

ARTIGOS

ASSOCIAÇÃO ENTRE GLIOXALASE I E PARACOCCIDIOIDOMICOSE-INFECCÃO

Marly A.S. Balarin e Dértia Villalba Freire-Maia

Com o objetivo de se estudar a susceptibilidade genética à paracoccidiodomicose-infecção, procurou-se determinar uma possível associação entre a glioalase I e a reação intradérmica à paracoccidiodina. O fenótipo GLO 1 ocorreu em frequência significativamente mais alta entre os indivíduos com reação positiva.

Palavras-chaves: Glioalase I. Paracoccidiodomicose. Paracoccidiodina. Genética. Micoses.

A glioalase I (GLO I) é um marcador genético cujo gene está localizado no braço curto do cromossomo 6 humano e está em equilíbrio de ligação com o sistema HLA^{7 8 14 20}. Há dois alelos autossômicos codominantes *GLO*¹ e *GLO*² originando três fenótipos: GLO 1, GLO 2-1, GLO 2. O polimorfismo da glioalase I foi descrito por Kompf e cols⁹.

A paracoccidiodomicose, micose sistêmica causada pelo fungo *Paracoccidoides brasiliensis*, apresenta diversas manifestações clínicas e patológicas, além de uma variedade de formas clínicas. A infecção humana é adquirida principalmente por inalação dos esporos de *P. brasiliensis*, o qual vive saprofiticamente na natureza¹¹. Ao entrar em contato com o fungo, uma pessoa pode desenvolver a paracoccidiodomicose-doença ou a paracoccidiodomicose-infecção, dependendo da ação de diversos fatores^{1 19}. A paracoccidiodomicose-infecção pode ser identificada através da reação intradérmica à paracoccidiodina (RIP).

A resistência à infecção pelo *P. brasiliensis* foi descrita em ratos como sendo controlada por um único gene autossômico dominante².

Na tentativa de se verificar se fatores genéticos influenciam na resistência do ser humano à infecção

pelo *P. brasiliensis*, alguns trabalhos foram realizados com marcadores genéticos, como grupos sanguíneos ABO e antígeno leucocitário humano (HLA), em indivíduos com paracoccidiodomicose-doença, porém os resultados são contraditórios^{5 6 12 13 16 17 18}. Em relação à paracoccidiodomicose-infecção, nenhuma referência bibliográfica foi encontrada.

Com o objetivo de estudar a susceptibilidade à paracoccidiodomicose-infecção procurou-se no presente trabalho determinar se há associação entre a glioalase I e o teste intradérmico à paracoccidiodina.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de sangue periférico de 223 indivíduos brancos, sendo 114 masculinos com idade média de $31,06 \pm 18,30$ anos e 109 femininos, com idade média de $29,50 \pm 15,83$ anos, residentes em Pratânea-SP, considerada área endêmica de paracoccidiodomicose¹⁵.

Todos os indivíduos foram submetidos à reação intradérmica à paracoccidiodina, antígeno solúvel, polissacarídico, preparado de acordo com o método padronizado por Fava Netto e Rafael³. As reações com nódulo de endurecimento igual ou superior a 5mm no seu diâmetro maior foram consideradas como positivas, e as outras, como negativas.

As hemácias, utilizadas para o estudo do polimorfismo enzimático da GLO I, foram lavadas três vezes em salina isotônica (NaCl 0,15M), estocadas em glicerol tamponado a -20°C e analisadas pelo método de Kuhl e cols¹⁰ com modificações. Pouco antes do uso, foi preparado o hemolisado, sendo colocada na suspensão uma gota de água bidestilada gelada. Após agitação, a suspensão foi

Departamentos de Ciências Biológicas da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG e de Genética, Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

Suporte financeiro - FAPESP.

Endereço para correspondência: Dra. Marly A. Spadotto Balarin. Genética/Depto. de Ciências Biológicas/FMTM. Praça Manoel Terra s/n, 38015-050 Uberaba, MG, Brasil.

Recebido para publicação em 30/04/93.

incubada a 4°C por 10min. Após a hemólise, foram adicionadas ao tubo duas gotas de tetracloreto de carbono. O material foi agitado vigorosamente por um minuto, centrifugado a 1500rpm por 10min e mantido a 4°C até o momento do uso.

Três microlitos do hemolisado foram aplicados através de papéis de filtro 2x10mm, inseridos em pequenos cortes no gel de agarose (BRL - Funbec) a 0,8% de tampão Tris 0,1M (Sigma)/ácido cítrico 0,28M (Merck) pH 7,5, diluído 1:4. O gel foi colocado em câmara úmida a uma voltagem de 5,5v/cm, por 2 horas e 30 min a 4°C.

Na parte anódica do gel foi colocado um papel de filtro com solução de 40mg de glutatión reduzido (Sigma) e 0,2ml de metil glioxal em tampão fosfato 0,2M pH 6,7. Após a incubação por 20 minutos a 37°C, o gel foi corado com uma solução de 10mg MTT (azul de tiazolil - Sigma) e 0,5mg de DCIP (dicloro-fenolindofenol - la Motte) e 10ml de agar em tampão de Tris 0,1M pH 8,5.

Os controles foram constituídos por amostras de fenótipos conhecidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fenótipos GLO 1, 2-1 e 2 ocorreram, no total da amostra, com freqüências aproximadas de 18, 54 e 28%, respectivamente (Tabela 1). Como não foi encontrada diferença sexual estatisticamente significativa homens e mulheres foram agrupados, e a freqüência do gene *GLO*¹ é igual à encontrada por Franco e cols⁴ em indivíduos brancos da população de Porto Alegre (0,45). Nenhum desvio significativo do equilíbrio de Hardy-Weinberg foi observado quando os fenótipos foram analisados separadamente em cada sexo e no total.

No entanto, foram significativas as diferenças de freqüência do fenótipo de GLO 1 entre os RIP positivos e os negativos (Tabela 1), com um excesso de prevalência entre os primeiros. Com base nesses resultados, sugerimos uma hipótese de que haja associação entre a paracoccidiodomicose-infecção e o loco GLO 1.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Dr. Ademar Freire-Maia pela revisão e sugestões dadas e a Cristine P. Nogueira pela orientação no estabelecimento da técnica.

SUMMARY

With the purpose to study the genetic susceptibility to paracoccidiodomycosis-infection we searched for a possible association between glyoxalase I and the intradermic paracoccidiodin reaction. The phenotype GLO 1 was significantly more frequent among positive reactors.

Key-words: Glyoxalase I. Paracoccidiodomycosis. Paracoccidiodin. Genetic. Mycosis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Albornoz MB. Paracoccidiodomycosis-infección. In: Del Negro G, Lacaz CS, Fiorillo AM (eds) Paracoccidiodomycose: blastomicose sul-americana 1ª edição Savier, EDUSP, São Paulo p.1-9, 1982.
2. Calich VLG, Burger E, Kashino SS, Fazioli RA, Singer Vermes LM. Resistance to *Paracoccidoides brasiliensis* in mice is controlled by a single dominant autosomal gene. Infection and Immunity 55:1919-

Tabela 1 - Distribuição da freqüência dos fenótipos aa GLO I em relação à reação intradérmica à paracoccidiodina (RIP)

RIP	Fenótipo GLO I						Total
	1		2-1		2		
	o(*)	e	o	e	o	e	
Positiva	20	13,99	44	42,32	14	21,69	78
Negativa	20	26,01	77	78,68	48	40,31	145
Total	(n) 40		121		62		223
	(%) 18		54		28		

(*) o=observado, e=esperado

$\chi^2=8,27$ g.l.=2 0,01 < P < 0,02

- 1923, 1987.
- Fava Netto C, Raphael A. A reação intradérmica com polissacaríde do *Paracoccidioides brasiliensis*, na blastomicose sul-americana. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 3:161-165, 1961.
 - Franco MHL, Moreira DM, Salzano FM, Santos SEB, Conceição MM, Schneider H. New data on the association between the glyoxalase I and haptoglobin loci. Human Heredity 36:126-128, 1986.
 - Goldani LZ, Monteiro CMC, Donadi EA, Martinez R, Voltarelli JC. HLA antigens in Brazilian patients with paracoccidiodomycosis. Mycopathologia 114:89-91, 1991.
 - González NM, Albornoz MB, Rios R, Prado L. Paracoccidiodomycosis y su relación com el sistema HLA. In: Anais do 2º Encontro sobre Paracoccidiodomycose, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, resumos adicionais, 1983.
 - Hansen HE, Eriksen B. HLA-GLO linkage analysis in 57 informative families. Human Heredity 29:355-360, 1979.
 - Hansen HE, Olesen Larsen S, Eriksen B. No linkage disequilibrium HLA-GLO found in 1.004 normal, unrelated danes. Human Heredity 31:15-18, 1981.
 - Kömpf J, Bissbort S, Gussmann S, Ritter H. Polymorphism of red cell glyoxalase I (E.C.:4.4.1.5). A new genetic marker in man. Humangenetik 27:141-143, 1975.
 - Kühnl P, Schwabenland R, Spielmann W. Investigations on the polymorphism of glyoxalase I (EC 4.4.1.5) in the population of Hessen, Germany. Human Genetics 38:99-106, 1977.
 - Lacaz CS, Zamith VA, Del Negro G, Siqueira AM. Aspectos clínicos gerais. Formas polares da paracoccidiodomycose. Particularidades clínicas infanto-juvenis. In: Del Negro G, Lacaz CS, Fiorillo AM (eds) Paracoccidiodomycose: blastomicose sul-americana. 1ª edição Sarvier, EDUSP, São Paulo p.141-147, 1982.
 - Lacerda GB, Arce-Gomez B. HLA e paracoccidiodomycose (PCM). Anais do 2º Encontro sobre paracoccidiodomycose, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu p.9, 1993.
 - Lacerda GB, Arce-Gomez B, Queiroz Telles Filho F. Increased frequency of HLA-B40 in patients with paracoccidiodomycosis. Journal of Medical and Veterinary Mycology 26:253-256, 1988.
 - Leach R, Demars R, Hasstedt S, White R. Construction of a map of the short arm of human chromosome 6. Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America 83:3909-3913, 1986.
 - Marques SA, Franco MF, Mendes RP, Silva NCA, Baccili C, Curcelli ED, Feracin ACM, Oliveira CS, Tagliarini JV, Dillon NL. Aspectos epidemiológicos da paracoccidiodomycose na área endêmica de Botucatu (São Paulo - Brasil). Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 25:87-92, 1983.
 - Mendes RP, Colauto EMR, Meira DA, Barraviera B. Frequência de sistemas sanguíneos em doentes com paracoccidiodomycose, da região de Botucatu. Anais do 2º Encontro sobre Paracoccidiodomycose, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu p.8, 1983.
 - Ponsirenas CVG. Estudo de associação entre os antígenos HLA-A, B e Dr com as formas crônicas da paracoccidiodomycose. Tese de mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1991.
 - Restrepo FM, Restrepo M, Restrepo A. Blood groups and HLA antigens in paracoccidiodomycosis. Sabourandia 21:35-39, 1983.
 - San-Blás G, San-Blás F. *Paracoccidioides brasiliensis* cell wall structure and virulence. Mycopathologia 62:77-86, 1977.
 - Wong P, Komarnicki L, Schroeder ML, Lewis M, Kaita H, Philipps S, Stranc L, McAlpine PJ. Analysis for linkage between F13A and three chromosome 6 marker loci: evidence for 6pter:F13A:HLA:GLO1:cen gene order. Human Genetics 79:228-230, 1988.