ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO GENÉTICA ENTRE O POLIMORFISMO RS2227473 DO GENE IL22 E O DIAGNÓSTICO DE ESPONDILITE ANQUILOSANTE.

Liliana Vitoria Dagues de Andrade (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Larissa Danielle Bahls Pinto (Orientadora). E-mail: ldbpinto@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas /Imunogenética

Palavras-chave: Variabilidade genética; Imunogenética; Doenças autoimune.

RESUMO

A espondilite anquilosante (EA) é uma doença inflamatória crônica que afeta principalmente o esqueleto axial e as articulações sacroilíacas. Sua causa ainda não é totalmente esclarecida, mas fatores genéticos, especialmente o alelo *HLA-B*27*, têm forte associação com a doença. A interleucina 22 (IL-22), uma citocina da família IL-10, tem papel importante na regeneração tecidual e resposta inflamatória, sendo produzida por células T $CD4^+$ e outras células do sistema imune. Estudos demonstraram níveis elevados de IL-22 em doenças autoimunes articulares, como a artrite reumatoide e a espondilite anquilosante, sugerindo sua participação na patogênese dessas condições. Isto sugere que variações genéticas capazes de alterar a taxa de expressão desta citocina podem influenciar no desenvolvimento e progressão de tais doenças. Assim, este estudo teve como objetivo investigar a influência do polimorfismo rs2227473 (C>T) do gene *IL22* no desenvolvimento da espondilite anquilosante. Foi realizado um estudo caso-controle com 150 pacientes com EA e 150 controles saudáveis. A genotipagem do SNP rs2227473 foi realizada por PCR-SSP, e as frequências alélicas e genotípicas foram analisadas no software R. Os resultados obtidos não demonstraram diferenças significativas nas frequências dos alelos e genótipos entre pacientes e controles, indicando ausência de associação entre o polimorfismo rs2227473 e a suscetibilidade à espondilite anquilosante na população estudada.

INTRODUÇÃO

A espondilite anquilosante (EA) é uma doença inflamatória crônica que integra o grupo das espondiloartrites, acometendo principalmente o esqueleto axial e as articulações sacroilíacas. Ela afeta em sua maioria homens em torno dos 30 anos de idade. A causa da espondilite anquilosante (EA) ainda não é totalmente esclarecida, mas estudos apontam que fatores, como herança de determinadas variantes genéticas, desempenham um papel significativo na suscetibilidade à mesma, sendo o alelo HLA-B*27 o principal marcador genético da doença. Esse distúrbio inflamatório acomete cerca de 0,2% da população geral, 2% dos indivíduos

com HLA-B*27 negativo e até 20% daqueles com HLA-B*27 positivo que possuem um familiar afetado (PATROCINIO, 2024).

A interleucina 22 (IL-22), integrante da família de citocinas IL-10, é produzida por diversos tipos de linfócitos pertencentes aos sistemas imune inato e adaptativo, incluindo células T $CD4^+$, como Th17 e Th22. Sua ação promove a defesa antimicrobiana, estimula a regeneração tecidual e oferece proteção contra danos (MARQUET et al., 2017). Além de participar da proteção do hospedeiro, a IL-22 desempenha um papel em doenças autoimunes, estando relacionada a lesões teciduais e doenças inflamatórias (XUAN et al., 2021). Estudos demonstram níveis elevados desta citocina identificados no plasma de pacientes portadores de doenças articulares autoimunes, como a artrite reumatoide e EA (XUAN et al., 2021, ZHANG et al., 2012). Sugere-se que a presença da IL-22 no líquido sinovial possa estimular a proliferação de fibroblastos sinoviais e macrófagos (IKEUCHI et al., 2005).

O gene que codifica a IL-22 humana está localizado na região 12q15 do cromossomo 12, nas proximidades dos genes que codificam o interferon-gama (IFN-γ) e a IL-26. O gene IL22 possui aproximadamente 5.257 pares de bases (pb) e é constituído por cinco éxons. Ele apresenta diversos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), entre os quais se destaca o rs2227473, caracterizado por uma substituição de citosina por timina (C>T) na região 5' não codificadora (SHABGAH et al., 2017). A localização do SNP rs2227473 trata-se de um sítio de ligação do receptor de hidrocarboneto arila, um importante regulador da produção de IL-22. A presença do alelo mutante (T) está associada à maior produção de IL-22, com relação à herança do alelo selvagem (C) (MARQUET et al., 2017).

Foi montada uma tabela no Excel com as informações dos pacientes incluindo a distribuição das variantes alélicas do SNP rs2227473. Os cálculos de frequência e de associação foram realizados através do Software R, para avaliar uma possível associação foi utilizado uma tabela 2x2 com o teste de Qui-quadrado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Casuística

Foram analisadas amostras de 150 pacientes diagnosticados com espondilite anquilosante, segundo os critérios da ASAS, e 150 indivíduos controles sem histórico de doenças reumatológicas, autoimunes ou antecedentes familiares dessas enfermidades. As amostras estavam armazenadas no Laboratório de Imunogenética da Universidade Estadual de Maringá.

Coleta das amostras e extração de DNA

O DNA genômico foi extraído de amostras de sangue periférico utilizando o kit BioPur Extração Mini Spin Plus (BioPur®, Brasil). A concentração e a pureza do DNA foram avaliadas por espectrofotometria no NanoDrop 2000 (Thermo Scientific®), considerando a razão de absorbância 260/280 nm.

Genotipagem do SNP rs2227473

A genotipagem do SNP rs2227473 foi realizada pela técnica PCR-SSP, conforme protocolo previamente padronizado pelo Laboratório de Imunogenética (Tabela 1). Foram realizadas reações específicas para os alelos C e T, com controles internos de amplificação. Os produtos foram submetidos à eletroforese em gel de agarose corado com SYBR Green (Thermo Fisher Scientific®), permitindo a identificação dos genótipos CC, CT e TT.

Tabela 1

Reagentes	Concentração final
H2O	q.s.p 20µl
Tampão (10x)	1X
Dntp (10mM)	0,2 mM
MgCl2 (50mM)	1,2 mM
Primer Forward 1 e Forward 2 (10µM)	0,2 µM
Primer Reverse (10µM)	0,2 µM
HGH Forward (10µM)	0,1 µM
HGH Reverse (10µM)	0,1 µM
Taq DNA Polimerase (5U/µl)	1U

Condições da reação de PCR-SSP para o polimorfismo rs2227473 do gene *IL22*:

Análise estatística

As frequências alélicas e genotípicas foram comparadas entre os grupos de pacientes e controles utilizando o software R. Foram aplicados testes estatísticos apropriados, considerando nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os participantes, 52% dos controles e 60% dos pacientes eram do sexo feminino, enquanto 48% e 40%, respectivamente, eram do sexo masculino ($p = 0,20$). Embora não tenha apresentado associação significativa na análise univariada, o sexo foi considerado como covariável por ser um fator previamente relacionado à EA (23). A idade média foi semelhante entre os grupos: 42,6 ± 15,3 anos nos controles e 46,1 ± 15,6 anos nos pacientes ($p = 0,05$).

Quanto à raça autodeclarada, entre os controles predominavam brancos (68%), seguidos de Pardos (21%), outros — indígenas e asiáticos — (8%) e pretos (3%). Nos pacientes, 93% eram brancos, 3% pardos, 3% pretos e 1% outros.

A prevalência do alelo *HLA-B*27* foi 4% no grupo controle, contra 63% no grupo de pacientes com EA (OR = 16,2; IC 95%: 6,04–43,39; $p < 0,01$).

O número de participantes esteve de acordo com as estimativas do software QUANTO, garantindo poder estatístico de 80%, e todos os genótipos estavam em equilíbrio de HWE ($p > 0,05$). Não foi encontrada associação entre o polimorfismo rs2227473 e a susceptibilidade à EA.

CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram ausência de associação significativa entre o polimorfismo rs2227473 (C>T) do gene *IL22* e a suscetibilidade à espondilite anquilosante na população estudada. Dessa forma, a variante analisada, isoladamente, não parece exercer influência relevante no desenvolvimento da doença.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação Araucária pelo apoio financeiro e incentivo à pesquisa, fundamentais para o desenvolvimento deste projeto, e à Universidade Estadual de Maringá pelo suporte acadêmico e científico durante sua realização.

REFERÊNCIAS

IKEUCHI, H. et al. Expression of interleukin-22 in rheumatoid arthritis: potential role as a proinflammatory cytokine. **Arthritis & Rheumatism**, v. 52, n. 4, p. 1037-1046, abr. 2005. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.20965. Acesso em: 10 ago. 2026.

MARQUET, S. et al. A functional IL22 polymorphism (rs2227473) is associated with predisposition to childhood cerebral malaria. **Scientific Reports**, v. 7, p. 41636, 31 jan. 2017. Disponível em: https://www.nature.com/articles/srep41636. Acesso em: 10 ago. 2026.

PATROCINIO, R. M.; BORDA, C. C. Espondilite anquilosante e a relação com o gene HLA-B27. **Atas de Ciências da Saúde**, v. 11, n. 6, p. 157-163, nov. 2023. Disponível em: https://revistaseletronicas.fmu.br/index.php/ACIS/article/view/2769. Acesso em: 10 ago. 2026.

SHABGAH, A. G. et al. Interleukin-22 in human inflammatory diseases and viral infections. **Autoimmunity Reviews**, v. 16, n. 12, p. 1209-1218, dez. 2017. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568997217302549. Acesso em: 10 ago. 2026.

XUAN, X. et al. Interleukin-22 and connective tissue diseases: emerging role in pathogenesis and therapy. **Cell & Bioscience**, v. 11, n. 1, p. 2, 6 jan. 2021. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1186/s13578-020-00504-1. Acesso em: 10 ago. 2026.

ZHANG, L. et al. Increased frequencies of Th22 cells as well as Th17 cells in the peripheral blood of patients with ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. **PLOS ONE**, v. 7, n. 4, p. e31000, 2 abr. 2012. Disponível em:

https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0031000. Acesso em: 10 ago. 2026.