

CORRELAÇÃO DOS NÍVEIS DE IL-8 COM SEU POLIMORFISMO GENÉTICO NA ESPONDILITE ANQUILOSANTE

Wellington Dias Liziero (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Fernanda Formaggi Lara Armi (PBF-UEM), Matheus Braga (PBF-UEM), Jeane Eliete Laguilha Visentainer (Orientador), e-mail: jelvisentainer@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

IMUNOLOGIA-IMUNOGENÉTICA

Palavras-chave: Interleucina-8, polimorfismo de nucleotídeo único, espondilite anquilosante.

Resumo:

A Espondilite Anquilosante (EA) é uma doença autoimune, com inflamação crônica que acomete principalmente o esqueleto axial. Os mecanismos e a patogênese pelos quais a EA se desenvolve ainda não são bem compreendidos. Alguns estudos apontam a participação de citocinas pró-inflamatórias como a IL-8 na imunopatogênese da doença. A IL-8 é uma quimiocina membro da família das citocinas que possui atividade quimiotática para neutrófilos. O objetivo desse trabalho foi realizar a dosagem sérica da IL-8 e comparar com a frequência dos polimorfismos IL8 -353(T>A) (rs4073), IL8 -738 (T>A) e IL8 -845 (T>C) (rs2227532), previamente realizados, nos pacientes com EA, da região norte/noroeste do Estado do Paraná. A determinação dos níveis séricos da citocina IL-8 em 34 pacientes com EA utilizando alíquotas de soro em duplicata, seguindo protocolo ProcartaPlex™ Multiplex Immunoassay, e analisada posteriormente no citômetro de fluxo (Luminex® 2000). Os resultados mostraram que não houve diferença nos níveis de IL-8 entre os genótipos dos polimorfismos analisados. Assim, concluímos que os níveis de IL-8 não estão associados ao genótipo dos polimorfismos analisados em pacientes com espondilite anquilosante.

Introdução

A espondilite anquilosante (EA) é uma doença inflamatória crônica que acomete preferencialmente a coluna vertebral, podendo evoluir com rigidez e limitação funcional progressiva do esqueleto axial (BARROS, *et al.*, 2007). Os mecanismos imunopatogênicos da EA não são totalmente elucidados e há evidências do envolvimento de citocinas pró-inflamatórias como a IL-8 que é uma quimiotática para neutrófilos (BAGGIOLINI, WALZ, KUNKEL, 1889).

Muitos estudos já confirmaram a implicação da IL-8 no desenvolvimento da EA, uma vez que, os macrófagos ativados no infiltrado celular são uma importante fonte de liberação de IL-8 que, por sua vez, recruta neutrófilos, estimula

angiogênese e a expressão de integrinas no endotélio de vasos sanguíneos favorecendo a migração de neutrófilos para a zona inflamatória e, por conseguinte, dano à articulação. Os níveis séricos de IL-8 já foram também positivamente correlacionados com instrumentos de avaliação da doença, como BASDAI e ASDAS (AZEVEDO, *et al.*, 2013).

Portanto o objetivo desse estudo foi realizar a dosagem sérica da IL-8 e comparar com a frequência dos polimorfismos IL8 -353(T>A) (rs4073), IL8 -738 (T>A) e IL8 -845 (T>C) (rs2227532), previamente realizados, nos pacientes com EA, da região norte/noroeste do Estado do Paraná.

Materiais e métodos

O projeto foi realizado de acordo com as normas preconizadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá (UEM) com o CAAE 27723114.0.0000.0104.

Pacientes e controles

Aproximadamente 34 pacientes adultos, com EA, de ambos os sexos, residentes em diferentes municípios do norte/noroeste do Estado do Paraná. Os pacientes foram triados em clínicas de reumatologia particulares e no ambulatório de reumatologia do Hospital Universitário de Maringá.

Determinação dos níveis séricos da citocina IL-8

A determinação dos níveis séricos da citocina IL-8 foi realizada para 34 indivíduos. Utilizando alíquotas de soro, através do Kits de Imunoensaio HumanCytokine 10-Plex Panel (*Life Technologies*, Carlsbad, CA) de acordo com as recomendações do fabricante. O sinal de fluorescência foi verificado no equipamento Luminex® 2000.

Análise Estatística

Os níveis séricos e os genótipos de IL-8 foram organizados em planilha Excel manualmente. As comparações do nível sérico de IL-8 com os polimorfismos genéticos do gene que codificam *IL8* foram realizadas no programa *Bioestat* versão 5.0 por meio do teste Mann Whitney. Foi considerado como significativo $P \leq 0,05$.

Resultados e Discussão

Foi realizada a dosagem de citocinas em trinta e quatro (34) pacientes com EA que haviam sido previamente genotipados para os polimorfismos localizado no gene *IL8*, nas posições -353 (T>A) (rs4073), -738 (T>A) e -845 (T>C) (rs2227532). A quantificação da IL-8 foi realizada, em duplicata, seguindo protocolo ProcartaPlex™ Multiplex Immunoassay, e analisada posteriormente no citômetro de fluxo (Luminex®

200). Para o polimorfismo IL-8 -353(T>A) (rs4073), foram analisados os níveis séricos dessa citocina em 10 indivíduos com genótipo A/A, 16 A/T e 8 T/T. Para o polimorfismo IL-8 -738 (T>A), a dosagem foi realizada em 20 pacientes com genótipo A/T e 14 T/T. Para o polimorfismo IL-8 -845 (T>C) (rs2227532), foi quantificada em 12 pacientes com genótipo T/C e 22 T/T. Não houve diferença nos níveis de IL-8 entre os genótipos dos polimorfismos analisados, conforme tabela 1.

Tabela 1 – Comparação da dosagem de citocinas com os genótipos dos polimorfismos -353 (T>A), -738 (T>A) e -845 (T>C) da IL-8.

Polimorfismo	Mediana	Mediana	P-valor
- 353			
A/A x A/T	0	1,86	0,09
A/T x T/T	1,86	0,37	0,39
A/A x T/T	0	0,37	0,37
A/A+A/T x T/T	0,50	0,37	0,87
-738			
A/T x T/T	0,50	0,37	0,77
-845			
T/C x T/T	0,40	0,18	0,27

Conclusões

Os níveis IL-8 não estão associados ao genótipo dos polimorfismos IL-8 -353 (T>A) (rs4073), IL-8 -738 (T>A) e IL-8 -845 (T>C) (rs2227532) em pacientes com espondilite anquilosante.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos professores e colaboradores do Laboratório de Imunogenética da UEM e ao apoio financeiro do Laboratório de Imunogenética-UEM (Projeto nº 00639/99-DEG-UEM), da Fundação Araucária do Estado do Paraná, CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

Referências

1. AZEVEDO, V.F. *et al.* IL-8 but not other biomarkers of endothelial damage is associated with disease activity in patients with ankylosing spondylitis without treatment with anti-TNF agents. **Rheumatology international.**, v.33, n.7, p.1779-1783, 2013.



2. BAGGIOLINI, M.; WALZ, A.; KUNKEL, S.L. Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. **The Journal of Clinical Investigation**, v.84, n.4, p.1045-1049, 1989.

3. BARROS, P. *et al.* Consenso Brasileiro de Espondiloartropatias: Espondilite Anquilosante e Artrite Psoriásica Diagnóstico e Tratamento – Primeira Revisão. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.47, n.4, p. 233-242, 2007.