

## AUSÊNCIA DE ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS DA INTERLEUCINA 17 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 Laguila 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-17, Zika vírus, Estudos de associação genética

### Resumo:

Dado o aumento do número de casos da infecção por Zika vírus nos primeiros meses de 2019 em comparação aos números do ano anterior, existe uma preocupação sobre um possível novo surto. Sabe-se que a interleucina-17 é encontrada em níveis superiores em pacientes infectados com o vírus e que ela pode auxiliar ou atrapalhar em infecções virais. Essa citocina tem polimorfismos, que podem alterar a sua produção e função. Assim, neste trabalho foram analisados os polimorfismos dos genes *IL17A* - 197 e *IL17F* -7488. Foram incluídos 137 pacientes com diagnóstico positivo e 168 controles negativos para a infecção por Zika vírus, e os polimorfismos foram avaliados por sequenciamento de Sanger. As frequências alélicas e genótípicas foram comparadas com o programa SNPStats. Não foi encontrada associação entre os polimorfismos de genes de citocinas estudados e a ocorrência da infecção por Zika vírus.

### Introdução

O Zika vírus (ZIKV) causou uma epidemia que acometeu milhares de pessoas em 2016 no Brasil. Também se observou um aumento de casos no início de 2019, indicando a possibilidade de um novo surto da doença no futuro.

Sabe-se que a interleucina-17 (IL-17) é encontrada aumentada na infecção pelo ZIKV, e pode causar efeitos benéficos ou maléficos em infecções virais.

Essa citocina é membro de uma família que engloba seis citocinas, entre elas a IL-17A e a IL-17F, que são as mais estudadas. O polimorfismo na região promotora do gene *IL17A*, encontrado na posição -197 G>A, está associado à maior síntese da IL-17, enquanto o polimorfismo na região codificadora do gene *IL17F* na posição 7488 T>C inibe a função biológica da IL-17F.

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar polimorfismos de genes que são responsáveis pela produção da IL-17 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 que participaram do estudo são da região noroeste do Paraná e noroeste de São Paulo. Foram incluídos no estudo 137 pacientes com diagnóstico positivo para ZIKV e 168 controles com diagnóstico negativo para ZIKV. A infecção por ZIKV teve seu diagnóstico por meio da técnica *Real Time* RT-PCR. Kits de extração QIAamp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Germany) foram usados para a extração do DNA, a partir do sangue total.

### *Análise dos polimorfismos*

As genotipagens dos genes *IL17A* -197 (G>A) e da *IL17F* -7488 (T>C) foram realizadas pela técnica de sequenciamento de Sanger. A reação de PCR foi realizada para o volume final de 20 µL e continha tampão 1X PCR Buffer Green, 1 mM de MgCl<sub>2</sub> Promega, 0,25 mM de dNTP, 0,2 ng/µL dos primers, 1 U de Taq Promega, 1,5 µL de DNA e o volume de água necessário para completar 20 µL. 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%, corado com SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen Life Technologies, Grand Island, NY).

O sequenciamento foi realizado usando os produtos amplificados pela PCR diluídos em dez vezes, usando BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied BioSystems, EUA), em um volume final de 10 µL, seguindo as orientações do fabricante. Feita a purificação, as amostras foram analisadas no Applied Biosystems 3500xL Genetic Analyzer.

### *Análise estatística*

Os resultados foram organizados em planilhas no Excel e os dados foram avaliados pelo programa SNPStats, para que pudessem ser verificadas as frequências alélicas e genotípicas em pacientes e os controles. O risco de desenvolver a doença foi calculado através da OD (“odds ratio”) e foi considerado um intervalo de confiança de 95% (IC95%). O valor de  $P < 0,05$  foi considerado significativo.

## Resultados e Discussão

A distribuição das frequências genotípicas para o polimorfismo do gene *IL17A* -197 e do gene *IL17F* -7488 estava em equilíbrio Hardy-Weinberg. A Tabela 1 mostra as frequências alélicas e genotípicas para o polimorfismo do gene *IL17A* -197 (G>A) encontradas em pacientes e controles. A maior frequência alélica encontrada foi para o alelo G (86% para pacientes e 75% para controles). A maior frequência genotípica observada tanto em pacientes como em controles foi para o genótipo GG (52% para pacientes e 55% para controles).

**Tabela 1** – Frequência alélica e genotípica do polimorfismo da *IL17A* – 197 em pacientes com ZIKV e controles\*

<i>IL17 - 197</i>	Pacientes N=137 n (%)	Controles N = 168 n (%)
<b>Alelos</b>		
G	201 (86%)	252 (75%)
A	73 (14%)	84 (25%)
<b>Genótipos</b>		
GG	71 (52%)	92 (55%)
GA	59 (43%)	68 (40%)
AA	7 (5%)	8 (5%)

N: número de indivíduos; n: número de alelos e genótipos; %: frequência do número de indivíduos.  
\*Valor de  $P$  não significante.

A Tabela 2 mostra as frequências alélicas e genotípicas para o polimorfismo do gene *IL17F* -7488 (T>C) encontradas em pacientes e controles. A maior frequência alélica encontrada foi para o alelo T (95% para pacientes e 94% para controles). A maior frequência genotípica observada tanto em pacientes como em controles foi para o genótipo TT (91% para pacientes e 89% para controles).

**Tabela 2** – Frequência alélica e genotípica do polimorfismo da *IL17F* – 7488 em pacientes com ZIKV e controles\*

<i>IL17 - 197</i>	Pacientes N=137 n (%)	Controles N = 168 n (%)
<b>Alelos</b>		
T	261 (95%)	317 (94%)

C	13 (5%)	19 (6%)
<b>Genótipos</b>		
TT	124 (91%)	150 (89%)
TC	13 (9%)	17 (10%)
CC	0 (0%)	1 (1%)

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

\*Valor de *P* não significante.

Não foram observadas diferenças significativas na distribuição alélica e genotípica para os polimorfismos de *IL17A* -197 e *IL17F* - 7488 em pacientes e controles.

## Conclusões

Em nosso estudo, não foi encontrada associação entre o polimorfismo do gene *IL17A* -197 e do gene *IL17F* - 7488 e a ocorrência da infecção pelo 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 Aegypti* (dengue, chikungunya e zika), Semanas Epidemiológicas 1 a 12, 2020. **Boletim epidemiológico**, Brasília, v.51, n.34, 2020. Disponível em:

<https://www.saude.gov.br/images/pdf/2020/marco/27/Boletim-epidemiologico-SVS13.pdf>

DAI ZM, ZHANG TS, LIN S, ZHANG WG, LIU J, CAO XM, et al. Role of *IL-17A* rs2275913 and *IL-17F* rs763780 polymorphisms in risk of cancer development: An updated meta-analysis. **Sci Rep**. 2016;6.

*IL 17* Family - an overview | **ScienceDirect Topics**.

MA WT, YAO XT, PENG Q, CHEN DK. The protective and pathogenic roles of *IL-17* in viral infections: Friend or foe? Vol. 9, *Open Biology*. **Royal Society Publishing**; 2019