



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM MEDICINA E SAÚDE



ABRÃO AMERIO DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE FATORES DE RISCO DA DENGUE COM
INTERFACE NO SISTEMA ABO EM PACIENTES INTERNADOS
COM A INFECCÃO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO LAURO
WANDERLEY-PB**

TESE DE DOUTORADO

Salvador-Bahia
2013

ABRÃO AMERIO DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE FATORES DE RISCO DA DENGUE COM
INTERFACE NO SISTEMA ABO EM PACIENTES INTERNADOS
COM A INFECÇÃO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO LAURO
WANDERLEY-PB**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina e Saúde, da Faculdade de Medicina da Bahia, Universidade Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do grau de Doutor em Medicina e Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Edgar Marcelino de Carvalho Filho.

**Salvador-Bahia
2013**

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Abrahão Fontes Baptista
Universidade Federal da Bahia – UFBA

Profa. Dra. Carolina de Sousa Machado
Universidade Federal da Bahia – UFBA

Prof. Dr. José Estrela dos Santos
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

Profa. Dra. Maria Teresa Nascimento Silva
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

Prof. Dr. José Cezário de Almeida
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

Suplente: Prof. Dr. Edgar Marcelino de Carvalho Filho
Universidade Federal da Bahia – UFBA

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, José Amério da Silva e Josefa Amério da Silva (*in memoriun*).

Às minhas filhas, Nadiedja Patrícia de Menezes Amério e Poliene Kelly de Menezes Amério.

À minha neta Nicolle Menezes Sarmento.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de estar realizando mais uma etapa em minha vida, me guiando nos momentos difíceis, me ensinando a ouvir e amar, me dando determinação e principalmente saúde para enfrentar o dia-a-dia, toda honra e glória. A Vigem Maria, pela proteção, pelo discernimento, pela nossa existência, pela minha família, amigos, por tudo;

Ao meu orientador, Dr. Edgar Marcelino de Carvalho filho, pelo acolhimento, pela clareza na orientação, nos ensinamentos e apoio. Sou-lhe eternamente grato pela condução do trabalho e pela forma prática de encarar as dificuldades inerentes da vida acadêmica, as quais lida, lapidando com habilidade invejável. Este trabalho é mais um reflexo de sua orientação aberta, mas criteriosa, dentre tantos outros que ainda virão;

À Dra. Angela Giudice, do Serviço de Imunologia, Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos da Universidade Federal da Bahia, competente e experiente profissional que, embora tivesse outras atribuições, dedicou-se nas análises das amostras e organização dos gráficos, com sua capacidade e determinação, os meus mais sinceros agradecimentos;

À Prof^a. Dra. Ana Isabel Vieira Fernandes pelas informações prestadas sobre os pacientes internados no HU-LW - Hospital Universitário Lauro Wanderley-UFPB, pela amizade e confiança o meu reconhecimento e agradecimentos;

À Universidade Federal da Bahia (UFBA) e Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), que juntas, possibilitaram a realização do Doutorado Interinstitucional (DINTER) meu reconhecimento;

Aos Coordenadores do DINTER UFBA/UFCG, Dra. Helma Cotrim, Dr. Adelmir Machado, Dr. Patrício Marques e Dra. Teresa Nascimento, pela competente e zelosa condução administrativa do DINTER;

Aos colegas, Luciana Moura, Erlane Aguiar, Lúcia Oliveira, José Rômulo, Gerson Bragagnoli, Homero Gustavo, Deborah Rose, Betânia Maria, Marília Medeiros, Lourdes Campos, Marilena Maria, Rosineide Torres, Raimunda Neves, Gesira Florentino, Luciano Holanda, Graça Loureiro, Lourdes Queiroga, Marta Barreto e Consuelo Padilha pelo companheirismo e pela honrosa e agradável convivência durante o curso;

Ao Dr. Paulo de Freitas e Dr. Alexandre Marinho, diligentes Diretor do CCBS/UFCG e Coordenador do Curso de Medicina/UFCG, pela atenção e apoio dispensados aos alunos do DINTER;

Ao Diretor do CFP, Dr. José Cesário de Almeida pelo incentivo e apoio logístico dado aos professores do centro como alunos do DINTER;

À enfermeira, Ivaneide Alves de Lima do Hospital Universitário Lauro Wanderley pela ajuda na coleta do sangue e entrevista junto aos pacientes da DIC – Setor de Doenças Infecto Contagiosa meus agradecimentos;

Às discentes do Curso de Enfermagem Maria da Conceição da Silva, Isabel Ferreira Neta , Kariny Kelly de Oliveira Maia e Isadora Rodrigues Freire pela relevante colaboração na execução do trabalho e pesquisa, meus sinceros agradecimentos;

Aos professores e servidores técnico-administrativos da UFCG e UFBA envolvidos com a realização do DINTER.

Às pessoas do meu convívio, colegas e técnicos do laboratório de biologia do CFP, que direta e indiretamente contribuíram e acreditaram em mais essa etapa da minha vida acadêmica, a todos os meus agradecimentos.

RESUMO

AVALIAÇÃO DE FATORES DE RISCO DA DENGUE COM INTERFACE NO SISTEMA ABO EM PACIENTES INTERNADOS COM A INFECÇÃO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO LAURO WANDERLEY-PB

Objetivos Gerais: Avaliar fatores de risco e gravidade da dengue em pacientes internados no Hospital Universitário Lauro Wanderley-UFPB no período de Abril de 2011 a Junho de 2012. **Método:** Estudo de Corte Transversal com coleta de sangue, tipagem sanguínea e quantificação dos níveis séricos das Citocinas/Quimiocinas (TNF- α , IL-6, CXCL8, CCL3, CXCL9 e CXCL10) correlacionando com as formas clínicas da dengue e com os antígenos de grupo sanguíneo humano. Sintomas como febre indiferenciada, febre da dengue e dengue grave são características de uma doença transmitida por um vetor o *Aedes aegypti*. Com origem na África sua disseminação atingiu as regiões tropicais e subtropicais do mundo em mais de 100 países. Hoje se tornou um problema de saúde pública mundial. A patogênese da doença causada pelo vírus dengue ainda não está completamente esclarecida. Contudo, vários estudos têm relatado associações entre marcadores biológicos e diferentes manifestações clínicas da doença. Citocinas como TNF- α e IFN- γ são geralmente as primeiras a encontradas em pacientes com dengue. Alguns estudos procuram estabelecer uma associação de predição da gravidade da dengue tanto para as citocinas com para os genótipos de grupo sanguíneos (sistema ABO). Este estudo mostrou uma abordagem nestes dois aspectos. **Resultados/conclusão:** As formas clínicas da dengue não estavam associadas com o sistema ABO. A dengue hemorrágica (FHD) foi a mais prevalente na amostra. Os genótipos de grupo sanguíneos ABO não estavam associado com a gravidade da dengue. Dentre as quimiocinas analisadas encontramos uma associação de CXCL9 e CXCL10 com a fase adulta e CCL3 com indivíduos jovens.

Palavras-chaves: Dengue, Fatores de Risco, Citocinas.

ABSTRACT

ASSESSMENT OF RISK FACTORS ON INTERFACE DENGUE ABO SYSTEM INPATIENTS WITH UNIVERSITY HOSPITAL INFECTION IN LAURO WANDERLEY-PB

General Objectives: To evaluate risk factors and severity of dengue patients admitted to the University Hospital Lauro Wanderley-UFPB in the period from April 2011 to June 2012. **Method:** Transversal study with blood collection, blood typing and quantification of serum levels cytokines/chemokines (TNF- α , IL-6, CXCL8, CCL3, CXCL9 e CXCL10) correlated with clinical forms and the human blood group antigens. Symptoms such as undifferentiated fever, dengue fever and dengue are severe characteristics of a disease transmitted by a vector *Aedes aegypti*. Originating in Africa, its spread hit the tropical and subtropical regions of the world in over a hundred countries. Today has become a public health problem worldwide. The pathogenesis of the disease caused by dengue virus is still not completely clear. However, several studies have reported associations between biomarkers and clinical manifestations of the disease. Cytokines such as TNF- α and IFN- γ are usually the first to found in dengue patients. Some studies try to establish an association of predicting the severity of dengue both cytokines for genotypes with blood group (ABO). This study showed an approach in these two aspects. **Results/Conclusion:** The clinical forms were not associated with the ABO system. Hemorrhagic Fever Dengue (DHF) was the most prevalent in the sample. The ABO blood group genotype was not associated with the severity of dengue. Among the chemokines analyzed we found an association of CXCL9 and CXCL10 with adulthood and CCL3 young individuals.

Keywords: Dengue, Risk Factors, Cytokines.

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABO	Sistema de grupo sanguíneo humano.
ADE	<i>Antibody dependent enhancement.</i>
<i>Aedes aegypti</i>	Arbovirus transmissor da dengue.
AGS	Antígenos de grupo sanguíneo.
CCL3	<i>Chemokine (C-C motif) ligand 3 (CCL3)</i>
CD4	Grupamento de diferenciação 4.
CD4	Linfócito – marcador de superfície.
Ces	Células endoteliais.
CXCL10	<i>Chemokine (C-X-C motif) ligand 10 (IP10)</i>
CXCL9	<i>Chemokine (C-X-C motif) ligand 9 (CXCL9).</i>
DCC	Dengue com Complicações.
DCs	Células dendríticas.
DENV	Vírus Dengue.
Fc	Receptor de membrana
Fcg	Receptores (macrófagos)
FD	Dengue Clássica (Febre da dengue)
FHD	Febre hemorrágica da dengue.
HIV	Vírus da imunodeficiência humana.
HLA	<i>Human Leukocyte Antigen.</i>
HLA-A,	<i>Major histocompatibility complex. Tipo de HLA.</i>
HLA-B-alvo	Genes que codificam as moléculas clássicas. Tipo de HLA
HLA-CW1	Tipo de HLA.
IFN- γ	Interferon-gama.
IFN-α	interferon-alfa.
IL-1β	Interleucina 1 β .
IL-1	Interleucina-1.
IL-2	Interleucina -2.
IL-6	Interleucina-6
IL-7	Interleucina- 7.
IL-8	Interleucina -8 (renomeada para CXCL8).
IL-10	Interleucina – 10.

Lewis	Sistema antigênico da Sra. Lewis herdados de modo dominante e independente.
Lutheran	Sistema complexo de grupos sanguíneos que apresenta pares de antígenos alternados e genes amorfos.
NK	<i>Célula Natural Killer.</i>
NK/T	<i>Células T Natural Killer.</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde.
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde.
PAF	Fator de ativação de plaquetas.
Rh	Sistema Rhesus.
SCD	Síndrome de choque da dengue.
Th	Células T auxiliares (células Th)
TNF-α	Fator de necrose tumoral-alfa.

SUMÁRIO

Resumo.....	6
Abstract.....	7
Lista de abreviaturas.....	8
1. Introdução.....	9
2. Objetivos.....	12
3. Revisão da literatura.....	13
3.1. Artigo de revisão nº 1 – Aspectos Epidemiológicos e Imunológicos da Dengue Associados ao Polimorfismo do Sistema de Grupo Sanguíneo.....	14
4. Resultados.....	40
4.1. Artigo original nº 2 – Níveis Séricos de Citocinas e Quimiocinas na Infecção da Dengue com Interface no Sistema de Grupo Sanguíneo Humano.....	41
5. Considerações Finais.....	60
6. Conclusões.....	62
7. Perspectivas de estudo.....	63
8. Referências.....	64
9 Anexos.....	69
Anexo A – Certidão do Comitê de Ética em Pesquisa	
Anexo B – Termo de consentimento Livre e Esclarecido	

1. Introdução

Descrita no passado como “*Febre-quebra-ossos*”, dentre outras designações regionais, a dengue é hoje a principal arbovirose dos países tropicais e subtropicais do mundo, sendo transmitida pela fêmea do *Aedes aegypti*, pertencente ao gênero *Flavivirus* da família *Flaviviridae*. A descrição detalhada da dengue, que refletia o estado debilitado do doente, foi realizada no século XVIII pelo Dr. Benjamin Rush e publicada na literatura médica inglesa. O período de incubação do vírus da dengue é de cinco a seis dias, embora possa prolongar até 15 dias.

São encontrados quatro sorotipos distintos, mas antigenicamente relacionados, DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4. Todos os sorotipos são potencialmente capazes de causar a infecção, a qual pode se manifestar de várias formas, desde infecção assintomática, febre indiferenciada até formas graves, como Febre Hemorrágica da Dengue (FHD) e Síndrome do Choque da Dengue (SCD) e, algumas vezes levar à morte.

O sorotipo um apareceu pela primeira vez em 1977, na Jamaica, e a partir de 1980 foi a causa de epidemias em vários países. O sorotipo 2, descoberto em Cuba, após uma epidemia pelo (DEN I), foi o responsável pelo primeiro surto de febre hemorrágica fora do Sudoeste Asiático e Pacífico Ocidental. Em seguida, o segundo surto foi registrado na Venezuela, em 1989. Documenta-se que a primeira epidemia de dengue no Brasil tenha ocorrido em 1981 e 1982, em Boa Vista, Roraima causada pelos sorotipos 1 e 4. A partir de 1986, várias epidemias atingiram o Rio de Janeiro e algumas capitais da região Nordeste. Desde então, a dengue vem ocorrendo de forma continuada. Em 2011, aproximadamente 75% (537.431) dos casos do país concentram-se em oito estados: Rio de Janeiro (137.335; 19%), São Paulo (111.406; 15%), Amazonas (57.117; 8%), Ceará (56.390; 8%),Paraná (55.029; 8%),Minas Gerais (49.883; 7%), Espírito Santo (39.683; 6%) e Bahia (30.588;4%) (MS/SVS, 2012).

As manifestações clínicas da dengue são classificadas pela OMS de acordo com a gravidade, em graus de I a IV. Mais recentemente uma nova classificação, fruto de um estudo multicêntrico, ocorrido em países da Ásia e América Latina, está sendo adotado pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Também baseada na avaliação clínica e de exames laboratoriais amplamente disponíveis. O novo sistema divide os casos de dengue em duas categorias de gravidade: 1) dengue (com ou sem sinais de alerta) e 2) dengue grave.

Os sintomas gerais da dengue surgem após o período de incubação do vírus (2 a 7 dias), coincidindo com a viremia. Os mecanismos moleculares envolvidos ocorrem com a interação dos linfócitos T (LT) helper ativados e macrófagos que promovem a liberação e

elevação de citocinas nos níveis séricos. Em seguida, são observados altos teores séricos de interleucina-2 (IL-2) e de seu receptor solúvel, de CD4 solúvel, interferon- γ (IFN- γ), interferon- α (IFN- α) mantendo-se elevados até a convalescença. São liberados também o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina 1 β (IL-1 β) e o fator de ativação de plaquetas (PAF).

Estudos até então realizados apontam vários fatores de risco para as manifestações clínicas graves da dengue. Crianças nascidas de mães que contraíram o vírus na gravidez podem desenvolver a dengue grave em infecções primárias. Essa teoria, chamada em inglês de *antibody-dependent enhancement* (ADE), sugere que os anticorpos heterólogos pré-existentes para o vírus da dengue reconhecem o novo vírus infectante e formam um complexo antígeno-anticorpo de baixa avidéz (incapaz de neutralizar o novo sorotipo).

Idade, em seus extremos, sexo e raça têm sido associados à gravidade da infecção, sendo o sexo feminino mais susceptível, enquanto a raça negra se mostra protetora em relação à caucasóide em situações epidêmicas. Co-morbididades tais como; hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, asma brônquica e anemia falciforme têm sido citadas como doenças que podem contribuir para a evolução da forma grave da dengue.

O Sistema HLA (Complexo Maior de Histocompatibilidade) através dos tipos HLA-A, HLA-B-alvo, e HLA-CW1, têm sido associados a formas mais graves da doença e os tipos HLA-B13 e HLA-B14, a formas menos grave da infecção. Outra associação de risco tem sido atribuída, por alguns pesquisadores, aos antígenos de grupo sanguíneo como marcador de gravidade para a infecção. Em um estudo de Coorte, por exemplo, o genótipo de grupo sanguíneo AB tem sido citado como provável fator de risco, em infecção secundária na dengue.

Até o momento, não existe um tratamento eficaz, nem uma vacina imunizadora para a abovirose. No caso da vacina, algumas limitações como a falta de um modelo animal capaz de refletir as diferentes formas clínicas da doença, a hipótese da infecção potencializada pelos anticorpos heterólogos e, principalmente a necessidade de ser uma vacina tetravalente, dentre outras questões, tem dificultado sua produção e uso em seres humanos. Mesmo assim, esforços têm sido feitos por várias instituições de pesquisa como, por exemplo, o Instituto Sanofi Pasteur que através da vacina candidata, ChimeriVax, procura uma proteção contra a infecção da dengue.

Neste contexto, a avaliação de fatores de risco e biomarcadores que possam ser utilizados como preditores de gravidade da dengue, ainda se faz necessário, tendo em vista que a sazonalidade epidemiológica tem se mostrado, ocorrendo em períodos cada vez mais curtos e

com cepas virais diferentes, conseqüentemente mais agressivas. Uma triagem de pacientes com infecção leve e grave, em caso de epidemia, poderá atenuar os efeitos da infecção, como também os custos socioeconômicos em uma região de epidemia onde os quatro tipos de vírus ocorrem, como e o caso do Brasil.

Este estudo investigou a existência de associação entre as formas clínicas da dengue (FD/DCC/FHD), com moléculas protéicas citocinas/quimiocinas e o sistema de grupo sanguíneo, como forma de encontrar marcadores de gravidade que pudessem ser utilizados como preditores em futuras epidemias da infecção. A investigação teve o propósito de dar uma pequena contribuição a um problema de saúde pública tão grande, como é o caso da infecção por dengue em nosso país.

2. Objetivos

2.1. Geral:

Avaliar fatores de risco e marcadores relacionados com a gravidade da dengue em pacientes internados no Hospital Universitário Lauro Wanderley-UFPB.

2.2. Específicos:

I) Avaliar a existência de associação entre Dengue Clássica (FD), Dengue Com Complicações (DCC) e Dengue Hemorrágica (FHD), com grupo sanguíneo.

II) Correlacionar gravidade da dengue com produção de citocinas.

III) Correlacionar níveis séricos de citocinas com Sistema ABO.

3. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Artigo de revisão nº 1

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E IMUNOPATOGÊNICOS DA DENGUE ASSOCIADOS AO POLIMORFISMO DO SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO

Abrão Amerio da Silva, Edgar Marcelino de Carvalho.

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E IMUNOPATOGÊNICOS DA DENGUE ASSOCIADOS AO POLIMORFISMO DO SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO

1. Autores:

Abrão Amerio da Silva, Edgar Marcelino de Carvalho

2. Instituição na qual o projeto foi desenvolvido

Universidade Federal da Paraíba – UFPB. Hospital Universitário Lauro Wanderley.

Programa de Pós-graduação em Medicina e Saúde. Faculdade de Medicina da Bahia.
Universidade Federal da Bahia.

Serviço de Imunologia Edgar Santos, Faculdade de Medicina da Bahia – Universidade Federal da Bahia;

3. Instituição dos autores:

Universidade Federal de Campina Grande: Centro de Formação de Professores. Unidade Acadêmica de Ciências Exatas e da Natureza- UACEN.

Programa de Pós-graduação em Medicina e Saúde, Faculdade de Medicina da Bahia – Universidade Federal da Bahia;

Serviço de Imunologia Edgar Santos, Faculdade de Medicina da Bahia – Universidade Federal da Bahia;

4. Correspondências:

Abrão Amerio da Silva (abramerio@gmail.com)

Universidade Federal de Campina Grande: Centro de Formação de Professores. Unidade Acadêmica de Ciências Exatas e da Natureza- UACEN. Campus de Cajazeiras - PB.
Rua Sergio Moreira de Figueiredo SN – Bairro casas Populares – Cajazeiras - PB. CEP 58000900 – Paraíba, Brasil. Fone +55 (83) 3532 2000

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E IMUNOPATOGÊNICOS DA DENGUE ASSOCIADOS AO POLIMORFISMO DO SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO

RESUMO

Objetivos: Analisar os aspectos epidemiológicos e imunopatogênicos da dengue com ênfase na gravidade da infecção, associado aos genótipos do grupo sanguíneo ABO. **Método:** revisão da literatura sobre os aspectos epidemiológicos e imunopatogênicos da dengue associados ao polimorfismo do grupo sanguíneo humano, através da busca em periódicos, como “ScienceDirect”, “PUBMED”, “SciELO”, utilizando palavras-chaves em Português e Inglês: “Dengue”, “Epidemiologia”, “Marcadores”, “Sistema ABO e polimorfismo”, “Febre Hemorrágica” “Imunopatogênese” e ainda estas, de forma associadas.

As repetidas epidemias de dengue associadas ao controle ineficaz do vetor permitiram que a doença tivesse se tornado um grande problema de saúde pública de forma quase planetária. A sua expansão atinge hoje toda a Ásia, África, América Central, América do Sul e o Pacífico. Cerca de 2,5 bilhões de pessoas vivem em áreas de risco. **Resultados** a Organização Mundial da Saúde e a Organização Pan-Americana de Saúde informaram que 62.643 casos da doença ocorreram na região das Américas em 2012. O Ministério da Saúde registrou um total de 286.011 casos de dengue no Brasil de janeiro a abril de 2012, havendo uma redução de 44% dos casos no País no período. Foram confirmados 74 óbitos, o que representa uma redução de 80% e os vírus 1, 2, 3 e 4 estão circulando no Brasil. A manifestação da doença dentre outras coisas, surge da interação dos linfócitos T ativados com macrófagos que promovem a liberação e elevação de citocinas nos níveis séricos. Com altos teores, por exemplo, de interleucina-2 (IL-2), interferon- γ (IFN- γ), interferon- α (IFN- α), o TNF- α , interleucina 1 β (IL-1 β) e o fator de ativação de plaquetas (PAF). Além do sexo, idade e raça, citada como fatores de risco, a facilitação da replicação pelo anticorpo no hospedeiro (teoria do *antibody dependent enhancement* – ADE), numa segunda infecção, se mostram como um sério mecanismo de exacerbação levando à dengue hemorrágica. Outras moléculas, como os antígenos de grupo sanguíneo (ABO), têm sido motivo de estudos de associação com muitas doenças, como câncer, diabetes, malária e esquistossomose urinária, por exemplo, buscando no polimorfismo dos seus genótipos, respostas como indicador de gravidade ou de proteção. Estudo de associação do sistema ABO com a dengue também tem sido lembrado como preditor na gravidade da infecção. Neste aspecto, alguns trabalhos têm sugerido que alguns dos antígenos possam exercer uma associação de risco para a dengue grave e até de proteção contra a infecção.

Considerações finais: A incessante ação de controle do vetor *Aedes aegypti* junto às áreas endêmicas e a busca de marcadores que possam ser usados como preditores no estágio inicial da doença, ainda têm sido o meio mais eficaz para atenuar os efeitos da infecção. Os estudos de associação do vírus dengue com o polimorfismo de ABO são poucos e não há consenso.

Palavras-chaves: Dengue, epidemiologia, sistema ABO.

ABSTRACT

EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS OF DENGUE AND IMMUNOPATHOGENIC POLYMORPHISM ASSOCIATED WITH BLOOD GROUP SYSTEM

Objectives: To analyze the epidemiological questions and immunopathogenic dengue emphasizing the severity of the infection associated with the ABO blood group genotypes. **Method:** literature review of the epidemiology and immunopathogenics dengue associated with polymorphism of human blood group, by searching in journals such as “ScienceDirect”, “PUBMED”, “SciELO” among others, using key words in Portuguese and English: Dengue, epidemiology, Bookmarks, ABO and polymorphism Hemorrhagic Fever, immunopathogenesis and even these terms associated.

Repeated epidemics of dengue associated with ineffective control vector allowed dengue to become a major public health problem in an almost planetary form. Its expansion reaches today throughout Asia, Africa, Central America, South America and the Pacific. About 2.5 billion people live in areas at risk.

Results: The WHO and the Pan American Health Organization reported that 62,643 cases of the disease occurred in the Americas in 2012. The Ministry of Health reported a total of 286 011 cases of dengue in Brazil from January to April 2012, there was a reduction of 44% of cases in the country in the period. Seventy-four deaths were confirmed, representing a reduction of 80% and viruses 1, 2, 3 and 4 are circulating in Brazil. The manifestation of the disease among other things arises from the interaction of activated T lymphocytes with macrophages that promote the release and elevation of cytokines in serum. With high levels of, for instance, interleukin-2 (IL-2), interferon- γ (IFN- γ), interferon- α (IFN- α), TNF- α , interleukin-1 β (IL-1 β) and activating factor platelets (PAF). Besides the sex, age and race cited as factors of risk, the facilitation of replication by the antibody in the host (theory of antibody dependent enhancement - ADE) in second infection, are shown as a serious mechanism of exacerbation leading to DHF. Other molecules, such as blood group antigens (ABO), have been reason for studies of association with many diseases, such as cancer, diabetes, malaria and urinary schistosomiasis for example, seeking answers in the polymorphism of their genotypes as an indicator of severity or protection. Association study of the ABO system with dengue has also been remembered as a predictor of the severity of the infection. At this point, some studies have suggested that some of the antigens may exert an association of risk for severe dengue and to protection against infection.

Final remarks: The unceasing control action vector *Aedes aegypti* with endemic areas and the search of markers that can be used as predictors in the initial stage of the disease has been the most efficient to mitigate the effects of infection. The Association studies of dengue virus with the ABO polymorphism are few and there is no consensus yet.

Keywords: Dengue, epidemiology, polymorphism, ABO system.

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E IMUNOPATOGÊNICOS DA DENGUE ASSOCIADOS AO POLIMORFISMO DO SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO

1. Introdução

Estudos epidemiológicos em todo mundo têm mostrado que a dengue continua sendo um sério problema de saúde pública nas áreas endêmicas, inclusive com a ocorrência de novos casos em regiões até então sem registro. Isto foi o caso da região da Madeira, em que o serviço de vigilância notificou as autoridades de Saúde Pública de Portugal sobre casos de dengue ocorridos na região, que se presume ser localmente adquirida (autóctones). Os dois primeiros casos foram notificados em residentes da Madeira que não tinham história de viagem ao exterior (ALMEIDA et al. 2007).

A rápida expansão global de dengue é um desafio de saúde pública de grande peso. A cada ano mais de 50 milhões de infecções são notificadas em, aproximadamente 100 países, atingindo os países tropicais e subtropicais. O principal vetor, o *Aedes aegypti*, agora já bastante adaptado às áreas urbanas, tem se mostrado amplamente distribuído nas regiões dos trópicos.

Vários fatores de risco têm sido atribuídos a gravidade da dengue, podendo contribuir para a Febre Hemorrágica da dengue e a Síndrome de Choque da Dengue (FHD/SCD). Podemos encontrar desde raça, sexo, idade, comorbidades e a que ocorre na segunda infecção, em função dos anticorpos já existentes que, em tese, facilitaríamos a replicação de um vírus diferente da primeira infecção.

Várias pesquisas na imunopatogênese da dengue procuram conhecer os mecanismos e os seus marcadores envolvidos no processo infeccioso, que levam ao quadro de dengue ou melindre, característica dos pacientes com a infecção, e que fossem utilizados de forma precoce para um atendimento mais rápido a estes pacientes, evitando a evolução às formas graves. Essas preocupações levaram um estudo multicêntrico a propor uma nova classificação para dengue que não necessitasse de tantas informações clínicas e laboratoriais, com gravidades variáveis (1 a 4) que ocorrem concomitantes e que fosse mais simples. A Organização Mundial da Saúde revendo as preocupações levantadas adotou então a classificação para os pacientes com a infecção em Dengue e Dengue Grave.

Os antígenos de grupo sanguíneo que compõem o sistema ABO, com as descobertas de Karl Landsteiner a partir de 1901, foram sempre lembrados como um fator de risco com potencial para salvar vidas ou causar a morte de pacientes, quando de uma transfusão. Como um caráter genético, os antígenos de grupo sanguíneo têm sido alvo de várias pesquisas de avaliação de associação entre uma patologia e a predição dos alelos de ABO. Este estudo tem como objetivo fazer uma revisão da literatura sobre os aspectos epidemiológicos e imunopatogênicos da dengue associados ao polimorfismo do grupo sanguíneo humano, através da busca em periódicos.

Aspectos Epidemiológicos da Dengue

Historicamente dengue é conhecida como uma doença que causa muitas dores no corpo do paciente, levando muitos enfermos aos leitos dos hospitais. A infecção da dengue continua sendo um dos mais graves problemas de saúde pública do mundo. Coube a Benjamim Rush a denominação de “breakbone fever”, quando da introdução, na literatura médica Inglesa, das manifestações clínicas, bastante severas, da doença ao se referir à dengue, tendo em vista a associação dos sintomas de artralgia, mialgia e febre. (LUPI, CARNEIRO e COLEHO, 2007).

O vírus dengue é transmitido pelo vetor *Aedes aegypti*, um arbovirus do gênero *Flavivirus* da família *Flaviviridae*. O período de incubação do vírus da dengue é de cinco a seis dias, embora possa prolongar-se até 14 ou 15 dias. Estão envolvidos na infecção os sorotipos 1,2,3 e 4. A Infecção por qualquer um dos sorotipos, freqüentemente está associado ao desenvolvimento de doença febril leve, autolimitada. Formas graves têm sido associadas à infecção secundária (HALSTEAD, 1981).

Dentre as doenças transmitidas por vetores, a dengue é hoje um problema de saúde pública nas regiões tropicais subtropicais do mundo. É documentado que cerca de 2,5 bilhões de pessoas vivem nas áreas de risco, onde o vírus da doença pode ser transmitido (MENDONÇA, SOUSA e DUTRA, 2009). A Organização Mundial da Saúde (OMS) juntamente com a Organização Pan-Americana de Saúde divulgou recentemente os dados epidemiológicos da dengue relativos a 2012, através do programa regional da dengue, onde são registrados 62.643 casos da doença ocorridos na região das Américas.

Dentre as áreas com transmissão ativa destacam-se o Cone Sul com 40.804 casos (Brasil 40.486 casos, Paraguai 313), seguida da região Andina com 12.415 casos (Colômbia 4.172 casos, Bolívia 3.734 e Peru 3.035). Quanto aos casos graves, foram notificados 899 casos e 69 óbitos. Os países que registraram os maiores números de casos graves foram: México (300), Brasil (183), Colômbia (170) e Honduras (87). Quanto aos óbitos destaca-se a situação do Brasil (32 casos), Bolívia (16) e Colômbia (15). Foram detectados os quatro sorotipos (DENV 1, 2,3 e 4) circulando nas Américas neste período (OPAS/OMS, 2012). Segundo o Ministério da Saúde, o Brasil teve uma queda de 44% dos casos de dengue nos primeiros quatro meses de 2012 em comparação a 2011. Foram 286.011 para 507.798 respectivamente. Com uma diminuição de 87% nos casos graves da doença. O Ministério da Saúde informou ainda que os vírus 1, 2, 3 e 4 estão circulando no Brasil, inclusive no Estado da Paraíba. Apesar de negar a presença do DENV 4, a Secretaria de Vigilância em Saúde do Estado da Paraíba divulgou que teve em 2011, 9.176 casos e 2012, 3.768 casos. Até 18 de Maio de 2012 houve uma queda de 59% em relação ao mesmo período do ano passado e que 2.237 notificações ainda estão em fase de investigação (MS/SES-PB, 2012).

Como uma doença emergente em toda região tropical e subtropical, a adaptação do habitat do vetor *Aedes aegypti*, permitiu sua expansão em toda a Ásia, África, América Central, América do Sul e do Pacífico. O *A. aegypti*, como único vetor transmissor da dengue no Brasil, pode ser encontrado também em aglomerações urbanas, além do seu habitat natural, onde as populações de machos e fêmeas retiram o alimento para sua sobrevivência e se multiplicam. Neste aspecto, os machos e as fêmeas têm comportamento diurno. As fêmeas, quando adultas, são hematófagas, enquanto os machos se alimentam de sucos vegetais.

Fora do seu habitat natural, seus criadouros são recipientes artificiais, representados principalmente por pneus, caixas d'água, latas, vidros, pratos de vasos e xaxins ou mesmo lagos artificiais, piscinas e aquários abandonados, com a condição de que a água armazenada seja pobre em matéria orgânica em decomposição. Também pode ser encontrado em recipientes naturais como bromélias, bambus e outros. É documentado que a sazonalidade climática, de certa, forma influencia a população do *A. aegypti* já que o período de chuvas favorece à disseminação do vetor. Contudo, na ausência desta, durante as estações de menos chuva, pode ser mantida uma população considerável em criadores semipermanentes. (CONSOLI e OLIVEIRA, 1994).

O início para a manifestação dos sintomas gerais da dengue, com febre e mal-estar, surge após período de incubação de dois a sete dias, coincidindo com a viremia. Os sintomas manifestados pela doença surgem em função da interação dos linfócitos T (LT) helper ativado com macrófagos que promovem a liberação e elevação de citocinas nos níveis séricos. Observam-se ainda, altos teores séricos de interleucina-2 (IL-2) e de seu receptor solúvel, de CD4 solúvel, interferon- γ (IFN- γ) e interferon- α (IFN- α) que se mantêm elevados até a convalescença, o TNF- α e o fator de ativação de plaquetas (PAF). Os altos teores de citocinas macrofágicas ao nível sérico, também têm relação com a leucopenia e a discreta e transitória depressão medular que geralmente se apresentam nestes casos. Manifesta-se também a cefaléia retro orbitária, pelo envolvimento dos músculos oculomotores, tendo em vista a multiplicação viral que ocorre no tecido muscular do hospedeiro, contribuindo também para expressão de mialgias durante o processo inflamatório (KURANE e EENNIS, 1992).

A imunopatogênese da dengue é influenciada pelas citocinas que exercem seu papel pro inflamatório nas células endoteliais. São encontrados na dengue grave (FHD/SCD) a expressão de muitos dos receptores de linfócitos T, monócitos/macrófagos e células endoteliais em comparação com a FD. Estudos mostram que no soro de doentes com FHD encontra-se altos níveis das citocinas TNF- α , IFN- γ e várias interleucinas como IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-1 β (CHATURVEDI et al. 2000; DEWI et al. 2004; GREEN e ROTHMAN, 2006; KURANE, 2007; PANG, CARDOSA e GUZMA, 2007).

Formas de Transmissão do Vírus

A antropização, o crescimento econômico e o fluxo de materiais e pessoas, em escala global, podem ter contribuído com a disseminação do arbovírus e, conseqüentemente, com a cepa viral. Isso pode ocorrer em função do aumento do número de viagens aéreas, possibilitando o transporte de indivíduos infectados entre diversas partes do mundo. Os visitantes podem contrair o vírus em países tropicais, só apresentando os sinais da infecção apenas quando retornam ao seu país de origem, permitindo o rápido deslocamento dos vírus e, muitas vezes, a introdução de novos sorotipos e/ou genótipos (GUBLER, 1998), levantando a hipótese de que a dispersão global da dengue tenha ocorrido em espaço de tempo relativamente curtos, em função desse mecanismo propagador (SIMMONS et al. 2012).

O que também está sendo lembrado e documentadas são as alterações climáticas, verificadas pelas altas temperaturas em muitas regiões do planeta, possibilitando dessa forma a migração do vetor (*Aedes aegypti*) para áreas como as regiões temperadas, criando deste modo, um maior potencial de transmissão da dengue em um cenário de aquecimento global e, por conseguinte, o aumento das áreas endêmicas para dengue (SHOPE, 1992). Associado a isto, a proliferação da população do mosquito é influenciada pelo comportamento humano, através do descarte não adequado de resíduos no ambiente, pelas condições climáticas, além do controle ineficiente e sua resistência aos inseticidas. Neste aspecto, Degallier et al. (2009), propõe um modelo de prevenção para a transmissão da dengue (EWSs- *Early warning systems*), modelo Claris, através do qual, analisam as variações climáticas globais versus deslocamento do vetor (*A. aegypti*), Como forma de reduzir o impacto econômico da doença (CLARK et al. 2005) e garantir uma melhor avaliação dos resultados dos programas de prevenção por parte dos governos.

A OMS estima que, em todo o mundo, cerca de 2,5 bilhões de pessoas estão em risco de infecção, cerca de 975 milhões dos quais vivem em áreas urbanas tropicais e subtropicais nos países do Sudeste Asiático, no Pacífico e nas Américas. A Transmissão também ocorre na África e Mediterrâneo Oriental. Atualmente, observa-se que, não apenas as cidades de regiões endêmicas, mas também as comunidades rurais estão cada vez mais sendo afetadas pela presença do vetor. Estima-se que mais de 50 milhões de infecções ocorram a cada ano, incluindo 500 mil hospitalizações por dengue hemorrágica, principalmente entre as crianças, com a taxa de letalidade superior a 5% em algumas áreas (GUZMAN et al. 2010).

Fatores de Risco para Gravidade da Dengue

Desde o início do século 20 os cientistas têm observado que determinantes herdados pelos indivíduos diferem em suas respostas imunológicas à susceptibilidade a doenças, como por exemplo, a malária ou ao *Mycobacterium tuberculosis*. Desde então, vários pesquisadores têm procurado entender que mecanismos moleculares estão envolvidos nas respostas imunológicas de grupos étnicos ou populações, ao reagirem diferentemente a situações de epidemiologia de doenças infecciosas. Neste aspecto, a era pós-genômica tem produzido novas ferramentas que possibilitam estudar a susceptibilidade à doença, incluindo tipagem molecular de alto rendimento, ou associação de estudos cegos para identificar genes candidatos. Mesmo com

tudo avanço, até o momento, os determinantes genéticos humanos de susceptibilidade à doença para a maioria dos patógenos ainda não estão bem definidos (COFFEY et al. 2009).

No que concerne à resposta imunológica ao DENV, tem sido documentado que a sequência de infecções por dengue é potencialmente definida como importante indutora de fator de risco para dengue grave (FHD/SCD), tendo em vista que, os anticorpos preexistentes, obtidos quando da infecção prévia por outro tipo viral, não neutralizam o segundo vírus infectante de tipo diferente, ao contrário, amplificam a infecção, facilitando, dessa forma, ao novo tipo infectante, a penetração em macrófagos. Neste mecanismo os vírus utilizam a porção Fc dos anticorpos ligados ao envelope para a ligação com os receptores de membrana Fcγ, presentes na membrana celular macrófaga. Este fenômeno tem sido registrado como de facilitação por anticorpos da penetração viral em macrófagos. Esta é a teoria de Halstead ou (*antibody dependent enhancement* – ADE). (HALSTEAD e O'ROURKE, 1977). Assim, este fenômeno numa segunda infecção não só facilita a entrada do vírus (ADE extrínseca), mas também modifica os mecanismos antivirais intracelulares inatos e adaptativos e aumenta a replicação (HALSTEAD et al. 2010).

Outro fenômeno que pode também estar contribuindo para o agravamento das epidemias de dengue é o fato das passagens sucessivas do vírus em seres humanos, sugerindo um aumento da virulência do microorganismo. É provável que variações na virulência de distintas cepas virais possam contribuir para a gravidade de infecções por dengue. Evidência disso foi o aparecimento do FHD/SCD nas Américas, apenas após a introdução, nessa parte do mundo, de variantes específicas do sorotipo 2, originárias do Sudeste Asiático (RICO-HESSE et al. 1998).

Fatores individuais como idade, nos casos extremos, segundo Gamble et al. (2000), Guzman et al. (2002), Lee et al. (2006), foram documentados como sendo fator de risco para a gravidade da dengue. Simmons et al. (2006) referem ainda que crianças nascidas de mães que contraíram o vírus podem desenvolver a dengue grave em infecções primárias. Sexo e raça também têm sido relacionados com os casos mais graves da dengue. Segundo Guha-Sapir e Schimmer (2005), o sexo feminino tem se mostrado mais susceptível a desenvolver a forma grave da doença, enquanto a raça negra tem sido protetora em relação à caucasóide em situação de epidemias, quando se observa um menor número de casos de FHD entre negros em Cuba e entre casos notificados na África (GUZMAN et al. 2000).

Doenças associadas ou co-morbidades tais como hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, asma brônquica e anemia falciforme, segundo Bravo, Guzman e Kouri (1987), Lee et al. (2006) também têm demonstrado maior risco de evoluir para formas graves da dengue. O Sistema HLA (Complexo maior de histocompatibilidade) tem sido referido por Clyde, Kyle e Harris (2006), Sierra, Kourí e Guzmán (2007), em que os tipos de HLA (HLA-A, HLA-B-alvo, HLA-CW1) tem mostrado uma correlação com as formas mais graves de doença, enquanto os tipos de HLA (HLA-B13, HLA-B14) tem uma associação com as formas mais leves da infecção.

Embora tenha havido grandes avanços na biologia do DENV, a sua patogênese ainda é um grande desafio, constituindo-se em um minucioso quebra-cabeça, do mecanismo imune, palco da ocorrência de uma complexa interação de fatores virais e do hospedeiro. Atualmente, nenhuma das teorias acima apresenta por si só uma relação direta de causa e efeito. Assim sendo, o desfecho clínico parece ser o resultado de uma combinação tanto de fatores virais quanto do hospedeiro (KOURÍ, GUZMÁN e BRAVO, 1987; CLYDE, KYLE e HARRIS, 2006)

Resposta Imune e Gravidade da dengue

O vírus e a dengue

Os vírus são agentes infecciosos que necessitam da utilização da maquinaria bioquímica celular do hospedeiro para sua multiplicação. Neste aspecto, são classificados como parasitas intracelulares obrigatórios, sendo capazes de infectar uma grande variedade de populações celulares, utilizando as moléculas fisiológicas da superfície celular, como receptores para permitir sua adsorção às células alvo. A interferência da ação de multiplicação pelo vírus, em células do hospedeiro, pode levar a morte da célula infectada.

Em relação ao DENV, são encontrados dentro de cada sorotipo de vírus da dengue uma sequência de múltiplos genótipos, filogeneticamente relacionados. Embora haja diferenças antigênicas sutis entre os genótipos do mesmo sorotipo, estas podem não ser clinicamente relevantes já que a infecção em humanos com um sorotipo acredita-se, poderá conferir imunidade de longa duração para os sorotipos específicos. Contudo, a imunidade cruzada permite apenas curta duração entre os principais sorotipos. Os mecanismos que envolvem

estas respostas são diversos e ainda não se encontram devidamente descritos (ABBAS e LICHTMAN, 2009; BRIEN et al. 2010; SIMMONS et al. 2012).

O primeiro registro das manifestações clínico patológicas do vírus dengue, ocorreu no ano 992 d.C. na China, documentado em uma enciclopédia médica chinesa (GUBLER, 1998). Posteriormente, uma epidemia com sintomas semelhantes de dor de cabeça, febre, náusea e vômitos, acompanhada de intensas dores musculares e articulares e, ainda, de manifestações hemorrágicas pouco frequentes, foi registrado na Filadélfia no século XVIII. Registraram-se também em Madri (1801), as mesmas manifestações, com a denominação de “melindre” referindo-se ao aspecto debilitado em que fica o paciente com estas manifestações clínicas (RIGAU-PEREZ, 2006).

O Sistema de Grupo Sanguíneo Humano

A investigação de alguns casos de morte e de vidas salvas em outros, por transfusão sanguínea, levou Karl Landsteiner da Universidade de Vienna, em 1901, à descoberta do Sistema de Grupo Sanguíneo ABO em humanos. O sistema é até hoje considerado o mais importante sistema de grupos sanguíneos na medicina clínica transfusional. A partir de então, vários pesquisadores têm procurado identificar uma associação do grupo sanguíneo ABO com diferentes patologias (JESCH et al. 2007). Observa-se que, em função da miscigenação que ocorre na espécie humana, a incidência dos genótipos de ABO pode variar de acordo com a raça, pois se trata de um fator genético hereditário. Outros trabalhos sobre os sistemas de grupo sanguíneo como MNS, Kell, Lewis e outros, são também muito importantes na identificação dos genótipos na população, porém poucos e não muito claros (NOVARETTI et al. 2000).

Os antígenos que compõem o sistema ABO são carboidratos, cujos epítomos são resíduos terminais encontrados nos hidratos de carbono presentes na superfície das células e nas secreções que são biossintetizadas por glicosiltransferases específicas codificadas no locus ABO, que está localizado no braço longo do cromossomo 9. (BENNETT et al.1995; FERGUSON-SMITH et al. 1976; OLSSON et al. 2001; WATKINS, 1980). Esses antígenos podem ser encontrados em membranas de eritrócitos, linfócitos, plaquetas, endotélio capilar

venular e arterial, células sinusoidais do baço, medula óssea, mucosa gástrica, além de secreções e outros fluídos como saliva, urina e leite (BATISSOCO e NOVARETTI, 2003).

A heterogeneidade fenotípica do sistema sanguíneo ABO, está na diferença estrutural do gene das glicosiltransferases, que são responsáveis pela transferência dos resíduos específicos de açúcar, $\alpha 1 \rightarrow 3$ -N-acetil-galactosamina transferase ou $\alpha 1 \rightarrow 3$ -N-galactosil transferase ao substrato H, e os convertem ao antígeno A ou B respectivamente (YOSHIDA, YAMAGUCHI e DAVE, 1979; YAMAMOTO e HAKOMORI, 1990; ZAGO et al. 1996).

Os padrões de distribuição do sistema ABO, no mundo, sugerem uma complexa história evolutiva da humanidade, onde transferências genotípicas hereditárias traçaram uma linha com características e evolução surgidas por volta de 1,5 milhões de anos, na qual se origina o *Homo erectus*, que por sua vez, dará origem ao *Homo sapiens*, com o surgimento na Europa no final da última glaciação, há cerca de 70 mil anos (CARVALHO, 1982).

Sem querer entrar na complexidade das características evolutivas do ser humano, mas apenas olhando os padrões de frequência global no mundo, vemos que, para os alelos do sistema ABO, segundo Dennis O'neil (2012), o alelo B é maior na Ásia Central e menor entre os povos indígenas das Américas e Austrália. Em geral, B é o alelo mais raro do sistema ABO em todo mundo. Encontram-se apenas 16% da humanidade com esse tipo sanguíneo. O alelo A é mais comum que B em todo mundo, 21% da população compartilham o tipo sanguíneo A. Em se tratando de povos isolados, este alelo têm maior frequência em pequenas populações nativas como os Índios Blackfoot de Montana (30-35%), os Aborígenes (40-43%) e os Lapões, ou povos Sami, do norte da Escandinávia (50-90%). O tipo sanguíneo O é muito comum em todo mundo. Encontram-se cerca de 63 % do alelo O, nas populações. No entanto a menor frequência de O é encontrada na Europa Oriental e Ásia Central, onde B é comum.

O que é notório é que o sistema de grupo sanguíneo ABO ocorre em frequências variadas dependendo da localização geográfica. No Brasil 87% da população é constituída de grupos sanguíneos A e O enquanto 10% são pertencentes ao grupo B e apenas 3% ao grupo AB. (FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE HEMOCENTRO DE SÃO PAULO, 2010). Estudos de prevalência da distribuição do sistema ABO realizados na América Central mostram La Paz (Bolívia) 58,49% como tipo O e 31,4 % como tipo A. Tipo B 8,4% e o grupo AB 1,71%. (PEÓN-HIDALGO e PACHECOCANO, 2002). Havana (Cuba) prevalência de 49,2% para tipo sanguíneo O; 35,5% para tipo sanguíneo A; 11,5% para o tipo B; e 3,8% para tipo AB

(VIAMONTE e MANGUART, 1997). São Paulo (Brasil) 46,13% de indivíduos do tipo O; 36,4% do tipo A. Grupo B 9,8% e AB 7,5%, (MATTOS et al. 2001). Rio Grande do Sul (Brasil) Dentre os 4.499 doadores de sangue, 1.755 (39,01%) eram do tipo sanguíneo A, 427 (9,49%) eram B, 136 (3,02%) eram AB e 2.181 (48,48%) eram O (FONTANA et al. 2006).

Aspectos Gerais do Polimorfismo de ABO

Um ancestral comum entre o homem e os primatas pode ter sido o precursor da origem do sistema de grupo sanguíneo ABO. Esta hipótese foi baseada nos aminoácidos existentes nas espécies de orangotangos, gibões, babuínos e primatas do gênero *Macaca* nativos da África e Ásia, os quais são comuns ao do homem. A variabilidade genética própria das mutações dota os seres vivos de alelos que permitem a estes, a capacidade de adaptação ao meio (CARVALHO, 1982). Estas variantes de novos elementos ou alelos criados, quando atingem uma frequência de 1% são denominadas de polimorfismo e aqueles com frequência inferior a 1% são denominados de gene idiomorfo, enquanto um gene com frequência superior a 99% deve ser classificado como gene monomorfo (MORTON, 1977). Certamente as transformações ocorridas nestes aminoácidos, numa escala de milhões de anos, possibilitou o polimorfismo genético para o sistema de grupo sanguíneo ABO que hoje classifica e diferencia os seres humanos.

No que diz respeito a sua compatibilidade entre os genótipos de grupo sanguíneos, o sistema ABO é um dos que se tem maior conhecimento e um dos mais importantes na prática médica e forense e ainda como marcadores antropológicos, ajudando a identificar migrações dos seres humanos ancestrais. Os dois sistemas principais são o sistema ABO, que é constituído de quatro tipos sanguíneos encontrados nos humanos, A, B, AB e O, e o sistema Rh que determina se o sangue é positivo ou negativo.

Para a atividade das glicosiltransferases foi descoberto que os antígenos A e B variam nos diversos subgrupos do sistema ABO. Para tanto, estudos, na composição bioquímica dos antígenos produzidos, têm confirmado a variação dos antígenos A e B. Neste aspecto, foram encontrados que o grupo sanguíneo AB apresenta a atividade das duas transferases (A e B), enquanto que o grupo O não possui as transferases A e B, no entanto apresenta o antígeno H em grande quantidade na superfície das células brancas (BARJAS-CASTRO et al. 2000).

Geneticamente, a codificação dos genes, no DNA, se dá por meio de uma seqüência específica que está localizado estrategicamente nos cromossomos. No entanto os alelos, como

forma alternativa de genes, se localizam em um único locus em cromossomos homólogos. Os alelos que darão origem aos quatro grupos sanguíneos A, B, AB e O são A1, B e O.

Após a descoberta do sistema de grupo sanguíneo ABO, no século XX, por Karl Landsteiner, muitos estudos foram realizados como, por exemplo, a definição da base molecular do sistema e também a identificação do polimorfismo dos alelos comuns a esses loci. Yamamoto e Hakomori, em (1990), realizaram a clonagem do cDNA da transferase A, baseados na sequência parcial da enzima e a construção da biblioteca de cDNA do gene ABO foi feita por meio do poli-A do RNA de células humanas cancerígenas. Hoje os avanços da genética molecular têm facilitado a compreensão da base molecular dos genes ABO e o conhecimento do polimorfismo dos alelos comuns a esse locus.

Aspectos da Susceptibilidade de Determinadas Doenças Associadas ao Sistema ABO

Vários trabalhos de pesquisa têm procurado demonstrar uma associação do sistema de grupo sanguíneo ABO com muitas doenças. Como referido também por Jesch et al. (2007), o sistema ABO ocorre como um resultado de polimorfismo de estruturas de hidratos de carbono, complexos de glicoproteínas e glicolípidos expressos na superfície de eritrócitos ou outras células. Embora não se tenha ainda clareza sobre o papel biológico dos antígenos de grupo sanguíneo (AGS), essa associação vem sendo investigada desde muitas décadas. Neste aspecto, os AGS têm sido utilizados em ensaios pré-clínicos para determinação de certos tipos de câncer e na imunoterapia contra o tumor, mostrando ser capazes de influenciar na resposta imune humoral e celular. Como refere Garraty (1996) o desenvolvimento de estudos dessa natureza pode sugerir o papel de marcador para os antígenos de grupo sanguíneo.

Na tentativa de encontrar respostas para o câncer de estômago entre o norte e sul da Inglaterra, Aird et al. (1954), desenvolveram um trabalho estatístico onde procuraram relacionar a incidência de câncer de estômago com as diferenças genéticas expressadas pelo sistema de grupo sanguíneo ABO. Os dados encontrados pelos pesquisadores mostraram que: “parece haver uma correlação direta ou indireta entre os grupos A e O e a susceptibilidade ao câncer de estômago no país”.

Jesch et al. (2007), com o objetivo de estudar pacientes submetidos a processos cirúrgicos, na Clínica Cirúrgica da Universidade de Leipzig – Áustria, encontraram uma relação em que

sugerem haver patologias que ocorrem com uma certa preferência em pessoas com determinado grupo sanguíneo, como por exemplo, no grupo de pacientes com tumores intestinais, homens portadores do grupo O eram mais propensos a desenvolver a patologia, enquanto que nas mulheres, era o grupo sanguíneo A que mais desenvolvia a enfermidade. Brian et al. (2009), comparando dois grupos de pacientes, tendo o grupo sanguíneo como fator de risco para câncer de pâncreas, encontrou a associação onde grupos sanguíneos A, AB ou B eram mais propensos a desenvolver a doença.

Em estudos onde estava associado o sistema de grupo sanguíneo ABO com hepatite viral crônica, Poujol-Robert et al. (2006), analisando a gravidade da fibrose em hepatite viral crônica C, encontraram uma associação dos genótipos A, B e AB com mais eventos trombóticos, enquanto que Alireza, Mojtaba e Sahar (2010), comparando frequência relativa do grupos sanguíneos ABO e fator Rh entre casos de hepatite viral crônica e doadores de sangue como controle, não houve diferença significativa entre os grupos sanguíneos com hepatite viral crônica.

Kamil, Aljamal e Yusoff (2010), realizando estudo de Caso-Controle, de associação de diabetes mellitus (DM) tipo2 com os grupos sanguíneos ABO, na Malásia, encontraram uma associação negativa entre os grupos sanguíneos A e O e DM tipo2 ($P < 0.05$). O estudo Concluiu que a associação negativa parece ter efeito protetor, uma vez que estes genótipos eram menos comuns em diabéticos. Kassim e Ejezie (1982), procurando determinar se havia alguma relação entre os genótipos de grupo sanguíneo ABO e susceptibilidade à malária e esquistossomose urinária no sudoeste da Nigéria, analisaram a parasitemia da malária e a presença de ovos de *Schistosoma haematobium* em amostras de urina de 681 pessoas, concluindo que as taxas de infecção com malária e/ou a esquistossomose não apresentaram associação significativa com as frequências dos grupos sanguíneos ABO. Um estudo que verificou o grupo sanguíneo e o risco de resultados adversos da gravidez mostrou associação do sistema ABO, mas não em parto prematuro e baixo peso ao nascer (PHALOPRAKARN e TANGJITGAMOL, 2013).

As Manifestações da Dengue Associadas ao Sistema ABO

Em se tratando de estudos que investigam os genótipos de grupo sanguíneo ABO com a dengue, Otero et al. (1985) determinando a frequência de grupos sanguíneos ABO e Rh em 204

pacientes diagnosticados com febre hemorrágica da dengue e comparados com um grupo controle (n=50.000), não encontraram diferenças significativas. Já Batacan-Nievera et al. (1999), numa amostra prospectiva, estudando preditores de sangramento em crianças com sorologia confirmada para dengue, nas Filipinas, referem que os achados clínicos e laboratoriais não foram indicadores de manifestação hemorrágica. O trabalho documentou que o fenótipo ABO teve correlação significativa com extravasamento de plasma, quando conclui que o genótipo B parecia predispor para sangramento, enquanto o sangue tipo O pareceu protetora contra o mesmo. Este estudo foi realizado para determinar os preditores clínicos e laboratoriais para a ocorrência de sangramento (exceto petéquias) entre crianças diagnosticadas com febre hemorrágica da dengue.

Também de forma a encontrar elementos de ligação entre o sistema de grupo sanguíneo ABO e as manifestações hemorrágicas na dengue, Sánchez (2005), na Venezuela, em um estudo de corte transversal, num Hospital Pediátrico, com pacientes de 0 – 15 anos internados com diagnóstico para dengue, refere que os genótipos de grupo sanguíneo O e B estão associados à dengue hemorrágica, grau de gravidade II e III. Buscando também uma relação de risco dos genótipos ABO com a dengue hemorrágica, Kalayanarooj et al. (2007) Investigando a associação da dengue com os genótipos do Sistema ABO, em um estudo de Coorte na Tailândia, referem que, quando associada a uma infecção secundária, o grupo sanguíneo AB pode ser um fator de risco com predisposição para a gravidade da infecção por dengue.

Formas Clínicas da Dengue

A resposta imunológica à infecção aguda por dengue pode ser primária e secundária. A resposta primária ocorre em pessoas não expostas anteriormente ao *flavivírus*, no qual o título dos anticorpos se eleva lentamente. A resposta secundária ocorre em pessoas com infecção aguda por dengue, mas que tiveram infecção prévia por *flavivírus*, no qual o título de anticorpos se eleva rapidamente, atingindo níveis altos (BRIAN e STEPHEN, 2011). A infecção por dengue inclui desde formas assintomáticas até quadros com hemorragia e choque, podendo evoluir para o óbito. As definições de caso propostas pela OPAS e OMS, foram adotadas pelo Ministério da Saúde do Brasil, o qual inclui os casos suspeitos e casos confirmados de FD, FHD e DCC (Dengue com complicações, a partir do ano 2000), incluída como uma classificação intermediária para os casos que não se enquadravam nem FD ou FHD. As definições de caso são:

Dengue clássica (FD) – é o caso confirmado laboratorialmente. No curso de uma epidemia, a confirmação pode ser feita através de critério clínico epidemiológico, com pacientes que tenham a doença febril aguda, com duração máxima de sete dias, acompanhada de pelo menos de dois dos seguintes sintomas: cefaléia, dor retro orbital, mialgia, artralgia, prostração, exantema. Além desses sintomas, deve ter estado nos últimos 15 dias, em área onde esteja ocorrendo transmissão da dengue.

Febre hemorrágica da Dengue (FHD) – é todo caso inicialmente suspeito de dengue clássica que apresente também manifestações hemorrágicas, variando desde prova do laço positivo até fenômenos mais graves, como hematêmese, melena e outros. A ocorrência de manifestações hemorrágicas, acrescidas de sinais e sintomas de choque cardiovascular (pulso arterial fino e rápido ou ausente, diminuição ou ausência de pressão arterial, pele fria e úmida, agitação), leva à suspeita de síndrome de choque. A FHD – é o caso em que todos os critérios abaixo estão presentes:

- febre ou história de febre recente, com duração de sete dias ou menos;
- trombocitopenia ($\leq 100.000/\text{mm}^3$);
- manifestações hemorrágicas evidenciadas por um ou mais dos seguintes sinais:
 - › prova do laço positiva, petéquias, equimoses ou púrpuras, sangramentos de mucosas, do trato gastrointestinal e outros;
- extravasamento de plasma, devido ao aumento de permeabilidade capilar, manifestado por:
 - › hematócrito apresentando um aumento de 20% do valor basal (valor do hematócrito anterior à doença) ou valores superiores a: 45% em crianças, a 48% em mulheres e a 54% em homens; ou,
 - › queda do hematócrito em 20%, após o tratamento; ou,
 - › presença de derrame pleural e/ou pericárdico, ascite e hipoproteinemia;
- confirmação laboratorial específica (sorologia ou isolamento).

Dengue com complicações (DCC) – é todo caso suspeito de dengue que apresente uma das situações abaixo:

- Caso suspeito de dengue que evolui para forma grave, mas não possui TODOS os critérios para ser encerrado como FHD; nessa situação, a presença de PELO MENOS UMA das alterações clínicas e/ou laboratoriais abaixo é suficiente para encerrar o caso como dengue com complicações:
 - › alterações neurológicas;
 - › disfunção cardiorrespiratória;

- › insuficiência hepática;
- › hemorragia digestiva importante (volumosa);
- › derrame pleural, pericárdico e ascite;
- › plaquetopenia < inferior a 20.000/mm³.
- › leucometria igual ou inferior a 1ml/mm³.

• Caso suspeito de dengue que evolui para óbito, mas não possui TODOS os critérios para ser encerrado como FHD (WHO, 2009;/OPAS, 1995; MS-SVS, 2009).

A **prova do laço**, que não pode ser realizada com garrote ou torniquete, consiste em se obter, por meio do esfigmomanômetro, o ponto médio entre a pressão arterial máxima e mínima do paciente, mantendo-se essa pressão por 5 minutos (no adulto) e 3 minutos (na criança); quando positiva, aparecem petéquias sob o aparelho ou abaixo do mesmo. Se o número de petéquias for de 20 ou mais (em adultos) e 10 ou mais (em crianças), em um quadrado com 2,5cm de lado, a prova é considerada positiva.

A definição de FHD é baseada em critérios clínicos e laboratoriais. Após o preenchimento desses critérios, os casos devem ser classificados quanto à gravidade de acordo com as categorias abaixo:

A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica ainda a FHD, baseada em critérios clínicos e laboratoriais, quanto à gravidade de acordo com as categorias abaixo.

- **Grau I** – preenche todos os critérios de FHD, sendo que a única manifestação hemorrágica é a prova do laço positiva;
- **Grau II** – preenche todos os critérios de FHD, com presença de manifestações hemorrágicas espontâneas (sangramentos de pele, petéquias, epistaxe, gengivorragia e outros);
- **Grau III** – preenche todos os critérios de FHD e apresenta colapso circulatório com pulso fraco e rápido, diminuição da pressão arterial ou hipotensão, pele pegajosa e fria e inquietação;
- **Grau IV** – preenche todos os critérios de FHD e apresenta choque profundo, com pressão arterial e pulso imperceptíveis.

Os graus III e IV também são chamados síndrome do choque da dengue (SCD).

Nova Classificação para a Dengue

Uma nova proposta de classificação baseada nos resultados do estudo multicêntrico “DENCO” (DENgueCOntrol), ocorrido em países da Ásia e América Latina, realizado por Alexander et al. (2011), está sendo feita pela OMS, (2009). Essa nova forma usa um sistema simplificado, com maior aplicabilidade prática baseada na avaliação clínica e de exames laboratoriais amplamente disponíveis. O novo sistema divide os casos de dengue em duas categorias de gravidade: 1) dengue (com ou sem sinais de alerta) e 2) dengue grave (Figura 1).

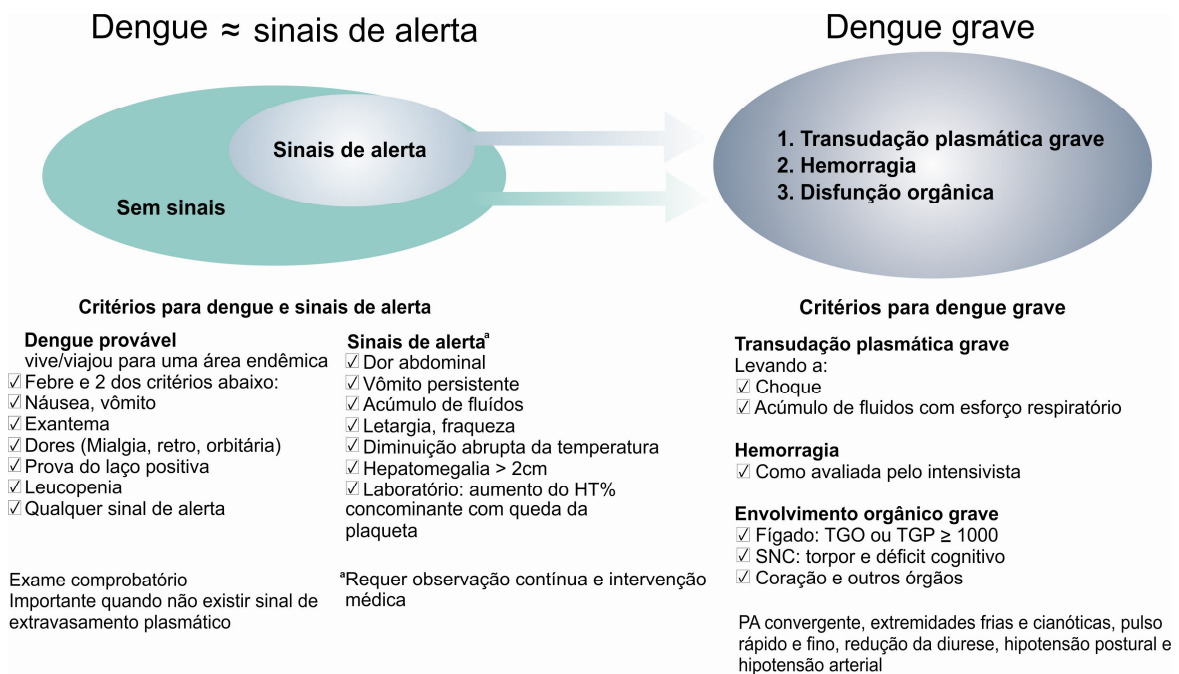


Figura 1 – Nova classificação da dengue e seus sinais de alerta.

Fonte: Adaptado de World Health Organization. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New edition. Geneva: WHO; 2009.

Apesar das orientações da OMS para classificação e manejo da dengue, de acordo com quatro graus de severidade, isso vem se tornando cada vez mais complicado para os clínicos à medida que novas formas de manifestação da doença surgem (RIGAU-PÉREZ, 2006; DEEN et al. 2006).

Considerações Finais

Apesar das políticas públicas adotarem medidas de combate e controle do vetor nas regiões endêmicas, observa-se que a incidência da dengue continua a desafiar os cuidados para a não transmissão do vírus em todo o mundo. Hoje já são mais de 2,5 bilhões de pessoas que vivem em áreas de risco da infecção. Observa-se que as barreiras de controle do vetor não estão surtindo o efeito esperado, uma vez que houve um aumento, nesse novo milênio, da procura de intercâmbio pelas pessoas, como também de utensílios de necessidades pessoais.

Por outro lado a demanda de equipamentos e de maquinarias pelas indústrias, em todo mundo, tem contribuído para aumentar o deslocamento de cargas e passageiros, fazendo com que o DENV ultrapasse fronteiras, indo dos trópicos para países de clima temperado, contribuindo com a disseminação do vetor.

A capacidade potencial do vírus ou a sua virulência associada à idade, a fatores genéticos, ao sexo, a comorbidades e a uma segunda infecção, por um vírus diferente da primeira, são os fatores de risco que, em conjunto, tem sido responsável pelos registros de exacerbação da patogenicidade gerada nas epidemias, levando milhares de pessoas aos leitos hospitalares que, na maioria das vezes, não se encontram preparadas para o evento.

Neste contexto, as pesquisas na área da Imunologia têm procurado atenuar os efeitos agressivos da infecção, buscando marcadores de gravidade que possam ser utilizados como ferramentas na elucidação dos mecanismos da imunopatogênese do vírus e ainda, quando identificados, de forma precoce, servir como indicador de gravidade em situações de epidemias. A restrição que se faz é que as análises ainda são de alto custo e não estão simplificadas e nem disponíveis na rede pública.

Já o sistema ABO, dada a sua grande importância na medicina transfusional, a qual possibilitou enxergar a incompatibilidade dos seus antígenos nas transfusões sanguíneas, tem despertado também grande interesse no que se refere à associação dos seus antígenos a várias patologias. A associação com muitas doenças vem sendo estudada há muitos anos, contudo, ainda não foram encontradas explicações completamente esclarecedoras para isso.

Desde o primeiro relato de uma associação entre grupo sanguíneo A e câncer gástrico, muitos estudos têm procurado encontrar uma relação significativa entre suscetibilidade de outras patologias ao sistema ABO. Estes estudos, para tanto, ainda devem prosseguir até que se possa elucidar o mecanismo molecular do polimorfismo do sistema ABO nas diferentes patologias

As citocinas, no entanto, têm sido alvos preferenciais para as pesquisas de marcadores biológicos na infecção da dengue. Alguns estudos mostram citocinas como a TNF- α ocorrendo no início dos sintomas da infecção. Outros, no entanto, não citam este evento. O que se observa é que, ainda não se tem um consenso dos mecanismos fisiopatológicos que ocorrem na imunopatogênese da dengue, que possam definir com maior brevidade o melhor tratamento para a doença.

Referências

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Normas para a apresentação de trabalhos acadêmicos**. ABNT / NBR 6023, São Paulo, 2007.

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. *Cellular and molecular immunology*. 5th. ed. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders, 2009.

AIRD, I. et al. THE Blood Groups In Relation To Peptic Ulceration And Carcinoma Of Colon, Rectum, Breast, And Bronchus; An Association Between The ABO Groups And Peptic Ulceration. *Br Med J*, (4883), v.2, p.315-321, 1954.

ALEXANDER, N. et al. On Behalf of the European Union, World Health Organization (WHO-TDR) Supported Denco Study Group. Multicentre Prospective Study on Dengue Classification in Four South-east Asian and Three Latin American Countries. *Trop Med Int Health*, v. 16, n. 8, p. 936-948, 2011.

ALMEIDA A.P, et al.. Vector monitoring of *Aedes aegypti* in the Autonomous Region of Madeira, Portugal. *Euro Surveill*, v.12(46), p. 64-69, 2007.

BARJAS-CASTRO M. L. et al. Molecular heterogeneity of the A3 subgroup. *Clin Lab Haem*, v.22, p.73-78, 2000.

BATACAN-NIEVERA, M. C. et al. Predictors of bleeding (other than petechiae) in children with serologically confirmed dengue hemorrhagic fever. *PIDSP Jour*, v. 3(1) p.16-21, 1999.

BATISSOCO, A. C.; NOVARETTI, M. C. Z. Aspectos moleculares do Sistema Sangüíneo ABO. *Rev. bras. hematol. Hemoter*, v. 25, n.1, p. 47-58, 2003.

BENNETT, E. P. et al. Genomic cloning of the human histo-blood group ABO locus. *Biochem Biophys Res Commun*, v. 206, n. 1, p. 318-325, 1995.

BRAVO, J. R.; GUZMAN, M. G.; KOURI, G. P. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? Individual risk factors for dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS). *transaction of the royals ocietyo of tropicaml edicinea nd hygiene*, v. 8 1, p.816-820, 1987.

BRIAN M, W. et al. ABO Blood Group and the Risk of Pancreatic Cancer. *JNCI*, v. 101, n.6. p.424-431, 2009.

BRIEN, J.D. et al. Genotype-specific neutralization and protection by antibodies against dengue virus type 3. *J Virol*, v.84, p.10630-43, 2010.

BRIAN, R. M.; STEPHEN, S. W. Immune Response to Dengue Virus and Prospects for a Vaccine. *Annu. Rev. Immunol*, v. 29, p. 587–561, 2011.

CANSOLI, R. A. G.B.; OLIVEIRA, R. L., **Principais Mosquitos de Importância Sanitaria no Brasil**. Rio de Janeiro. Fiocruz, 1994.

CARVALHO, H, C. *Fundamentos de Genética e Evolução*. 2ª edição. Rio de Janeiro: LTC/UFMG, 1982.

CLARK, D.V. et al. Economic impact of dengue fever/dengue hemorrhagic fever in Thailand at the family and population levels. *Am J Trop Med Hyg*, v. 72, p.786-791, 2005.

CLYDE, K.; KYLE, J. L.; HARRIS, E. Recent advances in deciphering viral and host determinants of dengue virus replication and pathogenesis. *Journal of Virology*, v. 80, n. 23, p. 11418-11431, 2006.

CHATURVEDI, U. C. et al. Cytokine cascade in dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* v. 28, n. 3, p. 183-188, 2000.

COFFEY, L. L. et al. Human genetic determinants of dengue virus susceptibility. *Microbes and Infec*, Paris, v. 11 p. 143-156, 2009.

DENNIS, O'NEIL. Modern Human Variation: An Introduction to An Introduction to Contemporary Human Biological Diversity. Tutorial, 2012. Disponível em <http://anthro.palomar.edu/vary/Default.htm>, acessado em 02 de Fevereiro de 2012.

DEWI, B. E. et al. In vitro assessment of human endothelial cell permeability: effects of inflammatory cytokines and dengue virus infection. *J Virol Methods*, v. 121, n. 2, p. 171-180, 2004.

DEGALLIER N, et al. Imported and autochthonous cases in the dynamics of dengue epidemics in Brazil. *Rev. Saúde Pública*, v.43 n.1: p.1-7, 2009.

DEEN, J. L. et al. The WHO dengue classification and case definitions: time for a reassessment. *Lancet*, v. 368, n. 9530, p. 170-3, 2006.

FERGUSON-SMITH, M. A. et al. Localization of the human ABO: Np-1: AK-1 linkage group by regional assignment of AK-1 to 9q34. *Hum Genet*, v. 34, p. 35-43, 1976.

FONTANA, E.T. et al. Prevalência da distribuição do Sistema ABO entre doadores de sangue de um Hospital Universitário. *Revista da AMRIGS*, Porto Alegre, v.50 (4), p. 277-279, 2006.

FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE. HEMOCENTRO DE SÃO PAULO. Curiosidades: tipos de sangue. Disponível em <http://www.prosangue.sp.gov.br/prosangue/actioncuriosidades.do?acao=curiosidadeF> Acesso: em 27/fevereiro de 2012.

GAMBLE, J. et al. Age-related changes in microvascular permeability: a significant factor in the susceptibility of children to shock? *Clin Sci (Lond)*, v. 98, p. 211-216, 2000.

GARRATY, G. Association of blood groups and disease: do blood group antigens and antibodies have a biological role? *Hist Philos Life Sci.*, v.18 (3), p.321- 44, 1996.

GREEN, S.; ROTHMAN, A. Immunopathological mechanisms in dengue and dengue hemorrhagic fever. *Curr Opin Infect Dis*, v. 19, n. 5, p. 429-436, 2006.

GUBLER, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev*, v. 11, n. 3, p. 480-96, 1998.

GUZMAN, M. G. et al. Dengue: a continuing global threat. UNICEF/UNDP/World Bank/WHO. (TDR), 2010.

GUZMAN, M. G. et al. Epidemiologic studies on Dengue in Santiago de Cuba, 1997. *Am J Epidemiol*, v. 152, p.793-799, 2000.

GUZMAN, M. G. et al. Effect of age on outcome of secondary dengue 2 infections. *Int J Infect Dis*, v. 6, p. 118-124, 2002.

GUHA-SAPIR, D.; SCHIMMER, B. Dengue fever: new paradigms for a changing epidemiology. *Emerg Themes Epidemiol*, v.2, p.1-10, 2005.

HALSTEAD, S. B. et al. Intrinsic antibody-dependent enhancement of microbial infection in macrophages: disease regulation by immune complexes. *Lancet Infect Dis*, v.10.n.10, p. 712–722, 2010.

HALSTEAD, S. B. The pathogenesis of dengue. Molecular epidemiology in infectious disease. *American Journal of Epidemiology*, Baltimore, v. 114, n. 5, p. 632-648, 1981.

HALSTEAD, S.B.; O'ROURKE, J. Dengue viruses and mononuclear phagocytes I. Infection enhancement by non- neutralizing antibody. *J Exp Med*, v. 46, p. 201-217, 1977.

JESCH. U. et al. ABO Blood Group. Related Investigations and Their Association with Defined Pathologies. *The Scientific World JOURNAL: TSW Holistic Health & Medicine*, v.7, p.1151-1154, 2007.

LEE, M. S. et al. Clinical characteristics of dengue and dengue hemorrhagic fever in a medical center of southern Taiwan during the 2002 epidemic. *J Microbiol Immunol Infect*, v. 39, p. 121-129, 2006.

LUPI, O.; CARNEIRO, C. G.; COELHO, I. C. B. Manifestações mucocutâneas da dengue. *An. Bras. Dermatol*, vol.82, n.4, p. 291-305, 2007.

KAMIL, M.; ALJAMAL, H.A.N.; YUSOFF, N.M. Association of ABO blood groups with diabetes mellitus. *Libyan J of Med*, v. 5, p. 4847-4849, 2010.

KALAYANAROOJ, S. et al. Blood Group AB Is Associated with Increased Risk for Severe Dengue Disease in Secondary Infections. *JID*, v.195, p. 1014–1017, 2007.

KASSIM, O. O.; EJEZIE, G, C. ABO Blood Groups in Malaria and Schistosomiasis Haematobium. *Acta Trop*, v.39 (2), p. 179-184, 1982.

KOURÍ, G.; GUZMÁN, M. G.; BRAVO, J. R. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? 2. An integral analysis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 81, p. 821-823, 1987.

KURANE, I.; EENNIS, F.E. Immunity and immunopathology in dengue virus infections. *Semin Immunol*, v. 4, p.121-127, 1992.

KURANE, I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, v. 30, n. 6, p. 329-340, 2007.

KURANE, I.; JANUS, J.; ENNIS, FA. Dengue virus infection of human skin fibroblasts in vitro production of IFN-beta, IL-6 and GM-CSF. *Arch Virol*, v. 124, p.21-30, 1992.

YOSHIDA, A.; YAMAGUCHI.; YD, DAVE, V. Immunologic homology of human blood group glycosyltransferases and genetic background of blood group (ABO) determination. *Blood*, v.59, p. 344-350, 1979.

YAMAMOTO, F.; HAKOMORI. S. Sugar-nucleotide donor specificity of histo-blood group A and B transferase is based on amino acid substitutions. *J. Biol. Chem*, v. 265, p. 19257-19262, 1990.

MATTOS L.C. et al. Genotipagem do locus ABO (9q34.1) em doadores de sangue da região noroeste do Estado de São Paulo. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*, v.23, n.1, p.15-22, 2001.

MENDONÇA, F.A.; SOUZA, A.V.; DUTRA, D.A. Saúde pública, urbanização e dengue no Brasil. *Soc Nat*, v. 21(3), p. 257-269, 2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE/SES-PB. Secretaria de Estado de Saúde da Paraíba (SES). 16º boletim epidemiológico da dengue. 2012.

MORTON, N.E. Forces maintaining polymorphisms. *Acta Anthropogenetica*, v. 1, p.3-14, 1977.

NOVARETTI, M. C. Z.; DORLHIAC-LLACER, P. E.; CHAMONE, D. A.F. Estudo de grupos sanguíneos em doadores de sangue caucásicos e negróides na cidade de São Paulo. *Rev.bras.hematol.hemoter*, v. 22(1), p. 23-32, 2000,

OTERO B, et al. Frecuencia de los grupos sanguíneos ABO y Rh(D) en pacientes con dengue hemorrágico. *Rev Cubana Med*, v. 24(5), p. 530-2, 1985.

OPAS/OMS. **A OPAS/OMS atualiza os dados da dengue nas Américas, 2012.** Disponível em< http://new.paho.org/bra/index.php?option=com_frontpage&Itemid=1.> Acessado em 8 de Maio de 2012.

OLSSON, M.L. et al. Genomic analysis of clinical samples with serologic ABO blood grouping discrepancies: identification of 15 novel A and B subgroup alleles. *Blood*. V. 98(5), p.1585-1593, 2001.

POUJOL-ROBERT, A. et al. Association between ABO blood group and fibrosis severity in chronic hepatitis C infection, *Dig. Dis. Sci*, v. 51, p. 1633–1636, 2006.

PANG, T.; CARDOSA, M. J.; GUZMAN, M. G.. Of cascades and perfect storms: the immunopathogenesis of dengue haemorrhagic fever-dengue shock syndrome (DHF/DSS). *Immunol Cell Biol*, v. 85, n. 1, p. 43-45, 2007.

- PEÓN-HIDALGO, L.; PACHECOCANO, M. Frecuencias de grupos sanguíneos e incompatibilidades ABO y RhD, en La Paz, Baja California Sur, México. *Salud pública Méx* v.44 n.5, 2002.
- PHALOPRAKARN, C.; TANGJITGAMOL S. Maternal ABO blood group and adverse pregnancy outcomes. *Journal of Perinatology* v.33, p.107-111, 2013.
- RIGAU-PÉREZ, J. G. Severe dengue: the need for new case definitions. *The Lancet Infectious Diseases*, New York, v. 6, p. 297-302, 2006.
- RICO-HESSE R et al. Molecular evolution of dengue type 2 virus in Thailand. *Am J Trop Med Hyg*, v. 58, p. 96-101, 1998.
- SÁNCHEZ, G. J. J. Grupo sanguíneo y su relación con los grados de severidad del dengue hemorrágico en pacientes ingresados en el Hospital Pediátrico "Agustín Zubillaga". 2005. 34f. Monografía (Especialista e Pediatría y Puericultura) - Universidad Centroccidental "Lisandro Avarado". Barquisimeto: Venezuela. 2005.
- SIERRA, B. C.; KOURÍ, G.; GUZMÁN, M. G. Race: a risk factor for dengue hemorrhagic fever. *Archives of Virology*, v. 152, p. 533-542, 2007.
- SIMMONS, C, P. et al. Dengue: Corrent concepts. *N Engl J Med*, v.366, p. 1423-1432, 2012.
- SIMMONS, C. P. A. et al. Understanding pathogenesis, immune response and viral factors. *World Health Organization*. Geneva, p.54-60, 2006.
- SHOPE, R.E. Impacts of global climate change on human health: Spread of infectious disease. In: Majumdar, S.K., Kalkstein, L.S., Yarnal, B., Miller, E.W., Rosenfeld, L.M. (eds). *Global climate change: Implications, challenges and mitigation measures*. Easton, PA: *The Pennsylvania Academy of Science*. v. 59. p. 363-370, 1992.
- UNICEF/UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR), World Health Organization, CH-1211, *Nautre Reviews Microbiology*, 2010.
- VIAMONTE, R.F.; MANGUART, A.L. Frecuencia de los grupos ABO y RH en um servicio de hemoterapia de Ciudad de La Habana. *Rev Cubana Med Milit*, v. 26 (1), p. 44-49, 1997.
- WATKINS, W. M. Biochemistry and genetics of the ABO, Lewis and P blood group systems. Ed. *Advances in Human Genetics*. New York: *Plenum Press*, v. 10, p.136, 1980.
- WHO/WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. *New edition*, 2009.
- ZAGO, M.A. et al. Racial heterogeneity of DNA polymorphisms linked to the A and the O alleles of the ABO blood group gene. *Ann. Hum. Genet*, v. 60, p. 67-72, 1996.

4. RESULTADOS

A submeter

4.1 Artigo Original nº 2

NÍVEIS SÉRICOS DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA INFECÇÃO DA DENGUE COM INTERFACE NO SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO HUMANO

ABRÃO A. SILVA,^{1,2} ANGELA GIUDICE,^{3,4} LUCIANA M. ASSIS,⁵ MARIA C. SILVA,⁵
EDGAR M. CARVALHO^{1,3,4}

¹ Programa de Pós-graduação em Medicina e Saúde, Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brazil

² Unidade Acadêmica de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal de Campina Grande, Cajazeiras, Paraíba, Brazil.

³ Serviço de Imunologia, Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brazil

⁴ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Doenças Tropicais- INCT DT(CNPq/MCT), Salvador, Bahia, Brazil.

⁵ Unidade Acadêmica de Enfermagem, Universidade Federal de Campina Grande-UFCG, Cajazeiras, Paraíba, Brazil.

NÍVEIS SÉRICOS DE CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA INFECÇÃO DA DENGUE COM INTERFACE NO SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO HUMANO

Resumo

Fundamentos: A dengue é hoje um dos maiores problemas de saúde pública do mundo se manifestando desde formas clinicamente inaparentes até quadros graves de hemorragia e choque, podendo chegar a óbito. A doença é endêmica em mais de 100 países, na Ásia, África, América Central, América do Sul e no Pacífico. Nesses países, anualmente são notificados cerca de cem milhões de casos. **Métodos:** O trabalho é um estudo de corte transversal, com pacientes do Hospital Universitário Lauro Wanderley – UFPB (referência para dengue no Estado da Paraíba - Brasil), no período de abril/ 2011 a junho/ 2012, com o objetivo de avaliar a existência da associação das formas clínicas da dengue com grupos sanguíneos e com a produção de quimiocinas e citocinas. Neste período, foram diagnosticados 110 pacientes com dengue. Foram coletados de cada paciente 10 ml de sangue, feita a tipagem sanguínea, e o soro conservado a -25°C . A determinação sérica das citocinas/quimiocinas TNF- α , IL-6, CCL3 (MIP-1 α), CXCL9, IL-8 (CXCL8) e IP10 (CXCL10) foram feitas pela Técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). **Resultados:** A forma clínica mais frequente foi Febre Hemorrágica da dengue (FHD) 56 (50,9%), seguida de Dengue Clássica (FD) 45 (40,9%). O grupo sanguíneo “O” foi mais frequente na Dengue Clássica (FD) e na Dengue Hemorrágica (FHD). Não houve resultados significativos entre grupo sanguíneo e produção de citocinas ao nível de $p\text{-valor} < 0,05$. CXCL10 foi significativa entre as formas clínicas ao nível $p\text{-valor} < 0,01$. Os níveis de IL-6, CXCL8, CCL3, CXCL9 e CXCL10 foram maiores em pacientes que nos controles.

Conclusões: CXCL10 estava associada à FD. Não existe associação entre dengue e os antígenos do sistema ABO. A dengue é acompanhada de uma elevação nas concentrações de IL-6, IL-8, CCL3, CXCL9 e CXCL10 sugerindo um papel importante das quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias na patogênese da dengue.

Palavras-chaves: Dengue, Associação, ABO, Citocinas, Quimiocinas.

LEVELS SERUM OF CYTOKINES AND CHEMOKINES ON DENGUE INFECTION WITH INTERFACE SYSTEM OF HUMAN BLOOD GROUP

Abstract

Background: Dengue is currently one of the major public health problems in the world since forms manifesting clinically unapparent to severe bleeding and shock, reaching death. The disease has spread so as endemic in more than 100 countries in Asia, Africa, Central America, South America and the Pacific, where are reported annually from fifty to one hundred million cases (WHO, 2009). **Methods:** This study is a transversal study, of patients hospitalized in the University Hospital Lauro Wanderley - UFPB (reference to dengue in the state of Paraiba - Brazil), from April / June 2011/2012 with the objective to evaluate the existence of the association of clinical presentations with blood groups and the production of chemokines and cytokines. In this period 110 patients were diagnosed with dengue. Were collected from each patient 10 ml blood taken to determine the blood and serum stored at -25°C. The determination of serum cytokines / chemokines TNF- α , IL-6, CCL3 (MIP-1 α), CXCL9, IL-8 and CXCL10 were done by ELISA technique (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). **Results:** The most frequent clinical form was Hemorrhagic Fever (DHF) 56 (50.9%), followed by Classical Dengue (DF) 45 (40.9%). The blood type "O" was more frequent in Classical Dengue (DF) and Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) with significance $p = 0.000 < 0.05$, with small highlight for FD. No significant differences were observed between blood type and cytokine production at the level of $p < 0.05$. CXCL10 were significant between the clinical forms at the level $p\text{-value} < 0.01$. The levels of IL-6, CXCL8, CCL3, CXCL9 and CXCL10 were higher in patients than in controls.

Conclusions: CXCL10 was associated with FD. No association between dengue antigens and ABO. Dengue fever is accompanied by an increase in the concentrations of IL-6, IL-8, CCL3, CXCL9 and CXCL10 suggesting an important role of chemokines and proinflammatory cytokines in the pathogenesis of dengue.

Keywords: Dengue, Association, ABO, Cytokines, Chemokines.

Introdução

Como principal arbovirose tropical, a dengue é transmitida pela fêmea do hematófago o *Aedes aegypti* que tem o vírus dengue (DENV) como um membro da família *Flaviviridae*. Nas últimas décadas tem ocorrido uma drástica incidência de dengue em todo mundo. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que cerca de 2,5 bilhões de pessoas, 40% da população mundial, estão em risco de contrair a doença. Estima ainda que pode haver entre 50 a 100 milhões de infecção por dengue a cada ano.

A doença é endêmica em mais de 100 países na África, Américas, Mediterrâneo Oriental, Sudeste Asiático e no Pacífico Ocidental. O Sudeste Asiático e as regiões ocidentais do Pacífico são as mais gravemente afetadas. Já existe a ameaça de um possível surto de dengue na Europa desde que a transmissão da dengue foi relatada pela primeira vez na França e Croácia em 2010 e casos importados foram detectadas em três outros países europeus.

A OMS e a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), através do programa regional da dengue, registraram 62.643 casos da doença nas Américas. (OPAS/OMS, 2012). Segundo o Ministério da Saúde, o Brasil, mesmo com queda de 44% dos casos (2012), foram notificados 286.011, com os vírus 1, 2, 3 e 4 circulando no país, inclusive no Estado da Paraíba [1]. O Estado da Paraíba teve em 2012, 3.768 casos, uma queda de 59% em relação ao mesmo período de 2011.

A resposta imunológica à infecção pode ser primária e secundária. A resposta primária ocorre em pessoas que tiveram contato com DENV pela primeira vez. A secundária ocorre em pessoas que tiveram infecção prévia pelo *flavivírus*, na qual o título de anticorpos se eleva rapidamente, atingindo níveis bem altos [2]. São encontradas, desde formas assintomáticas, até quadros com hemorragia e choque. O Ministério da Saúde do Brasil usou a classificação dos casos de dengue em Dengue Clássica (FD), Febre Hemorrágica da Dengue (FHD) e Dengue Com Complicações (DCC) a partir do ano 2000. A forma clínica de DCC foi incluída como uma classificação intermediária para os casos de dengue que não se enquadravam nem como FD ou como FHD.

A patogenia dos mecanismos de defesa humana, inicialmente inata e seqüencialmente adaptativa, tem mostrado a indução de células de defesa, produção de citocinas e quimiocinas como TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10[3] que podem ser encontradas na fase inicial da doença, forma aguda da doença e na convalescência. O TNF- α e IL-8 foram referidas como elevadas em

dengue hemorrágica [4,5]. A ativação das células T numa infecção secundária provoca a elevação de IL-2, IFN- γ e TNF- α , geralmente ocorrendo no instante de viremia e no momento de defervescência e extravasamento de plasma [4,6].

Alguns fatores de risco como idade, sexo, raça e doenças associadas são atribuídos como potencialmente indutores ou protetores nas manifestações clínicas da dengue [7,8]. A teoria de Halstead et al. (1977), (*antibody dependent enhancement – ADE*), tem sido a mais aceita, como fator de risco, para explicar a evolução de um quadro de FHD, quando uma pessoa adquire uma segunda infecção com um vírus diferente da prima-infecção.

Aos genótipos de grupo sanguíneo são também atribuídos susceptibilidade ou resistência à gravidade da dengue. É o que refere Batacan-Nievera et al. [10], quando mostraram que o genótipo B estaria associado com predisposição para o sangramento, enquanto o grupo O era associado com proteção a hemorragia. Sánchez [11] encontrou que O e B têm associação com dengue grave, enquanto Kalayanarooj et al. [12] mostram que em infecção secundária o genótipo AB pode ser um fator de risco para a gravidade da infecção.

Os antígenos estão presentes nas membranas de eritrócitos, linfócitos, plaquetas, endotélio capilar venular e arterial, células sinusoidais do baço, medula óssea, mucosa gástrica, além de secreções e outros fluídos como saliva, urina e leite [13]. A capacidade de miscigenação da espécie humana tem mostrado diferentes padrões de distribuição do sistema ABO em todo mundo. No Brasil 87% da população é formada pelo genótipo de grupo sanguíneo A e O, ficando 10% para o grupo B e 3% no grupo AB. Desde A1rd et al. [14], que estudaram uma associação entre a incidência de câncer de estômago e o sistema ABO, outras pesquisas de associação com biomarcadores e outras enfermidades, como para a infecção da dengue, estão sendo desenvolvidos.

Diante das várias formas clínicas que a infecção apresenta, desde quadro assintomático até doença grave (FHD/SCD), a identificação de marcadores associados com gravidade em casos de epidemia, poderá contribuir para a adoção de condutas terapêuticas capazes de minimizar complicações e reduzir a mortalidade, reduzindo também o impacto social e econômico do evento. O interesse em definir marcadores e correlacionar sua associação com formas graves da infecção pode ser uma estratégia em regiões mais afetadas, onde o manejo clínico e

epidemiológico da dengue se faz necessário, principalmente onde os quatros Flavivirus ocorrem, como é o caso do Brasil.

Este estudo teve como objetivo avaliar fatores de risco e marcadores relacionados com a gravidade da dengue em pacientes com FD, DCC, FHD, internados no Hospital Universitário Lauro Wanderley da UFPB-Brasil.

Materiais e Métodos

Dimensionamento da amostra:

Cálculo do tamanho da amostra para uma população infinita:

$$n = \frac{z^2 p \cdot q}{d^2} = \frac{1,96^2 \cdot 0,05 \cdot 0,95}{0,03^2} = 202,75$$

Características dos casos e controle da amostra

Este é um estudo de corte transversal realizado de Abril de 2011 a Junho de 2012 com pacientes internados, com suspeita de dengue, no Setor de Doenças Infecto Contagiosa – DIC, do Hospital de referência para Dengue no Estado da Paraíba, Hospital Universitário Lauro Wanderley – H. U. L.W – UFPB, na cidade de João Pessoa-PB. Foram internados com suspeita de infecção por DENV 175 pacientes. Dos pacientes internados com suspeita de dengue, foram positivo para IgM (DENV) 110 indivíduos, sendo estes os casos que compõem a amostra do estudo. Para o controle da amostra, foram selecionados 22 indivíduos saudáveis. O critério de inclusão dos casos foi o diagnóstico positivo para infecção por dengue emitido pelo LACEN-PB e como exclusão foi observada doenças associadas e outras doenças.

Diagnóstico da dengue

O diagnóstico de suspeita da dengue seguiu as normas do Ministério da Saúde pelo setor da DIC – HULW, em que se utilizam critérios clínicos e laboratoriais básicos. Foram feitas avaliações clínicas iniciais, nas quais os sintomas acusassem pelo menos sete dias com febre e também, pelo menos dois dos diferentes sintomas (cefaléia, prostração, dor retro-orbitária, exantema, mialgia, artralgia), prova do laço (evidência de sangramento espontâneo); em seguida, exames laboratoriais com hemograma completo, além de pesquisa de anticorpo de

classe IgM para dengue. O agravamento da infecção (DCC/FHD) seguiu a orientação do Ministério da Saúde. Os pacientes foram classificados como Dengue Clássica (FD), dengue com complicações (DCC) ou febre hemorrágica da dengue (FHD).

Dosagem de citocinas e quimiocinas nos casos e controle.

No material coletado dos pacientes (10 ml de sangue) foi feita a tipagem sanguínea, centrifugado e o soro reservado em freezer a -25°C . Posteriormente, foram feitas as dosagens das citocinas/quimiocinas TNF- α , IL-6, CCL3 (MIP-1 α), CXCL-9, IL8 (CXCL8) e CXCL10, utilizando o método ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), kits (BD Biosciences, USA) no Serviço de Imunologia do Complexo Hospitalar Universitário Prof. Edgard Santos da UFBA, seguindo o protocolo do fabricante. No controle foi feita a quantificação das citocinas/quimiocinas para comparação com os casos, também utilizando o método ELISA e kits (BD Biosciences, EUA).

Exames laboratoriais

Os exames complementares foram realizados nos primeiros cinco dias da apresentação dos sintomas. Foram feitas a tipagem sanguínea e hemograma. Pesquisa de anticorpo de classe IgM para a DENV foi realizada pelo LACEN-PB.

No sangue dos controles foi feita a sorologia para dengue, tanto para identificar anticorpo de classe IgM como IgG pelo método imunoensaio enzimático e hemograma.

Aprovação no Comitê de Ética

A pesquisa foi Aprovada pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário Lauro Wanderley da UFPB, sob o protocolo CEP/HULW nº 089/2011, Folha de Rosto nº 404501, CAAE Nº 0041.0.126.000-11. Todos os pacientes, e/ou responsáveis incluídos na amostra e também os voluntários do controle assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido com base na resolução nº 196/96 do CNS/MS, que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos. Em cada paciente e controle foi aplicado um questionário sócio demográfico.

Dados da Análise Estatística

Os dados descritivos do perfil demográfico (idade, sexo) e clínico (formas clínicas) foram expressos como números (percentual) de casos. Em relação à variável numérica idade, adicionou-se medidas de posição e de variabilidade. O teste de qui-quadrado ajustado foi usado para analisar as diferenças nas características demográficas e clínicas do grupo de estudo. Dados do grupo de comparação para citocinas são apresentados como mediana e intervalo interquartil. ANOVA univariada de Kruskal-Wallis (teste não-paramétrico) foi realizada e se encontrada significância, o teste post-hoc de comparações múltiplas de Dunn foi usado para definir as diferenças entre os grupos. O teste de Mann-Whitney foi usado na comparação das citocinas para os grupos (paciente, controle). Um p-valor < 0,05 foi considerado significativo. Todas as análises estatísticas dos dados foram feitas utilizando o programa SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) e, também, análises e gráficos plotados usando GraphPad Prism 5.0 (San Diego, Califórnia, EUA).

Resultados

A idade, sexo e frequência das formas clínicas da dengue na amostra estudada, são apresentados na tabela 1. O gênero prevalente foi o feminino (57,3%), 75 (68,2%) indivíduos tinham idade entre 1-32 anos e 35 (31,8%) entre 33-81. A idade média foi 26 anos \pm 17 anos, idade mediana de 21 anos e, com idades variando de 1 a 81 anos. A forma clínica mais freqüente foi Dengue Hemorrágica (FHD) 56 (50,9%), seguido de Dengue Clássica (FD) 45 (40,9%) e Dengue Com Complicações (DCC) 9 (8,2%).

A frequência de pacientes do grupo sanguíneo O com FHD foi de 28 (50,0%) em 56 casos. 45 pacientes tiveram FD, 24 (53,3%) tinham o grupo O. Os testes de homogeneidade através da distribuição Binomial ou da distribuição de Qui-quadrado, ajustado para os grupos sanguíneos, A e O, B e AB, separadamente, *versus* as formas clínicas, não apresentaram diferenças significativas em cada uma das três comparações (p-valor>0,05). O valor preditivo positivo (VP⁺) na tabela de Contingência 2x2, considerando o diagnóstico de FHD para cada um dos grupos sanguíneo, mostrou que o grupo O foi o que apresentou melhor estimativa por intervalo, apresentando menor amplitude (maior precisão).

Citocinas: O maior valor (pg/ml) ocorreu para a citocina CXCL9 na FD e o menor, ocorreu para TNF- α na FHD. Na comparação entre as formas clínicas (Fig. 1), CXCL10 foi significativa (p-valor<0,01). As demais citocinas não apresentaram significância. Entre pacientes e controle (fig. 2) foram significativas as citocinas IL-6, CXCL8, CCL3, CXCL9 e CXCL10 (p-valor<0,05). TNF- α não foi significativa.

As comparações das citocinas *versus* o Sistema ABO não apresentaram resultados significativos para cada uma das citocinas consideradas na análise (p-valor>0,05). Embora CXCL9 e CXCL10 tenham mostrado valores bastante altos em relação às outras, com destaque para o grupo O.

Para as faixas etárias no grupo de pacientes, a citocina CXCL9 apresentou valores maiores associados a indivíduos com idade de 17 e 32 anos e 33--81. A citocina CCL3 apresentou associação com idade entre 1-16. Já a CXCL10 foi significativa para faixa etária de 17-32 anos (Fig.3). Dos 35 indivíduos (31,8%) que tinham idade entre 33-81 anos, 26 (74,3%) eram do sexo feminino e estavam associados com CXCL9 e CXCL10

Comparações das citocinas/quimiocinas com as formas clínicas (FD/DCC/FHD) e controles saudáveis: A comparação das citocinas/quimiocinas com as formas clínicas são mostrados na figura 4.

Os resultados da comparação entre citocinas/quimiocinas com os controles saudáveis e formas clínicas da dengue (FD, DCC,FHD), mostram a IL-6, CCL3 (MIP1- α), CXCL10 e CXCL8 com valores maiores para FD e FHD (p-valor<0,05). Já a CXCL9 tinha valores maiores para FD, DCC e FHD (p-valor<0,01). A TNF- α não apresentou resultado significativo entre controle e formas clínicas. A associação das formas clínicas entre si não mostraram resultados significativos.

Tabela 1. Sumário das frequências de idade e formas clínicas da dengue associadas ao sexo.

Resumo da frequência da faixa etária e das formas clínicas da dengue associados ao sexo.

Perfil (n=110).	Sexo dos pacientes					
	Total		Masculino		Feminino	
	n	%	n	%	n	%
Faixa etária						
1 a 16 anos	43	39,1	26	55,3	17	27,0
17 a 32 anos	32	29,1	12	25,5	20	31,7
33 a 81 anos	35	31,8	9	19,2	26	41,3
Formas clínicas						
Dengue clássica (FD)	45	40,9	16	34,0	29	46,0
Dengue c/complicações (DCC)	9	8,2	5	10,6	4	6,3
Dengue hemorrágica (FHD)	56	50,9	26	55,3	30	47,6
Total	110	100	47	100	63	100

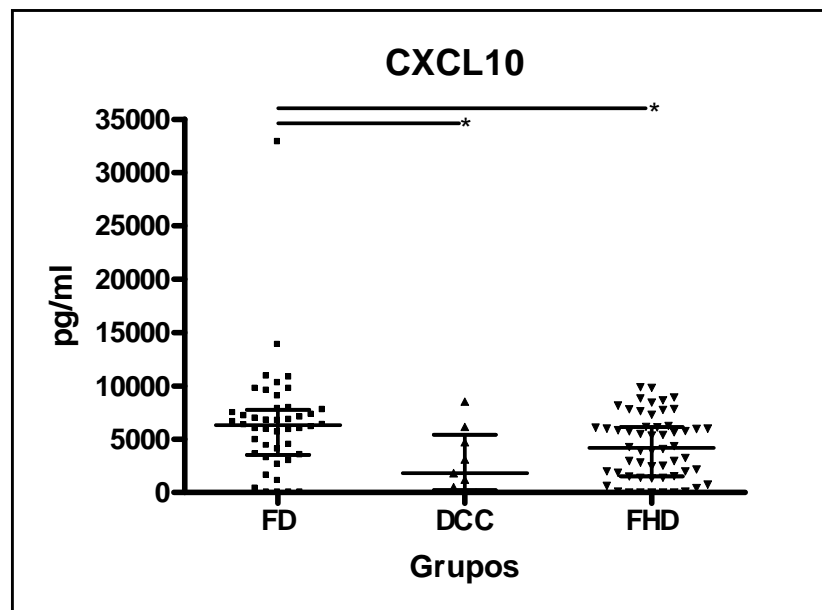


Figura 1. Distribuição da Citocina CXCL10 (pg/ml), valor mediano e amplitude interquartil associada às formas clínicas da dengue. FD (dengue clássica), DCC (dengue com complicações), FHD (febre hemorrágica da dengue). O teste de Kruskal –Wallis apresentou resultados significativos para FD (dengue clássica) (p-valor<0,05).

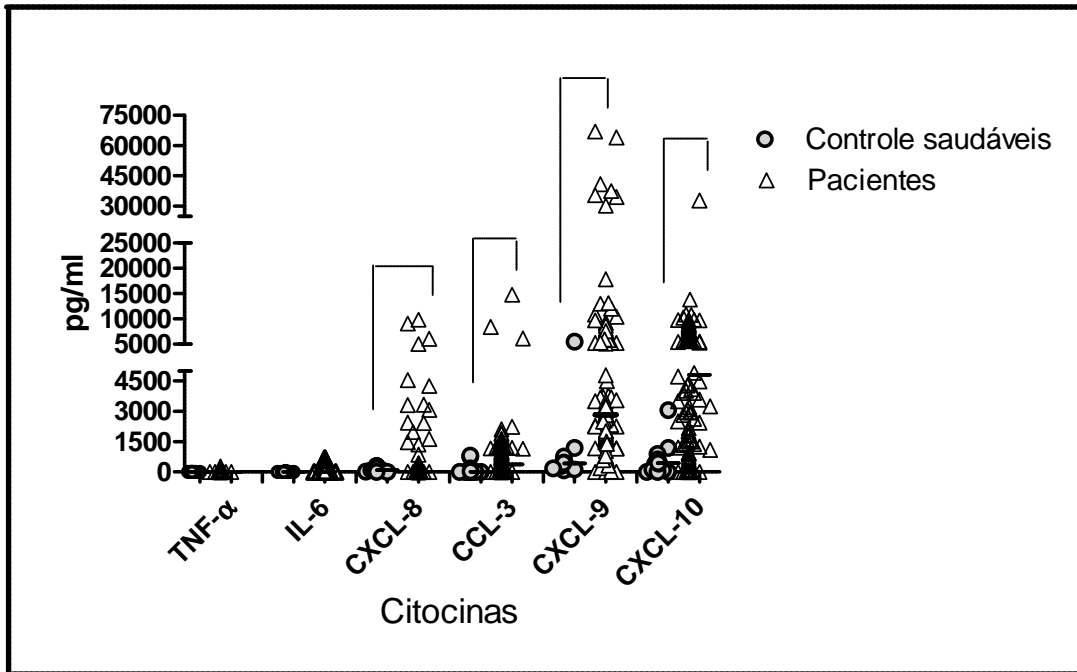


Figura 2. Valores das Citocinas segundo grupo: Pacientes *versus* Controle. Valor mediano e amplitude interquartil.

O Teste de Mann-Whitney aplicado na comparação de cada citocina segundo os grupos pacientes *versus* controle forneceu resultados significativos para as seguintes citocinas: **IL-6, CXCL8, CCL3, CXCL9 e CXCL10** com $p\text{-valor} < 0,05$. Apenas a citocina TNF- α não apresentou resultado significativo, fornecendo $p = 0,142 > 0,05$.

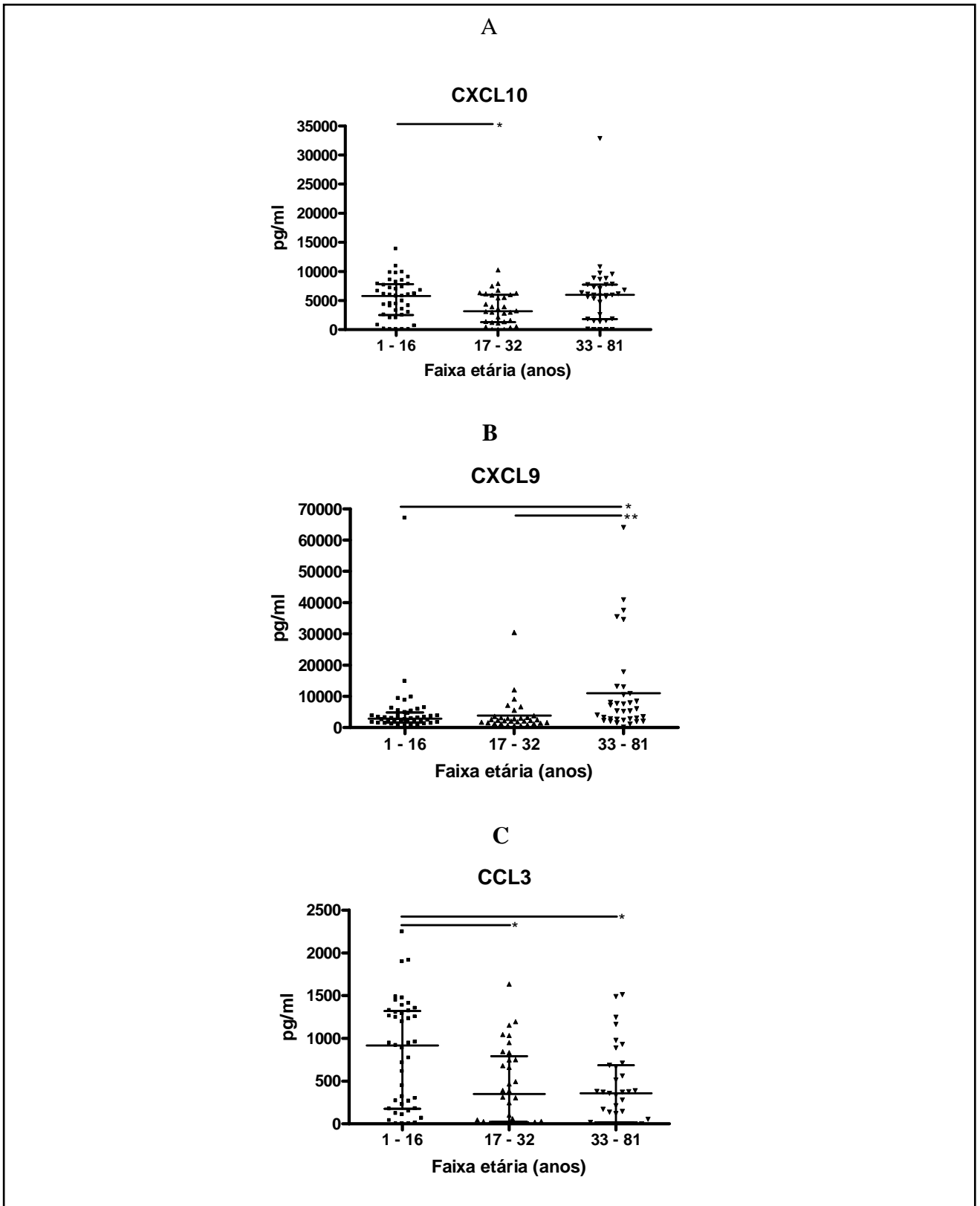


Figura 3. Distribuições das Citocinas (pg/ml), valor mediano e amplitude interquartil. Comparações das citocinas segundo as faixas de idades consideradas dos pacientes. Teste de Kruskal-Wallis (ANOVA não-paramétrica) mostrou resultado significativo (p -valor $<0,05$) para: **A** – a faixa etária entre 17-32 anos mostra associação com a quimiocina **CXCL10**; **B** – idade entre 33-81 anos associou-se a **CXCL9**; **C** – a faixa etária entre 1-16 anos mostra associação com a quimiocina **CCL3**.

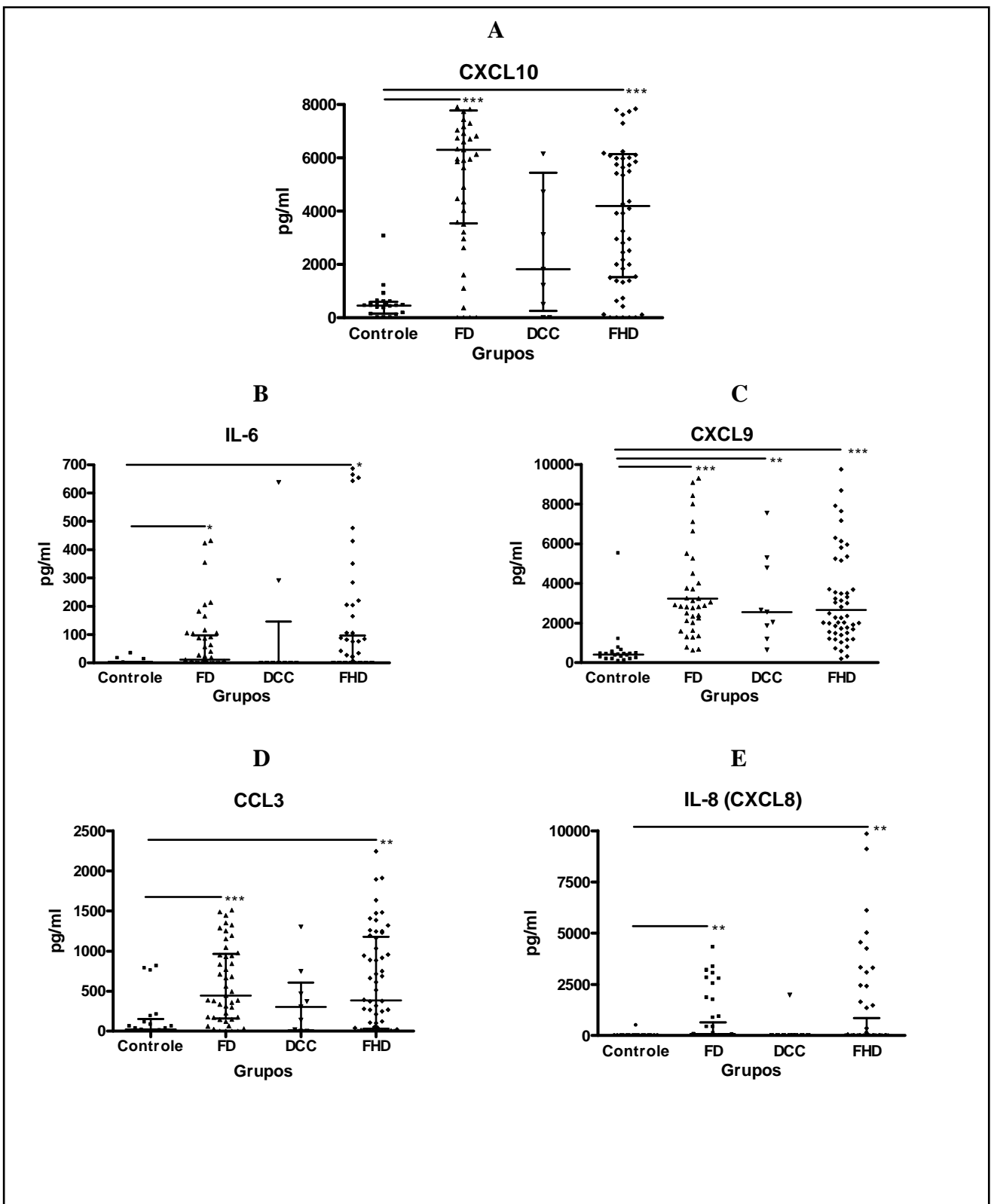


Figura 4. Distribuições das Citocinas (pg/ml), valor mediano e amplitude interquartil versus formas clínicas da dengue e controle saudáveis. Teste Kruskal-Wallis (ANOVA não-paramétrica). FD (dengue clássica), DCC (dengue com complicações), FHD (febre hemorrágica da dengue). Resultado significativo para: **A** - CXCL10 na FD e FHD>controle. **B** - valores de IL-6 na FD e FHD>controle. **C** - valores de CXCL9 na FD, DCC e FHD>controle. **D** - valores de CCL3 na FD e FHD>controle. **E** - valores de IL-8 (CXCL8) na FD e FHD>controle.

Discussão

Este estudo teve o objetivo de avaliar fatores de risco na infecção da dengue, analisando marcadores imunológicos (TNF- α , CXCL9, CCL3, CXCL10, IL-6, IL-8) e grupo sanguíneo ABO, relacionando-os com a gravidade da dengue. Os fatores de risco individuais mostrados no estudo foram sexo e idade. O sexo feminino foi prevalente com 63 (69,3%) dos indivíduos e a idade entre 17-81 anos 67 (73,7%) o que é consistente com os achados de Sankawibha et al. [15], Kouri et al. [16] e Benthem et al. [17]. O resultado encontrado para a faixa etária acima de 17 anos, mostra maior ocorrência dos casos de dengue, na região, associados à fase adulta.

O estudo mostrou que a frequência dos grupos sanguíneos na população é consistente com outro estudo, onde o grupo “O” é prevalente, seguido pelo grupo “A” e valores menores foram atribuídos para B e AB [18]. Embora o antígeno de grupo sanguíneo O tenha tido maior frequência na amostra, não apresentou resultado significativo pelo teste de homogeneidade do Qui-quadrado ajustado. Este resultado é contrário ao que encontrou Sánchez [11], em pacientes de 1-15 anos, na Venezuela, onde o grupo B predisponha para FHD, como também Kalayanaroj et al, [12], na Tailândia, que encontram o grupo AB como fator de risco para dengue hemorrágica em infecções secundárias. Estas diferenças encontradas nos estudos, provavelmente estejam no número de casos (n) do estudo e na categorização das formas clínicas, caracterizando dessa forma uma limitação do nosso estudo. Podem estar implicadas ainda as diferenças étnicas regionais, assim como as diferenças metodológicas em cada estudo.

Este estudo, quando comparou citocinas e quimiocinas apenas com as formas clínicas (FD/DCC/FHD), só encontrou significância estatística para as citocina CXCL10 (p-valor<0,01). Os níveis elevados da quimiocina CXCL10 (5752,0 pg./ml) encontrados na FD são consistente com os achados de Fink et. al. [19], que encontraram altos níveis dessa quimiocina também na dengue clássica (FD) nos primeiros dias de febre, analisando pacientes com a infecção antes da defervescência. Outro estudo [20] encontrou a quimiocina CXCL10 circulando com maior presença na febre da dengue (FD), confirmado como um marcador pró-inflamatória forte na fase aguda da infecção. Nosso estudo mostra que os altos níveis séricos encontrados para a quimiocina CXCL10 e a sua associação com a FD, na fase aguda da infecção, pode ser um importante preditor para a infecção da dengue grave.

Outro estudo [21] refere ainda que a CXCL10 pode ser um evento precoce na dengue, parecendo estar relacionada com atividade antivírus dengue. Sugerindo que a CXCL10

compete com o vírus da dengue pela ligação do sulfato de heparano na superfície da célula do hospedeiro, indicando uma possível atividade antiviral para o vírus da dengue, tendo sido confirmado, *in vitro*, por Chen et al. [22] em que mostram o efeito inibidor de CXCL10 do vírus dengue às células. A ocorrência, em nosso estudo, de altos níveis de CXCL10 associada ao grupo “O” e a sua maior presença na fase aguda da infecção, sugere que o grupo sanguíneo O esteja envolvido na atividade antiviral da infecção, ou como um auxiliar no mecanismo de proteção da dengue.

Os níveis de TNF- α em outros estudos [23, 29,30], na comparação das citocinas dos pacientes com o controle, circulam como uma citocina pro-inflamatória ocorrendo elevada na fase grave da infecção e correlacionada com as manifestações hemorrágicas da doença. O nosso estudo, no entanto, não encontrou resultado significativo para a citocina TNF- α , igualmente em outro estudo [24]. Esta proteína, no entanto, tem sido referida como importante marcador na patogênese e gravidade da dengue. Podemos supor que o fato do baixo nível encontrado na nossa amostra, pode estar relacionado com o momento da coleta de sangue, que não ocorreu cedo o suficiente que pudesse identificar a proteína, como também pode ser que a gravidade da infecção, em seu grau mais elevado, tenha ocorrido com poucos casos.

A avaliação das citocinas mostrou também que três moléculas IL-6, CXCL8 e CCL3 apresentaram valores mais expressivos associados com FHD e não com FD. Os resultados para IL-6 mostram valores séricos maiores associados à FHD, o que são consistentes com os achados de Priyadarshini et al.[24], que encontraram níveis mais elevados em pacientes que nos controles, com maior ocorrência na FHD. Nosso estudo corrobora com este resultado, sugerindo que a IL-6 desempenha um importante papel na patogênese da dengue. Encontramos também os níveis de CXCL8 maiores em pacientes comparado ao controle como em outros estudos [25, 34]. Um estudo *in vitro* mostrou níveis elevados de CXCL8 detectados em amostras de plasma e de fluidos pleurais mediadas a partir de doentes com dengue grave (SSD). Sabe-se que a CXCL8 também aumenta a permeabilidade vascular através do recrutamento transiente em locais de ativação de neutrófilos [26]. Os valores maiores para FHD, encontrados para CXCL8 em nosso estudo, confirmam a atividade de recrutamento de neutrófilos nos pacientes com a infecção. Para a quimiocina CCL3 a expressão elevada dos níveis dessa proteína em dengue comparado ao controle no nosso estudo, também foi encontrado por Sierra et al. [27], em amostra de sangue periférico, utilizando um modelo *ex vivo*. Sabe-se que a quimiocina CCL3 /MIP-1 α como a CCL4/MIP-1 β , são encontrados em concentrações elevadas no plasma de pacientes com infecção por DENV, podendo estar associada com a gravidade da doença [27,28,33]. Nossos resultados

mostram níveis elevados da CCL3 circulando associados à FHD confirmando a sua atividade na gravidade da infecção.

As outras duas quimiocinas analisadas CXCL9 e CXCL10, na comparação com os sujeitos saudáveis, foram encontradas circulando com valores mais altos em pg/ml entre as seis analisadas. Os resultados das quimiocinas CXCL9 e CXCL10 mostram valores associados com FD e FHD também consistentes com os resultados de Dejnirattisai et al. [29] como também em outros estudos [30,25] que confirmam a associação direta dos níveis CXCL10 e a infecção por dengue. Estes dados sugerem estas quimiocinas como um marcador na infecção da dengue.

Os resultados encontrados em nosso estudo mostram que todas as citocinas analisadas têm importante papel no mecanismo de resposta imunológico na infecção da dengue. Sabe-se porém que no mecanismo de resposta, além dos altos valores séricos das citocinas associados aos fatores virais e do hospedeiro, o evento ocorre em função de uma complexa interação do vírus com células dendríticas e células T ativadas, contribuindo com a patogênese da infecção da dengue a qual demonstra ter ocorrência multifatorial [29].

Limitação do estudo

Nosso estudo esteve sujeito a certas limitações. Uma das principais limitações do estudo foi o **n** da população estudada. No período do estudo houve uma queda de 59% dos casos de dengue na região, limitando dessa forma os resultados esperados e as suas análises. Neste aspecto, a análise de associação das formas clínicas com o sistema ABO, ficou, de certa forma, comprometida em função da prevalência do grupo sanguíneo O e A na população. Outra questão muito importante foi a categorização das formas clínicas de dengue, que era uma condição indispensável nas análises de associação. Observamos que houve certa dificuldade dos profissionais em descrever com segurança o diagnóstico dos pacientes nos prontuários. Dessa forma, esse evento pode ter contribuído com os resultados de associação das citocinas estudadas e o sistema ABO com as formas clínicas, limitando o estudo. Também de igual importância foi o dia da coleta de sangue. Nem todos os pacientes internados tinham certeza de quando os seus sintomas haviam iniciado, ou algumas vezes os pacientes vinham de outro hospital já com um quadro de suspeita de dengue. A coleta de sangue no início da infecção é uma condição essencial para uma boa análise. A heterogeneidade na data da coleta da amostra pode ofuscar as diferenças que existem entre os pacientes e as suas diferentes formas clínicas.

Conclusões

Em resumo, este estudo quando comparou as formas clínicas da dengue, Dengue Clássica (FD), Dengue com Complicações (DCC) e Febre Hemorrágica da Dengue (FHD), não encontrou nenhuma associação significativa entre os antígenos de grupo sanguíneo ABO. Como também não houve associação entre dengue e produção de citocinas. Da mesma forma o sistema de grupo sanguíneo comparado às citocinas analisadas TNF- α , IL-6, CXCL8, CCL3, CXCL9 e CXCL10 não mostraram resultados significativos.

Os resultados mostrados podem concluir ainda que a quimiocina CXCL10 estava associada à dengue clássica (FD) nas formas clínicas. Como também, a elevada produção de CXCL8 na dengue hemorrágica, sugere um papel de neutrófilos na patogênese desta forma da doença.

Quando copáramos, as citocinas analisadas coma faixa etária dos pacientes encontramos uma associação de CXCL9 e CXCL10 com a fase adulta e CCL3 com indivíduos jovens. Podemos concluir também que a dengue é acompanhada de uma elevação nas concentrações de IL-6, CXCL8, CCL3, CXCL9 e CXCL10 sugerindo um papel importante das quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias na patogênese da dengue.

Contribuições dos autores

Cada autor teve sua participação de forma efetiva e adequada no estudo, com contribuições substanciais para a realização da pesquisa e análise dos resultados. As contribuições foram desde a execução da pesquisa, interpretação dos resultados e elaboração do artigo por Silva A.; aquisição das informações sócio demográficas e coleta de sangue feita por Silva C.; triagem dos pacientes e tipagem sanguínea do material feita por Assis M.; análise das citocinas e elaboração dos gráficos por Giudice A.; orientação, interpretação dos resultados e análise científica do conteúdo intelectual por Carvalho M.

Este estudo teve o financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), viabilizado pelo Projeto CNPq [474869/2010-5] – Edital MCT/CNPq 14/2010 – Universal (BRASIL) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Declaração de Interesse:

Os autores não têm qualquer conflito de interesses a declarar

Referência

1. BRASIL. *Guia de vigilância epidemiológica 7^{as}*. Brasília, Brasil: Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Ministério da Saúde 2012.
2. Brian R M, Stephen SW. Immune Response to Dengue Virus and Prospects for a Vaccine. *Annu. Rev. Immunol*, 2011;29:587-61.
3. Libraty DH, Pichyangkul S, Ajariyakhajorn C, Endy TP, Ennis FA. Human dendritic cells are activated by dengue virus infection: enhancement by gamma interferon and implications for disease pathogenesis. *J Virol* 2001;75: 3501-08.
4. Braga El, Moura P, Pinto LM, et al. Detection of circulant tumor necrosis factor-alpha, soluble tumor necrosis factor p75 and interferon-gamma in Brazilian patients with dengue fever and dengue hemorrhagic fever. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96: 229-32.
5. Wang L, Chen RF, Liu JW, Yu HR, Kuo HC, Yang KD. Implications of dynamic changes among tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), membrane TNF receptor, and soluble TNF receptor levels in regard to the severity of dengue infection. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 77:297-302.
6. Bozza FA, Cruz OG, Zagne SM et al. Multiplex cytokine profile from dengue patients: MIP-1 beta and IFN-gamma as predictive factors for severity. *BMC Infect Dis* 2008;8: 86-97
7. Guzman, M. G. *et al.* Effect of age on outcome of secondary dengue 2 infections. *Int J Infect Dis* 2002;2:118-24.
8. Sierra B, Alegre R, Perez AB. et al. HLA-A, -B, -C, and -DRB1 allele frequencies in Cuban individuals with antecedents of dengue 2 disease: advantages of the Cuban population for HLA studies of dengue virus infection. *Hum Immunol* 2007;68: 531-40.
9. Halstead SB, O'rourke EJ. Antibody-enhanced dengue virus infection in primate leukocytes. *Nature* 1977;265:739-41.
10. Batacan-Nievera MC, Borja-Tabora CFC, Gepte IV ATD, Gatchalian SR. Predictors of bleeding (other than petechiae) in children with serologically confirmed dengue hemorrhagic fever. *PIDSP Jour* 1999;3:16-21.
11. Sánchez G. J J. Grupo sanguíneo y su relación con los grados de severidad del dengue hemorrágico en pacientes ingresados en el Hospital Pediátrico "Agustín Zubillaga". Barquisimeto: Universidad Centroccidental "Lisandro Avarado". 2005. 34 p. (Especialista em Pediatria y Puericultura), Venezuela
12. Kalayanarooj S, Gibbons RV, Vaughn D, et al. Blood Group AB Is Associated with Increased Risk for Severe Dengue Disease in Secondary Infections. Brief Report. *Journal of Infectious Diseases* 2007;1:195

13. Batissoco A C, Novaretti MCZ. Aspectos moleculares do Sistema Sangüíneo ABO. *Rev. bras. hematol. Hemoter* 2003;25(1):47-58.
14. Aird I, Bentall HH, Mehigan JA, Fraser Roberts JA. THE Blood Groups In Relation To Peptic Ulceration And Carcinoma Of Colon, Rectum, Breast, And Bronchus; An Association Between The ABO Groups And Peptic Ulceration. *Br Med J* 1953;2:315-21
15. Sangkawibha N, Rojanasuphot S, Ahandrik S, et al. Risk factors in dengue shock syndrome: a prospective epidemiologic study in Rayong, Thailand. *Am J Epidemiol* 1984; 120(5):653-69.
16. Kouri GP, Guzman MG, Bravo JR. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? 2: an integral analysis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1987;81:821-23.
17. Benthem B B, Vanwambeke S O, Khantikul N, et al. Spatial patterns of and risk factors for seropositivity for dengue infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 2005;72(2): 201–08.
18. Fontana ET, et al. Prevalência da distribuição do Sistema ABO entre doadores de sangue de um Hospital Universitário. *Revista da AMRIGS, Porto Alegre* 2006;50:277-79.
19. Fink J, Gu F, Ling L, Tolfvenstam T. et al. Host gene expression profiling of dengue virus infection in cell lines and patients. *PLoS Negl. Trop. Dis* 2007;1:86..
20. De-Oliveira-Pinto L M, Gandini M, Freitas LP. Et al. Profile of circulating levels of IL-1Ra, CXCL10/IP-10, CCL4/MIP-1 β and CCL2/MCP-1 in dengue fever and parvovirosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 2012;107(1): 48-56.
21. Chau T N, Quyen N T, Thuy T T. et al. Dengue in Vietnamese Infants Results of Infection- Enhancement Assays Correlate with Age-Related Disease Epidemiology, and Cellular Immune Responses Correlate with Disease Severity. *J Infect Dis* 2008;198(4): 516–24.
22. Jia-Peng C, Hsin-Lin L, Szu-Liang L. et al. Dengue Virus Induces Expression of CXC Chemokine Ligand 10/IFN- γ -Inducible Protein 10, Which Competitively Inhibits Viral Binding to Cell Surface Heparan Sulfate. *The Journal of Immunology* 2006;177:3185-192.
23. Azeredo EL, Zagne SM, Santiago MA, et al. Characterisation of lymphocyte response and cytokine patterns in patients with dengue fever. *Immunobiology* 2001;204:494–507.
24. Priyadarshini D, Gadia RR, Tripathy A, et al. Clinical Findings and Pro-Inflammatory Cytokines in Dengue Patients in Western India: A Facility-Based Study. *journal.pone* 2010; 5(1):8709.
25. Avirutnan P, Malasit P, Seliger B, Bhakdi S. et al. Dengue virus infection of human endothelial cells leads to chemokine production, complement activation, and apoptosis. *J Immunol* 1998;161:6338–346.
26. Rampart, M., J. van Damme, L. Zonnekeyn, and A. G. Herman. Granulocyte chemotactic protein/interleukin-8 induces plasma leakage and neutrophil accumulation in rabbit skin. *Am. J. Pathol.* 1989. p.135:21

27. Sierra B, Ana B, Katrin Vogt. et al. MCP-1 and MIP-1a expression in a model resembling early immune response to dengue. *Cytokine* 2010;52:175–83
28. Spain-Santana TA, Marglin S, Ennis FA, Rothman AL . MIP-1 alpha and MIP-1 beta induction by dengue virus. *J Med Virol* 2001; 65: 324–330.
29. Dejnirattisai W, Duangchinda T. et al. Steve Lin C S. A Complex Interplay among Virus, Dendritic Cells, T Cells, and Cytokines in Dengue Virus Infections. *J. Immunol* 2008;181: 5865-874.
30. Huang KJ, Li SY, Chen SC, Liu HS, Lin YS, Yeh TM, et al. Manifestation of thrombocytopenia in dengue-2-virus-infected mice. *J Gen Virol* 2000; 81:2177-82.
21. Hober D. Serum levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-1 beta (IL-1 beta) in dengue-infected patients. *Am J Trop Med Hyg* 1993;48 (3):324-31.
32. Restrepo BN, Diana DM, Salazar CL. Et al. Serum levels of interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha and interferon-gama in infants with and without dengue v. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop* 2008;41:6-10.
33. Lee YR, Liu MT, Lei HY. et al. MCP-1, a highly expressed chemokine in dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome patients may cause permeability change, possibly through reduced tight junctions of vascular endothelium cells. *J Gen Virol* 2006;87:3623-630.
34. Juffrie, M. et al. Inflammatory mediators in dengue virus infection in children: interleukin-8 and its relationship to neutrophil degranulation. *Infect Immun* 2000;(2):702-7.

Correspondência: Dr. Edgar M. Carvalho, Hospital Universitário Prof. Edgard Santos, Laboratório de imunologia, 5º andar, Rua João das Botas s/n, Canela 40110-160, Salvador, Bahia, Brazil. imuno@ufba.br, edgar@ufba.br

Correspondência: Abrão A. Silva
Universidade Federal de Campina Grande-UFCG
Rua Segio Moreira e Figueireo S/N
Bairro Casas Populáres – Cajazeiras Paraíba-Brazil.
CEP-58900 000
E-mail: abramerio@gmail.com
Fax - + 55-83-3531-2647
Tele.- + 55-83-3532-2147

5. Considerações Finais (tese)

A dengue é uma doença infecciosa com grande potencial para disseminação, levando as regiões tropicais e subtropicais do mundo, a um elevado índice de morbi/mortalidade e a um alto custo no tratamento dos enfermos. O Brasil é hoje um dos países da América Latina com maior índice de casos dengue.

Foram observadas que as medidas de controle do vetor *Aedes aegypti*, para as suas infestações sazonais, não têm dado o resultado esperado. O mecanismo de adaptação do vetor tem dificultado esta ação. Por outro lado, a falta de atendimento aos apelos feitos pelos órgãos governamentais, no sentido de um maior engajamento da população nas campanhas de prevenção, não estão sendo bastante o suficiente para o controle.

Mesmo com a diminuição no número de casos de dengue no Nordeste (-51%), até março de 2013, o estado da Paraíba teve um aumento de +114% e a Bahia +12% no período.

Foram encontrados como fatores de risco para a exacerbação da infecção a idade, o sexo, raça e a reinfeção por um vírus diferente da primeira. Além disso a transmissão de anticorpo da mãe ao filho via placenta pode também levar a uma dengue grave (FHD) quando a criança adquire um vírus diferente daquele que gerou o anticorpo.

Vários estudos estão sendo feitos no sentido de identificar marcadores que possam ser utilizados como preditores de gravidade para a dengue, dentre estes, os baixos níveis de plaquetas para a dengue hemorrágica, embora este nível também possa ocorrer na dengue clássica. Os níveis do antígeno NS1 podem também ser um indicador útil inicial de gravidade da dengue. As citocinas TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10 podem também ser um indicador de gravidade da dengue, contudo sua presença pode expressar resultados conflitantes dependendo do momento da coleta, do método de detecção e da categorização das formas clínicas.

O grupo sanguíneo ABO foi estudado e associado a várias doenças como câncer e hepatite viral crônica dentre outras, como também com a gravidade da dengue. Neste aspecto, os antígenos de grupo sanguíneo ABO podem ser um indicador para gravidade da infecção, contudo a amostra deve ser bastante significativa, além das mesmas questões metodológicas

observadas antes como o momento da coleta, método de detecção e a categorização das formas clínicas que deve ser bem rigorosa.

Em nossos resultados pudemos perceber que a queda de 59% nos índices de notificação dos casos de dengue, no período do estudo, em função da sazonalidade da doença, de certa forma, influenciou o n amostral.

Possivelmente, o n tenha contribuído para uma semelhança entre a frequência do grupo sanguíneo (ABO) na população em geral, em que se têm valores maiores para O e A, seguido de B e AB, com a análise estatística, quando associado às forma clínicas da dengue.

Observamos que embora as citocinas não tenham mostrado resultados significativos, comparado ao sistema ABO, o grupo O mostrou médias mais altas das citocinas CXCL9 e CXCL10. Estas mesmas citocinas estavam com maior associação no grupo de pacientes com faixa etária entre 33 a 81 anos. Como a CXCL10 esteve mais associada a FD, estando também entre a faixa de idade considerada como fator de risco, este achado pode estar sugerindo que a CXCL10 venha ser um possível marcador de gravidade para dengue.

Pudemos observar também que a presença da citocinas CXCL10 na FD, reforça estudos anteriores em que estas proteínas foram citadas envolvidas na fase aguda da infecção.

Os estudos feitos para identificar marcadores biológicos para gravidade da dengue são muitos, contudo ainda não se tem parâmetros clínicos ou laboratoriais de rotina que possam predizer os casos individuais que poderão evoluir para uma dengue grave, sendo necessário o acompanhamento contínuo de todos os pacientes internados com a infecção. Como também não há consenso de associação dos marcadores com as formas clínicas. Por outro lado a categorização das formas clínicas, pré-requisito para as análises dos marcadores, não tem uniformidade nas descrições dos casos.

6. Conclusões

1. Não existe associação entre as formas clínicas da dengue e os antígenos do sistema ABO.
2. A dengue é acompanhada de uma elevação nas concentrações de IL-6, CXCL8 (IL-8), CCL3, CXCL9 e CXCL10 sugerindo um papel importante das quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias na patogênese da dengue.
3. Não houve associação entre dengue e produção de TNF- α .
4. A quimiocina CXCL10 estava associada à dengue clássica (FD) nas formas clínicas.
5. A elevada produção de CXCL8 (IL-8) na dengue hemorrágica sugere um papel de neutrófilos na patogênese desta forma da doença.
6. Existe uma associação das quimiocinas CXCL9 e CXCL10 com a fase adulta e CCL3 com indivíduos jovens.

7. Perspectivas de Estudos

A falta de um modelo animal que possa reproduzir a infecção da dengue em humanos, dificulta os avanços das pesquisas, sendo necessário mais estudo com pacientes que adquire a infecção.

Estudos que venham identificar marcadores precoces para a gravidade da dengue e que sejam disponibilizados para os serviços laboratoriais de saúde públicas da população, continuam merecendo muita atenção.

A junção de informações dos parâmetros clínicos e laboratoriais, como carga viral, citocinas e receptores de citocinas de forma simplificada, que sejam capazes de indentificar os casos graves no inicio da infecção e que sejam acessíveis, precisam de mais estudos.

Aprofundar estudos para os aspectos imunológicos dos antígenos de grupo sanguíneos é de muita importância para a avaliação de marcadores de doenças infecciosa.

O estudo realizado abre várias perspectiva para novas pesquisas. Dentre estas, um estudo de coorte onde se poderá fazer uma associação desta ou de outras quimiocinas, no curso clínico da dengue, nos períodos de fase aguda e defervescência da infecção.

8. Referências

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Normas para a apresentação de trabalhos acadêmicos**. ABNT / NBR 6023, São Paulo, 2007.

ABBAS, A, K.; LICHTMAN, A. H. *Cellular and molecular immunology*. 5th. ed. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders, 2009.

AIRD, I. et al. THE Blood Groups In Relation To Peptic Ulceration And Carcinoma Of Colon, Rectum, Breast, And Bronchus; An Association Between The ABO Groups And Peptic Ulceration. *Br Med J*, (4883), v.2, p.315-321, 1954.

ALEXANDER, N. et al. On Behalf of the European Union, World Health Organization (WHO-TDR) Supported Denco Study Group. Multicentre Prospective Study on Dengue Classification in Four South-east Asian and Three Latin American Countries. *Trop Med Int Health*, v. 16, n. 8, p. 936-948 August, 2011.

BARJAS-CASTRO M. L. et al. Molecular heterogeneity of the A3 subgroup. *Clin Lab Haem*, v.22, p.73-78, 2000.

BATACAN-NIEVERA, M. C. et al. Predictors of bleeding (other than petechiae) in children with serologically confirmed dengue hemorrhagic fever. *PIDSP Jour*, v. 3(1) p.16-21, 1999.

BATISSOCO, A. C.; NOVARETTI, M. C. Z. Aspectos moleculares do Sistema Sangüíneo ABO. *Rev. bras. hematol. Hemoter*, v. 25, n.1, p. 47-58, 2003.

BENNETT, E. P. et al. Genomic cloning of the human histo-blood group ABO locus. *Biochem Biophys Res Commun*, v. 206, n. 1, p. 318-325, 1995.

BRAVO, J. R.; GUZMAN, M. G.; KOURI, G. P. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? Individual risk factors for dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS). *transaction of the royals ociety of tropicaml edicinea nd hygiene*, v. 8 1, 816-820, 1987.

BRIAN M, W. et al. ABO Blood Group and the Risk of Pancreatic Cancer. *JNCI*, v. 101, n.6. p.424 – 431, 2009.

BRIEN, J.D. et al. Genotype-specific neutralization and protection by antibodies against dengue virus type 3. *J Virol*, v.84, p.10630-43, 2010.

BRIAN, R. M.; STEPHEN, S. W. Immune Response to Dengue Virus and Prospects for a Vaccine. *Annu. Rev. Immunol*, v. 29, p. 587–561, 2011.

CANSOLI, R. A. G.B.; OLIVEIRA, R. L., **Principais Mosquitos de Importância Sanitaria no Brasil**. Rio de Janeiro. Fiocruz, 1994.

CARVALHO, H, C. *Fundamentos de Genética e Evolução*. 2ª edição. Rio de Janeiro: LTC/UFMG, 1982.

CLARK, D.V. et. al. Economic impact of dengue fever/dengue hemorrhagic fever in Thailand at the family and population levels. *Am J TropMed Hyg*, v. 72, p. 786-791, 2005.

CLYDE, K.; KYLE, J. L.; HARRIS, E. Recent advances in deciphering viral and host determinants of dengue virus replication and pathogenesis. *Journal of Virology*, v. 80, n. 23, p. 11418-11431, 2006.

CHATURVEDI, U. C. et al. Cytokine cascade in dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* v. 28, n. 3, p. 183-188, 2000.

COFFEY, L. L. et al. Human genetic determinants of dengue virus susceptibility. *Microbes and Infec*, Paris, v. 11 p. 143-156, 2009.

DENNIS, O'NEIL. Modern Human Variation: An Introduction to An Introduction to Contemporary Human Biological Diversity. Tutorial, 2012. Disponível em <<http://anthro.palomar.edu/vary/Default.htm>>, acessado em 02 de Fevereiro de 2012.

DEWI, B. E. et al. In vitro assessment of human endothelial cell permeability: effects of inflammatory cytokines and dengue virus infection. *J Virol Methods*, v. 121, n. 2, p. 171-180, 2004.

DEGALLIER N, et al. Imported and autochthonous cases in the dynamics of dengue epidemics in Brazil. *Rev. Saúde Pública*, v.43 n.1: p.1-7, 2009.

DEEN, J. L. et al. The WHO dengue classification and case definitions: time for a reassessment. *Lancet*, v. 368, n. 9530, p. 170-3,2006.

FERGUSON-SMITH, M. A. et al. Localization of the human ABO: Np-1: AK-1 linkage group by regional assignment of AK-1 to 9q34. *Hum Genet*, v. 34, p. 35-43, 1976.

FONTANA, E.T. et al. Prevalência da distribuição do Sistema ABO entre doadores de sangue de um Hospital Universitário. *Revista da AMRIGS*, v.50 (4), p. 277-279, 2006.

FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE. HEMOCENTRO DE SÃO PAULO. Curiosidades: tipos de sangue. Disponível em <<http://www.prosangue.sp.gov.br/prosangue/actioncuriosidades.do?acao=curiosidadeF>> Acesso: em 27/fevereiro de 2012.

GAMBLE, J. et al. Age-related changes in microvascular permeability: a significant factor in the susceptibility of children to shock? *Clin Sci (Lond)*, v. 98, p. 211-216, 2000.

GARRATY, G. Association of blood groups and disease: do blood group antigens and antibodies have a biological role? *Hist Philos Life Sci.*, v.18 (3), p.321- 44, 1996..

GREEN, S.; ROTHMAN, A. Immunopathological mechanisms in dengue and dengue hemorrhagic fever. *Curr Opin Infect Dis*, v. 19, n. 5, p. 429-436, 2006.

GUBLER, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev*, v. 11, n. 3, p. 480-96, 1998.

GUZMAN, M. G. et al. Dengue: a continuing global threat. UNICEF/UNDP/World Bank/WHO. (TDR), 2010.

- GUZMAN, M. G. et al. Epidemiologic studies on Dengue in Santiago de Cuba, 1997. *Am J Epidemiol*, v. 152, p.793-799, 2000.
- GUZMAN, M. G. et al. Effect of age on outcome of secondary dengue 2 infections. *Int J Infect Dis*, v. 6, p. 118-124, 2002.
- GUHA-SAPIR, D.; SCHIMMER, B. Dengue fever: new paradigms for a changing epidemiology. *Emerg Themes Epidemiol*, v.2, p.1-10, 2005.
- HALSTEAD, S. B. et al. Intrinsic antibody-dependent enhancement of microbial infection in macrophages: disease regulation by immune complexes. *Lancet Infect Dis*, v.10.n.10, p. 712–722, 2010.
- HALSTEAD, S. B. The pathogenesis of dengue. Molecular epidemiology in infectious disease. *American Journal of Epidemiology*, Baltimore, v. 114, n. 5, p. 632-648, 1981.
- HALSTEAD, S.B.; O'ROURKE, J. Dengue viruses and mononuclear phagocytes I. Infection enhancement by non- neutralizing antibody. *J Exp Med*, v. 46, p. 201-217, 1977.
- JESCH. U. et al. ABO Blood Group. Related Investigations and Their Association with Defined Pathologies. *The Scientific World JOURNAL: TSW Holistic Health & Medicine*, v.7, p.1151-1154, 2007.
- LEE, M. S. et al. Clinical characteristics of dengue and dengue hemorrhagic fever in a medical center of southern Taiwan during the 2002 epidemic. *J Microbiol Immunol Infect*, v. 39, p. 121-129, 2006.
- LUPI, O.; CARNEIRO, C. G.; COELHO, I. C. B. Manifestações mucocutâneas da dengue. *An. Bras. Dermatol*, vol.82, n.4, p. 291-305, 2007.
- KAMIL, M.; ALJAMAL, H.A.N.; YUSOFF, N.M. Association of ABO blood groups with diabetes mellitus. *Libyan J of Med*, v. 5, p. 4847-4849, 2010.
- KALAYANAROOJ, S. et al. Blood Group AB Is Associated with Increased Risk for Severe Dengue Disease in Secondary Infections. *JID*, v.195, p. 1014–101, 2007.
- KASSIM, O. O.; EJEZIE, G, C. ABO Blood Groups in Malaria and Schistosomiasis Haematobium. *Acta Trop*, v.39 (2), p. 179-184, 1982.
- KOURÍ, G.; GUZMÁN, M. G.; BRAVO, J. R. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? 2. An integral analysis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 81, p. 821-823, 1987.
- KURANE, I.; EENNIS, F.E. Immunity and immunopathology in dengue virus infections. *Semin Immunol*, v. 4, p.121-127, 1992.
- KURANE, I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immuno pathogenesis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, v. 30, n. 5-6, p. 329-340, 2007.

KURANE, I.; JANUS, J.; ENNIS, FA. Dengue virus infection of human skin fibroblasts in vitro production of IFN-beta, IL-6 and GM-CSF. *Arch Virol*, v. 124, p.21-30, 1992.

YOSHIDA, A.; YAMAGUCHI.; YD, DAVE, V. Immunologic homology of human blood group glycosyltransferases and genetic background of blood group (ABO) determination. *Blood*, v.59, p. 344-350, 1979.

YAMAMOTO, F.; HAKOMORI. S. Sugar-nucleotide donor specificity of histo-blood group A and B transferase is based on amino acid substitutions. *J. Biol. Chem*, v. 265, p. 19257-19262, 1990.

MATTOS L.C. et al. Genotipagem do locus ABO (9q34.1) em doadores de sangue da região noroeste do Estado de São Paulo. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*, v.23, n.1, p.15-22, 2001.

MENDONÇA, F.A.; SOUZA, A.V.; DUTRA, D.A. Saúde pública, urbanização e dengue no Brasil. *Soc Nat*, v. 21(3), p. 257-269, 2009.

MORTON, N.E. Forces maintaining polymorphisms. *Acta Anthropogenetica*, v. 1, p.3-14, 1977.

NOVARETTI, M. C. Z.; DORLHIAC-LLACER, P. E.; CHAMONE, D. A.F. Estudo de grupos sanguíneos em doadores de sangue caucasóides e negróides na cidade de São Paulo. *Rev.bras.hematol.hemoter*, v. 22(1), p. 23-32, 2000,

OTERO B, et al. Frecuencia de los grupos sanguíneos ABO y Rh(D) en pacientes con dengue hemorrágico. *Rev Cubana Med*, v. 24(5), p. 530-2, 1985.

OPAS/OMS. **A OPAS/OMS atualiza os dados da dengue nas Américas, 2012.** Disponível em < http://new.paho.org/bra/index.php?option=com_frontpage&Itemid=1.> Acessado em 8 de Maio de 2012.

OLSSON, M.L. et al. Genomic analysis of clinical samples with serologic ABO blood grouping discrepancies: identification of 15 novel A and B subgroup alleles. *Blood*. V. 98(5), p.1585-1593 2001.

POUJOL-ROBERT, A. et al. Association between ABO blood group and fibrosis severity in chronic hepatitis C infection, *Dig. Dis. Sci*, v. 51, p. 1633–1636, 2006.

PANG, T.; CARDOSA, M. J.; GUZMAN, M. G.. Of cascades and perfect storms: the immunopathogenesis of dengue haemorrhagic fever-dengue shock syndrome (DHF/DSS). *Immunol Cell Biol*, v. 85, n. 1, p. 43-45, 2007.

PEÓN-HIDALGO, L.; PACHECOCANO, M. Frecuencias de grupos sanguíneos e incompatibilidades ABO y RhD, en La Paz, Baja California Sur, México. *Salud pública Méx* v.44 n.5, 2002.

PHALOPRAKARN, C.; TANGJITGAMOL S. Maternal ABO blood group and adverse pregnancy outcomes. *Journal of Perinatology* v.33, p.107-111, 2013.

RIGAU-PÉREZ, J. G. Severe dengue: the need for new case definitions. *The Lancet Infectious Diseases*, New York, v. 6, p. 297-302, 2006.

RICO-HESSE R et al. Molecular evolution of dengue type 2 virus in Thailand. *Am J Trop Med Hyg*, v. 58, p. 96-101, 1998.

SÁNCHEZ, G. J. J. Grupo sanguíneo y su relación con los grados de severidad del dengue hemorrágico en pacientes ingresados en el Hospital Pediátrico "Agustín Zubillaga". 2005. 34f. Monografía (Especialista e Pediatría y Puericultura) - Universidad Centroccidental "Lisandro Avarado". Barquisimeto: Venezuela. 2005.

SIERRA, B. C.; KOURÍ, G.; GUZMÁN, M. G. Race: a risk factor for dengue hemorrhagic fever. *Archives of Virology*, v. 152, p. 533-542, 2007.

SIMMONS, C, P. et al. Dengue: Corrent concepts. *N Engl J Med*, v.366, p. 1423-1432, 2012.

SIMMONS, C. P. A. et al. Understanding pathogenesis, immune response and viral factors. *World Health Organization*, p.54-60, 2006.

SHOPE, R.E. Impacts of global climate change on human health: Spread of infectious disease. In: Majumdar, S.K., Kalkstein, L.S., Yarnal, B., Miller, E.W., Rosenfeld, L.M. (eds). *Global climate change: Implications, challenges and mitigation measures*. Easton, PA: *The Pennsylvania Academy of Science*. p. 363-370, 1992.

UNICEF/UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR), World Health Organization, CH-1211, Geneva 27, *Nautre Reviews Microbiology*, 2010.

VIAMONTE, R.F.; MANGUART, A.L. Frecuencia de los grupos ABO y RH en um servicio de hemoterapia de Ciudad de La Habana. *Rev Cubana Med Milit*, v. 26 (1), p. 44-49, 1997.

WATKINS, W. M. Biochemistry and genetics of the ABO, Lewis and P blood group systems. Ed. *Advances in Human Genetics*. New York: *Plenum Press*, V. 10, p.136, 1980.

WHO/WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New edition. Geneva: WHO; 2009.

ZAGO, M.A. et al. Racial heterogeneity of DNA polymorphisms linked to the A and the O alleles of the ABO blood group gene. *Ann. Hum. Genet*, v. 60, p. 67-72,1996.

9. Anexos.

Anexo A Certidão do Comitê de Ética em Pesquisa



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA - UFPB
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO LAURO WANDERLEY - HULW
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS-CEP



Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital Universitário Lauro Wanderley
Universidade Federal da Paraíba

CERTIDÃO

Com base na Resolução nº 196/96 do CNS/MS que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos, certificamos que o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley-HULW, da Universidade Federal da Paraíba-UFPB, em Reunião Ordinária realizada no dia 22/02/2011 **APROVOU** a pesquisa intitulada **AVALIAÇÃO DE FATORES DE RISCO DA DENGUE (FD/DCC/FHD) ASSOCIADO AO SISTEMA ABO EM PACIENTES INTERNADOS COM A INFECCÃO NO HULW,** do pesquisador **Abrão Américo da Silva**. Protocolo CEP/HULW nº 089/2011, Folha de Rosto 404501, Certificado de Apresentação para Apreciação Ética - nº 0041.0.126.000-11, tendo a retrocitada pesquisa sido concluída e entregue cópia neste Comitê.

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital Universitário Lauro Wanderley
Universidade Federal da Paraíba

João Pessoa, 27 de março de 2013.

Iaponira Cortez Costa de Oliveira
Coordenadora do Comitê de Ética

Profª. Drª. Iaponira Cortez Costa de Oliveira
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa-HULW

Anexo B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**APÊNDICE****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA. FACULDADE DE MEDICINA.****DEPARTAMENTO DE MEDICINA. CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E SAÚDE.****PROJETO: AVALIAÇÃO DE FATORES DE RISCO DA DENGUE (FD/DCC/FHD) COM INTERFACE NO SISTEMA ABO EM PACIENTES INTERNADOS COM A INFECÇÃO NO HU-LW-PB.**

DURANTE A LEITURA DO DOCUMENTO ABAIXO FUI INFORMADO (A) DE QUE POSSO INTERROMPER PARA FAZER QUALQUER PERGUNTA, COM OBJETIVO DE TIRAR DÚVIDAS, PARA O MEU MELHOR ESCLARECIMENTO.

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa acima citado. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que estamos fazendo. Sua participação nesse estudo será de muita importância para esclarecimentos científicos, mas se desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo a você.

Eu, _____
 _____, portador da Cédula de Identidade, RG _____, e inscrito no CPF/MF _____
 nascido(a) em ___/___/_____, abaixo assinado(a), concordo de livre e espontânea vontade em participar como voluntário(a); () de permitir a participação do meu:.....(pai, minha mãe, filho, neto, irmão, tio, primo, parente sob meus cuidados) do estudo Associação da Dengue Hemorrágica Com o Sistema ABO em Pacientes Acometidos Pela Infecção no Estado da Paraíba

Declaro que obtive todas as informações necessárias, bem como todos os eventuais esclarecimentos quanto às dúvidas por mim apresentadas.

Estou ciente de que:

- I) O estudo se faz necessário para que se possam descobrir as possíveis associações de predição do Sistema ABO com o grau de gravidade da dengue em pessoa que pegaram a doença com eu.
- II) Responderei a um questionário aplicado pela equipe da pesquisa, mas posso me negar a responder qualquer pergunta se não quiser responder. No momento da entrevista permitirei que seja feita uma coleta de 10 ml de sangue, por enfermeiras vinculadas a pesquisa, para realizar exames uma única vez;
- III) Essa coleta será feita apenas para este estudo e em nada influenciará em qualquer tratamento; não vai me curar; não vai me causar nenhum problema, exceto o pequeno incômodo de dor no momento da coleta (pela introdução da agulha);

- IV) A participação neste projeto não tem como objetivo de me submeter a um tratamento, bem como não me acarretará qualquer gasto com relação aos procedimentos bioquímicos efetuados com o estudo;
- V) Tenho a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação;
- VI) A desistência não causará nenhum prejuízo à minha saúde ou bem estar físico. Não virá interferir no atendimento ou tratamento médico;
- VII) Os resultados obtidos durante este ensaio serão mantidos em sigilo, mas concordo que sejam divulgados em publicação científicas, desde que meus dados pessoais não sejam mencionados;
- VIII) Caso eu desejar, poderei pessoalmente tomar conhecimentos dos resultados, ao final desta pesquisa
 Desejo conhecer os resultados desta pesquisa.
 Não desejo conhecer os resultados desta pesquisa.
- IX) Caso me sinta prejudicado(a) por participar desta pesquisa, poderei recorrer ao CEP/HU, do Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos do Hospital Universitário de João Pessoa-PB, ao Conselho Regional de Medicina da Paraíba e a Delegacia Regional de João Pessoa.

João Pessoa, _____ de _____ de 2011

CONCORDO EM PARTICIPAR DO ESTUDO

Paciente / Responsável _____

Testemunha 1 : _____
 Nome/RG/Telefone
 Testemunha2: _____ Nome/RG/
 Telefone

Coordenador: Prof. Abrão Américo da Silva
Prof. Adj. Mat. 0334158

Telefone e endereço de contato com os pesquisadores:

Professor Adjunto UFCG. Mat. 0334158

Telefones: (083) 3246 7162

Rua: Ulrico Oliveira Cavalcante, N 50, Aeroclube. João Pessoa-PB

Laboratório de Biologia Campus de Cajazeiras- UFCG

Fone: 3532 2147