

AUSÊNCIA DE ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO *IL18* -137 G>C E A INFECÇÃO POR ZIKA VÍRUS

Mariana Bonfim Track (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Laise Nayana Sala Elpidio (Coorientadora), Amarilis Giaretta de Moraes (CAPES/UEM), Greicy Cezar do Amaral (15º REGIONAL DE SAÚDE), Maria Luiza Moretti (UNICAMP), Márcia Teixeira Garcia (UNICAMP), Rodrigo Angerami (UNICAMP), José Luiz Proença Módena (UNICAMP), Christiane Maria Ayo (CAPES/FAMERP), Luiz Carlos de Mattos (FAPESP/FAMERP), Cinara de Cássia Brandão (FAMERP), Maurício Lacerda Nogueira (FAPESP/FAMERP), Jeane Eliete Laguilha Visentainer (Orientadora)
E-mail: jelvisentainer@uem.br

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

Área: 21100004 - Imunologia Subárea: 21103003 - Imunogenética

Palavras-chave: Interleucina-18, Zika vírus, Estudos de associação genética

Resumo:

Devido ao aumento do número de casos da infecção por Zika vírus nos primeiros meses de 2019 em comparação aos números do ano anterior, há uma preocupação sobre um possível novo surto. Sabe-se que a interleucina-18 é encontrada em níveis superiores em pacientes infectados com o vírus e que ela tem um papel importante em eliminar o vírus. Essa citocina tem um polimorfismo na região promotora, que pode alterar a sua produção e função. Assim, neste trabalho foi analisado um polimorfismo do gene *IL18* -137 (G>C). Foram incluídos 90 pacientes com diagnóstico positivo e 162 controles negativos para a infecção por Zika vírus. O DNA dos participantes foi extraído e o polimorfismo foi avaliado por PCR-SSP. As comparações entre as frequências alélicas e genotípicas foram realizadas utilizando o programa SNPStats. Verificou-se que não houve associação entre o polimorfismo e a ocorrência da infecção por Zika vírus; no entanto, sugerimos que estudos futuros busquem uma associação entre as formas mais graves da doença e este e outros polimorfismos desta citocina.

Introdução

O Zika vírus (ZIKV) é pertencente à família *Flaviviridae* e causou uma epidemia que atingiu mais de um milhão de pessoas no Brasil em 2016. Os

números de casos relatados nos dois primeiros meses de 2019 preocupam e abrem a possibilidade para um novo surto da doença.

Apesar da imunofisiologia do ZIKV ainda estar sendo descoberta, já se sabe que a interleucina-18 (IL-18) é encontrada de forma aumentada em pacientes infectados com ZIKV. A IL-18 induz a inflamação e potencializa a resposta imune das células natural killer, aumentando a função citotóxica dessas células, e ativa os linfócitos T CD8, que têm uma grande importância na eliminação dos vírus. Essa citocina é codificada por genes contidos no cromossomo 11 e sabe-se que há polimorfismos de nucleotídeo único na região promotora do gene *IL18*. O polimorfismo situado na posição -137 G>C pode alterar a expressão, a função e o nível com o qual a citocina é produzida. Além disso, este polimorfismo está associado à proteção ou susceptibilidade a doenças, como observado na infecção causada pela Hepatite B. O estudo realizado teve um papel protetor na infecção pelo vírus da hepatite B.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o polimorfismo da região promotora do gene *IL18* G>C na posição -137 e sua influência no desenvolvimento da infecção por Zika vírus.

Materiais e métodos

Aspectos éticos

O projeto foi realizado de acordo com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá (Nº 2.364.256/2017) e Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (CAAE 55805516.2.0000.5415).

Coleta das amostras

Os indivíduos participantes eram provenientes da região noroeste do Paraná e noroeste de São Paulo. Foram incluídos no estudo 90 pacientes com diagnóstico positivo para ZIKV (68 mulheres e 22 homens, média de idade $40,0 \pm 14,89$) e 162 controles com diagnóstico negativo (85 mulheres e 77 homens, média de idade $42,9 \pm 15,01$) para ZIKV. O diagnóstico da infecção por ZIKV foi realizado por meio da técnica *Real Time* RT-PCR. Ressaltamos que pacientes e controles estão pareados para a idade. O DNA foi extraído a partir do sangue total por kits de extração QIAamp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Germany).

Análise dos polimorfismos

A genotipagem do gene da *IL18* -137 (G>C) foi realizada pela técnica de *Polymerase Chain Reaction-sequence-specific primers* (PCR-SSP), cujo

desenho do primer foi baseado no trabalho de Liu et al. (2007). A reação de PCR foi realizada para o volume final de 10 μ L e continha tampão 1X PCR Buffer Green, 0,7 mM de MgCl₂ Promega, 0,2 mM de dNTP, 2,5 ng/ μ L de primer controle R, 1,5 ng/ μ L de primer controle F, 2 ng/ μ L de primer específico G, 2 ng/ μ L de primer específico C, 0,4 U de Taq Promega, 1,5 μ L de DNA e o volume de água necessário para completar 10 μ L. A amplificação foi realizada em termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems™). Os produtos gerados pela PCR foram visualizados em gel de agarose a 2%. São gerados fragmentos de 446 pb para o controle e 261 pb do fragmento do polimorfismo para *IL18-137*.

Análise estatística

Os resultados foram colocados em planilhas no Excel e os dados foram avaliados pelo programa SNPStats, para que pudessem ser verificadas as frequências alélicas e genóticas em pacientes e os controles. O risco de desenvolver a doença será calculado através da OD (“odds ratio”) e será considerado um intervalo de confiança de 95% (IC95%). O valor de $P < 0,05$ foi considerado significativo. A média de idades entre pacientes e controles foi calculada por meio do programa GraphPad (<https://www.graphpad.com/quickcalcs/ttest1/?Format=C>).

Resultados e Discussão

A distribuição das frequências genóticas para o polimorfismo da *IL18-137* estava em equilíbrio Hardy-Weinberg.

Tabela 1 – Frequência alélica e genotípica do polimorfismo da *IL18-137* em pacientes com ZIKV e controles*

<i>IL18-137</i>	Pacientes N = 90 n (%)	Controles N = 162 n (%)
Alelos		
G	124 (69%)	236 (73%)
C	56 (31%)	88 (27%)
Genótipos		
GG	40 (44%)	83 (51%)
GC	44 (49%)	70 (43%)
CC	6 (7%)	9 (6%)

N: número de indivíduos; n: número de alelos e genótipos; %: frequência do número de indivíduos.

*Valor de P não significativo.

A Tabela 1 apresenta as frequências alélicas e genóticas para o polimorfismo da *IL18-137* (G>C) encontradas em pacientes e controles. A maior frequência alélica encontrada foi o alelo G (69% para pacientes e 73% para controles). A maior frequência genotípica observada em pacientes foi

para o genótipo GC (49%), e em controles foi para o genótipo GG (51%). Não foram observadas diferenças significativas na distribuição alélica e genotípica da *IL18* -137 em pacientes e controles. A ausência de resultados significativos em nossos resultados corrobora com os resultados encontrados por Hirankarn *et al.* (2007).

Conclusões

Em nosso estudo, não foi encontrada associação entre o polimorfismo *IL18* -137 na infecção por ZIKV.

Agradecimentos

Agradeço ao Laboratório de Imunogenética da Universidade de Maringá (LIG-UEM), ao Laboratório de Imunogenética da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, ao Laboratório de Vírus Emergente do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, aos pacientes, controles e profissionais da saúde envolvidos no projeto, ao CNPq e à Fundação Araucária (PR).

Referências

BRASIL. Ministério da Saúde. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, chikungunya e Zika) até a Semana Epidemiológica 11 de 2019. **Boletim epidemiológico**, Brasília, v.50, n.10, 2019. Disponível em:

<<https://www.saude.gov.br/images/pdf/2019/marco/25/2019-013-Monitoramento-dos-casos-de-arboviroses-publicacao-25-03-2019.pdf>>.

Acesso em: 15 jul 2020.

HIRANKARN N, MANONOM C, TANGKIJVANICH P, POOVORAWAN Y. Association of interleukin-18 gene polymorphism (-607A/A genotype) with susceptibility to chronic hepatitis B virus infection. **Tissue Antigens**. 2007;70(2):160–3.

KAM Y-W, LEITE JA, LUM F-M, TAN JLL, LEE B, JUDICE CC, et al. Specific Biomarkers Associated With Neurological Complications and Congenital Central Nervous System Abnormalities From Zika Virus–Infected Patients in Brazil. **J Infect Dis**. 2017;216(2):172–81.

LIU Y, LIN N, HUANG L, XU Q, PANG G. Genetic Polymorphisms of the Interleukin-18 Gene and Risk of Prostate Cancer. **DNA Cell Biol**. 2007;26(8):613–8.

MOTAVAF M, SAFARI S, ALAVIAN SM. Interleukin-18 gene promoter polymorphisms and susceptibility to chronic hepatitis B infection: a review study. **Hepat Mon**. 2014;14(7):e19879.

29º Encontro Anual de Iniciação Científica
9º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



29 a 31 de outubro de 2020