



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL  
DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL

**MATILDE CAMPOS CARRÉRA**

**DERMATITE ATÓPICA E IMUNIDADE INATA:  
ASSOCIAÇÃO COM O POLIMORFISMO DO GENE  
DA PROTEÍNA LIGADORA DE MANOSE (MBL2)**

**RECIFE, PE  
2008**

# Matilde Campos Carréra

Dermatite atópica e imunidade inata:  
associação com o polimorfismo do gene da  
proteína ligadora de manose (MBL2)

Tese aprovada pelo colegiado do Doutorado em Medicina Tropical, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Medicina Tropical.

**Orientador:** Prof. Dr. Luiz Cláudio Arraes de Alencar

**Co-orientador:** Prof. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho

Recife, PE  
2008

**Carréra, Matilde Campos**

**Dermatite atópica e imunidade inata: associação com o polimorfismo do gene da proteína ligadora de manose (MBL2) / Matilde Campos Carréra. – Recife: O Autor, 2008.**

**xvii, 79 folhas: il., fig., tab.**

**Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Medicina Tropical, 2008.**

**Inclui bibliografia e anexos.**

**1. Dermatite atópica. 2. Imunidade inata. 3. Lectina de ligação à manose. 4. Polimorfismo. I. Título.**

**616.521**

**CDU (2.ed.)**

**UFPE**

**616.521**

**CDD (22.ed.) CCS2009-007**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)  
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO (PROPEAQ)  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE (CCS)  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL (PPGMEDTROP)

## RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DA DOUTORANDA

### **MATILDE CAMPOS CARRÉRA**

No dia 10 de dezembro de 2008, às 08h00, na Sala Prof. Murillo LaGreca no 3º. and do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CCS/UFPE), os Professores: a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Gisélia Alves Pontes da Silva (UFPE – Membro Externo)**, o Prof. Dr. **Jailson de Barros Correia (UPE – Membro Externo)**, a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho (UFPE – Membro Interno)**, a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Patrícia Muniz Mendes Freire de Moura (UPE – Membro Externo)** e a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Vera Magalhães da Silveira (UFPE - Membro interno)**, componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, argüíram a doutoranda **MATILDE CAMPOS CARRÉRA** sobre a sua Tese intitulada **“DERMATITE ATÓPICA E IMUNIDADE INATA: associação com o polimorfismo do gene da proteína ligadora de manose (MBL2)”**. Ao final da argüição de cada membro da Banca Examinadora e resposta da doutoranda, as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Gisélia Alves Pontes da Silva**

APROVADA

Prof. Dr. **Jailson de Barros Correia**

APROVADA

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho**

APROVADA

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Patrícia Muniz Mendes Freire de Moura**

APROVADA

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. **Vera Magalhães da Silveira**

APROVADA

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Gisélia Alves Pontes da Silva**

**Prof. Dr. Jailson de Barros Correia**

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho**

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Patrícia Muniz Mendes Freire de Moura**

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Vera Magalhães da Silveira**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
REITOR**

Prof. Dr. Amaro Lins

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Prof. Dr. Anísio Brasileiro

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA  
TROPICAL**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Heloísa Ramos Lacerda de Melo

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
MEDICINA TROPICAL**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho

**CORPO DOCENTE**

Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Elizabeth Malagueño de Santana

Heloísa Ramos Lacerda de Melo

Maria do Amparo Andrade

Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho

Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Valdênia Maria Oliveira de Souza

Vera Magalhães da Silveira

All religions, arts and sciences are branches of the same tree. All these aspirations are directed toward ennobling man's life, lifting it from the sphere of mere physical existence and leading the individual towards freedom

Todas as religiões, artes e ciências são ramos de uma mesma árvore. Todas essas aspirações estão dirigidas para enobrecer a vida humana, elevando-a da esfera de mera existência física e levando-a à liberdade individual

*Albert Einstein*

Ao meu pai (*in memoriam*), pelo exemplo que nos deu, pautando sua vida como um homem de reta ação, com princípios rígidos de honestidade, dignidade, fidelidade, pontualidade e sinceridade, com os quais construiu uma família unida pelo amor.

A minha mãe, pelo ambiente de harmonia em que criou os filhos, pelo exemplo de amor verdadeiro, pela proteção e dedicação a toda a família. É o porto seguro, onde podemos ancorar a qualquer momento.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu marido, Jean-François, pela dedicação, paciência e companheirismo durante esta jornada.

Ao meu filho, Marcelo, pela compreensão por tantas privações de nosso convívio nestes anos de estudo.

Às minhas queridas irmãs, Márcia, Mércia e Mônica, pela ajuda constante na divisão de afazeres e de sonhos.

Aos meus sobrinhos, pelo estímulo que sua amizade representou durante a construção desta tese.

Ao Dr. Luiz Cláudio Arraes (LULA), meu orientador, responsável pelo entusiasmo que despertou em mim ao sugerir a lectina como tema, essa fascinante proteína pela qual me apaixonei à primeira leitura.

Ao Dr. Emanuel Sarinho, pelo carinho com que emitiu críticas amenas e válidas na co-orientação desta tese e pelo estímulo nesse percurso.

À Dr<sup>a</sup>. Patrícia Moura, pelo tempo dedicado ao auxílio na preparação do projeto de tese.

Ao Dr. Sérgio Crovella e equipe, composta por Dr. Paulo Roberto de Souza, Lucas Brandão e Rafael Guimarães, pela realização da genotipagem das amostras.

Ao Dr. José Luiz de Lima Filho, Diretor do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, por permitir o uso das instalações para desenvolvimento das genotipagens.

A todos os que fazem o Instituto de Medicina Integrada Prof. Fernando Figueira (IMIP), pessoas que me acolheram com bondade na transição do internato ao

doutorado. Agradeço em especial à Dr<sup>a</sup>. Maria do Rosário S. de A. Lelis de Moura. Coordenadora do Laboratório, à Dr<sup>a</sup>. Suely Arruda, Chefe do ambulatório e aos funcionários do ambulatório, porque todos, cada qual ao seu modo, deram-me a tranqüilidade necessária para concluir esta pesquisa.

Aos meus pares do Hospital Barão de Lucena, Dr<sup>a</sup>. Paula Lobo, Dra. Gerlane Alves e Dr. Fernando Raposo, pela disponibilidade e boa vontade em flexibilizar horários quando necessário.

À Dr<sup>a</sup>. Gisélia Alves Pontes da Silva, orientadora de meu mestrado e minha boa Conselheira durante todo o doutorado;

Aos Professores, Dr. Ricardo Ximenes e Dr<sup>a</sup>. Vera Magalhães, em nome de quem agradeço ao Corpo Docente do Departamento de Medicina Tropical da UFPE, pela perseverança e competência com que desempenham o Magistério Superior.

Aos funcionários do Departamento de Medicina Tropical da UFPE, Sr. Walter Galdino e Sr<sup>a</sup>. Jupira Pinho Ramos, a quem tomo a liberdade também de parabenizar pela competência com que desempenham suas funções.

Ao amigo, Dr. Marcos Nogueira, pela franqueza com que emitiu opiniões, críticas e comentários, auxiliando no aprimoramento de meu senso crítico.

À minha amiga, Dr<sup>a</sup>. Rita Moraes de Brito, companheira e mestra, pelo acolhimento na divisão do saber.

À Dr<sup>a</sup>. Linda Délia Carvalho de Oliveira Pedrosa e Dr<sup>a</sup> Alba Maria Eloy Zaidan, nas pessoas de quem agradeço aos colegas de doutorado, um convívio saudável de estudantes que voltam à Universidade para o crescimento intelectual.

À querida amiga, Dr<sup>a</sup>. Laís Guimarães Vieira e sua equipe, pela seriedade e profissionalismo na execução da análise estatística.

Em especial, agradeço aos pacientes e a suas cuidadoras, por terem partilhado conosco a busca do conhecimento.

## RESUMO

A dermatite atópica apresenta elevada prevalência, principalmente nos países desenvolvidos, o que tem resultado em um importante problema de saúde pública. Esta tese consta de dois artigos. No primeiro, artigo de revisão sob título *Lectina ligadora de manose (MBL) e sua associação clínica com dermatite atópica*, objetivou-se rever algumas das características estruturais e funcionais da lectina ligadora de manose e sua associação clínica com a dermatite atópica. Para tanto, procedeu-se à revisão bibliográfica de trabalhos publicados entre 1980 e 2007, nas bases de dados Biblioteca Nacional de Saúde, BIREME, Lilacs, Medline, sobre vias do sistema complemento, lectina de ligação à manose, alergias e dermatite atópica, dos quais 48 foram utilizados. Em síntese, os autores comprovaram que a lectina de ligação à manose é uma proteína que se une aos carboidratos da superfície dos patógenos e facilita o processo de fagocitose, participando na modulação da inflamação, tanto como uma terceira via do sistema complemento quanto por sua relação com a apoptose da barreira epidérmica. Identificou-se que, embora a literatura apresente evidência razoável da associação da lectina de ligação à manose com doenças infecciosas e auto-imunes, sua relação com as doenças alérgicas ainda suscita muitas dúvidas e precisa ser confirmada. No segundo artigo, sob título *Aspectos clínicos da dermatite atópica e variantes funcionais da proteína ligadora de manose em crianças brasileiras (MBL-2)*, procedeu-se a estudo do tipo exploratório, comparando 131 crianças com dermatite atópica (média de idade  $3,5 \pm 0,3$  anos, variando de três meses a 12 anos) a 165 indivíduos que não apresentavam essa doença (idade média de 10 anos, variando entre quatro e 18 anos), atendidos no Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira, Recife, Pernambuco, Brasil, no período de Agosto de 2006 a Julho de 2008. Após aprovação do comitê de ética e assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido, procedeu-se à avaliação clínica da criança e da gravidade da dermatite atópica, pela conversão em pontos da extensão e da severidade dos sinais e dos sintomas, empregando os critérios do *SCORing Atopic Dermatitis* (SCORAD). As três variantes alélicas do éxon 1 da MBL2 (nas posições 52, 54 e 57) foram genotipadas, assim como as variantes alélicas das regiões promotoras H/L e X/Y, empregando reação de cadeia de polimerase. As frequências alélicas e genotípicas foram calculadas pela contagem direta gênica e o teste de qui quadrado foi usado para comparação pareada em tabelas de contingência 2x2 e 3x2, em nível de significância de 5%. No grupo de crianças com dermatite atópica, identificou-se frequência significativamente maior do alelo O, dos genótipos AO e OO e de produtores defeituosos (baixos e deficientes), quando se consideraram os promotores H/L e X/Y. Concluiu-se que crianças com dermatite atópica apresentaram mais freqüentemente o alelo O e genótipos AO e OO, que se associaram aos níveis mais baixos de MBL, podendo ser mais um fator da complexa etiologia da dermatite atópica.

Palavras-chave: Dermatite atópica. Alergia. Imunidade inata. Lectina de ligação à manose. Polimorfismo.

## ABSTRACT

Atopic dermatitis presents a high prevalence mainly in developed countries, resulting in an important public health problem.

This thesis includes two articles. The first one, a revision article under the title: *Mannan binding lectin and its clinical association to atopic dermatitis* aimed to proceed a bibliographic revision of some structural and functional characteristics of mannanose binding lectin and its clinical association to atopic dermatitis. A bibliographic revision of articles, published from 1980 to 2007, was performed in National Health Library, BIREME, Lilacs and Medline databases, on complement system pathways, mannan binding lectin, allergies and atopic dermatitis. Forty eight articles were used. The authors proved that mannan binding lectin is a protein that binds to carbohydrates of pathogens surface and facilitates the process of fagocytosis, participating in the modulation of inflammation as a third pathway of complement system, as well as by its relation to apoptosis of epidermal barrier. Although literature presents reasonable evidence of the association of mannan binding lectin with infectious and auto-immune diseases, its relation with allergic diseases still excites many doubts and needs to be confirmed. Within the second article, under the title *Clinical aspects of atopic dermatitis and functional variants of mannan binding lectin in Brazilian children (MBL2)*, one has proceeded to an exploratory study comparing 131 children with atopic dermatitis (mean age of  $3.5 \pm 0.3$  years, varying from three months to 12 years old) to 165 individuals not presenting this disease (mean age equal to 10 years, varying from four to 18 years old), attempted at Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira, Recife, Pernambuco, Brazil, from August 2006 to July 2008. After Ethics Committee approval and signature of Free Informed Consent Term, one has proceed to clinical evaluation of children and severity of atopic dermatitis, by converting extension, and severity of signs and symptoms in grades according to Scoring Atopic Dermatitis (SCORAD) criteria. Three allelic variants of MBL2 exon1 (positions 52, 54 and 57) and allelic variants of promoter regions H/L and X/Y were genotyped, by polimerase chain reaction. Allelic and genotype frequencies were calculated by direct genic count and Qui Squared test was performed for pairwise comparison using 2x2 and 3x2 contingency tables, within 5% significance level. Children with atopic dermatitis had frequencies significantly major of genotypes AO and OO, as well as of defective producers (low and deficient), considering H/L and X/Y promoters. The author concluded that children with atopic dermatitis more frequently presented allele O and genotypes AO and OO, which were associated to lower levels of MBL, indicating that it may be one more factor of the complex etiology of atopic dermatitis.

Keywords: Atopic dermatitis. Allergy. Innate immunity. Mannan binding lectin. Polymorphism.

## LISTA DE FIGURAS

Figura I.1 – Representação esquemática das vias de ativação do complemento	34
Figura I-2 – Estrutura em forma de tulipa da MBL.....	35
Figura II-1- Modelo proposto para a participação da MBL na patogenia da dermatite atópica.....	54

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Freqüências das variantes do éxon-1 da MBL2 em 165 crianças do grupo de comparação e 131 crianças com dermatite atópica .....	50
Tabela 2 – Distribuição da gravidade da dermatite atópica segundo as variantes alélicas do éxon 1 do gene da MBL2 em 131 crianças .....	50
Tabela 3 – Freqüência das variantes alélicas das regiões promotoras e do <i>éxon-1</i> do gene da MBL2, em 131 crianças com dermatite atópica.....	51
Tabela 4 – Distribuição da gravidade da dermatite atópica segundo polimorfismo das regiões promotoras e do éxon 1 do gene da MBL2 em 131 crianças com dermatite atópica.....	51

## LISTA DE SIGLAS

ABI® – *Applied Biosystems*®

AMP – Monofosfato de adenosina

APC – Células apresentadoras de antígenos

C1q – Fração 1q do complemento

C1r – Fração 1r do complemento

C1s - Fração 1s do complemento

CD – Domínio de grupos de linfócitos

CGC – Citosina-Guanina-Citosina

CRD – Domínio de reconhecimento de carboidrato

DA – Dermatite atópica

Fc – Região ou fragmento cristalizável de receptores de anticorpos localizados na superfície de células de defesa

GAC – Guanina-Adenina-Citosina

HIV - Vírus da imunodeficiência humana

HTLV – Virus linfotrópico de células T

IgE – Imunoglobulina E

IL - Interleucina

LES – Lupus eritematoso sistêmico

MASP - Manose associada à serina-protease

MBL – Lectina ligadora de manose

MDC – Quemocina derivada de macrófagos

NF-Kb – Fator nuclear kappa B

NK – Linfócitos *Natural Killer*

PAMP – Padrões moleculares associados a patógenos

PGD E – Prostaglandina E

PRR – Receptores-padrão de reconhecimento

q11.2-q21 – Genes da MBL localizados no braço longo do cromossomo 10

RNA – Ácido ribonucléico

SCORAD – Pontuação da dermatite atópica

Th2 – Linfócitos Th2

TLR – Receptores *Toll like*

TSST – Toxina da síndrome do choque tóxico

## **LISTA DE SÍMBOLOS**

ng/mL – nanograma por mililitro

---

## Publicações

Este estudo (pesquisa) deu origem até o momento a dois artigos, o primeiro já aceito pela RBM e o segundo enviado para a revista *Allergy – European Journal of Allergy and Clinical Immunology*.

A pesquisa envolveu o Instituto Materno-Infantil Prof. Fernando Figueira, Recife-Pernambuco, o Departamento de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco e o Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA.

# SUMÁRIO

RESUMO .....	x
ABSTRACT.....	xi
LISTA DE FIGURAS .....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE SIGLAS.....	xiv
LISTA DE SÍMBOLOS .....	xv
<b>REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>18</b>
Referências.....	26
<b>ARTIGO I - LECTINA LIGADORA DE MANOSE (MBL) E ASSOCIAÇÃO COM DOENÇAS ALÉRGICAS COM ÊNFASE NA DERMATITE ATÓPICA .....</b>	<b>28</b>
Resumo .....	30
Introdução.....	30
A importância da MBL na dermatite atópica.....	32
<i>Imunidade Inata</i> .....	32
<i>Barreira da pele</i> .....	37
<i>MBL e dermatite atópica. Qual a relação?</i> .....	38
Considerações Finais .....	40
Summary .....	40
Referências.....	41
<b>ARTIGO II - ASPECTOS CLÍNICOS DA DERMATITE ATÓPICA E VARIANTES FUNCIONAIS DA PROTEÍNA LIGADORA DE MANOSE EM CRIANÇAS BRASILEIRAS (MBL-2).....</b>	<b>44</b>
Abstract .....	46
Introdução.....	47
Métodos.....	48
Resultados.....	49
Discussão .....	51
Referências.....	55
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>58</b>
Apêndice A - Termo de consentimento livre e esclarecido .....	60
Apêndice B - Modelo do Questionário - Dermatite atópica.....	62
Apêndice C – Artigo em idioma inglês.....	65
ANEXO I – Aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa.....	76
ANEXO II - Critérios diagnósticos de Hanifin & Rajka para dermatite atópica.....	77
ANEXO III – Confirmação de aceitação da Revista Brasileira de Medicina – ISSN 0034-7264.....	78
ANEXO IV – Envio do artigo para a revista Allergy – registro ALL-2008-00928 .....	79

## REVISÃO DA LITERATURA

Já se passaram 60 anos desde que Sir Frank Macfarlane Burnet e John McCrea identificaram três inibidores séricos, denominados  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , capazes de inativar o vírus da influenza. São decorridos mais de 30 anos da caracterização de o inibidor  $\beta$  ser a proteína lectina ligadora de manose (MBL), um componente de imunidade inata. Nesse período, as pesquisas sobre MBL foram direcionadas a quatro grandes áreas: bioquímica, imunquímica incluindo a genética molecular, microbiologia e imunodeficiência, para investigação clínica e caracterização de suas funções (Dommett *et al.*, 2006).

A MBL é uma glicoproteína de alto peso molecular, formada por 248 aminoácidos e pertencente à família das colectinas cálcio-dependentes, com estrutura e função similares às do fator C1q da via clássica do sistema complemento (Annels *et al.*, 2005, Ezekowitz, 1991, Schimiegelow *et al.*, 2002, Tsutsumi *et al.*, 2005). É uma proteína pluripotente que auxilia na remoção e eliminação de antígenos; é responsável pela remoção de células apoptóticas; liga-se aos açúcares da parede dos patógenos promovendo uma opsonização, facilitando a fagocitose pelos macrófagos, e é importante nos estágios iniciais de infecções (Cardinale *et al.*, 2001, Dahl *et al.*, 2004, Ezekowitz, 1991, Kronborg *et al.*, 2002, Nauta *et al.*, 2002, Ryley *et al.*, 1991, Tsutsumi *et al.*, 2005, Valdimarsson *et al.*, 1998, Vasta *et al.*, 1999). Esta lectina, por outro lado, não se liga a superfície das células humanas normais porque nestas os açúcares terminam em ácido siálico que não são ligadores (Turner, 2003).

O nível de MBL aumenta durante os três primeiros meses de vida, posteriormente se estabiliza aos níveis do adulto, parecendo ser um importante componente do sistema de defesa antimicrobiano neste período, com significativo papel no combate a infecção (Thiel *et al.*, 1995).

Cada indivíduo tem uma concentração plasmática de MBL que lhe é característica, mas sua produção hepática é aumentada durante a fase aguda da

resposta imune inata, quando forma um complexo com duas proteases zimogênicas (MASP-1 e MASP-2) para se ligar à superfície do patógeno (Casanova, Abel, 2004, Chen, Wallis, 2004, Shi-Qiang *et al.*, 2005). Significa dizer que a deficiência da MBL poderia levar a redução da função de remoção de resíduos e de antígenos levando a permanência destes no tecido afetado o que poderia desencadear e até contribuir para a manutenção da resposta Th2 (Jack *et al.*, 2001).

Quanto aos estudos de genética molecular, a investigação dos genes envolvidos na resposta imune a determinadas doenças (alérgicas, auto-imunes e infecciosas) permitiu construir uma complexa rede de informações e traçar novos caminhos tanto para o entendimento da saúde humana, como para o desenvolvimento de métodos diagnósticos e tratamentos individualizados e eficazes.

Esses estudos permitiram ainda identificar que o gene da MBL localiza-se no braço longo do cromossomo 10 e pode apresentar três variantes alélicas do gene, que codificam proteínas estrutural e funcionalmente diferentes (Berrón-Perez *et al.*, 2003, Kazunori *et al.*, 2004, Turner, 1996). As variações alélicas no gene foram identificadas nos códons 52, 54 e 57 do éxon-1 da MBL, e nas posições -550 (alelos H/L) e -221 (alelos X/Y) da região promotora (Hibberd *et al.*, 1999, Kronborg *et al.*, 2002, Madsen *et al.*, 1998).

Quanto às variantes alélicas do éxon-1 da MBL, os indivíduos podem ser considerados como não produtores de MBL – portadores de mutação nos dois alelos, classificados como OO; produtores normais de MBL – não portadores de mutação, classificados como AA (tipo selvagem) ou ainda baixos produtores – portadores de mutação em um alelo, denominados tipo heterozigoto AO (Boniotto *et al.*, 2001). O desequilíbrio de ligação no polimorfismo de um único nucleotídeo na região promotora e no éxon-1 é responsável pela ocorrência de sete alótipos (em contraste com as 64 possibilidades teoricamente possíveis), que estão associados a concentrações séricas progressivamente decrescentes de MBL (Boldt *et al.*, 2006).

Esses haplótipos têm sido associados com a predisposição ou a severidade de várias doenças infecciosas, auto-imunes ou por imunodeficiência, na criança e

em indivíduos na idade adulta (Eisen, Minchincon, 2003, Kilpatrick, 2002), porque a MBL liga o sistema imune inato humano ao sistema imune adaptativo (Ip *et al.*, 2004, Wallis, 2003). Essa ligação ocorre quando as múltiplas cabeças reconhecedoras de carboidratos da MBL se ligam na superfície de uma grande variedade de microorganismos, incluindo bactérias, fungos, vírus e protozoários, gerando uma cascata de reações que ativam o sistema complemento (Ip *et al.*, 2004, Mullighan *et al.*, 2000, Wallis, 2003).

Na imunidade inata, há uma variedade de mecanismos efetores para combater uma infecção, até que o antígeno possa ser reconhecido pelo sistema imune adaptativo (Lima, 2004), constituindo o primeiro sistema de defesa (Turner, 1998). Dentre esses mecanismos estão: a ação das células dendríticas e das células *Natural Killer* (NK), consideradas as principais células envolvidas nesse sistema, e a ativação do complemento pela via das lectinas (Cooper *et al.*, 2004; Sepúlveda, Puente, 2000).

As células dendríticas atuam como apresentadoras de antígeno e têm importante função na indução da resposta imune adaptativa (Geijtenbeek *et al.*, 2000). Na superfície das células apresentadoras de antígenos, encontram-se os receptores padrão de reconhecimento (PRR) que identificam os padrões moleculares associados ao patógeno (PAMP) presente na estrutura do microrganismo. Juntamente com esse reconhecimento entre PRR e PAMP, a ligação das citocinas pró-inflamatórias às células de Langerhans parece ser de fundamental importância, pois ativa tanto o processamento do antígeno como também sua migração para os linfonodos. Durante a migração, as células de Langerhans tornam-se maduras e altamente especializadas na apresentação do antígeno via complexo maior de histocompatibilidade classe II e capazes de ativar as células T *naive* nos linfonodos, fazendo com que eles migrem pela via eferente para o sítio de infecção, mais especificamente para os queratinócitos, como células T efetoras (Ezekowitz, 2003).

As células NK podem matar células alvo, uma variedade de vírus, fungos, bactérias e parasitas, tanto pelo contato direto na ausência de um anticorpo, como também pela citotoxicidade celular dependente de anticorpo (Cooper *et al.*, 2004).

O sistema de complemento (SC) consiste num arranjo multimolecular complexo e altamente evoluído, que não apenas protege o indivíduo dos microorganismos, mas também contribui na ativação e regulação de outros sistemas, especificamente o sistema imunológico adaptativo, atuando na resposta imunológica clonal (Gadjeva *et al.*, 2004, Janeway *et al.*, 2002). A ativação do complemento pela via das lectinas decorre de uma íntima associação entre manose e serina-protease, originando a proteína manose associada à serina-protease (MASP). A ligação da MASP ocorre no domínio rico em cisteína da MBL de modo que circulam como um complexo. A MBL ao reconhecer os carboidratos dos patógenos, principalmente manose, N-acetilglucosamina e fucose, realiza a auto-clivagem da MASP de forma que a porção que permanece associada à MBL ativa o sistema complemento através da clivagem de seu componente C4, promovendo: resposta inflamatória, lise celular, aumento da fagocitose pela opsonização de antígenos particulados, neutralização viral, além de solubilização e clareamento de complexos imunológicos (Dodds, 2002).

A caracterização das funções da MBL nas infecções bacterianas e virais por meio de investigações clínicas tem sido tema de diversos trabalhos. Hiberd *et al.* (1999), ao observarem que, em crianças com doença meningocócica, a proporção de indivíduos homocigotos para alelos variantes de MBL foi maior que nos controles, justificam esse resultado pelo fato de a imunidade inata responder pela proteção contra a *Neisseria meningitidis* no período anterior ao da produção de anticorpos específicos. Assim, indivíduos deficientes nos componentes da via alternativa do sistema complemento são mais susceptíveis à doença meningocócica como também para outras infecções recorrentes, mesmo na presença de anticorpos específicos.

Jack *et al.* (2001) atribuem à MBL função na modulação da resposta imunológica ao constatarem que concentração baixa de MBL atua como protetora para a evolução mais grave de infecções por patógenos extracelulares, porque promove redução da liberação de citocinas pró-inflamatórias e, portanto, da resposta inflamatória. Essa constatação também foi comprovada para a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV).

A resistência à infecção por HIV-1 tem sido explicada por altas

concentrações de MBL, entretanto, uma vez infectados, tais indivíduos podem ter evolução mais rápida da doença. Este aspecto paradoxal da MBL tem sido explicado por sua habilidade em ativar a via clássica do complemento na partícula do HIV. Os estudos mostram ainda que a região promotora do gene MBL2 influencia na transmissão vertical do HIV e no curso da infecção perinatal (Boniotto *et al.*, 2001, Crovella *et al.*, 2004, Madsen *et al.*, 1995, Vallinoto *et al.*, 2005). Pontes *et al.* (2005) referem uma forte associação entre o polimorfismo do gene MBL e a infecção pelo vírus HTLV, sendo mais susceptíveis a ela os baixos produtores de MBL.

A função da MBL nas doenças auto-imunes tem sido alvo de controvérsia. Demonstrou-se que a alta frequência de polimorfismo da MBL está correlacionada com a fisiopatologia do lupus eritematoso sistêmico (LES) e da doença celíaca, visto que baixos níveis de MBL parecem ser um fator de risco por interferirem na remoção dos resíduos celulares, estimulando o sistema imune a responder contra as próprias moléculas (Jack *et al.*, 2001, Janeway *et al.*, 2002). No entanto Takahashi *et al.* (2005) relatam que, apesar do polimorfismo do gene da MBL2 influenciar na susceptibilidade para o LES, não tem efeito direto nas características da doença.

Muito já se sabe sobre a deficiência da MBL e o seu polimorfismo na gênese e no agravamento de quadros infecciosos e auto-imunes. Papéis tão abrangentes, em doenças de caráter tão diverso levam a questionamentos acerca do possível papel do polimorfismo da MBL também na DA, daí a proposta do presente estudo de contribuir para melhor compreensão do papel desta lectina. Pelo fato de a MBL também ser uma molécula imunomoduladora da inflamação e ter um papel fisiológico importante em crianças, na faixa etária em que a DA é mais frequente, a associação desta lectina na etiopatologia da doença é uma possibilidade que deve ser investigada.

A DA é considerada polo inflamatório da diátese atópica, visto que, em geral, os sintomas de DA antecedem a asma e a rinite, sugerindo que a DA é o ponto de início para as demais doenças alérgicas. Isso tem levado os pesquisadores a aventar a possibilidade de uma marcha atópica, caracterizada por uma seqüência progressiva de sinais clínicos de DA, asma e rinite alérgica, com alguns sintomas predominando à medida que outros vão desaparecendo (Boguniewicz, Leung,

2006, Spergel, Paller, 2003).

É uma doença de diagnóstico eminentemente clínico, embasado na presença de um conjunto de sintomas e sinais maiores e menores, dentre os quais prevalecem: prurido, dermatite crônica que se reativa periodicamente, diminuição da resistência a infecções cutâneas, em presença de história familiar de atopia, embora seja necessária a presença da lesão eczematosa, em algum momento da doença, para o seu diagnóstico (Lima, 2004, Sampaio, Rivitti, 1998, Sanz, 2000, Vivier, Mckee, 1997). A DA determina um quadro de desconforto em quem a possui e em seus familiares, não só por seus aspectos clínicos e pelo prurido que ocasiona, mas também por interferir nas atividades diárias e no sono (Cohen, 2000).

Ainda nos dias atuais, a DA suscita questionamentos de pesquisadores em todo o mundo (Boguniewicz, Leung, 2006, Folster-Holst *et al.*, 2006), inclusive nos países desenvolvidos, onde sua prevalência vem aumentando nos últimos vinte anos em detrimento das doenças infecciosas, com uma estimativa de 10% a 15% (Folster-Host *et al.*, 2006, Janeway *et al.*, 2002, Lima, 2004).

Sua natureza multifatorial engloba complexo mecanismo neuro-imuno-endócrino (Janeway *et al.*, 2002, Lima, 2004, Sampaio, Rivitti, 1998). Dentre os fatores não imunológicos de sua gênese estão: alterações metabólicas no metabolismo dos hidratos de carbono e dos ácidos graxos essenciais, deficiência de ácido linoleico; fatores fisiológicos, como alterações do manto lipídico e xerose cutânea, e fatores farmacológicos como a diminuição do efeito inibitório das catecolaminas, diminuição dos níveis AMP cíclico (Sampaio, Rivitti, 1998, Vivier, Mckee, 1997).

Atualmente, é considerada doença de relevante interesse na área de imunologia clínica, devido à complexidade de seu mecanismo imunopatológico, que envolve a imunidade inata e a adaptativa. O marcador patognomônico de DA é a infiltração do tecido afetado por linfócitos Th<sub>2</sub>, principalmente na fase aguda, podendo-se encontrar alguns linfócitos Th<sub>1</sub> na fase crônica (Grumach, 2000, Sanz, 2000). Considera-se que a interleucina 4 (IL-4) esteja diretamente implicada no mecanismo patogênico da dermatite atópica por atuar sobre os linfócitos B aumentando a expressão de antígenos de superfície (MHCII e CD23) e contribuindo, de modo importante, na produção de imunoglobulina E (IgE), por

meio da conversão de linfócito B em células produtoras desta imunoglobulina (Grumach, 2000). A IgE leva à formação de imunocomplexos circulantes e em depósito na pele, capazes de reagir com receptores Fc do macrófago, células de Langerhans e células T, mantendo a liberação de leucotrienos, PGD-E e linfoquinas (Rosen, Geha, 2002).

A célula T, quando ativada na DA, irá produzir grande quantidade de interferon, que ao ativar os macrófagos, promove a expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais e epiteliais, devido a ação também dos fatores estimuladores da formação de colônias. Concomitantemente ocorre degranulação contínua ou intermitente dos mastócitos, com liberação de vários mediadores: PGD<sub>2</sub>, histamina, leucotrienos que agravam o eritema, o prurido e a destruição tissular (Ellis *et al.*, 2003, Sampaio, Rivitti, 1998). O aumento da IL-5 reduz a apoptose celular, resultando na sobrevida de eosinófilos e macrófagos na pele, sendo esta uma das possíveis explicações da cronicidade da doença (Grumach, 2000, Lima, 2004).

Admite-se ainda a possível participação de antígenos bacterianos, particularmente do *Staphylococcus aureus* atuando na patogenia da dermatite atópica, através da liberação de superantígenos TSST –1 (*toxic shock syndrome toxin-1*), que são moléculas capazes de induzir alterações nos linfócitos T. (Janeway *et al.*, 2002).

Na DA, ocorre também uma depressão da imunidade celular, evidente na susceptibilidade a infecções virais, bacterianas e fúngicas. Aparentemente a população linfocitária está diminuída, inclusive de linfócitos T supressores (CD8). Ocorre ainda redução da capacidade de lise de células TCD8, da citotoxicidade das células NK até da citotoxicidade mediada por anticorpos (Lima, 2004, Sampaio, Rivitti, 1998). Na imunidade inata, há alteração na quimiotaxia dos neutrófilos, monócitos e macrófagos, que mostram redução da fagocitose com favorecimento da colonização cutânea por estafilococos.

A DA ainda representa um desafio para os cientistas que buscam uma terapêutica eficiente que evite a recrudescência da doença, mas esbarram na sua fisiopatologia que é complexa e multifatorial; envolve várias áreas do conhecimento como imunologia, biologia molecular, bioquímica e genética, o que

torna fascinante e instigante a tentativa de desvendar cada pequena parte deste mistério.

Na literatura pesquisada até o momento, foi encontrado apenas um trabalho relacionando MBL com DA, apesar disso o papel e importância dessa proteína nas doenças infecciosas, auto-imunes e alérgicas é referido por diversos autores. Por analogia, é possível que possa ter importância também na DA, justificando o interesse em contribuir para um melhor conhecimento da complexa etiofisiopatologia desta doença. Concentramos nossa pesquisa na imunidade inata, com a pergunta: existe associação do polimorfismo do gene MBL-2 com a DA em crianças brasileiras?

Nosso objetivo principal foi tentar responder a esse questionamento e secundariamente comparar a frequência do genótipo, do polimorfismo das variantes alélicas do éxon-1 e da região promotora do gene MBL-2 de pacientes com DA a um grupo de indivíduos sem DA e comparar a frequência do genótipo MBL-2 de pacientes com DA leve àqueles com DA moderada ou grave.

Esta tese está apresentada sob forma de dois artigos. O primeiro artigo, sob título ***Lectina ligadora de manose (MBL) e associação com doenças alérgicas com ênfase na dermatite atópica*** consistiu numa revisão de algumas características estruturais e funcionais da lectina ligadora de manose e suas associações clínicas com a dermatite atópica. O artigo já foi aceito para publicação na Revista Brasileira de Medicina (Anexo III).

O segundo artigo, sob tema ***Dermatite atópica e variantes funcionais da proteína ligadora de manose em crianças brasileiras (MBL-2)***, teve por objetivo investigar em pacientes com dermatite atópica a presença das variantes funcionais da proteína ligadora de manose (MBL-2) e a persistência desse padrão nos pacientes com as formas mais graves da doença. O artigo foi encaminhado para publicação na revista *Allergy – European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, registrado sob nº. ALL-2008-00928.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Materno Infantil Professor Fernando Figueira, sob nº. 773, em 04 de Agosto de 2006 (Anexo I).

## Referências

- Annells MF, Prust H, Mullighan CG, *et al.* Polymorphisms in immunoregulatory genes and the risk of histologic chorioamnionitis in Caucosoid women. A case control study. *BMC Pregnancy Childbirth* 2005;5:4.
- Berrón-Perez R, Penagos-Paniagua MJ, Zaragosa-Benítez JM, Rodríguez-Álvares J, Blancas-Galicia L. El sistema del complemento. Vías clásica y de la lectina que se une a la manosa. *Alergia, Asma Immunol Pediatr* 2003;12(2):46-52.
- Boguniewicz M, Leung DYM. Atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117(2):475-480.
- Boldt ABW, Culpi L, Tsuneto LT, Souza IR, Kun JFJ, Petzl-Erler ML. Diversity of the MBL2 gene in various Brazilian populations and the case of selection at the mannose-binding lectin locus. *Human Immunol* 2006;67:722-734.
- Boniotto M, Crovella S, Pirulli D, Scarlatti G, Spanò A, Vatta L, *et al.* Polymorphisms in the MBL2 promoter correlated with risk of HIV-1 vertical transmission and AIDS progression. *Genes Immun* 2001;1:346-348.
- Cardinale F, Cavallone R, Caló A, Loffredo MS, Armenio L. La mannose-binding dell'immunità innata implicato in molte patologie. *Ital J Pediatr* 2001;27:750-756.
- Casanova JL, Abel L. Human mannose-binding lectin in immunity. Friend, foe or both? *J Experimental Med* 2004;199(10):1295-1299.
- Chen CB, Wallis R. Two mechanisms for mannose-binding protein modulation of the activity of its associated serine proteases. *J Biol Chem* 2004;279(25):26058-26065.
- Cohen BA. Erupções papuloescamosas. In: *Dermatologia pediátrica*. 2<sup>nd</sup> ed. São Paulo: Manole. 2000.
- Cooper MA, Fehniger TA, Fuchs A, Colonna M, Caligiuri MA. NK cell and DC interactions. *Trends Immunol* 2004;25(1):47-52.
- Crovella S, Moura P, Arraes LC. Genótipo MBL2 materno influencia a transmissão vertical em crianças brasileiras, MBL2 mother's genotype influences HIV-1 vertical transmission in brazilian children. *J Bras Aids* 2004;5:199-202.
- Dahl M, Tybjaerg-Hansen A, *et al.* A Population Based Study of Morbidity and Mortality in Mannose-binding Lectin Deficiency. *J Exp Med* 2004;199(10):1391-1399.
- Dodds AW. Which came first, the lectin/classical pathway or the alternative pathway of complement? *Immunobiol* 2002;205:340-354.

Dommett RM, Klein N, Turner MW. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. *J Compilation* 2006;68:193-209.

Eisen DP, Minchinton RM. Impact of mannose-binding lectin on susceptibility to infectious diseases. *Clin Infect Dis* 2003;37:1496.

Ellis C, Luger T, Abeck D, *et al.* International Consensus Conference on Atopic Dermatitis II (ICAAD): clinical update and current treatment strategies. *Br J Dermatol* 2003;148(suppl. 63):3-10.

Ezekowitz RAB. Ante-antibody immunity. *Curr Biol* 1991;1:60-62.

Ezekowitz RAB. Role of the mannose-binding lectin in innate immunity. *J Infect Dis* 2003;187(suppl 2):S335-S339.

Folster-Holst R, Pape M, Buss YL, Christophrrs E, Weichenthal M. Low prevalence of the intrinsic form of atopic dermatitis among adult patients. *Allergy* 2006;61:629-632.

Gadjeva M, Paludan SR, Thiel S, Slavov V, Ruseva M, Eriksson K, *et al.* Mannan-binding lectin modulates the response to HBV-2 infection. *Clin Exp Immunol* 2004;138(2):304-311.

Geijtenbeek TB, Torensma R, van Vliet SJ, van Duijnhoven GC, Adema GJ, van Kooyk Y, *et al.* Identification of DC-SIGN, a novel dendritic cell-specific ICAM-3 receptor that supports primary immune responses. *Cell* 2000;100(5):575-585.

Grumach AS. Alergia e imunologia na infância e adolescência. In: Castro APBM. *Dermatite atópica*. 2000. cap. 16. p. 185-201.

Hibberd ML, Sumiya M, Summerfield JA, Booy R, Levin M, Meningococcal Research Group. Association of variants of the gene for mannose-binding lectin with susceptibility to meningococcal disease. *Lancet* 1999;353:1049-1053.

Ip, W.K.; To, Y.F.; Cheng, S.K. e Lau, Y.L. Serum mannose-binding lectin levels and MBL2 gene polymorphisms in different age and gender groups of Southern chinese adults. *Scand J Immunol* 2004;59:310-314.

Jack DL, Klen NJ, Turner M. Mannose-binding lectin: targeting the microbial world for complement attack and opsonofagocytoses. *Immunol Rev* 2001;180:86-90.

Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M. *Imunobiologia: o sistema imune na saúde e na doença*. 5<sup>nd</sup> ed. Porto Alegre: Artmed. 2002. p. 639-682.

Kazunori G, Yutaka T, Takao K, *et al.* Mannose-binding lectin gene polymorphism is a modulating factor in repeated respiratory infections. *Chest* 2004;126:95-99.

Kilpatrick DC. Mannan-binding lectin and its role in innate immunity. *Transfusion Med* 2002;12:335-351.

Kronborg G, Weis N, Madsen HO, Pedersen SS, Wejse C, Nielsen H, *et al.* Variant mannose-binding lectin alleles are not associated with susceptibility to or

outcome of invasive pneumococcal infection in randomly included patients. *J Infect Dis* 2002;185:1517-1520.

Lima HC. Imunodermatologia clínica da dermatite atópica. In: Tópicos em imunodermatologia clínica. cap. III. São Paulo: Segmento Farma. 2004. p. 43-52.

Madsen HO, Garred P, Thiel S, Kurtzhals JAL, Lamm LU, Ryder LP, *et al.* Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. *J Immunol* 1995;155:3013-3020.

Madsen HO, Satz ML, Hogh B, Svejgaard A, Garred P. Different molecular events result in low protein levels of mannan-binding lectin in populations from southeast Africa and South America. *J Immunol* 1998;161:3169-3175.

Mullingham CG, Marshall SF, Welsh KI. Mannose-binding lectin polymorphisms are associated with early age of disease onset and autoimmunity in common variable immunodeficiency. *Scand J Immunol* 2000;51:111-122.

Nauta AJ, Castellano G, Xu W, Woltman AM, Borrias MC, Daha MR, *et al.* Regulatory effect of INF- $\kappa$ , a novel type I IFN, on cytokine production by cells of the innate immune system. *J Immunol* 2002;169:4822-4830,

Pontes GS, Tamegão-Lopes B, Machado LFA, Azevedo VN, Ishak MOG, Ishak R, *et al.* Characterization of mannose-binding lectin gene polymorphism among human T-cell Lymphotropic virus 1 and 2-infected asymptomatic subjects. *Human Immunol* 2005;66:892-896.

Rosen F, Geha R. Estudos de casos em imunologia. Um Guia Clínico. 3<sup>nd</sup> ed. Caso 35 Dermatite atópica. Porto Alegre. 2002. p. 239-245.

Ryley NG, Heryet AR, Lu J, Reid KBM, Fleming KA. Mannan-binding protein in human liver. *J Immunol Methods*. 1991;141:73-79.

Sampaio SAP, Rivitti EA. Erupções eczematosas. In: Dermatologia. 1<sup>nd</sup> ed. cap. 16. São Paulo: Artes Médicas. 1998. p. 149-160.

Sanz ML. Imunología en dermatitis atópica. *Allergol Immunol Clin* 2000;15(2):17-37.

Schmiegelow K, Garred P, Lausen B, Andreassen B, Petersen BL, Madsen HO. Increased frequency of mannose-binding lectin insufficiency among children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002;100:3757-3760.

Sepúlveda C, Puente J. Natural killer cells and the innate immune system in infectious pathology. *Rev Med Chil* 2000;128(12):1361-1370.

Shi-Qiang S, Chen GX, Yu XH. The Binding of MBL to common bacteria in infectious diseases of children. *J Zhejiang University* 2005;6B(1):53-56.

Spergel JM, Paller AS. Atopic dermatitis and atopic march. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:S118-S127.

- Takahashi R, Tsutsumi A, Ohtani K, Muraki Y, Goto D, Matsumoto I, *et al.* Association of mannose-binding lectin (MBL) gene polymorphism and serum MBL concentration with characteristics and progression of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2005;64:311-314.
- Thiel S, Bjerk T, Hansen D, Poulsen LK, Schiotz PO, Jensenius JC. Ontogeny of human mannan-binding protein lectin of the innate immune system. *Pediatr Allergy Immunol* 1995;6:20-23.
- Tsutsumi A, Takahashi R, Sumida T. Mannose binding lectin: genetics and autoimmune disease. *Autoimmun Rev* 2005;4(6):364-372.
- Turner MW. Mannose-binding lectin (MBL) in health and disease. *Immunobiol* 1998;199:327-339.
- Turner MW. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Mol Immunol* 2003;40:423-429.
- Turner MW. The role of mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol Today* 1996;17(11):532-539.
- Valdimarsson H, Stefansson M, Vikingsdottir T, Arason GJ, Koch C, Thiel S, *et al.* Reconstitution of opsonizing activity by infusion of mannan-binding lectin (MBL) to MBL-deficient humans. *Scand J Immunol* 1998;48:116-123.
- Vallinoto ACR, Menezes-Costa MR, Alves AEM, Machado LFA, Azevedo VN, Souza LLB, *et al.* Mannose-binding lectin gene polymorphism and its impact in human immunodeficiency virus 1 infection. *Mol Immunol* 2005:1-5.
- Vasta GR, Quesemberry M, Ahmed H, O'Leary N. C-Type lectins and galectins mediate innate and adaptive immune functions: their roles in the complement activation pathway. *Developmental Comparative Immunol* 1999;23:401-420.
- Vivier AD, Mckee NH. Eczema. In: *Atlas de Dermatologia Clínica*. 2<sup>nd</sup> ed. Cap.3. São Paulo: Manole. 1997. p. 3-10.
- Wallis, R. Structural basis for mannose-binding protein function in innate immunity. *Immunobiol Carbohydr* 2003;1-12.

**ARTIGO I - LECTINA LIGADORA DE MANOSE (MBL) E  
ASSOCIAÇÃO COM DOENÇAS ALÉRGICAS COM ÊNFASE NA  
DERMATITE ATÓPICA**

(Aceito para publicação na Revista Brasileira de Medicina – ISSN 0034-7264)  
Artigo apresentado segundo as Normas Editoriais da Revista Brasileira de Medicina

LECTINA LIGADORA DE MANOSE (MBL) E ASSOCIAÇÃO COM DOENÇAS  
ALÉRGICAS COM ÊNFASE NA DERMATITE ATÓPICA

Matilde Campos Carréra<sup>1</sup>

Luiz Cláudio Arraes de Alencar<sup>2</sup>

Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho<sup>3</sup>

Departamento de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco

Correspondência

Matilde Campos Carréra

Rua de Apipucos, 193 – Monteiro – Recife – Pernambuco – Brasil

CEP 55012100

Fone (81) 9101-3581

---

<sup>1</sup> Médica Dermatologista do Instituto Materno-Infantil Prof. Fernando Figueira – Recife, Pernambuco, Brasil  
Doutoranda do departamento de Medicina Tropical ( UFPE)

<sup>2</sup> Prof.Dr. do Departamento de Medicina Tropical(UFPE) e coordenador do Centro de Pesquisa Clínica do  
IMIP

<sup>3</sup> Prof. Dr. Da Disciplina de Pediatria da UFPE e coordenador adjunto do Centro de Pesquis de Imunologia e  
Alergia da UFPE

## Resumo

A dermatite atópica é doença inflamatória crônica, que cursa com períodos de acalmia e exacerbação e apresenta aumento da prevalência, principalmente nos países desenvolvidos, o que tem resultado em um importante problema de saúde pública. **Objetivo:** Revisão bibliográfica dos dados relacionados à associação de lectina de ligação à manose e doenças alérgicas, com ênfase na dermatite atópica. **Síntese dos dados:** A lectina de ligação à manose é uma proteína que se liga aos carboidratos da superfície dos patógenos e facilita o processo de fagocitose, participando na modulação da inflamação e da apoptose. **Conclusão:** Embora a literatura apresente evidência razoável da associação da lectina de ligação à manose com doenças infecciosas e auto-imunes, sua relação com as doenças alérgicas ainda suscita muitas dúvidas e precisa ser confirmada, porque o entendimento da função dessa proteína nestas doenças ainda é escasso. Em relação à dermatite atópica, há apenas dois trabalhos publicados.

Palavras-chave: Dermatite atópica. Alergia. Imunologia. Lectina de ligação à manose. Polimorfismo

## Introdução

A dermatite atópica (DA) é uma doença inflamatória pruriginosa, crônica, que cursa com períodos de acalmia e exacerbação. Tem etiopatogenia multifatorial, englobando um complexo mecanismo neuroimunendócrino e fatores ambientais, no qual, em alguns casos, há alérgenos alimentares envolvidos<sup>1,2,3,4</sup>.

O diagnóstico é eminentemente clínico, baseado nos critérios de Hanifin-Rajka<sup>5</sup>, com sintomas e sinais principais e secundários. As condições principais são: prurido, cuja presença é condição essencial para o diagnóstico; dermatite crônica, que se reativa periodicamente e história de atopia pessoal e familiar. A morfotopografia lesional, ou seja, a distribuição e a morfologia das lesões variam segundo as faixas etárias. Em lactentes, a DA tem caráter principalmente inflamatório e atinge de forma preferencial a face e as regiões extensoras dos membros, enquanto, em crianças maiores e adolescentes, apresenta-se com menor grau de inflamação e maior liquenificação, atingindo, sobretudo, as regiões flexurais. As condições secundárias são representadas por: xerose, ptíriase alba, ceratose pilar e palmo-plantar, palidez, eritema facial, dupla prega infra-orbital, hipersensibilidade alimentar, dermografismo branco e tendência a infecções cutâneas. O

acometimento infeccioso da pele é comum devido à redução da imunidade celular, resultando em crescimento bacteriano exacerbado, sobretudo de *Staphylococcus aureus*, fungos e vírus<sup>5</sup>.

Apesar de a maior parte dos aspectos clínicos da dermatite atópica ser consequência direta de anormalidades da imunidade adquirida e de disfunções da barreira da pele, a imunidade inata também está alterada nessa enfermidade, do que derivam as infecções cutâneas secundárias por vírus, bactérias e fungos nesses pacientes<sup>6</sup>. A imunidade inata representa todos os mecanismos congênitos de defesa, que protegem o indivíduo imediatamente contra quaisquer substâncias ou formas vivas potencialmente prejudiciais. Os receptores congênitos de patógenos, expressos em todas as células imunológicas, percebem bactérias e vírus por um mecanismo padrão único, que tem como vantagem o baixo risco de desenvolvimento de auto-imunidade, mas a desvantagem de não haver melhora da imunidade pela exposição repetida ao patógeno<sup>7,8,9</sup>.

Dentre as proteínas do sistema imunológico inato, está a subfamília das colectinas, que possuem na molécula uma região de colágeno e outra composta por domínios de lectina. Essa subfamília é formada pelas proteínas surfactantes pulmonares e pela lectina de ligação à manose (MBL – *mannose binding lectin*), que se liga aos carboidratos N-acetil-D-glicosamina, manose, N-acetil-manosamina, fucose e glicose, presentes numa grande variedade de vírus, bactérias, fungos e protozoários em cujo envoltório estejam presentes esses açúcares<sup>10</sup>.

Associada às alterações da imunologia inata, as disfunções da barreira epidérmica são um dos principais aspectos na fisiopatologia da dermatite atópica, dependente do aumento da perda hídrica trans-epidérmica derivada de alterações protéicas e lipídicas. De acordo com os conhecimentos atuais, a dermatite atópica parece derivar de uma sensibilização trans-epidérmica a alérgenos na infância precoce, que seria um pré-requisito para o aumento específico de imunoglobulina E (IgE), constatada após a maturação imunológica. A fragilidade da barreira epidérmica permite o contato entre os alérgenos e o sistema imunológico e influencia o desenvolvimento da dermatite atópica e a marcha atópica<sup>11</sup>.

O objetivo deste artigo é rever algumas das características estruturais e funcionais da lectina de ligação à manose e suas associações clínicas com a dermatite atópica.

## ***A importância da MBL na dermatite atópica***

Os pacientes com dermatite atópica são mais susceptíveis a infecções virais, bacterianas e fúngicas, assim como a doenças inflamatórias da pele. A deficiência de MBL foi inicialmente reconhecida como um defeito de opsonização nas crianças que apresentavam infecções frequentes e inexplicadas de difícil controle. A observação desses casos alertou os pesquisadores para a relação entre dermatite atópica e defeito congênito imunológico<sup>6</sup>.

A pele, como outros órgãos de interface com o meio ambiente controla a integridade do organismo provendo-lhe a primeira linha de defesa assim como as respostas imunológicas adaptativas para prevenção e controle da invasão microbiológica. Os mecanismos desenvolvidos durante a evolução foram adaptados a uma grande variedade de estratégias dos agentes agressores para atacar a pele. Por este motivo, os mecanismos de defesa epidérmicos e dérmicos envolvem múltiplos tipos celulares e vias moleculares. Os principais componentes de proteção são: a imunidade inata por meio das MBL, das proteínas de ligação nucleotídeo com domínio de oligomerização, os receptores *Toll-like*, assim como a barreira epidérmica<sup>12,13,14</sup>.

### ***Imunidade Inata***

O sistema imunológico está dividido em inato e adaptativo. A imunidade adaptativa depende do encontro entre as células apresentadoras de antígeno e os patógenos, para desencadear a resposta imunológica pelas células T e B maduras, o que pode levar alguns dias após o nascimento. A imunidade inata está geneticamente codificada e constitui-se de receptores e proteínas antimicrobianas que permitem resposta imediata aos patógenos, oferecendo proteção crítica enquanto a resposta adaptativa matura<sup>12</sup>.

A imunidade inata consiste na primeira linha de defesa contra bactérias, vírus, fungos e protozoário e se encontra presente de forma universal nos organismos. Os receptores da imunidade inata foram desenvolvidos durante o processo de evolução, em passos seqüenciais, enquanto os receptores das células da imunidade adquirida foram desenvolvidos durante os rearranjos gênicos, derivados da recombinação genética e do

contato com patógenos<sup>15,16</sup>. No entanto, deve-se ressaltar que, *in vivo*, os dois sistemas atuam harmonicamente e intimamente ligados.

O sistema imune inato usa uma diversidade de receptores que reconhecem o agente agressor, sinalizam as respostas induzidas pela inflamação e facilitam o recrutamento de novas células efetoras do que resultará a resposta imune adaptativa. Alguns dos receptores de imunidade inata também estimulam a fagocitose diretamente, outros a promovem através da opsonização ou ainda podem facilitar a ativação do sistema complemento<sup>17</sup>.

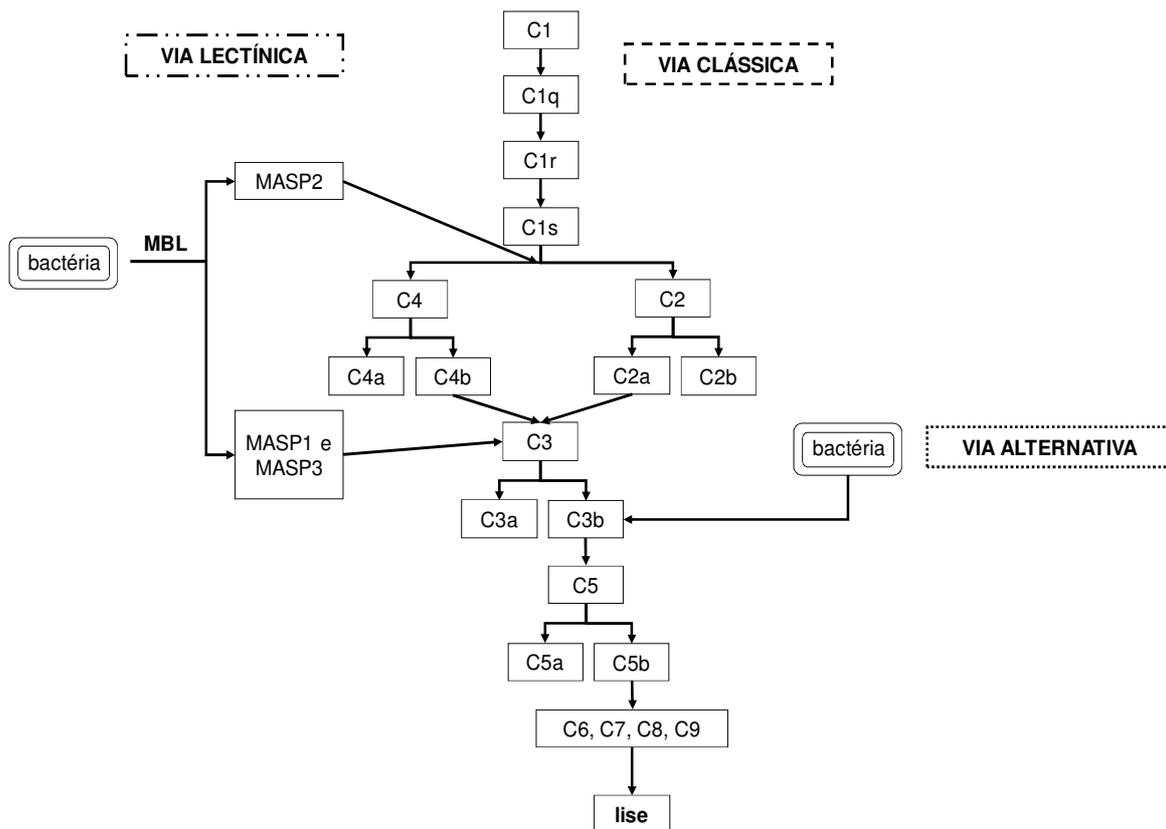
O sistema complemento desempenha funções de destaque na imunidade inata e adaptativa, com capacidade de reconhecer o próprio do não próprio e reagir contra o estranho ao organismo. Assim sendo, reconhece antígenos e é efetivo no mecanismo de defesa contra a infecção inicial<sup>18</sup>. São consideradas três vias principais de ativação do complemento: a clássica, a alternativa e a da lectina de ligação à manose (MBL)<sup>16</sup>.

O primeiro componente do sistema complemento é a fração C1q, a qual faz a conexão da resposta imune inata com a adaptativa humoral. A fração C1q converte-se em C1r e C1s, a qual desencadeia a ativação das frações C2 e C4. Ativadas, estas frações conjugam-se para ativar a fração C3. Estes três passos (C1q, C4 - C2 e C3) caracterizam o ponto de início das vias de ativação do complemento<sup>19</sup>.

A via clássica inicia-se pela ativação da fração C1q. Essa via pode ser desencadeada pela ativação do complexo antígeno-anticorpo sobre C1q ou pela ligação direta desta proteína com a superfície do antígeno, mesmo em ausência de anticorpo<sup>17</sup>.

A via alternativa fornece uma opção de amplificação para as outras duas vias e é iniciada por substâncias localizadas na superfície de microorganismos que ativam a fração C3 do complemento, gerando a disseminação da resposta imune.

A via da lectina inicia-se pela ligação da MBL associada à serina-protease (denominada MASP), independente da presença de anticorpo, de complexos imunes e da ativação da fração C1<sup>20</sup>. A MASP-2 ativa diretamente as frações C4-C2 do complemento. A MASP-1 e 3 ativa a fração C3. (Figura 1)



**Figura I.1 – Representação esquemática das vias de ativação do complemento**

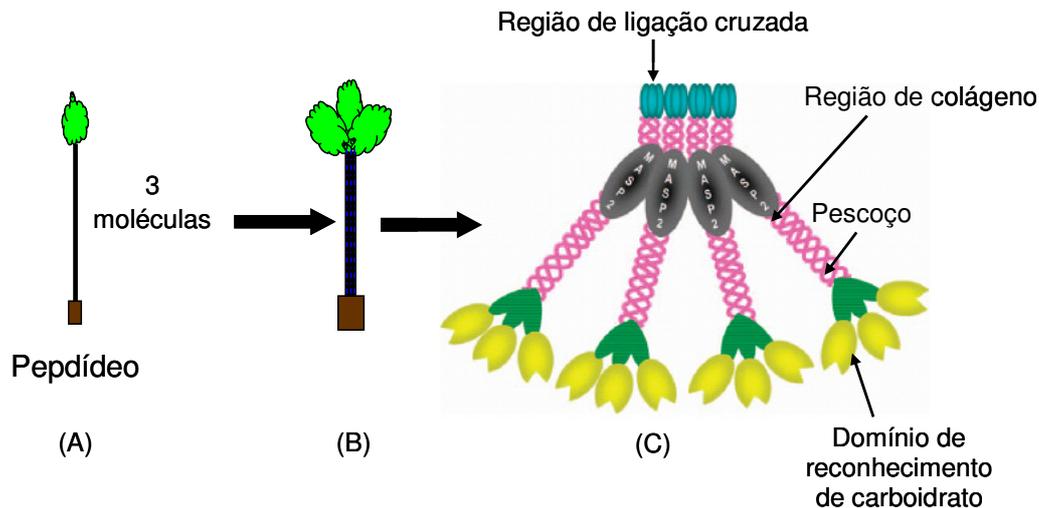
FONTE: Adaptado de Dodds<sup>16</sup>

O padrão de resposta da imunidade inata é rapidamente iniciado a partir do reconhecimento de uma grande gama de padrões regulares de perigo, representados por peptídeoglicanas e ácido lipoteicóico da parede bacteriana, zimozan da parede fúngica e dupla hélice de RNA viral. As MBL reconhecem esses padrões, desencadeiam o mecanismo de opsonização nos sítios extracelulares, assim como sua eliminação pelo recrutamento de fatores antimicrobianos, como o sistema complemento<sup>9</sup>.

A MBL apresenta maior importância na janela de vulnerabilidade imunológica do lactente, quando desaparecem os anticorpos maternos e estes indivíduos encontram-se na fase de hipogamaglobulinemia fisiológica, por ainda não serem capazes de produzir de forma plena os seus próprios anticorpos. No entanto, em todas as idades, representa o mecanismo de proteção nos estágios iniciais de infecções<sup>10</sup>.

A MBL, sob forma de tetrâmeros, pentâmeros ou hexâmeros da estrutura básica, reconhece oligossacarídeos ricos em manose e em N-acetil glicosamina presente na superfície de grande parte dos patógenos e, assim, promove a opsonização e facilita a

fagocitose do patógeno pelos macrófagos. Auxilia ainda na remoção de células apoptóticas. A MBL não se liga à superfície de células humanas normais, porque nestas o açúcar terminal é constituído de ácido siálico, que não é reconhecido pelo domínio C terminal<sup>15,21</sup> (Figura I.2).



**Figura I-2 – Estrutura em forma de tulipa da MBL**

A unidade estrutural básica (peptídeo) (A), homotrímero de peptídeos (estrutura básica) (B) e forma da MBL em tulipas, composta de várias unidades básicas (C) destacando: o domínio de reconhecimento de carboidratos (CRD), a zona de interação com as proteínas MASP e as pontes dissulfetos

Fonte: Adaptado de Dommett *et al.*<sup>19</sup>, 2006

Além da ligação a sacarídeos via domínio de reconhecimento de carboidratos, a MBL precisa se ligar às moléculas efetoras, pelo domínio N-terminal usando o receptor colectina comum ao C1q para exercer suas funções<sup>22</sup>.

A MBL exerce pelo menos quatro funções distintas: ativação do complemento; promoção de opsonofagocitose independente de complemento, por meio do reconhecimento da região de colágeno por fagócitos mononucleares; modulação da inflamação num processo dose-dependente da liberação de citocinas pelos monócitos e promoção de apoptose, por meio da ligação de células T e neutrófilos polimorfonucleares à região CRD<sup>14</sup>.

Outra classe de lectinas são as ficolinas, estruturalmente relacionadas às colectinas e que também envolvem o sistema complemento para permitir opsonização e

fagocitose de microorganismos. Juntas, as colectinas e as ficolinas contribuem para a sobrevivência da pele, auxiliando diretamente a destruir e erradicar microorganismos.

A sinalização de eventos intracelulares inclui, dentre outras moléculas, os receptores *Toll like* (TLR)<sup>13</sup>. Esses receptores, presentes na superfície das células ou nos endossomos, estimulados por padrões moleculares associados a patógenos (PAMP) apropriados, transduzem um sinal que promove a translocação nuclear do NF- $\kappa$ B e a transcrição de mediadores inflamatórios como fator de necrose tumoral alfa, interleucina-1, interleucina-12, moléculas de adesão endotelial e moléculas co-estimulatórias. A importância da resposta inflamatória induzida pelos TLR é retirar os microorganismos, antes que possam entrar no organismo.

Na pele, os ligantes TLR são necessários para ativação das células dendríticas e, conseqüentemente, para o desencadeamento de sua habilidade para iniciar as respostas da imunidade adaptativa<sup>23</sup>.

Cada um dos onze TLR humanos tem especificidade para um ligante microbiano. Esses halotipos foram identificados em células epiteliais, incluindo queratinócitos, assim como células apresentadoras de antígeno (de Langerhans e células dendríticas), células endoteliais, mastócitos e neutrófilos, envolvidos diretamente com o início e a amplificação da resposta inflamatória da pele, exacerbada na dermatite atópica<sup>8,12,13,24</sup>.

A alteração da atividade do TLR-II devida à variação gênica pode ser responsável pela redução da defesa microbiana e pelo aumento da inflamação induzida por PAMP em pacientes com dermatite atópica. Teoricamente, a perda da função de polimorfos do TLR-II pode permitir a disseminação das infecções na pele de pacientes com dermatite atópica, resultando num processo inflamatório mais grave. Por outro lado, o aumento do polimorfismo pode ser responsável, sozinho, pelo agravamento do processo inflamatório na dermatite atópica<sup>25</sup>.

Esses achados indicam que a ativação dos padrões moleculares associados a patógenos na dermatite atópica pode ser importante de várias maneiras. Na fase inicial da doença, a redução dos mecanismos de defesa mediados por PAMP acarreta maior carga microbiana na pele. Nas fases subseqüentes, a inflamação mantida pode derivar da ativação repetitiva dos TLR, agravando e mantendo a inflamação na dermatite atópica. Essa

ativação também é considerada um sinal de perigo que induz a ativação e o envolvimento do sistema imunológico adaptativo. Este sinal de perigo é reconhecido pelos linfócitos T após o processo de transição da inflamação inata. Em resumo, a ativação das PAMP acarreta a transição da informação imunológica inata para o sistema imunológico adaptativo, perpetuando o processo inflamatório na dermatite atópica<sup>13</sup>.

### *Barreira da pele*

A epiderme funciona, pelo menos em parte como uma barreira de proteção, principalmente devido ao estrato córneo. O estrato córneo é formado por corneócitos sem lipídeos e por uma matrix extracelular rica em lipídeos (ceramidas, colesterol, ácidos graxos e ésteres de colesterol), a qual cria uma barreira capaz de manter a água no corpo e prevenir a entrada de patógenos e alérgenos. A diferenciação terminal dos queratinócitos a partir das células granulares, para corneócitos é o ponto crítico para manutenção dessa barreira<sup>26</sup>.

Durante essa diferenciação, os queratinócitos se movem da camada celular basal da epiderme para a camada granular na qual se forma um envelope corneificado, na camada mais externa da pele, dando origem às células mortas remanescente, os corneócitos. Esse envelope, uma estrutura protéica insolúvel, é formado por clivagem da profilagrina em vários polipeptídeos de filagrina, os quais ligam-se por meio das transglutaminases<sup>8,12</sup>.

A disfunção da barreira da pele, a pele seca, a redução da secreção sebácea e o aumento da perda transepidérmica de água, na dermatite atópica, possivelmente, decorrem da redução das ceramidas, esfingolipídeos constituintes das placas lamelares presente nos espaços intercelulares do estrato córneo, em decorrência da redução da esfingosina<sup>9,12</sup>.

A alta colonização da pele de pacientes atópicos por bactérias que secretam ceramidase e em crianças com deficiência do sistema imunológico inato, promove a redução de ceramida no estrato córneo, assim como cepas secretoras de esfingomielinase, promovem a quebra da esfingomielina em ceramida e fosforilcolina. A perda dessas proteínas do estrato córneo é responsável pela quebra da barreira epidérmica na dermatite

atópica. É importante enfatizar que o aumento da colonização pode depender, nesses pacientes, de uma deficiência do sistema inato, principalmente das MBL<sup>27</sup>.

### *MBL e dermatite atópica. Qual a relação?*

Os trabalhos referentes à associação de MBL e doenças alérgicas são escassos e ainda controvertidos; aqueles relativos a essa associação de dermatite atópica são ainda mais raros.

Embora as pesquisas recentes tenham permitido uma compreensão melhor de alguns mecanismos envolvidos na deficiência imunológica de pacientes com dermatite atópica, alguns aspectos ainda não estão elucidados. Isso pode ser porque as disfunções da barreira da pele, a imunidade inata e a adaptativa não coexistem, mas interagem num processo complexo da imunobiologia da pele, parecendo determinar também a relação entre MBL e doenças alérgicas.

O papel da MBL em asma e atopia tem sido debatido na literatura, com poucos estudos encontrando redução nos níveis de MBL e desenvolvimento de hiperreatividade brônquica ou associação entre alguns alelos da MBL e asma em crianças.

Kaur *et al.*<sup>28</sup> referem que a MBL, por ser uma molécula efetora da imunidade inata, a qual modula os níveis de citocinas pró-inflamatórias, quando em quantidade elevada no plasma, pode ser um marcador para o aumento da gravidade das doenças alérgicas incluindo asma e rinite.

Embora haja boas razões para se supor que a MBL tem um significativo papel na susceptibilidade e na fisiopatologia da asma, Wang *et al.*<sup>29</sup> sugerem que o fenótipo da asma independe do genótipo e tanto ele quanto Nagy *et al.*<sup>30</sup> concluem que a variante baixo produtor de MBL (homozigotico 00), pode ter um importante papel na susceptibilidade para asma em crianças, especialmente quando associado à infecção por *Clamydia pneumoniae*.

Níveis muito baixos de MBL foram encontrados em três membros de uma família turca que apresentava abscessos recorrentes, prurido e dermatite atópica, sugerindo que a MBL poderia ter um papel no desenvolvimento da DA ou na susceptibilidade para infecções, presente nesses pacientes com DA<sup>31</sup>.

Aittoniemi<sup>32</sup>, ao contrário de trabalhos prévios por ele pesquisados relacionando baixos níveis de MBL com atopia, concluiu que, pelo menos em adultos, o nível de MBL não está mais baixo nos pacientes alérgicos. Recomenda, no entanto, que estes resultados sejam interpretados com cautela.

Kaur *et al.*<sup>28</sup> referem que, a depender do tipo de polimorfismo da MBL, pode ocorrer alto ou baixo nível desta proteína associado à variabilidade funcional do sistema imune, o que pode levar à susceptibilidade para várias doenças. Baixos níveis de MBL ocasionam resistência para doenças alérgicas. Níveis altos de MBL aumentam o número de citocinas pró-inflamatórias e podem acarretar um aumento das alergias. Por isso, poderiam ainda ser consideradas um marcador clínico das doenças alérgicas respiratórias. Enfim, este estudo enfatiza a necessidade de se explorar o papel da MBL e sua associação na asma e alergia.

Outro estudo, realizado por Uguz *et al.*<sup>33</sup>, corroboram este achado ao demonstrarem correlação entre nível elevado de MBL no plasma e doenças alérgicas em atividade, associadas ao aumento de eosinófilos.

Opiniões contraditórias existem. Leung *et al.*<sup>34</sup> referem que, apesar da importância da MBL na imunidade inata, o polimorfismo deste gene mostra apenas fraca associação com asma e atopia em crianças. Muller *et al.*<sup>35</sup> referem que, apesar de um potencial papel da MBL no desenvolvimento da atopia tenha sido discutido, a deficiência de MBL não representa um fator predisponente para desordens atópicas em lactentes e crianças. Mesmo assim, Staley *et al.*<sup>36</sup> afirmam a existência de dados conflitantes em relação a altos ou baixos níveis de MBL e susceptibilidade para asma e concluem haver evidências de que a MBL apresenta um papel imunomodulatório na asma, levando à predisposição para forma mais grave da doença.

Em relação à DA, há dois trabalhos publicados que investigam associação de polimorfismo da MBL, um<sup>37</sup> em pacientes japoneses, no qual investigou-se a probabilidade de a frequência alélica do códon 54 do gene da MBL (onde ocorre a troca de CGC para GAC) se associar com susceptibilidade para DA, num subgrupo de pacientes com DA e asma (leve moderada ou grave) e em pacientes com ou sem história familiar de DA ou asma. Concluíram que não havia diferença significativa entre os pacientes e os controles, e, portanto, pela inexistência da associação. No entanto os autores sugeriram a

realização de outros estudos, incluindo os códons 52, 57 e a região promotora, com um número maior da amostra para auxiliar na obtenção de dados confiáveis.

O segundo<sup>38</sup> estudo comparou a frequência dos códons 52, 54 e 57 do éxon 1 do gene da MBL-2 em 165 crianças com DA a 165 adultos-controles. Nos pacientes com DA, houve uma frequência significativamente maior do alelo O, dos genótipos OO e DP e da categoria de produtores deficientes de MBL2 ( $p < 0,001$ ). Concluíram os autores que a presença de um genótipo de produtor deficiente de MBL2 está associada ao aumento da susceptibilidade para DA em crianças brasileiras.

### ***Considerações Finais***

A dermatite atópica é um dos mais importantes assuntos em pesquisa dermatológica com muitas vias patogênicas para serem elucidadas. O prejuízo da barreira cutânea e o distúrbio no sistema imune inato da pele parecem ser os aspectos chave para sensibilização aos alérgenos na infância precoce. Toda tentativa para elucidação da etiologia ou das causas etiológicas são apoiadas na esperança de uma terapêutica mais eficaz para essa doença que tanto aflige os portadores, familiares e profissionais de saúde, principalmente nas formas graves e prolongadas.

### **Summary**

Atopic dermatitis is a chronic inflammatory disease that attends a course with periods of acalmia and exacerbation and presents increasing prevalence, mainly in developed countries. This results in an important public health problem. **Purpose:** To precede a bibliographic revision of data related to the association of mannose binding lectin and allergic diseases, with emphasis on atopic dermatitis. **Synthesis of data:** Mannose binding lectin is a protein that binds to carbohydrates of pathogens surface and facilitates the process of fagocytosis, participating in the modulation of inflammation and apoptosis. **Conclusion:** Although literature presents reasonable evidence of the association of mannose binding lectin with infectious and auto-immune diseases, its relation with allergic diseases still excites many doubts and needs to be confirmed, because the agreement of this protein function in these diseases is still scarce. In relation to the atopic dermatitis, there are only two published works.

Keywords: Atopic dermatitis. Allergy. Immunology. Mannose binding lectin. Polymorphism.

## Referências

1. Baker BS. The role of microorganisms in atopic. *Clin Exp Immunol*. 2005;144:1-9.
2. Munõz Lyaruzu D, Sanz ML, Molero M, *et al*. Avances in dermatitis atopic. *Allergol Immunol Clin*. 2000;15(2):17-37.
3. Spergel JM. Marcha atópica: ligação com as vias aéreas superiores. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2005;5:17-21.
4. Boguniewicz M, Leung DYM. Atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117(2):475-480.
5. Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venerol*. 1980;92:44-47.
6. Rook GAW, Martinelli R, Brunet LR. Innate immune responses to mycobacteria and the downregulation of atopic responses. *Cur Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3:337-342.
7. Ruskamp JM, Hoekstra MO, Rovers MM, Schilder AGM, Sanders EAM. Mannose-binding lectin and upper respiratory tract infections in children and adolescents. *Arch Otolaryngol Head Surg* 2006;132:482-486.
8. Maintz L, Novak N. Getting more and more complex: the pathophysiology of atopic eczema. *Eur J Dermatol*. 2007;17(4):267-283.
9. Wollenberg A, Klein E. Current aspects of innate and adaptative immunity in atopic dermatitis. *Clinic Rev Immunol* 2007;33:35-44.
10. Turner MW. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Mol. Immunol*. 2003;40:423-429.
11. Boness S, Bieber T. Molecular basis of atopic dermatitis. *Cur Opin Allergy Immunol*. 2007;7:382-386.
12. McGirt LY, Beck LA. Innate immune defects in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118(1):202-208.
13. Bierderman T. Dissecting the role of infections in atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol*. 2006;86:99-109.
14. Turner MW. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Mol. Immunol*. 2003;40:423-429.
15. Moura PMMF. Mecanismos imunopatológicos no dengue envolvendo citocinas e a lectina ligadora de manose (MBL). 2004. Tese (Doutorado). Centro de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pernambuco. Recife. PE.
16. Dodds AW. Which came first, the lectin/classical pathway or the alternative pathway of complement? *Immunobiol*. 2002;205:340-354.

17. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M. *Imunobiologia: o sistema imune na saúde e na doença*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed. 2002:639-682.
18. Turner M. Mannose-binding lectin (MBL) in health and disease. *Immunobiol.* 1998;199:327-339.
19. Dommett RM, Klein N, Turner MW. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. *J Compilation.* 2006;68:193-209.
20. Valdimarsson H, Stefansson M, Vikingsdottir T, *et al.* Reconstitution of opsoning activity by infusion of mannan-binding lectin (MBL) to MBL-deficient humans. *Scand J. Immunol.* 1998;48:116-123.
21. Souza PRE. Estudo de alguns elementos da imunidade inata (MBL e receptor do CCR5) na transmissão materno infantil e na história natural do HIV-1. 2006. Tese (Doutorado) - Centro de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pernambuco. Recife. PE.
22. Kilpatrick DC. Mannan-binding lectin and its role in innate immunity. *Transfusion Med.* 2002;12:335-351.
23. Pasare C, Medzhitov R. Control of B-cell responses by Toll-like receptors. *Nature.* 2005;438(7066):354-368.
24. Pastore S, Mascia F, Girolomoni G. The contribution of keratinocytes to the pathogenesis of atopic dermatitis. *Eur J Dermatol.* 2006;16(2):125-131.
25. Ahmad-Nejad P, Mrabet-Dahbi S, Breuer K, Klotz M, Werfel T, Herz U, *et al.* The toll-like receptor 2 R753Q polymorphism defines a subgroup of patients with atopic dermatitis having severe phenotype. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:565-567.
26. Elias PM. Stratum corneum defensive functions: an integrated view. *J Invest Dermatol.* 2005;125:183-200.
27. Ohnishi Y, Okino N, Ito M, Imayama S. Ceramidase activity in bacterial skin flora as a possible cause of ceramide deficiency in atopic dermatitis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1999;6(1):101-104.
- 28.- Kaur S, Gupta VK, Shah A, Thiel S, *et al.* Elevated levels of mannan-binding lectin (MBL) and eosinophilia in patients of bronchial asthma with allergic rhinitis and allergic bronchopulmonary aspergillosis associate with a novel intronic polymorphism in MBL. *Clin Exp Immunol.* 2006;143(3):414-419.
29. Wang X, Saita J, Ishida Y, *et al.* Mannose binding lectin gene polymorphism and asthma. *Clin Exp Allergy.* 2007;37:1334-1339.
30. Nagy A, Kozma G, Kezel M. The development of asthma in children infected with *Chlamydia pneumoniae* is dependent on the modifying effect of mannose-binding lectin. *J Allergy Clin Immunol.* 2003:729-734.

31. McGirt LY, Beck LA. Innate immune defects in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118(1):202-208.
32. Aitoniemi J. Mannose-binding lectin 2 (MBL) gene polymorphism in asthma and atopy among adults. *Clin Exp Immunol.* 2005;142(1):120-124.
33. Uguz A, Berber Z, Coskun M, *et al.* Mannose-binding lectin levels in children with asthma. *Pediatr Allergy Immunol.* 2005;16(3):231-235.
34. Leung TF, Tang NLS, Sung YM, *et al.* Genetic association study between MBL-2 and asthma phenotypes in Chinese children. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006;17:501-507.
35. Muller S, Keil T, Gruber C, Zitnik SE, *et al.* MBL-2 variants in relation to common childhood infections and atopy related phenotypes in a large German birth cohort. *Pediatr Allergy Immunol.* 2007:1-6.
36. Staley KG, Stover C, Strippoli MPF, Spycher D, Silverman M, Kuehni CE. Mannan-binding lectin in young children with asthma differs by level of severity. *J Allergy Clin Immunol.* 2006. 17125823.
37. Hashimoto S, Nakamura K, Oyma N, *et al.* Macrophage-derived chemokine (MDC)/CCL22 produced by monocyte derived dendritic cells reflects the disease activity in patients with atopic dermatitis. *Japan Soc Investigative Dermatol.* 2006:93-99.
38. Brandão LAC, Guimarães RL, Carrera M, *et al.* MBL2 functional allelic variants and increased risk for the development of atopic dermatitis in Brazilian children. *Arch Dermatol* 2008;144(3):412-413.

**ARTIGO II - ASPECTOS CLÍNICOS DA DERMATITE ATÓPICA E  
VARIANTES FUNCIONAIS DA PROTEÍNA LIGADORA DE  
MANOSE EM CRIANÇAS BRASILEIRAS (MBL-2)**

(Artigo submetido à Revista *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*  
– ISSN 0105-4538 e 1398-9995)

## Dermatite atópica e variantes funcionais da proteína ligadora de manose em crianças brasileiras (MBL-2)

Matilde Campos Carréra<sup>1</sup>

Luiz Cláudio Arraes de Alencar<sup>2</sup>

Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho<sup>3</sup>

Departamento de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco

Correspondência

Matilde Campos Carréra

Rua de Apipucos, 193 – Monteiro – Recife – Pernambuco – Brasil

CEP 55012100

Fone (81) 9101-3581

---

<sup>1</sup> Médica Dermatologista do Instituto Materno-Infantil Prof. Fernando Figueira(IMIP) – Recife, Pernambuco, Brasil

Doutoranda do departamento de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

<sup>2</sup> Prof. Dr. do Departamento de Medicina Tropical da UFPE, Coordenador do Centro de Pesquisa clínica do IMIP

<sup>3</sup> Prof. Dr. da disciplina de Pediatria da UFPE, Coordenador adjunto do Centro de Pesquisa em Alergia e Imunologia da UFPE.

## **Abstract**

**Background:** Although the influence of the deficiency and polymorphism of MBL-2 have been extensively studied in infectious and auto-immune diseases, little is known about its mechanism of action in atopic dermatitis. **Methods:** From August 2006 and July 2008, by means of an exploratory study, 131 children with atopic dermatitis, aging from three months to 12 years old were compared to 165 healthy children without this disease, aging from four to 18 years old. The severity of disease was graded according to SCORAD index. Exon 1 (A/O) and promoter regions of MBL-2 (H/L, X/Y) were determined by Real Time PCR. Statistical analyzes were performed by determining genotypic frequencies by Hardy-Weimberg theorem; qui squared test for paired comparisons, at a significance level equal to 0.05, unicaudal. **Results:** Among children with atopic dermatitis, there was significant predominance of O allele and AO / OO genotypes, when compared to healthy group ( $\chi^2 = 10.53$ ;  $p=0.0012$  and -  $\chi^2 = 14.15$ ;  $p<0.001$ , respectively). There was significant predominance of deficient producers of MBL-2 among children with atopic dermatitis ( $\chi^2 = 30.15$ ;  $p<0.001$ ). **Conclusion:** Low and deficient MBL-2 production was significantly associated to atopic dermatitis, maybe due to a low clearance of apoptotic cells and perpetration of tissue damage.

Key words: Atopic dermatitis. Mannose- binding protein. Innate immunity. Polymorphism.

## **Introdução**

A dermatite atópica devido à complexidade do mecanismo imunopatológico suscita inúmeros questionamentos e é considerada doença relevante na área de alergia e imunologia, tanto pelos aspectos clínicos quanto epidemiológicos<sup>1,2</sup>.

Os estudos sobre dermatite atópica, no que se refere aos aspectos clínicos, valorizam principalmente as anormalidades da imunidade adaptativa e humoral, assim como as disfunções da barreira cutânea, contudo a imunidade inata parece se encontrar também alterada, e pode ser uma das explicações para a maior frequência de infecções secundárias por vírus, bactérias e fungos na pele destes pacientes<sup>3</sup>. Existe uma lacuna em relação à imunidade inata na dermatite atópica, a qual começa a ser desvendada, com o advento da imunogenética.

A lectina ligadora de manose (MBL), uma molécula pluripotente capaz de ativar o sistema complemento, apresenta estrutura e função similares às do fator C1q da via clássica do complemento<sup>4,5,6,7</sup>.

O gene da MBL2 localiza-se no braço longo do cromossomo 10; pode apresentar um polimorfismo com três variantes, que codificam proteínas de diferentes estruturas e funções<sup>8,9,10</sup>. As variações alélicas foram identificadas nos códons 52, 54 e 57 do éxon-1 e nas posições -550 (alelo H/L) e -221 (alelo X/Y) da região promotora do gene desta proteína<sup>11,12,13</sup>.

Com base no polimorfismo, os indivíduos podem ser classificados como: baixos produtores de MBL – aqueles portadores de mutação nos dois alelos, classificados como OO; produtores normais – aquelas pessoas com mutação em um alelo, denominado heterozigótico AO e grandes produtores de MBL – que são os indivíduos não portadores de mutação, classificados como AA (tipo selvagem)<sup>14</sup>.

Muito já se sabe sobre a deficiência da MBL e do seu polimorfismo na gênese e no agravamento de quadros infecciosos e auto-imunes. A MBL é particularmente importante nos estágios iniciais de infecções e durante a janela de vulnerabilidade imunológica da criança, momento em que desaparecem os anticorpos maternos<sup>11,15</sup>. É uma molécula imunomoduladora da inflamação e apresenta papel fisiológico importante em crianças pequenas, faixa etária em que a dermatite atópica é mais freqüente. Assim sendo,

a associação desta lectina na etiopatogenia da doença é uma possibilidade que deve ser investigada.

Questionando se os pacientes com dermatite atópica apresentam um padrão genético de polimorfismo de MBL-2 diferente do padrão dos indivíduos sem DA, aventou-se a hipótese de que as pessoas com dermatite atópica possam apresentar menor frequência do polimorfismo tipo selvagem (padrão AA), que corresponde ao grande produtor de MBL2.

Este artigo tem por objetivo investigar em crianças com dermatite atópica, a presença das variantes funcionais da proteína ligadora de manose (MBL2) bem como investigar a persistência desse padrão nos pacientes com as formas mais graves da doença.

## **Métodos**

Por meio de estudo do tipo exploratório, procedeu-se à comparação entre 131 crianças com dermatite atópica e 165 crianças e adolescentes saudáveis, que não apresentavam dermatite atópica, no período de Agosto de 2006 a Julho de 2008, atendidos no Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira, Recife, Pernambuco, Brasil, e submetidos à anamnese e exame físico dirigidos para a investigação de dermatite atópica. Após a aprovação do Comitê de ética em Pesquisa e a assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido, procedeu-se à avaliação clínica da criança, quanto à gravidade da dermatite atópica, pela conversão da extensão e gravidade dos sinais e dos sintomas em pontos, empregando os critérios do *SCORing Atopic Dermatitis* (SCORAD) que é graduado em: leve (< 25 pontos), moderado (25 a 50 pontos) e grave (> 50 pontos)<sup>16</sup>.

As amostras de sangue total foram encaminhadas ao Laboratório de Imunopatologia Keiso Asami, da Universidade Federal de Pernambuco, para genotipagem do éxon 1 da MBL2. Esta foi realizada em 131 casos e 165 indivíduos do grupo de comparação, por ensaio com temperatura controlada usando *primers* específicos (inicial 5'-GGCTTCCCAGGCAAAGATG 3' e reverso 5'-AGCCCAACACGTACCTGGTT-3') e reagentes *SYBR Green I* (*Applied Biosystems, Foster City, California*). Os padrões de curvas de identificação foram obtidos por meio do uso de programa do ABI 7900 HT (*Applied Biosystems*). Para a determinação da região promotora H/L e das variantes alélicas X/Y de 131 casos e 165 indivíduos do grupo de comparação, foram desenvolvidas

duas reações de cadeia de polimerase específicas. Para H/L, empregaram-se 5'-TGCTTCCCCTTGGTGTTTTAC-3' e 5'-TGCTTCCCCTTGGTGTTTTATAG-3' como *primers* alelo específicos reversos, e 5'-GCCAGGGCCAACGTAGTAAG-3' como *primer* comum *forward*. Para X/Y, foram usados: 5'-CTGGAAGACTATAACATGCTTTC-3' e 5'-CTGGAAGACTATAACATGCTTTG-3' como *primers* alelo-específico reversos e 5'-CCGAAGAGGACATGGAGAGA-3' como *primer* comum *forward*. As variantes alélicas no éxon 1 da MBL2 e nas regiões promotoras foram avaliadas em duplicata por sequenciamento direto.

As três variantes alélicas do éxon 1 da MBL2 (nas posições 52, 54 e 57) foram agrupadas em uma categoria única (alelo O), porque tinham um efeito funcional semelhante sobre os níveis séricos de MBL, enquanto que a combinação dos três alelos selvagens foi agrupada como alelo A. As frequências dos alelos foram calculadas pela contagem direta dos genes e o cálculo das frequências genotípicas, pela aplicação do Teorema de Hardy-Weimberg, com o programa Arlequin versão 3.11. Aplicou-se o teste de Qui quadrado para comparação pareada usando tabelas de contingência de 2 x 2 e 3 x 2. O nível de significância considerado para não aceitação da hipótese nula foi  $p < 0,05$ , unicaudal, à direita.

## **Resultados**

O grupo caso foi constituído por 131 crianças com dermatite atópica, tendo idade média de  $3,5 \pm 0,2$  anos, variando de três meses a 12 anos e idade mediana de 2 anos e 8 meses e amplitude semi-interquartílica igual a 3 anos e 3 meses; 78,6% dos pacientes eram menores de 6 anos de idade. Eram do gênero masculino 39,7% dos casos a maioria provinha de famílias com baixa renda (menos de 120 euros por mês). O grupo de comparação foi constituído por 165 crianças e adolescentes sem dermatite atópica, dos quais 80 (48,5%) do sexo masculino e 85 (51,5%) do feminino, com idade média de 10 anos, variando entre quatro e 18 anos.

A Tabela 1 apresenta as frequências de variantes do éxon-1 da MBL2 em crianças brasileiras com dermatite atópica.

**Tabela 1 - Frequências das variantes do éxon-1 da MBL2 em 165 crianças do grupo de comparação e 131 crianças com dermatite atópica**

<i>Distribuição genética</i>	<i>Crianças com dermatite atópica (n=131)</i>	<i>Grupo de comparação (n=165)</i>
<b>Alelos<sup>(1)</sup></b>		
A	68,7% (180)	80,3% (265)
O	31,3% (82)	19,7% (65)
<b>Genótipos<sup>(2)</sup></b>		
AA	53,4% (70)	66,7% (110)
AO	30,5% (40)	27,3% (45)
OO	16,0% (21)	6,1% (10)

NOTA: <sup>(1)</sup> -  $\chi^2 = 10,53$ ;  $p=0,0012$  <sup>(2)</sup> -  $\chi^2 = 14,15$ ;  $p<0,001$

Não houve associação entre a frequência de variantes do polimorfismo do éxon-1 do gene da MBL2 e a gravidade da dermatite atópica (Tabela 2).

**Tabela 2 – Distribuição da gravidade da dermatite atópica segundo as variantes alélicas do éxon 1 do gene da MBL2 em 131 crianças**

<b>Variantes alélicas do éxon 1 do gene da MBL2</b>	<b>Gravidade da dermatite atópica</b>	
	leve (n=57)	moderado ou grave (n=74)
<b>Alelos</b>		
A	70,2% (80)	67,6% (100)
O	29,8% (34)	32,4% (48)
<b>Genótipos</b>		
AA	56,1% (32)	51,4% (38)
AO	28,1% (16)	32,4% (24)
OO	15,8% (9)	16,2% (12)

NOTA:  $\chi^2 = 0,21$ ;  $p=0,905$

Na Tabela 3, foram comparados os genótipos, considerando as variantes das regiões promotoras H/L e X/Y, classificando-as em três categorias conforme a característica de produção de MBL: alta (HP), média (LP) ou deficiente (DP). Dentre os portadores de dermatite atópica, houve predomínio da variante deficiente para produção de MBL2 em relação ao grupo de comparação ( $p < 0,001$ ).

**Tabela 3 – Frequência das variantes alélicas das regiões promotoras e do éxon-1 do gene da MBL2, em 131 crianças com dermatite atópica**

<i>Fenótipos</i>	<i>Genótipos</i>	<i>Criança com dermatite atópica (n=131)</i>	<i>Grupo de comparação (n=165)</i>
Alto produtor (HP)	HYA/HYA HYA/LYA HYA/LXA LYA/LYA LYA/LXA	48,8% (64)	49,7% (82)
Produtor defeituoso Baixo produtor (LP)	LXA/LXA HYA/LYO HYO/LYA HYA/O HXA/O LYA/O	25,2% (33)	44,2 (73)
Produtor deficiente (DP)	LXA/O HXA/O HYO/LXA O/O	26,0% (34) <sup>c</sup>	6,1 (10)

NOTA:  $\chi^2=30,15$ ;  $p<0,001$

As três categorias de produção de MBL (HP, LP e DP) não se associaram à gravidade da dermatite atópica ( $p=0,937$ ) (Tabela 4).

**Tabela 4 – Distribuição da gravidade da dermatite atópica segundo polimorfismo das regiões promotoras e do éxon 1 do gene da MBL2 em 131 crianças com dermatite atópica**

<i>Fenótipos das regiões promotoras e do éxon 1 do gene da MBL2</i>	<i>Gravidade da dermatite atópica</i>	
	<i>leve (n=57)</i>	<i>moderado ou grave (n=74)</i>
Alto produtor (HP)	49,1% (28)	48,6% (36)
Produtor defeituoso <sup>b</sup> Baixo produtor (LP)	26,3% (15)	24,3% (18)
Produtor deficiente (DP)	24,6% (14)	27,0% (20)

NOTA:  $\chi^2 = 0,13$ ;  $p = 0,937$

## **Discussão**

A depender do tipo de polimorfismo do gene da MBL, pode ocorrer alto ou baixo nível desta proteína associada à variabilidade funcional do sistema imune, o que pode acarretar susceptibilidade para várias doenças. Na literatura, há estudos referentes a doenças infecciosas, contudo são escassos aqueles referentes à associação de MBL e doenças alérgicas, daí a importância desta pesquisa.

Nossos resultados mostram que os pacientes portadores de dermatite atópica apresentaram mais freqüentemente alelo O e genótipos AO e OO, que se associam aos níveis mais baixos de MBL. Esses resultados sugerem que a carência do padrão genético AA, produtor de grande quantidade de MBL, pode ser um fator de risco para o aparecimento da doença. Assim, a hipótese que formulamos é corroborada pelos resultados: a carência do padrão AA representa maior susceptibilidade frente às determinantes ambientais para o aparecimento da dermatite atópica. Apesar da ausência de significância da associação entre a freqüência das variantes do éxon 1 da MBL2 e gravidade da doença, observa-se maior freqüência dos genótipos AO e OO na forma moderada ou grave da dermatite atópica, sugerindo que baixos produtores são mais susceptíveis ao aparecimento da doença e a formas mais graves. A relação entre variantes do éxon 1 da MBL2 e gravidade da dermatite atópica pode ser comprovada quando se considera a distribuição gênica denominada correção por gravidade para cálculo estatístico.

Ao classificar os indivíduos pesquisados em três categorias conforme a produção de MBL em alta (HP), média (LP) ou deficiente (DP), observou-se que dentre os portadores de dermatite atópica, houve predomínio significativo do grupo defeituoso para produção de MBL-2 ( $p < 0,001$ ) e que essas categorias (HP, LP e DP) não se associaram à gravidade da dermatite atópica ( $p = 0,937$ ).

Leung *et al.*<sup>17</sup>, testando o códon 54, referiram que, apesar da importância da MBL na imunidade inata, o polimorfismo deste gene demonstrou apenas fraca associação com asma e atopia em crianças. Por outro lado, Hashimoto *et al.*<sup>18</sup>, investigando pacientes japoneses com dermatite atópica, não encontraram associação entre a variante alélica de MBL2 e a susceptibilidade para essa doença, por meio do teste do códon 54. Nossos resultados foram mais semelhantes ao estudo de Leung *et al.*<sup>17</sup>, mas vale salientar que ambos os autores estudaram apenas o códon 54 e em nosso estudo foram testados os três códons 52, 54 e 57. Muller *et al.*<sup>19</sup>, ao estudarem doenças respiratórias e sibilância em lactentes e crianças, testando os códons 52, 54 e 57, verificaram que a deficiência de MBL não foi fator de risco para infecção respiratória ou atopia na infância. Uguz *et al.*<sup>20</sup>, ao analisarem os níveis séricos de MBL em crianças asmáticas, sugeriram que essa proteína pode contribuir para inflamação das vias aéreas e aumentar o risco de desenvolver a doença, portanto pode ter um papel importante na fisiopatologia, mas não se referiram especificamente à dermatite atópica.

McGirt e Beck<sup>21</sup> sugeriram que pacientes com dermatite atópica apresentam defeito na imunidade inata. A função de barreira do extrato córneo encontra-se alterada pelo reduzido teor de lipídeos (ceramida e esfingomielina) e pela queratinização anormal conseqüente a filagrinas disfuncionais e ao trauma mecânico pelo prurido. Além disso, o estresse fisiológico induz secreção do hormônio liberador de corticotrofina pelo hipotálamo e regula a secreção de interleucina 18 e interleucina 1- $\beta$  pelos queratinócitos, que são importantes na resposta imunológica inata. Níveis reduzidos de MBL têm sido associados à dermatite atópica, sugerindo que esse pode ser outro defeito da resposta inata nesses pacientes.

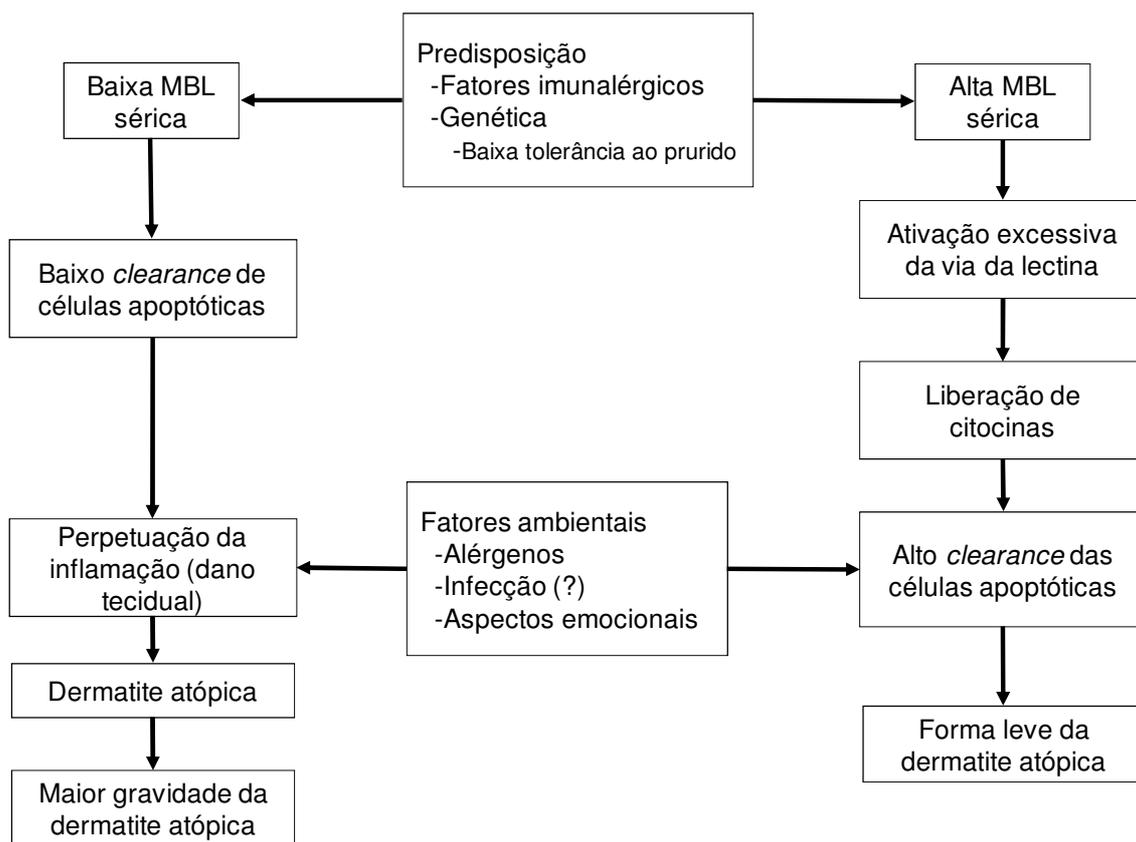
Estudos envolvendo pacientes portadores de doenças infecciosas por parasitas intra-celulares, comprovaram que os indivíduos altos produtores de MBL-2 desenvolviam a forma mais grave. Na infecção por HIV, indivíduos com baixos níveis séricos têm maior susceptibilidade para adquirir a infecção, mas, uma vez infectados, aqueles com maior concentração de MBL ficam predispostos a apresentar a forma mais grave da doença, pela resposta inflamatória induzida por níveis altos de citocinas pró-inflamatórias (Boniotto *et al.*<sup>14</sup>, Garred *et al.*<sup>22</sup>). Apesar de não termos encontrado uma diferença significativa entre as formas de gravidade da dermatite atópica na amostra, a partir dessas comprovações, parece pouco plausível admitir que o mesmo mecanismo possa ocorrer na dermatite atópica. Pode-se supor que, principalmente nas formas moderada e grave, o padrão baixo produtor de MBL se associa a outros fatores, ambientais, infecciosos e imunológicos, promovendo maior dano tecidual pelo baixo clareamento das células apoptóticas.

Kaur *et al.*<sup>23</sup> referem que a presença do polimorfismo do gene da MBL-2 e suas variantes alélicas leva a um funcionamento imunomodulador com maior ou menor nível sérico da proteína o que contribui para a susceptibilidade a várias doenças. Concluem os autores que o aumento dos níveis de MBL leva a maior produção de citocinas pró-inflamatórias, o que contribui para aumento da gravidade de doenças alérgicas respiratórias, podendo ser um marcador genético, enquanto que baixos níveis séricos de MBL e de atividade de complemento aumentam a susceptibilidade para doenças infecciosas, mas protegem contra aquelas mediadas por complemento.

Aitttoniemi *et al.*<sup>24</sup>, ao compararem um grupo de 243 adultos asmáticos, atópicos e não atópicos, a 400 controles, concluíram que o genótipo da MBL-2 não tem

efeito de predisposição para a ocorrência de atopia, mas a variante alélica X da região promotora causa baixa expressão da MBL e é um significativo fator de risco para asma em adultos não atópicos.

A MBL pode ser apenas mais um fator participante na complexa etiologia da dermatite atópica assim sendo, a baixa concentração sérica de MBL pode levar ao baixo clearance de células apoptóticas. A hipótese que pode ser aventada para nossos achados com base nos mecanismos de imunidade inata sobre a participação da MBL na dermatite atópica é demonstrada na Figura 1 em que se representa um modelo sobre a possível participação causal da MBL nesta doença. Trabalhos adicionais são necessários, para confirmar ou rejeitar este modelo. A participação da MBL e de outros componentes da imunidade inata na patogenia da dermatite atópica constitui ainda um imenso campo de investigação.



**Figura II-1- Modelo proposto para a participação da MBL na patogenia da dermatite atópica**

## **Referências**

1. Boguniewicz M, Leung DYM. Atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117(2):475-480.
2. Sampaio SAP, Rivitti EA. Erupções Eczematosas. In: *Dermatologia*, 1<sup>nd</sup> ed. cap. 16. São Paulo: Artes Médicas. 1998:149-160.
3. Annells MF, Prust H, Mullighan CG, *et al.* Polimorphisms in immunoregulatory gens and the risk of histologic chorioamnionitis in caucasoid women. A case control study. *BMC Pregn Childbir* 2005;5:4.
4. Ezekowitz RAB. Anti-antibody immunity. *Curr Biol* 1991;1:60-62.
5. Lima HC. Tópicos em imunodermatologia clínica. São Paulo: Segmento. 2004.
6. Schmiegelow K, Garred P, Lausen B, Andreassen B, Petersen BL, Madsen HO. Increased frequency of mannose-binding lectin insufficiency among children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002;100:3757-3760.
7. Tsutsumi A, Takahashi R, Sumida T. Mannose binding lectin: genetics and autoimmune disease. *Autoimmun Rev* 2005;4(6):364-372.
8. Turner MW. The role of mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol Today* 1996;17(11):532-539.
9. Berrón-Perez R, Penagos-Paniagua MJ, Zaragosa-Benítez JM, Rodríguez-Álvares J, Blancas-Galicia L. El sistema del complemento. Vías clásica y de la lectina que se une a la manosa. *Alergia, Asma Imunol Pediatr* 2003;12(2):46-52.
10. Kazunori G, Yutaka T, Takao K, *et al.* Mannose-binding lectin gene polimorphism is a modulating factor in repeated respiratory infections. *Chest* 2004;126:95-99.
11. Kronborg G, Weis N, Madsen HO, Pedersen SS, Wejse C, Nielsen H, *et al.* Variant mannose-binding lectin alleles are not associated with susceptibility to or outcome of

invasive pneumococcal infection in randomly included patients. *J Infect Dis* 2002;185:1517-1520.

12. Madsen HO, Satz ML, Hogh B, Svejgaard A, Garred P. Different molecular events result in low protein levels of mannan-binding lectin in populations from southeast Africa and South America. *J Immunol* 1998;161:3169-3175.

13. Hibberd ML, Sumiya M, Summerfield JA, Booy R, Levin M, Meningococcal Research Group. Association of variants of the gene for mannose-binding lectin with susceptibility to meningococcal disease. *Lancet* 1999;353:1049-1053.

14. Boniotto M, Crovella S, Pirulli D, Scarlatti G, Spanò A, Vatta L, *et al.* Polymorphisms in the MBL2 promoter correlated with risk of HIV-1 vertical transmission and AIDS progression. *Genes Immunol* 2001;1:346-348.

15. Turner MW. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Mol Immunol* 2003;40:423-429.

16. Pelosi S, Tripodi S. Scorad Card. Software for automatic calculation of the Scorad. User's Guide. Technology Projects & Software Production. 2003.

17. Leung TF, Tang NLS, Sung YM, *et al.* Genetic association study between MBL-2 and asthma phenotypes in Chinese children. *Pediatr Allergy Immunol* 2006;17:501-507.

18. Hashimoto S, Nakamura K, Oyma N, Kaneko F, Tsunemi Y, Saeki H, *et al.* Macrophage-derived chemokine (MDC)/CCL22 produced by monocyte derived dendritic cells reflects the disease activity in patients with atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* 2006;44:93-99.

19. Muller S, Keil T, Gruber C, Zitnik SE, *et al.* MBL-2 variants in relation to common childhood infections and atopy related phenotypes in a large German birth cohort. *Pediatr Allergy Immunol* 2007:1-6.

20. Uguz A, Berber Z, Coskun M, Halide Akbas S, Yegin O. Mannose-binding lectin levels in children with asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2005;16(3):231-235.

21. McGirt LY, Beck LA. Innate immune defects in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118(1):202-208.
22. Garred P, Richter C, Andersen AB, Madsen HO, Mtoni I, Svejgaard A. Mannan-binding lectin in the sub-Saharan HIV and tuberculosis epidemics. *Scand J Immunol* 1997;46:204-208.
23. Kaur S, Gupta VK, Shah A, Thiel S, Sarma PU, Madan T. Elevated levels of mannan-binding lectin (MBL) and eosinophilia in patients of bronchial asthma with allergic rhinitis and allergic bronchopulmonary aspergillosis associate with a novel intronic polymorphism in MBL. *Clin Exp Immunol* 2006;143(3):414-419.
24. Aittoniemi J, Soranummi H, Rovio AT, Hurme M, Pessi T, Nieminen M, *et al.* Mannose-binding lectin 2 (MBL2) gene polymorphism in asthma and atopy among adults. *Clin Exp Immunol* 2005;142(1):120-124.

## **CONCLUSÃO**

Pelo fato de dermatite atópica ser uma doença multifatorial, ainda pouco conhecida, todos os estudos desenvolvidos com o objetivo de esclarecer sua etiopatogenia são importantes. Enquanto o papel da imunidade adquirida na dermatite atópica já é conhecido, há uma lacuna em relação à imunidade inata, da qual a MBL faz parte.

O estudo da herança genética da MBL ainda suscita dúvidas e não oferece evidências que suportem admitir, com os dados presentes, a possibilidade do desenvolvimento de terapêutica com MBL recombinante, a qual, apesar de ser segura porque não é imunogênica, pode favorecer reações auto-imunes, agravando um quadro de dermatite atópica.

A deficiência da MBL2 não é uma deficiência primária, no sentido mendeliano clássico, mas pode ter importância na proteção imunológica. Acredita-se que não só a deficiência da MBL, mas outros fatores de risco podem predispor às infecções assim como às doenças alérgicas e à dermatite atópica.

Os resultados da presente pesquisa constituem um primeiro passo para esse esclarecimento, mas novos estudos, com amostras maiores e *primers* para éxons e promotores distintos e mais específicos, são um campo de pesquisa promissor.

## **Apêndice A - Termo de consentimento livre e esclarecido**

Ao Responsável pelo Menor: \_\_\_\_\_

Por favor, leia atentamente:

Solicitamos a participação do menor \_\_\_\_\_, sob sua responsabilidade, no estudo sobre a doença DERMATITE ATÓPICA que se manifesta com descamação, vermelhidão e coceira na pele.

A participação do menor é voluntária e você pode recusar-se a autorizar sua participação ou decidir que o menor deve abandonar a pesquisa em qualquer momento, sem que haja qualquer prejuízo para o atendimento de seu filho neste serviço.

Informamos que será necessário coletar cerca de 3 mL de sangue por punção venosa, entretanto, não haverá risco para o paciente, exceto a possibilidade de discreto sangramento local.

Os dados obtidos poderão ser divulgados em eventos médicos científicos, porém a identidade do participante não será divulgada.

Os gastos com a pesquisa serão custeados pela pesquisadora responsável Dr<sup>a</sup>. Matilde Campos Carréra.

Será entregue uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido a(o) Senhor(a).

Caso a(o) Senhor(a) tenha necessidade de qualquer esclarecimento adicional ou tenha qualquer dúvida em relação aos procedimentos, riscos e benefícios ou qualquer outro assunto relacionado ao estudo, poderá procurar a responsável pela pesquisa, Dr<sup>a</sup>. Matilde Campos Carréra, CRM 5455, telefone (81) 3222-1850, podendo ligar a cobrar. A pesquisadora estará à sua disposição para responder e esclarecer qualquer dúvida.

A(o) Senhor(a) pode também se dirigir ao Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira, situado à Rua dos Coelhoos, 300 – Bairro Boa Vista, Recife, Pernambuco, telefone (81) 2122-4100.

Eu \_\_\_\_\_,  
portador do RG \_\_\_\_\_, compreendi as explicações acima e  
concordo que o menor sob minha responsabilidade participe da  
pesquisa sobre dermatite atópica.

Recife, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_

Assinaturas:

Responsável: \_\_\_\_\_

Pesquisadora: \_\_\_\_\_

Testemunhas: \_\_\_\_\_

Impressão digital

Pesquisadora Responsável: Dr<sup>a</sup>. Matilde Campos Carréra  
Endereço: Av. Rosa e Silva, 765 – Bairro Aflito- Recife – Pernambuco  
Telefone: (81) 3222-1850 Celular: (81) 9101-3581

Local do Estudo: Instituto Materno-Infantil Professor Fernando Figueira  
Rua dos Coelhos, 300 – Bairro Boa Vista – Recife – Pernambuco  
Telefone: (81) 2122-4100

## Apêndice B - Modelo do Questionário - Dermatite atópica

Número: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Data de Nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Sexo: ( ) Masculino ( ) Feminino

Renda Familiar em salários mínimos: < 1 SM  1 SM  2 SM  3 SM

Nível de escolaridade materna:  Ilustrada

ensino fundamental incompleto  ensino fundamental completo

ensino médio incompleto  ensino médio completo

ensino superior incompleto  ensino superior completo

### Dermatite Atópica

1. Apresenta ou apresentou manchas com coceira na pele que aparecem e desaparecem? ( ) Sim ( ) Não

2. Teve manchas nos últimos 12 meses? ( ) Sim ( ) Não

3. Essas manchas localizavam-se em dobras? ( ) Sim ( ) Não

4. Idade de início das manchas: até 2 anos  após os 2 anos

5. Não desaparecimento completo dos sintomas nos últimos 12 meses?  
( ) Sim ( ) Não

6. Acorda à noite pelo prurido? ( ) Sim ( ) Não

7. Já teve eczema alguma vez? ( ) Sim ( ) Não

## 8. Historia familiar:

- Pai:**
- Asma ( ) Sim ( ) Não
- Rinite ( ) Sim ( ) Não
- Urticária ( ) Sim ( ) Não
- Dermatite atópica ( ) Sim ( ) Não
- Mãe:**
- Asma ( ) Sim ( ) Não
- Rinite ( ) Sim ( ) Não
- Urticária ( ) Sim ( ) Não
- Dermatite atópica ( ) Sim ( ) Não
- Irmãos:**
- Asma ( ) Sim ( ) Não
- Rinite ( ) Sim ( ) Não
- Urticária ( ) Sim ( ) Não
- Dermatite atópica ( ) Sim ( ) Não
- Avós Paternos:**
- Asma ( ) Sim ( ) Não
- Rinite ( ) Sim ( ) Não
- Urticária ( ) Sim ( ) Não
- Dermatite atópica ( ) Sim ( ) Não
- Avos Maternos:**
- Asma ( ) Sim ( ) Não
- Rinite ( ) Sim ( ) Não
- Urticária ( ) Sim ( ) Não
- Dermatite atópica ( ) Sim ( ) Não

9. Alguma vez na vida teve chiado no peito ou falta de ar? ( ) Sim ( ) Não  
 Informações da criança:

10. Seu(Sua) filho(a) tem asma?: ( ) Sim ( ) Não



## Apêndice C – Artigo em idioma inglês

Atopic dermatitis and functional variants of the protein binding of mannose in Brazilian children (MBL-2)

Matilde Campos Carréra<sup>1</sup>

Emanuel Sarinho<sup>2</sup>

Servio Crovella<sup>3</sup>

Patrícia Muniz Mendes Freire de Moura<sup>4</sup>

Paulo Roberto Eleutério de Souza<sup>5</sup>

Luiz Cláudio Arraes de Alencar<sup>6</sup>

<sup>1</sup> – Dermatologist at Maternal Infant Institute Prof. Fernando Figueira (IMIP) – Recife, Pernambuco, Brazil. [matcarrera@hotmail.com](mailto:matcarrera@hotmail.com)

<sup>2</sup> – Pediatrics Department at Federal University of Pernambuco, Coordinator of Allergy and Immunology Research Centre at Federal University of Pernambuco. Recife – Brazil. [emanuel.sarinho@gmail.com](mailto:emanuel.sarinho@gmail.com)

<sup>3</sup> – General Unit. Department at Reproduction and Development Sciences, University of Trieste. [segat@burlo.trieste.it](mailto:segat@burlo.trieste.it)

<sup>4</sup> – Biology and Pathology Department of Pernambuco University, Recife, Pernambuco, Brazil. E-mail [thita6@yahoo.com.br](mailto:thita6@yahoo.com.br)

<sup>5</sup> – Biology Department at Rural Federal University. Pernambuco, Brazil. [prsouza30@gmail.com](mailto:prsouza30@gmail.com)

<sup>6</sup> – Tropical Medicine Department at Federal University of Pernambuco and IMIP Clinical Research Centre – Recife, Pernambuco, Brazil [lularraes@terra.com.br](mailto:lularraes@terra.com.br)

Infectious Communicable Diseases Department of Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

Correspondence Author

Matilde Campos Carréra

Rua de Apipucos, 193 – Monteiro – Recife – Pernambuco – Brazil

Zip-Code 55012100

Phone (81) 9101-3581

Department of Infectious Diseases at Federal University of Pernambuco

## ABSTRACT

**Background:** Although the influence of the deficiency and polymorphism of MBL-2 have been extensively studied in infectious and auto-immune diseases, little is known about its mechanism of action in atopic dermatitis. **Methods:** From August 2006 to July 2008, by means of an exploratory study, 131 children with atopic dermatitis, aging from three months to 12 years old were compared to 165 healthy children without this disease, aging from 4 to 18 years old. The severity of disease was graded according to SCORAD index. Exon 1 (A/O) and promoter regions of MBL-2 (H/L, X/Y) were determined by Real Time PCR. Statistical analyzes were performed by determining genotypic frequencies by Hardy-Weimberg theorem; Qui squared test for paired comparisons was used at a significance level equal to 0.05, unicaudal. **Results:** Among children with atopic dermatitis, there was significant predominance of O allele and AO / OO genotypes, when compared to healthy group ( $\chi^2=10.53$ ;  $p=0.0012$  and  $\chi^2=14.15$ ;  $p<0.001$ , respectively). There was significant predominance of deficient producers of MBL-2 among children with atopic dermatitis ( $\chi^2=30.15$ ;  $p<0.001$ ). **Conclusion:** Low and deficient MBL-2 production was significantly associated to atopic dermatitis, maybe due to a low clearance of apoptotic cells and perpetration of tissue damage.

**Key words:** Atopic dermatitis. Mannose binding protein. Innate immunity. Polymorphism.

## Introduction

The atopic dermatitis due to the complexity of the immunopathological mechanism raises many questions and is considered a relevant disease in the area of allergy and immunology, both in clinical epidemiology<sup>1,2</sup>. Studies on atopic dermatitis, with regard to clinical aspects, especially value abnormalities of adaptive immunity and humoral as well as disorders of the skin barrier, but the innate immunity seems to be altered, and may be one of the explanations for higher frequency of secondary infections by viruses, bacteria and fungi on the skin of these patients<sup>3</sup>. There is a gap in relation to innate immunity in atopic dermatitis, which starts to disclosure, with the advent of immunogenetic.

The key to innate immunity is the mannose-binding lectin (MBL), a pluripotent molecule capable of activating the complement system, which provides structure and function similar to the factor C1q of the classical pathway of complement<sup>4,5,6,7</sup>.

The gene for MBL, located on the long arm of chromosome 10, may present a polymorphism with three variants, which encode proteins of different structures and functions<sup>8,9,10</sup>. The allelic variations were identified in codons 52, 54 and 57 of exon-1 and in positions -550 (allele H) and -221 (allele Y) in the promoter region of the gene for this protein<sup>11,12,13</sup>.

Based on polymorphism of MBL, individuals may be classified as low-producers - those carrying a mutation in both alleles, classified as OO; normal producers - those people with mutations in one allele, called heterozygous AO and large producers - which individuals are not carriers of mutation, classified as AA (wild type)<sup>14</sup>.

Much is already known about the deficiency of MBL and its polymorphism in the genesis and the worsening of infectious and autoimmune diseases. The MBL is particularly important in the early stages of infection and the window of vulnerability during the child's immune system, when maternal antibodies disappear<sup>11,15</sup>. It is an immunomodulatory molecule of inflammation and presents important physiological role in young children, age at which the atopic dermatitis is more common. Thus, the combination of this lectin in the pathogenesis of the disease is a possibility that should be investigated.

Questioning whether the patients with atopic dermatitis have a pattern of genetic polymorphism of MBL-2 other than the standard Brazilian general, raised the possibility that people with atopic dermatitis can justify lower frequency of polymorphism wild type (standard AA), which represents the great producer of MBL2.

This article aims to investigate in children with atopic dermatitis, the presence of functional variants of the mannose binding lectin (MBL2) and investigate the persistence of that pattern in patients with the most severe forms of the disease.

## **Methods**

An exploratory study was carried to the comparison between 131 children with atopic dermatitis and 165 healthy children and adolescents, who did not have atopic dermatitis, from August 2006 to July 2008, and were referred to Maternal-Children Institute Prof. Fernando Figueira, Recife-PE, Brazil, to anamnesis and physical examination directed to the investigation of atopic dermatitis. After approval of the Ethics

Committee for Research and the signing of the Free Informed Consent Term, one proceeded to clinical evaluation of the child, about the seriousness of atopic dermatitis, converting the extent and severity of signs and symptoms in points, employing the criteria of *SCORing Atopic Dermatitis* (SCORAD) that is graduated to: mild (<25 points), moderate (25 to 50 points) and severe (> 50 points)<sup>16</sup>.

At Immunopathology Laboratory Keiso Asami of Federal University of Pernambuco, the genotyping of exon 1 of MBL2 was performed in 131 cases and 165 individuals in the group for comparison, by testing with temperature controlled using specific primers (initial 5'-GGCTTCCCAGGCAAAGATG 3' and reverse 5'-AGCCCAACACGTACCTGGTT-3') and reagents SYBR Green I (Applied Biosystems, Foster City, California). The identification of patterns of curves was obtained by using a program of the ABI 7900 HT (Applied Biosystems). To determine the promoter region H / L and allelic variants of the X/Y of 131 cases and 165 individuals in the group for comparison, two reactions of specific polymerase chain were developed. For H/L, using 5'-TGCTTCCCCTTGGTGTTTTAC-3' and 5'-TGCTTCCCCTTGGTGTTTTATAG-3' as allele specific primer reverse, and 5'-GCCAGGGCCAACGTAGTAAG-3' as a joint primer forward. For X/Y were used: 5'-CTGGAAGACTATAACATGCTTTC-3' and 5'-CTGGAAGACTATAAACATGCTTTG-3' as allele-specific *primers* and reverse 5'-CCGAAGAGGACATGGAGAGA-3' as first joint *forward*. The allelic variants in exon 1 of MBL2 and regions promoters were assessed in duplicate by direct sequencing.

The three allelic variants of exon 1 of MBL2 (in positions 52, 54 and 57) were grouped into a single category (O allele), because it had a similar effect on the functional serum MBL, while the combination of the three alleles wild was grouped as allele A. The frequencies of alleles were calculated by direct counting of genes and calculation of genotypic frequencies, by applying the theorem Hardy-Weimberg. It was applied to the Chi square test for paired comparison using the contingency tables of 2 x 2 x 3 and 2. The level of significance considered for rejection of the null hypothesis was  $p < 0.05$ , unicaudal to the right.

## Results

The case group consisted of 131 children with atopic dermatitis, with an average age of  $3.5 \pm 0.2$  years, ranging from three months to 12 years and median age of 2 years and 8 months and semi-interquartile range equal to 3 years and 3 months, 78.6% of the

patients were younger than 6 years of age. Males were 39.7% of the cases the majority came from families with low income (less than 120 euros per month). The comparison group was composed of 165 children and adolescents with atopic dermatitis, of which 80 (48.5%) males and 85 (51.5%) females with a mean age of 10 years, ranging between four and 18 years.

Table 1 shows the frequencies of exon1 variants of MBL2 in Brazilian Children with atopic dermatitis.

Table 1 – Frequencies of exon 1 variants of MBL-2 in 165 healthy comparison group and 131 children with atopic dermatitis

<i>Genetic distribution</i>	<i>Children with atopic dermatitis (n=131)</i>	<i>Group of Comparison (n=165)</i>
<i>Alleles<sup>(1)</sup></i>		
A	0,687 (180)	0,803 (265)
O	0,313 (82)	0,197 (65)
<i>Genotypes<sup>(2)</sup></i>		
AA	0,534 (70)	0,667 (110)
AO	0,305 (40)	0,273 (45)
OO	0,160 (21)	0,061 (10)

NOTE: <sup>(1)</sup> -  $\chi^2 = 10,53$ ;  $p=0,0012$  <sup>(2)</sup> -  $\chi^2 = 14,15$ ;  $p<0,001$

There was no association between the frequency of variants of the polymorphism of exon-1 gene of the MBL2 and severity of atopic dermatitis (Table 2).

Table 2- Distribution of the severity of atopic dermatitis according to the allelic variants of exon 1 of the gene in 131 children MBL2

<i>Allelic variants of the gene exon 1 of the MBL2</i>	<i>Severity of atopic dermatitis</i>	
	<i>light (n=57)</i>	<i>moderate or severe (n=74)</i>
<i>Alleles</i>		
A	0,702 (80)	0,676 (100)
O	0,298 (34)	0,324 (48)
<i>Genotypes</i>		
AA	0,561 (32)	0,514 (38)
AO	0,281 (16)	0,324 (24)
OO	0,158 (9)	0,162 (12)

NOTE:  $\chi^2 = 0,21$ ;  $p=0,905$

On Table 3, the genotypes were compared, considering the variations of the regions promoting H/L and X/Y, classifying them into three categories according to the characteristic of producing MBL: high (HP), medium (LP) or deficient (SD). Among the patients with atopic dermatitis, there was a predominance of variant deficient for production of MBL2 in relation to the comparison group ( $p < 0001$ ).

**Table 3 - Frequency of allele variants of the regions and promoting the exon-1 gene of MBL2 in 131 children with atopic dermatitis**

<i>Phenotypes</i>	<i>Genotypes</i>	<i>Child with atopic dermatitis (n=131)</i>	<i>Group of comparison (n=165)</i>
High producer (HP)	HYA/HYA HYA/LYA HYA/LXA LYA/LYA LYA/LXA	0,488 (64)	0,497 (82)
Defective producer Low producer (LP)	LXA/LXA HYA/LYO HYO/LYA HYA/O HXA/O LYA/O	25,2% (33)	44,2 (73)
Defective producer (DP)	LXA/O HXA/O HYO/LXA O/O	26,0% (34) <sup>c</sup>	6,1 (10)

NOTE:  $\chi^2=30,15$ ;  $p<0,001$ 

The three categories of production of MBL (HP, LP and DP) were not associated with severity of atopic dermatitis ( $p = 0,937$ ) (Table 4).

**Table 4- Distribution of the severity of atopic dermatitis second polymorphism of the regions and promoters of exon 1 of the MBL2 gene in 131 children with atopic dermatitis**

<i>Phenotypes of regions and promoters of exon 1 of the gene MBL2</i>	<i>Severity of atopic dermatitis</i>	
	<b>light (n=57)</b>	<b>moderate or severe (n=74)</b>
High producer (HP)	49,1% (28)	48,6% (36)
Defective producer <sup>b</sup> Low producer (LP)	26,3% (15)	24,3% (18)
Defective producer (DP)	24,6% (14)	27,0% (20)

NOTE:  $\chi^2 = 0,13$ ;  $p = 0,937$ 

## Discussion

Depending on the type of polymorphism of the MBL gene may occur, high or low levels of this protein associated with the variability of functional immune system, which can cause susceptibility to various diseases. In literature, there are studies related to infectious diseases, yet few are those concerning the association of MBL and allergic diseases, hence the importance of this research.

Our results show that patients with atopic dermatitis were the most frequent allele O and genotype AO and OO, which are associated to the lowest levels of MBL. These

results suggest that the lack of genetic standard AA, producer of large amount of MBL, it may be a risk factor for the onset of the disease. Thus, we formulated the hypothesis is supported by the results: the lack of standard AA represents risk facing environmental determinants for the onset of atopic dermatitis. Despite the absence of significant association between the frequency of variants of exon 1 of MBL2 and severity of the disease, there is increased frequency of genotypes AO and OO in the form of moderate or severe atopic dermatitis, suggesting that low producers are more likely to appear of the disease and the most severe forms. The relationship between variants of exon 1 of MBL2 and severity of atopic dermatitis can be proven when it is considered for calculating the statistical distribution gene named Gravity correction.

By classifying the individuals surveyed in three categories according to the production of MBL in high (HP), medium (LP) or deficient (SD), it was observed that among patients with atopic dermatitis, there was a significant predominance of the group for producing defective MBL-2 ( $P < 0001$ ) and that these categories (HP, LP and DP) were not associated with severity of atopic dermatitis ( $p = 0937$ ).

Leung et al.<sup>17</sup>, testing the codon 54, said that despite the importance of MBL in innate immunity, the polymorphism of this gene showed only weak association with asthma and atopy in children. Moreover, Hashimoto et al.<sup>18</sup>, investigating Japanese patients with atopic dermatitis, found no association between the allelic variant of MBL2 and susceptibility to the disease, through the test of codon 54. Our results were more similar to the study by Leung et al.<sup>17</sup>, but is worth highlighting that both authors studied only the codon 54 and in our study were tested all three codons 52, 54 and 57. Equally, Muller et al.<sup>19</sup>, studying and respiratory diseases in infants and children wheezing, testing the codons 52, 54 and 57, found that the deficiency of MBL was not a risk factor for respiratory infection or atopy in childhood. Uguz et al.<sup>20</sup>, to examine the serum levels of MBL in asthmatic children, suggested that this protein may contribute to inflammation of the airways and increase the risk of developing the disease, therefore it can play an important role in the pathophysiology, but does not specifically refer to atopic dermatitis.

McGirt and Beck<sup>21</sup> suggested that patients with atopic dermatitis have defect in innate immunity. The function of the barrier extract corneum is altered by low levels of lipids (ceramide and esfingomieline) and the consequent abnormal keratinization filagrin dysfunctional and the mechanical trauma by itching. Furthermore, the physiological stress induces secretion of corticotropin by the hypothalamus and regulates the secretion of

interleukin 18 and interleukin 1- $\beta$  by keratinocytes, which are important in the innate immune response. Low levels of MBL have been associated with atopic dermatitis, suggesting that it may be another fault of the innate response in these patients.

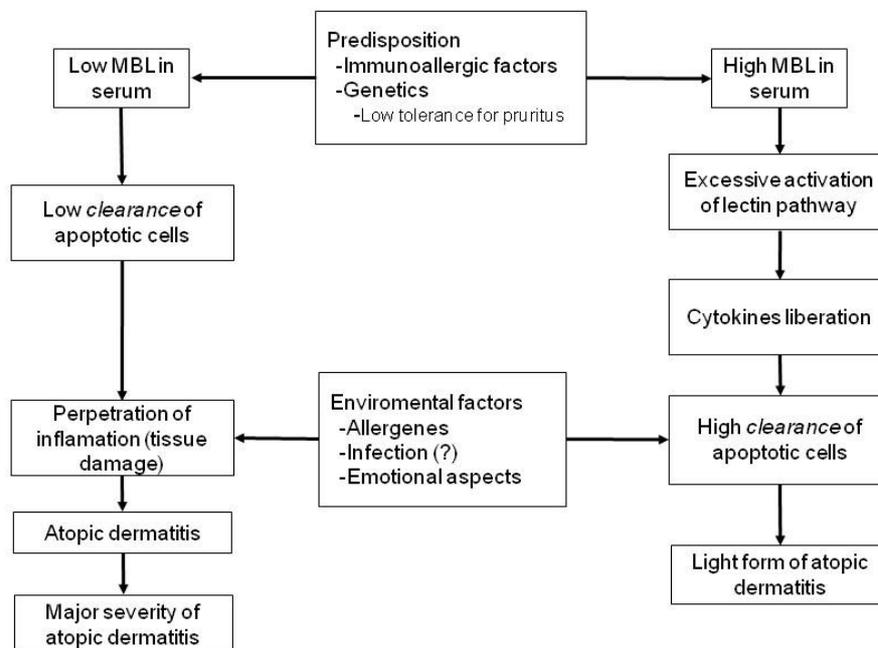
Studies involving patients with infectious diseases and autoimmune diseases have shown that those senior producers of MBL-2 developed a more severe form. In HIV infection, individuals with low serum levels are more susceptible to acquiring the infection, but once infected, those with a higher concentration of MBL are likely to present the most serious form of the disease, the inflammatory response induced by high levels of cytokines pro-inflammatory (Boniotto et al.<sup>14</sup>, Garred et al.<sup>22</sup>). Although we have not found a significant difference between the forms of severity of atopic dermatitis in the sample, from such evidence, seems plausible admit that the same mechanism may occur in atopic dermatitis. It is possible that, especially in moderate and severe forms, the standard low-producer of MBL is associated with other factors, environmental, infectious and immunological, promoting greater tissue damage by the low clearance of apoptotic cells.

Kaur et al.<sup>23</sup> report that the presence of the polymorphism of the MBL-2 gene and its variants alleles leads to a functioning immunomodulator with higher or lower serum levels of the protein which contributes to susceptibility to various diseases. The authors conclude that increased levels of MBL leads to increased production of pro-inflammatory cytokines, which contributes to increasing the severity of allergic respiratory diseases, could be a genetic marker, whereas low levels of serum MBL and of complement activity increase the susceptibility to infectious diseases but protect against those mediated by complement.

Aitttoniemi et al.<sup>24</sup>, when comparing a group of 243 adults with asthma, atopic and non-atopic, to 400 controls, concluded that the genotype of the MBL-2 has no effect on predisposition to the occurrence of atopy, but the allelic variant of the X region promoter causes low expression of MBL and is a significant risk factor for asthma in adults not atopic.

The MBL can be only one factor participating in the complex etiology of atopic dermatitis therefore, the low serum MBL can lead to low clearance of apoptotic cells. The hypothesis that can be suggested to our findings based on the mechanisms of innate immunity on the participation of MBL in Atopic dermatitis is shown in Figure 1 where it represents a model on the possible involvement of MBL cause this disease. Additional work is needed to confirm or reject this model. The participation of the MBL and other

components of innate immunity in the pathogenesis of atopic dermatitis is still a huge field of research.



**Figure 1 - Proposed model for the participation of MBL in the pathogenesis of atopic dermatitis**

### Bibliographic references

1. Boguniewicz M, Leung DYM. Atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117(2):475-480.
2. Sampaio SAP, Rivitti EA. Erupções Eczematosas. In: *Dermatologia*, 1<sup>nd</sup> ed. cap. 16. São Paulo: Artes Médicas. 1998:149-160.
3. Annells MF, Prust H, Mullighan CG, et al. Polimorphisms in immunoregulatory gens and the risk of histologic chorioamnionitis in caucasoid women. A case control study. *BMC Pregn Childbir* 2005;5:4.
4. Ezekowitz RAB. Anti-antibody immunity. *Curr Biol* 1991;1:60-62.
5. Lima HC. Tópicos em imunodermatologia clínica. São Paulo: Segmento. 2004.
6. Schmiegelow K, Garred P, Lausen B, Andreassen B, Petersen BL, Madsen HO. Increased frequency of mannose-binding lectin insufficiency among children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002;100:3757-3760.
7. Tsutsumi A, Takahashi R, Sumida T. Mannose binding lectin: genetics and autoimmune disease. *Autoimmun Rev* 2005;4(6):364-372.

8. Turner MW. The role of mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol Today* 1996;17(11):532-539.
9. Berrón-Perez R, Penagos-Paniagua MJ, Zaragosa-Benítez JM, Rodríguez-Álvarez J, Blancas-Galicia L. El sistema del complemento. Vías clásica y de la lectina que se une a la manosa. *Alergia, Asma Immunol Pediatr* 2003;12(2):46-52.
10. Kazunori G, Yutaka T, Takao K, et al. Mannose-binding lectin gene polymorphism is a modulating factor in repeated respiratory infections. *Chest* 2004;126:95-99.
11. Kronborg G, Weis N, Madsen HO, Pedersen SS, Wejse C, Nielsen H, et al. Variant mannose-binding lectin alleles are not associated with susceptibility to or outcome of invasive pneumococcal infection in randomly included patients. *J Infect Dis* 2002;185:1517-1520.
12. Madsen HO, Satz ML, Hogh B, Svejgaard A, Garred P. Different molecular events result in low protein levels of mannan-binding lectin in populations from southeast Africa and South America. *J Immunol* 1998;161:3169-3175.
13. Hibberd ML, Sumiya M, Summerfield JA, Booy R, Levin M, Meningococcal Research Group. Association of variants of the gene for mannose-binding lectin with susceptibility to meningococcal disease. *Lancet* 1999;353:1049-1053.
14. Boniotto M, Crovella S, Pirulli D, Scarlatti G, Spanò A, Vatta L, et al. Polymorphisms in the MBL2 promoter correlated with risk of HIV-1 vertical transmission and AIDS progression. *Genes Immunol* 2001;1:346-348.
15. Turner MW. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Mol Immunol* 2003;40:423-429.
16. Pelosi S, Tripodi S. Scorad Card. Software for automatic calculation of the Scorad. User's Guide. Technology Projects & Software Production. 2003.
17. Leung TF, Tang NLS, Sung YM, et al. Genetic association study between MBL-2 and asthma phenotypes in Chinese children. *Pediatr Allergy Immunol* 2006;17:501-507.
18. Hashimoto S, Nakamura K, Oyma N, Kaneko F, Tsunemi Y, Saeki H, et al. Macrophage-derived chemokine (MDC)/CCL22 produced by monocyte derived dendritic cells reflects the disease activity in patients with atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* 2006;44:93-99.
19. Muller S, Keil T, Gruber C, Zitnik SE, et al. MBL-2 variants in relation to common childhood infections and atopy related phenotypes in a large German birth cohort. *Pediatr Allergy Immunol* 2007:1-6.
20. Uguz A, Berber Z, Coskun M, Halide Akbas S, Yegin O. Mannose-binding lectin levels in children with asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2005;16(3):231-235.

21. McGirt LY, Beck LA. Innate immune defects in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118(1):202-208.
22. Garred P, Richter C, Andersen AB, Madsen HO, Mtoni I, Svejgaard A. Mannan-binding lectin in the sub-Saharan HIV and tuberculosis epidemics. *Scand J Immunol* 1997;46:204-208.
23. Kaur S, Gupta VK, Shah A, Thiel S, Sarma PU, Madan T. Elevated levels of mannan-binding lectin (MBL) and eosinophilia in patients of bronchial asthma with allergic rhinitis and allergic bronchopulmonary aspergillosis associate with a novel intronic polymorphism in MBL. *Clin Exp Immunol* 2006;143(3):414-419.
24. Aittoniemi J, Soranummi H, Rovio AT, Hurme M, Pessi T, Nieminen M, et al. Mannose-binding lectin 2 (MBL2) gene polymorphism in asthma and atopy among adults. *Clin Exp Immunol* 2005;142(1):120-124.

## ANEXO I – Aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa

Instituto Materno Infantil  
Prof. Fernando Figueira  
Escola de Pós-graduação em Saúde Materno Infantil  
Instituição Civil Filantrópica

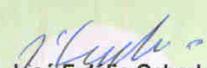


IMIP

**DECLARAÇÃO**

Declaro que o Projeto de pesquisa nº. 773 intitulado "**Dermaite atópica e imunidade inata-associação com polimorfismo do gene da proteína ligadora de manose (MBL2)**", apresentado pela Pesquisadora Maltide Campos Guerra, foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira – IMIP, em Reunião Ordinária 03 de agosto de 2006. .

Recife, 04 de agosto de 2006.

  
**Dr. José Eulálio Cabral Filho**  
Coordenador do Comitê de Ética  
e Pesquisa em Seres Humanos do  
Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira

UTILIDADE PÚBLICA MUNICIPAL - Dec. Lei 9851 de 08/11/67  
UTILIDADE PÚBLICA ESTADUAL - Dec. Lei 5013 de 14/05/84  
UTILIDADE PÚBLICA FEDERAL - Dec. Lei 85238 de 30/07/81  
INSCRIÇÃO MUNICIPAL: 05.897-1  
INSCRIÇÃO ESTADUAL: Isento  
CNPJ: 10.988.301/0001-29

Rua dos Coelhos, 300 Boa Vista  
Recife - PE - Brasil CEP: 50.070-550  
PABX: (81) 2122.4100  
Fax: (81) 2122-4722 Cx. Postal 355  
e-mail: [imip@imip.org.br](mailto:imip@imip.org.br)  
home page [www.imip.org.br](http://www.imip.org.br)

## **ANEXO II - Critérios diagnósticos de Hanifin & Rajka para dermatite atópica**

O diagnóstico da DA baseia-se em critérios clínicos (Hanifin & Rajka, 1980).

1. Condições Principais (1 ou mais): prurido (essencial); morfologia e distribuição típica; evolução crônica com recaídas e atopia pessoal ou familiar.
2. Condições Secundárias (3 ou mais): Xerose, ptíriase alba, prurido pelo suor, ceratose pilar, eczema malar, iniciado na infância, ictiose, ceratose palmo-plantar, reação imediata ao teste de puntura, lesões não específicas de mãos e pés, queilites, ceratocones, acentuação perifolicular, palidez, eritema facial, intolerância a lã e solventes lipídicos, hipersensibilidade alimentar, dermatografismo branco, conjuntivite recorrente, escurecimento orbital, catarata sub-capsular, dobra infra-orbital (Dennie-Morgan), tendência a infecção cutânea com imunidade celular diminuída.

## **ANEXO III – Confirmação de aceitação da Revista Brasileira de Medicina – ISSN 0034-7264**

**De:** Sonia Lisboa [redacao@moreirajr.com.br]  
**Enviado em:** terça-feira, 1 de julho de 2008 11:25  
**Para:** Dra. Matilde  
**Assunto:** Re: Solicitação de informação sobre artigo submetido ao Comitê Editorial

**Prioridade:** Alta

**Prezada Dra. Matilde:**

**Informamos que o artigo intitulado: LECTINA LIGADORA DE MANOSE (MBL) E ASSOCIAÇÃO COM DOENÇAS ALÉRGICAS COM ÊNFASE NA DERMATITE ATÓPICA de autoria dos Drs.: Matilde Campos Carréra, Emanuel Sarinho e Luiz Cláudio Arraes foi aprovado pelo Conselho Editorial da Revista Brasileira de Medicina, porém não existe a previsão para a publicação do mesmo.**

**Atenciosamente,  
Sônia Lisboa**

----- Original Message -----

**From:** Dra Matilde Carrera

**To:** redacao@moreirajr.com.br

**Sent:** Thursday, June 26, 2008 11:49 AM

**Subject:** Solicitação de informação sobre artigo submetido ao Comitê Editorial

Prezada Dr<sup>a</sup>. Sônia Lisboa

Escrevo este e-mail para obter de V.S<sup>a</sup>. informações sobre o andamento de meu artigo submetido ao vosso Comitê Editorial

Preciso dessa informação porque devo prestar essa informação à Banca Examinadora do Doutorado.

Agradeço vossa presteza e costumeira gentileza

Grata

Dr<sup>a</sup>. Matilde Carréra

Dados do Artigo

**Título: LECTINA LIGADORA DE MANOSE (MBL) E ASSOCIAÇÃO COM DOENÇAS ALÉRGICAS COM ÊNFASE NA DERMATITE ATÓPICA**

**Autores:**

Matilde Campos Carréra, Luiz Cláudio Arraes de Alencar, Emanuel Sarinho

Agradeço sua resposta. Este é o segundo e-mail que lhe envio (o anterior foi em 16/06/2008), porque o prazo está curto.

Grata

Atenciosamente

Dr<sup>a</sup>. Matilde Carréra

## ANEXO IV – Envio do artigo para a revista Allergy – registro ALL-2008-00928

 **Allergy**

Edit Account | Instructions & Forms | Log Out | [Get Help Now](#)



[Main Menu](#) → [Author Dashboard](#) → Submission Confirmation

You are logged in as Matilde Carréra

### Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Allergy*.

Manuscript ID: ALL-2008-00928

Title: Atopic dermatitis and functional variants of the protein binding of mannose in Brazilian children (MBL-2)

Authors: Carréra, Matilde  
Sarrinho, Emanuel  
Crovella, Sergio  
Moura, Patricia Muniz  
Souza, Paulo Roberto  
Alencar, Luiz Cláudio

Date Submitted: 16-Nov-2008

 Print  Return to Dashboard

Manuscript Central™ v4.11 (patent #7,257,767 and #7,263,655). © ScholarOne, Inc., 2008. All Rights Reserved.  
Manuscript Central is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc.  
[Terms and Conditions of Use](#) - [ScholarOne Privacy Policy](#) - [Get Help Now](#)