AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO (rs1758566) T>C DO GENE *IFNA1* EM PACIENTE COM COVID-19

Emanuelle Rocha Moreira (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Mariana Akemi Sonoda Shiga (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Matheus Braga (Coorientador) e Jeane Eliete Laguila Visentainer (Orientador). E-mail: ra129159@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde, Imunologia e Imuno genética.

Palavras-chave: Genótipo; Interferon alfa; SARS-CoV-2

RESUMO

A COVID-19, causada pelo vírus SARS-CoV-2, levou a uma pandemia em 2020, com sintomas variados de leves a graves. Este estudo analisou a associação entre o polimorfismo rs1758566 do gene *IFNA1* e a gravidade da COVID-19 em 100 pacientes hospitalizados. O DNA foi extraído de amostras de sangue e a genotipagem foi realizada por qPCR. Na análise dos resultados, observou-se que o genótipo T/C era mais frequente em pacientes graves, mas a associação não foi estatisticamente significativa (p = 0,18). A ausência de significância sugere que o polimorfismo rs1758566 pode não influenciar de forma determinante a gravidade da doença, destacando a necessidade de estudos adicionais com amostras maiores para esclarecer essa possível relação.

INTRODUÇÃO

A Covid-19 é uma doença infecciosa, transmitida principalmente por via respiratória causada pelo vírus SARS-CoV-2. Em 2020, a Organização Mundial da Saúde declarou uma pandemia por conta da disseminação global do vírus, que se associou com diversos casos de infecções e um alto índice de mortalidade. Os sintomas iniciais considerados como leve à moderado incluem febre, tosse, falta de ar e dor de cabeça, porém, manifestações mais graves da doença podem levar a pneumonia grave e falência múltipla de órgãos (Ciotti, 2020).

O sistema imune inato realiza a primeira defesa do nosso organismo, com as proteínas *spike* do vírus interagindo com os receptores da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), estimulando a produção de interferon tipo I (IFN-α e INF-β)

para controlar a infecção (Alexopoulou, 2001; Renu, 2020). A deficiência na produção de IFN-I é associada à maior susceptibilidade à COVID-19 (Yang, 2021). São necessários estudos de caso controle avaliando uma possível associação entre o polimorfismo (rs1758566) T>C e a gravidade da COVID-19.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi realizado com 50 pacientes que evoluíram para casos severos/críticos e 50 pacientes não severos internados no Hospital Paraná (HP) e no Hospital de Clínicas (HC) da Universidade Estadual de Londrina (UEL) diagnosticados Covid-19. O projeto foi aprovado pela Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá CAAE: 38095420.5.0000.0104. O DNA genômico foi extraído de amostras de sangue coletadas com EDTA, utilizando o Kit DNA BIOPUR® e quantificado com um *Nanodrop* 2000®. A genotipagem do SNP (rs1758566) T>C foi realizada por *qPCR* usando o ensaio *TaqMan* SNP *Genotyping*. A análise estatística foi conduzida com o software *SNPStats,* avaliando o equilíbrio de Hardy-Weinberg e a associação do polimorfismo com a COVID-19.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características dos pacientes estudados estão apresentadas na tabela 1. Foram notadas diferenças estatisticamente significativas na distribuição da idade dos indivíduos não severos e severos/críticos com Covid-19 ($p < 0,05$). Na análise de comorbidades, as que foram mais consideradas são a hipertensão e obesidade, se apresentando mais frequentes nos pacientes severos/críticos. Em relação a diabetes, houve uma diferença baixa entre os casos não severos e severos/críticos dos pacientes. No entanto, essa diferença nas frequências das morbidades não houve diferença estatística.

Tabela 1: Características de pacientes não severos e severos/críticos com Covid-19

Características	**Não severos N= 50**	**Severos/Críticos N= 50**	**p valor**
Sexo (F/M)	32/18	25/25	0,22[b]
Idade	49,74±15,84[a]	56,72±16,23[a]	**0,03[c]**
Comorbidades	**n (f)**	**n (f)**	

Hipertensão	9 **(0,18)**	18 **(0,36)**	0,07[b]
Diabetes	3 **(0,06)**	8 **(0,16)**	0,20[b]
Obesidade	14 **(0,28)**	19 **(0,38)**	0,39[b]

a) Média ± desvio padrão (todos esses valores), b) Análise estatística realizada pelo OpenEpi tabela 2x2 χ2- teste, c) Análise estatística realizada pelo teste T para duas amostras independentes. Abreviaturas: N, número total de indivíduos; F, sexo feminino; M, sexo masculino.

Na análise de associação polimorfismo (rs1758566) do gene *IFNA1* em paciente não severos e severos/críticos com Covid-19 (Tabela 2), observamos que o genótipo T/C apresentou-se mais comum em pacientes severos/críticos (20%) em relação aos não severos (8%). Ainda que essa diferença não apresente um risco para a gravidade da Covid-19, com OR= 2,61, IC 95% (0,72-9,42) e p valor (0,18). Contudo, um estudo recente do nosso grupo de pesquisa com uma amostragem maior, observou que o genótipo T/C apresentou o dobro de risco para pacientes severos/críticos com Covid-19, sendo estatisticamente significativo (p valor <0,01) (Braga, 2024). Os genótipos T/T e C/C não apresentaram associações significativas para esse estudo.

Em relação aos alelos, o alelo T é predominante em ambos dos casos, com 94% nos não severos e 90% nos severos/críticos. O alelo C está em 6% dos casos não severos e em 10% dos casos severos/críticos. Apesar de o OR para o alelo C sugira um aumento do risco (OR = 1,61), o IC 95% (0,56-4,66) e o p valor (0,37) mostram que essa associação não é estatisticamente significativa.

Tabela 2: Associação do polimorfismo (rs1758566) *IFNA1* em pacientes não-severos e severos/críticos com Covid-19.

SNP *IFNA1*	**Não severos N=50**	**Severos/Críticos N=50**	**OR (95% *IC*)**	**p valor**
	n (f)	**n (f**		
T/T	45 **(0,90)**	40 **(0,80)**	1,00	
T/C	4 **(0,08)**	10 **(0,20)**	2,61 (0,72-9,42)	0,18[a]
C/C	1 **(0,02)**	0 **(0,00)**	0,00 (0,00-NA)	
Alelos				
T	94 **(0,94)**	90 **(0,90)**	1,00	
C	6 **(0,06)**	10 **(0,10)**	1,61 (0,56-4,66)	0,37[b]

a) A análise estatística foi realizada pelo software SNPStats com base em um modelo estatístico Codominante, b) Análise estatística realizada pelo OpenEpi tabela 2x2 χ2- teste. Abreviaturas: N, número total de pacientes; n, número de genótipos e alelos; OR, odds ratio; IC, intervalo de confiança.

CONCLUSÕES

A ausência de significância estatística pode sugerir que o polimorfismo rs1758566 do gene *IFNA1* não tenha um papel determinante na gravidade da COVID-19, ou que outros fatores genéticos e/ou ambientais possam estar implicados na evolução clínica da doença. São necessários mais estudos com amostras maiores e adicionar outras análises para compreender melhor essa possível associação.

AGRADECIMENTOS

CNPq, CAPES, Fundação Araucária, LIG-UEM.

REFERÊNCIAS

ALEXOPOULOU, L.; HOLT, A. C.; MEDZHITOV, R.; FLAVELL, R. A. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. **Nature**, v. 413, n. 6857, p. 732-738, 2001.

BRAGA, M.; SHIGA, M. A. S.; SOUZA, V. H.; GRAVA, S.; SILVA, P. E. S.; SIMÃO, A. N. C.; YAMANAKA, A. H. U.; NEVES, J. S. F.; NETO, Q. A. L.; ZACARIAS, J. M. V.; VISENTAINER, J. E. L. Association between polymorphisms in TLR3, TICAM1 and IFNA1 genes and COVID-19 severity in Southern Brazil. **Expert Review of Molecular Diagnostics**., v. 24, n. 6, p. 525-531, 2024.

CIOTTI, M.; CICCOZZI, M.; TERRINONI, A.; JIANG, W. C.; WANG, C. B.; BERNARDINI, S. **The COVID-19 pandemic**. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, v. 57, p. 365-388, 2020.

RENU, K.; PRASANNA, P. L.; GOPALAKRISHNAN, A. V. Coronaviruses pathogenesis, comorbidities, and multi-organ damage - a review. **Life Sciences**, v. 255, p. 117-839, 2020.

YANG, L.; WANG, J.; HUI, P.; et al. Potential role of IFN-α in COVID-19 patients and its underlying treatment options**. Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, p. 4005-4015, 2021.