

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

SORAYA BARRIONUEVO FRANZENER
FRANCHETTI

**HLA e doença renal policística autossômica dominante numa população do
estado do Paraná, Sul do Brasil.**

Maringá

2016

SORAYA BARRIONUEVO FRANZENER FRANCHETTI

HLA e doença renal policística autossômica dominante numa população do estado do Paraná, Sul do Brasil.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Saúde Humana

Orientadora: Prof^a Dr^a Luiza Tamie Tsuneto

Maringá

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

F816h Franchetti, Soraya Barrionuevo Franzener
HLA e a doença renal policística autossômica
dominante numa população do estado do Paraná, Sul do
Brasil/ . -- Maringá, 2016.
49 f. : il. color, figs. , tabs.

Orientadora: Prof.a. Dr.a. Luiza Tamie Tsuneto.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2016.

1. Rim policístico autossômico dominante. 2. HLA.
3. Caso-controle. 4. Associações. I. Tsuneto, Luiza
Tamie, orient. II. Universidade Estadual de Maringá.
Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDD 22. ED.616.0796

JLM-001665

FOLHA DE APROVAÇÃO

SORAYA BARRIONUEVO FRANZENER FRANCHETTI

HLA e doença renal policística autossômica dominante numa população do estado Paraná, Sul do Brasil.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Profª Drª Luiza Tamie Tsuneto
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Profª Drª Cristiane Maria Colli
Universidade Estadual de Maringá

Profª Drª Thaís Gomes Verzignassi Silveira
Universidade Estadual de Maringá

Profª Drª Maria Cristina Bronharo Tognim
Universidade Estadual de Maringá

Profª Drª Sara Tatiana Moreira
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Aprovada em: 29 de fevereiro de 2016

Local de defesa: Bloco 126, sala 02 (PCS), da Universidade Estadual de Maringá.

DEDICATÓRIAS

Aos meus pais, pelo incentivo e apoio incondicional.

À minha filha Isadora, pelo tempo roubado, paciência e carinho. Com muito amor.

Ao meu marido Silvio, pelo incentivo e apoio.

À Luiza Tamie Tsuneto, pela dedicação e carinho dedicado ao meu aprendizado e crescimento.

“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo de vencer”.

(Mahatma Gandhi)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por Seu infinito amor e presença constante em minha vida!

Aos meus pais, que sempre acreditaram em mim, sempre me incentivando e me auxiliando, para que hoje eu pudesse ser chamada de farmacêutica e mestre.

À minha amada filha, que sempre me incentivou com o seu jeitinho doce, vibrando comigo em cada fase vencida. Esta conquista também é tua!

Ao meu marido Silvio, que me proporcionou a conquista deste sonho.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Luiza Tamie Tsuneto, pela constante dedicação, incentivo e empenho na execução deste projeto, responsável pelo meu crescimento científico. Tenho, como exemplo, sua ética, dedicação, competência e perseverança.

À professora Sueli Donizete Borelli e à professora Sandra Marisa Pelloso, pelo carinho, incentivo e confiança.

À Marcela Caniatti, que sempre me ensinou com um carinho incondicional, sempre me incentivando e apoiando.

Ao meu amigo Everton, que sempre me incentivou e auxiliou.

Aos meus amigos de laboratório: Pâmela, Laise, Luciana, Hugo, Larissa, Roger, Patrícia, Regimara e a todos outros que estiveram comigo durante o decorrer destes anos, pela ajuda e carinho.

Aos professores e técnicos do laboratório da Imunogenética, pela colaboração e acolhimento.

À minha amiga Barbara, pela amizade, carinho e pelas palavras de apoio e incentivo.

À minha amiga Olívia, que sempre foi mais que uma amiga em minha jornada.

À minha querida amiga Thaís Ranucci, pela amizade, carinho e incentivo.

Ao CNPQ que me concedeu a bolsa de mestrado.

EPÍGRAFE

"Enquanto houver vontade de lutar haverá esperança de vencer."

(Santo Agostinho)

HLA e doença renal policística autossômica dominante numa população do estado Paraná, Sul do Brasil.

RESUMO

A doença renal policística autossômica dominante (DRPAD) é uma patologia de origem genética. O aumento progressivo do volume dos rins pela formação de cistos, afetando a funcionalidade do parênquima renal. A formação de cistos pode ocorrer em outras regiões, tais como o fígado, pâncreas e vesícula seminal. Algumas complicações são associadas ao volume renal como a hipertensão, hematúria macroscópica, litíase renal, aumentos dos cistos e dor. Vários estudos demonstraram a influência do HLA no desenvolvimento e/ou proteção a algumas doenças. O objetivo deste estudo foi verificar a existência de associações entre genes HLA-A, HLA -B, HLA-C, HLA-DQ e HLA-DR com a DRPAD. A pesquisa incluiu 68 pacientes com DRPAD e 375 pacientes sem diagnóstico clínico da doença, em tratamento dialítico, pareados por idade, sexo e faixa etária, utilizando o método PCR-SSO (*polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide*) do kit LABType® One Lambda, CA, USA, aliado à tecnologia Luminex. Foi verificada associação nos genes: *HLA-A*26* (OR=2,09), *HLA-B*07* (OR=2,08), *HLA-B*38* (OR=2,34) e *HLA-B*55* (OR=3,76) e nos haplótipos *HLA-A*26-HLA-C*07*(OR=3,41) com o desenvolvimento da DRPAD. Os resultados sugerem suscetibilidade à DRPAD com a presença dos alelos HLA-A*26, HLA-B*07, HLA-B*38, HLA-B*55 e o haplótipo HLA-A*26-HLA-C*07.

Palavras-chave: rim policístico autossômico dominante, *HLA*, caso-controle.

HLA genes and autosomal dominant polycystic kidney disease in state population of Paraná, Southern Brazil.

ABSTRACT

The autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) is a disease of genetic origin. The progressive increase of the kidneys occurs by the formation of cysts and that affects the functionality of the renal parenchyma. The formation of cysts can occur in other regions, such as liver, pancreas, seminal vesicle. Some complications are associated with kidney volume as hypertension, macroscopic hematuria, nephrolithiasis, increased cysts and pain. Several studies have shown the influence of HLA in the development and / or protection against some diseases. The aim of this study was to investigate the associations between HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DQ and HLA-DR genes with ADPKD. The research included 68 patients with ADPKD and 375 patients without clinical diagnosis of the disease on dialysis, matched for age, gender and age, using the PCR-SSO method (polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide) of LABType® One Lambda kit, CA, USA, coupled with the Luminex technology. Association was found in the genes: HLA-A*26 (OR = 2.09), HLA-B*07 (OR = 2.08), HLA-B*38 (OR = 2.34) and HLA-B*55 (OR = 3.76) and haplotype HLA-A*26-HLA-C*07 (OR = 3.41). The results suggest susceptibility to the presence ADPKD certain HLA alleles.

Keywords: Autosomal dominant polycystic kidney, HLA, case-control.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Representação esquemática da localização dos locos HLA.....	15
Figura 2.	Representação esquemática das regiões HLA de classe I e classe II.....	16
Figura 3.	Representação esquemática do MHC de classe I.....	17
Figura 4.	Representação esquemática do MHC de classe II.....	18
Figura 5.	Alelos nomeados de 1987 até dezembro de 2015 na base de dados IMGT/HLA. Classe I representada pela cor verde e classe II pela cor preta.....	18
Figura 6.	Nomenclatura dos genes HLA.....	19
Tabela 1.	Análise de associação: Comparação das frequências alélicas do gene HLA-A entre os grupos de pacientes com DRPAD e de controles.....	37
Tabela 2.	Análise de associação: Comparação das frequências alélicas do gene HLA-B entre os grupos de pacientes com DRPAD e de controles.....	38
Tabela 3.	Análise de associação: Comparação das frequências alélicas do gene HLA-C entre os grupos de pacientes com DRPAD e de controles.....	39
Tabela 4.	Análise de associação: Comparação das frequências alélicas do gene HLA-DR entre os grupos de pacientes com DRPAD e de controles.....	40
Tabela 5.	Análise de associação: Comparação das frequências alélicas do gene HLA-DQ entre os grupos de pacientes com DRPAD e de controles.....	41

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas da ABNT (Capítulo I) e das publicações científicas (Capítulo II): PLOS ONE (artigo 1) disponível em <http://journals.plos.org/plosone/s/submission-guidelines#loc-manuscript-organization>

SUMÁRIO

1.	Capítulo I.....	13
1.1.	Doença Renal Policística.....	13
1.1.1.	Aspectos Gerais.....	13
1.1.2.	Epidemiologia.....	13
1.1.3.	Doença Renal Policística Autossômica Dominante.....	14
1.1.3.1.	Aspectos Patológicos da DRPAD.....	14
1.1.3.2.	Características Moleculares da Doença Renal Policística Autossômica Dominante.....	14
1.2.	Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC).....	15
1.2.1.	Antígeno Leucocitário Humano (HLA).....	15
1.2.2.	HLA de classe I.....	16
1.2.3.	HLA de classe II.....	17
1.3.	Nomenclatura.....	19
1.4.	Justificativa.....	19
1.5.	Objetivos.....	20
1.5.1	Geral.....	20
1.5.2.	Específicos.....	20
1.6.	Referências.....	20
2.	CAPÍTULO II.....	23
2.1.	Artigo 1: HLA e doença renal policística autossômica dominante numa população do estado Paraná, Sul do Brasil.....	23
3.	CAPÍTULO III.....	42
3.1.	Conclusões.....	42
3.2.	Perspectivas futuras.....	43
	Anexos.....	44

1. CAPÍTULO I
- 1.1. DOENÇA RENAL POLICÍSTICA
- 1.1.1. ASPECTOS GERAIS

A primeira descrição sobre a doença ocorreu em estudo realizado em Copenhagen, onde foram avaliados 284 pacientes e seus familiares (DALGAARD, 1957). A maioria dos casos de doença renal policística apresenta um padrão de herança mendeliano (TORRA *et al.*, 2000; HARRIS & ROSSETTI, 2010), classificada como recessiva ou dominante. A doença renal policística autossômica recessiva (DRPAR) é mais rara e letal durante a infância, os sintomas se manifestam durante a fase intrauterina ou neonatal. A doença renal policística autossômica dominante (DRPAD) apresenta sinais e sintomas clínicos que se manifestam na fase adulta e caracteriza-se pela presença de cistos nos rins (HARRIS & TORRES, 2009; BERGMANN, 2015).

Alguns sintomas clínicos estão relacionados com a doença renal policística (DRP) como hipertensão, dor abdominal, infecções urinárias e hematúria, e manifestações clínicas extrarrenais como aneurismas cerebrais, hérnias abdominais e diverticulose intestinal (HARRIS & TORRES, 2009; GÓMEZ, 2010).

O diagnóstico clínico e laboratorial desta patologia é caracterizado pelo aumento progressivo do volume dos rins devido à formação de cistos, afetando a funcionalidade do parênquima renal (GÓMEZ, 2010; BLANCHETTE, 2015). Os cistos são formados de maneira gradual e com tamanhos diversos, localizados ao longo do parênquima renal. Os fluidos que compõem os cistos podem ter a aparência clara, opaca, aquosa ou espessa. Pode ocorrer a formação de cistos em outras regiões como: fígado, pâncreas e vesícula seminal (BASTOS & ONUCHIC, 2011). Exames como a ultrassonografia e a ressonância magnética podem ser utilizados no diagnóstico destes cistos (PEI, 2010).

1.1.2. EPIDEMIOLOGIA

A doença renal policística tem sido estimada em 1:20.000 na DRPAR (HARRIS & TORRES, 2009; WHITTLE & SIMÕES, 2014) e de 1:1000 a 1:400 indivíduos na DRPAD. Aproximadamente de 5-10% dos pacientes, que utilizam a terapia dialítica, são portadores de doença renal policística autossômica dominante (NUNES *et al.*, 2008; BALCELLS & CRIACH, 2011; WHITTLE & SIMÕES, 2014).

1.1.3. DOENÇA RENAL POLICÍSTICA AUTOSSÔMICA DOMINANTE

1.1.3.1. ASPECTOS PATOLÓGICOS DA DRPAD

A doença renal policística autossômica dominante ocorre, geralmente, entre a terceira e quarta década de vida (HARRIS & TORRES, 2009). A manifestação dos sintomas clínicos e a evolução da doença variam de uma pessoa para outra, como a perda da filtração glomerular e idade do início da terapia dialítica, estágio cinco da doença renal crônica (SHOKEIR, 1978). Algumas complicações são associadas ao volume renal como a hipertensão, hematúria macroscópica, litíase renal, aumentos dos cistos e dor (TORRES *et al.*, 2012). Estudos indicam que a causa da hipertensão arterial seja o sistema renino-angiotensina intrarrenal (TORRES & HARRIS, 2009).

Das complicações clínicas, uma das mais importantes é a doença cardiovascular, com o desenvolvimento de aneurismas cerebrais, prolapso da válvula mitral e hipertrofia ventricular esquerda (FIGUEIREDO, 2013). A dor abdominal é o sintoma mais frequente, sendo associada à infecção renal, pedras ou nefrolitíase (TORRES & HARRIS, 2009).

1.1.3.2. CARACTERÍSTICAS MOLECULARES DA DOENÇA RENAL POLICÍSTICA AUTOSSÔMICA DOMINANTE

A DRPAD é uma doença heterogênea, causada pela alteração nos genes *Polycystic Kidney Disease 1 (PKD1,173900)* e o *Polycystic Kidney Disease 2(PKD2, 600666)* (BALCELLS & CRIACH, 2011; BASTOS & ONUCHIC, 2011). O gene PKD1 é responsável por 85-90% dos casos, e o gene PKD2 é responsável por 10-15% dos casos; em menores proporções, existem estudos de casos sugerindo um terceiro gene denominado de PKD3(*Polycystic Kidney Disease 3*) (DAOUST *et al.*, 1995).

Não é possível distinguir clinicamente qual das mutações deu origem à doença, sabe-se, no entanto, que as manifestações clínicas no gene mutado PKD2 são observadas, em geral, 20 anos mais tarde do que no gene mutado PKD1 (GAINULLIN *et al.*, 2015). As mutações envolvendo os genes do PKD1 são consideradas mais severas, pois evoluem rapidamente para a terapia dialítica (BALCELLS & CRIACH, 2011; CNOSSEN & DRENTH, 2014). Até o presente momento, foram detectadas mais de 2.323 mutações envolvendo o gene PKD1 e 278 envolvendo o gene PKD2 (<http://pkdb.mayo.edu/>).

O gene PKD1 está localizado no cromossomo 16p13.3, é constituído por 46 éxons, abrangendo uma região genômica de 54 kb (ONG & HARRIS, 2005; BALCELLS & CRIACH, 2011). O gene PKD1 produz um mRNA de aproximadamente 14kb e codifica a policistina 1 (MURCIA *et al.*,1998; BASTOS & ONUCHIC, 2011)

O gene PKD2 está localizado no cromossomo 4p21, possui 15 éxons, abrangendo uma região genômica de 68kb, gera um transcrito de aproximadamente 5 kb e codifica a policistina 2 (BALCELLS & CRIACH, 2011; BASTOS & ONUCHIC, 2011).

1.2. COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE (MHC)

O MHC humano foi descoberto por Jean Dausset, Jan van Rood e colaboradores, e observaram que pacientes que haviam sido submetidos a transfusões de sangue ou a transplante renal anteriormente, quando submetidos a transplantes renais, apresentavam anticorpos que reconheciam as células dos doadores de sangue ou do rim e, os anticorpos produzidos por mulheres múltiplas reagiam com as células paternas [1]. O Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) em humanos localiza-se no braço curto do cromossomo 6, compreende uma região contendo mais de 220 genes, nos quais se incluem os genes do sistema Antígeno Leucocitário Humano (HLA), (Robinson *et al.*, 2015).

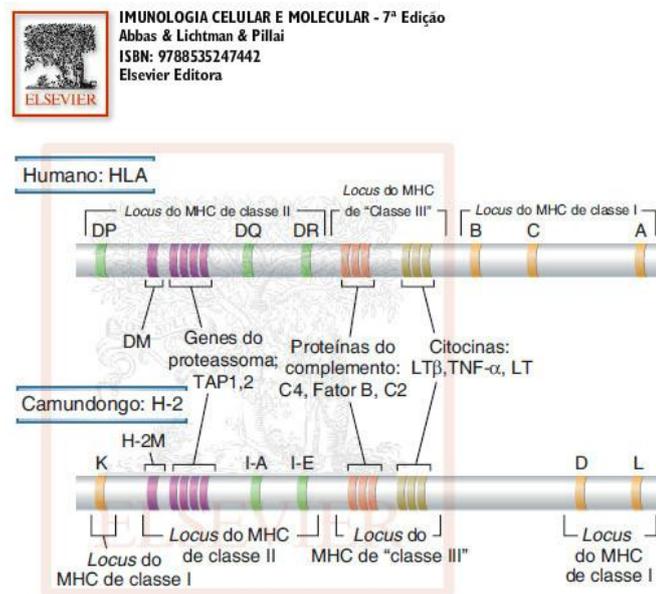


Figura 1. Representação esquemática da localização dos locos HLA

Fonte: Abbas A.K; Lichtman A.H (2012).

1.2.1. ANTÍGENO LEUCOCITÁRIO HUMANO

O Antígeno Leucocitário Humano, do inglês, Human Leukocyte Antigen, está contido na região do Complexo Principal de Histocompatibilidade, localizado na região cromossômica 6p21.

De acordo com a estrutura molecular, função biológica e distribuição tecidual, os produtos codificados, na região MHC, são classificados em classe I, II e III. As moléculas

clássicas de classe I são denominadas de HLA-A, HLA-B e HLA-C e as de classe II denominadas de HLA-DR, HLA-DQ e HLA-DP (ROBINSON *et al.*, 2014).

Todas elas possuem três porções, uma extracelular com a função de apresentar peptídeos às células T, desempenhando um papel fundamental no sistema imune adaptativo, uma porção transmembrana, exercendo a função de ligar a molécula à camada lipídica e a citosólica que permeia sinais intracelulares (DONADI, 2000; SHIINA, *et al.*, 2009).

Inúmeros estudos têm demonstrado a participação de genes do sistema HLA e doenças, entre elas, podemos citar a narcolepsia que está fortemente associada ao gene *HLA-DQB1*06:02* (HALLMAYER, 2009) e a espondilite anquilosante, ao gene *HLA-B*27* (ZUCMAN, 2008). Outras doenças, envolvendo a participação da resposta imune, também têm sido associadas, como a *diabetes mellitus* do tipo I, doença de *Graves*, tireoidite de Hashimoto, doença de Addison, entre outras (FERNANDES *et al.*, 2003)

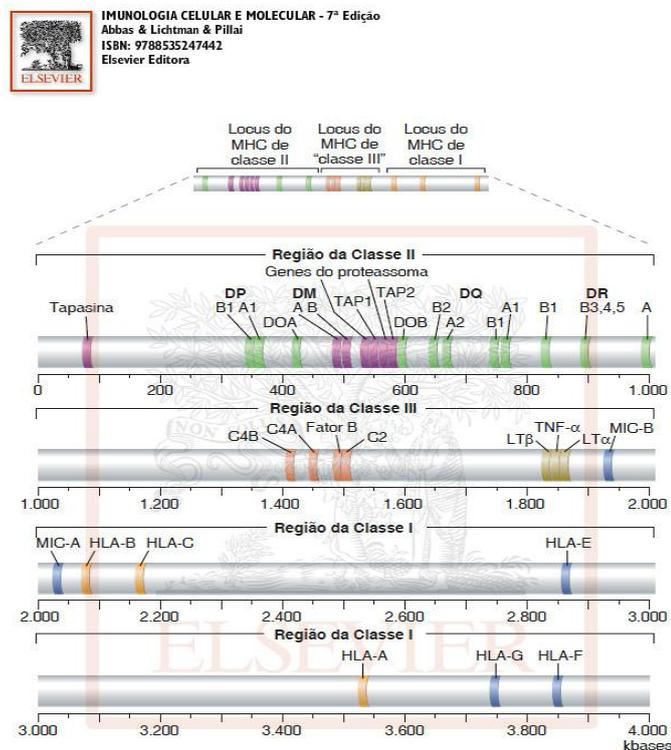


Figura 2. Representação esquemática das regiões HLA de classe I e classe II.

Fonte: Abbas A.K; Lichtman A.H. (2012).

1.2.2 HLA de Classe I

As moléculas são expressas na superfície das células nucleadas e em plaquetas. São formadas por duas cadeias ligadas não covalentemente entre si: a cadeia α , polimórfica, codificada na região HLA pelos genes HLA-A, B e C, denominados de clássicos e genes

HLA-E, -F e G, denominados de não clássicos e a cadeia β -microglobulina, não polimórfica, codificada em outra região cromossômica (cromossomo 15). A porção amino terminal é composta por um par hélices $\alpha 1$ e $\alpha 2$ (codificados pelos éxons 2 e 3, respectivamente), que interagem formando uma lâmina β -pregueada de 8 fitas, e dará origem à fenda de ligação de peptídeos de tamanhos variados entre 8 a 11 aminoácidos. Os peptídeos são gerados no citosol, através da ação dos proteassomas e transportados ao retículo endoplasmático pelas proteínas TAP 1 e 2 é transportada até a membrana da célula Os resíduos de peptídeos depositados se localizam na fenda e adjacentes, é transportada até a membrana da célula e assim são apresentados às células CTL CD8⁺ (ABBAS & LICHTMAN, 2012).

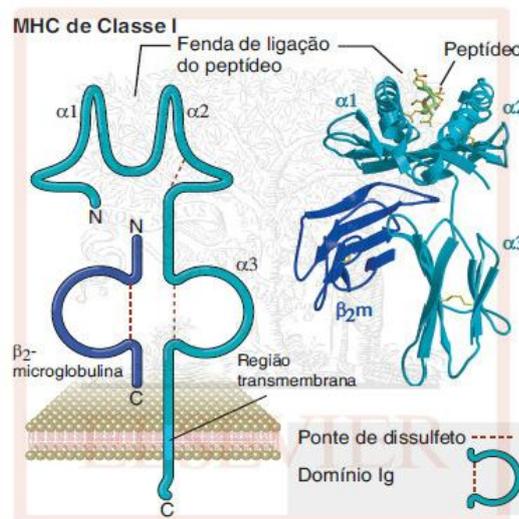


Figura3: Representação esquemática do MHC de classe I.

Fonte: Abbas A.K; Lichtman A.H. (2012).

1.2.3 HLA de Classe II

As moléculas do HLA de classe II são expressas em células apresentadoras de antígenos (dendríticas, linfócito B e em macrófagos). É composta por duas cadeias polipeptídicas, com peso molecular de 32 a 34 kD a cadeia α (éxon 2) e a cadeia β (éxon 2) com peso molecular de 29 a 32kD associadas entre si de forma não covalente. A interação da porção $\alpha 1$ e $\beta 1$ formam uma fenda de ligação de peptídeos, estruturalmente semelhante ao da classe I, diferenciando-se somente por que esta fenda, encontra-se aberta, permitindo a ligação de peptídeos de 30 ou mais resíduos de aminoácidos. O processamento dos peptídeos ocorre em compartimentos endolisossomais e são transportadas até as superfícies celulares e a apresentação dos peptídeos às células T CD4⁺ (FERNANDES *et al.*, 2003.; CALICH & VAZ, 2009; ABBAS & LICHTMAN, 2012).

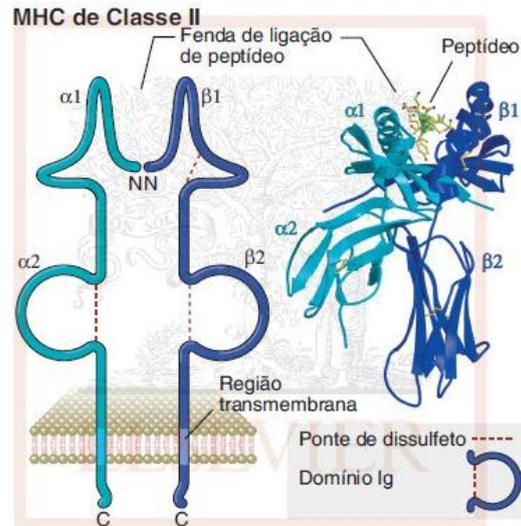


Figura 4: Representação esquemática do MHC de classe II.

Fonte: Abbas A.K; Lichtman A.H. (2012).

A crescente descoberta de alelos durante o período de 1987 à 2015, figura 3, demonstra como o sistema HLA é altamente polimórfico, contendo, até o presente momento, 10.574 alelos do HLA de classe I e 3.568 alelos do HLA de classe II (ROBINSON *et al.*, 2015).

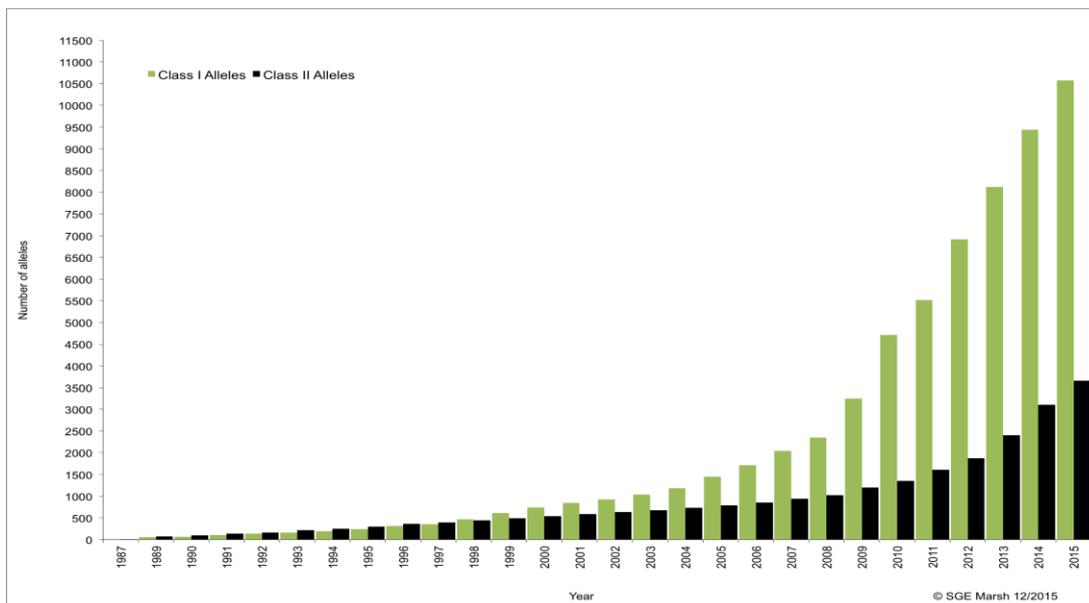


Figura 5: Alelos nomeados de 1987 até dezembro de 2015 na base de dados IMGT/HLA.

Classe I representada pela cor verde e classe II pela cor preta.

1.3. NOMENCLATURA

A nomenclatura do HLA, preconizada pelo Comitê Internacional para normatização da denominação dos alelos de histocompatibilidade é da sigla HLA, a utilização do hífen e o loco, na sequência a utilização do asterisco (*) e o quatro dígitos que identificam o alelo. Os locos de classe I apresentam polimorfismo apenas na cadeia α (gene A), sendo mantidas pelo Comitê as designações HLA-A, HLA-B e HLA-C. O que não ocorre nos locos de classe II, que apresentam polimorfismo nas duas cadeias α e β , sendo utilizadas as letras A e B respectivamente na denominação do alelo (HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRA1, HLA-DRB1, HLA-DRB3, HLA-DRB4, HLA-DRB5). Os dígitos adicionais utilizados são para mudanças sinônimas ou variantes não-codificantes (ROBINSON *et al.*,2015).

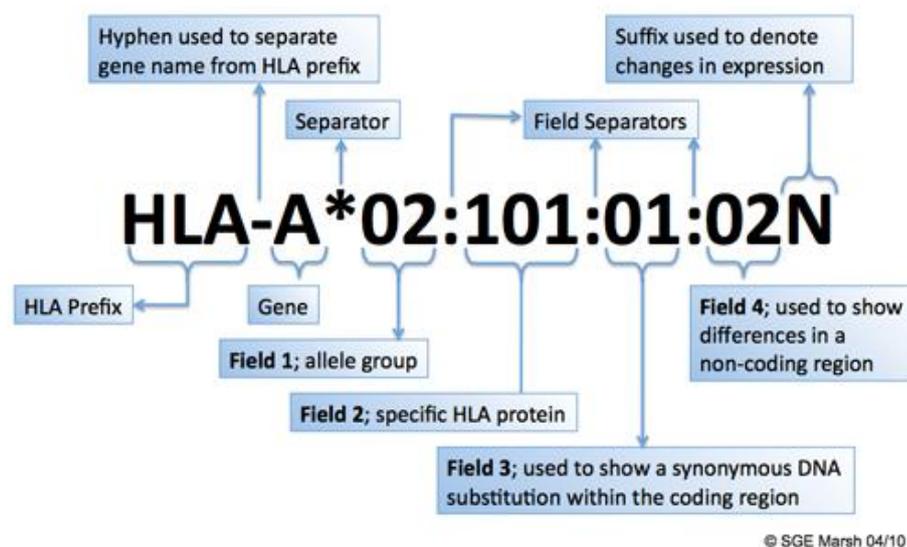


Figura 6: Nomenclatura dos genes HLA.

1.4. JUSTIFICATIVA

Devido à função biológica das moléculas HLA na apresentação de peptídeos aos linfócitos e, o seu alto grau de polimorfismo, vários estudos têm descrito a associação do sistema HLA, como marcador genético, na suscetibilidade a certas patologias. Até o momento existem poucos estudos sobre o sistema HLA na doença renal policística autossômica dominante.

Estudo desta natureza pode contribuir para o conhecimento da etiopatogenia da DRPAD, na prevenção, diagnóstico, tratamento e também no aconselhamento genético.

1.5. OBJETIVOS

1.5.1. GERAL

Verificar a existência de genes do sistema HLA de susceptibilidade/ resistência no desenvolvimento da doença renal policística autossômica dominante.

1.5.2. ESPECÍFICOS

- Identificar os alelos HLA de classe I e classe II em indivíduos com a DRPAD e em um grupo de indivíduos sem diagnóstico clínico da doença.

- Estimar as frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas destes genes nestes dois grupos;

- Verificar a conformidade das proporções genotípicas, com respeito às expectativas em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

- Verificar se existe associação dos marcadores genéticos entre o grupo de pacientes e controles.

1.6. REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. **Basic Immunology**. 4th ed. Philadelphia: Elsevier, 2012.

Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: Mutation Database. Disponível em : <http://pkdb.mayo.edu/> (Acessado em 20/11/2015).

BALCELLS, R. T.; CRIACH, E. A., Diagnóstico molecular de la poliquistosis renal autosômica dominante. **Nefrología (Madrid)**, 31 (1), 35-43, 2011.

BASTOS, A. P.; ONUCHIC, L. F. Molecular and cellular pathogenesis of autosomal dominant polycystic kidney disease. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 44, 606-617, 2011.

BERGMANN, C., ARPKD and early manifestations of ADPKD: the original polycystic kidney disease and phenocopies. **Pediatric Nephrology**, 30 (1), 15-30, 2015.

BLANCHETTE, C. M.; LIANG, C.; LUBECK, D. P.; NEWSOME, B.; ROSSETTI, S.; GU, X.; GUTIERREZ, B.; LIN, N. D. Progression of autosomal dominant kidney disease: measurement of the stage transitions of chronic kidney disease. **Drugs in context**, 4, 2015

CALICH, V. L. G.; VAZ, C. A. C. **Imunologia**. Revinter: 2009.

CNOSSEN, W. R.; DRENTH, J. P. Polycystic liver disease: an overview of pathogenesis, clinical manifestations and management. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, 9, 69, 2014.

DALGAARD, O. Z., Bilateral polycystic disease of the kidneys; a follow-up of two hundred and eighty-four patients and their families. **Acta medica Scandinavica**. Supplementum 1957, 328, 1.

DAOUST, M. C.; REYNOLDS, D. M.; BICHET, D. G.; SOMLO, S., Evidence for a third genetic locus for autosomal dominant polycystic kidney disease. **Genomics**, 25 (3), 733-736, 1995.

DONADI, E.A. Como entender a nomenclatura e os mecanismos de associação entre os antígenos e os alelos de histocompatibilidade com as doenças. **Medicina**, 33:7-18, 2000

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary bioinformatics online**, 1, 47,2005.

FERNANDES, A. P. M.; MACIEL, L. M. Z.; FOSS, M. C.; DONADI, E. A. Como entender a associação entre o sistema HLA e as doenças auto-imunes endócrinas. *Arq Bras Endocrinol Metab* .47, n.5 , 2003.FIGUEIREDO, S. R., Opções terapêuticas para retardar a progressão da doença renal policística autossômica dominante. 2013.

GAINULLIN, V. G.; HOPP, K.; WARD, C. J.; HOMMERDING, C. J.; HARRIS, P. C. Polycystin-1 maturation requires polycystin-2 in a dose-dependent manner. **The Journal of Clinical Investigation**, 125 (2), 607, 2015.

GÓMEZ, P.F.; GARCÍA-COSMES, P.; CORBACHO BECERRA, L.; TABERNERO ROMO, J. M. Análisis clínico de una población con poliquistosis renal autosómica dominante. **Nefrología (Madrid)** , 30 (1), 87-94, 2010.

HALLMAYER, J. Narcolepsy is strongly associated with the TCR alpha locus. HALLMAYER, Joachim *et al.* Narcolepsy is strongly associated with the T-cell receptor alpha locus. **Nature genetics**, 41 (6), 708-11, 2009.

HARRIS, P. C.; ROSSETTI, S. Determinants of renal disease variability in ADPKD. **Advances in chronic kidney disease**, 17 (2), 131-139, 2010.

HARRIS, P. C.; TORRES, V. E. Polycystic Kidney Disease. **Annual Review of Medicine**, 60, 321-37, 2009.

MURCIA, N. S.; WOYCHIK, R. P.; AVNER, E. D. The molecular biology of polycystic kidney disease. **Pediatric Nephrology**, 12 (9), 721-726,1998.

NUNES, A. C. F.; MILANI, V.; PORSCH, D. B.; ROSSATO, L. B.; MATTOS, C. B.; ROISENBERG, I.; BARROS, E. J. G. Frequency and clinical profile of patients with polycystic kidney disease in southern Brazil. **Renal Failure**, 30 (2), 169-173, 2008.

ONG, A. C. M.; HARRIS, P. C. Molecular pathogenesis of ADPKD: the polycystin complex gets complex. **Kidney International**, 67 (4), 1234-1247, 2005.

PEI, Y.; WATNICK, T. Diagnosis and screening of autosomal dominant polycystic kidney disease. **Advances in Chronic Kidney Disease**, 17 (2), 140-152, 2010.

ROBINSON, J.; HALLIWELL, J. A.; HAYHURST, J. D.; FLICEK, P.; PARHAM, P.; MARSH, STEVEN G. E. The IPD and IMGT/HLA database: allele variant databases. **Nucleic Acids Research**, 2014.

SHIINA, T.; HOSOMICHI, K.; INOKO, H.; KULSKI, J. K. The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease. **Journal of Human Genetics**, 54 (1), 15-39. 2009.

SHOKEIR, M. H. K., Expression of “adult” polycystic renal disease in the fetus and newborn. **Clinical genetics**, 14 (2), 61-72, 1978.

TORRA, R.; BADENAS, C.; PÉREZ-OLLER, L.; LUIS, J.; MILLÁN, S.; NICOLAU, C.; OPPENHEIMER, F.; MILÀ, M.; DARNELL, A. Increased prevalence of polycystic kidney disease type 2 among elderly polycystic patients. **American Journal of Kidney Diseases**, 36 (4), 728-734; 2000.

TORRES, V. E.; CHAPMAN, A. B.; DEVUYST, O.; GANSEVOORT, R. T.; GRANTHAM, J. J.; HIGASHIHARA, E.; PERRONE, R. D.; KRASA, H. B.; OUYANG, J.; CZERWIEC, F. S. Tolvaptan in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. **New England Journal of Medicine**, 367 (25), 2407-2418, 2012.

TORRES, V. E.; HARRIS, P. C., Autosomal dominant polycystic kidney disease: the last 3 years. **Kidney International**, 76 (2), 149-168, 2009.

WHITTLE, M.; SIMÕES, R., Hereditary polycystic kidney disease: genetic diagnosis and counseling. **Revista da Associação Médica Brasileira**, 60 (2), 98-102, 2014.

ZUCMAN, S. C. Molecular mechanisms of HLA association with autoimmune diseases. **Tissue Antigens**, 73 (1), 1-8, 2009.

CAPÍTULO II

**Artigo 1: “HLA E DOENÇA RENAL POLICÍSTICA AUTOSSÔMICA DOMINANTE
NUMA POPULAÇÃO DO ESTADO PARANÁ, SUL DO BRASIL”**

**HLA E DOENÇA RENAL POLICÍSTICA AUTOSSÔMICA DOMINANTE NUMA
POPULAÇÃO DO ESTADO PARANÁ, SUL DO BRASIL.**

Soraya Barrionuevo Franzener Franchetti¹, Everton Fernando Alves², Marcela Caleffi da
Costa Lima Caniatti², Sueli Donizete Borelli³, Luiza Tamie Tsuneto³

¹ Mestranda em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá (UEM);

² Mestre, Pós-graduação em Ciências da Saúde da UEM.

³ Doutora, Pós-graduação em Ciências da Saúde.

Correspondência: Laboratório de Imunogenética (LIG-UEM), Departamento de Ciências
Básicas da Saúde (DBS), Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná, Brasil.

Tel.: 55(44) 3011-5390.

E-mail: lttsuneto@gmail.com

RESUMO

Introdução: A doença renal policística autossômica dominante (DRPAD) se origina da mutação em um dos dois genes, PKD1 ou PKD2, ocasionando a formação de cistos renais. Inúmeros estudos têm demonstrado associações do HLA no desenvolvimento de determinadas doenças. O objetivo deste estudo foi avaliar a existência de associações entre alelos HLA-A, HLA -B, HLA-C, HLA-DQ e HLA-DR com a DRPAD. **Metodologia:** O estudo abrangeu 68 pacientes e 375 controles utilizando o método PCR-SSO (*polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide*) do kit LABType® One Lambda, CA, USA, aliado à tecnologia Luminex para a genotipagem. **Resultado:** Foram encontradas diferenças significativas nas frequências alélicas entre pacientes e controles em *HLA-A*26* (OR=2,09, P= 0,0386; IC 95% =1,08-4,06); *HLA-B*07* (OR=2,08, P= 0,0188; IC 95% = 1,16- 3,75), *HLA-B*38* (OR= 2,34, P= 0,0412; IC 95% = 1,05-5,20) e *HLA-B*55* (OR=3,76, P= 0,0527; IC 95% =1,04-13,49) e no haplótipo *HLA-A*26-HLA-C*07*(OR=3,41, P=0,0249; IC 95% = 1,22-9,55). **Conclusão:** Os resultados sugerem que a presença dos alelos HLA-A*26, HLA-B*07, HLA-B*38, HLA-B*55 e o haplótipo HLA-A*26-HLA-C*07 podem aumentar a suscetibilidade à DRPAD.

Palavras-chave: rim policístico autossômico dominante, *HLA*, suscetibilidade.

INTRODUÇÃO

A doença renal policística (DRP) tem como principal característica a formação de cistos nos rins, podendo atingir outros órgãos, como por exemplo, fígado, pâncreas, vesícula seminal, e aracnoide. Outros sintomas, associados à DRP são a hipertensão arterial, dores no flanco e aneurisma cerebral [1]. A DRP é classificada conforme seu padrão de herança mendeliano em doença renal policística autossômica recessiva (DRPAR) ou dominante (DRPAD). A DRPAR é estimada em 1:20.000 indivíduos, é considerada como mais rara e letal durante a infância, com a manifestação dos sintomas durante a fase intrauterina ou neonatal [1,2] e a DRPAD é estimada em 1:400 a 1:1.000 indivíduos, onde os sinais e sintomas clínicos se apresentam a partir da fase adulta [1,3].

A prevalência da DRPAD em alguns países foi de 1:1000 no condado de Olmsted Country em Minnesota [4]; 1:1000 na Dinamarca [5]; 0,48:100.000 no Tennessee e na Geórgia [6]; 90:100.000 na França [7]; 41:100.000 no País de Gales [8]; 33, 1:100.000 Alentejo (Portugal) [9] e 25:100.000 no Japão [10]. A formação de cistos ocorre na DRPAR e DRPAD [11]. O aumento progressivo do volume dos rins, decorrente da formação de cistos, resulta na perda da funcionalidade do parênquima renal, necessitando o paciente de diálise e/ou de transplante [1]. Aproximadamente 10% dos pacientes que utilizam a terapia dialítica são portadores de doença renal policística autossômica dominante [12,13].

Na DRPAD, os cistos surgem tardiamente e no fluído cístico são encontrados uma série de citocinas e fatores de crescimento, que são ativados pelas células de defesa do organismo [14,15,16]. O fator de necrose tumoral alfa tem sido associado com a cistogênese na DRPAD [17,18]. Recentemente, em um levantamento bibliográfico, algumas variantes SNP de citocinas foram possivelmente relacionadas à DRPAD [19]

Em humanos, o MHC (*major histocompatibility complex*) possui uma extensão de aproximadamente 4000 kb, e está localizado no braço curto do cromossomo 6. Compreende mais de 220 genes, onde se encontram os principais genes de resposta imune, dentre eles, encontram-se os genes do sistema HLA (*human leukocyte antigen*). De acordo com a estrutura molecular, função biológica e distribuição tecidual os produtos codificados nesta região MHC são classificados em classe I, II e III. Os peptídeos mais investigados da cadeia alfa são codificados na região de classe I e denominados de HLA-A, HLA-B e HLA-C, e os peptídeos mais investigados da cadeia beta de classe II são denominados de HLA-DRB1,

HLA-DQB1 e HLA-DPB1. Estes locos são considerados os mais polimórficos investigados até hoje; atualmente existem 14.232 alelos *HLA*, sendo 10.574 alelos de classe I e 3.658 alelos de classe II [20].

O HLA atua tanto no sistema imune inato, como ligantes de KIR localizados nas membranas das células NK, bem como no sistema imune adquirido, exercendo uma função importante na apresentação dos peptídeos exógenos e endógenos aos Ly T CD4⁺ e CD8⁺, respectivamente [21,22].

Inúmeros estudos de associação entre os genes HLA e doenças multifatoriais têm demonstrado associações fracas. As associações fracas estão relacionadas à participação de muitos genes (poligenia) e do fator ambiental no desencadeamento da doença. No entanto, alguns têm demonstrado que certos alelos são fatores principais de suscetibilidade, tais como o alelo *HLA-DQB1*06:02* na narcolepsia [23] e o alelo *HLA-B*27* na espondilite anquilosante [24]. A descoberta de alelos que participam na susceptibilidade/resistência de uma doença pode desvendar as relações etiopatológicas das doenças, suas interações com demais genes, e futuramente mecanismos que possam levar ao tratamento e cura das doenças.

Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar uma associação entre os alelos *HLA* à doença renal policística autossômica dominante.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização do Estudo. Foi realizado um estudo de corte transversal controlado, experimental e analítico. Composto por 68 pacientes renais crônicos, diagnosticados clínica e laboratorialmente, como causa da doença renal crônica a DRP, de seis clínicas de diálise do estado do Paraná, sul do Brasil. E, o grupo controle foi composto por 375 pacientes sem diagnóstico clínico da doença, em tratamento dialítico, pareados por idade, sexo e faixa etária. Tendo em vista a baixa prevalência da DRPAD na região estudada, o tamanho amostral do estudo é representativo da população.

Aspectos Éticos. O estudo foi conduzido de acordo com as normas preconizadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob o parecer 183/2010, conforme a Resolução 196/2012 do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e em conformidade com as diretrizes éticas da Declaração de Helsinki (1975). Os pacientes foram convidados a participar desse estudo experimental de

caráter analítico, após os devidos esclarecimentos sobre o projeto, foi realizado o preenchimento da ficha cadastral e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Coleta das amostras. Foram coletadas amostras de 10 mL sangue de 68 indivíduos portadores da DRP e 375 indivíduos controles não portadores da doença, no período de 2010 a 2015. As amostras de sangue foram congeladas em freezer a -80°C até a extração do DNA.

Extração do DNA. O DNA genômico foi extraído utilizando o Kit de extração de DNA BIOPUR® (Biometrix, Curitiba, Paraná, Brasil), seguindo as instruções do fabricante. Em seguida foram avaliados o grau da pureza e concentração do DNA pelo espectrofotômetro NanoDrop (2000c/2000UV-Vis), sendo realizado o ajuste na concentração de 20 ng/ μL quando necessário e congelados em freezer a -80°C .

Genotipagem. A tipagem HLA (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR e HLA-DQ) foi realizada por PCR-SSO (*polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide*) com o kit LABType® One Lambda, CA, USA, aliado à tecnologia Luminex, de baixa resolução. Inicialmente o DNA alvo é amplificado por PCR-SSO, com a utilização de iniciadores específicos. O produto do PCR passa por uma reação de desnaturação, seguida de neutralização e biotilado, o qual permite ser detectado usando estreptavidina conjugada com R-ficoeritrina (SAPE) e hibridizado com sondas complementares ao DNA, ligadas as microesferas codificadas fluorescentemente. A reação é lida no citômetro de fluxo (LABScan™ 100 *flowanalyser*), que identifica a intensidade de fluorescência da ficoeritrina em cada microesfera. Os resultados obtidos foram analisados pelo software *HLA Fusion 3.2* para a determinação da tipagem *HLA*. As ambiguidades foram resolvidas por frequência e/ou sequenciamento (PCR-SBT-*Polymerase Chain Reaction-Sequence Based Typing*) e/ou alelos mais frequentes.

Análise estatística. As frequências alélicas e genótípicas foram determinadas por contagem direta. As comparações das frequências, entre pacientes e controles, foram realizadas por meio de uma tabela de contingência 2x2. Valores de *P* foram avaliados pelo teste exato de Fisher bicaudal, considerando nível de significância menor que 0,05. O risco de desenvolver a DRPAD foi calculado por meio da determinação de OD (*odds ratio*), de acordo com Woolf [25], através do programa Epi Info™ (versão 7.1.2.0). A estimativa da distribuição genotípica, entre as frequências observadas e esperadas, foi testada pelo método

de Guo e Thompson [26], para verificar o equilíbrio de Hardy-Weinberg através do Programa Arlequin versão 3.1 [27]. Considerando que a fase gamética é desconhecida, as frequências haplotípicas foram calculadas pela estimativa de Máxima Verossimilhança, via algoritmo EM (*Expectation-Maximization*), a partir de dados genotípicos, envolvendo multilocos (EXCOFFIER & SLATKIN, 1995) [28], por meio do Programa Arlequin versão 3.5 (EXCOFFIER & LISCHER, 2011) [29].

RESULTADOS

A média de idade ($56 \pm 12,14$; $55,3 \pm 14,05$) e o gênero entre os pacientes com DRPAD e os 375 do grupo controle não foi apresentado diferença estatística. A maioria dos indivíduos investigados encontra-se na faixa etária dos 51-60 anos. Nenhuma diferença estatística foi encontrada na comparação entre homens e mulheres dos dois grupos ($P=0,13$).

A informação sobre a etnia foi baseada na autodeterminação dos pacientes. A maioria dos pacientes era de origem caucasiana (51,4%), seguida respectivamente por afrodescendente (19,1%) e os orientais (2,9%). As frequências genotípicas no loco HLA-B em pacientes e HLA-DRB1 em indivíduos controles, não obedeceram ao equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P=0,0091$ e $P= 0,022$, respectivamente), nos quais os valores esperados eram maiores que os observados. Os alelos HLA-A*26; HLA-B*07, HLA-B*38 e HLA-B*55, foram encontradas frequências mais elevadas nos pacientes quando comparado com os observados nos controles ($P \leq 0,05$), tabelas 1 e 2. Nenhum dos alelos HLA-C, -DR ou -DQ encontrados se associaram com a DRPAD, tabelas 3,4 e 5.

Não foram observadas diferenças significativas entre as frequências haplotípicas de pacientes e controles. Os haplótipos mais frequentes nos pacientes foram *HLA-A*01, -B*38, -C*12, -DRB1*11, -DQB1*03*; *HLA-A*23, -B*07, -C*07, -DRB1*10, -DQB1*05* e *HLA-A*26, -B*08, -C*07, -DRB1*03, -DQB1*02*, todos com uma frequência de 2,2%. No grupo de controles, nenhum haplótipo apresentou frequência superior a 0,8%. O haplótipo *HLA-A*26-C*07*, foi observado em uma frequência maior nos pacientes em relação aos controles (8,8% vs. 2,7%, OR=3,41, $P=0,0249$ e IC 95%= 1,22-9,55).

DISCUSSÃO

Existem até o momento poucos estudos que associam a DRPAD e os variantes *HLA*. A DRPAD é uma doença crônica e complexa, em que há desenvolvimento de múltiplos cistos

renais. Na DRPAD, o fator de inibição de migração de macrófagos (MIF) atua na produção de citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão tanto no sistema imune inato como adaptativo nas doenças renais [30]. A manifestação dos sintomas clínicos e a evolução da doença variam de uma pessoa para outra, como a perda da filtração glomerular e idade do início da terapia dialítica, estágio cinco da doença renal crônica [31].

Em 2011, 3,8% dos pacientes em diálise no Brasil foram classificados como sendo o diagnóstico da doença renal primária o rim policístico [32]. Os pacientes em fila de espera para o transplante renal eram de 24.893 em setembro de 2015 no Brasil, sendo que 1.494 pacientes pertenciam ao estado do Paraná [33].

A população brasileira é heterogênea na sua composição racial, apresentando alto grau de miscigenação, principalmente de caucasianos de origem europeia, africanos e ameríndios. Isto se refletiu claramente em nosso estudo. O maior grupo populacional do Brasil é compreendido pelos mestiços, que variam de região a região. Com base na análise de tipagem *HLA* da população do estado do Paraná, há uma predominância de ancestrais europeus e miscigenação de ancestrais africanos e europeus (mulatos). De acordo com a classificação fenotípica, a população branca é predominantemente de origem europeia (80,6%), com uma pequena contribuição de genes de africanos (12,5%) e ameríndios (7,0%). A população mulata consiste de ancestrais africanos (49,5%) e europeus (41,8%), com uma pequena, porém, significativa contribuição de ancestrais ameríndios (8,7%) [34].

Em um estudo realizado por Nunes e colaboradores, foi verificado que 7,5% dos pacientes em hemodiálise eram pacientes com a DRPAD, com características clínicas semelhantes aos relatados por pacientes na América do Sul e na Europa [3]. Outro estudo, conduzido por Alves e colaboradores, na região Sul do Brasil, verificou que 10,3% dos pacientes em hemodiálise possuíam a DRPAD como diagnóstico clínico e 72,9% destes, eram de etnia caucasiana [35].

Alguns locos apresentam-se fora do equilíbrio de Hardy-Weinberg. Isso poderia ser explicado pelo fato de analisarmos os alelos em baixa resolução, o que diminui a taxa de heterozigosidade, além disso, o loco *HLA-B* também apresentou maior homozigosidade no grupo do alelo *HLA-B*15* (*-B*62-B*63*, *-B*70*, *-B*71- B*72*) devido à somatória dos subtipos específicos.

Em um estudo realizado por Spengler e colaboradores com 1.466 indivíduos, sendo 20 pacientes e 1446 controles, em Greifswald, Alemanha, não foram encontradas diferenças estatísticas significativas para nenhum dos alelos de classe I ou II [36]. Esta ausência de significância talvez possa ser explicada devido à limitação do tamanho da amostra de pacientes. Os seguintes alelos demonstraram estar envolvidos na suscetibilidade do indivíduo no desenvolvimento da patologia: *HLA-A*26*, *HLA-B*07*, *HLA-B*38* e *HLA-B*55*. O presente estudo demonstrou que o *HLA-A*26* parece estar envolvido na suscetibilidade da DRPAD, indicando maior risco de desenvolvimento da patologia DRPAD.

A frequência do alelo *HLA-A*26* em doadores de medula óssea cadastrados no REDOME (Registro de Doadores de Medula Óssea) é de 3,3% entre os brasileiros, e no estado do Paraná é de 3,7% [37], semelhante ao observado no grupo controle deste estudo. O mesmo é válido para *B*38* (2,6% vs. 2,9%) e *B*07* (7,2% vs. 6,4%) entre doadores de medula do Paraná e o nosso grupo de controles. A comparação com os doadores de medula óssea e o nosso grupo controle com este grupo foi para dar uma real ideia da homogeneidade dos indivíduos que compuseram o grupo controle.

Os alelos *HLA-B*07* e *-B*38* demonstraram uma associação positiva de duas vezes mais para o desenvolvimento da DRPAD quando comparamos os pacientes e os controles ($P=0,0188$ e $P= 0,0418$, respectivamente), enquanto que o *-B*55* apresentou uma chance de desenvolvimento de quase quatro vezes mais quando realizado a mesma comparação ($P=0,0528$).

Não encontramos significância estatística no loco *HLA-DR*, e o mesmo resultado foi obtido por Sharin e colaborador, corroborando assim com nossos resultados [38]. Entretanto, estudo realizado na Espanha com 102 pacientes bascos, diagnosticados com DRPAD, foi observado um risco maior para o desenvolvimento da patologia com o alelo *HLA-DRB1*01:01* [39]. Tal diferença pode ser explicada pela diferença dos grupos étnicos entre os estudos.

Quando comparamos frequências haplotípicas *HLA-A*26:01-C*07*, indicou 3,41 mais chances vezes de desenvolvimento da DRPAD quando comparados com o controle. Isto sugere que, o haplótipo pode potencializar a suscetibilidade, aumentando o risco de desenvolver a doença. A porcentagem de indivíduos encontrados com esse haplótipo em

européus caucasianos é de 0,09%, de 1,18% no Sudoeste Asiático, 0,2% na Romênia e na população de Taroko, Taiwan a frequência é de 10,8%. [40].

Para detectar o efeito sutil de determinado gene é preciso de análises estatísticas ultrasensíveis, as quais, por sua vez, exigem enormes quantidades de dados que estão fora do alcance da maioria dos laboratórios acadêmicos, segundo Watson [41]. Apesar do tamanho amostral dos pacientes ser limitado é representativo frente à frequência da DRPAD encontrada na população, pois a prevalência de pacientes com DRPAD é baixa na região estudada [19]. Os resultados obtidos podem contribuir com futuros estudos relacionados à DRPAD, tornando interessante um estudo que associe os genes KIR, MIC, HLA-G, entre outros, na DRPAD para melhor elucidar esta doença.

CONCLUSÃO

O presente estudo sugere à influência dos alelos HLA-A*26, HLA-B*07, HLA-B*3 E HLA-B*55 na DRPAD. O resultado das frequências do haplótipo HLA-A*26 - C*07 também sugere uma associação positiva para o desenvolvimento da DRPAD.

DIVULGAÇÃO

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

AUXILIO FINANCEIRO

CNPq - Conselho Nacional de Pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Harris PC, Torres VE. Polycystic Kidney Disease. *Annu Rev Med.* 2009; 60: 321-337.
2. Bergmann C. ARPKD and early manifestations of ADPKD: the original polycystic kidney disease and phenocopies. *Pediatr Nephrol.* 2015; 30: 15-30.
3. Nunes ACF, Milani V, Porsch DB, Rossato LB, Mattos CB, Roisenberg I, *et al.* Frequency and clinical profile of patients with polycystic kidney disease in Southern Brazil. *Ren Fail.* 2008; 30: 169-173.

4. Iglesias, CG, Torres VE, Offord KP, Holley KE, Beard CM, Kurland LT. Epidemiology of adult polycystic kidney disease, Olmsted County, Minnesota: 1935–1980. *Am J Kidney Dis.* 1983; 2(6): 630-639.
5. Dalgaard OZ, Søren N. Autosomal dominant polycystic kidney disease in the 1980's. *Clin Genet.* 1989; 36(5): 320-325
6. Yium J, Gabow P, Johnson A, Kimberling W, Martinez-Maldonado M. Autosomal dominant polycystic kidney disease in blacks: clinical course and effects of sickle-cell hemoglobin. *J Am Soc Nephrol.* 1994; 4: 1670-4.
7. Simon P, Le Goff JY, Ang KS, Charasse C, Le Cacheux P, Cam G. Epidemiologic data, clinical and prognostic features of autosomal dominant polycystic kidney disease in a French region. *Nephrologie.* 1996; 17: 123-30.
8. Davies F, Coles GA, Harper PS, Williams AJ, Evans C, Cochlin D. Polycystic kidney disease re-evaluated: a population-based study. *Q J Med.* 1991; 79:477-85. PMID: 1946928
9. Almeida E, Sousa A, Pires C, Aniceto J, Barros S, Prata MM. Prevalence of autosomal-dominant polycystic kidney disease in Alentejo, Portugal. *Kidney Int.* 2001; 59:2374.
10. Higashihara E, Nutahara K, Kojima M, Tamakoshi A, Yoshiyuki O, Sakai H, *et al.* Prevalence and renal prognosis of diagnosed autosomal dominant polycystic kidney disease in Japan. *Nephron.* 1998; 80:421-7.
11. Whittle M, Simões R. Hereditary polycystic kidney disease: genetic diagnosis and counseling. *Rev Assoc Med Bras.* 2014; 60: 98-102.
12. Gómez PF, García-Cosmes P, Becerra LC, Romo JMT. Análisis clínico de una población con poliquistosis renal autosómica dominante. *Nefrología .* 2010; 30: 87-94.
13. Blanchette CM, Liang C, Lubeck DP, Newsome B, Rossetti S, and Gu X, *et al.* Progression of autosomal dominant kidney disease: measurement of the stage transitions of chronic kidney disease. *Drugs context.* 2015; 4.
14. Gardner Jr KD, Burnside JS, Elzinga LW, Locksley RM. Cytokines in fluids from polycystic kidneys. *Kidney Int.* 1991; 39 (4): 718-724.

15. Lee S, Park SK, Kang SK, Kim W. A case of unilateral renal cystic disease. *Nephrology*. 2004; 9 (1): 31-32.
16. Nichols MT, Gidey E, Matzakos T, Dahl R, Stiegmann G, Shah RJ, Grantham JJ, Gregory Fitz J, Brian R. Secretion of cytokines and growth factors into autosomal dominant polycystic kidney disease liver cyst fluid. *Hepatology*. 2004; 40 (4): 836-846.
17. Li X, Magenheimer BS, Xia S, Johnson T, Wallace DP, Calvet JP, Li R. A tumor necrosis factor- α -mediated pathway promoting autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nat Med*. 2008; 14 (8): 863-868.
18. Pirson Y. Does TNF- α enhance cystogenesis in ADPKD? *Nephrol Dial Transpl*. 2008; 23 (12): 3773-3775.
19. Alves EF, Borelli SD, Tsuneto LT. P109: Cytokines genes and autosomal dominant polycystic kidney disease in a Brazilian population. *Hum Immunology*. 2014; 75,126.
20. Robinson J, Halliwell JA, Hayhurst JD, Flicek P, Parham P, Marsh SGE. The IPD and IMGT/HLA database: allele variant databases. *Nucleic Acids Res*. 2015; 43:D423-431.
21. Zucman S. C. Molecular mechanisms of HLA association with autoimmune diseases. *Tissue Antigens*. 2009; 73: 1-8.
22. Selvaraj S, Schmitt AD, Dixon JR, Ren B. Complete haplotype phasing of the MHC and KIR loci with targeted HaploSeq. *BMC genomics*. 2015; 16: 900.
23. Hallmayer J, Faraco J, Lin L, Hesselson S, Winkelmann J, Kawashima M, *et al*. Narcolepsy is strongly associated with the T-cell receptor alpha locus. *Nat Genet*. 2009; 41(6): 708-711.
24. Gouveia EB, Elmann D, Morales MSdÁ. Espondilite anquilosante e uveíte: revisão. *Rev Bras Reum*. 2012; 52: 749-756.
25. Woolf B. On estimating the relation between blood group and disease. *Ann Hum Genet*. 1955; 19: 251-253.
26. Guo SW, Thompson EA. A Monte Carlo method for combined segregation and linkage analysis. *Am J Hum Genet*. 1992; 51: 1111.

27. Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online*. 2005; 1: 47-50.
28. Excoffier L, Slatkin M. Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population. *Mol Biol Evol*. 1995; 12: 921-927.
29. L. Excoffier L, Lischer H. *An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis, Arlequin*. 2011.
30. Chen L, Zhou X, Fan LX, Yao Y, Swenson-Fields KI, Gadjeva M, *et al*. Macrophage migration inhibitory factor promotes cyst growth in polycystic kidney disease. *J Clin Invest*. 2015; 125(6): 2399–2412.
31. Shokeir, MHK. Expression of 'adult' polycystic renal disease in the fetus and newborn. *Clin Genet*. 1978; 14: 61-72.
32. Sesso RDCC, Lopes AA, Thomé FS, Lugon JR, Watanabe Y, Santos DRD. Diálise crônica no Brasil-relatório do censo brasileiro de diálise, 2011. *J Bras Nefrol*. 2012;34(3): 272-277.
33. Associação Brasileira de Transplante de Órgãos. (2015). Registro Brasileiro de Transplantes (RBT). 2014 [Internet]. São Paulo: ABTO. Acessado em 20 de novembro de 2015. Disponível: <http://goo.gl/QwwbpL>
34. Probst CM, Bompeixe EP, Pereira NF, de O Dalalio MM, Visentainer JE, Tsuneto LT, Petzl-Erler ML. HLA polymorphism and evaluation of European, African, and Amerindian contribution to the white and mulatto populations from Paraná, Brazil. *Hum Biol*. 2000 Aug;72(4):597-617.
35. Alves EF, Tsuneto LT, Pelloso SM, Torres PRA, Otto GLG, Silva AA *et al*. M. D. D. B. Doença renal policística autossômica dominante em pacientes em hemodialise no sul do Brasil. *J Bras Nefrol*. 2014; 36(1): 18-25.
36. Spengler J, Wegener S, Schuler H, Kraatz G. [HLA antigen frequencies in patients with autosomal dominant polycystic kidney degeneration]. *Z Urol Nephrol* .1989; 82 (12), 691-4.
37. Rede Brasil de Imunogenética (RBI) .2015. Acessado em 21 de dezembro de 2015. Disponível: <http://www.imunogenetica.org/resultados/perfil-genomico-do-renome-rereme/>

38. Shahin RMH, Shouman AMA. Contribution of HLA-DR to polycystic kidney disease in a sample of Egyptian patients. *Comp Clin Pathol*. 2014; 24(2): 423-426.
39. Arrieta A, Maruri N, Rinon M, Arranz MC, Fernandex EG, Ullate PG, *et al*. Relative risk of polycystic kidney disease in HLA-DR1 basque individuals. *Transplant Proc*. 1997; 29: 3719-3720.
40. Gonzalez-Galarza FF, Takeshita LY, Santos EJ, Kempson F, Maia MH, Silva AL, Silva AL, Ghattaoraya GS, Alfirevic A, Jones AR and Middleton D. Allele frequency net 2015 update: new features for HLA epitopes, KIR and disease and HLA adverse drug reaction associations. *Nucleic Acids Res*. 2015; 28: D784-8.
41. Watson J D, Berry A. DNA: o segredo da vida. Editora Companhia das Letras, 2005.

TABELAS

Tabela 1: Análise de associação: Comparação das frequências alélicas do gene *HLA-A* entre os grupos de pacientes com DRPAD e de controles.

<i>HLA</i>	Pacientes		Controles		P valor	OR	IC (95%)
	n=68	%	n=375	%			
<i>A*01</i>	19	14,0	70	9,3	ns		
<i>A*02</i>	32	23,5	187	24,9	ns		
<i>A*03</i>	11	8,1	74	9,9	ns		
<i>A*11</i>	06	4,4	42	5,6	ns		
<i>A*23</i>	08	5,9	37	4,9	ns		
<i>A*24</i>	16	11,8	83	11,1	ns		
<i>A*25</i>	02	1,5	18	2,4	ns		
<i>A*26</i>	13	9,6	36	4,8	0,0386	2,09	1,08 - 4,06
<i>A*28</i>	00	0,0	01	0,1	ns		
<i>A*29</i>	03	2,2	30	4,0	ns		
<i>A*30</i>	07	5,2	39	5,2	ns		
<i>A*31</i>	05	3,7	25	3,3	ns		
<i>A*32</i>	00	0,0	17	2,3	ns		
<i>A*33</i>	01	0,7	22	2,9	ns		
<i>A*34</i>	03	2,2	08	1,1	ns		
<i>A*36</i>	00	0,0	03	0,8	ns		
<i>A*66</i>	01	0,7	05	0,7	ns		
<i>A*68</i>	06	4,4	39	5,2	ns		
<i>A*69</i>	01	0,7	01	0,1	ns		
<i>A*74</i>	02	1,5	12	1,6	ns		
<i>A*80</i>	00	0,0	01	0,1	ns		

n= tamanho da amostra; P= teste exato de Fisher; OR= odds ratio; IC 95% = intervalo de confiança; ns= não significativo.

Tabela 2: Análise de associação: Comparação das frequências alélicas do gene *HLA-B* entre os grupos de pacientes com DRPAD e de controles.

Alelos <i>HLA</i>	Pacientes		Controles		P valor	OR	IC (95%)
	n=68	%	n=375	%			
<i>B*07</i>	17	12,5	48	6,4	0,0188	2,08	1,16-3,75
<i>B*08</i>	08	5,9	41	5,5	ns		
<i>B*13</i>	01	0,7	13	1,7	ns		
<i>B*14</i>	04	2,9	23	3,1	ns		
<i>B*15</i>	07	5,1	66	8,8	ns		
<i>B*18</i>	06	4,4	37	4,9	ns		
<i>B*27</i>	00	0,0	24	3,2	ns		
<i>B*35</i>	10	7,4	84	11,2	ns		
<i>B*37</i>	02	1,5	06	0,8	ns		
<i>B*38</i>	09	6,6	22	2,9	0,0413	2,34	1,05-5,20
<i>B*39</i>	07	5,1	26	3,5	ns		
<i>B*40</i>	07	5,1	38	5,1	ns		
<i>B*41</i>	00	0,0	13	1,7	ns		
<i>B*42</i>	03	2,2	17	2,3	ns		
<i>B*44</i>	13	9,6	79	10,5	ns		
<i>B*45</i>	03	2,2	15	2,0	ns		
<i>B*46</i>	00	0,0	01	0,1	ns		
<i>B*47</i>	00	0,0	01	0,1	ns		
<i>B*48</i>	02	1,5	04	0,5	ns		
<i>B*49</i>	04	2,9	23	3,1	ns		
<i>B*50</i>	00	0,0	22	2,9	ns		
<i>B*51</i>	18	13,2	71	9,5	ns		
<i>B*52</i>	03	2,2	15	2,0	ns		
<i>B*53</i>	02	1,5	17	2,3	ns		
<i>B*54</i>	00	0,0	02	0,3	ns		
<i>B*55</i>	04	2,9	06	0,8	0,0528	3,75	1,04-13,49
<i>B*56</i>	00	0,0	01	0,1	ns		
<i>B*57</i>	04	2,9	19	2,5	ns		
<i>B*58</i>	01	0,7	13	1,7	ns		
<i>B*81</i>	01	0,7	02	0,3	ns		
<i>B*82</i>	00	0,0	01	0,1	ns		

n= tamanho da amostra; P= teste exato de Fisher; OR= odds ratio; IC 95% = intervalo de confiança; ns= não significativo.

Tabela 3: Análise de associação: Comparação das frequências alélicas do gene *HLA-C* entre os grupos de pacientes com DRPAD e de controles.

Alelos <i>HLA</i>	Pacientes		Controles		P valor	OR	IC (95%)
	n=68	%	n=375	%			
<i>C*01</i>	04	2,9	27	3,6	ns		
<i>C*02</i>	04	2,9	53	7,1	ns		
<i>C*03</i>	13	9,6	70	9,3	ns		
<i>C*04</i>	16	11,8	110	14,7	ns		
<i>C*05</i>	08	5,9	28	3,7	ns		
<i>C*06</i>	07	5,2	68	9,1	ns		
<i>C*07</i>	36	26,5	168	22,4	ns		
<i>C*08</i>	04	2,9	31	4,1	ns		
<i>C*12</i>	15	11,0	70	9,3	ns		
<i>C*14</i>	05	3,7	20	2,7	ns		
<i>C*15</i>	09	6,6	35	4,7	ns		
<i>C*16</i>	12	8,8	39	5,2	ns		
<i>C*17</i>	03	2,2	28	3,7	ns		
<i>C*18</i>	00	0,0	03	0,4	ns		

n= tamanho da amostra; P= teste exato de Fisher; OR= odds ratio; IC 95%= intervalo de confiança; ns= não significativo.

Tabela 4: Análise de associação: Comparação das frequências alélicas do gene *HLA-DR* entre os grupos de pacientes com DRPAD e de controles.

Alelos <i>HLA</i>	Pacientes		Controles		P valor	OR	IC (95%)
	n=68	%	n=375	%			
<i>DR*01</i>	07	5,2	73	9,7	ns		
<i>DR*03</i>	17	12,5	77	10,3	ns		
<i>DR*04</i>	14	10,3	100	13,3	ns		
<i>DR*07</i>	18	13,2	87	11,6	ns		
<i>DR*08</i>	10	7,4	39	5,2	ns		
<i>DR*09</i>	02	1,5	15	2,0	ns		
<i>DR*10</i>	07	5,2	15	2,0	ns		
<i>DR*11</i>	25	18,4	104	13,9	ns		
<i>DR*12</i>	02	1,5	09	1,2	ns		
<i>DR*13</i>	12	8,8	92	12,3	ns		
<i>DR*14</i>	08	5,9	35	4,7	ns		
<i>DR*15</i>	08	5,9	75	10,0	ns		
<i>DR*16</i>	06	4,4	27	3,6	ns		
<i>DR*18</i>	00	0,0	01	0,1	ns		
<i>DR*53</i>	00	0,0	01	0,1	ns		

n= tamanho da amostra; P= teste exato de Fisher; OR= odds ratio; IC 95%= intervalo de confiança; ns= não significativo.

Tabela 5: Análise de associação: Comparação das frequências alélicas do gene *HLA-DQ* entre os grupos de pacientes com DRPAD e de controles

Alelos <i>HLA</i>	Pacientes		Controles		P valor	OR	IC (95%)
	n=68	%	n=375	%			
<i>DQ*02</i>	27	19,8	152	20,3	ns		
<i>DQ*03</i>	48	35,3	254	33,9	ns		
<i>DQ*04</i>	09	6,6	48	6,4	ns		
<i>DQ*05</i>	31	22,8	145	19,3	ns		
<i>DQ*06</i>	20	14,7	151	20,1	ns		
<i>DQ*15</i>	01	0,7	00	0,0	ns		

n= tamanho da amostra; P= teste exato de Fisher; OR= odds ratio; IC 95%= intervalo de confiança; ns= não significativo.

CAPÍTULO III

3.1 CONCLUSÕES

- ✓ Ao analisarmos os alelos HLA de classe I verificamos a influência dos genes *HLA-A*26*, *HLA-B*07*, *HLA-B*38* e *HLA-B*55* sugerindo uma predisposição ao desenvolvimento da DRAD.
- ✓ Foi identificada uma associação positiva quando associamos os haplótipos *HLA-A*26/HLA-C*07*, demonstrando um fator de risco para o desenvolvimento desta patologia.
- ✓ Não foi identificada associação nos genes HLA de classe II.

3.2 PERSPECTIVAS FUTURAS

A presente pesquisa auxilia na ampliação do conhecimento de mecanismos biológico na suscetibilidade da DRPAD através da influência dos genes HLA.

Neste sentido, torna-se interessante um estudo avaliando outros marcadores genéticos, como os genes MICA, KIR (Receptor Imune de Células Killer) e *HLA-G*.

ANEXOS



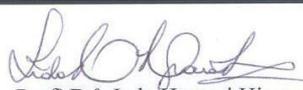
Universidade Estadual de Maringá

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos
Registrado na CONEP em 10/02/1998

CAAE Nº. 0070.0.093.000-10

PARECER Nº. 183/2010

Pesquisador(a) Responsável: Luiza Tamie Tsuneto	
Centro/Departamento: CCS/Departamento de Ciências Básicas da Saúde	
Título do projeto: Caracterização genética de pacientes policísticos na região noroeste do Paraná.	
<p>Análise da Pendência do Protocolo de Pesquisa:</p> <p>Trata-se de projeto de pesquisa que pretende avaliar em pacientes portadores de doenças policísticas renais marcadores genéticos não disponíveis em uma população considerada como controle. O protocolo restou pendente na reunião de 9 de abril de 2010 para readequações no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. A pesquisadora apresenta nova versão do TCLE, redigido em conformidade com as disposições da Res. 196/1996-CNS.</p> <p>Considerações:</p> <p>Considerando que o protocolo de pesquisa atende as exigências da Resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde;</p> <p>PARECER: O COPEP – Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá é de parecer favorável à realização da pesquisa.</p>	
Situação: APROVADO	
CONEP: (X) para registro () para análise e parecer Data: 7/5/2010.	
O pesquisador deverá apresentar Relatório Final para este Comitê em: 1º/8/2012.	
<p>O protocolo foi apreciado de acordo com a Resolução nº. 196/96 e complementares do CNS/MS, na 19ª reunião do COPEP em 7/5/2010.</p>	 Profª.Drª. Ieda Harumi Higarashi Presidente do COPEP

Em suas comunicações com esse Comitê cite o número de registro do seu CAAE.
 Bloco 10 sala 01 – Avenida Colombo, 5790 – CEP: 87020-900 – Maringá - PR
 Fone-Fax: (44) 3261-4444 – e-mail: copep@uem.br

Anexo II. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Trabalho: "**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE PACIENTES POLICÍSTICOS NA REGIÃO NOROESTE DO PARANÁ**".

Convite: Meu nome é Luiza Tamie Tsuneto, sou professora-pesquisadora da Universidade Estadual de Maringá e estou convidando você para participar do projeto de pesquisa que estou desenvolvendo com outros pesquisadores. **Justificativas, objetivos e procedimentos:** O objetivo principal deste estudo é definir se determinadas diferenças genéticas (informações do DNA que a pessoa possui) de genes que afetam a resposta imune poderiam influenciar na ocorrência da doença policística. Este é um exame não custeado pelos planos de saúde e é muito caro. **Amostras:** Este estudo laboratorial será realizado com uma técnica de Biologia Molecular e citometria de fluxo usando o material contido em células do sangue. Desta forma, uma amostra de 20 mL (pouco mais de duas colheres de sopa) de sangue será obtida pela veia do braço. **Armazenamento:** A amostra será centrifugada e a papa de leucócito será armazenada em tubos de congelamento identificados. O DNA será extraído desse concentrado de leucócito e armazenado em freezer -80°C para a sua conservação. O soro será armazenado em tubos de congelamento identificados para a quantificação das citocinas. **Participação:** A sua participação no projeto será voluntária, não havendo nenhum tipo de pagamento ou ressarcimento. Não estando previstas indenizações. **Desconforto e riscos:** O desconforto se relaciona somente à picada da agulha, que pode gerar um leve ardor no local da coleta. A coleta será feita com agulha e seringa descartáveis, sem risco de contaminação para o participante. **Benefícios esperados:** *A priori* achamos que não haverá benefício imediato ao conhecermos a constituição genética individual em desenvolver a doença, pois trata-se de uma doença multifatorial, onde o risco relativo de cada gene contribui com uma pequena parcela na suscetibilidade/resistência à doença. O que queremos saber é se existe a participação ou não desses genes. **Métodos alternativos existentes:** Em nosso laboratório, a genotipagem é realizada pelo método PCR-SSO. Existem outros do tipo PCR-SSP onde a desvantagem da utilização desse método é a quantidade excessiva de DNA e o consumo elevado da Taq polymerase (reagente de amplificação), que eleva o custo do exame. Não existe outro método disponível em nosso laboratório. **Privacidade:** O coordenador do projeto garante que os dados do participante serão mantidos em segredo e o seu nome não será exposto nas conclusões ou publicações do estudo. **Liberdade de recusar ou retirar o consentimento:** O participante ou seu responsável tem a liberdade de recusar ou retirar o consentimento a qualquer momento sem prejuízo ao seu cuidado. **Destino das amostras:** O material genético deverá ficar conservado no Laboratório de Imunogenética da UEM por pelo menos 5 anos. Caso seja utilizado

em outros projetos, um novo termo de consentimento será solicitado ao participante após aprovação pelo Comitê de Ética. Esclarecimentos: **Qualquer esclarecimento sobre a pesquisa poderá ser dado pela coordenadora deste projeto (Dra. Luiza Tamie Tsuneto - Universidade Estadual de Maringá - Departamento de Análises Clínicas - Laboratório de Imunogenética - Bloco I90 sala 102, Telefone: (44) 3011-4864 ou o Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (COPEP) da Universidade Estadual de Maringá - Biblioteca Central - Campus Central - Telefone: (44) 3261-4444.**

Estando ciente e de acordo com o contido neste documento:

Eu, _____, após ter lido e entendido as informações e esclarecido todas as minhas dúvidas referentes a este estudo com o _____, **CONCORDO VOLUNTARIAMENTE**, em participar desse estudo. Declaro ainda, que () não quero () quero conhecer o meu resultado do estudo.

Data: ____/____/____

_____Assinatura (do participante)

Eu, Luiza Tamie Tsuneto, responsável pelo projeto de pesquisa, declaro que prestei todas as informações aos responsáveis e comprometo-me a conduzir todas as atividades deste estudo de acordo com as normas da Resolução 196/96 CNS e complementares.

Maringá, _____ de _____ de _____.

Assinatura: _____

Anexo III: FICHA CADASTRAL

Projeto de Pesquisa: "CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE PACIENTES POLICÍSTICOS NA REGIÃO NOROESTE DO PARANÁ".

Dados cadastrais:	() Paciente () Controle
Nome:	
Data de Nascimento:	
Cidade:	
Estado:	
Endereço:	
Cidade/CEP:	
Telefone residencial:	
Telefone comercial:	
Contato:	
<p>Grupo étnico (assinale um quadro abaixo):</p> <p><input type="checkbox"/> Branco <input type="checkbox"/> Negro <input type="checkbox"/> Mulato (Branco x Negro). <input type="checkbox"/> Oriental</p> <p><input type="checkbox"/> Oriental x Branco <input type="checkbox"/> Branco x Índio <input type="checkbox"/> Cafuzo (Negro x Índio)</p> <p><input type="checkbox"/> Outros:.</p>	
<p>Atividade profissional:</p> <p>Empresa:</p> <p>Principais atividades desenvolvidas nos últimos anos:</p>	
<p>Dados clínicos:</p> <p>Forma clínica da doença:</p> <p>Data do início da doença:...../...../.....</p> <p>Data do diagnóstico da doença:...../...../.....</p> <p>Data do início do tratamento:</p> <p>Medicamentos:</p> <p>Exames utilizados no diagnóstico da doença:</p> <p>Realizou cirurgia? () não () sim, quais? Número de cirurgias?.....</p>	
<p>Sintomas apresentados:</p> <p>Outros:..</p>	
<p>Médico responsável pelo paciente:</p> <p>CRM:.....</p>	
<p>Averiguador:</p> <p>CRF:</p> <p>Assinatura:..... Data:...../...../.....</p>	

Anexo IV - Achados clínicos importantes na DRP; critérios clínicos para diferenciação PKD1; PKD2

Sinal-Sintoma-Exames	Data de Início	Observação
a) Idade do diagnóstico		
b) História familiar		
c) Hipertensão		
d) Hematuria		
e) Dor Abdominal/Lombar		
f) ITU de repetição		
g) Uso de anti-hipertensivo		
h) Creatinina - valor		
i) TGP - Valor		
j) Doença Vascular Cerebral		
k) USG Abdomen - Diagnóstico		
l) Cisto hepático/tamanho		
m) Cisto pancreático/tamanho		
n) Cisto renal/tamanho		
o) Cálcio sérico		
p) Ácido úrico sérico		
q) Diabetes		
r) Outros medicamentos		