INFLUÊNCIA DO GENE *KIR2DL5* NA IMUNOPATOGÊNESE DA COVID-19 EM UMA POPULAÇÃO DO PARANÁ, BRASIL

Maria Luiza Bernabé Cavalaro (PIBIC), Jeane Eliete Laguila Visentainer (Orientadora). E-mail: jelvisentainer@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências biológicas / Imunogenética

Palavras-chave: SARS-CoV-2; Células Natural Killer; *PCR-SSP*.

RESUMO

Ainda que fatores como idade, sexo e comorbidades estejam associados à gravidade da COVID-19, indivíduos sem fatores de risco também podem desenvolver quadros graves, o que aponta para a relevância dos fatores genéticos individuais na resposta imune ao vírus. Dentre os elementos da imunidade inata, destacam-se as células natural killer (NK), cuja atividade é regulada por receptores KIR (*Killer-cell Immunoglobulin-like Receptors*), os quais interagem com moléculas HLA de classe I. Diante disso, o presente estudo tem como objetivo investigar a associação entre a presença do gene *KIR2DL5* e os desfechos clínicos da COVID-19 em pacientes atendidos em unidades hospitalares no norte do Paraná. Trata-se de um estudo caso-controle, no qual o grupo de casos incluiu 105 pacientes com COVID-19 com as formas moderadas a graves, enquanto o grupo controle foi composto por 140 indivíduos com sintomas leves. A genotipagem do gene *KIR2DL5* foi feita por *PCR-SSP* com visualização em gel de agarose a 2,0%. A frequência alélica foi determinada por meio do software R (v. 4.2.0), e a análise estatística incluiu regressão logística multivariada. No resultado obtido não foi observada associação estatisticamente significativa entre o gene *KIR2DL5* e a COVID-19. Entretanto, a doença cardiovascular e o sexo foram identificados como fatores de risco para as formas grave e crítica da doença. Diante disso, estudos com maior poder amostral são necessários para elucidar o real papel do gene *KIR2DL5* na imunopatogênese da COVID-19.

INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus SARS-CoV-2 pode resultar em uma ampla gama de manifestações clínicas, variando de sintomas leves, como fadiga, cefaléia, mialgia, perda de olfato e disfagia, até formas mais graves, que incluem febre alta, dispneia, cianose e hipóxia (CARES-MARAMBIO et al., 2021).

A gravidade da COVID-19 é influenciada por diversos fatores, entre os quais a variabilidade genética individual exerce um papel determinante na modulação da

resposta imunológica. Evidências demonstram que polimorfismos genéticos específicos podem interferir na expressão e função de proteínas envolvidas na defesa antiviral, contribuindo para distintas manifestações clínicas e desfechos da doença (BRODIN, 2021; PAIRO-CASTINEIRA et al., 2021).

A atividade das células natural killer é regulada pela sua interação com as células-alvo infectadas por meio dos receptores *killer immunoglobulin-like receptors* (KIR), que são herdados em haplótipos. Estes receptores apresentam elevado polimorfismo genético na população humana, o que pode modular a resposta imune frente a infecções virais. (VILCHES; PARHAM, 2002; CARRINGTON; MARTIN, 2006).

A associação entre a infecção por SARS-CoV-2 e o gene inibidor *KIR2DL5* especificamente ainda foi pouco estudada, mas no estudo conduzido por por Wang et al. (2017) foi identificado que a presença do gene *KIR2DL5* está associada a um efeito protetor contra o desenvolvimento da espondilite anquilosante na população taiwanesa estudada. Nessa perspectiva, esse estudo tem como objetivo investigar a influência da presença ou ausência do gene *KIR2DL5* no desfecho da COVID-19 em indivíduos de Maringá, PR.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi conduzido sob o delineamento caso-controle, com a inclusão de pacientes atendidos em unidades hospitalares localizadas nas cidades de Maringá e Londrina. Os grupos foram classificados segundo a diretriz da Organização Mundial de Saúde, sendo os casos compostos por 105 indivíduos diagnosticados com COVID-19 que apresentaram sintomas moderados a graves, com necessidade de internação hospitalar, e com o grupo controle incluindo 140 pacientes que desenvolveram apenas sintomas leves, mesmo após exposição confirmada ao vírus SARS-CoV-2, e que não necessitaram de hospitalização durante o curso da doença.

A coleta de material biológico foi realizada por punção venosa, obtendo-se sangue periférico em tubos contendo EDTA. Após centrifugação, foi feita a separação do *Buffy-coat*, sendo armazenado a -20 °C até o momento do processamento. A extração do DNA genômico foi realizada utilizando o kit QIAamp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA), ou outro equivalente, seguindo rigorosamente as instruções do fabricante.

A avaliação da pureza e concentração do DNA extraído foi realizada por espectrofotometria utilizando o equipamento Thermo Scientific Nanodrop 2000 (Wilmington, EUA), com leitura da densidade óptica nos comprimentos de onda de 260 nm e 280 nm. A genotipagem do gene *KIR2DL5* foi efetuada por meio da técnica de PCR com *primers* específicos para sequência (*PCR-SSP – Polymerase Chain Reaction – Sequence Specific Primer*), empregando oligonucleotídeos direcionados a alelos do gene de interesse.

Após a realização da PCR, as amostras foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 2%, permitindo a visualização das bandas (151 pares de base) correspondentes ao fragmento de interesse e, consequentemente, a determinação da presença ou ausência do gene nas amostras analisadas. Para o controle da

reação, foi utilizado o gene do hormônio de crescimento humano (HGH) como controle positivo interno, enquanto uma amostra previamente conhecida como negativa foi utilizada como controle negativo interno.

As frequências alélicas do gene *KIR2DL5* foram determinadas utilizando o software R (versão 4.2.0). A análise estatística incluiu a aplicação de regressão logística para comparar as frequências entre os grupos caso e controle, com correção para possíveis variáveis de confusão por meio de modelo multivariado. A magnitude da associação genética foi estimada por meio do cálculo do *Odds Ratio* (OR), com intervalo de confiança de 95% (IC 95%). Foram considerados estatisticamente significativos os valores de p inferiores a 0,05.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá, conforme registrado na Plataforma Brasil sob o CAAE 38095420.5.0000.0104, com pareceres favoráveis n.º 4.357.896 (aprovado em 14/10/2020) e n.º 4.508.676 (aprovado com modificações e emenda em 18/12/2020).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de associação entre o gene *KIR2DL5* e a gravidade da COVID-19, não foi observada diferença estatisticamente significativa (OR = 0,88; p = 0,7). Embora o OR inferior a 1 indique uma discreta redução nas chances de desenvolver formas graves da doença entre os indivíduos portadores do gene, essa diferença não apresentou significância estatística, não sendo possível afirmar que o *KIR2DL5* tenha um efeito protetor ou esteja associado à gravidade da infecção na população estudada.

Por outro lado, as variáveis clínicas demonstraram associação significativa com a gravidade da COVID-19. A presença de doença cardiovascular foi associada a um aumento de aproximadamente 3,9 vezes na chance de desenvolvimento das formas grave e crítica da doença. Da mesma forma, o sexo apresentou associação significativa com a gravidade da infecção, indicando maior probabilidade de evolução para formas graves no grupo correspondente à categoria de referência utilizada na análise.

Tabela 1

Associação multivariada entre variáveis e a gravidade da COVID-19.

Característica	OR	95% IC	p-valor
CVD	3.90	2.02, 7.74	<0.001
Sexo masculino	2.91	1.67, 5.13	<0.001
KIR2DL5	0.88	0.50, 1.56	0.7

Fonte: dados da pesquisa (2026). CVD: Doença Cardiovascular. Para a variável sexo, o sexo feminino foi utilizado como categoria de referência.

CONCLUSÕES

O gene *KIR2DL5* na população estudada não apresentou associação significativa estatisticamente com a gravidade da COVID-19 enquanto fatores clínicos já estabelecidos, como CVD e sexo, permaneceram associados como fatores de risco. Diante disso, mais estudos com maiores quantidades de amostras são necessários para uma melhor compreensão da influência genética na resposta imunológica à COVID-19.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Estadual de Maringá (UEM), pelo suporte institucional e acadêmico, e aos órgãos responsáveis pelo apoio à pesquisa e à formação científica.

REFERÊNCIAS

BRODIN, P. Immune determinants of COVID□19 disease presentation and severity. Nature Medicine, v. 27, n. 1, p. 28□33, jan. 2021. ISSN 1546□170X. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41591-020-01202-8. Acesso em: 14 maio 2025.

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. Chronic Respiratory Disease, v. 18, p. 14799731211002240, jan.–dez. 2021. ISSN 1479□9723.

CARRINGTON, M.; MARTIN, M. P. The impact of variation at the KIR gene cluster on human disease. Current Topics in Microbiology and Immunology, v. 298, p. 225□257, 2006. ISSN 0070□217X.

PAIRO-CASTINEIRA, E. et al. Genetic mechanisms of critical illness in COVID□19. Nature, v. 591, n. 7848, p. 92□98, mar. 2021. ISSN 1476□4687. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41586-020-03065-y. Acesso em: 14 maio 2025.

VILCHES, C.; PARHAM, P. KIR: diverse, rapidly evolving receptors of innate and adaptive immunity. Annual Review of Immunology, v. 20, p. 217□251, 2002. ISSN 0732□0582.

WANG, C. M. et al. Human leukocyte antigen C*12:02:02 and killer immunoglobulin□like receptor 2DL5 are distinctly associated with ankylosing spondylitis in the Taiwanese. International Journal of Molecular Sciences, v. 18, p. 1775, 2017. ISSN 1422□0067.