

ANÁLISE DO PAPEL DO GENE *KIR2DS1* NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA À COVID-19 EM PACIENTES DO NOROESTE DO PARANÁ

Lorena Barbosa Vicentini dos Santos (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Sergio Grava (Colaborador), Victor Hugo de Souza (Coorientador), Afonso Carrasco Pepineli (Colaborador), Jeane Eliete Laguilha Visentainer (Orientadora)

E-mail: ra130258@uem.br

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

Ciências biológicas – Imunologia (21100004) e Imunogenética (21103003)

Palavras-chave: PCR-SSP, COVID-19, KIR.

RESUMO

A COVID-19 foi responsável por uma das maiores pandemias da história, causando elevado impacto no sistema de saúde e na economia mundial. Sua patogênese está relacionada a características do hospedeiro, incluindo fatores genéticos que modulam a resposta imune. As células NK, reguladas por receptores da família killer immunoglobulin-like (KIR), possuem papel essencial na defesa antiviral, e seus genes apresentam polimorfismos que variam entre populações. Este estudo investigou a associação do gene ativador *KIR2DS1* com a gravidade da COVID-19 em indivíduos do noroeste do Paraná, Brasil, por meio de um estudo caso-controle. Foram analisados 111 pacientes, sendo 70 com forma grave e 40 com forma leve. A idade média foi significativamente maior no grupo grave (63 vs. 42 anos; $p = 0,003$). A doença cardiovascular mostrou associação significativa com a forma grave ($p = 0,024$; OR = 4,74; IC95% = 1,29–20,20), assim como o sexo masculino ($p = 0,043$; OR = 3,11; IC95% = 1,06–9,76). Por outro lado, o gene *KIR2DS1* não apresentou associação estatística com a gravidade da doença ($p = 0,50$; OR = 0,71; IC95% = 0,25–2,04), embora estudos prévios em outras populações sugiram possível efeito protetor.

Conclui-se que, na população estudada, idade avançada, sexo masculino e doença cardiovascular constituem fatores de risco para COVID-19 grave, enquanto o gene *KIR2DS1* não demonstrou influência significativa.

INTRODUÇÃO

A COVID-19 é uma síndrome respiratória aguda grave causada pelo SARS-CoV-2, responsável por uma pandemia que sobrecarregou sistemas de saúde em todo o mundo. Segundo a Universidade John Hopkins, já foram confirmados mais de 700 milhões de casos e 7 milhões de mortes globalmente (<https://coronavirus.jhu.edu/map.html>). Os infectados podem apresentar desde sintomas leves, como fadiga, anosmia e cefaleia, até quadros graves com febre alta,

dispneia e hipoxemia (CARES-MARAMBIO et al., 2021). A gravidade varia entre formas assintomáticas, leves, moderadas ou graves e está associada a fatores do hospedeiro, como idade, sexo e comorbidades, incluindo doenças cardiovasculares e diabetes (BRODIN, 2021). Contudo, casos graves também ocorrem em indivíduos sem fatores de risco.

Além desses aspectos, a genética do hospedeiro influencia a evolução clínica. Variações genéticas podem modificar a resposta imune, gerando diferenças na capacidade de defesa entre indivíduos expostos ao mesmo patógeno. A resposta imune envolve uma fase inata, seguida da adaptativa, sendo as células NK essenciais no controle inicial da infecção (HAJEER et al., 2022). Sua ação depende da interação com células infectadas por meio de receptores da família killer immunoglobulin-like (KIR), herdados em haplótipos e com polimorfismos populacionais. Esses receptores interagem com moléculas HLA de classe I, que apresentam antígenos virais e permitem às NK induzir apoptose em células-alvo, de modo semelhante aos linfócitos T CD8.

Os receptores KIR exercem função inibitória ou ativadora sobre as células NK (VILCHES; PARHAM, 2002). Oito genes codificam receptores inibitórios (*KIR2DL1*, *KIR2DL2*, *KIR2DL3*, *KIR2DL5A*, *KIR2DL5B*, *KIR3DL1*, *KIR3DL2* e *KIR3DL3*), enquanto os ativadores são codificados por *KIR2DS1*, *KIR2DS2*, *KIR2DS3*, *KIR2DS4*, *KIR2DS5* e *KIR3DS1* (CARRINGTON; MARTIN, 2006). Destaca-se o *KIR2DS1*, associado a melhor resposta imune e prognóstico em casos de COVID-19 nos Estados Unidos.

Considerando que a presença dos genes *KIR* varia entre populações, isso pode contribuir para explicar diferenças na resposta imune observada na COVID-19. Assim, este estudo tem como objetivo investigar a influência do *KIR2DS1* no desfecho da doença em indivíduos de Maringá (PR).

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no formato caso-controle, com pacientes atendidos em hospitais de Maringá e Londrina (PR). O grupo caso foi composto por indivíduos com COVID-19 moderada ou grave que necessitaram de internação, enquanto o grupo controle incluiu pacientes com sintomas leves ou assintomáticos, expostos ao vírus, mas sem evolução para formas graves.

Foi coletado sangue venoso periférico em tubos com EDTA, seguido de centrifugação para obtenção do buffy coat, armazenado a -20 °C. A extração de DNA foi realizada pelo kit QIAamp® (Qiagen) ou similar, conforme instruções do fabricante. A qualidade e concentração do DNA foram verificadas por espectrofotometria (Nanodrop 2000).

A tipificação do gene *KIR2DS1* foi feita por PCR-SSP com primers específicos. As frequências alélicas foram analisadas no software R (v.4.2.0) por meio de regressão logística multivariada, considerando possíveis variáveis confundidoras como sexo e idade. O efeito genético foi estimado pelo Odds Ratio (IC95%), adotando $p < 0,05$ como nível de significância.

Este trabalho integra o projeto “Marcadores imunológicos da síndrome respiratória aguda grave causada pelo novo coronavírus”, aprovado pelo Comitê de Ética em

Pesquisa (CAAE 38095420.5.0000.0104; pareceres nº 4.357.896 de 14/10/2020 e nº 4.508.676 de 18/12/2020).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a possível associação entre o gene *KIR2DS1* e a gravidade da COVID-19, considerando também variáveis demográficas e clínicas, como idade, presença de doença cardiovascular e sexo. Foram analisados 111 pacientes, dos quais 70 apresentaram a forma grave da doença e 40 a forma leve. Entre os indivíduos genotipados, 95 eram brancos e 16 não brancos, incluindo pardos, pretos e asiáticos.

A idade média dos pacientes com a forma grave foi de 63 anos, enquanto no grupo controle a média foi de 42 anos, diferença que se mostrou estatisticamente significativa e associada ao maior risco de evolução para a forma severa da COVID-19 ($p = 0,003$). A presença de doença cardiovascular também demonstrou associação significativa, indicando que pacientes com essa condição apresentaram risco aumentado para o desenvolvimento da forma grave da doença ($p = 0,024$; OR = 4,740; IC95% = 1,29–20,20).

Quanto ao sexo, observou-se que a população estudada era composta por 60 mulheres e 51 homens. A análise estatística revelou que o sexo masculino esteve associado a maior propensão para o desenvolvimento da forma severa da COVID-19 ($p = 0,043$; OR = 3,110; IC95% = 1,06–9,76).

Por outro lado, o gene *KIR2DS1* não apresentou associação estatística significativa com a gravidade da doença ($p = 0,50$; OR = 0,71; IC95% = 0,25–2,04). Apesar disso, estudos prévios realizados em populações norte-americanas sugerem uma possível relação do gene com um melhor prognóstico da COVID-19, o que pode refletir diferenças genéticas entre distintas populações. Outra razão para não ter sido observada associação é devido ao tamanho pequeno da amostragem utilizada nesse estudo.

Tabela 1 Associação estatística entre CVD, Sexo, *KIR2DS1* com a forma severa da COVID-19

Características	OR	IC95%	P-valor
<i>KIR2DS1</i>	0,71	0,25-2,04	0,500
CVD	4,74	1,29-20,20	0,024
Sexo	3,11	1,06-9,76	0,043

OR = Odds Ratio, IC = Intervalo de Confiança, P = probabilidade. Fonte: Os autores

Tabela 2 Associação estatística entre Idade com a forma severa da COVID-19

Características	Média	Desvio padrão	P-valor
Idade grupo caso	63,27	17,05	0,003
Idade grupo controle	42,69	14,00	0,003

P = probabilidade. Fonte: Os autores

CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que idade avançada, presença de doença cardiovascular e sexo masculino estão significativamente associados ao maior risco de evolução para a forma grave da COVID-19. Por outro lado, o gene *KIR2DS1* não apresentou associação com a doença na população estudada, sugerindo que seu impacto na patogênese da doença pode variar entre diferentes contextos genéticos e populacionais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Laboratório de Imunogenética da UEM, à professora Jeane Eliete Laguila Visentainer, ao Victor Hugo de Souza e ao Afonso Carrasco Pepineli pelo apoio e orientação. Agradeço também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

BRODIN, P. Immune determinants of COVID-19 disease presentation and severity.

Nature Medicine, v. 27, n. 1, p. 28-33, 2021. Disponível em:

<https://doi.org/10.1038/s41591-020-01202-8>.

CARES-MARAMBIO, K. et al. Prevalence of potential respiratory symptoms in survivors of hospital admission after coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis. **Chron Respir Dis**, v. 18, p. 14799731211002240, 2021.

CARRINGTON, M.; MARTIN, M. P. The impact of variation at the KIR gene cluster on human disease. **Curr Top Microbiol Immunol**, v. 298, p. 225-257, 2006.

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

VILCHES, C.; PARHAM, P. KIR: diverse, rapidly evolving receptors of innate and adaptive immunity. **Annu Rev Immunol**, v. 20, p. 217-251, 2002.