

## ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DOS GENES *KIR* NO DESFECHO DA INFECÇÃO POR SARS-COV-2

Ariane Laguila Altoé (PIBIC/FA), Larissa Danielle Bahls Pinto (Orientador),  
ra106841@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da  
Saúde/Maringá, PR.

### Imunologia, Imunogenética

**Palavras-chave:** polimorfismo genético, receptores KIR, COVID-19

#### Resumo:

A existência de casos graves de COVID-19 em pacientes jovens e sem comorbidades evidencia que fatores imunogenéticos do hospedeiro podem estar relacionados à progressão da doença. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de variações nos genes *KIR* na imunopatogênese da COVID-19 em uma população do Paraná, Brasil. Para tanto, amostras de sangue total de 64 pacientes com COVID-19 foram utilizadas para obtenção do DNA genômico que foi posteriormente utilizado para determinação do genótipo *KIR* utilizando a metodologia PCR-SSO (Luminex). Com base no conteúdo gênico do *cluster KIR* foram determinados os genótipos KIR das amostras, classificados em haplótipos A e Bx. A análise dos dados foi realizada utilizando o software *HLA Fusion Research 6.0*, e as análises estatísticas foram feitas utilizando o programa OpenEpi. A presença dos genótipos AA e/ou Bx não foi associada estatisticamente à evolução clínica (grupo moderado x grave) e ao desfecho da doença (óbito x alta hospitalar). Todavia, a presença do gene *KIR2DL2* mostrou-se como um fator de proteção contra a evolução para óbito ( $p= 0,02053$ , OR= 0,1018, 95% IC= 0,0124-0,8352). Assim, a partir dos resultados deste estudo, podemos concluir que variações individuais nos genes que codificam os receptores KIR podem influenciar no desfecho da infecção por SARS-CoV-2.

#### Introdução

Em dezembro de 2019, um novo coronavírus, SARS-CoV-2, foi identificado na China. Alguns meses depois, essa nova doença foi nomeada COVID-19 pela Organização Mundial da Saúde (OMS), e em março de 2020 foi declarada uma pandemia. Ainda que a maioria dos indivíduos infectados pelo SARS-CoV-2 desenvolva uma forma assintomática, grupos considerados de risco (profissionais de saúde da linha de frente, idosos, indivíduos com comorbidades etc.) têm maior chance de manifestar a forma grave da COVID-19 (BRASIL, 2020). Em contrapartida, mesmo indivíduos jovens e sem comorbidades podem desenvolvê-la, evidenciando a possibilidade de influência de polimorfismos em genes da resposta imune no desfecho da infecção por SARS-CoV-2.

A resposta imune, dessa forma, é variável em cada indivíduo, e dentre os componentes capazes de frear a invasão e proliferação viral nas células hospedeiras estão as células *natural killer* (NK). A atividade das células NK é regulada por receptores de superfície celular, dentre eles, os KIR (do inglês, *Killer-cell Immunoglobulin-like Receptors*) (CANIATTI, 2016; AGUIAR *et al.*, 2021). Dependendo da variabilidade genética individual presente no locus *KIR*, localizado no cromossomo 19 (19q13.4), diferentes receptores KIR inibidores ou ativadores podem ou não estar presentes nas células NK. Do total de genes *KIR*, quatro estão presentes em todos os indivíduos. Todos os outros genes *KIR* podem ou não estar presentes, dependendo do haplótipo *KIR* herdado dos indivíduos parentais (A ou B). Assim, os genótipos KIR possíveis são AA, AB e BB (CANIATTI, 2016). O alto grau de polimorfismo dos genes *KIR* pode refletir no surgimento de diferentes respostas imunes frente a agentes infecciosos, como o SARS-CoV-2. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência de variações nos genes *KIR* na imunopatogênese da COVID-19 em uma população do Norte do Paraná, Brasil.

## Materiais e Métodos

Foram selecionados 64 pacientes previamente diagnosticados com COVID-19 internados no Hospital Universitário Regional de Londrina, os quais foram divididos em 2 grupos dependendo da evolução clínica: um grupo foi formado por pacientes que evoluíram com sintomas moderados (N= 32), enquanto o outro foi formado pelos que apresentaram quadros graves (N= 32). Amostras de sangue total coletadas com EDTA foram utilizadas para extração do DNA genômico utilizando kits da Biopur. A genotipagem dos genes *KIR* foi realizada com o kit comercial *KIR SSO Genotyping Test* (One Lambda, USA), e a análise dos dados gerados foi feita utilizando o software *HLA Fusion Research 6.0*. Uma vez que a técnica utilizada neste estudo não permite a definição de fase dos genes *KIR*, a detecção de um gene presente em haplótipos B nos indica a possibilidade de ambos os genótipos AB e BB. Assim, nestes casos, o genótipo do indivíduo foi denominado Bx, como sugerido pela base de dados *Allele Frequency* (<http://www.allelefrequencys.net>). Análises estatísticas foram realizadas pelo OpenEpi 3.03a, utilizando o teste de qui-quadrado com correção de Yates ou teste exato de Fisher quando aplicável. A estimativa de risco foi feita pelo cálculo do Odds Ratio (OR), com intervalo de confiança (IC) de 95%, sendo o valor de  $p < 0,05$  considerado significativo.

## Resultados e Discussão

Neste estudo, foi investigada a associação entre os polimorfismos dos genes *KIR* e sua relação com os sintomas clínicos da COVID-19, bem como os desfechos gerados em cada indivíduo após a infecção. Os resultados obtidos apontaram que a presença do gene *KIR2DL2* é um fator de proteção contra desfechos mais graves (óbito) em pacientes infectados pelo SARS-CoV-2.

A tabela 1 traz a distribuição da frequência dos genes e genótipos KIR na população de estudo, de acordo com a forma clínica e o desfecho da infecção.

**Tabela 1** – Frequência dos diferentes genes *KIR* na população de estudo de acordo com a forma clínica e o desfecho após a COVID-19.

	Forma clínica		Desfecho	
	Moderado (N = 32) n (%)	Grave (N = 32) n (%)	Óbito (N = 16) n (%)	Alta hospitalar (N = 48) n (%)
<b>Genótipo KIR</b>				
AA	12 (37,5%)	13 (40,62%)	7 (43,75%)	18 (37,5%)
Bx	20 (62,5%)	19 (59,38%)	9 (56,25%)	30 (62,5%)
<b>Gene KIR</b>				
<i>2DL1</i>	31 (96,88%)	32 (100%)	16 (100%)	47 (97,92%)
<i>2DL2</i> <sup>1</sup>	18 (56,25%)	13 (40,62%)	<b>1 (6,25%)*</b>	<b>19 (39,58%)*</b>
<i>2DL3</i>	28 (87,5%)	31 (96,88%)	16 (100%)	43 (89,58%)
<i>2DL4</i> <sup>1,2</sup>	32 (100%)	32 (100%)	16 (100%)	48 (100%)
<i>2DL5</i>	12 (37,5%)	14 (43,75%)	6 (37,5%)	20 (41,67%)
<i>2DP1</i>	31 (96,88%)	32 (100%)	16 (100%)	48 (100%)
<i>2DS1</i>	8 (25%)	11 (34,38%)	5 (31,25%)	14 (29,17%)
<i>2DS2</i>	17 (53,12%)	13 (40,62%)	5 (31,25%)	25 (52,08%)
<i>2DS3</i>	6 (18,75%)	6 (18,75%)	1 (6,25%)	11 (22,92%)
<i>2DS4</i>	30 (93,75%)	30 (93,75%)	14 (87,5%)	46 (95,83%)
<i>2DS5</i>	8 (25%)	8 (25%)	5 (31,25%)	12 (25%)
<i>3DL1</i>	30 (93,75%)	30 (93,75%)	14 (87,5%)	46 (95,83%)
<i>3DL2</i> <sup>2</sup>	32 (100%)	32 (100%)	16 (100%)	48 (100%)
<i>3DL3</i> <sup>2</sup>	32 (100%)	32 (100%)	16 (100%)	48 (100%)
<i>3DP1</i> <sup>2</sup>	32 (100%)	32 (100%)	16 (100%)	48 (100%)
<i>3DS1</i>	8 (25%)	10 (31,25%)	5 (31,25%)	13 (27,08%)

N = número de indivíduos da amostra; n = número de indivíduos portadores do genótipo ou do gene; <sup>1</sup> gene ativador ou inibidor; <sup>2</sup> genes *framework*; \*(*P*= 0,02053; OR= 0,1018; IC 95%= 0,0124-0,8352).

Embora a associação genética encontrada neste estudo pareça ser contraditória uma vez que o receptor KIR2DL2 é um receptor inibitório de células NK, este resultado está em consonância com achados de outros estudos. Pesquisas mostram que pacientes com outros tipos de SARS, além de possuírem uma quantidade reduzida de células NK, também possuem uma diminuição da expressão de receptores KIR2DL2/3 por essas células, conferindo maior gravidade à doença. Adicionalmente, a maioria dos estudos aponta que pacientes com a COVID-19 exibem um aumento na expressão de moléculas inibitórias, incluindo receptores KIR (AGUIAR *et al.*, 2021; BOZZANO *et al.*, 2021; DEMARIA *et al.*, 2020).

Em relação à distribuição de frequência dos genótipos AA e Bx, alguns autores apontaram o genótipo Bx como sendo mais comum dentre os indivíduos com a COVID-19, independente da forma clínica (HAJEER *et al.*, 2021). Esse dado foi confirmado em nosso estudo (61% de indivíduos Bx versus 39% AA), embora nossa amostra não contemple indivíduos não doentes para fins de comparação. Já em

relação à prevalência desses genótipos de acordo com a manifestação da doença, estudos recentes mostraram que o genótipo AA está mais associado aos pacientes com a forma grave da COVID-19, ao passo que o genótipo Bx é mais frequente em casos leves/moderados da doença (HAJEER *et al.*, 2021). Ao contrário do exposto, em nosso estudo o genótipo AA não foi maioria dentre os pacientes do grupo grave (40,62% AA versus 59,38% Bx), ainda que sem relevância estatística. Uma das mais prováveis explicações para essa discrepância observada foi o número pequeno de indivíduos na amostra total de pacientes analisados.

## Conclusões

Ao avaliar as possíveis associações entre os polimorfismos dos genes KIR, as formas clínicas e os desfechos da COVID-19 em pacientes infectados pelo vírus, encontrou-se que a presença do gene *KIR2DL2* foi considerada como sendo fator de proteção contra a evolução para desfechos mais graves da doença.

## Agradecimentos

Agradeço à Fundação Araucária pelo financiamento do projeto PIBIC; às professoras Dra. Larissa Danielle Bahls Pinto, Dra. Fernanda Pelisson Massi e Dra. Bruna Karina Banin Hirata pelo apoio; e ao LIG-UEM pela oportunidade.

## Referências

AGUIAR, V. R. C. *et al.* An immunogenetic view of COVID-19. **Genetics and Molecular Biology**, v. 44, n. 1, p. e20210036, 2021.

BOZZANO, F. *et al.* Extensive activation, tissue trafficking, turnover and functional impairment of NK cells in COVID-19 patients at disease onset associates with subsequent disease severity. **PLoS Pathog**, v. 17, n. 4, p. e1009448, 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Governo Federal. Cartilha do Ministério da Saúde (COVID-19). Brasília (DF), 2000.

CANIATTI, M. C. C. L. Associação entre genes HLA e KIR e sensibilização a ácaros em uma população brasileira. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Estadual de Maringá. Maringá (PR), p. 1-111. 2016.

DEMARIA, O. *et al.* Identification of druggable inhibitory immune checkpoints on Natural Killer cells in COVID-19. **Cell Mol Immunol**, v. 17, n. 9, p. 995-997, 2020.

HAJEER, A. *et al.* Association of KIR gene polymorphisms with COVID-19 disease. **Clin Immunol**, v. 234, p. 108911, 2022.