

FREQUÊNCIA DE HAPLÓTIPOS EM GENES DE CITOCINAS E SUA ASSOCIAÇÃO COM A ESPONDILITE ANQUILOSANTE

Ariane Laguila Altoé (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Joana Maira Valentini Zacarias (Coorientadora), Ana Maria Sell (Orientadora), e-mail: anamsell@gmail.com.

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

Imunologia, Imunogenética

Palavras-chave: Espondilite Anquilosante; Fator de Necrose Tumoral alfa; Interleucina-17.

Resumo

A espondilite anquilosante (EA) é uma doença reumática que cursa com entesite e sacroileíte. O objetivo deste estudo foi avaliar as frequências dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) de *TNF* e *IL17* no desenvolvimento de entesite e de sacroileíte em indivíduos com EA. Nesse estudo foram investigados 142 pacientes com EA e 193 controles organizados em gênero, *HLA-B*27*, SNPs de *TNF* e *IL17* e a presença de entesite e sacroileíte. As frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas foram analisadas via SNPStats por regressão logística e pelo método Qui-quadrado, a associação foi avaliada pelo OR (*Odds Ratio*) e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. A presença do *HLA-B*27* foi associada à entesite e a sacroileíte. As distribuições alélicas e genotípicas para as variantes -208 e -308 de *TNF* e de *IL17A* não diferiram entre casos e controles. A variante de *IL17F*, nos modelos de herança codominante, dominante e sobredominante, representou fator de risco à entesite e à sacroileíte na EA, para ambos os sexos. Assim, a variante do polimorfismo de *IL17F* foi associada à susceptibilidade ao desenvolvimento de entesite e sacroileíte em pacientes com EA.

Introdução

A espondilite anquilosante (EA) é uma doença reumática inflamatória crônica que se caracteriza principalmente pelo comprometimento das articulações sacroilíacas, do esqueleto axial (coluna vertebral) e das articulações periféricas. A EA normalmente tem início nas primeiras décadas de vida e acomete preferencialmente indivíduos do gênero masculino (proporção de 2:1 em relação ao feminino), caucasianos e *HLA-B*27* positivos (BRAUN; SIEPER, 2007).

A principal característica da EA é a sacroileíte (inflamação das articulações sacroilíacas) que causa, de início, dor lombar (lombalgia) de caráter inflamatório, rigidez matinal e limitação do esqueleto axial. Além disso,

podem ocorrer múltiplas lesões inflamatórias focais confinadas às inserções ligamentares (entesite) com erosões ósseas e nova formação óssea (GRAN; HUSBY, 1993).

Em 1973, uma forte conexão entre espondilite anquilosante e o gene *HLA-B*27* (*Human Leucocyte Antigen-B27*) foi reportada. Estima-se que mais de 90% dos pacientes caucasianos com EA são *HLA-B*27* positivos. Entretanto, o fato de que apenas 1-2% da população positiva para o gene *HLA-B*27* realmente desenvolver a EA e de que existem pacientes *HLA-B*27*-negativos com a doença sugerem que há outros fatores de risco para o desenvolvimento da espondilite anquilosante (ROCHA LOURES *et al.*, 2018; NEVES *et al.*, 2021).

Por se tratar de uma doença crônica inflamatória, polimorfismos em genes que interferem no nível de produção de citocinas são associados à EA. Dentre esses polimorfismos, os SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) das citocinas *TNF* -238 (rs361525), *TNF* -308 (rs1800629), *IL17A* (rs2275913) e *IL17F* (rs763780) têm destaque na patogenia da doença, contribuindo para uma resposta inflamatória exacerbada que leva ao dano cartilaginoso comumente encontrado nos pacientes com EA (ROCHA LOURES *et al.*, 2018; BRAGA *et al.*, 2021).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar as frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas dos SNPs de *TNF* e *IL17* e sua associação com a espondilite anquilosante e suas condições clínicas, mais particularmente, a sacroileíte e a entesite, em pacientes da região Sul do Brasil.

Materiais e métodos

Neste estudo caso-controle, foram incluídos 142 pacientes adultos previamente selecionados pelo grupo do Laboratório de Imunogenética da Universidade Estadual de Maringá (LIG-UEM), não aparentados, com espondilite anquilosante (EA), residentes em diferentes municípios da região norte/noroeste do Estado do Paraná. O grupo controle foi constituído por 193 indivíduos sem a doença e pareados por gênero, *HLA-B*27*, SNPs de *TNF* e *IL17* e a presença de entesite e sacroileíte. O projeto foi executado conforme as normas do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá (Parecer COPEP no 687.222/14, CAAE 27723114.0.0000.0104).

As frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas em pacientes e controles foram obtidas pelo programa computacional SNPStats. As comparações entre os grupos caso e controle foram realizadas pelo método Qui-quadrado com correção de Yates ou teste exato de Fisher e por análise de regressão quando as covariáveis gênero e presença ou ausência de *HLA-B*27* foram incluídas. As análises foram realizadas em pacientes que apresentavam as condições clínicas de sacroileíte e entesite. O risco de desenvolver a espondilite anquilosante em portadores de determinados polimorfismos genéticos foi calculado por meio da determinação do OR (*Odds Ratio*) e do intervalo de confiança (IC): quando $OR > 1$, considerou-se o indivíduo susceptível ao fator analisado; quando $OR < 1$, considerou-se o indivíduo

protegido contra o fator analisado. O valor-p foi considerado significativo quando $<0,05$. Para verificar se as proporções genotípicas dos genes analisados estavam em equilíbrio segundo o Teorema de Hardy-Weinberg foi utilizado o software SNPStats.

Resultados e Discussão

Neste estudo, foi investigada a associação entre os SNPs dos genes *TNF* e *IL17* e sua relação com a manifestação dos sintomas clínicos entesite e sacroileíte em pacientes com Espondilite Anquilosante, da região Sul do Brasil. Os resultados obtidos apontaram que a presença do gene *HLA-B*27* e a variante de *IL17F* foram consideradas fatores de risco ao desenvolvimento desses sintomas clínicos na EA.

Em relação ao *HLA-B*27*, 29% e 40% dos pacientes com EA associada à entesite e à sacroileíte, respectivamente, eram positivos, enquanto 6% dos controles possuíam este marcador. Assim, nossos resultados confirmam a associação do *HLA-B*27* com EA e suas formas clínicas analisadas.

Além do gene *HLA-B*27*, alguns autores também propuseram que as variantes nos genes *TNF*-238, *TNF*-308, *IL17A* e *IL17F* estão envolvidas na patogênese da EA (ROCHA LOURES *et al.*, 2018). Em nosso estudo as distribuições das frequências alélicas e genotípicas em relação aos modelos de herança para as variantes -238 e -308 de *TNF* e para a variante *IL17A* não diferiram nos indivíduos com EA e entesite e EA e sacroileíte em relação aos controles.

Para a variante *IL17F*, porém, nossos resultados demonstraram que o alelo C e o genótipo T/C, nos modelos de herança codominante, dominante e sobredominante, representaram fator de risco ao desenvolvimento de entesite e sacroileíte na EA. Essa associação de *IL17F* com a EA foi sugerida por outros autores (BRAGA *et al.*, 2021; ROCHA LOURES *et al.*, 2018), mesmo em indivíduos *HLA-B*27* negativos (NEVES *et al.*, 2021).

Embora a espondilite anquilosante seja uma doença mais prevalente em homens do que mulheres, neste estudo o alelo C e o genótipo T/C de *IL17F* foram associados à susceptibilidade tanto ao desenvolvimento de entesite quanto de sacroileíte em pacientes com EA para ambos os gêneros. Para os demais SNPs não foi observada diferença na distribuição das frequências em relação ao gênero.

Os haplótipos de *TNF*-238/*TNF*-308 e de *IL17A/IL17F* não foram associados à entesite ou à sacroileíte na EA.

Até onde vai o nosso conhecimento, não foi encontrado na literatura estudos que fizessem análises na distribuição de frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas relacionando grupos controles e indivíduos com essas duas manifestações clínicas comuns na EA.

Conclusões

Ao avaliar as frequências dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) dos genes *IL17* e *TNF* e sua associação com as manifestações clínicas na

Espondilite Anquilosante em pacientes da região Sul do Brasil, encontrou-se que a variante do polimorfismo de *IL17F* foi associada à susceptibilidade de desenvolvimento de entesite e de sacroileíte em pacientes com EA.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq pelo financiamento do projeto PIBIC; às professoras Ana Maria Sell, Mariana de Souza Terron e Joana Maira Valentini Zacarias pelo apoio durante todo o processo; e ao LIG-UEM.pela oportunidade.

Referências

BRAGA, M. *et al.* Influence of IL10 (rs1800896) Polymorphism and TNF- α , IL-10, IL-17A, and IL-17F Serum Levels in Ankylosing Spondylitis. **Frontiers in Immunology**, Switzerland, v. 12, n. 653611, p. 1-8, Jul, 2021.

BRAUN, J.; SIEPER, J. Ankylosing spondylitis. **Lancet**, [S.I.], v. 369, n. 9570, p. 1379-90, Apr, 2007.

GRAN, J.T.; HUSBY, G. The epidemiology of ankylosing spondylitis. **Seminars in arthritis and rheumatism**, United States, v. 22, n. 5, p. 319–334, Apr, 1993.

NEVES, J.S.F. *et al.* IL17F: A Possible Risk Marker for Spondyloarthritis in HLA-B*27 Negative Brazilian Patients. **Journal of Personalized Medicine**, Switzerland, v. 11, n. 520, p. 1-10, Jun, 2021.

ROCHA LOURES, M.A. *et al.* Influence of TNF and IL17 Gene Polymorphisms on the Spondyloarthritis Immunopathogenesis, Regardless of HLA-B27, in a Brazilian Population. **Mediators of Inflammation**, New York, v. 2018, p. 1-7, Apr, 2018.