



DIVERSIDADE DE ALELOS E HAPLÓTIPOS HLA EM BRASILEIROS NEFROPATAS COM DIABETES *MELLITUS*

Lian Akemi Ueno (PIBIC/CNPq), Sueli Donizete Borelli (Orientadora),
email: sueliborelli@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Ciências Básicas da Saúde /Maringá, PR.

Área: Ciências Biológicas, subárea: Imunologia

Palavras-chave: Complexo Principal de Histocompatibilidade, Nefropatia Diabética, População brasileira.

Resumo

A doença renal crônica (DRC) é uma síndrome decorrente da lesão renal progressiva e uma de suas principais causas é a nefropatia diabética (ND). O objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade de alelos e haplótipos HLA em brasileiros nefropatas com diabetes *mellitus*. O estudo envolveu 281 pacientes e destes, 99 apresentaram diabetes *mellitus*. A tipificação HLA foi realizado pelo método de reação em cadeia da polimerase-sequência específica de oligonucleotídeos (PCR-SSO) associado a tecnologia Luminex . O programa Arlequin foi utilizado para calcular as frequências alélicas e haplotípicas . Os alelos mais frequentes nos pacientes nefropatas com diabetes *mellitus* foram: HLA-A*02 (24,75%), HLA-B*51 (12,63%), HLA-DRB1*04 (14,65%). O haplótipo mais frequente foi o HLA-A*01 –B*08 –DRB1*03 (4,04%). Os dados deste estudo documentaram a diversidade de alelos e haplótipos que poderá ser útil em futuros estudos de predisposição à doença renal crônica e ao diabetes *mellitus*.

Introdução

O Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH) representa o conjunto de genes responsáveis por codificar as moléculas de





histocompatibilidade em uma determinada espécie, sendo chamado no ser humano de sistema HLA (Antígenos Leucocitários Humano, do inglês: *Human Leukocyte Antigen*) (ELLIS, BALLINGALL, 1999).

O sistema HLA tem grande parte de sua codificação genética localizada no cromossomo 6, e contém mais de 200 genes que possuem grande importância no envolvimento e desenvolvimento da resposta imune. É o sistema mais polimórfico do genoma humano (MAGALHAES, BOHLKE, NEUBARTH, 2004).

O sistema HLA é o principal responsável pelo aloreconhecimento e reações de rejeição ao enxerto. Muitos estudos têm demonstrado a participação dos alelos HLA em diversas doenças (BONILHA, 2008).

A doença renal crônica (DRC) é uma síndrome clínica decorrente da lesão renal progressiva, de etiologia diversificada. (HOSTETTER *et al.*, 1982). A falência renal causada pelo diabetes *mellitus* (DM) é chamada de nefropatia diabética (ND) e normalmente é o resultado de alterações hemodinâmicas somadas aos efeitos da hiperglicemia, podendo provocar lesões na microcirculação renal que culminam com a esclerose glomerular (FRÁGUAS *et al.*, 2008).

No Brasil, principalmente no estado do Paraná, verifica-se escassez de estudos sobre a diversidade HLA em pacientes nefropatas. O objetivo do estudo foi avaliar a diversidade de alelos e haplotipos HLA em brasileiros nefropatas com diabetes *mellitus*.

Materiais e métodos

As amostras foram coletadas de pacientes com doença renal crônica, candidatos a transplante, que estão registrados na Central Regional de Transplantes do Noroeste do estado do Paraná. Foram coletados 5 mL de sangue total de cada paciente, em tubos a vácuo (Vacutainer, Becton and Dickson, Oxford, Inglaterra) contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) como anticoagulante. Posteriormente, foi realizada a extração do DNA genômico utilizando o kit comercial Biopur (Biometrix, Curitiba, Paraná, Brasil), seguindo o protocolo do fabricante.

Em seguida, a tipificação HLA foi realizada pelo método de reação em cadeia da polimerase-sequência específica de oligonucleotídeos (PCR-SSO) associado à tecnologia Luminex. Por fim, os resultados das tipificações HLA foram inseridas e organizadas em planilha Excel e para a





análise estatística foi utilizado o programa Arlequin para calcular as frequências alélicas e haplótípicas.

Resultados e Discussão

Dos 281 pacientes incluídos neste estudo, 104 pertenciam ao gênero feminino e 177 do sexo masculino, com média de idade de 55 ± 15 anos. Dos pacientes analisados, 99 apresentaram diabetes *mellitus*. Os pacientes com diabetes *mellitus* apresentaram uma faixa de idade de 29 até 87 anos, com média de idade de 63 ± 13 anos. Dos 99 pacientes, 67 são do sexo masculino e 32 são do sexo feminino.

Os alelos mais frequentes nos pacientes nefropatas com diabetes *mellitus* foram, loco A: HLA-A*02 (24,75%), HLA-A*03 (13,64%), HLA-A*24 (11,62%), HLA-A*01 (9,09%); loco B: HLA-B*51 (12,63%), HLA-B*35 (11,62%), HLA-B*08 (9,09%), HLA-B*44 (8,58%) e loco DRB1: HLA-DRB1*04 (14,65%), HLA-DRB1*11 (14,14%), HLA-DRB1*13 (13,64%) e HLA-DRB1*03 (11,62%). Os haplotipos mais frequentes foram: HLA-A*01,-B*08,-DRB1*03 (4,04%); HLA-A*24,-B*51,-DRB1*07 (2,40%); HLA-A*02,-B*15,-DRB1*14 (2,02%); HLA-A*02,-B*51,-DRB1*13 (2,02%) e HLA-A*02,-B*51,-DRB1*04 (2,02%). Todos os locos analisados estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Nossos resultados estão em concordância parcial com outros estudos, em relação aos alelos HLA, envolvendo populações brasileiras (BONILHA, 2008).

Conclusão

Demonstramos a diversidade de alelos e haplótipos HLA em uma população brasileira de nefropatas com diabetes *mellitus*. Os resultados encontrados poderão ser úteis nos estudos de associação, dos alelos HLA, com a predisposição e/ou proteção às doenças renais e o diabetes *mellitus* envolvendo outras populações brasileiras.





Agradecimentos

Ao CNPq; Ao Laboratório de Imunogenética da Universidade Estadual de Maringá; À Orientadora Prof. Dra. Sueli Donizete Borelli; Aos Doutorandos Roger Haruki Yamakawa e Patrícia Keiko Saito.

Referências

BONILHA, M.R. **Frequência dos genótipos HLA-A*, -B* e DRB1* e a associação com o risco de Doença Renal Terminal, em pacientes oriundos do Triângulo Mineiro, Brasil.** 2008. 78f. Tese (Doutorado)-Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.

ELLIS S.A, Ballingall K.T. **Cattle MHC: evolution in action?** ImmunolRev;167:159-68, 1999.

FRÁGUAS G., Soares S.M, Silva P.A.B. **A família no contexto de cuidado do portador de nefropatia diabética.** Esc Anna Nery Rev Enferm 2008 jun; 12(2): 271-7.

HOSTETTER T.H., Rennke H.G., Brenner B.M. **Compensatory renal hemodynamic injury: a final common pathway of residual nephron destruction.** Am J KidneyDis 1982; 1:310-4.

MAGALHÃES P.S.C., Böhlke M., Neubarth F. **Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC): codificação genética, bases estruturais e implicações clínicas.** Rev. Med. UCPEL (Pelotas), v. 2, n. 5, p. 59, 2004.

