

AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE ALÉLICA DO RECEPTOR FcγRIIA EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS DA POPULAÇÃO DE GOIÂNIA.

LIMA, Laryssa C.(1), SILVEIRA, Lucimeire A.(2)

1-INTRODUÇÃO

Os receptores das células do sistema imune que reconhecem antígenos incluem o receptor de células B(BCR), receptores de células T(TCR) e receptores Fc (FcR). Existem três classes de receptores para a porção Fc de IgG: o FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) e FcγRIII(CD16). Funcionalmente esses receptores constituem um elo importante entre a resposta imune humoral e a resposta imune celular. São importantes nos mecanismos reguladores da resposta imune como: supressão da produção de anticorpos, participação nos mecanismos geradores de diversidade de imunoglobulinas, manutenção da tolerância ao próprio, *in vitro* na maturação de células dendríticas e nos mecanismos efetores tais como fagocitose, endocitose, citotoxicidade celular dependente de anticorpo(ADCC), liberação de citocinas, ativação de neutrófilos, participam nos estágios iniciais de ativação da resposta imune, potencializando a apresentação de antígenos [ANDERSON et. al. 1990], além de estarem envolvidos na eliminação de imunocomplexos [COHEN_SOLAL et. al. 2004]. O FcγRIIIa possui duas formas alélicas codominantes que diferem no aminoácido encontrado na posição 131, apresentando, então, a forma alélica FcγRIIIa R131 o aminoácido arginina e a forma FcγRIIIa H131 a histidina. Este receptor é expresso em maior quantidade na superfície de neutrófilos, macrófagos, plaquetas e outras células. Este estudo teve como objetivo analisar os padrões de diversidade alélica dos receptores FcγRIIIa em um grupo de indivíduos saudáveis da população de Goiânia.

2-METODOLOGIA:

2.1-Coleta de amostras

As amostras de sangue venoso de homens e mulheres saudáveis foram coletadas em anticoagulante. As amostras foram posteriormente fracionadas e armazenadas.

2.3-Extração de DNA

Foi processada a extração do DNA genômico utilizando a técnica de fenol-clorofórmio-álcool. Após extração com fenol-clorofórmio-álcool isoamílico, o DNA foi precipitado com acetato de amônio 5 M e etanol 100%. Recuperou-se o *pellet* que foi então lavado com etanol 80%. O precipitado foi ressuscitado com água milliQ e armazenado a -20° C.

2.3- Amplificação do receptor FcγRIIIA

Uma mistura de primers (200 ng) , dNTP (200 mM) , MgCl₂ (nM) , Tris HCl (10 mM) , KCl (50 mM) e Taq DNA polimerase (0.8 U) num volume de 25mL é processada em termociclador para amplificação de um fragmento do gene que codifica o FcγRIIIA.

2.4- Digestão enzimática

O produto amplificado foi digerido com 1 a 0,5 U da enzima Bsh 1236I 10U/mL e incubadas a 60° C *overnight*. Os produtos de digestão enzimática foram, posteriormente, analisados por eletroforese em gel de agarose 3% corado com brometo de etídio.

3- Resultados e Discussões

Na **Tabela 1** observamos a distribuição das diferentes formas alélicas do receptor Fc γ RIIA em homens e mulheres no grupo estudado. Observamos o predomínio do genótipo H/H no grupo masculino (n=20) com uma frequência de 50%. O pequeno grupo de mulheres estudadas (n=7) apresentou proporcionalmente as formas alotípicas homozigóticas H/H e R/R deste receptor, sendo que o padrão heterozigótico não foi encontrado neste grupo feminino.

Tabela 1: Distribuição das diferentes formas alélicas do receptor Fc γ RIIA em homens e mulheres da população de Goiânia

Alelo	H/R	H/H	R/R	total
Homem	7(35%)	10(50%)	3(15%)	20(100%)
Mulher	0	3(43%)	4(57%)	7(100%)
total	7(26%)	13(48%)	7(26%)	27(100%)

Estes dados correlacionam com aqueles encontrados por OSBORNE *et. al.* 1994 que encontrou predominantemente o padrão alotípico H/H em dois dos grupos étnicos analisados em seu estudo, o grupo de chineses e japoneses.

4- Conclusão

Os receptores Fc γ Rs estão envolvidos na patogênese das doenças infecciosas como a dengue[LOKE *et. al.* 2002] doenças autoimunes e com a proteção em infecções bacterianas [BREDIUS *et. al.* 1994]. Em nosso estudo o genótipo H/H constituiu o alótipo de maior frequência representando 48% do total de amostras analisadas.

5-Referências bibliográficas

- ANDERSON, C. L., SHEN, L., EICHER, D. M., WEWERS, M. D. & GILL, J. K. Phagocytosis mediated by three distinct Fc gamma receptor classes on human leukocytes. *J. Exp. Med.* **171**: 1333-45, 1990.
- BREDIUS, R. G. M., DERKX, B. H. F., FIJEN, C. A. P., DE WIT, T. P. M., DE HAAN, M., WEENING, R. S., VAN DE WINKEL, J. G. J. & OUT, T. A. Fc γ RIIa (CD32) polymorphism in fulminant meningococcal septic shock in children. *Journal Infection Diseases* **70**: 848, 1994.
- COHEN-SOLAL, J. FG, CASSARD, L., FRIDMAN, WH, SAUTÉS-FRIDMAN, C. Fc γ receptors. *Immunology Letters* **92** 199-205, 2004.
- LOKE, H, BETHELL, D, THANH PHUONG,CX, DAY, N, WHITE, N, FARRAR,J, HILL,A. Susceptibility to dengue hemorrhagic fever in Vietnam: evidence of an association with variation in the vietnam D receptor and Fc γ receptor IIA genes. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* **67** 102-106, 2002.
- OSBORNE, J.M., CHACKO, G.W., BRANDT, J.T. & ANDERSON, C.L. Ethnic variation in frequency of an allelic polymorphism of human Fc γ RIIA determined with allele specific oligonucleotide probes. *Journal Immunology Methods.* **173**: 207-214,1994.

1 - Bolsista : Laryssa Chaves Lima , larych@hotmail.com

2- Orientadora: Lucimeire Antonelli da Silveira, lucimeireantonelli@yahoo.com.br

