivo dano celular e imunopatologia. Enquanto que o excesso da função ou do número dessas células acarreta inibição da resposta imune efetora com o descontrole da infecção, morte do hospedeiro, reativação da doença, manutenção da infecção e transmissão.

Assim sendo, a proteção do indivíduo depende fundamentalmente do equilíbrio da função reguladora das células *natural Tregs*. O decréscimo da função dessas células decorre do seu bloqueio exercido nas moléculas de interleucinas (IL 10), fator de crescimento tumoral-  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), e receptor de alta afinidade para o co-receptor B7 (CTLA-4), presente em células T. (BELKAID; ROUSE, 2005).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

---

Este estudo clínico e laboratorial, tipo seccional, foi realizado de acordo com as normas do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde do Brasil, diante do exposto à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, obedecendo às atribuições definidas na resolução CNS 196/96. Encaminhado após apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Cassiano Antonio de Moraes (HUCAM) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

### 4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Estudo imunogenético realizado por meio de tipificação de HLA classe I e II, de 30 pacientes negros com Pitíriase rósea.

### 4.2 PARTICIPANTES

O estudo foi constituído por dois grupos totalizando 75 voluntários. Um formado por pacientes com Pitíriase rósea (PR) e o outro grupo de indivíduos saudáveis pertencentes ao grupo controle (PR-C).

#### 4.2.1 Critério de Elegibilidade

Indivíduos negros, com o diagnóstico clínico e histopatológico compatível

com PR em atividade, procedentes do ambulatório dos Serviços de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Espírito Santo (HUCAM / UFES) e da Escola de Medicina da Santa Casa de Misericórdia (EMESCAM) de Vitória.

#### 4.2.2 Critérios de Inclusão

##### 4.2.2.1 *Pacientes*

Participaram do trabalho os pacientes (grupo PR) com quadro típico de PR, na fase aguda da doença, apresentando lesões das duas fases evolutiva da doença, lesão da placa mãe e lesões características do surto eruptivo. Pacientes com a idade entre 18 a 40 anos de idade, de ambos os sexos, de etnia negra e fototipo V e VI segundo a classificação de Fitzpatrick.

Todos os pacientes que participaram do estudo tiveram comprovação histopatológica, de dermatite inflamatória aguda ou subaguda compatível com o diagnóstico de PR.

Foi afastado, através da história pregressa dos pacientes, o uso prévio de medicamentos de uso oral num prazo de 60 dias.

Foram incluídos no estudo apenas os pacientes que não apresentam evidências clínica e laboratorial de imunossupressão. Inserimos ao trabalho apenas os pacientes que não apresentavam doenças, dermatológicas, infecciosas, metabólicas, degenerativas e neoplásicas ou história pregressa e familiar de doenças, auto-ímmunes (lupus eritematoso, esclerodermia, dermatomiosite) e outras doenças de pele de evolução crônica.

#### 4.2.2.2 Grupo controle

O grupo controle (PR-C) foi constituído de 45 pessoas saudáveis de etnia negra, fototipo V e VI (Fitzpatrick), com 18 a 40 anos, de ambos os sexos.

Os indivíduos pertencentes ao grupo controle não apresentavam nenhum parentesco com os pacientes.

Os voluntários não apresentavam evidências clínicas e laboratoriais de imunossupressão, doenças dermatológicas, metabólicas, degenerativas e neoplásicas. Foram selecionadas pessoas que apresentavam alguma aproximação de convivência com os pacientes.

### 4.3 METODOLOGIA

Todos os participantes deste estudo (pacientes grupo PR e controle grupo PR-C) foram submetidos à seguinte rotina:

#### 4.3.1 Entrevista e Exame clínico

- Assinatura do termo de livre e esclarecimento, aprovado pelo Conselho Nacional de Saúde – Resolução 196/96 (anexos 1 e 2);
- Preenchimento do protocolo de Investigação Geral, visando avaliar as características clínicas dos indivíduos, história patológica pregressa e familiar (anexos 3 e 4). Preenchimento do protocolo de etnias do laboratório de HLA-UERJ (anexo 5);

- Exame físico e exame dermatológico para triagem de outras doenças dermatológicas, infecciosas e auto-imunes detectáveis ao exame clínico geral.

#### 4.3.1.1 *Os Indivíduos do grupo de pacientes (PR) foram submetidos ainda:*

- Anamnese clínica detalhada e dirigida à obtenção de informações sobre a doença estudada (anexo 3);
- O exame dermatológico objetivando selecionar para o trabalho os pacientes que apresentavam lesões dermatológicas consideradas típicas da PR, ou seja, ambas as lesões características das duas fases evolutivas, a lesão conhecida por placa mãe e as lesões do surto eruptivo;
- Exame da mucosa oral.

#### 4.3.2 Exames laboratoriais

##### 4.3.2.1 *Biopsia de pele*

Foi realizada nos 30 pacientes com o diagnóstico clínico de PR.

Cada paciente com suspeita clínica de PR foi submetido a uma biopsia de *punch* de 3 mm de diâmetro. As biópsias foram realizadas nas lesões de placa mãe ou nas em lesões do surto eruptivo. O material foi fixado em formalina a 10% embebido em parafina e corado pela hematoxilina eosina (HE) e pela coloração pelo ácido periódico de Schiff (PAS).

Os exames foram realizados no Serviço de Anatomia Patológica da EMESCAM e do HUCAM.

#### 4.3.2.2 Exames de sangue laboratoriais gerais

##### 4.3.2.2.1 Pacientes PR e grupo controle PR-C.

Exames complementares (para triagem de hepatites, AIDS e sífilis) tais como: venereal disease reference laboratory (VDRL), fluorescent treponemal antibody absorption (FTA / ABS), test hepatitis B surface antigen (HbsAg), antibody anti hepatitis C vírus (HCV) e antibody and anti-human immunodeficiency vírus (anti HIV 1 e 2), e hemograma.

##### 4.3.2.2.2 Outros exames de sangue laboratoriais, acrescentados ao grupo de pacientes (PR)

Velocidade de hemossedimentação (VHS), proteína C reativa e antiestreptolisina O.

##### 4.3.2.3 Tipificação do HLA classe I e II

Incluindo ambos os grupos, de pacientes (PR) e grupo controle (PR-C).

Amostras de sangue:

Foram coletados a vácuo 16 ml de sangue de cada indivíduo. O sangue foi distribuído em 4 tubos com EDTA e enviados no mesmo dia para o laboratório de HLA da UERJ, para as tipificações de HLA classe I e II pela técnica PCR-SSP com *kits* de baixa resolução.

###### **a) Extração do DNA**

Os tubos foram centrifugados a 1500 rpm durante 10 minutos, e os concentrados leucocitários obtidos por este método (*buffy coat*), aspirados com auxílio de pipeta *Pasteur* e transferidos para tubo *ependorff* de 1,5ml de

capacidade. O *buffy coat* foi mantido em geladeira por até 24 horas ou congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da extração do DNA.

O DNA genômico foi extraído pelo método de *salting out*, no qual após a lise celular, a precipitação de proteína é feita usando-se cloreto de sódio saturado (NaCl 6M) e para precipitação do DNA, etanol absoluto ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ). A massa do DNA precipitado foi ressuspensa em água esterilizada (sistema milli-Q).

A avaliação da pureza e da concentração de DNA nas amostras foi realizada através de leitura da densidade óptica (DO) em espectrofotômetro, das amostras diluídas a 1:50 ou 1:100 em água milli-Q. A pureza ideal da amostra deve situar-se entre 1,50 – 1,80. É calculada com base na relação entre a concentração de ácidos nucléicos (DO em 260 nm) e de proteínas (DO em 280 nm). A concentração ideal para a realização do teste é de 100ng/ $\mu\text{l}$  (mínima 25 - máximas 200ng/ $\mu\text{l}$ ). É calculada multiplicando-se o valor da concentração de ácidos nucléicos (DO em 260nm) por 1 DO (50) e pelo fator de diluição empregado.

As amostras de DNA podem ser utilizadas imediatamente após o isolamento, e podem ser estocadas à temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  ou inferior, por períodos de tempo prolongados (acima de 1 ano), sem efeitos adversos nos resultados.

### **b) Tipificação HLA**

A tipagem HLA a partir do DNA genômico foi realizada pela técnica de PCR-SSP (*Polymerase Chain Reaction with Sequence-specific Primers*) utilizando o sistema *Micro-SSP HLA DNA typing* (One Lambda, Inc. - CA - USA), o qual permite a discriminação entre os diferentes alelos ou grupos de alelos de HLA durante o processo de amplificação do DNA. O estudo foi realizado com Kits de baixa resolução. Os seguintes grupos de alelos HLA puderam ser tipificados em ambos os grupos dos pacientes estudados: A\*01, A\*02, A\*03, A\* 11, A\*23, A\*24, A\*25, A\*26,

A\*29, A\*30, A\*31, A\*32, A\*33, A\* 43, A\*66, A\*68, A\*69, A\*74, A\*80, B\*07, B\*08, B\*13, B\*14, B\*1401, B\*15, B\*1504, B\*1517, B\*18, B\*27, B\*35, B\*3505, B\*37, B\*38, B\*39, B\*3906, B\*40, B\*4004, B\*4039, B\*41, B\*4102, B\*44, B\*45, B\*48, B\*4803, B\*49, B\*4901, B\*50, B\*51, B\*52, B\*53, B\*55, B\*57, B\*58, B\*81, B\*82, Cw\*02, Cw\*03, Cw\*04, Cw\*05, Cw\*06, Cw\*07, Cw\*08, Cw\*12, Cw\*14, Cw\*15, Cw\*16, Cw\*17, Cw\*18, DRB1\*01, DRB1\*03, DRB1\*04, DRB1\*07, DRB1\*08, DRB1\*09, DRB1\*10, DRB1\*11, DRB1\*12, DRB1\*13, DR1\*14, DRB1\*15, DRB1\*16, DRB3\*, DRB4\*, DRB5\*, DQB1\*02, DQB1\*03, DQB1\*04, DQB1\*05, DQB1\*06.

### **c) Amplificação do DNA**

A amplificação do DNA refere-se ao processo de se fazerem muitas cópias da seqüência de DNA que se deseja estudar, de modo a torná-la facilmente identificável posteriormente, por uma simples corrida eletroforética, o que requer conhecimento prévio da seqüência do gene pesquisado. Este processo é feito pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), na qual ocorrem sucessivas desnaturações e hibridizações da amostra.

Para que haja a amplificação, são utilizados *primers* (iniciadores) seqüência-específicos (SSP), tampões, Taq DNA polimerase, e nucleotídeos contidos nos *Kits* específicos para o estudo da região HLA, que são adicionados à seqüência que se deseja amplificar (amostra).

Os pares de *primers* são desenhados de modo a permitir um completo pareamento com apenas um alelo ou grupo de alelos HLA. Sob condições de PCR estritamente controladas, os pares de *primers* perfeitamente pareados resultam na amplificação da seqüência-alvo (isto é, resultado positivo), enquanto *primers* não pareados não resultam em amplificação (isto é, resultado negativo).

Cada placa de amplificação comporta amostras de 1 (no caso de HLA classe

l) ou 3 (no caso de HLA classe II) dos indivíduos. Esta é colocada em um termociclador, que é programado para aumentar e diminuir a temperatura em vários ciclos, de acordo com as temperaturas necessárias para as etapas de replicação do DNA.

O processo de amplificação é constituído de 3 etapas básicas: desnaturação (maior temperatura), na qual a fita dupla de DNA é separada em 2 fitas simples; anelamento (menor temperatura), no qual ocorre a hibridização dos *primers* à região promotora do gene que se está pesquisando; e extensão (temperatura intermediária), quando a Taq-polimerase pareia nucleotídeos à fita molde a partir da extremidade do *primer*. Em nosso trabalho, utilizamos 30 ciclos de amplificação segundo o protocolo usado para o termociclador abaixo especificado (protocolo indicado pelo fabricante dos *kits* supracitados), onde os 10 primeiros ciclos, que são apenas de desnaturação e anelamento, visam garantir uma maior eficiência no procedimento (quadro 7). Considerando que a amplificação durante a reação de PCR pode ser afetada por vários fatores (erros de pipetagem, baixa qualidade do DNA, presença de inibidores, etc), o *kit* provê um par de *primers* de controle interno em cada reação de PCR. O par de *primers* do controle interno amplifica uma região conservada do gene da  $\beta$ -globulina humana, que está presente em todas as amostras de DNA e é usado para verificar a integridade da reação de PCR.

N	Número de ciclos	Etapas	Temp. (°C)	Tempo (seg)
1		1	96	130
		2	63	60
9		1	96	10
		2	63	60
20		1	96	10
		2	59	50
		3	72	30
	Término	1	4	

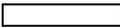
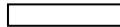
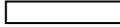
**Quadro 7** Protocolo para termociclador em amplificação dos genes HLA.

#### d) Interpretação dos Resultados

A análise do produto amplificado foi feita por eletroforese em gel de agarose (2,5% em tampão TBE 1X) contendo 0,05mg% de brometo de etídio. A corrida foi feita a 140-150 volts por 3 a 5 minutos. O gel foi transferido para um transiluminador ultravioleta, observado e fotografado.

A interpretação dos resultados do PCR-SSP foi baseada na presença ou ausência de um determinado fragmento de DNA amplificado. Este pode ser facilmente visualizado diretamente no gel e na fotografia, e os resultados finais foram analisados com auxílio de um *software* específico e confirmados visualmente numa tabela própria fornecida pelo fabricante.

Os fragmentos de DNA amplificados a partir de um par de *primers* específico para HLA são menores do que o produto do controle interno, porém maiores do que a banda difusa do *primer* não incorporado. Dessa forma, uma reação positiva para um alelo específico ou um grupo de alelos HLA é visualizada no gel como um fragmento de DNA amplificado entre a banda do produto do controle interno e a banda do *primer* não incorporado (figura 11).

	Reação Positiva	Reação Negativa	Controle Negativo
Slot			
Banda de controle interno			
Banda da tipagem positiva			
Banda do <i>primer</i>			

**Figura 11** Interpretação do gel de eletroforese após amplificação do DNA na tipificação HLA.

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O tamanho da amostragem populacional de ambos os grupos pacientes (PR) e grupo controle (PR-C), foram fundamentados em cálculos estatísticos, com o conhecimento prévio da literatura, empregando-se a regra conhecida como “tamanho do efeito”, esperando encontrar uma diferença entre os grupos de 30%. (JACOB, 1969). A literatura Internacional refere-se à prevalência de PR entre 0,13 a 0,50 % da população mundial estudada. O cálculo da amostra foi definido utilizando a incidência média de 1% para a PR, o que definiu o número de 25 indivíduos para grupo de pacientes (PR) e 33 indivíduos para o grupo controle (PR-C). A análise estatística foi realizada pelo teste de *qui-quadrado* ( $\chi^2$ ) ou pelo teste de *exato de Fisher*. A razão de chance (OR = *odds ratio*) ou risco relativo (RR), o intervalo de confiança de 95% (IC 95%) e o nível de significância estatística (valor *p*) foi calculado para cada grupo alélico determinado, cuja frequência geral (PR + PR-C) era maior ou igual a 5 casos. O critério de determinação de significância foi o nível de 5% e o poder do teste é de 80%. A análise estatística foi processada pelo software estatístico SAS<sup>®</sup> System. Foram consideradas as seguintes suposições

para o cálculo amostral:

A. Nível de significância de 5%.

B. Poder do teste de 80%.

Para o cálculo da frequência dos grupos alélicos de HLA e sua significância relacionada com a predisposição a doença estudada, empregamos o cálculo do risco relativo (fórmula 1).

Fórmula 1 - Cálculo do risco relativo (RR)

$$RR = \frac{\text{Doença}(Ag + / Ag -)}{\text{Controle}(Ag + / Ag -)}$$

Fonte: Goldsby et al, Kuby Imunologia p.193, 2002.

O risco relativo (RR) é calculado dividindo-se a frequência do respectivo grupo alelico HLA na população e pacientes pela frequência deste antígeno na população geral (grupo controle). Empregamos os mesmos fundamentos do teste *qui-quadrado* e o teste exato de *Fischer* para as análises estatísticas comparativas.

- O cálculo do risco relativo (RR), o intervalo de confiança de (IC 95%) e o nível de significância estatística (valor *p*) foram analisados pela frequência dos respectivos grupos alélicos verificada em nossa tipificação HLA classe I e II entre os dois grupos estudados (PR e PR-C);
- O cálculo do risco relativo (RR), o intervalo de confiança de (IC 95%) e o nível de significância estatística (valor *p*) dos grupamentos alélicos classe II, verificados ambos os grupos (PR e PR-C) da nossa população estudada foram comparados estatisticamente, com outra amostragem populacional saudável, de etnia afro-americana (*black*)

procedente dos estados da região sul dos USA divulgados como oficial no site: <http://www.allelefrequencies.net> (KUFFNER *et al*, 2003);

- O mesmo estudo comparativo foi realizado, empregando a frequência dos grupos alélicos HLA-DQ\* de ambos os nossos grupos estudados (PR e PR-C) com a frequência fenotípica em populações brasileiras constituídas por pessoas sadias e divulgadas como oficial no site do governo dos EUA <http://www.allelefrequencies.net>;

- O primeiro foi com a análise da frequência fenotípica de 129 indivíduos sadios de todas as etnias realizadas no estado de São Paulo. (GOLDBERG *et al*, 1998).

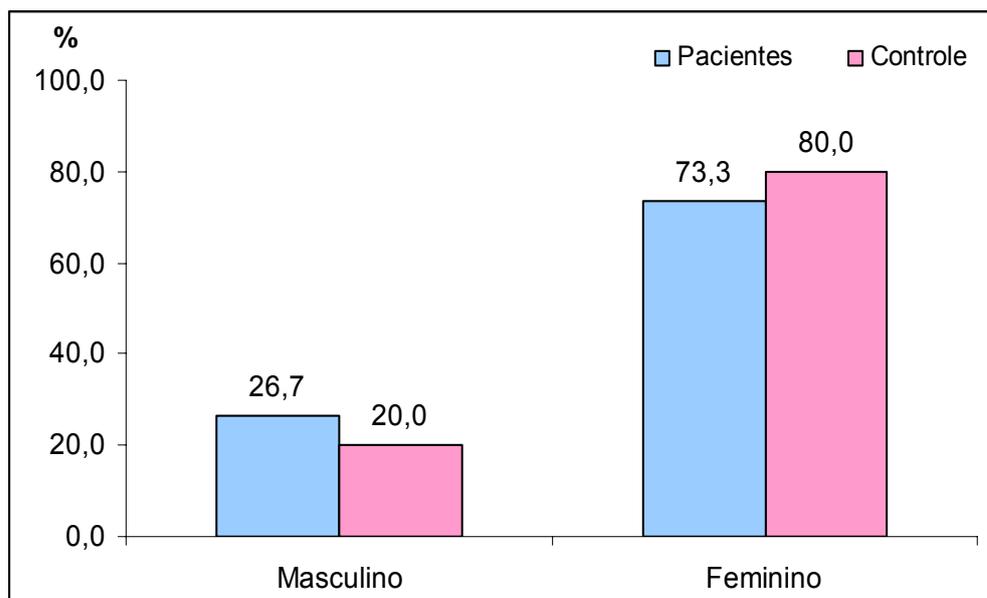
- Outro estudo comparativo foi realizado com uma população sadia, de 42 indivíduos “mulatos” dos estados do sul do país, anunciados como oficiais no mesmo site anterior. (TEMIN *et al*, 2004).

## 5 RESULTADOS

---

### 5.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA

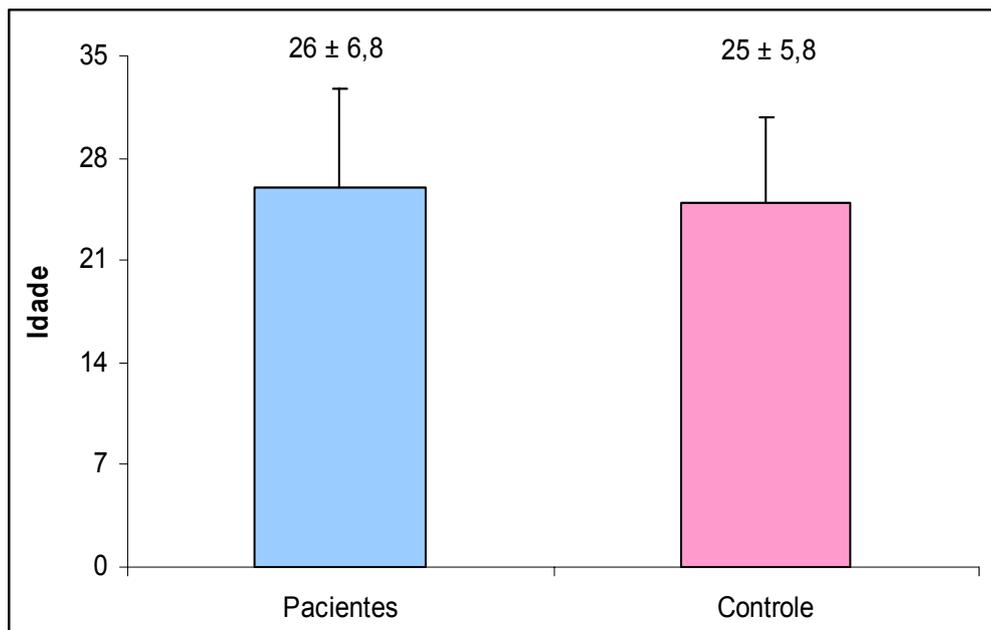
Os grupos de pacientes (PR) e controle (PR-C) foram constituídos por indivíduos de ambos os sexos, com a idade situada entre 18 a 40 anos. Em relação aos sexos, houve significativo predomínio do sexo feminino nos dois grupos, ou seja, em 73% dos pacientes de PR, e 80% do grupo controle (figura 12).



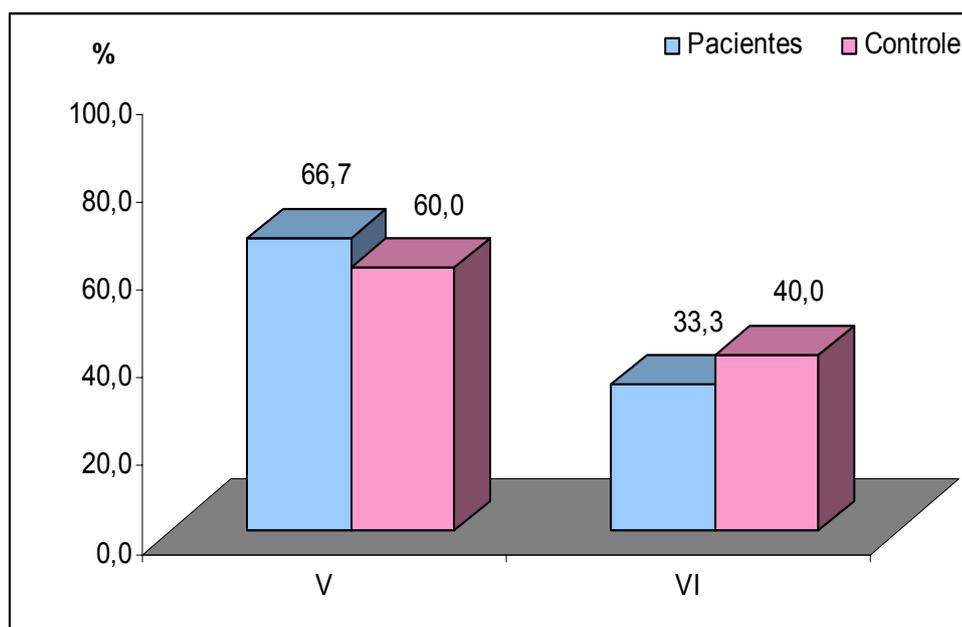
**Figura 12** Distribuição dos grupos segundo sexo.

A idade média no grupo dos pacientes de PR foi de  $26 \pm 6,8$  e a idade média do grupo (PR-C) também foi estatisticamente igual, ou seja, de  $25 \pm 5,8$  (figura 13). Em relação à cor da pele todos os indivíduos foram enquadrados segundo a classificação da cor da pele, e sensibilidade à radiação solar (fototipo), proposta por

Fitzpatrick (ROOK, 1998). No grupo dos pacientes com PR 33,3% de indivíduos foram considerados de fototipo V e 66,7% de fototipo VI. No grupo controle, 40% fototipo V e 60% fototipo VI (figura 14).



**Figura 13** Idade média e desvio padrão dos grupos.



**Figura 14** Classificação quanto ao tipo de pele.

Quanto à etnia, ambos os grupos podem ser considerados de indivíduos de etnia negra. Isto se deve não só aos critérios em relação ao (fototipo), mas também à utilização de critérios respeitando as características fenotípicas comuns à raça negra, como o aspecto do cabelo, nariz e lábios. Além disso, utilizamos o formulário de descendência étnica do Laboratório de HLA /UERJ. Ressaltamos que, em todos os formulários preenchidos, a descendência de origem étnica negra foi referida por eles até a terceira geração (anexo 5).

Todos os componentes de ambos os grupos gozavam de boa saúde e não tinham evidências clínico-laboratoriais de imunossupressão.

Doenças de pele foram afastadas, tanto ao exame clínico como na história médica pregressa e na história familiar. Também todos os voluntários foram não reagentes aos exames: VDRL, FTA / ABS, HbsAg, anti-HCV e anti HIV 1 e 2. O hemograma foi considerado normal em todas as pessoas.

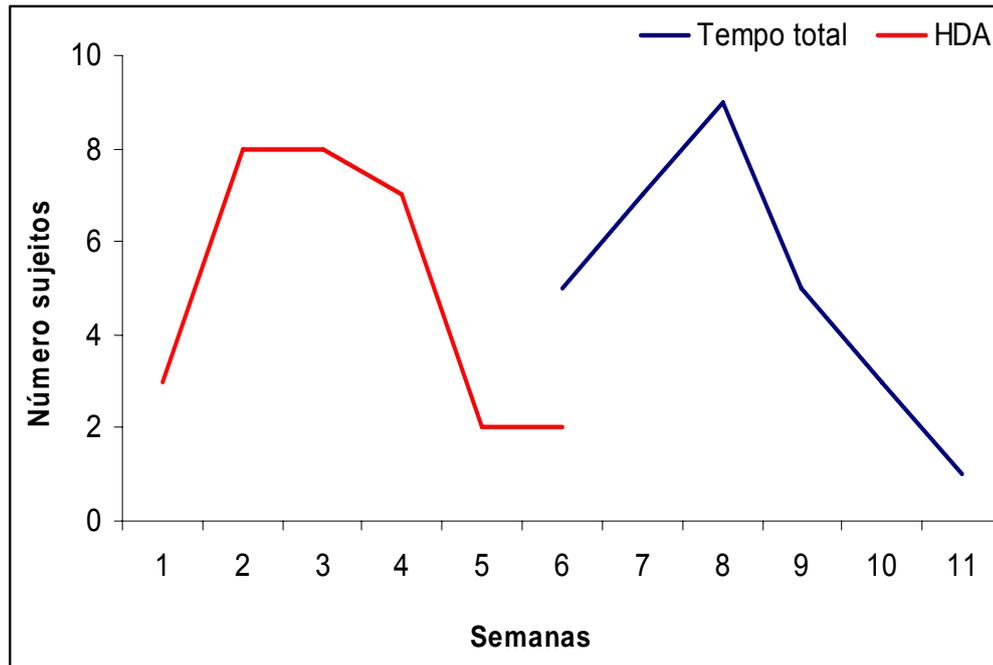
Outras doenças de natureza auto-imune, infecciosa, degenerativa e neoplásica também foram afastadas pelo detalhado exame clínico e questionário a que todos os voluntários foram submetidos (anexos 3 e 4).

## **5.2 CARACTERÍSTICA CLÍNICA DA PR NO GRUPO DOS PACIENTES PR**

Todos os 30 pacientes de PR selecionados apresentavam um quadro clínico considerado típico da PR, ou seja, com a presença concomitante da lesão denominada por placa mãe e das lesões eritemato-papulosas do surto eruptivo. Os dados referentes às observações inerentes ao comportamento da doença e dos pacientes pertencentes ao grupo PR, estão sintetizadas no (quadro 8).

Caso	Idade	Sexo	Fototipo	HDA	Data Diag.	Localização Placa mãe	Tempo Evolução semanas	Recidiva	Doença associada
APS	37	F	V	1	04/02	peitoral	6	-	-
AP	37	F	V	3	07/03	cervical	8	-	-
AAD	34	F	V	2	11/03	coxa	7	-	Asma
APS	20	F	V	1	09/03	dorso	6	-	P. capitis
AMM	19	F	VI	4	07/03	dorso	8	-	-
BSS	18	M	VI	6	04/03	abdome	10	-	-
DM	38	M	VI	3	06/03	dorso	8	-	D.seborreica
DCS	26	M	V	3	04/02	t.anterior	8	-	-
ERT	19	F	V	2	11/03	braço	6	-	-
EJS	21	F	VI	1	07/01	dorso	7	-	-
ERR	26	M	V	4	05/03	cervical	9	-	-
ESA	32	F	VI	2	04/03	coxa	6	-	-
JSD	20	M	V	5	08/03	braço	10	-	P. capitis
KRM	18	M	V	3	06/03	peitoral	7	-	-
MS	27	M	V	2	04/02	dorso	6	-	-
MCR	23	F	V	4	08/01	dorso	9	Sim	-
NPS	35	F	V	4	09/01	braço	8	-	-
MMS	31	F	VI	3	04/03	peitoral	7	-	-
NB	24	F	V	4	07/02	antebraço	11	-	-
NVP	18	F	VI	5	05/03	pubis	10	-	-
NFS	20	F	V	3	04/03	coxa	9	-	-
PSN	31	M	VI	4	04/03	dorso	8	-	D.seborreica

Em relação à história do tempo de aparecimento das lesões anterior à consulta, ou seja, historia da doença atual (HDA) observamos o tempo médio de 3 semanas (figura 15). Quanto ao tempo total de evolução da doença, este variou entre 6 a 11 semanas (tempo médio de  $8 \pm$  semanas) (figura 15).



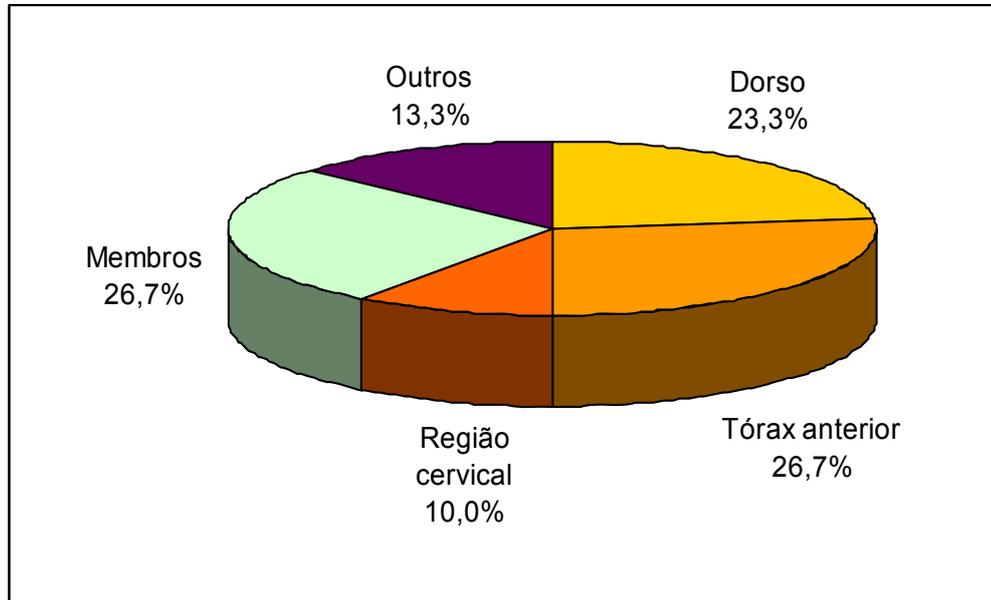
**Figura 15** Tempo de evolução da doença na consulta (HDA) e tempo de evolução total dos pacientes com pitiríase rósea.

A lesão da placa mãe, em todos os casos, foi como lesão única, localizada predominantemente no tórax em 50%, sendo que, desses casos, em 7 a lesão situava-se no dorso, 6 na região peitoral, 2 no tórax anterior e 2 no abdome.

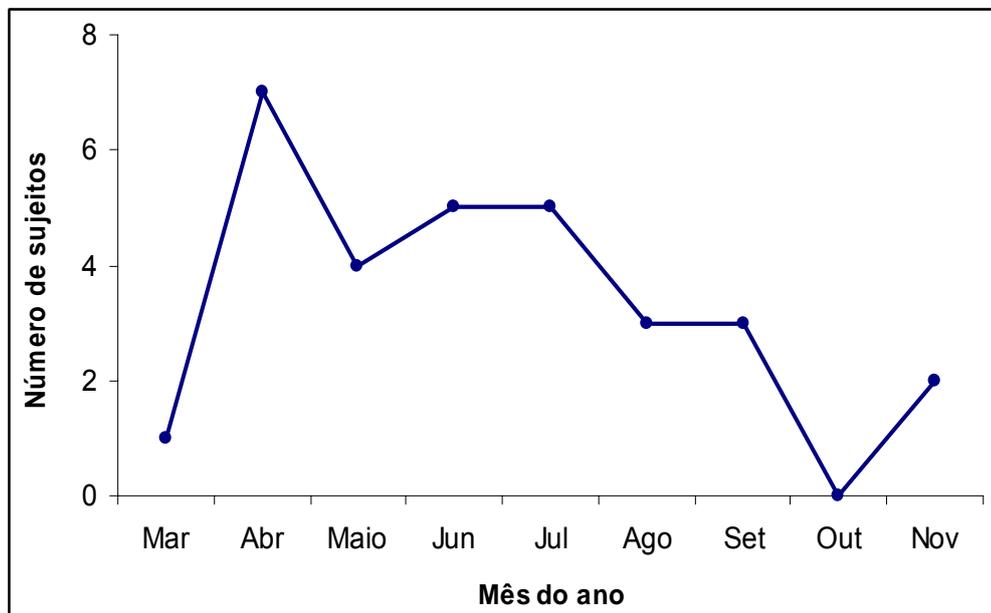
Os casos situados como membros correspondiam-se respectivamente: 4 coxas, 3 braços e 1 antebraço e os outros 13.3% são localizados da região pubiana (figura 16).

Em nossa casuística, constatamos predominância de casos diagnosticados nos meses de maio, junho e julho. Portanto maior incidência nos meses que

correspondem o outono, inverno e primavera (figura 17).



**Figura 16** Local de localização da lesão de placa mãe os pacientes com Pitíriase Rósea.



**Figura 17** Mês de ocorrência dos casos dos pacientes com Pitíriase Rósea.

Em relação a doenças associadas, observamos apenas 2 casos de PR associados com atopia, ou seja: 1 caso com rinite alérgica e outro com asma

brônquica. Dermatite seborreica discreta localizada no couro cabeludo e na face foram notadas em 2 pacientes e 3 indivíduos apresentavam exclusivamente pitíriasis capitis (quadro 8).

O único caso observado ao longo dos 22 meses referentes ao tempo da pesquisa, que apresentou episódio de recorrência em 11 meses após a involução da primeira manifestação da doença apresentou neste período um quadro mais frusto na com evolução total de 4 semanas e ausência da placa mãe. Enquanto que a primeira manifestação da PR, nesta paciente, foi com a presença da placa mãe e a evolução total da doença foi de 9 semanas.

### **5.3 EXAMES COMPLEMENTARES DOS PACIENTES DE PR**

nas lesões do surto eruptivo. Tanto as amostras correspondentes a lesões do surto eruptivo, quanto à das lesões da placa mãe demonstraram, pela análise histopatológica através da coloração pela Hematoxilina Eosina (HE), um quadro de dermatite inflamatória subaguda ou crônica com: paraceratose focal, moderada acantose, discreta espongirose, às vezes exocitose, além de infiltrado inflamatório constituído por mononucleares localizados na derme superior, predominantemente perivascular. Em alguns casos observamos extravasamento de hemácias na derme papilar. A coloração para fungos, pelo ácido periódico de Schiff (PAS) foi negativa em todas as amostras dos casos examinados.

## 5.5 ANÁLISE EXPLORATÓRIA DA TIPIFICAÇÃO HLA CLASSE I E II

As tipificações dos indivíduos estudados foram determinadas pelo método de biologia molecular, PCR-SSP de baixa resolução, que nos permite uma análise exploratória genérica dos principais grupos alélicos classe I e II do sistema HLA. No estão relacionados os alelos determinados dos indivíduos com pitiríase rósea (PR), e no (anexo 7) os alelos HLA dos indivíduos pertencentes ao grupo controle (PR-C) (anexo 8).

A amostragem estudada foi altamente heterozigótica tanto para os 3 *loci* da classe I: *locus* A de 89,3%, *locus* B 97,3% e *locus* C 86,7%, como também para os *loci* HLA classe II: DRB1 de 85,3% e DQB1 de 84,0%. As combinações alélicas mais comuns para a classe I foram: -A\*02-B\*42-Cw\*04 (8%) e -A\*30-B\*42-Cw\*17 (8%) e a, -A\*11-Cw\*04-B\*35-DRB1\*01-DQB1\*05, detectado em 3 (4%) indivíduos.

A análise da freqüência fenotípica dos grupos alélicos com a determinação

do RR, respectivos intervalos de confiança IC 95% e valor  $p$ , em ambos os grupos PR e PR-C, estão sumarizados nas (tabelas 2 a 5).

**Tabela 2** Análise estatística da freqüência fenotípica dos alelos hla-a\*, incluindo risco relativo (RR), intervalo de confiança IC 95% e  $P$ , dos indivíduos afro-brasileiros pertencentes ao grupo de pacientes com pitiríase rósea (PR) e ao grupo controle (PR-C)

HLA	PR <i>n</i> =30	PR <i>n</i> =45	PR % <i>n</i> = 30	PR-C % <i>n</i> = 45	RR	IC 95%		valor $p$
						LS	LI	
<b>A*01</b>	3	3	10,0	6,7	1,56	0,29	- 8,27	0,45
<b>A*02</b>	12	15	40,0	33,3	1,33	0,51	- 3,47	0,55
<b>A*03</b>	3	7	10,0	15,6	0,60	0,14	- 2,54	0,37
<b>A*11</b>	2	3	6,7	6,7	1,00	0,15	- 6,37	0,67
<b>A*23</b>	6	9	20,0	20,0	1,00	0,31	- 3,17	1,0
<b>A*24</b>	4	5	13,3	11,1	1,23	0,30	- 5,01	0,52
<b>A*25</b>	0	1	0,0	2,2	-	-	-	-
<b>A*26</b>	1	3	3,3	6,7	-	-	-	-
<b>A*29</b>	1	4	3,3	8,9	0,35	0,03	- 3,32	0,33
<b>A*30</b>	7	13	23,3	28,9	0,75	0,25	- 2,17	0,59
<b>A*31</b>	1	3	3,3	6,7	-	-	-	-
<b>A*32</b>	2	1	6,7	2,2	-	-	-	-
<b>A*33</b>	5	8	16,7	17,8	0,93	0,27	- 3,15	0,9
<b>A*36</b>	0	2	0,0	4,4	-	-	-	-
<b>A*66</b>	0	1	0,0	2,2	-	-	-	-
<b>A*68</b>	8	6	23,3	13,3	1,98	0,59	- 6,60	0,26
<b>A*74</b>	1	2	3,3	-	-	-	-	-
<i>blank</i>	4	4	13,3	8,9	-	-	-	-

\* Método de determinação: PCR-/SSP-(*One Lambda, Inc-CA-USA*), kits de baixa resolução.

"n" refere-se ao tamanho da amostra da população dos grupos estudados PR e PR-C.

LS = limite superior LI = limite inferior - intervalo de confiança (IC 95%)

**Tabela 3** Análise estatística da freqüência fenotípica dos alelos HLA-B\*, incluindo risco relativo (RR), intervalo de confiança IC 95% e *P*, dos indivíduos afro-brasileiros pertencentes ao grupo de pacientes com pitiríase rósea (PR) e ao grupo controle (PR-C).

HLA	PR n=30	PR-C n=45	PR % n=30	PR-C % n=45	RR	IC 95%		valor <i>p</i>
						LS	LI	
<b>B*07</b>	1	7	3,3	15,6	0,19	0,02	- 1,60	0,093
<b>B*08</b>	1	3	3,3	6,7	-	-	-	-
<b>B*13</b>	1	3	3,3	6,7	-	-	-	-
<b>B*14</b>	4	3	13,3	6,7	2,15	0,44	- 10,40	0,28
<b>B*15</b>	6	12	20,0	26,7	0,69	0,22	- 2,09	0,5
<b>B*18</b>	1	1	3,3	2,2	-	-	-	-
<b>B*27</b>	1	1	3,3	2,2	-	-	-	-
<b>B*35</b>	10	9	26,7	20,0	1,46	0,48	- 4,32	0,49
<b>B*37</b>	0	1	0,0	2,2	-	-	-	-
<b>B*38</b>	0	1	0,0	2,2	-	-	-	-
<b>B*39</b>	1	3	3,3	6,7	-	-	-	-
<b>B*40</b>	3	7	10,0	15,6	0,60	0,14	- 2,54	0,37
<b>B*41</b>	0	3	0,0	6,7	-	-	-	-
<b>B*42</b>	4	3	13,3	6,7	2,15	0,44	- 10,40	0,28
<b>B*44</b>	6	8	20,0	17,8	1,16	0,35	- 3,75	0,8
<b>B*45</b>	0	4	0,0	8,9	-	-	-	-
<b>B*48</b>	1	1	3,3	2,2	-	-	-	-
<b>B*49</b>	1	0	3,3	0,0	-	-	-	-
<b>B*50</b>	1	0	3,3	0,0	-	-	-	-
<b>B*51</b>	6	3	20,0	6,7	3,50	0,80	- 15,28	0,085
<b>B*52</b>	0	1	0,0	2,2	-	-	-	-
<b>B*53</b>	6	3	20,0	6,7	3,50	0,80	- 15,28	0,085
<b>B*55</b>	0	1	0,0	2,2	-	-	-	-
<b>B*57</b>	2	4	6,7	8,9	0,73	0,12	- 4,27	0,54
<b>B*58</b>	3	3	10,0	6,7	1,56	0,29	- 8,27	0,45
<b>B*81</b>	0	2	0,0	4,4	-	-	-	-
<b>B*82</b>	0	1	0,0	2,2	-	-	-	-
<i>blank</i>	0,0	2	0,0	4,4	-	-	-	-

"n" refere-se ao tamanho da amostra da população dos grupos estudados PR e PR-C.

\* Método de determinação: PCR-/SSP-(*One Lambda, Inc-CA-USA*), kits de baixa resolução.

LS = limite superior LI = limite inferior - intervalo de confiança (IC 95%)

**Tabela 4** Análise estatística da freqüência fenotípica dos alelos HLA-CW\*, incluindo risco relativo (RR) intervalo de confiança IC 95% e *P*, dos indivíduos afro-brasileiros pertencentes ao grupo de pacientes com pitiríase rósea (PR) e ao grupo controle (PR-C).

HLA	PR <i>n</i> =30	PR-C <i>n</i> =45	PR % <i>n</i> = 30	PR-C % <i>n</i> = 45	RR	IC 95%		valor <i>p</i>
						LS	LI	
<b>Cw*02</b>	5	6	16,7	13,3	1,30	0,35	- 4,71	0,68
<b>Cw*03</b>	7	13	23,3	28,9	0,75	0,25	- 2,17	0,59
<b>Cw*04</b>	14	16	46,7	35,6	1,59	0,61	- 4,06	0,33
<b>Cw*05</b>	1	3	3,3	6,7	-	-	- -	-
<b>Cw*06</b>	5	8	16,7	17,8	0,93	0,27	- 3,15	0,9
<b>Cw*07</b>	9	11	30,0	24,4	1,32	0,47	- 3,73	0,59
<b>Cw*08</b>	4	6	13,3	13,3	1,00	0,25	3,89	0,62
<b>Cw*12</b>	0	3	0	6,7	-	-	- -	-
<b>Cw*14</b>	2	1	6,7	2,2	-	-	- -	-
<b>Cw*15</b>	2	7	6,7	15,6	0,39	0,07	- 2,01	0,21
<b>Cw*16</b>	4	4	13,3	8,9	1,58	0,36	6,86	0,4
<b>Cw*17</b>	3	4	10,0	8,9	1,14	0,23	5,49	0,58
<b>Cw*18</b>	0	2	0	4,4	-	-	- -	-
<i>Blank</i>	4	6	13,3	13,3	-	-	- -	-

\* Método de determinação: PCR-ISSP-(*One Lambda, Inc-CA-USA*), kits de baixa resolução.

"n" refere-se ao tamanho da amostra da população dos grupos estudados PR e PR-C.

LS = limite superior LI = limite inferior - intervalo de confiança (IC 95%)

**Tabela 5** Análise estatística da frequência fenotípica dos alelos classe II incluindo, risco relativo (RR) intervalo de confiança IC 95% e *P*, dos indivíduos afro-brasileiros pertencentes ao grupo de pacientes com pitiríase rósea (PR) e ao grupo controle (PR-C).

HLA	PR n=30	PR-C n=45	PR % n=30	PR-C % n=45	RR	IC 95%		valor <i>p</i>
						LI	LS	
<b>DRB1*01</b>	10	9	33,3	20,0	2,00	0,69	- 5,73	0,19
<b>DRB1*03</b>	7	8	23,3	17,8	1,41	0,45	- 4,40	0,55
<b>DRB1*04</b>	7	10	23,3	22,2	1,07	0,35	- 3,20	0,91
<b>DRB1*07</b>	7	9	23,3	20,0	1,22	0,39	- 3,72	0,73
<b>DRB1*08</b>	3	6	10,0	13,3	0,72	0,16	- 3,14	0,47
<b>DRB1*09</b>	1	1	3,3	2,2	-	-	- -	-
<b>DRB1*10</b>	1	1	3,3	2,2	-	-	- -	-
<b>DRB1*11</b>	6	15	20,0	33,3	0,50	0,16	- 1,48	0,2
<b>DRB1*12</b>	2	2	6,7	4,4			-	-
<b>DRB1*13</b>	5	11	16,7	24,4	0,62	0,19	- 2,00	0,42
<b>DRB1*14</b>	3	2	10,0	4,4	2,39	0,37	- 15,23	0,31
<b>DRB1*15</b>	3	7	10,0	15,6	0,60	0,14	- 2,54	0,37
<b>DRB1*16</b>	1	2	3,3	4,4	-	-	- -	-
Blank	4	7	-	-	-	-	- -	-

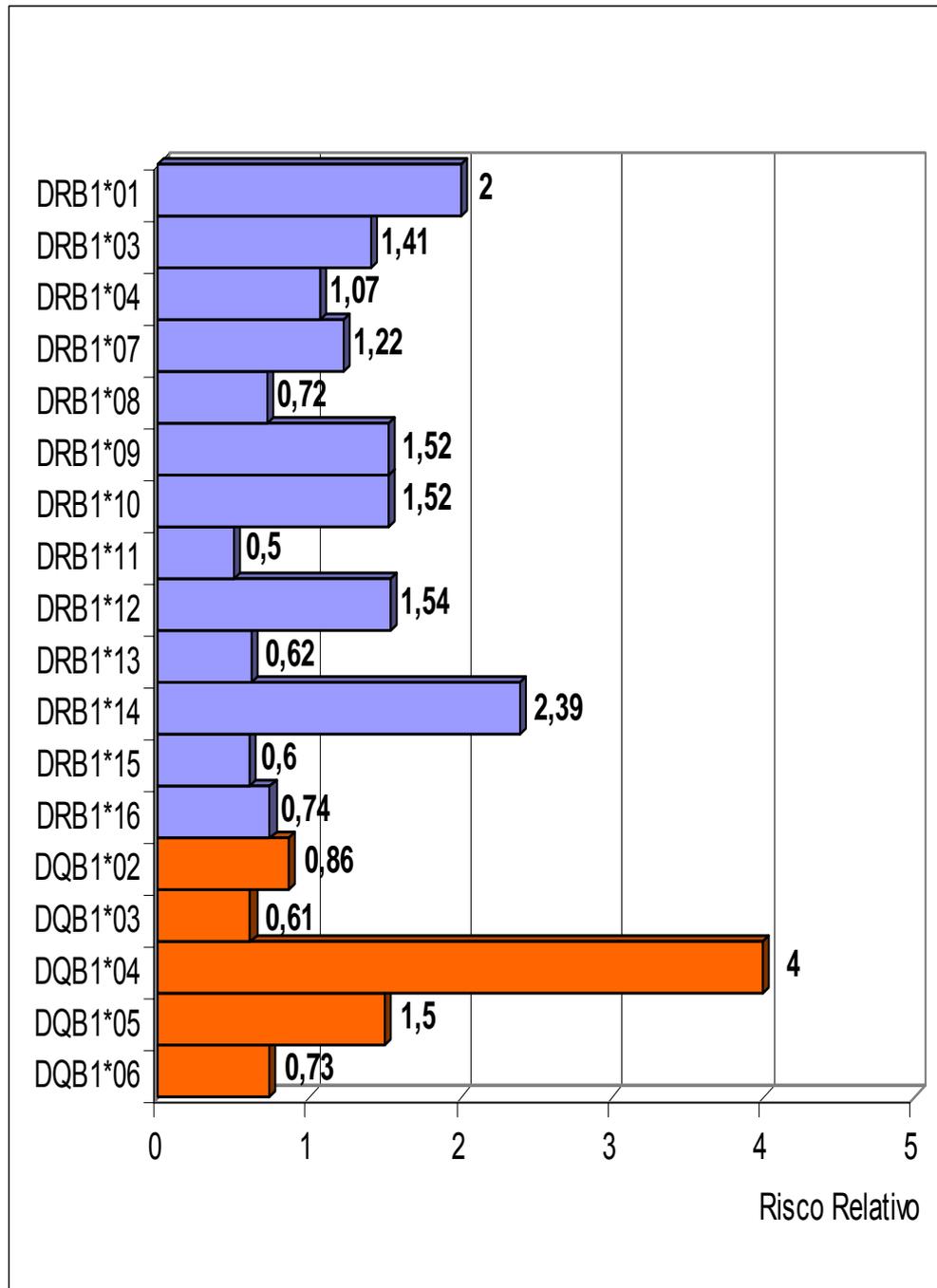
HLA	PR n=30	PR-C n=45	PR % n=30	PR-C % n=45	RR	IC 95%		valor <i>p</i>
						LS	LI	
<b>DQB1*02</b>	9	15	30,0	33,3	0.86	0.31	2,32	0,76
<b>DQB1*03</b>	15	28	50,0	60,0	0,67	0,26	1,69	0,39
<b>DQB1*04</b>	<b>10</b>	<b>5</b>	<b>33,3</b>	<b>11,1</b>	<b>4,00</b>	<b>1,20</b>	<b>13,28</b>	<b>0,018</b>
<b>DQB1*05</b>	15	18	50,0	40,0	1,50	0,59	3,80	0,39
<b>DQB1*06</b>	8	15	26,7	33,3	0,73	0,26	2,01	0,54
<i>Blank</i>	3	9	10,0	20,0	-	-	- -	-

\* Método de determinação: PCR-/SSP-*One Lambda, Inc-CA-USA*, kits de baixa resolução.  
 “n” refere-se ao tamanho da amostra da população dos grupos estudados PR e PR-C.  
 LS = limite superior LI = limite inferior - intervalo de confiança (IC 95%).

Verificamos que os grupamentos alélicos classe II, DQB1\*04 estavam presentes em 10 dos 30 pacientes de PR e somente em 5 dos indivíduos do grupo controle. O risco relativo (RR) foi de 4,00, intervalo de confiança IC 95% 1,20 -13,28, valor  $p$  0,018 (tabela 5) e (figura 18). Em relação aos grupos de alelos classe I, o grupo B\*51 foi determinado em 6 pacientes de PR e em 3 dos 45 voluntários pertencentes ao grupo controle. O grupo B\*53 também foi observado em 6 dos pacientes de PR e em 3 indivíduos do grupo controle. O RR de ambos os grupos alélicos B\*51 e B\*53 foram: RR 3,50, IC 95% 0,80-15,28, valor  $p$  0,085 (tabela 3).

Evidenciamos que ambas as combinações alélicas (-B\*51-DQB1\*04) e (-B\*53-DQB1\*04) aparecem juntas, 6 vezes no grupo dos pacientes com PR e em nenhum voluntário pertencente ao grupo controle (PR-C). O único caso que apresentou episódio de recidiva de PR apresentou o seguinte fenótipo: -A\*02-A\*68 - B\*15-B\*51-Cw\*03-Cw\*14-DRB1\*08-DQB1\*04 (anexos 7 e 8).

O grupo alélico B\*07 demonstrou significativo percentual nos indivíduos do grupo controle, ou seja, esteve presente em 7 (15,6%) dos 45 sujeitos do grupo PR-C, e em apenas 1 (3,3%) dos 30 indivíduos do grupo PR sendo o RR de 0,19, IC 95% 0,02-1,60 valor  $p$  0,093 (tabela 3).



**Figura 18** Esquema gráfico ressaltando o (RR 4,00),  $p$  0,018 dos alelos HLA-DQ\*04 nos grupos (PR e PR-C) com os outros alelos classe II.

Os cálculos visando observar a diferença na proporção da frequência fenotípica entre os alelos da classe II dos grupos PR e PR-C em relação à da população afro-americana dos Estados do Sul dos Estados Unidos (USA)

constatarem para os alelos DQB1\*04 diferença significativa entre o grupo de pacientes (PR *versus* Black<sup>a</sup> USA), IC 95% 2,06 -15,86 valor  $p$  0,001 (tabela 6). Esta tabela ainda destaca que as frequências fenotípicas da população, do nosso grupo controle (PR-C *versus* Black<sup>a</sup> USA) são estatisticamente semelhantes na maioria dos grupos alélicos classe II com a amostra Black<sup>a</sup> USA, com exceção para os alelos: DRB1\*04, DRB1\* 09 e DQB1\* 03 que estão destacados em negrito (tabela 6).

O estudo comparativo da frequência HLA-DQ\* dos grupos *deste estudo* (PR-PR-C) e a população envolvendo 129 indivíduos de todas as etnias do estado de São Paulo verificaram significância estatística similar dos alelos DQB1\*04, (PR *versus* SP), IC 95% 1,72 – 11,55,  $p$  0,002.

Ainda um resultado análogo conferido aos alelos DQB1\*04 foi constatado, utilizando-se outra população considerada “mulata”, constituída por 42 indivíduos dos estados do sul do país, DQB1\*04 (PR *versus* Sul) IC 95% 1,32 – 17,07,  $p$  0,012 (tabela 7). Essa tabela realça a semelhança estatística da frequência fenotípica dos grupos alélicos DQ do grupo controle PR-C e a população São Paulo (PR-C *versus* SP). No entanto, em relação com a população dos estados da região sul do Brasil e a do grupo controle (PR-C *versus* Sul), verificamos similaridade estatística na frequência fenotípica apenas para os alelos DQB1\*04 e DQB1\*02, existindo diferença significativa em relação aos demais grupos alélicos destacados em negrito na (tabela 7).

**Tabela 6** Análise comparativa da freqüência fenotípica dos alelos da classe II entre os grupos: pitiríase rósea (PR) e grupo controle (PR-C) com a população afro-americana *Southeast USA*.

HLA	PR % n=30	PR-C % n=45	<i>Black</i> <sup>a</sup> % n=112	IC 95 % PR x <i>Black</i> <sup>a</sup>		valor p PR- <i>Black</i> <sup>a</sup>	IC 95 % PR-C x <i>Black</i> <sup>a</sup>		valor p PR-C x <i>Black</i> <sup>a</sup>
				LS	LI		LS	LI	
<b>DRB1*01</b>	33,3	20,0	8,9	1,87	- 13,85	0,001	0,96	- 6,77	0,054
<b>DRB1*03</b>	23,3	17,8	24,1	0,37	- 2,47	0,93	0,28	- 1,63	0,38
<b>DRB1*04</b>	23,3	22,2	8,9	1,06	- 9,02	0,038	1,12	- 7,58	<b>0,024</b>
<b>DRB1*07</b>	23,3	20,0	15,2	0,63	- 4,58	0,29	0,57	- 3,41	0,46
<b>DRB1*08</b>	10,0	13,3	10,7	0,24	- 3,51	0,6	0,45	- 3,65	0,64
<b>DRB1*09</b>	3,3	2,2	12,5	0,03	- 1,91	0,12	0,02	- 1,24	<b>0,037</b>
<b>DRB1*10</b>	3,3	2,2	4,5	-	-	-	-	-	-
<b>DRB1*11</b>	20,0	33,3	24,1	0,29	- 2,12	0,63	0,73	- 3,35	0,23
<b>DRB1*12</b>	6,7	4,4	9,8	0,13	- 3,13	0,45	0,09	- 2,00	0,22
<b>DRB1*13</b>	16,7	24,4	36,6	0,12	- 0,97	0,038	0,25	- 1,22	0,14
<b>DRB1*14</b>	10,0	4,4	1,8	-	-	-	-	-	-
<b>DRB1*15</b>	10,0	15,6	23,2	0,10	- 1,31	0,11	0,24	- 1,52	0,28
<b>DRB1*16</b>	33	4,4	5,4	-	-	-	-	-	-

HLA	PR % n=30	PR-C % n=45	<i>Black</i> <sup>a</sup> % n=112	95 % CI PR x <i>Black</i> <sup>a</sup>		valor p PR- <i>Black</i> <sup>a</sup>	CI 95% PR-C x <i>Black</i> <sup>a</sup>		valor p PR-C <i>Black</i> <sup>a</sup>
				LS	LI		LS	LI	
<b>DQB1*02</b>	30,0	33,3	37,5	0,29	- 1,70	0,44	0,40	- 1,72	0,62
<b>DQB1*03</b>	50,0	60,0	40,2	0,66	- 3,34	0,33	1,10	- 4,52	<b>0,024</b>
<b>DQB1*04</b>	<b>33,3</b>	<b>11,1</b>	<b>8,0</b>	<b>2,06</b>	<b>- 15,86</b>	<b>0,001</b>	0,45	- 4,53	0,36
<b>DQB1*05</b>	50,0	40,0	37,5	0,74	- 3,75	0,21	0,54	- 2,25	0,77
<b>DQB1*06</b>	26,7	33,3	37,5	0,24	- 1,48	0,27	0,40	- 1,72	0,62

Método: PCR-/SSP-One Lambda, Inc.-CA-USA, kits de baixa resolução.

"n" tamanho da amostra da população estudada

*Black*<sup>a</sup>: população *Afro- American Southeast USA*

Fonte: KUFFNER *et al*, *Hum Immunol*, v. 64(6), p. 639-47, 2003

**Tabela 7** Análise estatística comparativa entre a frequência fenotípica dos alelos DQ\* dos grupos (PR) e PR-C com as populações do estado de São Paulo e também com a população “mulata” dos estados do sul do Brasil.

HLA	PR % n=30	PR- C% n=45	SP <sup>a</sup> % n=129	IC 95 % PR x *SP <sup>a</sup>		valor p PR x SP <sup>a</sup>	IC 95% PR-C x SP <sup>a</sup>		valor p PR-C x SP <sup>a</sup>
				LS	LI		LS	LI	
<b>DQB1*02</b>	30,0	33,3	45,0	0,22	1,23	0,13	0,30	1,24	0,17
<b>DQB1*03</b>	50,0	60,0	53,5	0,39	1,92	0,73	0,65	2,59	0,44
<b>DQB1*04</b>	<b>33,3</b>	<b>11,1</b>	<b>10,1</b>	<b>1,72</b>	<b>11,55</b>	<b>0,002</b>	0,37	3,32	0,52
<b>DQB1*05</b>	50,0	40,0	38,8	0,71	3,51	0,25	0,52	2,10	0,88
<b>DQB1*06</b>	26,7	33,3	47,3	0,16	0,97	0,04	0,27	1,13	0,10

HLA	PR % n=30	PR- C% n=45	Sul <sup>b</sup> % n=42	IC 95 % PR x Sul <sup>b</sup>		valor p PR x Sul <sup>b</sup>	IC 95% PR-C x Sul <sup>b</sup>		valor p PR-C x Sul <sup>b</sup>
				LS	LI		LS	LI	
<b>DQB1*02</b>	30,0	33,3	21,4	0,53	4,59	0,40	0,70	4,80	0,21
<b>DQB1*03</b>	50,0	60,0	33,3	0,76	5,22	0,15	1,24	7,20	<b>0,013</b>
<b>DQB1*04</b>	<b>33,3</b>	<b>11,1</b>	<b>9,5</b>	<b>1,32</b>	<b>17,07</b>	<b>0,012</b>	0,29	4,75	0,54
<b>DQB1*05</b>	50,0	40,0	14,3	1,95	18,42	0,001	1,40	11,43	<b>0,007</b>
<b>DQB1*06</b>	26,7	33,3	-	-	-	-	-	-	-

Método de determinação: PCR-/SSP-One Lambda, Inc-CA-USA, kits de baixa resolução.

“n”: tamanho da população estudada.

LS = limite superior LI = limite inferior - intervalo de confiança (IC 95 %).

SP<sup>a</sup>: referente à população ao estado de São Paulo sem distinção racial.

Fonte: Goldberg *et al*, *Genet. Mol. Biol.* V.21, n. 3, p. 1-12, 1998.

Sul<sup>b</sup>: referente à população “mulata” dos estados do sul do Brasil.

X\*:referente à *versus*

Fonte: Temin *et al*, *Hum Immunol* v. 65, p. 882-885, 2004.

## 6 DISCUSSÃO

---

A Pitiríase rósea, apesar de ser considerada uma doença de pele de incidência relativamente comum, correspondendo em cerca de 2% das afecções dermatológicas, e do exaustivo empenho da comunidade científica na busca do seu esclarecimento, sua etiologia permanece ainda desconhecida. (CHUH; CHAN; ZAWAR, 2004).

Alguns aspectos epidemiológicos e clínicos, como a incidência sazonal, remissão espontânea e a ocasional presença de sintomas prodrômicos, poucos casos de recidiva, suportam a origem viral da PR. (KEMPF; BURG, 2000; PARSONS, 1986). No entanto, a PR não pode ser admitida como uma doença, infecto-contagiosa, pois são poucos os relatos na literatura de casos em comunidades consideradas fechadas. (MESSENGER et al, 1982; MILLER, 1941; TRAORE et al, 2001). Em nosso estudo também não houve referência de nenhum caso suspeito de PR na história tanto nos indivíduos do grupo de pacientes como nos pertencentes ao grupo controle.

Estudos buscando associação entre PR e os diferentes vírus tais como: picornavirus. (ARACTING et al, 1996), parvovirus, togavirus, vírus influenza (CHUH, 2003; HUDSON; ADELMAN; LEVIS, 1981), HHV-7, HHV-6, (CHUH; CHIU; PEIRIS, 2001; DRAGO et al, 1997ab; KEMPF et. al, 1999; WATANABE et al, 2002; WONG et al, 2001), CMV e EBV (BONAFÉ et al, 1982; CHUH, 2003b) demonstraram resultados bastante contraditórios, dando margem a continuidade das pesquisas.

A hipótese infecciosa de origem bacteriana é sustentada pela verificação da ocorrência de indícios de infecção do trato respiratório precedendo alguns casos de

PR.

Entretanto, recentes trabalhos não constataram evidências de associação entre a PR e a infecção por Clamídia, Legionela e Micoplasma. (CHUH; CHAN, 2002). Ainda a resposta terapêutica favorável ao uso da eritromicina oral, que poderia ser vista como outro dado a favor desta origem pode ser interpretado como resultante do efeito antiinflamatório e imunomodulador da droga. (LABRO, 1998; SHARMA et al, 2000).

Conseqüentemente, a possível origem infecciosa, bacteriana ou viral mesmo considerada por muitos autores como a mais plausível, necessita de maior investigação, visto que ainda não temos a confirmação do seu agente causal.

Os primeiros autores a referir a PR como uma doença auto-imune induzida por antígenos infecciosos ou não infecciosos (drogas) ou endógenos, em (neoplasias), foram Burch e Rowell (1970). Eles, ao instituírem esta hipótese, mencionaram a provável susceptibilidade genética, ou seja, que a doença acometeria indivíduos geneticamente predispostos. (BURCH; ROWELL, 1970).

A constatação da presença de antígenos leucocitários humanos HLA-DR no tecido lesional de (PR) situado principalmente na superfície dos ceratinócitos e adjacentes a células de Langerhans. (AIBA; TAGAMI, 1985), foi o primeiro indício da participação do linfócito T na patogenia da doença. Também a não confirmação da ocorrência de pequena elevação de células B no sangue circulante desviou de certa forma a maior participação das células B na patogenia da doença. (KERMANI-ARAB; ROBERTS; LESLIE, 1978).

Os autores simpatizantes a esta proposição também se fundamentaram em outras evidências tais como: a não comprovação do agente etiológico, existência de poucos casos ocorridos em comunidades fechadas e na citação de PR em pacientes

com neoplasias e de casos provocados por medicamentos.

Em acréscimo a favor desta proposição existe ainda relato de PR em associação com doença de Behcet. (DUROSOY; ALPSOY; YILMAZ, 1999) e ainda a atual menção de maior positividade de anticorpos antinucleares (ANA) em pacientes com PR (CHUH, 2003a).

Esta hipótese levantada por BURCH; ROWELL (1970), porque se respalda principalmente na provável origem multifatorial para a PR, não contradiz a provável origem infecciosa para a doença. Entretanto, apesar deste conceito estar atualmente recebendo crescente apoio da comunidade científica, que questiona a única origem infecciosa para a doença, esta hipótese ainda necessita de maior respaldo científico.

Motivados por esta suposição, mas com o foco na possível predisposição genética do indivíduo em desenvolver a doença, nós buscamos, através da determinação dos HLA classe I e II em pacientes com PR de etnia afro-brasileira, verificar nesta população estudada dados que pudessem indicar a ocorrência deste fator de susceptibilidade genética para a doença.

Escolhemos para este estudo indivíduos de etnia negra, mesmo sendo uma população em menor número na região sudeste, que é constituída predominantemente por pardos e brancos, pelo fato de acreditarmos ser a amostragem populacional que nos daria uma maior chance de fidedignidade e homogeneidade em ambos os grupos. Isto porque são restritos os grupos populacionais em nossa região de ascendência hereditária mais homogênea.

Apesar de não ser o objetivo principal do trabalho, achamos oportuno incluir ao comentário as observações constatadas pela análise clínica ao longo dos 22 meses em que decorreu esta pesquisa de tipificação de 30 pacientes negros com PR, provenientes da região metropolitana de Vitória, ES.

A investigação foi do tipo populacional e seccional, no entanto todos os pacientes foram examinados e acompanhados durante o período de manifestação da doença. Os 45 indivíduos pertencentes ao grupo controle não apresentavam parentesco com os indivíduos do grupo dos pacientes, porém tinham alguma proximidade, quer seja residencial, afetiva ou laborativa.

O número de 30 pacientes usados em nosso estudo foi considerado suficiente, já que os cálculos estáticos foram baseados na incidência da PR de 1%, enquanto que a incidência mundial da doença é de 0,13 a 0,14% (CHUANG et al, 1982) e, no Brasil em torno de 0,39%. (SOUZA; TAYAH; SOARES, 1984).

A faixa etária escolhida em nossa amostragem (grupo PR) de 18 a 40 anos, e a idade média dos indivíduos desse grupo ( $26 \pm 6,8$ ), coincidem com a faixa de maior incidência da doença (figura 13). Em relação ao sexo, observamos dados semelhantes à literatura, ou seja, predominância do sexo feminino (figura 12).

Constatamos, em relação à época do ano de maior incidência de casos de PR, em nossa amostragem, dados análogos aos trabalhos de investigação epidemiológica realizados em países tropicais e subtropicais, ou seja, maior frequência dos casos foi em ordem decrescente, nos meses de outono, inverno e primavera (figura 17).

Verificamos também que em nossa localidade o paciente levou em média 3 semanas com PR, para ser atendido em nosso ambulatório de dermatologia. Tal fato nos favoreceu, no diagnóstico clínico da doença, permitindo a observação das lesões características das 2 fases evolutivas da PR.

O tempo médio de evolução total da doença foi de 8 semanas, o que é compatível com os dados da literatura (figura 15).

Ao longo do período de desenvolvimento operacional da pesquisa,

constatamos apenas 1 caso de recidiva da doença. Essa proporção de 0,3 % é estaticamente similar à referida na literatura, bem como o episódio recidivante mais frusto com ausência da placa mãe que a paciente apresentou (KEMPF; BURG, 2000; PARSONS, 1986). No entanto, admitimos que não foi realizado um estudo visando à observação do grau de severidade de manifestação da doença, pois fez parte da metodologia do trabalho a inclusão dos casos típicos de PR. Igualmente, não foi o nosso objetivo um estudo ou acompanhamento, dos pacientes estudados.

Em cerca de 50% dos casos de PR, a “placa mãe” se localizava no tronco (figura 15). Os achados referentes à topografia da lesão inicial são equivalentes à literatura. (ALLEN; JANNIGER; SCHWARTZ, 1995; BJORNBERG; HELLGRE, 1962; NILES, 1940).

Os exames histopatológicos das espécies de biopsias realizadas aleatoriamente demonstraram um quadro de dermatite inflamatória inespecífico, que em conjunção com a clinica foi compatível com o diagnóstico de PR. Não houve diferenciação do aspecto histológico entre as lesões examinadas provenientes da placa mãe ou do surto eruptivo.

Destacamos que ambos os grupos estudados (PR-PR-C) são estatisticamente similares em relação a todos os aspectos analisados tais como: ancestralidade, fototipo, idade e sexo (figuras 12, 13, 14) e (quadro 8).

Atualmente grande ênfase tem sido dada ao estudo da susceptibilidade genética conferida pelos HLA e em especial para as moléculas MHC classe II nas doenças de natureza auto-imunes.

O concreto mecanismo pelo quais as moléculas MHC conferem susceptibilidade é por demais, complicado e ainda não está totalmente esclarecido. O grande polimorfismo das moléculas MHC classe II, que podem interagir no

reconhecimento do peptídeo antigênico, a seleção natural das células T no timo e a apresentação dos antígenos as células T periféricas pelas células apresentadoras de antígenos, são muitos dos importantes fatores que contribuem na sofisticada participação do complexo HLA no desencadeamento das doenças.

Além disso, não está totalmente elucidado porque muitos dos indivíduos apresentam alelos que conferem susceptibilidade a determinadas doenças não às desenvolvem, e que alelos de proteção têm sido identificados para explicar essa ocorrência. Parece que, provavelmente, outros locos genéticos localizados ou não no sistema HLA, estão também envolvidos na modulação da susceptibilidade a doença pelos alelos HLA. (CAMPBELL; MILNER, 1993; KLEIN; SATO 2000ab; MARRIMAN; TODD, 1995; NEPOM; ERLICH, 1991; THEOFILOPOULOS, 1995ab).

A recente identificação de genes não MHC dificulta ainda mais a interpretação e a compreensão do risco genético a doenças, pois estes genes são capazes de gerar em certas doenças uma multiplicidade genética por induzirem múltiplas combinações do locus do genótipo afetado, com outro locus do genoma, constituindo a chamada interação de *epistasia*. (WANDSTRAT; WALKELAND, 2001).

Ao mesmo tempo, a identificação do provável desequilíbrio de ligação, que possa estar implícito para os alelos nas respectivas doenças e em diversas etnias, pode do mesmo modo ser de crucial importância nas doenças auto-imunes. (BEGOVICH et al, 1992; BURMER, 1974; DUNNING et al, 2000; ROBINSON et al, 1989)

Porém, nas doenças onde se evidencia a participação de múltiplos genes para que ela se manifeste (*epistasia*), a análise do desequilíbrio de ligação pode não ser tão preciso quanto no estudo das doenças monogênicas. (GRUEN; WEISMAN,

1997).

Também importantes são os novos conhecimentos ligados à função das células T reguladoras da auto-reatividade (*Natural Tregs*), a participação de co-receptores como o B7, e a das citocinas capazes de potencializar ou inibir a resposta imunológica. (BELKAID; ROUSE, 2005; PAUST; CANTOR, 2005; SARANTOPOLOS; CANTOR, 2004, SCHWARTZ, 2005; VON BOEHMER, 2005).

O estudo de HLA como um dos riscos genéticos para o desencadeamento da doença não contradiz as prováveis causas admissíveis talvez até uma participação determinante multifatorial numa doença como a PR.

A população brasileira é considerada predominantemente mestiça, isto se deve à grande diversidade racial, resultante da miscigenação entre Caucasianos, Africanos e Ameríndios, o que confere geneticamente grande polimorfismo dos alelos HLA. (BRAUN-PRADO et al, 2000; CZAJA et al, 2002; MARCOS et al, 1999; MIDDLETON et al, 2000; MORAES et al, 1993). Os caucasianos são originários principalmente de Portugal, e em menor número em ordem decrescente; da Itália, Alemanha e Holanda. A população afro-brasileira descende de ancestrais africanos provenientes principalmente dos países da África Equatorial mais precisamente dos países como Guíne, Nigéria, Congo, Uganda, Angola, Zâmbia e Moçambique pertencentes a dois grandes grupos lingüísticos, com inúmeros dialetos denominados por *sudaneses* especialmente os *iorubas* do Guine e Nigéria e os *bantos* do Congo e Angola (BASTIDE, 1974; CORAND OLIVEIRA, 1996; PRANDI, 2000).

O maior grupo populacional no Brasil “mestiço”, da origem aos denominados subgrupos étnicos tais como: “caboclo” ou “mameluco” mistura de Caucasianos e Ameríndios, os “mulatos” ou “crioulos” mistura de Africanos e Caucasianos e os

“cafuzos” de Ameríndios e Africanos. (TRACHTENBERG et al, 1888).

O censo de 1990, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) listaram mais de 100 nuances de traços fisionômicos na população, o que revela a grande dificuldade na proposição na definição racial do indivíduo. Essa particularidade multiracial e inter-étnica da população brasileira leva a utilização, nos censos demográficos, dos critérios como à utilização da tonalidade da pele e não a raça para definir o indivíduo como branco, preto. O mestiço (entre branco e negro) é referido como pardo ou mulato. A região sudeste é predominantemente mestiça.

Dados do censo 2000 (IBGE) evidenciaram que a população brasileira é constituída por 53,75 % de brancos, 38,45 % mulatos ou pardos, 6,21 % negros, 0,43 % indígenas e 0,45 % de asiáticos e 0,72% não declarados [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br) .

A progressiva miscigenação acarreta uma tendência constante de *clareamento* do povo, resultando, assim, uma população sob o ponto de vista genético altamente, heterozigótica, de tal modo constante, que quase todos os alelos mais comuns em brancos são também freqüentes em negros. (TRACHTENBERG et al, 1988). ([www.countrystudies.us/brazil/](http://www.countrystudies.us/brazil/)).

Existem poucos estudos conhecidos sobre a freqüência dos alelos HLA na população brasileira e disponível no site: <http://www.allelefrequencies.net/> (RUIZ et al, 2004; GOLDBERG, 1997; NIGAM, 2004). (anexo 6).

A região sudeste é predominantemente mestiça (CABALLERO et al, 1999; MORAES et al, 1993; TRACHTENBERG et al, 1988). Estudos realizados no estado do Paraná verificaram que a população considerada “mulata” apresenta a ancestralidade de (49,5%) de origem Africana e 41,8% de Européia enquanto a “negra” corresponde em apenas 12,5% da população. (PROST et al, 2000).

Todos os indivíduos incluídos no trabalho foram considerados de etnia

negra, não só pela ancestralidade africana em seus pais e ou avós, cor da pele correspondente aos fototipos V e VI (classificação de Fitzpatrick), mas também por exibirem as principais características fenotípicas comuns à raça negra. São considerados como de pele escura os indivíduos que se enquadram nos fototipos IV, V e VI de Fitzpatrick. (HALDER; NOOTHETI, 2003).

A tipificação dos antígenos HLA, através da técnica PCA-SSP, evidenciou em ambos os grupos estudados (PR e PR-C), elevada heterogeneidade para os *loci* HLA da classe I e II, confirmando o elevado nível de diversidade genética da mostra populacional estudada. Também demonstração da grande diversidade de alelos, mesmo envolvendo distintas subpopulações brasileiras, foi verificada em outras pesquisas. (CABALLERO et al, 1999; LOUZADA-JUNIOR et al, 2001; MORAES et al, 1993; TRACHTENBERG et al, 1888).

As combinações alélicas mais freqüentes em nossa amostragem para a classe I foram: A\*02-B\*42-Cw\*04 (8%) e A\*30-B\*42-Cw\*17 (8%) (anexos 7 e 8). Interessante destacar que, essas duas combinações alélicas, também foram consideradas as mais freqüentes, ou seja, em (6.6%) na população negra, num estudo realizado no estado do Paraná. (BRAUN-PRADO et al, 2000).

A análise comparativa da freqüência fenotípica dos alelos classe I em ambos os grupos estudados evidenciou predominância dos grupos alélicos HLA-B\*51 e HLA-B\*53 no grupo paciente de PR (20% PR *versus* 6,7 % PR-C), ou seja, os dois grupos B\*51 e B\*53 foram expressos num total 6 pessoas do grupo de 30 pacientes com PR e em apenas 3 dos 45 voluntários do grupo PR-C. O risco relativo dos respectivos grupos alélicos foi de RR = 3,50, IC 95% 0,80-15,28 e valor *p* 0,085. O valor *p* só tem significado estatístico abaixo de 0.05 (tabela 3).

O alelo HLA-B\*51 tem sido referido como fator de susceptibilidade na

doença de Behcet, que é vista por muitos autores como uma doença de natureza auto-imune multifatorial. (LEE, 2001; MIZUKI; INOKO; OHNO, 1997). Em acréscimo a esta intrigante constatação, existe ainda referência de associação de PR e doença de Behcet. (DURUSOY; ALPSOY; YILMAZ, 1999).

Contudo, a análise estatística da frequência fenotípica da classe II demonstrou real destaque o grupo de alelos HLA-DQB1\*04, nos indivíduos pertencentes ao grupo de pacientes PR se comparado com o grupo controle (33,3% PR *versus* 11,1% PR-C), ou seja, o DQB1\*04 foi determinado em 10 dos 30 pacientes de PR e em somente 5 dos 45 indivíduos do grupo controle, conferindo um risco relativo RR = 4,00, IC 95 % 1,20 – 13,28, valor *p* 0,018 (tabela 5). Por conseguinte, a importância estatística deste achado indica que os pacientes que apresentaram o antígeno DQB1\*04 tiveram quatro vezes mais chances de ter PR do que os pacientes que não apresentaram este grupo alélico.

Admitimos que o valor do RR demonstrado referentes aos grupos acima citados aumenta em importância se considerarmos a grande heterogeneidade da população estudada.

Na literatura, as especificidades de DR e DQ vêm sendo fortemente relacionadas, como fator de suscetibilidade às doenças auto-imunes, isto porque as células T CD4 podem regular tanto a resposta imune celular quanto a humoral. (ALTMANN, 1992; ALTMANN; SANSO; MARSH, 1991; GEBE; SWANSON; KWOK 2002; KORMAN et al, 2000; MCDEVITT, 1989; MIDDLETON et al, 2000; ZANELLI; BREEDVELD; VRIES, 2000). Usualmente desequilíbrio de ligação, entre os grupos DQB1\*04 e DRB1\*08 pode mascarar o real risco relativo de cada alelo. (FERNANDEZ-VINA et al, 1991; KNIPPER et al, 1994; SMERDEL et al, 2002). No entanto, a análise do grupo DRB1\*08 mostrou proporcionalmente similar frequência

entre os dois grupos estudados (10,0% PR versus 13,3% PR-C). No grupo de pacientes PR o grupo DRB1\*08 aparece apenas 3 vezes junto com o grupo DQB1\*04, enquanto que no grupo PR-C os grupos estavam juntos em 5 vezes na mesma combinação alélica (anexos 7 e 8).

Em relação ao grupo alélico HLA-B\*07, demonstrado em 7 pessoas do grupo controle (PR-C), contra apenas 1 pessoa do grupo de pacientes com PR por ter apresentado  $RR=0,19$ , o que poderia ser valorizado como fator de proteção (PF) para a doença, achamos mais conveniente à ponderação dessa possibilidade, pelo fato de que a avaliação comparativa deste grupo com os grupos alélicos de maior frequência destacados neste estudo, verificou que o B\*07 está junto em apenas, 1 - DQB1\*04, 1 -B\*51 e 1 -B\*53, dos 7 indivíduos do grupo controle que este alelo foi determinado. Ainda, o cálculo do IC 95% 0,02 -1,60, valor  $p$  0,093 não mostrou significativo valor estatístico (tabela 2).

Por último, destacamos que as combinações alélicas -B\*51 -DQB1\*04 e -B\*53 -DQB1\*04 aparecem juntas num mesmo indivíduo, num total de 6 vezes no grupo dos pacientes com PR e em nenhum voluntário do grupo controle, ou seja, portanto nós tivemos uma proporção de 100% de PR nas pessoas com estas combinações de alelos. Inclusive, o único caso de PR que apresentou recidiva, demonstrou essa combinação de grupos alélicos -B\*51 e DQB1\*04 (anexos 7 e 8).

Entretanto, o pouco valor estatístico demonstrado destes grupos B\*51 e B\*53 revelado pelos cálculos do IC 95% e o do valor  $p = 0,085$  dificulta a menção da participação desses alelos na manifestação da doença. Não obstante ser do nosso conhecimento que em determinadas situações pode haver a ocorrência de multiplicidade de genes, inclusive de diferentes *loci* para a manifestação da doença, como ocorre na denominada interação de alelos “*epistasia*”. (WANDSTRAT;

WALKELAND, 2001).

Por conseguinte, os resultados das avaliações estatísticas das freqüências alélicas de ambos os grupos estudados (PR e PR-C) de etnia afro-brasileira, permite-nos referir que o grupo alélico HLA-DQB1\*04 seja importante fator de susceptibilidade para PR.

Recentes conhecimentos indicam ser de crucial importância no estudo do risco genético às doenças conferidas pelos alelos MHC a determinação do desequilíbrio de ligação. Mas, especialmente nas doenças que geralmente demonstram envolvimento de múltiplos alelos a provável implicação, de genes não MHC e dos fatores transcrição capazes de modular a resposta genética a um estímulo antigênico em uma pessoa geneticamente predisposta.

Com o objetivo de constatar se o valor percentual observado em relação ao grupo DQB1\*04 nos pacientes PR permanece significativo, se comparado em amostragem populacional parecidas, utilizamos como fonte os dados de freqüência fenotípica de indivíduos saudáveis, divulgados como oficiais em site de pesquisa procedentes de *Workshop* de Imunogenética, [www.allelefreqencies.net/](http://www.allelefreqencies.net/).

Considerando a freqüência alélica de indivíduos de origem afro-americana em estados do norte dos Estados Unidos (LEE et al, 1991), e do sul dos EUA, observamos que análise comparativa das freqüências fenotípicas em relação ao DQB1\*04 (pacientes PR v *Black<sup>a</sup>*) um valor *p* de 0.001 estatisticamente significativos. Constatamos ainda uma predominante semelhança da freqüência alélica classe II quando comparado com o grupo controle PR-C. (KUFFNER et al, 2003), (tabela 6).

São raros os estudos da freqüência fenotípica classe II da população brasileira. Assim sendo, carecem os dados oficiais que correspondem a real

freqüência alélica dos diversos grupos populacionais nas distintas regiões do país. No entanto, a realização da análise comparativa entre a freqüência dos antígenos HLA-DQ dos grupos (PR e PR-C) com a freqüência fenotípica determinada em um estudo realizado em 126 indivíduos sem especificação racial no estado de São Paulo, constatou similar significância estatística para o grupo DQB1\*04 (PR *versus* SP<sup>a</sup>) na avaliação IC 95% 1,72 -11,55, *p* valor 0,002 (tabela 7). (GOLDBERG et al, 1998). Igual representatividade estatística do DQB1\*04 foi notada na análise comparativa da freqüência fenotípica verificada em 42 indivíduos, dos estados da região Sul do Brasil classificados como “mulatos” (PR *versus* Sul<sup>b</sup>) IC 95 % 1,32-17,07 valor *p* de 0,012 (TEMIN et al, 2004) (tabela 7).

Também, similar estudo comparativo foi verificado quando comparado com uma amostra populacional constituída de 104 indivíduos “mulatos” do estado do Paraná, os quais verificaram, em relação aos *loci* DQ, as seguintes freqüências dos grupos alélicos (DQ1=70,4, DQ2=39,8, DQ3=50,0, DQ7=25,0, DQ4=7,7). (PROBST et al, 2000).

Achamos conveniente a inclusão em nosso trabalho da análise comparativa das freqüências fenotípicas entre ambos os grupos que constituíram o nosso estudo com outras amostras populacionais saudáveis acima citadas, para a certificação quanto à significância freqüência do grupo alélico DQB1\*04 (33% grupo PR *versus* 11,1% grupo PR-C), pelo fato de não termos conhecimento de outro trabalho semelhante na literatura pesquisada.

Desse modo, o expressivo RR = 4,00, IC 95 % 1,20 – 13,28, valor *p* 0,018 do DQB1\*04, valorizado pela constatação de resultados estatisticamente similares do estudo comparativo entre as freqüências alélicas de ambos os grupos PR e PR-C e as demais amostras populacionais de indivíduos saudáveis, autoriza-nos a sugerir

a sua participação como um provável fator de risco genético na Pitiríase rósea. Porém, sabemos que a correlação da frequência dos alelos com a susceptibilidade às doenças pode variar de acordo com a população estudada e desconhecemos estudo semelhante na PR para termos como parâmetro. Desse modo, achamos apropriados que estudos similares, com técnicas de tipificação do DNA mais avançadas devam ser realizados em grupos populacionais de outras etnias.

## 7 CONCLUSÃO

---

A análise do estudo estatístico da frequência fenotípica para os antígenos HLA classe I e II na população de etnia afro-brasileira proveniente da região sudeste do Brasil (região metropolitana de Vitória), em ambos os grupos estudados (PR x PR-C), demonstraram significativa proporção para os alelos HLA-DQB1\*04 nos pacientes com Pitiríase rósea. Portanto, amparados nesse valor estatístico, podemos apontar o DQB1\*04 como um provável fator de risco genético na Pitiríase rósea.

A valorização da significância estatística da RR = 4,00, IC 95 % 1,20 -13,28, valor  $p$  0,018 do grupamento alélico DQB1\*04 foi ressaltada quando comparada com a frequência fenotípica divulgada, como oficial em amostras populacionais sadias em estudos realizados no Brasil e em afro-americanos. Essa comparação fez-se necessária pela ausência da constatação, em nossa revisão literária, de outro trabalho de tipificação de HLA em Pitiríase rósea.

## 8 SUGESTÕES

---

- Realização de estudos similares na Pitíriase rósea, com técnicas de tipificação do DNA mais avançadas devam ser realizada em grupos populacionais de outras etnias;
- Inclusão no estudo da avaliação do grau de gravidade dos casos clínicos de Pitíriase rósea;
- Semelhante estudo na Pitíriase rósea em casos considerados como recidiva ou de longa duração evolutiva.

## REFERÊNCIAS

---

ABBAS AK, LICHTMAN AH, PODER JS. **Imunologia celular e Molecular**. Rio de Janeiro: Revinter, 4 ed., p. 41-208-291-423, 2003.

ACHERMAN AB. **Histologic diagnosis of inflammatory skin diseases: a method by Pattern Analysis**. Philadelphia: 2 ed., p. 233-235, 1978.

ACOLLA RS, BARBARO AL, MAZZA S et al. The MHC class II transactivator: prey and hunter in infectious diseases. **Trends Immunol**, v. 22, n.10 p. 560-563, 2001.

AHMED I, HOLMES C. Localized pityriasis rosea. **Clin Exp Dermatol**, v. 25, p. 624-626, 2000.

AHMED MA. Pityriasis rosea in the Sudan. **Int J Dermatol**, v. 25, p.184-185, 1986.

AIBA S, TAGAMI H. Immunohistologic studies in Pityriasis rosea. **Arch Dermatol**, v.12, p. 761-761, 1985.

ALBERTS BRUCE, JOHNSON A, LEWIS et al. **Molecular Biology of the Cell**. 4 ed. New York, NY: Garland Publishing, 2002.

ALFONSO C AND KARLSSON L. Non classical MHC class II molecules. **Ann Rev Immunol**, v. 18, p.113-142, 2000.

ALLEN RA, JANNIGER CK, SCHWARTZ RA. Pityriasis rosea. **Cutis**, v.56, p.198-202, 1995.

ALTMANN DM, SANSOM M, MARSH SGE. What is the basis for HLA-DQ associations with autoimmune disease? **Imm Today**, v. 12, p. 267-271, 1991.

ALTMANN DM. HLA-DQ associations with autoimmune disease. **Autoimmunity**, v.14, p. 79-83, 1992.

AMIEL, 1967 apud VAN SOMEREN H, WESTERVELD A, HAGEMEIJER A, et al. Human antigens and enzyme markers in man-Chinese hamster somatic cell hybrids:

evidence for syntenicity between the HLA, PGM<sub>3</sub>, ME<sub>1</sub> and IPO-B loci. **Proc Nat Acad Sci**, v. 71, n.3, p. 962-965, 1974.

ANDERSON CR. Dapsone treatment in a case of vesicular pityriasis rosea. **Lancet**, v. 2, p. 493, 1971.

AOSHIMA J, KOMURA J, OFUJI S. Virus like particles in the herald patch of Pityriasis rosea. **Dermatologica**, v.162, p. 64-65, 1981.

ARACTINGI S, MORINET F, MOKNI M, et al. Absence of picornavirus genome in pityriasis rosea. **Arch Dermatol Res**, v. 289, p. 60-61, 1996.

ARNDT KA, PAUL BS, STERN RS, et al. Treatment of pityriasis rosea with UV radiation. **Arch Dermatol**, v. 119, p. 381-382, 1983.

BAKER RJ, JOHNSON WC. Vesicular pityriasis rosea. **Cutis**, v. 8, p. 341-2, 1971.

BAKOS L. Lesões acrais e orais na pitiríase rósea. **An bras Dermatol**, v. 61, p. 4, 199-201, 1986.

BASTIDE R. **As Américas negras**, São Paulo: ed. Difel e Edusp, v. 1. p. 67, 1974.

BEGOVIČ AB, MCCLURE GR, SURAJ VC, et al. Polymorphism, recombination, and linkage disequilibrium within the HLA class II region. **J Immunol**, v. 148, p. 24 - 258, 1992.

BELKAID Y, ROUSE B. Natural regulatory T cells in infectious disease. **Nature Immunol**, v. 6, n. 4, p. 353-360, 2005.

BENEDEK T. Syphilis and the biotrophic skin exanthems of known bacterial, hematogen-endogeneous origin: seborrheic dermatitis, pompholyx, pityriasis rosea, psoriasis vulgaris. **Urol Cutan Rev**, v. 46, p. 409-423, 1942.

BJORKMAN PJ, SAPER MA, SAMRAOUI BB et al. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. **Nature**, v. 329, p. 509-512, 1987.

BJORNBERG A, HELLGREN I. Pityriasis rosea: a statistical clinical and Laboratory investigation of 836 patients and matched healthy controls. **Acta Derm Venereol**, v. 42, n. 50, p.1-68, 1962.

BONAFÉ JL, ICART J, PERPERE M, et al Histopathologic, ultrastructural, immunologic and virologic study of Gibert's pityriasis rosea. **Ann Dermatol Venereol**, v. 109, p. 855-861, 1982.

BRAUN-PRADO K, MION VAL PEREIRA NF et al HLA class I polymorphism, as characterized by PCR-SSOP, in a Brazilian exogamic population. **Tissue Antigens**, v. 56, p. 417-427, 2000.

BROCQ L. Note Sur La Plaque primitive du pityriasis rose de Gibert. **Annales de Dermat**, v. 10, p. 615-624, 1887.

BROWN JH, JARDETSKY TS, GORGA JC, et al Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. **Nature**, v. 364, p. 33-39, 1993.

BULMER MG. Linkage disequilibrium and genetic variability. **Genet Res**, v. 23, n. 3, p. 281-289, 1974.

BUNCE M, TAYLOR CJ, WELSH KI. Rapid HLA-DQB Typing by eight Polymerase Chain Reaction Amplifications with sequence-specific primers (PCR-SSP). **Human Immunology**, v.37, p. 201-206, 1993.

BURCH PRJ, ROWELL NR. Pityriasis rosea an autoaggressive disease? **Br J Dermatol**, v. 82, p. 549-560, 1970.

CABALLERO A, ALVÉS-LEÓN S, PAPAIS-ALVARENGA R et al. DQB1\*0602 confers genetic susceptibility to multiple sclerosis in Afro-Brazilians. **Tissue Antigens**, v. 54, p. 524-526, 1999.

CAMPBELL RD, MILNER CM: MHC genes in autoimmunity. **Curr Opin Immunol**, v. 5, p. 887-893, 1993.

CHUANG T, ILSTRUP DM, PERRY HO et al. Pityriasis rosea in Rochester, Minnesota, 1969-1978: a 10-year epidemiologic study. **J Am Acad Dermatol**, v. 7, p. 80-82, 1982.

CHEONG WK, WONG KS. An epidemiological study of pityriasis rosea in Middle Road Hospital Singapore. **Med J**, v. 30, p. 60-62, 1989.

CHUANG TY, PERRY HO, Ilstrup DM, Kurland LT. Recent upper respiratory tract infection and pityriasis rosea: a case-control study of 249 matched pairs. **Br J Dermatol**, v. 108, p. 587-591, 1983.

CHUH AA, CHAN HH, ZAWAR V. Pityriasis rosea-evidence for and against an infectious aetiology. **Epidemiol Infect**, v. 132, p. 381-390, 2004.

CHUH AA, CHAN HH. Prospective case-control study of chlamydia, legionella and mycoplasma infections in patient with pityriasis rosea. **Eur J Dermatol**, v. 12, p. 170-3, 2002.

CHUH AA, CHIU SSS, PEIRIS JSM. Human Herpesvirus 6 and 7 DNA in peripheral blood leucocytes and plasma in patients with Pityriasis rosea by polymerase chain reaction: a prospective case control study. **Acta Derm Venereol**, v. 81, p. 289-290, 2001.

CHUH AA. A prospective case control study of autoimmune markers in patients with pityriasis rosea. **Clin Exp Dermatol**, v. 28, p. 449-450, 2003a.

CHUH AA. The association of pityriasis rosea with cytomegalovirus, Epstein-Barr virus and parvovirus B19 infections-A prospective case control study by polymerase chain reaction and serology. **Eur J Dermatol**, v. 13, p. 25-28, 2003b.

COFFER PJC, BURGERING BMT. Forkhead-Box transcription factors and their role in the immune system. **Nat Rev Immunol**, v. 4, p. 889-899, 2004.

CONRAD RE. **Tumbeiros: o tráfico de escravos para o Brasil**. São Paulo: ed. Brasiliense, p 43, 1985.

CORCORAN CJ. Pityriasis rósea in pigs. **Vet Rec**, v. 76, p. 407-1409. 1964.

CORKE CF, MEYRICK TR, HUSKISSON EC, et al. Pityriasis rosea-like rashes complications drug therapy for rheumatoid arthritis (letter). **Br J Rheumatol**, v. 22, n.3, p. 187-188, 1983.

CRISSEY JT. Pityriasis rosea. **Pediatr Clin North Am**, v. 3, p. 801-809, 1996.

CZAJA AJ, SOUTO EO, BITTENCOURT PL et al. Clinical distinctions and pathogenic implications of type 1 autoimmune hepatitis in Brazil and the United States. **J Hepatol**, v. 37, p. 302-308, 2002.

DAUSSET J. Iso-leuco-anticorps. **Acta Haemat**, v. 20, p.156 -166, 1958.

DAVIS GB, KYLE MG. Pityriasis rosea in pigs. **NZ Vet J**, v. 7, p. 71, 1969.

DEL CAMPO DV, Barsky S, Tisocco L et al. Pityriasis rosea unilateralis. **Int J Dermatol**, v. 5, p. 312-13, 1983.

DIAMOND S. Autoimmunity. **Immunol Reviews**, v. 204, p. 5-8, 2005.

DOBES WL, ALDEN HS. Pityriasis rosea-like drug eruptions due to bismuth. **South Med J**, v. 42, p.572-578, 1949.

DORFFMAN JR, GERMAIN R. MHC-dependent survival of naïve T cells? A complicated answer to a simple question. **Microbes and Infections**, v. 4, p. 547-554. 2002.

DRAGO F, RONIERI E, MALAGUTI F, et al. Human Herpes virus 7 in patients with pityriasis rosea. Electron microscopy investigations and polymerase chain reaction in mononuclear cells, plasma and skin. **Dermatology**, v. 195, p. 374-378, 1997a.

DRAGO F, RONIERI E, MALAGUTI F, et al Human herpes-virus 7 in pityriasis rosea. **Lancet**, v. 349, p. 1367-1368, 1997b.

DRAGO F, RONIERI E, MALAGUTI F, et al Human herpes virus-like particles in pityriasis rosea lesions: an electron microscopy study. **J Cutan Pathol**, v. 29, p. 359-361, 2002.

DUNNING AM, DUROCHER F, HEALEY CS et al The extent of linkage disequilibrium in four populations with distinct demographic histories. **Am J Hum Genet**, v.67, p.1544-1554, 2000.

DUROSOY C, ALPSOY E, YILMAZ E. pityriasis rósea in a patient with Behcet's disease treated with interferon alpha 2A. **J Dermatol**, v. 26, p. 225-228, 1999.

EL-SHIEMY S, NASSAR A, MOKHTAR M, MABROUK D. Light and electron microscopic studies of Pityriasis rosea. **Int J Dermatol**, v. 26, p. 237-239, 1987.

ESLICK GD. Atypical pityriasis rosea or psoriasis guttata? Early examination is the key to a correct diagnosis. **Int J Dermatol**, v. 41, p. 788-791, 2002.

FERNANDES APM, MACIEL LMM, FOSS MC et al. Como Entender a associação entre HLA e as Doenças Auto-Imunes Endócrinas. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v. 47, n.5, 2003.

FERNANDEZ-VINA M, MORAES JR, MORAES ME et al. HLA class II haplotypes in Amerindians and in black North and south Ameridians. **Tissue Antigens**, v. 38, p. 235-7, 1991.

FRIEDMAN SJ. Pityriasis rósea with erythema multiforme-like lesions. **J Am Acad Dermatol**, v. 15, p. 135-136, 1987.

GARCIA RL. Vesicular pityriasis rosea. **Arch Dermatol**, v.112, p. 410, 1976.

GARCIA, KC, DEGANNO M, PEASE LR et al. Structural basis of plasticity in T cell receptor recognition of a self peptide-MHC antigen. **Science**, v. 279, p. 1166-1172, 1998.

GARRIE AS, GARRIE EV. Anxiety and skin diseases. **Cutis**, v. 22, p. 205-208, 1978.

GEBE JA, SWANSON E, KNOK WW. HLA class II peptide-binding and autoimmunity. **Tissue Antigens**, v. 59, p. 78-87, 2002.

GIBNER, 1860 apud PERVICAL GH. Pityriasis rosea. **Br J Dermatol**, v. 44, p. 241-253, 1932.

GIBNEY MD, LEONARDI CL. Acute papulosquamous eruption of the extremities demonstrating an isomorphic response. Inverse pityriasis rosea. **Arch Dermatol**, v.133, p. 651-654, 1997.

GOLDBERG AC, CHIARELLA JM, MARIN MLC et al. Molecular typing of HLA call II antigens in a São Paulo population. **Genet Mol Biol**, v. 21, n. 3, p. 1-12, 1998.

GOLDSBY RA, KINDT TJ, OSBORNE BA. **Kuby Imunologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Revinter, p. 1273-238, 2002.

GORER PA, LYMAN S, SNELL GD. Studies on the genetic and antigenic basis of tumour transplantation. Linkage between a histocompatibility gene and "fused" in mice. **Biological Sciences**, v. 135, p. 499-505, 1948.

GORER PA. The genetic and antigenic basis of tumour transplantation. **J Path Bact**, v. 44, p. 691-697, 1937.

GRAYSTON JT, ALEXANDER ER, KENNY GE, et al. Mycoplasma pneumoniae infections. Clinical and epidemiologic studies. **JAMA**, v. 191, p. 369-374. 1965.

GRUEN JR, WEISMAN SM. Evolving views of the major histocompatibility complex. **Blood**, v. 90, p. 4252-4265, 1997.

HALDER RH, NOOTHETI PK. Ethnic skin disorders overview. **J Am Acad Dermatol**, v. 48, n. 6, p. 143-148, 2003.

HALKIER-SORENSEN L. Recurrent pityriasis rosea. New episodes every for five years. A case report. **Acta Dermatol Venereol**, v. 70, p.179-180, 1990.

HARMAN M, AYTEKIN S, AKDENIZ S, INALUZ HS. An epidemiological study of pityriasis rosea in the Eastern Anatolia. **Eur J Epidemiol**, v. 14, p. 495-497, 1998.

HARTLEY AH. Pityriasis rosea pediatrics in review. **Dermatology**, v. 20, n.8, p. 266-269, 1999.

HAZEN, 1928 apud ARNDT KA, PAUL BS, STERN RS, et al. Treatment of pityriasis rosea with UV radiation. **Arch Dermatol**, v. 119, p. 381-382, 1983.

HELFMAN RJ, BRICKMAN M, FAHEY J. Isotretinoin dermatitis simulating acute pityriasis rosea. **Cutis**, v. 33, p. 297-300, 1984.

HENDRICKS AA, LOHR JA. Pityriasis Rosea in infancy. **Arch Dermatol**, v. 115, p. 896-897, 1979.

HILL AVS. The genomics and genetics of human infectious disease susceptibility. **Annu Rev Genom Human Genet**, v. 2, p. 373-400, 2001.

HORN T, KAZAKIS. A pityriasis rosea and the need Rio de Janeiro for syphilis. **Cutis**, v. 39, n.1, p. 81-82. 1987.

<http://www.allefrequencies.net/>

<http://www.anthonynolan.com/HIG/lists/>

<http://www.contrystudies.us/brasil/>

<http://www.ibge.gov.br>

HUDSON LD, ADELMAN S, LEWIS CW. Pityriasis rosea: viral complement fixation studies. **J Am Acad Dermatol**, v. 4, p. 544-546, 1881.

HURLEY HJ, ENGLISH RS. Localized pityriasis rosea. **JAMA**, v. 178, p. 766-68, 1961.

HYATT H. Pityriasis rosea in a three month old infant. **Arch Pediatric**, v. 77, p. 364-368, 1960.

IMAMURA S, OZAKI M, HORIGUCHI Y, et al. Atypical pityriasis rosea. **Dermatologica**, v. 171, p. 474-7, 1985.

ISHIBASHI A, UEDA I, FUJITA K. Pityriasis rósea Gibert and Mycoplasma pneumonie infection. **J Dermatol**, v. 12, p. 97-100. 1985.

JACOB Cohen. **Statistical Power Analysis Academic Press**, NY: 7, 1969.

JACYK WK. Pityriasis rosea in Nigerians. **Int J Dermatol**, v. 19, p. 347-399, 1980.

JANEWAY CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. **Imunobiologia**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, p 115-205, 554-572, 2002.

JIN K, HO HN, Speed TP, Gill TJI. Reproductive failure and the major histocompatibility complex. **Am J Human Genetics**, v. 56, p.1456-467, 1995.

KAPLAN B, GRUNWALD MH, HALEVY S. Pityriasis rosea-like drug eruption associated with BCG vaccination. **Isr J Med Sci**, v. 25, p. 570-572. 1989.

KAPLAN MH, SADICK N, MCNUTT NS, et al. Dermatologic findings and manifestations of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). **J Am Acad Dermatol**, v. 16, p. 485-506. 1987.

KARABULUT AA, KOCAK M, YILMAZ N, EKSIUGLU M. Detection of human herpesvirus 7 in pityriasis rosea by nested PCR. **Int J Dermatol**, v. 41; 563-567, 2002.

KASAHARA M, FLAJNIK MF, ISHIBASHI et al. Evolution of the major histocompatibility complex: a current overview. **Transplant Immunol**, v. 3, p. 1-20, 1995.

KASAHARA, M. The chromosomal duplication model of the major histocompatibility complex. **Immunol Rev**, v. 167, p. 17-32. 1999.

KAY MH, RAPINE RP, FRITZ KA. Oral lesions in pityriasis rosea. **Arch Dermatol**, v. 121, p. 1449-1451, 1985.

KEMPF W, ADAMS V, KLEINHANS M, BUN G, PAGIZZON RG, Campadelli-Fiume, and Nestle FO. Pityriasis rosea is not associated with Human Herpes virus. **Arch Dermatol**, v. 135, p. 1070-1073, 1999.

KEMPF W, BURG G. Pityriasis rosea-virus-induced skin disease? An update. **Arch Virol**, v.145: 1509 -1520, 2000.

KERMANI-ARAB V, ROBERTS JL, LESLIE GA. Structure and biological function of human IgD, T and B lymphocytes in pityriasis rosea. **Int Arch Allergy Appl Immunol**, v. 57, p. 201-209, 1978.

KLEIN J, SATO A. Advances in Immunology. First of two Parts. **New J Med**, v. 343, n. 10, p. 702-709, 2000a.

KLEIN J, SATO A. Advances in Immunology. Second of two parts. **New J Med**, v. 343, n.11, p. 782-786, 2000b.

KNIPPER AJ, HAKENBERG P, ENCZMANN J. et al. HLA DRB1/3/4/5, DQB1 allele Frequencies and HLA-DR/DQ linkage disequilibrium of 231 German Caucasoid patients and their corresponding 821 potential unrelated stem cell transplants. **Human Immunology**, v. 61, p. 605-614, 2000.

KOSUGE H, TANAKA-TAYA, MIYOSHI H, et al. Epidemiological study of human herpesvirus-6 and human herpesvirus-7 in pityriasis rosea. **Br J Dermatol**, v. 143, p. 795-795, 2000.

KUFFNER T, WHITWORTH W, JAIRAM M et al. HLA class II and TNF genes in African Americans from the Southeastern United states: regional differences in allele frequencies. **Hum Immunol**, v. 64, p. 639-647, 2003.

LABRO MT. Anti-inflammatory activity of macrolides: a new therapeutic potencial? **J Antimicrob Chemother**, v. 41 (suppl B), p. 37-46, 1998.

LAMBERT WC, SCHWARTZ RA, HAMILTON GB. Erythema dyschromicum perstans. **Cutis**, v. 37, p. 42-44, 1986.

LAMM LU, FRIEDRICH U, PETERSEN CB et al. Assignment of the major histocompatibility complex to chromosome 6 in a family with a pericentric inversion. **Hum Hered**, v. 24, p. 273-284, 1974.

LAUDE TA. Herald patch in a DPT injection site. **J Acad Dermatol**, v. 5, p. 475-476, 1981.

LEE L. Behcet's disease. **Semin Cutan Med Surg**, v. 20, n.1, p. 53-57, 2001.

LEE TD, LEE A, SHI WX. HLA-A, -B, -DR, -DQ antigens in black North Americans. **Tissue Antigens**, v. 37, p. 79-83, 1991.

LEENUTAPHONG V, JIAMTON S. UVB phototherapy for pityriasis rosea: a bilateral comparison study. **J Am Acad Dermatol**, v. 33, p. 996-999, 1995.

LEONFORTE JF. Pityriasis rosea: exacerbation with corticosteroid treatment. **Dermatologica**, v. 163, p. 480-481, 1981.

LITTLE CC, TYZZER EE. Further experimental studies on the inheritance of susceptibility to a transplantable tumor, carcinoma (JWA) of the Japanese waltzing mouse. **J Med Res**, v. 33, p. 393-453, 1916.

LOUZADA-JUNIOR P, SMITH AG, HANSEN JA, DONATI EA. HLA-DRB1 and DQB1 alleles in the Brazilian population of the northeastern region of state of São Paulo. **Tissue Antigens**, v. 57, p. 158-162, 2001.

MAIZE JC, TOMECKI KJ. Pityriasis rosea-like drug eruption secondary to metronidazole (letter). **Arch Dermatol**, v. 113, p. 1457-1458, 1977.

MARCOS CY, FERNANDEZ-VIÑA MA, LÁZARO AM et al. Novel HLA-A and HLA-B alleles in South American Indians. **Tissue Antigens**, v. 53, p. 476-485, 1999.

MARSH SG, ALBERT ED, BODMER WF et al. Nomenclature for factors of the HLA system update. **Tissue Antigens**, v. 65, p. 301-369, 2005.

MCDEVITT HO. Discovering the role of the major histocompatibility complex in the immune response. **Ann Rev Immunol**, v. 18, p. 1-7, 2000.

MERCHANT M, WASHINGTON O, HAMMOND R et al. Controlled study of ultraviolet light for Pityriasis Rosea. **Cutis**, v.14, p. 548-549, 1974.

MERRIMAN TR, TODD JÁ. Genetics of autoimmune disease. **Curr Opin Immunol**, v. 7, n. 6, p.786 -792, 1995.

MESSENGER AG, KNOX EG, SUMMERLY R, et al. Case clustering in pityriasis rosea: support for role of an infective agent. **Br Med J**, v. 284, p. 371-373, 1982.

METZ J. An electron microscopic investigation of the pityriasis rosea. **J Cutan Pathol**, v. 4, p. 228-229, 1977.

MIDDLETON D, WILLIAMS FA, MEENAGH AS. Analysis of the distribution of HLA-A alleles in populations from five continents. **Hum Immunol**, v. 61, p. 1048-1052, 2000.

MILLER TH. Pityriasis rosea; report of 3 cases in 1 family with clinical variations in 2 of them. **Arch Dermatol Syph**, v. 44, p. 66-68, 1941.

MINELLI L. Pitiríase rósea de Gibert. Um estudo prospectivo. **An bras Dermatol**, v. 59, n. 6, p. 271-274. 1984.

MIRANDA SB, LUPI O, LUCAS E. Vesicular pityriasis rosea: response to erythromycin treatment. **J Eur Acad Derm Venereol**, v. 18, p. 622-625, 2004.

MOBACKEN H, BJURSTEN LM, LOWHAGEN GB, et al. Failure to detect immune complexes in the secondary stage of of Pityriasis rosea. **Arch Dermatol Res**, v. 275, p. 92-94, 1983.

MORAES EM, FERNANDEZ-VINÃ MA, SALATIEL I et al. HLA class II DNA typing in two Brazilian populations. **Tissue Antigens**, v. 41, p. 238-242, 1993.

NEPOM GT, ERLICH H: MHC class-II molecules and autoimmunity. **Annu Rev Immunol**, v. 46, p. 17-25, 1995.

NIGAM P et al, Polymorphism of HLA class I genes in the Brazilian population from the Northeastern State of Pernambuco corroborates anthropological evidence of its origin. **Tissue Antigens**, v. 64, p. 204-209, 2004.

NIKOLICH-ZUGICH J, FREMONT DH, MILEY MJ, MESSAOUDI I. The role of MHC polymorphism in anti-microbial resistance. **Microbes and Infection** v. 6, p. 501- 512, 2004.

NILES HD, CLUMP MM. Pityriasis rosea: review of literature and of two hundred and nineteen cases in thirty eight of which convalescent serum was used. **Arch Dermatol Syph**, v. 41, p. 265-294, 1940.

OKAMOTO H, IMAMURA S, AOSHIMA T, et al: Diskeratotic degeneration of epidermal cells in pityriasis rosea .Light and electron microscopic studies. **Br J Dermatol**, v. 107, p. 189-194 1982.

OLIVEIRA MIC. Viver e morrer no meio dos seus: nações e comunidades africanas na Bahia do século XIX. **Revista USP**, v. 28, p. 174-193, 1996.

OLUMIDE Y. Pityriasis rosea in Lagos. **Int J Dermatol**, v. 26, n. 4, p. 234-236, 1987.

PALLER AS, ESTERLY NB, LUCKY AW, et al. Hemorrhagic pityriasis rosea: an unusual variant. **Pediatrics**, v. 70, p. 357-359, 1982.

PAPPIZON R, BLOCH PH. Histopathology of pityriasis rosea Gibert; qualitative and quantitative light-microscopic study of 62 biopsies of 40 patients. **Dermatologica**, v. 165, p. 551-558, 1982.

PARSONS JM: Pityriasis rosea update. **J Am Acad Dermatol**, v. 15, p. 159-167, 1986.

PAUST S, CANTOR H. Regulatory T cells and autoimmune disease. **Immunol Reviews**, v. 204, p. 195-207, 2005.

PAYNE R, ROLFS MR. Fetomaternal leukocyte incompatibility. **J Clin Invest**, v. 37, p. 1756-1763, 1958.

PENN DJ, POTTS WK. The evolution of mating preferences and major histocompatibility complex genes. **American Naturalist**, v. 153, p. 145-164, 1999.

PÉRIN LM. Impetigo streptococcique et pityriasis rose de Gibert, **Bull Soc. Franç Derm**, v. 32, p. 734-738, 1927.

PERLMAN HH, LUBOWE IL. Pityriasis rosea in children: A review of the literature ends a report of several cases demonstrating clinical and histopathological features of the dermatoses in white and Negro children. **J Pediatr**, v. 40, p. 109-129, 1952.

PERVICAL GH. Pityriasis rosea. **Br J Dermatol**, v. 44, p. 241-253, 1932.

PIERSON JC, DIJKSTRA JWE, ELSTON DM. Purpurica pityriasis rosea. **J Am Acad Dermatol**, v. 28, p. 1021, 1993.

PRANDI R. De africano a afro-brasileiro: etnia, identidade, religião. **Revista USP**, São Paulo, n. 46, p. 52-56, 2000.

PRITCHARD JK, PRZEWORSKI M. Linkage disequilibrium in Humans: models and data. **Am J Hum Genet**, v. 69, p. 1-14, 2001.

PROBST CM, BOMPEIXE EP, PEREIRA NF et al. HLA polymorphism and evaluation of European, African and Amerindian contribution to the White and Mulatto populations from Paraná, Brazil. **Human Biology**, v. 72, n. 4, p. 597-617, 2000.

RASKIN J. Possible dermatotropic virus associate with pityriasis rosea. **Acta Derm Venereol**, v. 48, p. 474-481, 1968.

REISS H. Pityriasis rosea following an injection of antidiphtheritic vaccine: report of a case. **Arch Dermatol Syph**, v. 43, p. 1008-1109, 1941.

REPISO T et al: Atypical Pytiriasis rosea in 2 years old. **Pediatric Dermatol**, v. 12, n.1, p. 63-65, 1995.

ROBINSON WP, KRAMER P, PAYAMI H et al. Disease Associations and Disequilibrium Mapping. **Prog Clin Bio Resp**, v. 329, p. 57-62, 1989.

ROITT I, BROSTOFF J, MALE D. **Imunologia**. 6 ed., São Paulo: Manole, p. 87-115, 401-433, 2003.

ROOK, WILKINSON, EBLING. **Testbook of Dermatology**. 6 ed, v. 2. p. 1092-4, 1998.

RUIZ TM, COSTA SMCM, RIBAS F et al. Human leukocyte antigen allelic groups and haplotypes in a Brazilian sample of volunteer donors for bone marrow transplant in Curitiba, Paraná, Brazil. **Transplantation Proceedings**, v. 37, p. 2293-2296, 2005.

SACHS, DH, CONE JI. A mouse B-cell alloantigen determined by gene(s) linked to the major histocompatibility complex. **J Exp Med**, v. 138, p. 1298-1304, 1973.

SALIN RW, CUTIS AC, WHEELER A. Treatment of pityriasis rosea with plasma. gama globulin and pooled plasma. **Arch Dermatol Syph**, v. 76, p. 659-662, 1957.

SANTAMARIA JR, CAMPBELL IT, DELFINO FO et al HLA em dermatologia: o que existe de concreto. **An bras Dermatol**, v. 71, n. 2, p. 32-37, 1996.

SARANTOPOULOS S, CANTOR H. Qa-1 restriction of CD8<sup>+</sup> suppressor T cells. **J Clin Invest**, v.114, p. 1218-1222, 2004.

SCHREUDER GM, HURLEY CK, MARS SG et al The HLA dictionary 2004: A summary of HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5, -DQB1 alleles and their association with serologically defined HLA-A, -B, -C, -DR, and DQ antigens. **Tissue Antigens**, v. 65, p. 1-55, 2004.

SCHWARTZ R. Natural regulatory T cell and self-tolerance. **Nature immunology**, v. 6, n. 4, p. 327-330, 2005.

SEZER E, SARACOGLU ZN, URER SM, et al. Purpuric pityriasis rosea. **Int J Dermatol**, v. 42, p. 138-140, 2003.

SHARMA PK, YADAV TP, GAUTAM RK, et al Erythromycin in pityriasis rósea: a double-blind, placebo controlled clinical trial. **J Am Acad Dermatol**, v. 42, p. 241-244, 2000.

SHEVACH EM. Regulatory T cells in autoimmunity. **Ann Rev Immunol**, v. 18, p. 423-449, 2000.

SHIINA T, INOKO H, KULSKI JK. An update of HLA genomic region, locus information and disease association and disease associations: 2004. **Tissue Antigens**, v. 64, p.631-649 2004.

SHINDO Y, OHNO S, YAMAMOTO T et al. Complete association of the HLA-DRB1\*04 and -DQB1\*04 alleles with Vogt-Koyanagi-Harada's disease. **Hum Immunol**, v. 39, n. 3, p. 169-176, 1994.

SMERDEL A, PLOSKI R, FLATO B et al. Juvenile idiopathic arthritis (JIA) is primarily associated with HLA-DR8 but not DQ4 on the DR8-DQ4 haplotype. **Ann Rheum Dis**, v. 61, p. 354-357, 2002.

SMOUSE PE, WILLIAMS RC. Multivariate analysis of HLA-disease associations. **Biometrics**, v. 38, p. 757-768, 1982.

SNELL GD. Methods for study of histocompatibility genes and isoantigens. **Methods Med Res**, v.10, p. 1-7, 1964.

SNELL GD. Studies is histocompatibility. **Science**, v. 213, p. 172-178, 1981.

SOUZA FILHO JJ, AMORIM FILHO RM, DUARTE F et al Pitiríase rósea: uma revisão. **An bras Dermatol**, v. 73, n. 3, p. 245-250, 1998.

SOUZA SITTART JA, TAYAH M, SOARES Z. Incidence pityriasis rósea of Gibert in Dermatology Service of the Hospital do Servidor Público in the state of São Paulo. **Méd Cutan Ibero Lat Am**, v. 12, p. 336-338, 1984.

SPELLMAN LJ, ROBERTSON IM, STRUTTON GM, WEEDON D. Pityriasis rosea-like drug eruption after bone marrow transplantation. **J Am Acad Dermatol**, v. 31, n. 2, p. 348-351, 1994.

STERN JK, WOLF TE, ROSEN T. Focal acantholytic dyskeratosis in pityriasis rosea. **Arch Derm**, v. 115, p. 497, 1979.

STULBERG DL, WOLFREY J. Pityriasis rosea. **Am Family Physician**, v. 69, p. 87-91, 2004

TAKAKI Y, MIYAZAKI H. Cytolytic degeneration of keratinocytes adjacent to Langerhans' cells in pityriasis rosea (Gibert). **Acta Derm Venereol**, v. 56, p. 99-103, 1976.

TAY YH, GOH CL. One-year review of pityriasis rósea at the National Skin Centre, Singapore. **Ann Acad Med Singapore**, v. 44, p. 829-497, 1999.

TEMIN J, MARQUES GD, MORGUN A, et al. HLA-DQB1 and –DRB1 alleles and cytokine polymorphism in a mulatto population from South East Brazil. **Hum Immunol**, v. 65, p. 882-885, 2004.

THEOFILOPOULOS AN. The basis of autoimmunity: part I. Mechanisms of self-recognition. **Immunol Today**, v. 16, n. 2, p. 90-98, 1995a.

THEOFILOPOULOS AN. The basis of autoimmunity: part II. Genetic predisposition. **Immunol Today**, v. 16, n. 3, p. 150-159, 1995b.

THOMSON MS, CUMINGS JN. Investigations into the Causation of Pityriasis rosea. **Brit J Derm**, v. 43, p. 617-640, 1931.

THUHAN A. Pityriasis rósea. **Am Farm Physician**, v. 29, n. 5, p. 193-196, 1984.

TRACHTENBERG A, JOBIM LFJ, KRAEMER E et al. The HLA polymorphism in five Brazilian populations. **Ann Human Biology**, v. 15, n. 3, p. 213-221, 1988.

TRAORE A, KORSAGA-SOME N, NIAMBA P, et al. Pityriasis rosea in secondary schools in Ouagadougou, Burkina Faso. **Ann Dermatology Venereol**, v. 128, p. 605-609, 2001.

TROWSDALE J. Genomic structure and function in the MHC. **Trends in Genetics**, v. 9, n. 4, p. 117-122, 1993.

VAN DEN BERG HA, RAND DA. Antigen presentation on MHC molecules as a diversity filter that enhances immune efficacy. **J Theor Biol**, v. 224, p. 249-267, 2003.

VAN ROOD JJ, EERNISSE JG, VAN LEEUWEN. Leucocyte Antibodies in Sera from pregnant women. **Nature**, v. 181, p. 1735-6, 1958.

VAN ROOD JJ, VAN LEEUWEN A. Leukocyte grouping. A method and its application. **Journal of Clinical Investigation**, v. 42, n.9, p. 1382-1390, 1963.

VAN SOMEREN H, WESTERVELD A, HAGEMEIJER A, et al Human antigens and enzyme markers in man-Chinese hamster somatic cell hybrids: evidence for synteny between the HLA, PGM<sub>3</sub>, ME<sub>1</sub> and IPO-B loci. **Proc Nat Acad Sci**, v. 71, n.3, p. 962-965, 1974.

VERBOV J. Purpuric pityriasis rosea. **Dermatologica**, v. 160, p.142-145, 1980.

VIDAL E. Du pityriasis circinéet et margine; description de son mycoderme, lè microsporon anomoeon (microsporon dispar). **Ann de dermat et syph**, v. 3, p. 22-28, 1882.

VIDIMOS AT, CAMISA C: Tongue and cheek: oral lesions in pityriasis rosea. **Cutis**, 50: 276-280, 1992.

VOLLUM DI. Pityriasis rosea in the African. **Trans St Johns Hosp Dermatol Soc**, v. 59, p. 269-271, 1973.

VON BOEHMER H. Mechanisms of suppression by suppressor T cells. **Nature Immunol**, v. 6, n. 4, p. 338-344, 2005.

VULMANOVIC S, NEUBERT T, SANTORI FR. Could TCR antagonism explain associations between MHC genes and disease. **Trends Mol Med**, v. 9 n. 4, p. 139-146, 2003.

WAKE CT, LONG EO, MACH B. Allelic polymorphism and complexity of the genes for HLA-DR  $\beta$ -chains-direct analysis by DNA-DNA hybridization. **Nature**, v. 300, p. 372-374, 1982.

WANDSTRAT A, WAKELAND E. The genetics of complex autoimmune diseases: non-MHC susceptibility genes. **Nat Immunol**, v. 2, n. 9, p. 802-809, 2001.

WATANABE T, KAWAMURA T, JACOB SE, et al. Pityriasis rosea associated with systemic active infection with both human herpesvirus-7 and human herpesvirus-6. **J Invest Dermatol**, v. 119, p. 793-797, 2002.

WEISS RS, LANE CW, SHOWMAN WA. Pityriasis rosea. **Arch Dermatol Syphyol**, v. 15, p. 304-320, 1927.

WHITELEGG A, BALBER LD. The structural basis of T-cell allorecognition. Review Article. **Tissue Antigens**, v. 63, p. 101-108, 2004.

WICKER LS. Major histocompatibility complex-linked control of autoimmunity. **J Exp Med**, v. 186, p. 973-975, 1997.

WILE UJ, COURVILLE CJ. Pityriasis rosea-like dermatitis following gold therapy: report 2 cases. **Arch Dermatol Syph**, v. 42, p. 1105-1112, 1940b.

WILE UJ. Experimental Transmission of Pityriasis Rosea. **Arch Dermat Syph**, v. 16, p. 185, 1927.

WILKIN JK, HAMMOND JJ, KIRKENDALL WM. The captopril induced eruption, a possible mechanism: cutaneous Kinin potentiation. **Arch Dermatol**, v. 116, p. 902-905, 1980.

WITHERSPOON FG, THIBODEAUX DJ. Pityriasis rosea-like drug eruption following smallpox vaccination. **Arch Dermatol**, v. 76, p. 109-110, 1957.

WOLF R, WOLF D, LIVNI E. Pityriasis rósea and ketotifen. **Dermatologica**, v. 171, p. 355-356, 1885.

WONG WR, TSAI CY, SHIH SR, CHUAN HL. Association of pityriasis rosea with human herpesvirus-6 and Human herpesvirus-7 in Taipei. **J Formos Med Assoc**, v. 100, p. 478-483, 2001.

YUNIS, E. J., AMOS, D.B. Three closely linked genetic systems relevant to transplantation. **Proc Nat Acad Sci USA**, v. 68, n.12, p. 3031-3035, 1971.

ZANELLI E, BREEDVELD FC, VRIES RRP. HLA class II association with Rheumatoid arthritis. **Hum Immunol**, v. 61, p. 1254-1261, 2000.

## **ANEXOS**

---

## ANEXO 1

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Universidade Federal do Espírito Santo / UFES

Hospital das Clinicas Cassiano Antonio de Moraes / HUCAM

Serviço de Dermatologia

Av. Marechal Campos, 1355 - Santos Drumond - Vitória, ES.

CEP 29040091 - Tel. (27) 33357324

Universidade Federal do Rio de Janeiro / UFRJ

Hospital Universitário Clementino Fraga Filho

Serviço de Dermatologia

Av. Brigadeiro Trompowsky s/n Ilha do Fundão Rio de Janeiro, RJ.

CEP 21941590 - (21) 25622580

Laboratório de HLA Universidade Estadual do Rio de Janeiro/UERJ

Av. Marechal Rondon 381 -Policlínica Piquet Carneiro, Mangueira

Rio de Janeiro / RJ CEP 20950004 - Tel. (21) 25878164

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Usado para todos os voluntários (pacientes e grupo controle)

#### 1. Proposta e Situação-Problema:

O Sistema HLA compreende um complexo de genes humanos intimamente relacionados, localizados no braço curto do cromossomo 6, responsáveis pela síntese e expressão de glicoproteínas de superfície celular, as moléculas HLA. Esse sistema obedece à segregação Mendeliana clássica, com expressão co-dominante, de modo que o perfil imunogenético de um dado indivíduo é constituído por um par de alelos de um dos genes conhecidos de cada loci HLA. O estudo desse perfil é utilizado com várias finalidades, tais como avaliação da compatibilidade tecidual para transplantes, estudos antropológicos e estudos de susceptibilidade a doenças. Os alelos HLA apresentam freqüências diferentes entre as populações, sendo vários deles altamente predominantes e outros muito poucos freqüentes ou mesmo “ausentes” num mesmo grupo populacional.



- Você poderá agendar, de acordo com sua conveniência, o melhor horário para a coleta do sangue e a entrevista; estes procedimentos não tomarão mais do que 30 minutos do seu tempo.

### 1.3. Riscos / Desconfortos:

- Algumas das questões que constam do questionário podem ser inapropriadas e produzir sentimentos indesejáveis, mas caso você ache necessário poderá interromper a entrevista a qualquer momento;
- Caso você concorde somente em doar o sangue, mas não concorde em ser examinado, assinale essa opção no espaço apropriado no final deste Termo.

### 1.4. Custos para os Entrevistados:

- Você não pagará nenhuma quantia de dinheiro para a participação nestas pesquisas. Os custos relativos à sua tipagem HLA serão totalmente cobertos pelo Projeto de Pesquisa.

## 2. Confidencialidade dos Dados:

- Está garantida a confidencialidade das informações que você fornecer. As informações serão codificadas e mantidas num local reservado, o tempo todo. Somente os pesquisadores terão acesso às informações e questionários. Os dados deste estudo poderão ser discutidos com pesquisadores de outras instituições, mas nenhuma identificação será fornecida.

## 3. Consentimento:

Tendo recebido todos os esclarecimentos necessários, **CONSINTO** em participar deste estudo e [ ] concordo [ ] não concordo em ser examinado clinicamente.

\_\_\_\_\_  
Nome completo do Voluntário

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Voluntário

\_\_\_\_\_  
Nome completo do Entrevistador

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Entrevistador

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

## ANEXO 2

### DOCUMENTO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

#### Usado apenas para os pacientes

##### Título do projeto

Pitiríase Rósea e susceptibilidade genética conferida por HLA: um estudo realizado em pacientes de etnia afro-brasileira.

##### Justificativa

Foi feito o diagnóstico clínico de Pitiríase rósea, que é uma doença inflamatória, de causa desconhecida, caracterizada pelo aparecimento de lesões papulosas, avermelhadas, com discreta descamação, atingindo, principalmente, o tronco, raiz dos membros e pescoço. Regreda espontaneamente geralmente num prazo de 4 meses. O autor, com este trabalho, pretende dar a sua contribuição à ciência na compreensão em relação à causa desta doença, bem como a tendência em adquiri-la. Portanto convidamos você a tomar parte deste estudo clínico - laboratorial desta doença.

##### Procedimento

Após o diagnóstico clínico de pitiríase rósea você poderá ser incluído no trabalho, caso você não tenha usado medicamentos orais anteriores, nos últimos 3 meses. Para isto será necessária, biópsia de pele em 1 lesão com *punch* de 3 mm de diâmetro para confirmação histopatológica do diagnóstico clínico. Esclareço que esta biópsia, apesar de ser de poucos milímetros, deverá ter cuidados de higiene para não infecção, além de poder deixar pequena cicatriz no local.

Solicitaremos exames de rotina como: hemograma, VHS, AEO, proteína C reativa e VDRL. Será necessário fazer também a sorologia para hepatite B, hepatite C e anti-HIV 1 e 2. Este exame, atualmente, faz parte do protocolo dos trabalhos de pesquisa da grande maioria das doenças cuja hipótese de etiologia viral é aventada. Pediremos ainda a tipificação de HLA que é o exame específico para o trabalho. Normalmente, é realizado principalmente nos casos de transplante de órgãos.

Este exame será realizado em um laboratório de imunogenética através da coleta de uma amostra de sangue (10 ml) em jejum. Esclarecemos que o resultado individual do exame será mantido em sigilo pelo pesquisador que só poderá avaliar sua importância no final do trabalho após um estudo comparativo dos dados encontrados. Ressaltamos ainda que você não terá nenhuma despesa, pois ela terá o suporte da Instituição, além da minha participação nos custos.

### **Orientações Gerais**

O médico assistente procurará ainda manter-se informado sobre a evolução da sua doença.

### **Seus direitos**

A participação neste estudo é voluntária. Você não é obrigado a aceitar. O seu tratamento e a atitude do seu médico para com você não serão afetados, caso você decida não participar do estudo. Esta recusa não afetará qualquer benefício que esteja recebendo. Se você decidir participar, é necessário um consentimento por escrito. Mesmo aceitando participar, poderá retirar-se do estudo a qualquer momento; no entanto, para sua segurança, é recomendável que avise ao seu médico sua intenção de fazê-lo. Portanto, enfatizo que você tem a total liberdade de se recusar a participar da pesquisa ou retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado.

### **Formulário de consentimento livre e esclarecido**

1. Li o documento de consentimento livre e esclarecido para este estudo. Recebi as informações necessárias sobre a natureza e propostas do estudo e o que será esperado de mim. Minhas dúvidas foram devidamente esclarecidas.
2. Concordo em participar deste estudo e informarei ao médico sobre a evolução da doença; terei ainda todo direito ao acompanhamento médico para a enfermidade.
3. Informe ao médico sobre todas as doenças e medicamentos anteriores ou atuais e sobre qualquer consulta que tive com outro médico nos últimos 3 meses.

4. Estou ciente de que serei submetido à coleta de material para o projeto de pesquisa, devendo o material ser identificado por letras ou números, estando o resultado à disposição com o médico responsável pelo projeto.
5. Fui informado pelo pesquisador não só dos cuidados que deverei ter no local da biopsia, bem como das complicações que poderão ocorrer tais como: discreto sangramento e infecção na ferida, além de poder deixar pequena cicatriz.
6. Que, no caso de necessidade de pesquisa, este material poderá ser enviado para ser processado em laboratórios do exterior. No entanto não consta em nosso trabalho tal necessidade. Caso no futuro tal fato seja necessário, você será esclarecido antecipadamente e informado para qual laboratório do exterior mandaríamos o seu material.
7. Concordo que os resultados do estudo possam ser comunicados à comunidade científica e publicados em revistas medicas, mantendo sigilo do meu nome e meu endereço.
8. Autorizo os comitês de Ética, locais ou em nível nacional e mesmo estrangeiros, a examinarem, se desejarem, estes registros médicos para confirmação das informações coletadas.

Idade \_\_\_\_\_ Sexo \_\_\_\_\_ Voluntário (paciente)

\_\_\_\_\_  
Nome do voluntário

\_\_\_\_\_  
Assinatura

Investigador \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_ data: \_\_\_\_\_

**ANEXO 3****PROTOCOLO DE INVESTIGAÇÃO UFES**

Universidade Federal do Espírito Santo / UFES  
 Hospital das Clinicas Cassiano Antonio de Moraes / HUCAM  
 Serviço de Dermatologia  
 Av. Marechal Campos, 1355 - Santos Drumond - Vitória, ES.  
 CEP 29040091 - Tel. (27) 33357324

**PROTOCOLO DE INVESTIGAÇÃO****Pacientes PR**

Prontuário:

Data da entrevista:

Caso n°

Nome completo:

Endereço:

CEP:

Telefone:

Data do nascimento:

sexo: Feminino ( ) masculino ( )

Cor fototipo:

Raça etnia: branco ( ) mestiço ( ) negro ( ) índio  
(protocolo de etnia Laboratório HLA / UERJ)

Queixa Principal:

Uso anterior de medicamento oral e ou tópico:

HPP

HPF

Doenças: S ( ) N ( ) pessoal ( ) familiar ( )

Doença pulmonar ( )

Parentesco:

Doença renal ( )

Parentesco:

Hipertensão arterial ( )

Parentesco:

Artrite reumatoide ( )

Parentesco:

Diabetes Mellitus tipo I ( )

Parentesco:

Diabetes Mellitus tipo II ( )

Parentesco:

Vitiligo ( )

Parentesco:

Psoríase ( )

Parentesco:

Líquen plano ( )

Parentesco:

Esclerodermia ( )

Parentesco:

Polimiosite ( )

Parentesco:

Alopecia areata ( )

Parentesco:

Lupus eritematoso ( )

Parentesco:

Tireoidopatia ( )  
Hipertireoidismo ( )

Parentesco:  
Parentesco:

-113077(Parentesco: )JT001 Tc 0.2206 Tw 5.1173 -1.1

**ANEXO 4****PROTOCOLO DE INVESTIGAÇÃO UFES**

Universidade Federal do Espírito Santo / UFES

Hospital das Clinicas Cassiano Antonio de Moraes / HUCAM

Serviço de Dermatologia

Av. Marechal Campos, 1355 - Santos Drumond - Vitória, ES.

CEP 29040091 - Tel. (27) 33357324

**PROTOCOLO DE INVESTIGAÇÃO****Grupo controle**

Prontuário:

Data da entrevista:

Caso n°

Nome completo:

Endereço:

CEP:

Telefone:

Data do nascimento:

sexo: Feminino ( ) masculino ( )

Cor fototipo:

Raça etnia: branco ( ) mestiço ( ) negro ( ) índio

(protocolo de etnia Lab. HLA / UERJ)

Controle do paciente:

Tipo de contato com o paciente PR: esposo ( ) esposa ( ) afetivo ( )

residencial ( ) trabalho ( )

Doenças: S ( ) N ( ) pessoal ( ) familiar ( )

Doença pulmonar ( )

Parentesco:

Doença renal ( )

Parentesco:

Hipertensão arterial ( )

Parentesco:

Artrite reumatoide ( )

Parentesco:

Diabetes Mellitus tipo I ( )

Parentesco:

Diabetes Mellitus tipo II ( )

Parentesco:

Vítiligo ( )

Parentesco:

Psoríase ( )

Parentesco:

Líquen plano ( )

Parentesco:

Esclerodermia ( )

Parentesco:

Polimiosite ( )

Parentesco:

Alopecia areata ( )

Parentesco:

Lupus eritematoso ( )

Parentesco:

Tireoidopatia ( )

Parentesco:

Hipertireoidismo ( )	Parentesco:
Hipotireoidismo ( )	Parentesco:
Bócio ( )	Parentesco:
Outras doenças sistemicas:	
Hanseníase ( )	Parentesco:
Tuberculose ( )	Parentesco:
Outras doenças de pele ( )	Parentesco:

Exame físico

---

---

Exame Dermatológico

---

---

Exames laboratoriais:

Hemograma, VDRL, anti HIV 1 e 2, HbsAg, anti HCV

---

---

---

---

\_\_\_\_\_  
Nome completo do voluntário

\_\_\_\_\_  
Assinatura do voluntário

\_\_\_\_\_  
Nome completo do entrevistador

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Entrevistador

Rio de Janeiro, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

**ANEXO 5****PROTOCOLO DE RAÇA DO LABORATÓRIO DE HLA-UERJ****Laboratório de HLA da Universidade Estadual do Rio de Janeiro/UERJ**

Av. Marechal Rondon 381 Policlínica Piquet Carneiro, Mangueira

Rio de Janeiro / RJ CEP 20950004 tel. (21) 25878164

**PROTOCOLO DE RAÇA DO LABORATÓRIO DE HLA-UERJ****QUESTIONÁRIO PARA TODOS PARTICIPANTES DO ESTUDO**

(Voluntários de ambos os grupos)

**1. IDENTIFICAÇÃO:**

Nome:

Endereço:

CEP:

Telefone:

Data de Nascimento:

Sexo:

Naturalidade:

Escolaridade:

Profissão

Observações:

**2. INFORMAÇÕES QUANTO A MORADIA E LOCAL DE TRABALHO:**

O Local onde você mora é:  uma casa  um apartamento  um sobrado,  
 Construído em  alvenaria  madeira  casa pré-fabricada  outros

\_\_\_\_\_

Possui rede de água e esgoto?  sim  não Eletricidade?  sim  nãoA rua é pavimentada?  sim  não

Obs:

\_\_\_\_\_

Está trabalhando atualmente?  não  sim,  \_\_\_ horas diárias  plantonista

O local onde você trabalha é:  uma casa, apartamento, loja ou escritório com  
 eletricidade, rede de água e esgoto, em rua pavimentada.

 trabalho autônomo, na rua  outro

\_\_\_\_\_

**3. INFORMAÇÕES DE SAÚDE:**Você considera sua saúde:  excelente  boa  regular  ruim

Porquê?

Você fuma?  não ( nunca  parei há \_\_\_\_  sim \_\_\_\_ cigarros/dia

Existem casos, na sua família, de alguma das doenças abaixo? Caso afirmativo

Relacione ao lado o grau de parentesco do portador da mesma e o tempo de evolução:

<b>DOENÇA</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>	<b>PARENTESCO</b>	<b>EVOLUÇÃO</b>
Diabetes, tipo				
Lúpus				
Artrite reumatóide				
Hipertensão				
Doença pulmonar				
Doença dermatológica				
Outras doenças				

#### 4. INFORMAÇÕES SOBRE ORIGEM ÉTNICA

Em que grupo étnico você se classifica?

branco  negro  indígena  oriental  mestiço

Quanto aos seus pais, eles são:

Pai:  branco  negro  indígena  oriental  mestiço

Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Mãe:  branco  negro  indígena  oriental  mestiço

Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Quanto aos seus avós, eles são:

Avô Materno:  branco  negro  indígena  oriental  mestiço

Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Avó Materna:  branco  negro  indígena  oriental  mestiço

Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Avô Paterno:  branco  negro  indígena  oriental  mestiço

Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Avó Paterna:  branco  negro  indígena  oriental  mestiço

Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Quanto aos seus bisavós, eles são:

Pai do Avô Materno:  branco  negro  indígena  oriental  mestiço

Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Mãe do Avô Materno: [ ] branco [ ] negro [ ] indígena [ ] oriental [ ] mestiço

Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Pai da Avó Materna: [ ] branco [ ] negro [ ] indígena [ ] oriental [ ] mestiço

Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Mãe da Avó Materna: [ ] branco [ ] negro [ ] indígena [ ] oriental [ ] mestiço Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Pai do Avô Paterno: [ ] branco [ ] negro [ ] indígena [ ] oriental [ ] mestiço

Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Mãe do Avô Paterno: [ ] branco [ ] negro [ ] indígena [ ] oriental [ ] mestiço Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Pai da Avó Paterna: [ ] branco [ ] negro [ ] indígena [ ] oriental [ ] mestiço

Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Mãe da Avó Paterna: [ ] branco [ ] negro [ ] indígena [ ] oriental [ ] mestiço Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Observações do entrevistador:

---



---



---

\_\_\_\_\_  
Nome completo do voluntário

\_\_\_\_\_  
Assinatura do voluntário

\_\_\_\_\_  
Nome completo do entrevistador

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Entrevistador

Janeiro, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

## ANEXO 6

Tabela Frequência fenotípica de alelos classe I, considerada oficial em populações tidas como saudáveis.

Alelo A*	Frequência Fenotípica %		Alelo B*	Frequência Fenotípica %		Alelo Cw*	Frequência Fenotípica %
	SP* n=239	PR ** n=186		SP* n=186	PR ** n=186		
A*01	13	5,1	<b>B*07</b>	14	8,1	<b>Cw*02</b>	-
A*02	47	22,8	<b>B*08</b>	0,7	3,8	<b>Cw*03</b>	-
A*03	11	9,1	<b>B*13</b>	0,2	-	<b>Cw*04</b>	-
A*11	14	4,3	<b>B*14</b>	13	-	<b>Cw*05</b>	-
A*23	13	4,6	<b>B*15</b>	21	6,7	<b>Cw*06</b>	-
A*24	18	10,2	<b>B*18</b>	0,9	4,5	<b>Cw*07</b>	-
A*25	0,2	-	<b>B*27</b>	0,3	-	<b>Cw*08</b>	-
A*26	10	-	<b>B*35</b>	0,17	8,3	<b>Cw*12</b>	-
A*29	0,8	5,4	<b>B*37</b>	0,1	-	<b>Cw*15</b>	-
A*30	14	-	<b>B*38</b>	0,6	-	<b>Cw*16</b>	-
A*31	0,6	5,1	<b>B*39</b>	0,4	4	<b>Cw*17</b>	-
A*32	0,8	1,3	<b>B*40</b>	0,8	4,8	<b>Cw*18</b>	-
A*33	0,6	-	<b>B*41</b>	0,4	-	-	-
A*34	0,4	-	<b>B*42</b>	0,1	-		
A*36	0,1	-	<b>B*44</b>	22	9,1		
A*43	0	-	<b>B*45</b>	0,4	-		
A*66	0	-	<b>B*46</b>	0			
A*68	0,8	6,4	<b>B*48</b>	0,1			
A*69	0	-	<b>B*49</b>	0,4			
A*74	0,5	-	<b>B*50</b>	0,4	-		
A*80	0	-	<b>B*51</b>	19	7,3		
			<b>B*52</b>	0,5	-		
			<b>B*53</b>	0,8	-		
			<b>B*54</b>	0,1	-		
			<b>B*55</b>	0	-		
			<b>B*56</b>	0,1	-		
			<b>B*57</b>	12	2,7		
			<b>B*58</b>	0,1	-		
			<b>B*59</b>	0	-		
			<b>B*73</b>	0	-		
			<b>B*78</b>	0	-		
			<b>B*81</b>	0	-		
			<b>B*83</b>	0	-		

Fonte: <http://www.allelefrequencies.net/>

Nota "n" tamanho da amostra populacional estudada

SP\* População mista de São Paulo / SSP/ fonte Goldberg *et al.*, Genet Mol Biol, v. 21, n. 3, p. 1-12, 1998.

PR\*\* População mulata de Paraná / SSP/Riz *et al.* Transplantation Proceedings, v. 37, p. 2293, 2004.

B\*\*\* População mista de Pernambuco / SSP/ Nigam P *et al.*, Tissue Antigens, v. 64, p. 204-209, 2004.

Tabela 9. Frequência fenotípica de alelos classe II, considerada como oficial, em populações tidas como saudáveis.

Alelo DRB1*	Frequência Fenotípica %		Alelo DQB1*	Frequência Fenotípica %
	SP* n=239	PR** N=186		
<b>DRB1*01</b>	22,2	9,7	<b>DQB1*02</b>	45
<b>DRB1*03</b>	21,7	7,5	<b>DQB1*03</b>	53,5
<b>DRB1*04</b>	21,8	12,6	<b>DQB1*04</b>	10,1
<b>DRB1*07</b>	21,8	10,5	<b>DQB1*05</b>	38,3
<b>DRB1*08</b>	10	6,7	<b>DQB1*06</b>	47,3
<b>DRB1*09</b>	5,4	-	-	-
<b>DRB1*10</b>	2,9	-		
<b>DRB1*11</b>	23,4	9,4		
<b>DRB1*12</b>	1,3	-		
<b>DRB1*13</b>	27,7	13,7		
<b>DRB1*14</b>	7,5	5,1		
<b>DRB1*15</b>	18	-		
<b>DRB1*16</b>	6,3	2,7		

Fonte: <http://www.allelefrequencies.net/>

Nota "n" tamanho da amostra populacional estudada

SP\*: População mista de São Paulo / SSP/ fonte Goldberg et al., Genet Mol Biol, v. 21, n. 3, p. 1-12, 1998.

PR\*\*: População mulata de Paraná / SSP/ Ruiz TM. Transplantation Proceedings, v. 37, p. 2293, 2005.

## ANEXO 7

PR n=30	idade	sexo	HLA-A	HLA-B	HLA-C	DRB1*	DRB*	DQB1*
ARS	37	F	A*01 A*30	B*44 B*50	Cw*07 Cw*16	DRB1*01 DRB1*14	- DRB3*	DQB1*05 DQB1*06
AP	37	F	A*02 A*23	B*44 B*51	Cw*02 Cw*04	DRB1*01 DRB1*07	- DRB4*	DQB1*02 DQB1*05
AAD	34	F	A*24 A*32	B*35 B*35	Cw*04 blanck	DRB1*11 DRB1*12	DRB3* DRB3*	DQB1*03 blanck
APS	20	F	A*23 A*30	B*35 B*53	Cw*04 Cw*06	DRB1*11 DRB1*13	DRB3* DRB3*	DQB1*05 DQB1*06
AMS	19	F	A*02 blanck	B*35 B*4901	Cw*04 Cw*07	DRB1*04 DRB1*14	DRB4* DRB3*	DQB1*03 DQB1*05
BSS	18	M	A*30 A*33	B*14 B*42	Cw*08 Cw*16	DRB1*01 DRB1*03	- DRB3*	DQB1*04 DQB1*05
DM	38	M	A*23 A*24	B*57 B*58	Cw*06 blanck	DRB1*07 blanck	DRB4* -	DQB1*02 DQB1*03
DCS	26	M	A*68 A*68	B*18 B*40	Cw*07 Cw*03	DRB1*11 DRB1*04	DRB3* DRB4*	DQB1*04 DQB1*03
ER	19	F	A*02 blanck	B*13 B*51	Cw*06 Cw*15	DRB1*03 DRB1*08	DRB3* -	DQB1*02 DQB1*04
EJS	21	F	A*01 A*02	B*48 B*57	Cw*04 Cw*07	DRB1*01 DRB1*09	- DRB4*	DQB1*03 DQB1*05
ERR	26	M	A*02 A*23	Cw*07 Cw*03	Cw*05 Cw*07	DRB1*07 DRB1*12	DRB4* DRB3*	DQB1*02 DQB1*03
ESA	32	F	A*30 A*68	Cw*06 Cw*15	Cw*03 Cw*17	DRB1*01 DRB1*03	- DRB3*	DQB1*04 DQB1*05
JSO	20	M	A*32 A*33	Cw*04 Cw*07	Blanck Cw*02	DRB1*01 DRB1*15	- DRB5*	DQB1*05 DQB1*06
KRM	18	M	A*30 blanck	Cw*05 Cw*07	Cw*04 Cw*17	DRB1*03 DRB1*04	DRB3* DRB4*	DQB1*03 DQB1*04
MS	27	M	A*02 A*23	Cw*03 Cw*17	Cw*03 Cw*06	DRB1*04 DRB1*11	DRB4* DRB3*	DQB1*03 DQB1*05
MCR	23	F	A*02 A*68	Blanck Cw*02	Cw*03 Cw*14	DRB1*08 blanck	- -	DQB1*04 blanck
NPSA	20	F	A*26 A*29	Cw*04 Cw*17	Cw*03 Cw*16	DRB1*01 DRB1*07	- DRB4*	DQB1*02 DQB1*05
MM	31	F	A*03 A*11	B*51 B*58	Cw*06 Cw*16	DRB1*11 DRB1*15	DRB3* DRB5*	DQB1*03 DQB1*06
NB	24	F	A*02 A*31	B*27 B*35	Cw*02 Cw*04	DRB1*04 DRB1*16	DRB4* DRB5*	DQB1*03 DQB1*05
NVP	18	F	A*30 Blanck	B*35 B*53	Cw*04 Cw*04	DRB1*03 DRB1*10	DRB3* -	DQB1*04 DQB1*05
NPS	20	F	A*11 A*33	B*14 B*35	Cw*04 Cw*08	DRB1*01 DRB1*15	- DRB5*	DQB1*05 DQB1*06
PSN	31	F	A*01 A*02	B*08 B*15	Cw*03 Cw*07	DRB1*03 DRB1*14	DRB3* DRB3*	DQB1*02 DQB1*03
RLS	18	F	A*02 A*24	B*1401 B*3505	Cw*04 Cw*08	DRB1*04 DRB1*07	DRB4* DRB4*	DQB1*02 DQB1*03
RP	20	F	A*02 A*74	B*35 B*49	Cw*04 Cw*07	DRB1*07 DRB1*13	DRB4* DRB3*	DQB1*02 DQB1*06
RCR	34	F	A*03 A*68	B*39 B*44	Cw*03 Cw*07	DRB1*07 DRB1*08	DRB4* -	DQB1*02 DQB1*04
SNJ	25	F	A*33 A*68	B*14 B*53	Cw*04 Cw*08	DRB1*01 DRB1*13	- DRB3*	DQB1*03 DQB1*05
SOM	29	F	A*30 A*68	B*15 B*42	Cw*02 Cw*17	DRB1*03 DRB1*13	DRB3* DRB3*	DQB1*04 DQB1*06
VCS	35	F	A*02 A*33	B*51 B*53	Cw*04 Cw*15	DRB1*04 DRB1*11	DRB4* DRB3*	DQB1*03 DQB1*04
VA	24	F	A*03 A*23	B*07 B*35	Cw*04 Cw*07	DRB1*01 blanck	- -	DQB1*05 blanck
WS	21	F	A*24 A*68	B*40 B*51	Cw*02 Cw*14	DRB1*13 blanck	DRB3* DRB3*	DQB1*03 DQB1*06

**Quadro 9** Tipificações HLA dos pacientes com Pitiríase rósea, grupo (PR).  
Método: PCR-/SSP-One Lambda, Inc-CA-USA, kits de baixa resolução. Laboratório HLA-  
UERJ

“n” = 30: referente ao tamanho da amostragem populacional

**ANEXO 8**

PR-C	idade	sexo	HLA-A	HLA-B	HLA-C	DRB1*	DRB*	DQB1*
APS	25	F	A*02 A*24	B*14 B*51	Cw*08 Cw*16	DRB1*11 DRB1*13	DRB3* DRB3*	DQB1*03 DQB1*05
ACO	20	F	A*02 A*03	B*38 B*40	Cw*12 Cw*15	DRB1*07 DRB1*16	DRB4* DRB5*	DQB1*02 DQB1*05
ABS	25	F	A*03 A*68	B*4803 B*58	Cw*04 Cw*06	DRB1*13 DRB1*14	DRB3* DRB3*	DQB1*03 DQB1*06
AC	20	F	A*23 A*30	B*15 B*35	Cw*02 Cw*04	DRB1*01 DRB1*13	- DRB3*	DQB1*05 DQB1*06
AFP	20	F	A*03 A*26	B*07 B*53	Cw*04 Cw*07	DRB1*01 DRB1*11	- DRB3*	DQB1*05 DQB1*06
ALA	27	M	A*01 A*30	B*07 B*37	Cw*06 Cw*15	DRB1*13 blanck	DRB3* -	DQB1*03 DQB1*05
AMJ	23	F	A*02 A*03	B*40 B*44	Cw*03 Cw*04	DRB1*04 DRB1*07	DRB4* DRB4*	DQB1*02 DQB1*03
ASP	20	F	A*02 A*29	B*13 B*45	Cw*06 Cw*16	DRB1*01 DRB1*13	- DRB3*	DQB1*05 blanck
BJX	19	M	A*11 A*23	B*35 B*44	Cw*04 blanck	DRB1*07 DRB1*14	DRB4* DRB3*	DQB1*02 DQB1*05
CLF	35	F	A*23 A*25	B*18 B*81	Cw*12 Cw*18	DRB1*11 DRB1*15	DRB3* DRB5*	DQB1*06 blanck
DN	18	F	A*02 A*29	B*13 B*44	Cw*06 Cw*04	DRB1*08 DRB1*15	- DRB5*	DQB1*03 DQB1*06
DSC	32	F	A*02 A*30	B*40 B*57	Cw*06 blanck	DRB1*11 DRB1*13	DRB3* DRB3*	DQB1*03 DQB1*05
EVF	26	M	A*241.15 Td	Cw*32				

B\*13 Cw\*06 B\*40 D 4.87 5 ( ) J5 Td(DRB3)-5(\*) JJT\*(DRB3)-5(\*) JJJ-0.0007 Tc 6.61 (DRB1)-5(3)-5( ) JJESC\*03  
 3\*44 Cw\*023763\*(blanck) (0) 00032 1.89 52160 DRB1\*05(\*)-5(7)-5( ) JJT\*(DRB1)-5(\*)-5(4)-5( ) JJ8.39 1.15 Td(DRB4)-5(\*) JJT\*(DRB3)-5(\*) JJJ-0.0007 Tc \*(DRB3)-5(\*) RB1\*03  
 31\*17 DRB5\* 7\*44 Cw\*05d(Cw)-DRB1\*13(1)-6(2)-16( ) JJT\*(Cw)-34(\*)-13(1)-6(80.0007 Tc 66( ) JJ-0.0012 Tc 9 1.15 Td(DRB1)-5(\*)-5(1)-5( ) JJT\*(DRB1)-5(\*)-5(5)-5( ) JJ8.39 1.15 Td(DRB3)-5(\*) JJTdT(DRE  
 31\*15  
 \*06 B\*13  
 d(DRB5)-5(2)-5( ) JJ-0.0007 Tc 8\*44 Cw\*023763\*(blanck) (0) 00032 1.89 52160 DRB1\*05(\*)-5(7)-5( ) JJT\*(DRB1)-5(\*)-5(4)-5( ) JJ8.39 1.15 Td(DRB4)-5(\*) JJT\*(DRB3)-5(\*) JJJ-0.0007 Tc \*(DRB3)-5(\*) RB1\*03  
 8\*44 Cw\*12  
 6.0984 Tw 6.31 1.15 Td(32 F)T/TT0 1 Tf0 Tc 0 Tw 21.15

**Quadro 10** Tipificações HLA dos indivíduos pertencentes ao grupo controle (PR-C)  
 Método: PCR-/SSP-One Lambda, Inc-CA-USA, kits de baixa resolução. Laboratório HLA-UERJ  
 “n” = 45: referente ao tamanho da amostragem populacional

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)