



# Estaria o polimorfismo 55MM da PON1 associado à maior gravidade da doença em pacientes com imunodeficiência comum variável?

*Would the PON1-55MM polymorphism be associated to higher disease severity in patients with Common Variable Immunodeficiency?*

**Bruno Carnevale Sini, MSc<sup>1,2</sup>; Sérgio Paulo Bydlowski, MD, PhD<sup>1,2</sup>; Débora Levy, PhD<sup>2</sup>; Cristina M. Kokron, MD, PhD<sup>1</sup>; Luciana M. F. Maselli, PhD<sup>3</sup>; Andrea Cohon, MD, PhD<sup>1</sup>; Ana Karolina Barreto de Oliveira, MD, MSc<sup>1</sup>; Jorge Kalil, MD, PhD<sup>1</sup>; Myrthes A. M. T. Barros, MD, PhD<sup>1</sup>**

## RESUMO

**Objetivo:** Investigar a presença dos polimorfismos Q192R e L55M no gene da Paraoxonase1 (PON1) em pacientes com imunodeficiência comum variável (ICV) e sua relação com morbidade e gravidade da doença. **Métodos:** Pacientes com ICV e controles saudáveis foram genotipados para os polimorfismos L55M da PON1 e avaliados em relação à atividade arilesterase. No grupo de pacientes foram analisados parâmetros de morbidade e gravidade da doença. **Resultados:** O genótipo 55MM e o alelo 55M foram mais frequentes no grupo ICV em relação ao grupo controle. Pacientes com o genótipo 55MM apresentaram menor atividade de PON1, associada a maior morbidade da doença representada pela maior frequência de infecções de vias aéreas e taxa de internações. Por outro lado, a análise dos alelos demonstrou que a menor morbidade foi associada à presença do alelo 55L, que também apresentou relação com menor frequência de hiperplasia nodular linfóide ( $p = 0,007$ ) e linfonodomegalia ( $p = 0,003$ ) e menor ocorrência de óbitos ( $p = 0,039$ ). Não foi observada relação entre a presença de alelos ou genótipos do polimorfismo PON1 Q192R e a maioria dos parâmetros avaliados neste estudo. **Conclusões:** Este constitui o primeiro relato da maior frequência do polimorfismo 55MM da PON1 em pacientes com ICV. Nossos resultados sugerem que o alelo 55L pode estar associado a um melhor prognóstico. Por outro lado, os resultados são sugestivos de que a presença do genótipo 55MM pode ser preditiva de maior morbidade e mortalidade em pacientes com ICV.

**Descritores:** Paraoxonase, paraoxonase 1, atividade arilesterase, morbidade, mortalidade, imunodeficiência comum variável.

## ABSTRACT

**Objective:** To investigate the presence of Q192R e L55M polymorphisms on paraoxonase (PON1) gene, and the relationship of these polymorphisms to increased severity and morbidity of disease, among patients with Common Variable Immunodeficiency (CVID). **Methods:** Sixty-one patients diagnosed with CVID and 130 healthy control individuals underwent genotyping for the polymorphisms of PON1 and assaying for PON1 arylesterase activity. Patients were also evaluated for morbidity and severity parameters of the disease. **Results:** The 55MM genotype and the 55M allele were more frequent in the CVID group as compared to the control group. Patients with genotype 55MM had lower PON1 arylesterase activity, associated to higher morbidity represented by higher frequency of infection and of hospitalization rates. On the other hand, presence of the 55L allele was associated with lower morbidity, with lower frequency of nodular lymphoid hyperplasia and lymphadenopathy, and fewer deaths. There was no correlation of Q192R polymorphisms and the presence of any of the parameters evaluated in this study. **Conclusions:** This is the first report of increased frequency of L55M-PON1 polymorphisms in patients with CVID. Our results suggest that the presence of the 55L allele may be associated with a better prognosis. On the other hand, the results suggest that the presence of 55MM genotype may be predictive of higher morbidity and mortality in ICV patients.

**Keywords:** Paraoxonase, paraoxonase 1, polymorphisms, Pon1 arylesterase activity, morbidity, mortality, Common Variable Immunodeficiency.

<sup>1</sup> Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, FMUSP.

<sup>2</sup> Laboratório de Genética e Hematologia Molecular, Universidade de São Paulo (LIM31).

<sup>3</sup> Fundação Pró-Sangue, Hemocentro de São Paulo.

**Correspondência para:**  
Myrthes Toledo Barros  
E-mail: myrtb@uol.com.br

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Fontes financiadoras:  
Bruno Sini foi bolsista da CAPES. Laboratório de Investigação Médica em Imunologia Clínica e Alergia (LIM60). Laboratório de Investigação Médica em Hematologia e Biologia Molecular (LIM31).

Trabalho ganhador do Prêmio Oliveira Lima 2013 da ASBAI.

Submetido em: 26/09/2014,  
aceito em: 12/04/2015.

## INTRODUÇÃO

As paraoxonases (PON) provêm de uma família multigene de enzimas que inclui PON1, PON2 e PON3, localizadas no braço longo do cromossomo 7 (entre q21.3 e q22.1) em humanos. PON1, a mais estudada, encontra-se associada à apoA-I, integrante das lipoproteínas de alta densidade<sup>1</sup>. Embora o papel biológico mais conhecido das paraoxonases seja a prevenção da aterosclerose, elas também atuam sobre o estresse oxidativo envolvido na patogênese de outras condições, como doenças inflamatórias intestinais, neoplasias, imunossenescência, AIDS e infecções<sup>1</sup>.

A PON1, a primeira paraoxonase descrita, é uma A-esterase que apresenta a capacidade de hidrolisar metabólitos ativos de vários inseticidas organofosforados, tais como parathion, diazinon e chlorpyrifos<sup>2</sup>. O gene de PON1 possui dois polimorfismos na sua região codificadora (M55L e Q192R) e diversos outros polimorfismos em regiões promotoras. O polimorfismo L55M é responsável pela alteração da estabilidade da enzima, enquanto o polimorfismo Q192R origina aloenzimas substrato-dependentes<sup>3</sup>.

Existem evidências de que esses polimorfismos estejam relacionados a fatores de risco para o desenvolvimento de neoplasias, especialmente câncer de mama<sup>4</sup>, pulmão<sup>5</sup>, câncer renal<sup>6</sup>, leucemia<sup>7</sup> e linfomas não-Hodgkin<sup>8,9</sup>. No entanto, são escassos os estudos encontrados na literatura que abordam o papel das paraoxonases nas imunodeficiências primárias que cursam com infecções bacterianas recorrentes ou crônicas, como a imunodeficiência comum variável (ICV).

A ICV é a imunodeficiência primária sintomática mais comum e caracteriza-se pela redução dos níveis séricos de IgG e de pelo menos outro isotipo de imunoglobulina (IgA e/ou IgM), e pelo comprometimento da produção de anticorpos. Suas manifestações clínicas mais frequentes são infecções bacterianas de repetição ou crônicas de vias aéreas e trato gastrointestinal<sup>10</sup>, e também podem estar associadas a doenças autoimunes/inflamatórias e neoplasias<sup>10</sup>. No presente estudo investigamos a relação entre os polimorfismos Q192R e L55M da Paraoxonase1 (PON1) em pacientes com imunodeficiência comum variável (ICV) e sua relação com morbidade e gravidade da doença.

## PACIENTES E MÉTODOS

### Casuística

Foram avaliados 61 pacientes com diagnóstico de ICV seguidos no Ambulatório de Imunodeficiências Primárias do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP). O diagnóstico de ICV foi estabelecido na presença de níveis séricos

baixos de IgG e IgA e/ou IgM e comprometimento da função de anticorpo de acordo com os critérios definidos por Ameratunga et al.<sup>11</sup>.

Foram analisados os seguintes parâmetros: 1) idade de início dos sintomas, idade ao diagnóstico da ICV, intervalo de tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico da doença e tempo total de doença; 2) taxa de internações, tempo total em dias de internação e duração de cada internação nos últimos 5 anos; 3) história de infecções de repetição e/ou infecção crônica de vias aéreas superiores (IVAS), pneumonia e diarreia; 4) presença de linfonodomegalia mediastinal e/ou abdominal, esplenomegalia, hepatomegalia, bronquiectasias; 5) alterações histológicas do trato gastrointestinal compatíveis doença celíaca (padrão celíaco-like), hiperplasia nodular linfoide (HNL), metaplasia intestinal e/ou gástrica; 6) história familiar de imunodeficiências primárias.

Todos pacientes estavam sob reposição mensal de imunoglobulina humana IV (IGIV) na dosagem de 400 a 600 mg/kg. A coleta de sangue foi realizada imediatamente antes da reposição da IGIV. Em todos os pacientes o início do tratamento com IGIV ocorreu entre um e dois meses após o estabelecimento do diagnóstico de ICV.

Não foram incluídos no estudo pacientes sob corticoterapia sistêmica prolongada, em uso de drogas citotóxicas, tabagistas e gestantes.

Como controles foram estudados 130 indivíduos voluntários saudáveis, de ambos os sexos, doadores de sangue na instituição onde o trabalho foi realizado.

Em pacientes e controles foi realizada genotipagem para os polimorfismos PON1-Q192R e PON1-L55M e atividade arilesterase da PON1.

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética da FMUSP, onde o trabalho foi realizado, e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi previamente obtido para cada paciente.

Os dados demográficos de pacientes e controles constam na Tabela 1.

### Genotipagem

A extração do DNA genômico de células do sangue periférico foi feito pelo processo de *salting out*<sup>12</sup>. A genotipagem foi realizada através de PCR-RFLP multiplex para os polimorfismos Q192R e L55M de PON1, com posterior digestão do fragmento de DNA amplificado com enzima de restrição Hinf-I conforme descrito por Motti<sup>13</sup>.

### Atividade de PON1

A determinação da atividade enzimática de PON1 foi feita através de cinética enzimática conforme des-

crito por Lorentz<sup>14</sup> e modificado por Oliveira-Silva<sup>15</sup>, utilizando fenilacetato como substrato.

### Análise estatística

Os dados contínuos, semicontínuos e semicategóricos foram inicialmente comparados com a Curva Normal pelo teste de Distância K-S e de Shapiro e classificados quanto à normalidade pela aderência à Curva de Gauss. Os dados categóricos foram representados por frequência absoluta (n) e relativa (%); para a análise das matrizes de contingência foi utilizado o teste de Qui-quadrado de Pearson. Foi considerado para todo o estudo risco alfa menor ou igual a 5% de cometer erro tipo I ou de 1ª espécie e risco Beta menor ou igual a 20% de cometer erro tipo II ou de 2ª espécie.

## RESULTADOS

### Características demográficas

Foi observado discreto predomínio de mulheres no grupo de pacientes e maior número de homens no grupo controle. A média de idade foi semelhante nos dois grupos. A idade de início dos sintomas variou desde um até 59 anos de idade, com média de 17,1 anos. A média de idade ao diagnóstico foi de 30,2 anos e a do período de tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico de ICV foi de 13,3, variando de 1 a 58 anos. O tempo de doença, representado pelo período de tempo entre a idade de início dos sintomas e a

idade atual (ao final deste estudo) variou de 6 a 73 anos com média de 25,4 (Tabela 1).

### Distribuição alélica e frequência de genótipos

A distribuição alélica e a frequência de genótipos referentes ao polimorfismo PON1-Q192R foram semelhantes nos dois grupos. No entanto, em relação ao polimorfismo PON1-L55M, foi observada maior frequência do alelo 55M ( $p = 0,0025$ ) e do genótipo 55MM ( $p = 0,003$ ) em pacientes com ICV, em comparação ao grupo controle (Tabela 2).

### Atividade arilesterase da PON1

Não houve diferença quanto à atividade arilesterase entre os grupos ICV e controle. No entanto, a comparação entre os vários genótipos demonstrou que pacientes com o genótipo 55MM apresentaram atividade menor em relação aos genótipos 55LL e 55LM ( $p < 0,001$ ). No grupo controle foi observada maior atividade arilesterase da PON1 associada ao genótipo 55LL ( $p < 0,001$ ) (Tabela 3).

### Comparação entre parâmetros clínicos e laboratoriais e genótipos do polimorfismo PON1 L55M

Pacientes com o genótipo 55MM apresentaram maior frequência de linfonodomegalia ( $p = 0,026$ ), HNL ( $p = 0,012$ ), IVAS ( $p = 0,001$ ), pneumonias ( $p < 0,001$ ) e maior taxa de internações ( $p = 0,029$ ). Não houve

**Tabela 1 -** Características demográficas de pacientes com imunodeficiência comum variável (ICV) e controles saudáveis

Dados gerais	Pacientes (n = 61)		Controles (n = 130)	
Masculino	28 (45,9%)		80 (61,5%)	
Feminino	33 (55,1%)		50 (38,4%)	
Idade atual*	42,5±14,7	39 (24-81)	41,2±10,8	39 (22-60)
Idade de início dos sintomas*	17,1±12,9	15 (1-59)	-	-
Idade ao diagnóstico*	30,2±14,0	28 (6-66)	-	-
DT*	13,3±12,3	9 (1-58)	-	-
Tempo de doença*	25,4±14,1	22 (6-73)	-	-

\* Os dados estão apresentados em anos na forma de média±desvio padrão e mediana (IQR 25th,75th). DT = Intervalo entre início dos sintomas e diagnóstico da ICV.

**Tabela 2 -** Distribuição alélica e frequência dos genótipos de PON1 em pacientes com imunodeficiência comum variável (ICV) e controles saudáveis

Polimorfismo	Pacientes		Controles		p	
	n	%	n	%		
<b>PON1-Q192R</b>	<b>Genótipo</b>					
	QQ	26	42,6	63	48,4	0,3627
	QR	26	42,6	43	33,0	
	RR	9	14,7	24	18,4	
	<b>Alelo</b>					
	Q	78	63,9	91	65,0	0,8047
R	44	36,0	169	35,0		
<b>PON1-L55M</b>	<b>Genótipo</b>					
	LL	23	37,7	59	45,3	0,003
	LM	12	19,6	50	38,4	
	MM	26	42,6	21	16,1	
	<b>Alelo</b>					
	L	58	48,3	168	64,6	0,0025
M	64	51,6	92	35,3		

**Tabela 3 -** Atividade arilesterase da PON1 referente aos genótipos Q192R e L55M em pacientes com imunodeficiência comum variável (ICV) e controles saudáveis

Genótipo	Atividade		p
	(média±desvio padrão)		
<b>Pacientes</b>			
<b>Q192R</b>			p = 0,373
QQ		80,7±25,3	
QR		88,3±18,1	
RR		89,4±19,6	
<b>L55M</b>			p < 0,001
LL		93,8±20,4	
LM		93,8±11,2	
MM		73,6±21,4	
<b>Controles</b>			
<b>Q192R</b>			p = 0,102
QQ		95,3±26,8	
QR		95,6±21,1	
RR		86,9±21,7	
<b>L55M</b>			p < 0,001
LL		100,6±23,1	
LM		84,9±18,5	
MM		80,4±22,0	

diferença entre os 3 grupos genotípicos em relação aos demais parâmetros analisados neste estudo.

#### **Comparação entre parâmetros clínicos e laboratoriais e alelos 55L e 55M**

Pacientes com o alelo 55L apresentaram menor frequência de HNL ( $p = 0,007$ ), linfonodomegalia ( $p = 0,003$ ), IVAS ( $p < 0,001$ ), pneumonias ( $p < 0,001$ ), taxa de internações ( $p = 0,019$ ) e ocorrência de óbitos ( $p = 0,039$ ) (Tabela 5), não havendo relação com os demais parâmetro analisados.

#### **Relação entre os polimorfismos PON1-L55M e internações hospitalares**

Não foi observada diferença quanto ao número de internações ( $p = 0,683$ ) e tempo total de internação ( $p = 0,771$ ) realizadas nos últimos 5 anos entre os três grupos genotípicos. No entanto, pacientes com o genótipo 55LM apresentaram maior média referente à

duração de cada internação ( $p = 0,031$ ) (Tabela 6). Não houve diferença quanto a estes 3 parâmetros em relação à presença dos alelos 55L ou 55M (Tabela 7).

#### **Comparação entre parâmetros clínicos e laboratoriais e polimorfismos PON1 Q192R**

Não foi observada relação entre a presença de alelos ou genótipos do polimorfismo PON1 Q192R e a grande maioria dos parâmetros avaliados neste estudo, exceto para a presença de hepatomegalia em relação ao genótipo 192QR ( $p = 0,045$ ).

#### **DISCUSSÃO**

Neste estudo de uma coorte de pacientes com ICV foram realizadas a genotipagem dos polimorfismos L55M e Q192R da PON1, a determinação da atividade hidrolítica de PON1 e a posterior comparação destes dados com a gravidade da doença.

**Tabela 4 -** Relação entre parâmetros clínicos e laboratoriais e genótipos do polimorfismo PON1-L55M

Condição	Genótipo	Frequência	valor de p
HNL*	LL	0	$p = 0,026$
	LM	0	
	MM	5 (19,2%)	
Linfonodomegalia <sup>†</sup>	LL	8 (34,8%)	$p = 0,012$
	LM	3 (25%)	
	MM	18 (69,2%)	
Taxa de internações	LL	9 (39,1%)	$p = 0,029$
	LM	2 (16,7%)	
	MM	16 (61,5%)	
IVAS <sup>‡</sup>	LL	18 (38,3%)	$p = 0,001$
	LM	8 (17,0%)	
	MM	21 (44,7%)	
Pneumonias	LL	16 (59,5%)	$p < 0,001$
	LM	10 (83,3%)	
	MM	23 (88,4%)	

\* HNL: hiperplasia nodular linfoide; <sup>†</sup> Linfonodomegalia mediastinal e/ou abdominal; <sup>‡</sup> IVAS: infecções de vias aéreas superiores.

**Tabela 5 -** Relação entre os parâmetros clínicos e laboratoriais e presença dos alelos 55L ou 55M

Condições		Alelo L	Alelo M	valor de p
IVAS*	Sim	26 (55,3%)	21 (44,7%)	p = 0,0001
	Não	9 (64,3%)	5 (35,7%)	
Pneumonia	Sim	26 (53,1%)	23 (46,9%)	p = 0,0001
	Não	9 (75%)	3 (25%)	
Linfonodomegalia†	Sim	11 (37,9%)	18 (62,1%)	p = 0,003
	Não	24 (75%)	8 (25%)	
HNL‡	Sim	0 (0%)	5 (100%)	p = 0,007
	Não	35 (62,5%)	21 (37,5%)	
Taxa de internações	Sim	11 (40,7%)	16 (59,3%)	p = 0,019
	Não	24 (70,6%)	10 (29,4%)	
Óbitos	Sim	0 (0%)	4 (100%)	p = 0,039
	Não	35 (61,4%)	22 (38,6%)	

\* IVAS: infecções de vias aéreas superiores; † Linfonodomegalia mediastinal e/ou abdominal; ‡ HNL: hiperplasia nodular linfoide.

**Tabela 6 -** Relação entre os genótipos do polimorfismo PON1-L55M e internações

Internações	Genótipo	Média±desvio padrão	p
Número	LL	4,9±5,3	p = 0,683
	LM	2,5±2,1	
	MM	5,7±5,4	
Tempo total de internação*	LL	62,1±81,5	p = 0,771
	LM	38,5±9,1	
	MM	77,0±84,9	
Duração de cada internação†	LL	10,0±3,8	p = 0,031
	LM	26,5±26,1	
	MM	12,2±6,5	

\* Representado em dias. † Relação entre o número de dias de internação dividido pelo número de internações nos últimos 5 anos.

Na família das paraoxonases, a PON1 foi a primeira a ser identificada e ainda atualmente é a mais estudada. Tem atividades paraoxonase, arilesterase e lactonase e, em condições fisiológicas, previne as modificações oxidativas da lipoproteína de baixa densidade (LDL), desempenhando assim papel protetor nos processos ateroscleróticos. A PON1 também atua sobre o estresse oxidativo envolvido na patogênese de outras condições como doenças inflamatórias intestinais, imunossenescência, AIDS, imunodeficiências primárias e infecções<sup>2</sup>.

O termo ICV engloba um grupo heterogêneo de síndromes que têm em comum níveis séricos diminuídos de IgG, IgA e/ou IgM com defeito na produção de anticorpos<sup>10</sup>. As infecções bacterianas de repetição ou crônicas ocorrem na grande maioria dos pacientes, embora possam estar presentes também infecções virais e oportunistas, doenças inflamatórias, autoimunidade e neoplasias<sup>16-18</sup>.

Esta grande heterogeneidade de manifestações clínicas pode dificultar o reconhecimento da doença, retardando seu diagnóstico em torno de 6 ou mais anos<sup>10</sup>.

Na presente casuística, o período médio entre o início dos sintomas e o estabelecimento do diagnóstico de ICV foi de aproximadamente 13 anos, o que está bastante acima dos relatos da literatura atual<sup>16</sup>.

Considerando-se a longa evolução da doença em nossos pacientes (média de 25,4 anos), é possível que esta demora do diagnóstico seja devida ao fato de que em muitos deles os sintomas iniciais ocorreram em épocas em que havia grande desconhecimento da ICV por médicos generalistas, agravado pelo falso conceito de que as imunodeficiências primárias teriam apresentação inicial quase que exclusivamente em crianças.

Na maioria dos pacientes, o diagnóstico de ICV é estabelecido entre a 3ª e a 4ª décadas da vida, sendo que apenas 20% dos casos são diagnosticados abaixo dos 20 anos de idade<sup>10,16</sup>. Nossos dados corroboram essas observações, uma vez que a média e a mediana de idade ao diagnóstico foram 30,2 e 28 anos, respectivamente.

Pacientes com ICV apresentaram maior frequência tanto do alelo 55M quanto do genótipo 55MM em relação ao grupo controle, não sendo observadas diferenças em relação a outros polimorfismos da L55M ou Q192R. A distribuição das frequências alélicas e dos genótipos da PON1-L55M e PON1-Q192R no grupo controle foi semelhante àquela anteriormente descrita em São Paulo em doadores de sangue (dados não publicados).

A atividade arilesterase não diferiu entre pacientes e controles. A diferença observada quanto à distribuição de gêneros entre os dois grupos não interferiu nesta

**Tabela 7 -** Relação entre os alelos 55L e 55M e internações

	Alelo	Média±desvio padrão	p
<b>Alelo L</b>			
Número de internações	L	4,5±4,9	p = 0,607
	M	5,7±5,4	
Tempo total internação*	L	58,1±74,4	p = 0,521
	M	77,0±84,9	
Duração de cada internação <sup>†</sup>	L	12,7±10,7	p = 0,887
	M	12,2±6,5	
<b>Alelo M</b>			
Número de internações	L	4,9±5,3	p = 0,777
	M	5,4±5,2	
Tempo total internação	L	62,1±81,5	p = 0,723
	M	73,3±81,4	
Duração de cada internação	L	10,0±3,8	p = 0,148
	M	13,6±9,5	

\* Representado em dias. <sup>†</sup> Relação entre o número de dias de internação dividido pelo número de internações nos últimos 5 anos.

análise, uma vez que não têm sido relatadas diferenças entre homens e mulheres quanto a esta atividade da PON1<sup>19</sup>. Entretanto, este achado deve ser cuidadosamente analisado, considerando-se que pode haver variações individuais na atividade arilesterase associadas a diferentes causas, como sedentarismo e hábitos de vida<sup>19</sup>, doença coronariana, diabetes, acidente vascular isquêmico, cirrose hepática e doença renal<sup>20</sup>.

As doenças acima não foram analisadas neste estudo dada sua baixa frequência no nosso grupo de pacientes. Também não foram consideradas no grupo controle, uma vez que os indivíduos por elas acometidos não são aceitos como doadores de sangue. No entanto, não foi possível descartar totalmente a existência de outros fatores que diminuem (tabagismo passivo, dieta aterogênica) ou aumentam (ingestão moderada de álcool, polifenóis e vitaminas C e E) a atividade da enzima<sup>21</sup>.

À semelhança de outras doenças como hepatites virais<sup>22</sup>, AIDS<sup>23</sup>, cirrose<sup>24,25</sup> e doença de Crohn<sup>26</sup>, a ICV tem sido associada a um estado de ativação imune persistente<sup>27,28</sup> decorrente de estímulo antigênico por agentes infecciosos e/ou associação com doenças inflamatórias, autoimunidade ou neoplasias<sup>16-18</sup>.

Aukrust et al. relataram aumento da peroxidação lipídica<sup>37</sup> e alterações no metabolismo de glutatona e cisteína em linfócitos TCD4+<sup>38</sup> em pacientes com ICV, sugerindo que o estímulo antigênico contínuo possa desempenhar algum papel na imunopatogênese da doença, assim como no desencadeamento de determinadas condições em subgrupos de pacientes com ICV.

As infecções crônicas ou recorrentes compreendem a principal complicação da ICV constituindo, deste modo, os fatores mais provavelmente implicados na alteração do estado redox nesta condição. A maioria dos pacientes neste estudo apresentou infecções, sendo as mais comuns as de vias aéreas superiores (77,7%), pulmonares (79,3%) e diarreia (58,7%), o que está de acordo com relatos da literatura<sup>16-18</sup>.

A atividade arilesterase não diferiu entre o grupo de pacientes com ICV e controles, assim como também não apresentou relação com os vários parâmetros analisados neste estudo. No entanto, em relação aos polimorfismos L55M, foi observada menor atividade em pacientes com o genótipo MM em comparação aos genótipos LL e LM. Este achado pode explicar, ao menos parcialmente, a menor prevalência de infecções de vias aéreas observada em portadores do alelo L (Tabela 5). Corroborando esta hipótese, atividade arilesterase mais elevada foi encontrada também nos controles sãos com o genótipo LL, o que está de acordo com os dados de literatura<sup>19</sup>.

A grande heterogeneidade das manifestações clínicas, ao lado do retardo no diagnóstico da ICV, pode

contribuir para maior morbidade e mortalidade da doença. Numerosas condições presentes na ICV podem estar associadas à estimulação persistente do sistema imune como decorrência de processos infecciosos e/ou associação com doenças autoimunes<sup>10</sup>. Podem estar presentes processos linfoproliferativos benignos ou neoplásicos. Entre as manifestações consideradas benignas, as mais comuns são linfonomegalia abdominal ou torácica, esplenomegalia e hiperplasia nodular linfóide, como a doença celíaca-like<sup>29-30</sup>. No presente estudo, a HNL foi diagnosticada em 5 pacientes e, como pode estar relacionada à presença de *Giardia lamblia*<sup>16,10</sup>, seu diagnóstico foi estabelecido somente após exclusão da presença deste protozoário. A análise dos dados demonstrou que o genótipo 55MM apresentou relação com a presença de hiperplasia nodular linfóide e linfonomegalias abdominal e torácica.

Oito pacientes apresentaram quadro clínico e histológico compatível com doença celíaca (padrão celíaco), que também é considerada fator de estimulação crônica do sistema imunológico<sup>10</sup>. Não surpreendentemente, a pesquisa de anticorpo IgA antiendomísio foi negativa em todos os pacientes, e o diagnóstico foi estabelecido segundo critérios histológicos para doença celíaca, sendo aqui denominada “padrão celíaco”.

No presente estudo, o genótipo 55MM também apresentou relação com maior morbidade, caracterizada pela maior frequência de infecções de vias aéreas e maior taxa de internações, enquanto o alelo 55M apresentou associação com maior mortalidade.

É interessante ressaltar que entre os quatro casos de óbito, apenas um paciente faleceu em decorrência de neoplasia (carcinoma gástrico metastático), e todos apresentavam o genótipo 55MM, tendo sido observada relação negativa entre a ocorrência de óbitos e a presença do alelo 55L. Os demais pacientes apresentaram quadros consuntivos com características clínicas e laboratoriais de processos inflamatórios crônicos sem etiologia conhecida.

Por outro lado, a análise dos alelos demonstrou que a menor morbidade da doença foi associada à presença do alelo 55L, uma vez que os pacientes com este alelo apresentaram menor frequência de infecções, taxa de internações, óbitos, HNL e linfonomegalia.

Nossos resultados sugerem que o alelo 55L pode desempenhar um papel de proteção contra infecções e linfoproliferação benigna, e que isto poderia ocorrer como consequência da maior atividade enzimática associada a este alelo, resultando em maior eficácia na defesa do organismo contra agentes tóxicos externos ou mesmo àqueles inerentes ao indivíduo. Por outro lado, é possível que em pacientes com ICV, a presença do genótipo 55MM seja preditiva de maior morbidade e mortalidade da doença.

De nosso conhecimento, este constitui o primeiro relato da maior frequência do polimorfismo 55MM e do alelo 55M da PON1 em pacientes com ICV.

## REFERÊNCIAS

- Camps J, Marsillach J, Joven J. The paraoxonases: role in human disease and methodological difficulties in measurement. *Clin Exp Clin Lab Science*. 2009;46:83-106.
- Schweikert EM, Amort J, Wilgenbus P, Förstermann U, Teiber JF, Horke S. Paraoxonases-2 and -3 are important defense enzymes against *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors due to their anti-oxidative and anti-inflammatory properties. *J Lipids*. 2012;2012:352857.
- Costa LG, Vitalone A, Cole TB, Furlong CE. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochem Pharmacol*. 2005;69:541-50.
- Hussein YM, Gharib AF, Etewa RL, ElSawy WH. Association of L55M and Q192R polymorphisms in paraoxonase 1 (PON1) gene with breast cancer risk and their clinical significance. *Mol Cell Biochem*. 2011;351:117-23.
- Elkiran ET, Mar N, Aygen B, Gursu F, Karaoglu A, Koca S. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with lung cancer in a Turkish population. *BMC Cancer*. 2007;7:48.
- Uyar OA, Kara M, Erol D, Ardicoglu A, Yuce H. Investigating paraoxonase-1 gene Q192R and L55M polymorphism in patients with renal cell cancer. *Genet Mol Res*. 2011;10:133-9.
- Kokouva M, Koureas M, Dardiotis E, Almpantidou P, Kalogeraki A, Kyriakou D, et al. Relationship between the paraoxonase 1 (PON1) M55L and Q192R polymorphisms and lymphohaematopoietic cancers in a Greek agricultural population. *Toxicology*. 2013;307:12-6.
- Kerridge I, Lincz L, Scorgie F, Hickey D, Granter N, Spencer A. Association between xenobiotic gene polymorphisms and non-Hodgkin's lymphoma risk. *Br J Haematol*. 2002;118:477-81.
- De Roos AJ, Gold LS, Wang S, Hartge P, Cerhan JR, Cozen W, et al. Metabolic gene variants and risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15:1647-53.
- Cunningham-Rundles C. The many faces of common variable immunodeficiency. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012:301-5.
- Ameratunga R, Woon ST, Gillis D, Koopmans W, Steele R. New diagnostic criteria for Common Variable Immune Deficiency (CVID), which may assist with decisions to treat with intravenous or subcutaneous immunoglobulin. *Clin Exp Immunol*. 2013;174:203-11.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1998;16:1215.
- Motti C, Dessi M, Gnasso A, Irace C, Indigeno P, Angelucci CB, et al. A multiplex PCR-based DNA assay for the detection of paraoxonase gene cluster polymorphisms. *Atherosclerosis*. 2001;158:35-40.
- Lorenz K, Flatter B., Augustine E. Arylesterase in serum: elaboration and clinical application of fixed incubation method. *Clin Chem*. 1979;25:1714-20.
- Oliveira SA, Mansur AP, Ribeiro CC, Ramires JAF, Annichino-Bizzacchi JM. PON 1 M/L55 mutation protects high-risk patients against coronary artery disease. *Int J Cardiol*. 2004;94:73-7.
- Cunningham-Rundles C, Bodian C. Common variable immunodeficiency: clinical and immunological features of 248 patients. *Clin Immunol*. 1999;92:34-48.
- Kokron CM, Errante PR, Barros MT, Baracho GV, Camargo MM, Kalil J, et al. Clinical and laboratory aspects of common variable immunodeficiency. *An Acad Bras Cienc*. 2004;76:707-26.
- Quinti I, Soresina A, Spadaro G, Martino S, Donnanno S, Agostini C, et al. Long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 2007;27:308-16.
- Précourt LP, Amre D, Denis MC, Lavoie JC, Delvin E, Seidman E, et al. The three-gene paraoxonase family: physiological roles, actions and regulation. *Atherosclerosis*. 2011;214:20-36.
- Mackness B, Durrington P, McElduff P, Yarnell J, Azam N, Watt M, et al. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. *Circulation*. 2003;107:2775-9.
- VanderGaag MS, van Tol A, Scheek LM, James RW, Urgert R, Schaafsma G, et al. Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity: a diet-controlled randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis*. 1999;147:405-10.
- Sandler NG, Koh C, Roque A, Eccleston JL, Siegel RB, Demino M, et al. Host response to translocated microbial products predicts outcomes of patients with HBV or HCV infection. *Gastroenterology*. 2011;141:1220-30.
- Brenchley JM, Price DA, Schacker TW, Asher TE, Silvestri G, Rao S, et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat Med*. 2006;12:1365-71.
- Urbaschek R, McCuskey RS, Rudi V, Becker KP, Stickel F, Urbaschek B, et al. Endotoxin, endotoxin neutralizing-capacity, sCD14, sICAM-1, and cytokines in patients with various degrees of alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res*. 2001;25:261-8.
- Harte AL, da Silva NF, Creely SJ, McGee KC, Billyard T, Youssef-Elabd EM, et al. Elevated endotoxin levels in non-alcoholic fatty liver disease. *J Inflamm (Lond)*. 2010;7:15.
- Pastor Rojo O, López San Román A, Albéniz Arbizu E, de la Hera Martínez A, Ripoll Sevillano E, Albillos Martínez A. Serum lipopolysaccharide-binding protein in endotoxemic patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2007;13:269-77.
- Aukrust P, Berge RK, Müller F, Ueland PM, Svardal AM, Frøland SS. Elevated plasma levels of reduced homocysteine in common variable immunodeficiency—a marker of enhanced oxidative stress. *Eur J Clin Invest*. 1997;27:723-30.
- Aukrust P, Svardal AM, Müller F, Lunden B, Berge RK, Ueland PM, et al. Increased levels of oxidized glutathione in CD4+ lymphocytes associated with disturbed intracellular redox balance in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Blood*. 1995;86:258-67.
- Freedman AS, Friedberg JW, Aster JC. Clinical presentation and diagnosis of non-Hodgkin lymphoma. *UpToDate*, Jan 2012.
- Malamut G, Verkarre V, Suarez F, Viallard J-F, Lascaux A-S, Cosnes J, et al. The enteropathy associated with Common Variable Immunodeficiency: the delineated frontiers with Celiac Disease. *Am J Gastroenterol*. 2010;105:2262-75.