



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS**

**DANILO SANTANA ALESSIO FRANCESCHI**

**INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS DE GENES KIR E DE  
CITOCINAS NA IMUNOPATOLOGIA DA HANSENÍASE.**

**MARINGÁ  
2008**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**DANILO SANTANA ALESSIO FRANCESCHI**

**INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS DE GENES KIR E DE  
CITOCINAS NA IMUNOPATOLOGIA DA HANSENÍASE.**

*Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de mestre.*

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Jeane Eliete Laguila Visentainer

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luiza Tamie Tsuneto

**MARINGÁ  
2008**

## CAPÍTULO I

### INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada pelo microorganismo intracelular *Mycobacterium leprae* (Hansen, 1874), com afinidade pelas células de Schwann e o sistema mononuclear-fagocitário, principalmente macrófagos. As manifestações clínicas acontecem principalmente na pele, mucosa e nervos periféricos e dependem primariamente da resposta imunológica do indivíduo (Fitness *et al.*, 2002).

Acredita-se que a hanseníase tenha se originado na Índia e tenha sido introduzida na Europa pelos soldados gregos que retornavam da Índia à Grécia. Da Grécia, ela deve ter se espalhado ao redor do mediterrâneo, com os romanos levando a doença à parte oeste da Europa. Com a ida de europeus ao continente africano, a doença chegou e depois se alastrou para os países que receberam os escravos da África, como é o caso do Brasil (Monot *et al.*, 2005).

Na atualidade, apesar das intensas campanhas de combate à doença, a hanseníase é ainda considerada um problema de saúde pública em alguns países, como o Brasil, a República Democrática do Congo, Moçambique e Nepal (Monot *et al.*, 2005).

### **Epidemiologia e transmissão**

A prevalência global de hanseníase tem caído dramaticamente nos últimos anos devido aos programas de controle de países endêmicos em parceria com a Organização Mundial da Saúde, os quais introduziram a terapia multidroga (poliquimioterapia) no tratamento de pacientes de hanseníase. No entanto, a detecção de novos casos tem permanecido estável ao longo dos anos. No mundo, são registrados 500.000 novos casos por ano, sendo a Índia e o Brasil os países a registrarem o maior número de casos. A média anual de casos novos

detectados no Brasil entre os anos de 2001 e 2006 foi de 47.000 indivíduos, com maior incidência nas regiões norte, nordeste e centro-oeste (Ernesto *et al.*, 2007). No início de 2007, a prevalência de hanseníase no Brasil foi de 60.567 indivíduos, enquanto o número de novos casos detectados foi de 44.436 (WHO, 2007).

O principal meio de transmissão do bacilo é pelo ar, liberado provavelmente pelas secreções nasais (aerossóis) (Pedley & Geater, 1976; Ramaprasad *et al.*, 1997), não havendo contágio devido ao contato com a pele íntegra. A proximidade com os pacientes é também determinante na infecção, mas o tempo de incubação do bacilo geralmente é longo (podendo levar anos), devido à lenta multiplicação do bacilo (divisão binária a cada 12 a 21 dias) (Britton & Lockwood, 2004).

### **Classificação**

A classificação da doença é importante para nortear o tratamento. A mais utilizada é a classificação de Ridley-Jopling que utiliza características histopatológicas e clínicas e divide a doença em cinco formas: Tuberculóide (TT), Borderline-Tuberculóide (BT), Borderline-Borderline (BB), Borderline-Lepromatosa (BL) e Lepromatosa ou Virchowiana (LL) (Ridley & Jopling, 1966). A forma TT consiste em lesões localizadas, poucos bacilos (paucibacilar) e resposta celular intensa. Já a forma LL apresenta lesões cutâneas amplamente distribuídas, alta proliferação bacilar (multibacilar) e resposta imune mediada por células ineficaz (Goulart *et al.*, 2002). A relação entre a resposta celular, a carga bacilar e o espectro clínico encontra-se ilustrada na Figura 1.

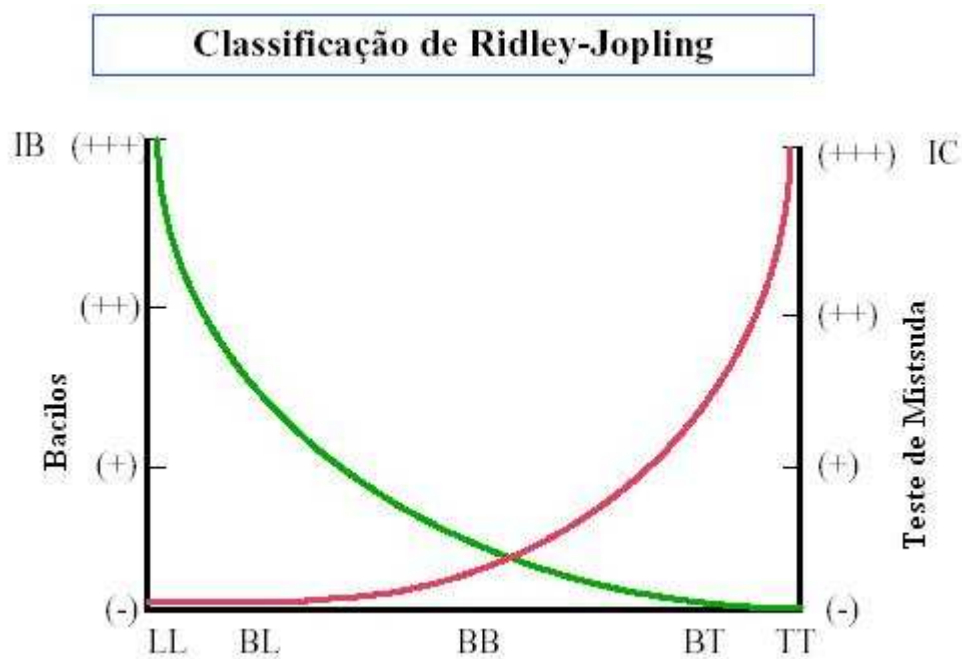


Figura 1. Espectro clínico da hanseníase. A imunidade celular (IC), medida pelo teste de Mitsuda, é inversamente proporcional à carga bacilar (IB - índice baciloscópico) (Extraído de Goulart *et al.*, 2002).

Entre as formas polares, a hanseníase pode se apresentar de forma intermediária – BB - sem características predominantes das formas TT e LL. Nessa classificação, pode haver também uma tendência de características para um dos pólos, denominando-se BT e BL. (Foss, 1997). Na classificação de Madri, muito utilizada no Brasil, são considerados os dois pólos opostos e estáveis (tuberculóide e virchowiano) e dois grupos instáveis (dimorfo e indeterminado). A forma indeterminada é considerada a primeira manifestação clínica da doença que, após um período que varia de poucos meses até anos, pode evoluir para cura ou para uma das formas clínicas já citadas (Araújo, 2003).

### **Características e manifestações clínicas**

As características clínicas da doença dependem de fatores como a proliferação bacteriana e resposta imunológica do hospedeiro ao bacilo. Lesões cutâneas e mucosas, além

do comprometimento de nervos periféricos, são sinais comuns em indivíduos infectados (Hastings *et al.*, 1988).

As lesões cutâneas no início da doença são mal definidas e hipocrômicas, nem sempre com perda de sensibilidade. Durante o desenvolvimento, os pacientes com a forma TT apresentam uma ou poucas lesões (máculas ou placas) com bordas bem definidas e a presença de granulomas em torno dos nervos e da derme papilar. Bacilos álcool-ácido resistentes não são vistos. A forma LL apresenta lesões numerosas mal definidas e bem distribuídas, com hipopigmentação e eritema. A pele pode ser comprometida se não houver tratamento. Esses pacientes podem apresentar perda de cílios e sobrancelha, além de relativa alopecia. Na forma BB, as lesões são intermediárias aos dois pólos da doença, com pequenos granulomas em maior número conforme os indivíduos estão mais próximos do pólo LL (Walker & Lockwood, 2007).

A base do acometimento do sistema nervoso na hanseníase é a tendência do *M. leprae* de ser fagocitado pelas células de Schwann. A lise dessas células, durante a apresentação de determinantes antigênicos da micobactéria para os linfócitos T CD4+, consiste no mecanismo de injúria aos nervos (Harboe *et al.*, 2005). Na forma TT, a inflamação causa inchaço palpável dos nervos periféricos, que geralmente levam a dor, mas podem acarretar perda de função motora e de sensibilidade pela extensão do nervo. Em pacientes LL, a destruição de nervos cutâneos tem como consequência a perda da sensibilidade dos membros superiores e inferiores. Há extensa proliferação bacteriana nas células de Schwann, com alto grau de degeneração do nervo. Comumente esses pacientes apresentam ainda anestesia facial e plantar (Walker & Lockwood, 2006).

As complicações oculares na hanseníase ocorrem principalmente em pacientes multibacilares. É importante distinguir os pacientes mais antigos (da era pré-poliqumioterapia) dos indivíduos recém diagnosticados, com história curta da doença e

menor comprometimento do olho (Hogeweg & Keunen, 2005). As manifestações incluem queda dos cílios e da sobrancelha, uveíte aguda e crônica e comprometimento da córnea – opacidade, ulcerações e falta de sensibilidade – levando a cegueira em alguns casos. O rápido diagnóstico e o tratamento precoce é importante para prevenir a perda da visão nos pacientes com a doença (Lynn & Lightman, 2004)

Existem poucos estudos que registram manifestações clínicas na mucosa oral durante a infecção pelo *M. Leprae*. Num estudo de Martins *et al.* (2005), as queixas mais comuns dos pacientes hansenianos foi obstrução nasal em mais da metade dos indivíduos, além de epistaxe, rinorréia e prurido. Esses acometimentos são normalmente restritos a pacientes multibacilares em estágios avançados da doença, e essa invasão da cavidade oral é consequência da multiplicação e disseminação bacterianas (Abreu *et al.*, 2006).

### **Reações hansênicas**

Alguns pacientes podem interromper o curso natural da doença com episódios inflamatórios que resultam em reações do tipo I (reação reversa, RR) ou tipo II (eritema nodoso hansênico, ENH). Está claro que as respostas imunológicas possuem um papel crítico em controlar cada um destes estágios, embora o padrão de resposta possa ser modificado ao longo do curso da doença.

### ***Reações tipo I ou reação reversa***

As reações do tipo I são episódios de hipersensibilidade tardia que podem acometer cerca de 30% dos indivíduos BB. Há envolvimento cutâneo com inflamações agudas que podem ulcerar, e presença de inflamação dos nervos com possíveis danos irreversíveis e perda de função. É característico o edema das mãos e dos pés, mas sintomas sistêmicos são incomuns. Ocorre principalmente após o início da poliquimioterapia e durante o puerpério em



mulheres (Walker & Lockwood, 2007; Agrawal *et al.*, 2005).

### **Reações tipo II ou eritema nodoso hansênico**

Ocorrem em aproximadamente 20% dos pacientes com a forma LL e 10% dos pacientes BB. Resulta da deposição de complexos imunes no endotélio vascular e nos tecidos devido à alta produção de anticorpos e carga antigênica do *M. Leprae*. Produz febre e, na pele, nódulos e pápulas vermelhas dolorosas que podem evoluir para ulcerações e até perda de função motora pelo comprometimento de articulações. Pode ser acompanhada de danos oculares, hepáticos, nervosos, testiculares, cardíacos e renais, com graves conseqüências como cegueira e até esterilidade (Walker & Lockwood, 2007, Agrawal *et al.*, 2005).

### **Imunopatologia da hanseníase**

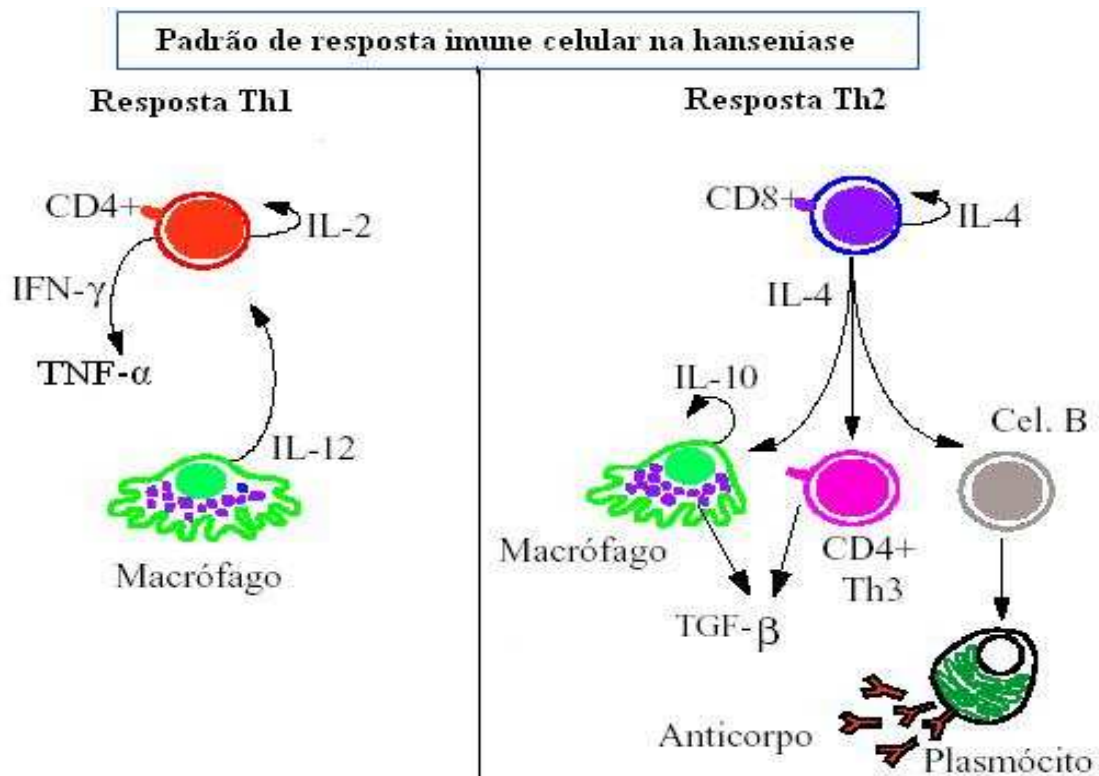
A resposta imunológica devido à exposição ao *M. leprae* é complexa (revisado por Goulart *et al.*, 2002). A manifestação inicial da doença pode ser a forma clínica indeterminada, onde a resposta do hospedeiro é insuficientemente diferenciada para permitir classificação. Pode evoluir para cura espontânea ou desenvolver aspectos clínicos da doença estabelecida dentro do espectro, dependendo da sua capacidade em montar uma resposta imune celular contra o *M. Leprae*.

Naqueles com uma resposta imune celular eficiente, a doença pode evoluir para a forma clínica TT, uma doença localizada, com poucos bacilos e lesões limitadas. Já naqueles com ineficiente resposta imune celular, a forma clínica LL se desenvolve, um pólo de extrema susceptibilidade ao *M. leprae*, no qual a proliferação disseminada do bacilo (em torno de  $10^{10}$  por grama de tecido) resulta em lesões de pele difusamente distribuídas e está associada a uma potente resposta humoral (anticorpos anti-*M. leprae*).

Nos pacientes BB, a progressiva redução da resposta imune mediada por células é acompanhada por lesões de pele e nervos mais numerosas, aumento da carga bacilar e dos níveis de anticorpos.

Essas respostas imunes paradoxais, imunidade mediada por célula e humoral, são dinâmicas e apresentam variações espontâneas de reatividade com o tempo e tratamento, caracterizando as reações hansênicas agudas, tipo I e II, anteriormente discutidas.

Em infecções micobacterianas, a liberação de IL-2 e IFN- $\gamma$  está, geralmente, associada com resistência a infecções intracelulares, enquanto a liberação de IL-4 e IL-10 está associada com a doença progressiva. Pacientes paucibacilares (TT) apresentam alta produção local (nas lesões) de citocinas do tipo Th1, como IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-7, IL-12, IL-15 e IL-18, características de resposta imune celular intensa. IFN- $\gamma$  ativa macrófagos infectados, enquanto a IL-2 pode induzir a expansão clonal de células T ativadas e aumentar a produção de IFN- $\gamma$  (Kasahara *et al.*, 1983). A Figura 2 ilustra o padrão da liberação de citocinas na hanseníase.



**Figura 2. Padrão de liberação de citocinas na hanseníase.** A resposta Th1 é característica da forma TT, com liberação de IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e forte resposta imune celular. O padrão de resposta Th2 exhibe liberação principalmente de IL-4, IL-10 e TGF- $\beta$ , resultando em imunossupressão (Adaptado de Goulart *et al.*, 2002).

A IL-12 estimula células *Natural Killer* a liberarem IFN- $\gamma$ , colaborando na manutenção do padrão Th1 (Sieling *et al.*, 1994). A produção de TNF- $\alpha$  pelo macrófago em nível local, favorece uma ação sinérgica autócrina para manter o macrófago ativado e formar o granuloma imune (Silva & Foss, 1989).

Indivíduos multibacilares (LL, BB, BL e BT) possuem um padrão de citocinas do tipo Th2 nas lesões (IL-4, IL-5 e IL-10), indicando ineficaz resposta imune celular com alta produção de anticorpos (Alcáis *et al.*, 2005). No entanto, estes anticorpos não são protetores da doença. A IL-4 tem um efeito imunorregulatório negativo sobre a imunidade mediada por células, que pode levar ao aumento da proliferação bacteriana porque: bloqueia a proliferação dependente de IL-2 de células T humanas por inibir receptores de IL-2; bloqueia a ativação de

monócitos mediada pelo IFN- $\gamma$  ; inibe a expressão de CD14 sobre monócitos e produção de IL-1b e TNF- $\alpha$ ; e bloqueia a geração de óxido nítrico (NO), necessário para destruição de patógenos intracelulares (Sieling & Modlin, 1994).

Uma ativação crônica local de IL-10 pode levar a uma diferenciação de células T CD4+, originando uma subpopulação de células T regulatórias (Tr1) que produzem altos níveis de IL-10, mantendo a supressão da resposta imune antígeno-específica (Asseman & Powrie, 1998).

O TGF- $\beta$ 1 é produto principalmente de monócitos ativados, uma molécula bifuncional (pró-inflamatória e imunossupressora). Apresenta supressão de linfócitos T – inibindo a expressão de IFN- $\gamma$  e IL-2 – e possui a habilidade de inibir a citotoxicidade de macrófagos, permitindo a progressão da doença (Kiszewski et. al., 2003). Além da ação supressora, induz efeitos pro-inflamatórios na reação de tipo II (ENL) em pacientes multibacilares (Goulart et. al., 2000).

Tem sido considerado que a imunidade natural está envolvida em determinar o resultado da infecção, em que outras células, mais do que células T, poderiam rapidamente produzir citocinas que dirigem a resposta para o padrão de citocinas que será produzido por células T. Macrófagos infectados usualmente liberam IFN- $\alpha$  e IL-12, os quais estimulam células NK a liberar IFN- $\gamma$ , com um subsequente viés em direção à resposta Th1 (revisado em Goulart *et al.*, 2002).

Concluindo, o destino da infecção por *M. leprae* em um hospedeiro parece depender de quando e como uma determinada citocina está disponível no sítio e da presença do parasita em maior quantidade em relação a vários outros produtos (Goulart *et al.*, 1996). Nesse contexto, deve estar inserida a predisposição genética do indivíduo na susceptibilidade ou resistência à infecção por *M. leprae*.

## **Diagnóstico clínico e laboratorial**

O diagnóstico clínico considera a presença de uma ou mais manchas pálidas ou avermelhadas, com perda parcial ou total de sensibilidade, e pelo inchaço de nervos periféricos (nervos palpáveis). Também em esfregaços e biópsias de lesões pode haver a presença de bacilos álcool-ácido resistentes (Ustianowski & Lockwood, 2003).

Alguns testes laboratoriais são utilizados para a pesquisa do bacilo, um deles utiliza o antígeno PGL-1 (glicolípido fenólico 1, presente na parede bacteriana). A presença de anticorpos anti-PGL-1 pode ser detectada pelo ELISA (*Enzima-Linked Immuno Sorbent Assay*) e é sensível e específico apenas para pacientes multibacilares, devido à grande produção de anticorpos. Outro teste é a reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês, *polymerase chain reaction*), o qual é altamente sensível e específico para a detecção do bacilo, mas pode ser falho em pacientes paucibacilares, devido ao baixo número de bacilos nestes pacientes (Moschella, 2004).

O Teste de Mitsuda é um teste *in vivo* que também pode ser utilizado para avaliar a capacidade de responder por meio da imunidade mediada por células frente aos antígenos micobacterianos. Ele pode auxiliar no diagnóstico das formas clínicas da doença e na avaliação desta resposta nos contatos do paciente. O teste consiste numa reação de hipersensibilidade do tipo tardia, com aplicação de bacilos mortos via intradérmica. A leitura da reação é realizada dentro de 3 a 4 semanas. A reação de Mitsuda é positiva em pacientes com a forma TT e negativa na forma LL (Goulart *et al.*, 2002).

## **Profilaxia e tratamento**

A vacinação pela BCG intra-dérmica auxilia no controle da hanseníase. Consiste na inoculação de uma cepa atenuada do *Mycobacterium bovis*, utilizada originalmente na França por Albert Calmette e Camille Guérin (daí o nome BCG – bacilo de Calmette-Guérin)

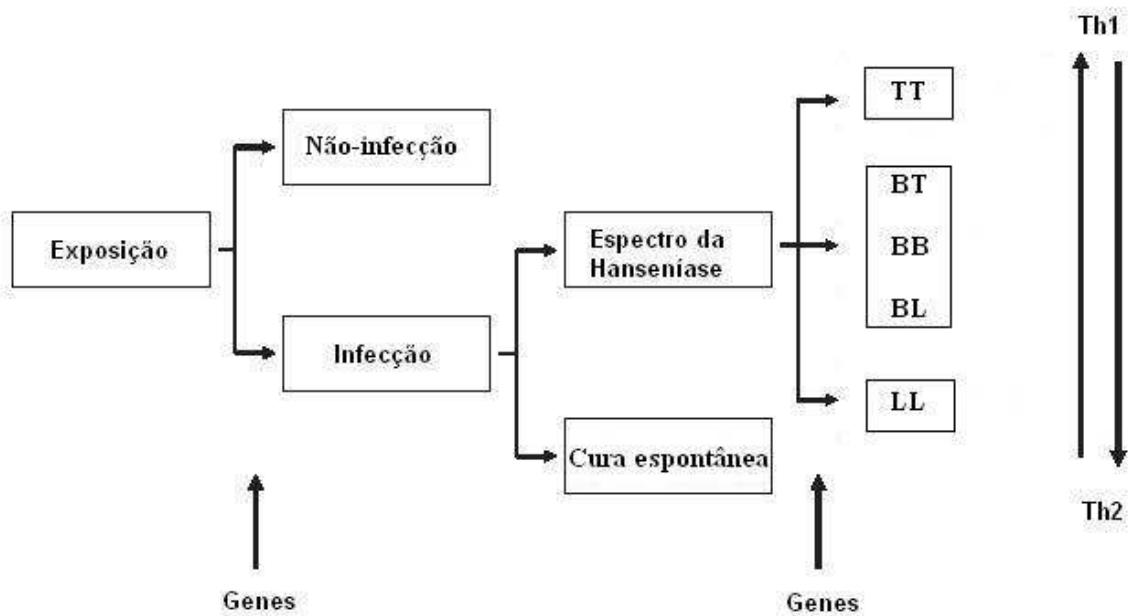
(Martelli *et al.*, 2002). Embora inicialmente desenvolvida visando à proteção contra a tuberculose, demonstrou também efeito protetor contra a infecção pelo *M. Leprae* (Barreto *et al.*, 2006). É recomendada a administração da vacina em recém nascidos e nos contatos domiciliares dos pacientes, independentemente da idade, exceto em indivíduos soropositivos (portadores do vírus da imunodeficiência humana) (Martelli *et al.*, 2002). Embora tenha sido demonstrado que a primeira dose da BCG confere certa proteção contra a doença, e uma segunda dose aumente essa proteção, alguns estudos não encontraram essa associação (Barreto *et al.*, 2006). Alguns fatores que modificam a eficácia da vacina são: diferenças na BCG produzidas em diferentes países; meio ambiente em que a população vive; e fatores genéticos que promovem diferentes respostas à BCG (Fine *et al.*, 1999).

A poliquimioterapia consiste no esquema terapêutico contra a hanseníase. É composto por uma droga bactericida (rifampicina) e duas bacteriostáticas (dapsona e clofazimina) (Opramolla, 1997). Em pacientes paucibacilares, o esquema consiste na administração de 600mg de rifampicina uma vez ao mês e de 100mg de dapsona diariamente, durante 6 meses. Para multibacilares, além do esquema anterior, têm-se a adição de uma dose mensal de clofazimina 300mg e 50mg diários da mesma droga. A duração é de 24 meses. Em pacientes paucibacilares com apenas uma lesão, é utilizado o esquema alternativo ROM, uma combinação de rifampicina, ofloxacina e minociclina em dose única (Naafs, 2006).

### **Fatores genéticos e sua influência na hanseníase**

Evidências sugerem que a incidência da infecção seja muito maior que a incidência de hanseníase clínica. Somente uma pequena proporção (aproximadamente, 5%) dos infectados desenvolvem os sintomas clínicos; o restante desenvolve infecções subclínicas, as quais podem ser persistentes ou se curarem espontaneamente (Fine, 1983). Isto pode ser devido, em parte, aos fatores ambientais, como a nutrição ou diferenças bacterianas genéticas, mas existe

também uma grande evidência para uma base genética de susceptibilidade do hospedeiro a ambos, à doença *per se* e aos subtipos da doença (Figura 3).



**Figura 3. Modelo para a patogênese da hanseníase.** Após infecção, a maioria dos indivíduos é resistente à hanseníase. Os susceptíveis podem desenvolver apenas uma lesão da doença ou caminhar para o espectro de manifestações clínicas, as quais são dependentes do padrão de resposta imune apresentada pelo hospedeiro. Este modelo foi baseado em dados experimentais que indicam dois passos onde a patogênese é controlada por diferentes grupos de genes (Adaptado de Mira, 2006).

O espectro clínico e patológico da hanseníase e a heterogeneidade epidemiológica, geográfica e étnica podem ser explicados pelas diferenças genéticas na resistência do hospedeiro. Enquanto alguns *loci* afetam a susceptibilidade intrínseca à hanseníase (hanseníase *per se*), outros modificam a forma clínica da doença (Schurr *et al.*, 2006). Análises complexas de segregação, em várias populações, têm relatado modelos consistentes com um gene principal codominante ou recessivo e, talvez, vários genes controlando a susceptibilidade à hanseníase (Abel & Demenais, 1988; Feitosa *et al.*, 1995).

O complexo principal de histocompatibilidade (CPH), localizado no braço curto do cromossomo 6 humano, é uma região candidata para controlar a susceptibilidade à doença. Análises preliminares indicam alguma influência desta região na resposta imune e nos fenótipos clínicos (Dessoukey *et al.*, 1996). Os resultados mais consistentes são para a associação entre variantes HLA-DR2 e a doença *per se* (Visentainer *et al.*, 1997; Meyer *et al.*, 1998; Hegazy *et al.*, 2002) ou a forma TT (Visentainer *et al.*, 1997) e HLA-DR3 e também a forma TT (Gorodezky *et al.*, 1987). Num estudo recente em brasileiros, Vanderborgh *et al.* (2007) encontraram que o HLA-DRB1\*04 poderia promover uma resposta de proteção contra a hanseníase, enquanto o alelo HLA-DRB1\*10 estaria associado com a ocorrência da doença. Segundo Mira *et al.* (2003), as variantes alélicas HLA podem ser fatores de risco para as formas pauci e multibacilares da hanseníase.

Análises por meio de escaneamento de genoma com pacientes hansenianos identificaram um loco de susceptibilidade na região do cromossomo 10p13 na Índia (Siddiqui *et al.*, 2001) e outro, conduzido no Brasil, sugeriu um papel para as regiões 6p21 e 17q22 (Miller *et al.*, 2004). Posteriormente, um estudo realizado em 2003 verificou uma associação da susceptibilidade à hanseníase *per se* com a região 6q25-q26 em famílias vietnamitas (Mira *et al.*, 2003). Mais tarde, em 2004 as variantes PARK2 e PACRG foram identificadas nesta região como sendo os fortes fatores de susceptibilidade à hanseníase (Mira *et al.*, 2004). Recentemente, o gene codificando a linfotoxina alfa (LTA, na região 6p21 do MHC classe III) foi significativamente associado com um aumento da susceptibilidade à hanseníase *per se* em populações do Vietnã, Índia e Brasil (Alcais *et al.*, 2007).

Recentemente, vários estudos de polimorfismos únicos de nucleotídeos (SNPs, do inglês, *single nucleotide polymorphisms*) foram realizados na busca de associações com doenças (Suh & Vijg, 2005). Eles são considerados a mais abundante fonte de variação no genoma humano. Quando presentes num gene podem provocar diferenças na expressão de



proteínas, causando mudanças estruturais e funcionais. Alguns SNPs em genes de citocinas foram descritos como importantes fatores genéticos na ocorrência das diferentes formas clínicas da hanseníase.

Pacientes com genótipos -819TT referentes ao gene da *IL10* foram, significativamente, associados com a hanseníase numa população brasileira (Santos *et al.*, 2002). Outro estudo, também em pacientes brasileiros definiu como marcador de resistência à hanseníase o haplótipo -3575A/-2849G/-2763C (Moraes *et al.*, 2004). Em pacientes indianos, a presença do haplótipo -3575T/-2849G/-2763C/-1082A/-819C/-592C conferiu resistência à hanseníase *per se* e o haplótipo -3575T/-2849G/-2763C/-1082A/-819T/-592A foi associado com o risco de desenvolver a forma mais grave da doença (Malhotra *et al.*, 2005, A).

Em relação ao gene *TNF*, a frequência do alelo *TNF2* (com substituição G→A na posição -308 – região iniciadora da transcrição do *TNF*) foi encontrada, significativamente, aumentada em pacientes com a forma LL, em relação aos controles, com risco relativo (RR) igual a 2,5 (Roy *et al.*, 1997). Este resultado foi semelhante ao encontrado num estudo tailandês por Vejbaesya *et al.* (2007) que observaram esse alelo associado a hansenianos multibacilares. O mesmo alelo demonstrou proteção contra o desenvolvimento da doença em indivíduos brasileiros (Santos *et al.*, 2002). Apesar dos resultados controversos, estes dados sugerem a participação do loco do *TNF* no intercurso da hanseníase.

Por meio da genotipagem do gene *IL12B* (que codifica a subunidade p40 das citocinas IL-12 e IL-23), Morahan *et al.* (2007) encontraram que a modulação da produção de IL-12p40 exerce influência na hanseníase e na tuberculose. O grau de expressão dos genes das subunidades do receptor da IL-12 (*IL12RB1* e *IL12RB2*) também foi testado. A frequência do haplótipo -1035A/-1023A/-650G/-464A na região flanqueadora da extremidade 5' do gene *IL12RB2* mostrou-se diminuída em pacientes LL japoneses, em relação aos TT e aos controles (Ohshima *et al.*, 2005). Em pacientes coreanos, SNPs do gene *IL12RB1* não foram associados

com a doença, assim como polimorfismos do *IFNGR1* (receptor 1 do Interferon- $\gamma$ ) (Lee *et al.*, 2003).

Outro candidato à susceptibilidade à hanseníase é o gene *NRAMP1* (proteína 1 macrofágica associada à resistência natural), desde que seu homólogo murino foi associado à resistência contra o *Mycobacterium lepraemurium* (Abel *et al.*, 1998). Em estudo de Ferreira *et al.* (2004), foi encontrado que este gene exibe uma interação com a resposta à lepromina, e que um alelo do *NRAMP1* (alelo 2) é fator de predisposição à doença. Esses dados confirmam os resultados de Alcais *et al.* (2000), num estudo com famílias afetadas do Vietnã.

Os TLRs (Toll-like Receptors) também apresentam SNPs que podem estar envolvidos na imunopatologia da doença. Formam uma família de receptores transmembrânicos que permitem o hospedeiro reconhecer um grande número de padrões moleculares de microorganismos, como lipopolissacarídeos bacterianos, RNAs virais e a PGL-1 (Chen *et al.*, 2007). Kang e Chae (2001) observaram que pacientes LL possuem uma substituição C→T na posição 2029 do códon iniciador do gene TLR2, que poderia ocasionar uma mutação no domínio intracelular do receptor levando à susceptibilidade à essa forma. Outra substituição, de arginina por triptofano na posição 677 do TLR2, mostrou-se associada à forma LL numa população coreana (Malhotra *et al.*, 2005, B).

Certos genótipos da forma ativa da vitamina D podem estar relacionados à hanseníase. Além de regular o metabolismo do cálcio, apresenta importante papel imunorregulatório através de sua ligação com receptores VDR (receptores de vit. D) na superfície de monócitos, macrófagos e linfócitos (Roy *et al.*, 1999). Sua sinergia com outros fatores genéticos também parece afetar a imunidade celular na doença (Goulart *et al.*, 2006).

Atualmente, novos genes de resposta imune estão sendo estudados no intuito de esclarecer sua possível participação na ocorrência ou gravidade de uma doença. Dentre eles,

podemos destacar os genes *MICA* e *MICB* (do inglês, *MHC class I chain-related genes A and B*) e os genes *KIR* (do inglês *Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor*).

Os genes *MICA* e *MICB*, encontrados entre os *loci TNF* e *HLA-B*, levam à expressão de proteínas na superfície de células NK e subgrupos de linfócitos T, as quais participam na resposta imunológica contra a micobactéria. O alelo *MICA\*5A5.1*, o qual codifica moléculas que não possuem cauda citoplasmática, foi associado à hanseníase em pacientes do sul da Índia (Tosh *et al.*, 2006).

O grupo de genes *KIR* compreende uma região de aproximadamente 150 Kb no complexo de receptores leucocitários (LRC) do cromossomo 19q13.4, os quais codificam os receptores KIR que são membros de um grupo de moléculas regulatórias presentes na superfície de células NK, em subgrupos de linfócitos T  $\gamma\delta+$  e em linfócitos T $\alpha\beta+$  efetores e de memória (Rajagopalan & Long, 2005).

A família de receptores KIR inclui moléculas ativatórias e inibitórias. Os KIRs inibitórios (2DL e 3DL) possuem uma longa cauda citoplasmática que contém ITIMs (motivos de inibição baseados em tirosina) que desencadeiam eventos de inibição de citotoxicidade. Em contraste, receptores KIR ativatórios (2DS e 3DS) não possuem ITIMs e apresentam ITAMs (motivos de ativação baseados em tirosinas) em sua região transmembrana, promovendo uma cascata que resulta em um aumento da granulação citoplasmática e produção de citocinas e quimiocinas, iniciando a resposta imunológica (McVicar & Bushtyn, 2001).

Os receptores KIR são os principais reguladores funcionais das células NK. O balanço entre a ativação e inibição da célula NK se dá pela ligação de KIR com as moléculas HLA de classe I presentes em todas as células nucleadas de um indivíduo. As diversas formas desses receptores são específicas a determinadas especificidades de moléculas HLA e, alguns desses pares KIR-ligantes são conhecidos. O KIR2DL4, por exemplo, apresenta especificidade de

ligação com a molécula HLA-G (Rajagopalan & Long, 1999), enquanto o receptor KIR3DL1 reconhece um subgrupo de moléculas HLA com o epítipo Bw4 como ligante, que está presente em aproximadamente um terço de todos os alelos HLA-B. O KIR3DS1, altamente homólogo com 3DL1, parece compartilhar Bw4 como ligante, embora essa característica necessite ser provada experimentalmente. O ligante de KIR3DL2 ainda permanece sob discussão, mas estudos têm indicado que o HLA-A3 e A11 realizam este papel (O'Connor *et al.*, 2005).

A maioria dos receptores KIR tem como ligante as moléculas HLA-C. Vale ressaltar a importância no dimorfismo de aminoácidos na definição desse ligante HLA, como o resíduo 80 da  $\alpha$ -hélice-1. Com base nisso, os alelos HLA-C podem ser definidos como “grupo 1” ou “grupo 2”. No “grupo 1” estão incluídos os ligantes de KIR2DL2, 2DL3 e 2DS2 – HLA-C\*01, \*03, \*07 e \*08. O “grupo 2” consiste nos ligantes de KIR2DL1 e 2DS1 – HLA-C\*02, \*04, \*05 e \*06 (Boyton & Altmann, 2007).

Alguns estudos já mostraram que determinados receptores KIR associados aos seus ligantes HLA estariam influenciando no curso clínico de várias doenças infecciosas. Em pacientes com o HIV, foi demonstrado que a interação entre KIR3DS1 e HLA-Bw4-I80 apresenta uma progressão tardia da aids nos indivíduos infectados (Martin *et al.*, 2002; Qi *et al.*, 2006). Em estudo de Guadieri *et al.* 2005, a presença do KIR2DS2 foi associada especificamente com o declínio mais rápido na contagem de células T CD4+ e conseqüente progressão da AIDS.

A presença de KIR3DL1 em combinação com os alelos do supertipo HLA-B\*57 (que englobam os alelos que contém o epítipo Bw4I80 - HLA-B\*5701, \*5702, B\*5703 e B\*5801), também apresentou um efeito protetor contra a progressão da aids em pacientes da Zâmbia (López-Vazquez *et al.*, 2005). Em outro estudo, utilizando uma amostra de aproximadamente 1500 indivíduos infectados com o vírus, Martin *et al.* 2007 encontraram que *KIR3DL1*\*004

representa o alelo mais protetor contra a progressão da aids e promove diminuição da carga viral de HIV-1, e esta proteção foi completamente dependente da presença de *HLA-Bw4*.

Em indivíduos infectados pelo vírus da hepatite C (HCV), Kakhoo *et al.* (2004) encontraram o gene *KIR2DL3* com seu ligante *HLA-C1* influenciando diretamente a resolução da infecção, sugerindo que a inibição das células NK é importante na determinação da imunidade antiviral e que respostas inibitórias diminuídas conferem proteção contra a doença. Em pacientes com hepatite C persistente, Montes-Cano *et al.* (2005) demonstraram uma diminuição significativa da frequência do gene *KIR2DL2* e do genótipo *KIR2DL2/KIR2DL2* e um aumento de *KIR2DL3* em relação a pacientes que apresentaram resolução da infecção. A presença do gene que codifica o receptor ativatório *KIR3DS1*, com seu ligante *HLA-Bw4*, parece proteger indivíduos portadores do vírus contra o desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (López-Vázquez *et al.*, 2005).

Em tuberculose, o gene *KIR2DL3* foi encontrado elevado significativamente em pacientes, indicando que a inibição das células NK promovidas por esse receptor pode facilitar o desenvolvimento da infecção bacteriana ( Méndez *et al.*, 2005).

Embora, a proteção contra patógenos intracelulares, tais como o *M. leprae* seja criticamente dependente da função de células NK, em estágios iniciais da resposta imune, não é de nosso conhecimento qualquer estudo envolvendo os genes *KIR* e seus ligantes com a susceptibilidade ou resistência à hanseníase. Portanto, além de propormos um estudo de genética epidemiológica para averiguar a associação de genes de citocinas na ocorrência de hanseníase e/ou suas formas clínicas, também propomos o estudo de genes *KIR* e seus ligantes HLA de classe I neste mesmo contexto.

## **JUSTIFICATIVAS**

A caracterização genética do polimorfismo de *KIR* e de seus ligantes HLA de classe I e de genes reguladores de citocinas de uma população que desenvolveu a hanseníase e a sua comparação com um grupo de indivíduos saudáveis permitirá investigar a influência destes genes na resistência ou susceptibilidade à doença e/ou suas formas clínicas. Este estudo justifica-se pelo fato de que genes reguladores de citocinas podem estar correlacionados com a expressão de citocinas importantes na hanseníase. E, genes menos investigados nesta doença, como os genes *KIR*, também poderiam influenciar no padrão de resposta imunológica que se observa nas diversas formas clínicas da doença. A genotipagem de alelos *HLA* de classe I e genes *KIR* poderia ser útil no entendimento da imunopatologia desta doença, já que uma interação entre *KIR* e moléculas HLA é esperada no curso da resposta imune frente às doenças infecciosas.

## **OBJETIVO GERAL**

Investigar a associação de genes *KIR* e de seus ligantes HLA de classe I, além de genes reguladores de citocinas na susceptibilidade e/ou resistência à hanseníase e/ou suas formas clínicas, numa população da região norte/noroeste do Paraná-Brasil.

### **Objetivos específicos:**

Em uma população de indivíduos que desenvolveu a hanseníase e numa população saudável da região norte/noroeste do Paraná-Brasil:

- Determinar a frequência de alelos dos genes *TNF*-308,-238, *IFNG*+874, *IL6*-174, *IL10*-1082,-819,-592, *TGFB1*+869,+915 e *IL2*-330,+166 e genes *KIR*, além do HLA de classe I;
- Avaliar associações entre estes alelos e genes e o desenvolvimento da hanseníase e/ou suas formas clínicas.

## REFERÊNCIAS

- Abel L, Demenais F. Detection of major genes for susceptibility to leprosy and its subtypes in a Caribbean island: Desirade island. *Am J Hum. Genet* 1988;42:256-266.
- Abel L, Sánchez FO, Oberti J, Thuc NV, Hoa LV, Lap VD *et. al.* Susceptibility to leprosy is linked to the human NRAMP1 gene. *J Infect Dis* 1998;177(1):133-145.
- Abreu MAMM, Michalany NS, Weckx LLM, Pimentel DRN, Hirata CHW, Alchorne MMA. The oral mucosa in leprosy: a clinical and histopathological study. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2006;72(3):312-316.
- Agrawal A, Pandit L, Dalal M, Shetty JP. Neurological manifestations of Hansen's disease and their management. *Clin Neurol Neurosurg* 2005;107:445-454.
- Alcaïs A, Sanchez FO, Thuc NV, Lap VD, Oberti J, Lagrange PH *et. al.* Granulomatous Reaction to Intradermal Injection of Lepromin (Mitsuda Reaction) Is Linked to the Human NRAMP1 Gene in Vietnamese Leprosy Sibships. *J Infect Dis* 2000;181:302–308.
- Alcaïs A, Mira M, Casanova JL, Shurr E, Abel L. Genetic dissection of immunity in leprosy. *Curr Opin immunol* 2005;17:44-48.
- Alcais A, Alter A, Antoni G, Orlova M, Thuc NV, Singh M, *et al.* Stepwise replication identifies a low-producing lymphotoxin- $\beta$  allele as a major risk factor for early-onset leprosy. *Nat Genet* 2007;39:517-522.
- Araújo MG. Hanseníase no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003;36(3):373-382.
- Barreto ML, Pereira SM, Ferreira AA. BCG vaccine: efficacy and indications for vaccination and revaccination. *J Pediatr (Rio J)* 2006;82(3):s45-s54.
- Asseman C, Powrie F. Interleukin 10 is a growth factor for a population of regulatory T cells. *Gut* 1998;42:157-158.
- Boyton RJ, Altmann DM. Natural killer cells, killer immunoglobulin-like receptors and human leucocyte antigen class I in disease. *Clin Exp Immunol* 2007;149:1-8.

Britton WJ, Lockwood DN. Leprosy. *Lancet* 2004;363:1209-1219.

Chen K, Huang J, Gong W, Iribarren B, Dunlop NM, Wang JM. Toll-like receptors in inflammation, infection and cancer. *Int Immunopharmacol* 2007;7:1271–2185.

Dessoukey MW, El Shiemy S, Sallam T. HLA and leprosy: Segregation and linkage study. *Int J Dermatol* 1996;35:257-264.

Ernesto IMR, Maria WRO, Ana LB, Ruth G, Angela CMP, Maria AL *et al.* Situação epidemiológica da hanseníase no Brasil, 2001-2006. 2007. Disponível em <<http://www.paho.org/portuguese/ad/dpc/cd/painel-bra.pdf>> Acesso: 05/11/2007.

Feitosa MF, Borecki I, Krieger H, Beiguelman B, Rao DC. The genetic epidemiology of leprosy in a Brazilian population. *Am J Hum Genet* 1995;56:1179-1185.

Ferreira FR, Goulart LR, Silva HD, Goulart IM. Susceptibility to leprosy may be conditioned by an interaction between the NRAMP1 promoter polymorphisms and the lepromin response. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 2004;72(4):457-467.

Fine PEM. Natural history of leprosy – Aspects relevant to a leprosy vaccine. *Int J Leprosy* 1983; 51:553-555.

Fine PEM, Carneiro IAM, Milstien JB, Clements CJ. Issues relating to the use of BCG in immunization programmes. WHO/B&V 1999. Disponível em: <<http://www.who.int/vaccines-documents/DocsPDF99/www9943.pdf>> Acesso em: 5 nov. 2007.

Fitness J, Tosh K, Hill AVS. Genetics of susceptibility of leprosy. *Genes Immun* 2002;3:441-453.

Foss NT. Aspectos imunológicos da hanseníase. *Medicina, Ribeirão Preto* 1997;30:335-339.

Gaudieri S, DeSantis D, McKinnon E, Moore C, Nolan D, Witt CS *et al.* Killer immunoglobulin-like receptors and HLA act both independently and synergistically to modify HIV disease progression. *Genes Immun* 2005,6:683-690.



Gorodezky C, Flores J, Arievalo N, Castro LE, Silva A, Rodríguez O. Tuberculoid leprosy in Mexicans is associated with HLA-DR3. *Lepr Rev* 1987;58:401-406.

Goulart IMB, Figueiredo F, Coimbra T, Foss NT. Detection of transforming growth factor- $\beta$ 1 in dermal lesions of different clinical forms of leprosy. *Am J Pathol* 1996;148:911-917.

Goulart IMB, Mineo JR, Foss NT. Production of transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) by blood monocytes from patients with different clinical forms of leprosy. *Clin Exp Immunol* 2000;122(3):330-334.

Goulart IMB, Penna GO, Cunha G. Imunopatologia da hanseníase: a complexidade dos mecanismos da resposta imune do hospedeiro ao *Mycobacterium leprae*. *Rev Soc Bras Med Trop* 2002;35:365-375.

Goulart LR, Ferreira FR, Goulart IM. Interaction of TaqI polymorphism at exon 9 of the vitamin D receptor gene with the negative lepromin response may favor the occurrence of leprosy. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2006;48:91-98.

Hansen A. *Bacillus leprae*. *Norsk Mag Laegevidenskaben* 1874;9:1-21.

Harboe M, Aseffa A, Leekassa R. Challenges presented by nerve damage in leprosy. *Lepr Rev* 2005;76(1):5-13.

Hastings RC, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Fransblau, SG. Leprosy. *Clin Microb Rev* 1988;1(3):330-348.

Hegazy AA, Abdel-Hamid IA, Ahmed el-SF, Hammad SM, Hawas SA. Leprosy in a high-prevalence Egyptian village: epidemiology and risk factors. *Int. J. Dermatol.* 2002;41(10):681-686.

Hogeweg M, Keunen JEE. Prevention of blindness in leprosy and the role of the Vision 2020 Programme. *Eye* 2005;19:1099-1105.

Kakhoo SI, Thio CL, Martin MP, Brooks CR, Gao X, Astemborski J et al. HLA and NK cell inhibitory receptor genes in resolving hepatitis C virus infection. *Science* 2004;305:872-874.

Kang TJ, Chae GT. Detection of Toll-like receptor 2 (TLR2) mutation in the lepromatous leprosy patients. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2001;31:53-58.

Kasahara T, Hooks JJ, Dougherty SF, Oppenheim JJ. Interleukin 2-mediated immune interferon (IFN-gamma) production by human T cells and T cell subsets. *J Immunol* 1983;130:1784-1789.

Kiszewski CA, Becerril E, Baquera J, Aguilar LD, Hernández-Pando R. Expression of transforming growth factor-beta isoforms and their receptors in lepromatous and tuberculoid leprosy. *Scand J Immunol* 2003;57(3):279-285.

Lee SB, Kim BC, Jin SH, Park YG, Kim SK, Kang TJ. et al. Missense mutations of the interleukin-12 receptor beta 1( IL12RB1) and interferon-gamma receptor 1( IFNGR1) genes are not associated with susceptibility to lepromatous leprosy in Korea. *Immunogenetics* 2003;55:177-181.

Lynn WA, Lightman S. The eye in systemic infection. *Lancet* 2004;364:1439-1450.

López-Vazquez A, Miña-Blanco A, Martínez-Borra J, Njobvu PD, Suárez-Alvarez B, Blanco-Gelaz MA et al. Interaction Between KIR3DL1 and HLA-B\*57 Supertype Alleles Influences the Progression of HIV-1 Infection in a Zambian Population. *Hum Immunol* 2005;66:285-289.

López-Vázquez A, Rodrigo L, Martínez-Borra M, Pérez R, Rodríguez M, Fdez-Moreira JL et al. Protective effect of the HLA-Bw4I80 epitope and the Killer cell immunoglobulin-like receptor 3DS1 gene against the development of hepatocellular carcinoma in patients with Hepatitis C Virus infection. *J Infect Dis* 2005;192:162-165.

Malhotra D, Darvishi K, Sood S, Sharma S, Grover C, Relhan V et. al. IL-10 promoter single nucleotide polymorphisms are significantly associated with resistance to leprosy. *Hum Genet* 2005;118:295-300 (A).

Malhotra D, Relhan V, Reddy BSN, Bamezai R. TLR2 Arg677Trp polymorphism in leprosy:

revisited. *Hum Genet* 2005;116:413-415 (B).

Martelli CMT, Stefani MMA, Penna GO, Andrade ALSS. Endemias e epidemias brasileiras, desafios e perspectivas da investigação clínica: hanseníase. *Rev Bras Epidemiol* 2002;5(3):273-285.

Martin MP, Gao X, Lee JH, Nelson GW, Detels R, Goedert JJ *et al.* Epistatic interaction between *KIR3DS1* and *HLA-B* delays the progression to AIDS. *Nat Gen* 2002;31:429-434.

Martin MP, Qi Y, Gao X, Yamada E, Martin JN, Pereyra F *et al.* Innate partnership of HLA-B and KIR3DL1 subtypes against HIV-1. *Nat Gen* 2007;39:733-740.

Martins ACC, Castro JC, Moreira JS. Estudo retrospectivo de dez anos em endoscopia das cavidades nasais de pacientes com hanseníase. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2005;71(5):609-616.

McVicar DW, Burshtyn DN. Intracellular signaling by the killer immunoglobulin-like receptors and Ly 49. *Sci STKE* 2001;re1(75):1-9.

Méndez A, Granda H, Meenagh A, Contreras S, Zavaleta R, Mendoza F *et al.* Study of KIR genes in tuberculosis patients. *Tissue Antigens* 2006;68:386-389.

Meyer CG, May J, Stark K. Human leukocyte antigens in tuberculosis and leprosy. *Trends in Microbiol* 1998;6:148-154.

Miller EN, Jamielson SE, Joberty C, Fakiola M, Hudson D, Peacock CS, *et al.* Genome-wide scans for leprosy and tuberculosis susceptibility genes in Brazilians. *Genes Immun* 2004;5:63-67.

Mira MT, Alcaïs A, di Pietrantonio T, Thuc NV, Phuong MC, Abel L *et al.* Segregation of HLA/TNF region is linked to leprosy clinical spectrum in families displaying mixed leprosy subtypes. *Genes Immun* 2003;4:67-73.

Mira MT, Alcaïs A, Thuc NV, Moraes MO, Flumeri CD, Thai VH *et al.* Susceptibility to leprosy is associated with PARK2 and PACRG. *Nature* 2004;427(6975):636-640.

Mira, MT. Genetic host resistance and susceptibility to leprosy. *Microbes Infect* 2006 ;8:1124-1131.

Monot M, Honore N, Garnier T, Araoz R, Coppe JY, Lacroix C, et al. On the origin of leprosy. *Science* 2005;308:1040-1042.

Montes-Cano MA, Caro-Oleas JL, Romero-Gómez M, Diago M, Andrade R, Carmona I *et al.* HLA-C and KIR genes in hepatitis C virus infection. *Hum immunol* 2005;66:1106-1109.

Moraes MO, Pacheco AG, Schonkeren JJ, Vanderborgh PR, Nery JAC, Santos AR, et al. Interleukin-10 promoter single-nucleotide polymorphisms as markers for disease susceptibility and disease severity in leprosy. *Gen Immun* 2004;5:592–595.

Morahan G, Kaur G, Singh M, Rappaport CC, Kumar N, Katoch K, *et al.* Association of variants in the *IL12B* gene with leprosy and tuberculosis. *Tissue Antigens* 2007;69(suppl.1):234-236.

Moschella SL. An update on the diagnosis and treatment of leprosy. *J Am Acad Dermatol* 2004;51:417-426.

Naafs O . Treatment of Leprosy: science or politics? *Trop Med Int Health* 2006;11(3):268-278.

O'Connor GM, Hart OM, Gardiner CM. Putting the natural killer cell in its place. *Immunology* 2005;117:1-10.

Ohyama H, Ogata K, Takeuchi K, Namisato M, Fukutomi Y, Nishimura F. Polymorphism of the 5' flanking region of the IL-12 receptor  $\beta 2$  gene partially determines the clinical types of leprosy through impaired transcriptional activity. *J Clin Pathol* 2005;58:740-743.

Opramolla DVA. Terapêutica da hanseníase. *Medicina, Ribeirão Preto* 1997;30:345-350.

Pedley JC, Geater JG. Does droplet infection play a role in the transmission of leprosy? *Lepr Rev* 1976;47:97-102.

Qi Y, Martin MP, Gao X, Jacobson L, Goedert JJ, Buchbinder S *et al.* KIR/HLA Pleiotropism: Protection against Both HIV and Opportunistic Infections. *PLOS Pathog* 2006;2(8):741-745.

Rajagopalan S, Long EO. A human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-G-specific receptor expressed on all natural killer cells. *J Exp Med* 1999;189(7):1093-1099.

Rajagopalan S, Long EO. Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease. *J Exp Med* 2005;201(7):1025-1029.

Ramaprasad P, Fernando A, Madhale S, Rao JR, Edward VK, Samson PD, *et al.* Transmission and protection in leprosy: indications of the role of mucosal immunity. *Lepr Rev* 1997;68:301-315.

Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity: A five group system. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1966;34(3):255-273.

Roy S, McGuire W, Mascie-Taylor CGN, Hazra SK, Hill AVS, Kwiatkowski D. Tumor Necrosis Factor Promoter Polymorphism and Susceptibility to Lepromatous Leprosy. *J Infect Dis* 1997;176:530-532.

Roy S, Frodsham A, Saha B, Hazra SK, Mascie-Taylor CGN, Hill AVS. Association of vitamin D receptor genotype with leprosy type. *J Infect Dis* 1999;179:187-191.

Santos AR, Suffys PN, Vanderborcht PR, Moraes MO, Vieira LMM, Cabello PH *et al.* Role of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-10 promoter gene polymorphisms in leprosy. *J Infect Dis* 2002;186:1687-1691.

Schurr E, Alcaïis A, de Leseleuc L, Abel L. Genetic predisposition to leprosy: a major gene reveals novel pathways of immunity to *Mycobacterium leprae*. *Semin Immunol* 2006;18:404-410.

Sieling PA, Wang X-H, Gately MK, Oliveros JL, McHugh T, Barnes PF, *et al.* IL-12 regulates T helper type 1 cytokine responses in human infectious disease. *J Immunol*

1994;153:3639-3647.

Sieling PA, Modlin RL. Regulation of cytokine patterns in leprosy. *Ann N Y Acad Sci* 1994;730:42-52.

Silva CL, Foss NT. Tumor necrosis factor in leprosy patients. *J Infect Dis* 1989;159:787-790.

Siddiqui MR, Meisner S, Tosh K, Balakrishnan K, Ghei S, Fisher SE *et al.* A major susceptibility *locus* for leprosy in India maps to chromosome 10p13. *Nat Genet* 2001;27:439-441.

Suh Y, Vijg J. SNP discovery in associating genetic variation with human disease phenotypes. *Mut Res* 2005;573:41-53.

Tosh K, Ravikumar M, Bell JT, Meisner S, Hill AVS, Pitchappan R. Variation in MICA and MICB genes and enhanced susceptibility to paucibacillary leprosy in South India. *Hum Mol Genet* 2006;15(19):2880-2887.

Ustianowski AP, Lockwood DNJ. Leprosy: current diagnostic and treatment approaches. *Curr Opin Infect Dis* 2003;16:421-427.

Vanderborght PR, Pacheco AG, Moraes ME, Antoni G, Romero M, Verville A *et al.* HLA-DRB1\*04 and DRB1\*10 are associated with resistance and susceptibility, respectively, in Brazilian and Vietnamese leprosy patients. *Genes Immun* 2007;8(4):320-324.

Vejbaesya S, Mahaisavariya P, Luangtrakool P, Sermduangprateep C. TNF alpha and NRAMP1 polymorphisms in leprosy. *J Med Assoc Thai* 2007;90(6):1188-1192.

Visentainer JEL, Tsuneto LT, Serra MF, Peixoto PRF, Petzl-Eler ML. Association of leprosy with HLA-DR2 in a Southern Brazilian population. *Braz J Med Biol Res* 1997;30:51-59.

Walker SL, Lockwood DNJ. The clinical and immunological features of leprosy. *Br Med Bull* 2006;77-78:103-121.

Walker SL, Lockwood DNJ. Leprosy. *Clin Dermatol* 2007;25:165-172.

WHO. Global leprosy situation. *Weekly Epidemiological Report*, 2007;82:225-232.

WHO. The leprosy burden at the end of 2005. Disponível em:  
<<http://www.who.int/lep/situation/BurdenEnd2005.pdf>.> Acesso em: 5 nov. 2007.

**Artigo “INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS DE GENES KIR E DE CITOCINAS NA IMUNOPATOLOGIA DA HANSENÍASE”, pág. 33-66 submetido para publicação, aguardando resultado.**

**Address correspondence:**

Dra Jeane Eliete Laguila Visentainer  
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: jelvisentainer@uem.br



## CAPÍTULO III

### CONCLUSÕES

Neste estudo, as análises das frequências de genes *KIR* e de seus ligantes HLA de classe I, além de polimorfismos únicos de genes de citocinas em indivíduos com hanseníase e/ou suas formas clínicas e indivíduos saudáveis da nossa região permitiram algumas conclusões:

- Quando as frequências de genes *KIR* foram comparadas entre o grupo com hanseníase *per se* e os controles, não foi possível verificar diferenças estatisticamente significativas.
  
- Quando as frequências de genes *KIR* foram comparadas entre os subgrupos de hanseníase:
  - Foi observada associação negativa do gene *KIR2DS3* com a forma TT da hanseníase em relação ao grupo com a forma LL.
  - Foi observada associação negativa de *KIR2DL1 – C2* entre os pacientes com a forma B em relação aos controles e aos pacientes TT.
  - Uma associação positiva entre *KIR2DL1-C2/C2* foi observada entre pacientes com a forma TT em relação aos outros subgrupos LL e B.
  - Associações positivas de *KIR3DL2-A3/11* foram observadas em pacientes com a forma B em relação aos pacientes LL e aos controles.
  - Uma associação negativa de *KIR2DL3-C1* e *KIR2DL3-C1/C1* foi observada em pacientes com a forma TT em relação aos controles e aos subgrupos.

Quando as frequências de polimorfismos únicos de nucleotídeos de genes de citocinas foram avaliadas:

- Foi verificada uma associação positiva do genótipo *TNF-308GG* com a hanseníase *per se* e, conseqüentemente, uma associação negativa de *TNF-308GA/AA* com o mesmo grupo de pacientes.

## **PERSPECTIVAS FUTURAS**

Como este foi o primeiro estudo que avaliou a influência de genótipos *KIR* e seus ligantes HLA de classe I na ocorrência de hanseníase e/ou suas formas clínicas, o recrutamento de um número maior de pacientes já está sendo realizado. O objetivo será definir com mais clareza o papel dos genes *KIR* e seus ligantes na imunopatologia da hanseníase e nas suas formas clínicas.

Além disso, a tipificação HLA de alta resolução do *locus C* do MHC pode permitir uma melhor definição da influência dos ligantes de *KIR* na ativação e/ou inibição das células *Natural Killer* e o desenvolvimento da resposta imune no hospedeiro.

# 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](#)