

SARA TATIANA MOREIRA

**POSSÍVEL PAPEL PROTETOR DO GENÓTIPO IL6⁻¹⁷⁴GC
NO DENGUE CLÁSSICO**

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ANÁLISES CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE MARINGÁ.

MARINGÁ

2008

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

SARA TATIANA MOREIRA

**POSSÍVEL PAPEL PROTETOR DO GENÓTIPO IL6⁻¹⁷⁴GC
NO DENGUE CLÁSSICO**

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ANÁLISES CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
MARINGÁ.

LABORATÓRIO DE IMUNOGENÉTICA

ORIENTADOR: RICARDO ALBERTO
MOLITERNO

CO-ORIENTADORA: JEANE ELIETE
LAGUILA VISENTAINER

MARINGÁ

2008

CAPÍTULO I

Introdução

Dengue é uma doença infecciosa aguda que se tornou, em áreas tropicais, a mais importante dentre todas as doenças de etiologia viral transmitidas pela picada de mosquitos. É considerada também, dentre todas as arboviroses, a mais importante das últimas três décadas (1,2).

Estima-se que a incidência da doença tenha aumentado trinta vezes nos últimos cinquenta anos e, anualmente, ocorram cerca de 100 milhões de casos de dengue clássico (DC) e 500.000 de dengue hemorrágico (DH) ou síndrome do choque do dengue (SCD) no mundo (3). Os anos de 2001, 2002 e 2003, em especial, foram marcados por epidemias globais sem precedentes na história da doença (4).

Infecções pelo vírus do dengue representam uma significativa causa de morbidade e mortalidade em muitas áreas do mundo, como a Ásia e Américas Central e do Sul (2). O vírus tornou-se endêmico em inúmeros centros urbanos e o aumento acentuado da urbanização tem conferido condições ideais para a proliferação do vetor, bem como para o aumento das infecções pelo vírus em questão (5).

Epidemiologia e transmissão

O vírus do dengue é mantido em um ciclo de transmissão urbana em áreas tropicais e subtropicais pelo mosquito *Aedes aegypti*, uma espécie fortemente relacionada com a habitação humana, mas podem ser transmitidos também pelo *A. albopictus* e *A. scutellaris* (6).

Os primeiros casos de doenças compatíveis com o dengue datam de 1779 e 1780. Durante a segunda guerra mundial, a maioria dos países asiáticos

vivenciou a circulação de múltiplos sorotipos do vírus do dengue, tendo o DH se tornado o principal problema de saúde pública (1).

Nas regiões das Américas, entre 1950 e 1960, por meio de um programa coordenado pelo “Pan American Health Organization”, o *A. aegypti* foi considerado erradicado. Contudo, após os anos 70, novos espécimes foram introduzidos, sendo que desde então o número de países com epidemias de dengue vem aumentando, devido à introdução de novos sorotipos (7).

Atualmente, o dengue apresenta-se como um sério problema de saúde pública no Brasil. Do início ao mês de março de 2007 foram notificados 85.018 casos, sendo 79.732 referentes apenas ao período de janeiro a fevereiro, representando um aumento de 29,58% quando comparado com o mesmo período de 2006. O estado com maior número de casos foi o Mato Grosso do Sul (40.187 casos - 50,4%), seguido por Mato Grosso (5.764 - 7,2%), Rio de Janeiro (4.196 - 5,2%), Paraná (3.815 - 4,7%), Minas Gerais (3.704 - 4,6%) e São Paulo (2.908 - 3,6%) (8). Os demais estados da federação apresentaram baixa incidência da doença.

Etiologia

O vírus do dengue é classificado como RNA-vírus pertencente ao gênero *Flavivirus* (Flaviviridae). Atualmente, são conhecidos quatro sorotipos do vírus, DEN 1, 2, 3 e 4, que se apresentam fortemente relacionados antigenicamente (9-11).

Seu RNA genômico, formado por cerca de 11000 nucleotídeos organizados em fita única de sentido positivo, é traduzido para uma única poliproteína precursora, formada por cerca de 3400 aminoácidos. Essa poliproteína é então processada pela célula hospedeira e por proteases virais, originando 10 diferentes proteínas virais, sendo três estruturais e sete não estruturais (12,13).

As proteínas estruturais são denominadas C (proteína do centro), M (proteína de membrana) e E (proteína do envelope), que conferem uma estrutura tridimensional ao vírus. Um arranjo icosaédrico de 90 dímeros da proteína E forma um envelope protéico que recobre totalmente a membrana viral. Uma vez que esta é a única proteína que se apresenta em contato direto com o meio externo, é a responsável pelas diversas funções biológicas do vírus, bem como

torna-se o principal antígeno desencadeador da resposta imunológica (14,15). As proteínas não estruturais, denominadas coletivamente NS (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b e NS5), participam do processo de replicação do RNA viral (13).

Manifestações clínicas

As infecções pelo vírus do dengue podem ser assintomáticas ou levar ao desenvolvimento de sintomas clínicos, como febre alta bifásica, dor de cabeça parietal, dor retro-orbicular, artralgia, mialgia, náusea e vômito, caracterizando o DC (16,17).

Estudos baseados em populações mostram que a gravidade da doença aumenta com a idade do paciente e com repetidas infecções, sendo que leucopenia e trombocitopenia são manifestações freqüentes nestes pacientes (1).

Menos de 3% dos indivíduos infectados pelo vírus do dengue desenvolvem o DH, classificado em quatro graduações, sendo o grau I o mais brando e o grau IV o mais severo, bem como a SCD (18).

A fase aguda do DH é caracterizada por sintomas similares ao do DC. Entretanto, por volta do terceiro ao sétimo dia após a infecção, quando o paciente com DC teria o início da amenização de seus sintomas, de maneira abrupta o paciente passa a apresentar um contínuo extravasamento endotelial de plasma, hemorragias locais ou generalizadas e coagulopatias, caracterizando assim o DH (19). A gravidade da doença é dada pela liquidez do plasma que extravasa através do endotélio capilar, sem necrose ou inflamação do mesmo (1).

A progressão dos sintomas característicos do DH leva à SCD, marcada pela hipovolemia clinicamente associada à hemoconcentração (20) e a morte.

Nas Américas tropicais, as manifestações do DH são vistas em indivíduos de todas as idades, enquanto na Ásia acomete principalmente crianças (1).

Tratamento e Profilaxia

Não existe, até o presente momento, uma terapia específica para o tratamento da infecção causada pelo vírus do dengue. A recuperação depende exclusivamente dos cuidados médicos dispensados (19), como a administração

de fluidos orais, para compensar a perda de líquidos devido à diarreia e vômito, e analgésicos e antipiréticos para controlar a febre alta. No caso do DH, a reposição pode ser realizada com soro e sangue. Um monitoramento da pressão sanguínea, hematócrito, contagem de plaquetas e manifestações hemorrágicas é importante (21).

Não há vacinas em uso até o presente momento, porém existem estudos em andamento (22). A prevenção consiste no combate ao mosquito e na conscientização da população em relação à limpeza dos quintais, evitando a reprodução do vetor (6).

Patogenia e resposta imune

A infecção pelo vírus do dengue ocorre em decorrência da picada do mosquito *A. aegypti*, durante seu período de alimentação. O primeiro mecanismo de defesa do organismo humano consiste na ativação da resposta imune inata, cuja eficiente atuação pode impedir o progresso da infecção.

A infecção se dá através da ligação do vírus à célula alvo. O vírus liga-se a fatores ou a receptores na superfície celular, que medeiam sua entrada via endocitose. Mudanças conformacionais na glicoproteína E levam à fusão das membranas virais e endossômicas (23).

Uma vez que a inoculação do vírus ocorre através da pele, as primeiras células alvo para a infecção seriam as células dendríticas dérmicas e intersticiais, localizadas no epitélio, sendo este o local da primeira replicação viral (24). É conhecido que monócitos ou macrófagos também atuam como células alvo; entretanto, estudos revelam que a infecção de células dendríticas pelo vírus do dengue é dez vezes mais fácil que em monócitos ou macrófagos (25).

No sentido de erradicar a infecção, as células dendríticas imaturas infectadas, presentes no epitélio, migram para os linfonodos de drenagem linfática, durante seu processo de maturação. Os antígenos são processados e convertidos em peptídeos, que por sua vez são apresentados aos linfócitos T no contexto das moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) classe I e II (26).

A ativação das células *Natural Killer* também parece contribuir eficientemente para impedir a infecção viral, embora sejam ainda pouco conhecidos os

mecanismos através dos quais elas realizam este processo. Sabe-se, entretanto, que podem matar células infectadas por meios citotóxicos ou reconhecendo e induzindo a lise de células recobertas por anticorpos (27).

Os granulócitos, principalmente os neutrófilos, assim como a ativação do sistema complemento, são outros elementos importantes envolvidos na imunidade inata frente ao dengue. A produção de Interferon por algumas células (como as dendríticas) em resposta a infecção seria outro importante mecanismo para impedir a replicação viral (28,29).

Uma vez que ocorra uma desregulação em alguns dos mecanismos citados, a barreira imunológica conferida pela resposta inata se torna ineficiente para impedir a progressão da infecção viral.

Estudos revelam que uma vez tendo infectado a célula, o vírus pode induzir apoptose celular, através da produção de proteínas virais. A conseqüente fagocitose dos resíduos apoptóticos, permitiria a infecção de novas células pela progênie viral, com conseqüente disseminação do mesmo. Isso minimizaria a ação da imunidade inata (30).

Tendo a resposta imune inata sido não efetiva na contenção da infecção e as células dendríticas sido eficientes em apresentar epítomos virais no contexto do MHC I e II, entra em cena a resposta imunológica adaptativa.

Os vírus do dengue realizam sua replicação nos linfonodos regionais, bem como em fibroblastos e em células musculares estriadas e lisas. Posteriormente, é produzida viremia e ocorre uma disseminação por todo o organismo, sendo que os vírus permanecem livres no plasma ou alojam-se no interior de monócitos/macrófagos e linfócitos B (31).

Para o controle do dengue, tem importância a resposta imune humoral. Os anticorpos se ligam principalmente a epítomos da proteína E do vírus, impedindo a ligação e conseqüente entrada do mesmo nas células, ou induzindo a lise viral, através da ativação do sistema complemento. As imunoglobulinas também formam complexos com as proteínas NS1 e M, mas em menor grau (32). NS1 é expressa na superfície de células infectadas, além de ser secretada para a circulação (33). Anticorpos contra a proteína NS1 promovem lise de células infectadas mediante fixação de complemento (34). Anticorpos monoclonais contra a proteína M apresentam papel protetor, entretanto o mecanismo através do qual

isso ocorre ainda é desconhecido (35). Os anticorpos podem ainda mediar fenômenos de citotoxicidade por linfócitos.

Assim como ocorre para com inúmeras outras viroses, a resposta celular frente ao vírus do dengue é direcionada contra múltiplas proteínas virais. Estudos revelam que a proteína NS3 seria a mais imunogênica dentre todas (36). As proteínas C, M, E, NS1, NS4b e NS5 também são imunogênicas, mas em menor grau (12, 31, 37, 38).

Linfócitos T CD4⁺ lisam células infectadas com o vírus do dengue portando moléculas HLA de classe II. Essas células também produzem IFN- γ , IL-2 e o fator estimulador de colônias de macrófagos e granulócitos. Já linfócitos T CD8⁺ lisam células infectadas pelo vírus portando moléculas HLA de classe I.

Estudos *in vitro* mostram que linfócitos T produzidos contra o vírus do dengue produzem predominantemente altos níveis de IFN- γ , TNF- α , TNF- β e quimiocinas, como a proteína inibitória de macrófago-1 β , eficientes em lisar células infectadas (39,40).

Ainda permanece desconhecido o grau de contribuição da resposta celular em conferir proteção a longo prazo induzida pela primeira infecção viral. Entretanto, poucos são os estudos que evidenciam uma associação entre respostas de linfócitos T e proteção contra a doença (38).

A proteção conferida pelos anticorpos oriundos da primeira infecção estaria relacionada aos quatro sorotipos virais, uma vez que estes apresentam 65 a 70% de homologia entre suas seqüências gênicas. Entretanto, ela passa a decrescer seis meses após a infecção, tornando assim o indivíduo susceptível a novas infecções por quaisquer um dos demais sorotipos (41). Halstead *et al.* (42,43) observaram, em estudos soropidemiológicos realizados na Tailândia, uma associação entre a segunda infecção pelo vírus do dengue e um aumento no risco do desenvolvimento de DH. Estudos posteriores confirmaram essa hipótese (44-47). A infecção primária pelo vírus DEN-1 seguida por DEN-2 ou DEN-1 seguida por DEN-3 mostrou-se capaz de induzir DH e/ou SCD (4,48).

Os mecanismos imunopatológicos desencadeadores do DH permanecem ainda não totalmente esclarecidos, tendo sido formuladas diversas hipóteses. Acredita-se que variantes do vírus do dengue, com diferentes graus de virulência, causariam as diferentes manifestações do dengue. Assim, cepas mais virulentas

levariam a patogênese do DH e/ou SCD (20). Rico-Hesse *et al.* (49) verificaram que diferenças entre cepas virais seriam importantes na determinação da incidência do DH. Outra hipótese formulada seria a do agravamento da infecção viral dependente de anticorpo (Antibody-dependent enhancement of dengue vírus infection - ADE). Resíduos de anticorpos específicos, em sua maioria contra a glicoproteína E viral, produzidos na infecção prévia, se ligariam ao vírus em uma segunda infecção heterosorotípica sem neutralizá-los. O complexo vírus-anticorpo facilitaria a internalização viral em células portadoras de receptores Fc, como monócitos e macrófagos, contribuindo para um posterior aumento da replicação viral e culminado com a patogênese do DH e/ou SCD (50-52). Este fato levaria à ativação de células T e produção de citocinas (31,53).

Noventa por cento dos casos de DH ocorrem em decorrência de infecções secundárias causadas por um tipo heterólogo de vírus, enquanto 10% ocorrem em decorrência de uma infecção primária, observada predominantemente em crianças no segundo semestre de vida, nascidas de mães que já apresentaram dengue. Sendo assim, postulou-se que a mãe transmitiria para o bebê seus anticorpos contra o vírus do dengue via placenta. Em uma primeira infecção viral, a criança desenvolveria a ADE em decorrência da presença dos anticorpos maternos (54).

Citocinas pró-inflamatórias possuem um papel importante na patogênese da infecção pelo dengue. IFN- γ liberado por linfócitos T ativados pode agravar a doença, levando a um aumento da expressão de receptores para fragmento Fc de IgG e moléculas HLA em células apresentadoras de antígeno. A expressão alterada de moléculas HLA permite o reconhecimento de um número maior de epítopos virais por linfócitos CD4 e CD8, com conseqüente liberação de outras citocinas. Níveis elevados de TNF- α foram observados em indivíduos com dengue (55) e naqueles com a forma hemorrágica (56). A ação dessa citocina sobre células inflamatórias e endoteliais contribui com a trombocitopenia e induz a liberação de IL-8, responsável pelo aumento da permeabilidade vascular (57).

Monócitos/macrófagos demonstram ser os alvos principais do vírus do dengue, contudo estudos indicam que a replicação viral também ocorre em linfócitos B (60,61), devido a presença de receptores para fragmento Fc. Monócitos/macrófagos ativados liberam tromboplastina e proteases ativadoras do complemento, causadoras de lise celular e choque (62), assim como IL-1, que

ativa linfócitos T (63). Linfócitos B ativados também podem secretar citocinas como a IL-6 e o TNF- α (61), que afetam células endoteliais (64).

Em pacientes infectados pelo vírus do dengue, níveis elevados de IL-6 foram correlacionados com uma deficiência no fator XII da coagulação e com altos níveis de componentes fibrinolíticos, como o ativador de plasminogênio, e de auto-anticorpos anti-plaquetas e anti-células endoteliais (65).

Alguns autores sugerem um padrão de citocinas produzidas por linfócitos Th1 em indivíduos com DC e um padrão de citocinas produzidas por linfócitos Th2 em pacientes com a forma hemorrágica da doença. Estes autores observaram, principalmente, uma maior produção de IL-4, IL-6 e IL-10 em casos de DH e de IFN- γ e IL-2 em casos de DC (66).

Outras citocinas também se apresentam associadas à gravidade da doença. IL-12 desempenha um papel na proteção contra a forma mais grave da doença, por manter uma resposta do tipo Th1 (67). IL-18 correlaciona-se à forma mais grave da doença, embora seja indutora de Th1. Na realidade, o papel indutor de Th1 ou Th2 depende do tipo celular em que a citocina atua (66). TGF- β 1 é uma citocina imunossupressora, associada tanto a gravidade do dengue como a sua duração. Níveis máximos desta citocina foram observados em pacientes com a forma hemorrágica da doença (68).

Fatores de risco para infecção e gravidade da doença

Os fatores de risco para infecção e gravidade do dengue podem ter origem ambiental. A re-infestação de uma região com *A. aegypti* ou a introdução de um novo sorotipo onde a imunidade da população é baixa são claros fatores que levam a um aumento de transmissão do vírus. No entanto, outros fatores podem estar interagindo e contribuindo para uma flutuação na incidência da doença. Um clima mais quente e úmido geralmente está associado a um aumento de transmissibilidade do vírus. Temperatura, umidade, densidade e sobrevivência da população do mosquito, densidade das populações humanas, tipos de vírus, imunidade específica para os sorotipos de vírus, *habitat* humano e características das moradias interagem, influenciando no risco da doença.

Além da influência exercida pelos fatores ambientais sobre a doença, fatores genéticos possuem extrema importância na manifestação da mesma, uma vez que em áreas endêmicas somente uma pequena proporção dos indivíduos desenvolve a forma mais grave da doença. Essas observações conduziram diversos pesquisadores ao estudo das bases genéticas do dengue e suas manifestações. Nishimura *et al.* (69) sugeriram um papel imunossupressor de HLA-DQ1 na resposta imune ao vírus do dengue, enquanto Polizel *et al.* (71) observaram uma maior susceptibilidade ao desenvolvimento do dengue em indivíduos portadores das moléculas HLA-DQ1. La Fleur *et al.* (70) sugeriram HLA-DR4 como um fator protetor contra o DH. A importância do sistema HLA na susceptibilidade a doenças é bastante conhecida. Ele participa efetivamente da resposta imune promovendo a interação entre os epítomos de um dado patógeno e o repertório de linfócitos T do hospedeiro. Assim, os diferentes repertórios HLA dos indivíduos, permitem aos mesmos responderem de forma diferente ao mesmo antígeno.

Polimorfismos em regiões reguladoras de genes de citocinas foram recentemente descritos e parecem estar correlacionados com a sua produção (72-79). Devido à influência exercida na produção de citocinas, estes polimorfismos podem conferir flexibilidade na resposta imune. A presença de certos genótipos pode influenciar o curso de infecções virais e bacterianas (80-85). Numerosos estudos têm associado estes polimorfismos à susceptibilidade ou resistência a doenças auto-imunes (74,86,87), a processos de rejeição após o transplante de órgãos sólidos (75,88,89) e à doença do enxerto contra o hospedeiro pós-transplante de medula óssea (90-95).

Níveis de citocinas têm sido relacionados com a gravidade do dengue, como mostrado por Gagnon *et al.* e Chen *et al.* (96,97). Sendo a produção destas proteínas determinada geneticamente, torna-se importante o estudo do polimorfismo de genes de citocinas e sua relação com a susceptibilidade ou resistência ao dengue. Entretanto, são escassos os estudos que apresentam essa abordagem. Fernandez-Mestre *et al.* (82) sugerem a presença do alelo TNF-308 A como possível fator de risco para manifestações hemorrágicas em pacientes com dengue.

Portanto, outros estudos de associação entre polimorfismos em genes de citocinas e o desenvolvimento do dengue devem ser realizados, permitindo a

identificação de marcadores de susceptibilidade ou resistência à doença, com conseqüente caracterização dos indivíduos susceptíveis.

Como o padrão de produção de citocinas em indivíduos que evoluem para formas mais graves parece bem estabelecido, a determinação de variantes dos genes de citocinas em indivíduos que desenvolveram DC poderia informar ao clínico o risco de um paciente com dengue evoluir para uma forma mais grave da doença, permitindo assim um tratamento mais direcionado e personalizado. As informações obtidas também servirão de referência para futuras investigações da resposta imunitária em casos de DH e SCD.

Objetivo

Objetivo geral

Este estudo tem por objetivo investigar a influência de polimorfismos em regiões reguladoras de genes de citocinas na susceptibilidade e/ou resistência ao dengue, numa população da região sul do Brasil.

Objetivos específicos

- 1) Identificar os alelos dos genes TNF^{-308} , $IFNG^{+874}$, $IL6^{-174}$, $IL10^{-1082,-819,-592}$ e $TGFB1^{+869,+915}$ em uma população de indivíduos que desenvolveram o dengue e numa população de indivíduos controles da região sul do Brasil, usando a técnica de PCR-SSP;
- 2) Estimar as frequências alélicas, genóticas e fenóticas para estes *loci* polimórficos nessas populações;
- 3) Verificar a conformidade das proporções genóticas, com respeito às expectativas em equilíbrio de Hardy-Weinberg;
- 4) Avaliar, através de um estudo caso-controle, uma possível associação entre os alelos, genótipos e fenótipos de genes de citocinas e o desenvolvimento do dengue.

Referências bibliográficas

1. Rigau-Pérez JG, Clark GG, Gubler DJ, Reiter P, Sanders EJ, Vorndam AV. Dengue and dengue haemorrhagic fever. *Lancet*. 1998;352:971-7.
2. Gubler DJ. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. *Trends Microbiol*. 2002;10:100-3.
3. World Health Organization. Dengue Haemorrhagic fever: diagnosis, treatment and control. Geneva: WHO; 1997.
4. Chaturvedi UC, Shrivastava R. Dengue haemorrhagic fever: a global challenge. *Indian J Med Microbiol*. 2004;22: 5-6.
5. Rice CM. Flaviviridae: the viruses and their replication *In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM eds. Field's Virology, 3^a ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p.931-59.*
6. Figueiredo LTM, Fonseca BAL. Dengue. *In: Veronesi R, Focaccia R. (eds) Tratado de Infectologia. São Paulo: Atheneu; 1996. p.201-14.*
7. da Silva AM, Teodoro U. Dinâmica da reinfestação de *Aedes aegypti* no Estado do Paraná, Sul do Brasil. Maringá, 2005 (Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual de Maringá).
8. Ministério da Saúde, 2007. Situação da Dengue no Brasil – 2007 (Atualizada em 12/03/2007). http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area.cfm?id_area=920 (capturado em 11/09/2007).
9. Sabin AB, Schlesinger RW. Production of immunity to Dengue virus modified by propagation in mice. *Science*. 1945;101:640-42.
10. Harmon WMcD, Rudnick A, Sather GE. Virus associated with epidemic hemorrhagic fevers of Philippines and Thailand. *Science*. 1960;131:1102-3.
11. Brown F. The classification and nomenclature of viruses: summary of Meetings of the International Committee on Taxonomy of Viruses in Sendai, September 1984. *Intervirol*. 1986;25:141-43.
12. Chambers TJ, Hahn CS, Galler R, Rice CM. Flavivirus genome organization, expression, and replication. *Annu Rev Microbiol*. 1990; 44:649-88.
13. Kapoor M, Zhang L, Ramachandra M, Kusukawa J, Ebner KE, Padmanabhan R. Association between NS3 and NS5 proteins of dengue virus type 2 in the

- putative RNA replicases is linked to differential phosphorylation of NS5. *J Biol Chem.* 1995; 270:19100-6.
14. Innis BL, Thirawuth V, Hemachudha C. Identification of continuous epitopes of the envelope glycoprotein of dengue type 2 virus. *Am J Trop Med Hyg.* 1989; 40:676-87.
 15. Modis Y, Ogata S, Clements D, Harrison SC. Structure of the dengue virus envelope protein after membrane fusion. *Nature.* 2004;427:313-9.
 16. Henchal EA, Putnak JR. The dengue viruses. *Clin Microbiol Rev.* 1990;3:376-96.
 17. Cobra C, Rigau-Pérez JG, Kuno G, Vorndam V. Symptoms of dengue fever in relation to host immunologic response and virus serotype. *Am J Epidemiol.* 1995;142:1204-11.
 18. Halstead SB. Immunological parameters of togavirus disease syndromes In: *The togaviruses biology, structure, replication* Schlesinger RW, ed. New York: Academic Press; 1980. p.107-173.
 19. Navarro-Sánchez E, Després P, Cedillo-Barrón L. Innate Immune Responses to Dengue Virus. *Arch Med Res.* 2005;36:425-35.
 20. Lei HY, Yeh TM, Liu HS, Lin YS, Chen SH, Liu CC. Immunopathogenesis of Dengue Virus Infection. *J Biomed Sci.* 2001;8:377-88.
 21. Zagne SMO, Tavares AA, Zagne VO. Dengue: Conduta no Acompanhamento de Pacientes. *J Bras Med.* 1999;77:36-43.
 22. Barrett AD. Current status of flavivirus vaccines. *Ann N Y Acad Sci.* 2001;951:262-71.
 23. Després P, Frenkiel MP, Deubel V. Differences between cell membrane fusion activities of two dengue type-1 isolates reflect modifications of viral structure. *Virology.* 1993;196:209-19.
 24. Taweechaisupapong S, Sriurairatana S, Angsubhakorn S, Yoksan S, Bhamarapavati N. In vivo and in vitro studies on the morphological change in the monkey epidermal Langerhans cells following exposure to dengue 2 (16681) virus. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1996;27:664-72.
 25. Wu SJ, Grouard-Vogel G, Sun W, Mascola JR, Brachtel E, Putvatana R, et al. Human skin Langerhans cells are targets of dengue virus infection. *Nat Med.* 2000;6:816-20.

26. Liu YJ, Kanzler H, Soumelis V, Gilliet M. Dendritic cell lineage, plasticity and cross-regulation. *Nat Immunol.* 2001;2:585-9.
27. Yokoyama WM, Kim S, French AR. The dynamic life of natural killer cells. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:405-29.
28. Kadowaki N, Liu YJ. Natural type 1 interferon-producing cells as a link between innate and adaptative immunity. *Hum Immunol.* 2002;63:1126-32.
29. Chang TH, Liao CL, Lin YL. Flavivirus induces interferon-beta gene expression through a pathway involving RIG-I-dependent IRF-3 and PI3K-dependent NF-kappaB activation. *Microbes Infect.* 2006;8:157-71.
30. Courageot MP, Catteau A, Despres P. Mechanism of dengue virus-induced cell death. *Adv Virus Res.* 2003;60:157-86.
31. Kurane I, Ennis FE. Immunity and immunopathology in dengue virus infections. *Sem Immunol.* 1992;4:121-7.
32. Roehrig JT, Bolin RA, Kelly RG. Monoclonal antibody mapping of the envelope glycoprotein of the dengue 2 virus, Jamaica. *Virology.* 1998;246:317-28.
33. Young PR, Hilditch PA, Bletchly C, Halloran W. An antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. *J Clin Microbiol.* 2000;38:1053-7.
34. Schlesinger JJ, Brandriss MW, Walsh EE. Protection of mice against dengue 2 virus encephalitis by immunization with the dengue 2 virus non-structural glycoprotein NS1. *J Gen Virol.* 1987;68:853-7.
35. Kaufman BM, Summers PL, Dubois DR, Cohen WH, Gentry MK, Timchack RL, *et al.* Monoclonal antibodies for dengue virus prM glycoprotein protect mice against lethal dengue infection. *Am J Trop Med Hyg.* 1989;41:576-80.
36. Kurane I, Brinton MA, Samson AL, Ennis FA. Dengue virus-specific, human CD4⁺ CD8⁻ cytotoxic T-cell clones multiple patterns of virus cross-reactivity recognized by NS3-specific T-cell clones. *J Virol.* 1991;65:1823-8.
37. Henschal EA, Henschal LS, Schlesinger JJ. Synergistic interactions of anti-NS1 monoclonal antibodies protect passively immunized mice lethal challenge with dengue-2 virus. *J Gen Virol.* 1998;69:2101-7.
38. Rothman AL. Dengue: defining protective versus pathologic immunity. *J Clin Invest.* 2004; 13:946-51.
39. Zivny J, Kurane I, Leporati AM, Ibe M, Takigushi M, Zeng LL, *et al.* A single nine-amino acid peptide induces virus-specific, CD8⁺ human cytotoxic T

- lymphocyte clones of heterogeneous serotype specificities. *J Exp Med.* 1995;182:853-63.
40. Gagnon SJ, Ennis FA, Rothman AL. Bystander target cell lysis and cytokine production by dengue virus-specific human CD4⁺ cytotoxic T lymphocyte clones. *J Virol.* 1999;73:3623-9.
 41. Halstead SB. Neutralization and antibody-dependent enhancement of dengue viruses. *Adv Virus Res.* 2003;60:421-67.
 42. Halstead SB, Nimmannitya S, Cohen SN. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever IV. Relation of disease severity to antibody response and virus recovered. *Yale J Biol Med.* 1970;42:311-28.
 43. Halstead SB. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever IV. Hypotheses and discussion *Yale J Biol Med.* 1970;42:350-62.
 44. Sangkawibha N, Rojanasuphot S, Ahandrik S, Viriyapongse S, Jatanasen S, Salitul V, *et al.* Risk factors in dengue shock syndrome: a prospective epidemiologic study in Rayong, Thailand. I. The 1980 outbreak. *Am J Epidemiol.* 1984;120:653-69.
 45. Burke DS, Nisalak A, Johnson DE, Scott RM. A prospective study of dengue infections in Bangkok. *Am J Trop Med Hyg.* 1988;38:172-80.
 46. Guzman MG, Kouri GP, Bravo J, Soler M, Vazquez S, Morier L. Dengue hemorrhagic fever in Cuba, 1981: a retrospective seroepidemiologic study. *Am J Trop Med Hyg.* 1990;42:179-84.
 47. Thein S, Aung MM, Shwe TN, Aye M, Zaw A, Aye K, *et al.* Risk factors in dengue shock syndrome. *Am J Trop Med Hyg.* 1997;56:566-72.
 48. Chaturvedi UC, Shrivastava R, Nagar R. Dengue vaccines: prospects and problems. *Indian J Med Res.* 2005;121:639-52.
 49. Rico-Hesse R, Harrison LM, Salas RA, Tovar D, Nisalak A, Ramos C, *et al.* Origins of dengue type 2 viruses associated with increase pathogenicity in the Américas. *Virology.* 1997;230:244-51.
 50. Halstead SB, O'Rourke EJ. Dengue viruses and mononuclear phagocytes. Infection enhancement by non-neutralizing antibody. *J Exp Med.* 1977;146:201-17.
 51. Cardoso, M. J. Dengue virus isolation by antibody-dependent enhancement of infectivity in macrophages. *Lancet.* 1987;24:193-4.

52. Halstead SB. Antibody, macrophages, dengue virus infection, shock, and hemorrhage: a pathogenetic cascade. *Rev Infect Dis.* 1989;11:830-9.
53. Rhotman AL, Ennis FA. Immunopathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Virology.* 1999;257:1-6.
54. Kilks SC, Nimmanitya S, Nisalak A, Burke DS. Evidence that maternal dengue antibodies are important in the development of dengue hemorrhagic fever in infants. *Am J Trop Med Hyg.* 1988;38:411-9.
55. Hober D, Poli L, Roblin B, Gestas P, Chungue E, Granic G, *et al.* Serum levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-1 beta (IL-1 beta) in dengue-infected patients. *Am J Trop Med Hyg.* 1993;48:324-31.
56. Braga ELA, Moura P, Pinto LMO, Ignácio SRN, Oliveira MJC, Cordeiro MT, *et al.* *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001;96:229-32.
57. Huang YH, Lei HY, Liu HS, Lin YS, Liu CC, Yeh Tm. Dengue virus infects human endothelial and induces IL-6 and IL-8 production. *Am J Trop Med Hyg.* 2000;63:71-5.
58. Avirutnan P, Malasit P, Selinger B, Bhakdi S, Husmann M. Dengue virus infection of human endothelial cells leads to chemokine production, complement activation, and apoptosis. *J Immunol.* 1998;161:6338-46.
59. Bosch I, Khaja K, Estevez L, Raines G, Melichar H, Warke RV, *et al.* Increased production of interleukin-8 in primary human monocytes and in human epithelial and endothelial cell line after dengue virus challenge. *J Virol.* 2002;76:5588-97.
60. King AD, Nisalak A, Kalayanrooj S, Myint KS, Pattanapanyasat K, Nimmanitya S, *et al.* B cells are the principal circulating mononuclear cells infected by dengue virus. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1999;30:718-28.
61. Lin YW, Wang KJ, Lei HY. Virus replication and cytokine production in dengue virus-infected human B lymphocytes. *J Virol.* 2002;76:12242-9.
62. Monath TP, Pathology of the Flaviviruses. *In: Schlisenger M. The Togaviridae and Flavaviridae.* New York: Plenum; 1986. p.375-424.
63. Chang DM, Shaio MF. Production of interleukin-1 (IL-1) and IL-1 inhibitor by human monocytes exposed to dengue virus. *J Infect Dis.* 1994;170:811-7.

64. Anderson R, Wang S, Osiowy C, Issekutz AC. Activation of endothelial cells via antibody-enhanced dengue virus infection of peripheral blood monocytes. *J Virol.* 1997;71:4226-32.
65. Citarella F, Felici A, Brouwer M, Wagstaff J, Fantoni A, Hack CE. Interleukin-6 downregulates factor XII production by human hepatoma cell line (HepG2). *Blood.* 1997;90:1501-7.
66. Chaturvedi UC, Agarwal R, Elbishbishi EA, Mustafa AS. Cytokine cascade in dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis. *Fems Immunol Med Microbiol.* 2000;28:183-8.
67. Komastu T, Ireland DDC, Reis CS. IL-12 and viral infections. *Cytokine growth factor Rev.* 1998;9:277-85.
68. Agarwal R, Elbishbishi EA, Chaturvedi UC, Nagar R, Mustafa AS. Profile of transforming growth factor-beta 1 in patients with dengue haemorrhagic fever. *Int J Exp Pathol.* 1999;80:143-9.
69. Nishimura Y, Kamikawaji N, Fujisawa K, Yoshizumi H, Yasunami M, Kimura A, *et al.* Genetic control of immune response and disease susceptibility by HLA-DQ gene. *Res Immunol.* 1991;142:559-66.
70. LaFleur C, Granados J, Vaegas-Alarcon G, Ruíz-Morales J, Villarreal-Garza C, Higuera L *et al.* HLA-DR antigen frequencies in Mexican patients with dengue virus infection: HLA-DR4 as a possible genetic resistance factor for dengue hemorrhagic fever. *Human Immunol.* 2002;63:1039-44.
71. Polizel JR, Bueno D, Visentainer JEL, Sell AM, Borelli SD, Tsuneto LT *et al.* Association of Human Leukocyte Antigen DQ1 and Dengue Fever in a White Southern Brazilian Population. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004;99:559-62.
72. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt Ho, Duff Gw. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:3195-9.
73. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet.* 1997;24:1-8.
74. Fishman D, Faulds G, Jeffry R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, *et al.* The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest.* 1998;102:1369-76.

75. Awad MR, El-Gamel A, Hasleton P, Turner DM, Sinnott PJ, Hutchinson IV. Genotypic variation in the transforming growth factor- β 1 gene. *Transplantation*. 1998;66:1014-20.
76. Pravica V, Asderakis A, Perrey C, Hajeer A, Sinnott PJ, Hutchinson IV. In vitro production of IFN-gamma correlates with CA repeat polymorphism in the human IFN-gamma gene. *Eur J Immunogenet*. 1999;26:1-3.
77. Meenagh A, Williams F, Ross OA, Patterson C, Gorodezky C, Hammond M, *et al*. Frequency of cytokine polymorphisms in populations from Western Europe, Africa, Asia, the Middle East and South America. *Hum Immunol*. 2002;63:1055-61.
78. Warlé MC, Farhan A, Metselaar HJ, Hop WC, Perrey C, Zondervan PE, *et al*. Are Cytokine Gene Polymorphisms Related to In Vitro Cytokine Production Profiles? *Liver Transpl*. 2003;9:170-81.
79. Yilmaz V, Yentür SP, Saruhan-Direskeneli G. IL-12 and IL-10 polymorphisms and their effects on cytokine production. *Cytokine*. 2005;30:188-94.
80. Mira JP, Cariou A, Grall F, Delclaux C, Losser MR, Heshmati F, *et al*. Association of TNF2, a TNF-alpha promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality: a multicenter study. *JAMA*. 1999;282:561-8.
81. Read RC, Camp NJ, Di Giovine FS, Borrow R, Kaczmarek EB, Chaudhary AG, *et al*. An interleukin-1 genotype is associated with fatal outcome of meningococcal disease. *J Infect Dis*. 2000;182:1557-60.
82. Fernández-Mestre MT, Gendzekhadze K, Rivas-Vetencourt P, Layrisse Z. TNF-alpha-308A allele, a possible severity risk factor of hemorrhagic manifestation in dengue fever patients. *Tissue Antigens*. 2004;64:469-72.
83. Ribeiro CS, Visentainer JE, Moliterno RA. Association of cytokine genetic polymorphism with hepatitis B infection evolution in adult patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;102:435-40.
84. Chen TY, Hsieh YS, Wu TT, Yang SF, Wu CJ, Tsay GJ, *et al*. Impact of serum levels and gene polymorphism of cytokines on chronic hepatitis C infection. *Transl Res*. 2007;150:116-21.

85. Chan HL, Tse AM, Chim AM, Wong VW, Choi PC, Yu J, *et al.* Association of cytokine gene polymorphisms and liver fibrosis in chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol* 2007 *in press*.
86. Bidwell J, Keen L, Gallagher G, Kimberly R, Huizinga T, McDermott MF, *et al.* Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes Immun.* 1999;1:3-19.
87. Rood MJ, van Krugten MV, Zanelli E, van der Linden MW, Keijsers V, Schreuder GM, *et al.* TNF-308A and HLA-DR3 alleles contribute independently to susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2000;43:129-34.
88. Marshal SE, McLaren AJ, McKinney EF, Bird TG, Haldar NA, Bunce M, *et al.* Donor cytokine genotype influences the development of acute rejection after renal transplantation. *Transplantation.* 2001;71:469-76.
89. Fernandes H, Koneru B, Fernandes N, Hameed M, Cohen MC, Raveche E, *et al.* Investigation of promoter polymorphisms in the tumor necrosis factor- α and interleukin-10 genes in liver transplant patients. *Transplantation.* 2002;73:1886-91.
90. Takahashi H, Furukawa T, Hashimoto S, Suzuki N, Kuroha T, Yamazaki F, *et al.* Contribution of TNF- α and IL-10 gene polymorphisms to graft-versus-host disease following allo-hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2000;26:1317-23.
91. Cavet J, Dickinson AM, Norden J, Taylor PR, Jackson GH, Middleton PG. IFN- γ and interleukin-6 gene polymorphisms associate with graft-versus-host disease in HLA-matched sibling bone marrow transplantation. *Blood.* 2001;98:1594-600.
92. Dickinson AM, Cavet J, Cullup H, Wang XN, Sviland L, Middleton PG. GvHD risk assessment in haematopoietic stem cell transplantation: role of cytokine gene polymorphisms and an in vitro human skin explant model. *Hum Immunol.* 2001;62:1266-76.
93. Socié G, Loiseau P, Tamouza R, Janin A, Busson M, Gluckman E, *et al.* Both genetic and clinical factors predict the development of graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation.* 2001;72:699-706.

94. Tambur AR, Yaniv I, Stein J, Lapidot M, Shabtai E, Kfir B, *et al.* Cytokine gene polymorphism in patients with graft-versus-host disease. *Transplant Proc.* 2001;33:502-3.
95. Visentainer JEL, Lieber SR, Persoli LBL, Marques SBD, Vigorito AC, Aranha FLP, *et al.* Relationship between cytokine gene polymorphisms and graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation in a Brazilian population. *Cytokine.* 2005;32:171-7.
96. Gagnon SJ, Mori M, Kurane I, Green S, Vaughn DW, Kalayanarooj S, *et al.* Cytokine gene expression and protein production in peripheral blood mononuclear cells of children with acute dengue virus infections. *J Med Virol.* 2002;67:41-6.
97. Chen LC, Lei HY, Liu CC, Shiesh SC, Chen SH, Liu HS, *et al.* Correlation of serum levels of macrophage migration inhibitory factor with disease severity and clinical outcome in dengue patients. *Am J Trop Med Hyg.* 2006;74:142-7.

CAPÍTULO II

Artigo “POSSÍVEL PAPEL PROTETOR DO GENÓTIPO IL6⁻¹⁷⁴GC NO DENGUE CLÁSSICO”, pág. 21-39, submetido para publicação aguardando resultado.

Address correspondence:

Dr. Ricardo Alberto Moliterno
Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas
Av. Colombo, 5790; Maringá – PR – Brasil; 87020-900
Telefone (+55 44) 3261-4864 / FAX: (+55 44) 3261-4860
E-mail: ramoliterno@uem.br

CAPÍTULO III

Conclusão

Os resultados apresentados permitem concluir que o genótipo *IL6*⁻¹⁷⁴G>C se apresenta como um marcador de resistência ao dengue clássico (DC), influenciando o desenvolvimento desta patologia. No entanto, ainda é obscuro o mecanismo biológico pelo qual este genótipo afeta o desenvolvimento da doença.

Perspectivas futuras

O crescente número de epidemias de dengue distribuídas pelo planeta alertou as autoridades sanitárias e governamentais em todo o mundo, de modo que grande atenção passou a ser dispensada à doença. Estudos imunológicos e imunogenéticos se tornaram essenciais para o esclarecimento da imunopatogênese da doença, bem como para a compreensão da influência de fatores genéticos do hospedeiro neste mecanismo.

Devido a maior gravidade da sintomatologia no dengue hemorrágico (DH), mais atenção tem sido dispensada a esta forma de manifestação clínica da doença, tornando escassos os trabalhos que enfocam o DC. Assim, há uma grande necessidade da elaboração de mais estudos enfocando o DC, sejam eles imunológicos ou imunogenéticos.

Considerando-se que diversos trabalhos sugerem que um único SNP não poderia por si só determinar o nível plasmático de uma citocina específica, mas que um grupo de SNPs presentes nos genes da citocina em questão determinariam a taxa de produção da mesma e, conseqüentemente, influenciariam na manifestação da doença, verifica-se a necessidade de estudos de associação de grupos de SNPs e DC. Para a Interleucina-6 são conhecidos os seguintes SNPs: *IL6*⁻¹⁷⁴G>C, *IL6*⁻⁵⁹⁷ G>A, *IL6*⁻⁵⁷²G>C, *IL6*⁻⁵⁶⁵G>A, *IL6*⁻³⁷³A/T.

Assim, haplótipos envolvendo estes polimorfismos podem ser estudados quanto ao seu possível papel na predisposição ou resistência ao DC.

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](#)