



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB
FACULDADE CEILÂNDIA - FCE
FARMÁCIA

GLEICI ANY DUARTE OLIVEIRA

**POLIMORFISMO IL1b (-511) NO LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO E
MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS ASSOCIADAS EM PACIENTES DO DISTRITO
FEDERAL**

CEILÂNDIA, DF

2015

GLEICI ANY DUARTE OLIVEIRA

**POLIMORFISMO IL1b (-511) NO LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO E
MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS ASSOCIADAS EM PACIENTES DO DISTRITO
FEDERAL**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido à Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Bacharel em Farmácia.

Área de Concentração: Farmácia.

Orientadora: Prof.^a Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva
Coorientadora: Prof.^a Dra. Vivian Taís Cipriano

CEILÂNDIA, DF

2015

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB
FACULDADE CEILÂNDIA

**POLIMORFISMO IL1b (-511) NO LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO E
MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS ASSOCIADAS EM PACIENTES DO DISTRITO FEDERAL**

GLEICI ANY DUARTE OLIVEIRA

Banca Examinadora

Orientadora Prof.^a Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva
(Universidade de Brasília - FCE)

Coorientadora Prof.^a Dra. Vivian Taís Cripriano
(Faculdade LS)

Prof. Dr. Daniel Oliveira Freire
(Faculdade LS)

Prof.^a Dra. Calliandra Maria de Souza Silva
(Faculdade LS)

CEILÂNDIA, DF
2015

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família, pelo contínuo carinho e esforço para me dar suporte em todos os momentos da vida. O amor que recebo de minha irmã é um dos sentimentos mais intensos que já pude experimentar.

À Ligia Canongia e Thais Souza pelo especial apoio e paciência durante o período de elaboração dessa pesquisa.

Às minhas orientadoras, Izabel Cristina e Vivian Cipriano, pela nobre postura de compartilhar conhecimentos, que influenciaram em grande medida a própria maneira de eu me relacionar com o mundo.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, em especial aos Drs. Luzitano Ferreira e Carlos pelas amostras dos pacientes.

E, por fim, mas não menos especial, aos amigos Dalton, Jackeline, Kaio, Kleber, Marceli, Amanda e Karol por todos os momentos. Obrigada por tudo.

RESUMO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença sistêmica caracterizada por profundas alterações na regulação imune, além de ser capaz de acometer diversos tecidos e sistemas. Este estudo tem como objetivo investigar a associação entre a suscetibilidade e manifestações clínicas de LES e o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) da região promotora -511 da interleucina 1 beta (IL1b). Foram analisados 257 portadores de LES e 128 controles sadios e a genotipagem foi conduzida pelo método PCR-RFLP. A análise dos dados apontou que a frequência do genótipo heterozigoto C/T para IL1b (-511) diferiu significativamente entre os portadores de LES e controles ($P < 0,001$). Houve grande relação estatística entre as manifestações clínicas lúpus cutâneo (100%), edema (100%), níveis de anticorpo Ssa/Ro alterados (100%), níveis de anticorpo Ssb/La alterados (100%), níveis de anticardiolipina alterados (100%) e síndrome de Sjögren (100%); e genótipos heterozigóticos. Tais resultados indicam forte associação do SNP com a vulnerabilidade, prognóstico e manifestações clínicas do LES.

Palavras-chave: Lúpus eritematoso sistêmico. Polimorfismo IL1b -511. Síndrome de Sjögren. Manifestações clínicas.

ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a systemic disease with changes in immune regulation. Genetic factors contribute to susceptibility and prognosis of this disorder. Therefore, the objective of this study was to investigate the association between susceptibility and clinical manifestations in SLE and Single Nucleotide Polymorphism (SNP): -511 in interleukin 1 beta (IL1b). For this, they were recruited 257 patients with SLE and 128 healthy controls. Genotyping was performed by PCR-RFLP method. Data analysis showed that the frequency of heterozygous genotype C/T for IL1b (-511) differ significantly between patients with SLE and controls ($P < 0.001$). It was found that the distribution of this genotype was related to some clinical manifestations: cutaneous lupus (100%), edema (100%), antibody ssa/Ro (100%), antibody Ssb/La (100%), anticardiolipin (100%) and Sjögren's syndrome (100%). These results indicate an association of the SNP with SLE vulnerability, prognosis and clinical manifestations.

Keywords: Systemic lupus erythematosus. IL1b -511 polymorphism. Sjögren's syndrome. Clinical manifestations.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 METODOLOGIA	11
2.1 Participantes da pesquisa	11
2.2 Extração de DNA e genotipagem.....	13
2.3 Análise Estatística	14
3 RESULTADOS	15
3.1 Frequência genotípica e alélica do polimorfismo IL1b (-511) em LES	15
3.2 Frequência genotípica e alélica e manifestações clínicas em indivíduos com LES	15
4 DISCUSSÃO	18
5 CONCLUSÃO	20
6 REFERÊNCIAS	21

1. INTRODUÇÃO

Lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune sistêmica que envolve a produção de auto-anticorpos, formação e depósito de imunocomplexos, inflamações em órgãos e danos teciduais. A etiologia ainda é pouco conhecida, porém nota-se o envolvimento de fatores hormonais, ambientais, genéticos e imunológicos para o surgimento da doença¹.

As características clínicas são polimórficas, e a evolução costuma ser crônica, com períodos de exacerbação e remissão. A doença pode cursar com sintomas constitucionais, artrite, serosite, nefrite, vasculite, miosite, manifestações mucocutâneas, hemocitopenias imunológicas, diversos quadros neuropsiquiátricos, hiperatividade reticuloendotelial e pneumonite¹.

Para o desenvolvimento da doença, apesar de não ter todas as suas vias esclarecidas, aponta-se a pré-disposição genética com a associação de agentes ambientais, ou seja, ações físicas, químicas ou biológicas. Radiação ultravioleta, traumas físicos, agentes químicos e medicamentos estão associados ao aumento da frequência do LES².

A Interleucina IL1 β é uma citocina pró-inflamatória codificada pelo gene IL1b que está envolvida em várias respostas imunológicas, incluindo proliferação e diferenciação celular, apoptose e doenças autoimunes³. O gene da IL1b é localizado no cromossomo 2q 14⁴, e polimorfismos foram descritos na região promotora (-511: C/T)^{5,6}, TATA Box (-31:T/C)^{5,7} e exon 5 (3953: C/T)^{5,8}, possivelmente relacionadas com a produção de IL1 β ⁹.

Estudos recentes têm descrito relações entre polimorfismo da IL1b com doenças de cunho inflamatório, como acidente vascular encefálico¹⁰, doenças autoimunes reumáticas¹¹, oftalmopatia de Graves¹², miastenia grave¹³, osteoporose¹⁴, doenças inflamatórias intestinais¹⁵ e outras manifestações.

Quanto ao polimorfismo específico da IL1b, são escassos os estudos que fazem a correlação direta entre o fator genético desse gene com LES. O estudo de Muraki *et. al.*, 2004⁹ apontou relações entre a mutação com a Síndrome de Sjögren, porém não foi relatado correlação com LES.

Análises epidemiológicas da incidência e da prevalência do LES mostram variantes nos resultados em diferentes regiões do mundo¹⁶; e até mesmo dentro de um mesmo país, as taxas de incidência também mostram discrepâncias¹⁷. Os estudos foram realizados, em sua maioria, em países da Europa ou nos Estados Unidos¹⁶, o que dificulta a compreensão da epidemiologia da doença no Brasil. Levantamentos e estudos dessa natureza são escassos no Brasil¹⁸ pois se trata de uma população com grande miscigenação racial, e também regiões com diferentes condições de clima, o que pode influenciar diferentemente na incidência da doença e suas associações.

O presente estudo tem como objetivo identificar a distribuição do polimorfismo genético na região promotora do gene IL1b (-511) onde há troca de bases de C por T, em sujeitos com LES e compará-los com um grupo controle de uma população do Distrito Federal, Brasil. Investiga-se se há uma correlação entre o polimorfismo do gene IL1b (-511) com a susceptibilidade ao LES e suas manifestações clínicas.

2. METODOLOGIA

2.1 Participantes da pesquisa

Os participantes da pesquisa foram divididos em grupo caso e grupo controle, totalizando 385 indivíduos ao todo, sendo o grupo caso constituído de pacientes portadores de LES (257 mulheres, entre os 18 e 76 anos, idade de 37 ± 12 anos) e o grupo controle sem descrição de critérios para doenças autoimunes foram incluídos neste estudo (128 mulheres entre 18 e 74 anos, com idade média de 35 ± 13 anos). Os perfis estão descritos na tabela 1.

Tabela 1: Idade e sexo dos indivíduos com LES e controle:

		<i>Grupo</i>				
		<i>LES</i>		<i>Controle</i>		
		N	%	N	%	P
Sexo	FEMININO	257	100,0%	128	0,0%	N/A
Faixa etária	menos que 40 anos	156	60,7%	76	59,4%	0,803
	40 e mais	101	39,3%	52	40,6%	

N/A: Não se aplica

Os pacientes foram recrutados a partir do Setor de Reumatologia do Hospital de Base do Distrito Federal. Todos os pacientes preencheram os critérios de classificação do American College of Rheumatology (ACR) para LES (tabela 2) que considera como lupus eritematoso sistêmico quando há quatro ou mais critérios clínicos associados.

Tabela 2: Critérios de classificação do LES baseado no *American College of Rheumatology (ACR)* revisados em 1997¹⁹.

<i>Critério</i>	<i>Definição</i>
1º Rash malar	Lesão eritematosa fixa em região malar, plana ou em relevo.
2º Rash discoide	Lesão eritematosa, infiltrada, com escamas queratóticas aderidas e tampões foliculares, que evolui com cicatriz atrófica e discromia.
3º Fotossensibilidade	Autorrelato ou observação de erupções cutâneas causadas por reação anormal à luz solar.
4º Úlceras orais/nasais	Ulceração oral ou nasofaríngea encontrada.
5º Artrite	Artrite não erosiva envolvendo duas ou mais articulações periféricas.
6º Serosite	Pleurite ou pericardite.
7º Desordens renais	Proteinúria persistente >0,5 g/24 horas ou cilindrúria anormal
8º Desordens neurológicas	Convulsões ou psicose.
9º Desordens hematológicas	Anemia hemolítica, leucopenia, linfopenia ou trombocitopenia.
10º Desordens imunológicas	Presença de anticorpos anti-DNA, anticorpos anti-Sm, anticorpos APL, ou falso teste positivo para sífilis.
11º Anticorpo antinuclear	Título anormal de anticorpos antinucleares.

A coleta de dados foi executada após a aprovação do protocolo de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Secretaria de Estado de Saúde (ANEXO 1).

2.2 Extração de DNA e genotipagem

Todas as amostras foram coletadas por punção venosa para isolamento do DNA. O DNA foi extraído de sangue periférico com uso do kit Invisorb Spin Blood – Mini Kit (250) da empresa Invitex (catálogo #CA10-0005, lote #1031100300) A concentração de DNA foi determinada em corrida eletroforética em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídeo. O rendimento médio alcançado foi de 20 ng/μL.

A técnica da PCR permite que a região promotora selecionada do genoma, (-511: C/T) seja amplificada milhões de vezes. As sequências de oligonucleotídeos utilizadas para avaliar o polimorfismo (-511: C/T) foram:

Forward: 5'-TGG-CAT-TGA-TCT-GGT-TCA-TC-3'.

Reverse: 5'-GTT-TAG-GAA-TCT-TCC-CAC-TT-3'.

As condições de termociclagem foram 94°C por 5 minutos (desnaturação inicial), seguida por 45 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento dos oligonucleotídeos a 55°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto para a extensão dos fragmentos. A extensão final foi realizada a 72°C por 7 minutos e resfriamento por 4 minutos. O equipamento utilizado foi termociclador Techne modelo TC-512.

Em cada reação, foram utilizados 4,0 μL de DNA genômico na concentração de 2,5 ng/μL; 2,5μL de tampão 10x (10mM de Tris e 50mM de KCl); 0,5 μL de MgCl₂ (Fermentas), 0,5 μL de desoxirribonucleotídeos trifostato (dNTPs) (2,5mM; LGC); 0,5 μL de Taq-Polimerase, utilizada na amplificação de fragmentos do DNA (Fermentas, 5U/μL); 1,5μL de cada oligonucleotídeo forward e reverse (10μM); completando com água Milli-Q para um volume final de 25 μL por reação.

O produto desta PCR foi um fragmento de 304pb, que foi digerido com a enzima de restrição Aval (New England Biolabs, Inc. Beverly, MA, USA). O alelo 1 (T) cria um novo sítio de restrição, e o fragmento de 304pb é clivado em dois de 190pb e 114pb; o alelo 2 (C) não é clivado pela enzima, e assim, o polimorfismo foi dividido em genótipo de clivagem (TT), heterozigoto (CT) e genótipo de não clivagem (CC). Para montagem do sistema de digestão foram utilizados: 10,0 μL da PCR; 2,0μL de tampão 10x NEB4 (Biolabs); 1 μL de enzima Mse I (10U/μL),

completando com água Milli-Q para um volume final de 20 µL por reação. O sistema foi mantido a 37°C por 3 horas.

Os produtos da digestão foram submetidos a uma corrida eletroforética em um gel de agarose a 3%, com brometo de etídio 0,1% em uma potência de 100W por 20 minutos.

2.3 Análise Estatística

A aderência ao equilíbrio Hardy-Weinberg para a frequência genotípica em controles foi analisada pelo teste do qui-quadrado com um grau de liberdade. As frequências genotípica e alélica nos pacientes com LES foram comparadas ao grupo controle por meio do teste qui-quadrado em modelos recessivos e dominantes. A associação de características clínicas para cada genótipo foi analisada com o teste qui-quadrado e foi adotado o nível de significância de 5%.

Também foram calculadas Odds ratio (OR) das frequências alélicas e genotípicas, com intervalo de confiança (IC) de 95%. O programa estatístico utilizado foi o SPSS (versão 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3. RESULTADOS

3.1 Frequência genotípica e alélica do polimorfismo IL1 β (-511) em LES

A frequência genotípica da IL1 β (-511) em pacientes controles está em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P = 0,7668$). A distribuição genotípica da IL1 β (-511) diferiu significativamente entre pacientes com LES e controle (C/C, C/T e T/T genótipos 44, 165, 48 versus 38, 65, 25 controles, respectivamente, teste qui-quadrado (χ^2) = 8,08 ; $P = 0,001$).

Analisando a mutação heterozigótica (C/T), houve uma frequência maior do polimorfismo em indivíduos com LES (64,2%) do que em indivíduos controle (50,8%), onde o OR indica que possuir a alteração aumenta em 1,74 vezes a exposição ao lúpus eritematoso sistêmico.

Quanto às frequências alélicas entre pacientes com LES e controles (Alelo C, T: 253 e 261 contra 141 e 115 com $\chi^2 = 2,35$ e $P = 0,125$), sendo representado na tabela 3; o alelo que obteve maior frequência nos pacientes com LES foi o T (50,8%) quando comparado ao C (44,9%), porém, não houve diferença estatisticamente significativa entre os alelos.

Tabela 3: Polimorfismo do gene IL1 β (-511) em pacientes com LES e controle:

Genótipo	Grupo				p	χ^2	OR (IC 95%)
	LES		Controle				
	N	%	N	%			
CC	44	17,1	38	29,7	0,001*	8,08	N/A
CT	165	64,2	65	50,8			
TT	48	18,7	25	19,5			
Total	257	100	128	100			
CT	165	64,2	65	50,8	0,011*	6,4	1,74 (1,13 - 2,67)
CC/TT	92	35,8	63	49,2			
Total	257	100	128	100			
C	253	49,2	141	55,1	0,125	2,35	0,79 (0,58 - 1,07)
T	261	50,8	115	44,9			
Total	514	100	256	100			

* $P < 0,05$.; N/A: não se aplica.

3.2 Frequência genotípica e alélica e manifestações clínicas em indivíduos com LES.

A frequência dos genótipos heterozigóticos C/T do polimorfismo códon -511 da IL1b, assim como as respectivas associações com as manifestações clínicas, estão representados na tabela 4.

Tabela 4: Frequência do genótipo C/T no códon -511 da IL1b em pacientes com LES e outras manifestações clínicas.

		1L1B -511 CT				OR	IC	P
		CT		CC/TT				
		N	%	N	%			
Controle	128	65	50,6	63	49,2			
Lúpus	257							
FEBRE	163	106	65,0%	57	35,0%	1,1	0,65-1,87	0,715
LÚPUS CUTÂNEO	28	28	100,0%	0	0,0%	N/A		0,000*
ALOPÉCIA	144	93	64,6%	51	35,4%	1,04	0,62-1,7	0,886
S. SJOGREN	7	7	100,0%	0	0,0%	N/A		0,000*
VASCULITE	23	12	52,2%	11	47,8%	0,58	0,24-1,36	0,207
EDEMA	91	91	100,0%	0	0,0%	N/A		0,000*
ARTRITE	218	139	63,8%	79	36,2%	0,88	0,42-1,81	0,727
OSTEONECROSE	5	4	80,0%	1	20,0%	2,26	0,24-20,53	0,412
FIBROMIALGIA	58	29	50,0%	29	50,0%	0,46	0,25-0,84	0,010*
ANTECEDENTE FAMILIAR DE LES	38	28	73,7%	10	26,3%	1,68	0,77-3,63	0,187
FAN - ALTERADO	255	163	63,9%	92	36,1%	N/A		0,411
Ssa/Ro - ALTERADO	75	75	100,0%	0	0,0%	N/A		0,000*
Ssb/La - ALTERADO	30	30	100,0%	0	0,0%	N/A		0,000*
ANTI Ds DNA - ALTERADO	128	95	74,2%	33	25,8%	2,38	1,40-404	0,0001*
COMPLEMENTO - ALTERADO	194	133	68,6%	61	31,4%	2,11	11,8-3,77	0,016*
ANTICARDIOLIPINA - ALTERADO	22	17	77,3%	5	22,7%	1,76	0,62-4,95	0,000*

* $P < 0,05$.; N/A: não se aplica.

Os valores que possuíram diferenças estatísticas significantes referentes à mutação CT foram discutidos a seguir.

4. DISCUSSÃO

Dentro da prática clínica e pesquisa tem se utilizado cada vez mais a avaliação genética em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, uma vez que se levanta a associação de fatores genéticos e ambientais no acometimento da doença¹. No presente estudo, foi explorada a possibilidade da frequência de polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) no gene IL1b códon -511, onde há a troca de C por T e sua correlação com manifestações clínicas, representadas na tabela 4, em pacientes do Distrito Federal.

Foram encontradas mutações heterozigóticas (C/T) estatisticamente significantes a respeito do gene descritos na tabela 4, como lúpus cutâneo (100%; P = 0,000), edema (100%; P = 0,000), níveis de anticorpo Ssa/Ro alterados (100%; P = 0,000), níveis de anticorpo Ssb/La alterados (100%; P = 0,000), níveis de anticardiolipina alterados (100%; P = 0,000), síndrome de Sjögren (100%; P = 0,000).

Desta forma, pode-se afirmar que há um forte fator de promoção das manifestações clínicas lúpus cutâneo, edema, níveis alterados de Ssa/Ro, Ssb/LA e cardiolipina e também positividade para síndrome de Sjögren quando existe a heterozigose.

Manifestações como alteração dos níveis de Anti Ds DNA e Complemento e fobromialgia também tiveram resultados significantes, porém, para dar foco ao trabalho, foram abordadas apenas as manifestações com caráter confirmatório de 100% na amostra de indivíduos.

Em dados que corroboram com nossos achados, Berbert *et. al.*, 2005²⁰ (sem avaliação do *background* genético) avaliaram que o comprometimento cutâneo no LES é frequente, acometendo de 70 a 80% dos pacientes durante a evolução da doença e caracterizando a manifestação inicial em cerca de 20% dos casos. A forma aguda do LE cutâneo manifesta-se nos casos de LES como rash malar, lesões maculosas ou papulosas difusas e LE bolhoso, sendo que a duração dessas lesões é mais curta do que nas formas discóide e subaguda.

Um padrão de fluorescência antinuclear salpicado, segundo Mutasim *et. al.*²¹, pôde denotar a presença de anticorpos contra os chamados antígenos de extração nuclear (ENA), que incluem anticorpos contra RNP, Sm, Ro e La. Uma alta correlação entre a presença de anticorpos anti-Ro e fotossensibilidade em 90% desses pacientes foi constatada. Quando há positividade ao anticorpo anti-La/SSB, concomitantemente ocorre positividade aos anticorpos anti-Ro/SSA. Tais dados apontam concordância entre as alterações imunológicas e manifestações associadas ao LES encontradas em nossa pesquisa.

Edema, sintoma que acometeu 100% dos nossos pacientes com heterozigose, vasodilatação e extravasamento de hemácias na derme superior foram descritos por Lamar *et. al.*, 1994²² nos casos de lúpus eritematoso cutâneo crônico (LECC), sendo a forma mais comum o lúpus eritematoso discóide localizado (LEDL), caracterizado por lesões maculosas ou papulosas, eritematosas, bem definidas, com escamas firmes e aderentes à superfície das lesões²³.

Harris *et. al.*, 1983²⁴ analisaram que 61% das amostras de soro de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) tinham altos níveis de anticorpos anticardiolipina em pelo menos uma classe de imunoglobulinas. Houve forte correlação entre níveis elevados de anticardiolipina e anticoagulante lúpus, trombose venosa e arterial, e trombocitopenia.

Quanto às alterações com relação ao polimorfismo da região promotora -511 da IL1b, Huang *et. al.*, 2002²⁵ não encontraram diferenças significativamente estatísticas em alterações hematológicas e imunológicas em pacientes chineses. Porém, observou-se um aumento na frequência de rash malar e fotossensibilidade entre os pacientes com o genótipo CT do que CC ou TT, dados que reiteram os achados quanto à mutação encontrada em nossa pesquisa.

Tahmasebi *et. al.*, 2013²⁶ também não encontraram resultados estatisticamente significantes quanto às frequências genotípicas em pacientes com LES e controle com os SNPs IL-1a rs1800587, IL1β rs16944 e rs1143634, IL-1R1 rs2234650 e L-1RN rs315952 numa pesquisa com 421 indivíduos iranianos, porém, constatou uma frequência menor em genótipos homozigotos de rs315952 CT IL-1RN.

Num estudo com 103 japoneses, Muraki *et. al.*, 2004⁹ levantaram associação entre os genótipos CC, TT e AA nas posições -511, -31 e 3877 da IL1b,

respectivamente, com diferença estatística menor em pacientes com Síndrome de Sjögren do que em pacientes controle ou com lúpus eritematoso sistêmico, o que, vai de acordo com o achado deste estudo, apontando tendência à proteção em casos de genótipos homozigotos e promoção da doença em genótipos heterozigóticos. Porém, o mesmo levantamento de Muraki não apontou alterações significantes quanto à mutação em pacientes com LES ou sadios.

Como demonstrado acima, existem estudos que fazem uma correlação entre as manifestações clínicas e sua frequência em pacientes com LES, porém, é escasso o número de publicações que relatam com especificidade o parâmetro genético do polimorfismo da IL1b na região promotora -511. As pesquisas relacionadas neste trabalho possuem informações conflitantes quanto às frequências genotípicas, fatores de prevenção e promoção relacionadas à mutação. Sugere-se, então, mais estudos acerca do gene e sua relação com a doença e sintomas associados.

5. CONCLUSÃO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico é uma doença sistêmica caracterizada por profundas alterações na regulação imune, capaz de acometer diversos tecidos e sistemas. Mutações no cromossomo 2q 14 demonstraram estar relacionadas com o LES e são altamente relacionadas a algumas manifestações clínicas.

O polimorfismo na região promotora -511 da IL1b encontrado nesse estudo reforça a teoria de ligação gênica e prognóstico da doença, pois a distribuição das mutações nos portadores de LES é diferente dos controles, bem como a presença de algumas manifestações clínicas de interesse.

Alterações polimórficas do gene demonstraram uma maior susceptibilidade ao acometimento de LES, bem com genótipos heterogizóticos relacionados ao fator de promoção de manifestações clínicas como edema, lupus cutâneo, síndrome de Sjögren e níveis alterados de anticorpos Ssa/RO, Ssb/LA e anticardiolipina em pacientes do Distrito Federal.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministério da Saúde do Brasil, Secretaria de Atenção à Saúde. PROTOCOLO CLÍNICO E DIRETRIZES TERAPÊUTICAS LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO 1- Portaria nº100, de 7 de fevereiro de 2013.
2. Rus V, Hochberg MC. The epidemiology of systemic lupus erythematosus. In: Wallace DJ, Hahn BH, editors. Dubois lupus erythematosus. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p.66-83.
3. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. Blood 1996;87:2095-147.
4. Webb AC, Collins KL, Auron PE, et al. Interleukin-1 gene (IL1) assigned to long arm of human chromosome 2. Lymphokine Res 1986;5:77-85.
5. Bidwell J, Keen L, et al. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. Genes and Immunity 1999;1:3-19.
6. Di Giovine FS, Takhsh E, Blakemore AIF, Duff GW. Single base polymorphism at -511 in the human interleukin-1 β (IL1 β) gene. Hum Mol Genet 1992;1:450.
7. Guasch JF, Bertina RM, Reitsma PH. Five novel intragenic dimorphisms in the human interleukin-1 genes combine to high informativity. Cytokine 1996;8:598-602.
8. Pociot F, Mølviig J, Wogensen L, Woesaae H, Nerup J. A Taq I polymorphism in the human interleukin-1 β gene correlates with IL1 β secretion in vitro. Eur J Clin Invest 1992;22:396-402.
9. Muraki Y, Tsutsumi A, Takahashi R, Suzuki E, Hayashi T, Chino Y, Goto D, Matsumoto I, Murata H, Noguchi E, Sumida T. Polymorphisms of IL-1 β gene in Japanese patients with Sjogren's syndrome and systemic lupus erythematosus. J Rheumatol. 2004, 31(4):720-5.
10. Zhang Z, et al. Association between Interleukin-1 Gene Single Nucleotide Polymorphisms and Ischemic Stroke Classified by TOAST Criteria in the Han Population of Northern China. Biomed Res Int. 2013;2013:961039.

11. Camargo JF, Correa PA, Castiblanco J, Anaya J-M. Interleukin-1 β polymorphisms in Colombian patients with autoimmune rheumatic diseases. *Genes and Immunity*. 2004; 5:609-614.
12. Liu Y-H, Chen R-H, Wu H-H, Liao W-L, Chen W-C, Tsai Y, Tsai C-H, Wan L, Tsai F-J. Association of Interleukin-1 beta (IL1 β) polymorphisms with Graves' Ophthalmopathy in Taiwan Chinese patients. *IOVS Papers in Press*. 2010; 09-4965.
13. Huang D, Pirskanen R, Hjelmstrom P, Lefvert A K. Polymorphisms in IL-1b and IL-1 receptor antagonist genes are associated with myasthenia gravis. *Journal of Neuroimmunology*. 1998; 76-81.
14. Moos V, Rudwaleit M, Herzog V, Holing K, Sueper J, Muller B. Association of genotypes affecting the expression of interleukin-1 β or interleukin-1 receptor antagonist with osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43:2417-22.
15. Mwantembe O, Gaillard MC, Barkhuizen M, et al. Ethnic differences in allelic associations of the interleukin-1 gene cluster in South Africa patients with inflammatory bowel disease (IBD) and in control individuals. *Immunogenetics* 2001;52:249-54.
16. Hopkinson N. Epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1992; 51:1292-4.
17. McCarty DJ, Manzi S, Medsger TA Jr, Ramsey-Goldman R, LaPorte RE, Kwok CK. Incidence of systemic lupus erythematosus. Race and gender differences. *Arthritis Rheum* 1995; 38:1260-70.
18. Pereira Vilar MJ, Sato EI. Estimating of systemic lupus erythematosus in a tropical region (Natal, Brazil). *Lupus* 2002; 11:528-32.
19. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1982;25:1271-7.
20. Berbert A. L. C. V, Mantese S. A. O. Lúpus eritematoso cutâneo - Aspectos clínicos e laboratoriais. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. vol. 80, 2005; 1806-4841.
21. Mutasim DF, Adams BB. A practical guide for serologic evaluation of autoimmune connective tissue diseases. *J Am Acad Dermatol*. 2000; 42:159-74.
22. Laman SD, Provost TT. Cutaneous manifestations of lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin N Am*. 1994; 20: 195-21.

23. Habib TP. Connective tissue diseases. In. Clinical dermatology: a color guide to diagnosis and therapy. 2nd ed. St Louis: C. V. Mosby, 1990. p.422-52.

24. Harris E.N, Mackworth-Young C.G, Gharavi A.E, Patel B.M, Loizou S, Hughes G.R.V. Anticardiolipin Antibodies: Detection By Radioimmunoassay And Association With Thrombosis In Systemic Lupus Erythematosus. The Lancet, vol 322, 1983; p. 1211-1214.

25. Huang C-M, Wu M-C, Wu J-Y, Tsai F-J. Lack of association of interleukin-1 β gene polymorphisms in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. Rheumatol Int, 2002; 21:173-175.

26. Tahmasebi Z1, Akbarian M, Mirkazemi S, Shahlaee A, Alizadeh Z, Amirzargar AA, Jamshidi AR, Ghoroghi S, Poursani S, Nourijelyani K, Mahmoudi M. Interleukin-1 gene cluster and IL-1 receptor polymorphisms in Iranian patients with systemic lupus erythematosus. Rheumatol Int, 2013; 33(10):2591-6.

ANEXO 1



GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER Nº 309/2009

PROTOCOLO Nº DO PROJETO: 353/09 – POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASSOCIADOS AO LUPUS ERMATOSO SISTÊMICO

Instituição Pesquisada: Secretaria de Saúde do Distrito Federal/SES-DF.

Área Temática Especial: Grupo III (não pertencente à área temática especial), Ciências da Saúde.

Validade do Parecer: 03/11/2011

Tendo como base a Resolução 196/96 CNS/MS, que dispõe sobre as diretrizes e normas regulamentadoras em pesquisa envolvendo seres humanos, assim como as suas resoluções complementares, o Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal, após apreciação ética, manifesta-se pela **APROVAÇÃO DO PROJETO**.

Esclarecemos que o pesquisador deverá observar as responsabilidades que lhe são atribuídas na Resolução 196/96 CNS/MS, inciso IX.1 e IX.2, em relação ao desenvolvimento do projeto. **Ressaltamos a necessidade de encaminhar o relatório parcial e final, além de notificações de eventos adversos quando pertinentes.**

Brasília, 03 de novembro de 2009.

Atenciosamente.

Maria Rita Carvalho Garbi Novaes
Comitê de Ética em Pesquisa/SES-DF
Coordenadora

Ângela Maria/CEP/SES-DF

Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde - SES
Comitê de Ética em Pesquisa
Fone: 325-4955 - Fone/Fax: 326-0119 - e-mail: cepesedf@saude.df.gov.br
SMHN - Q. 501 - Bloco "A" - Brasília - DF - CEP: 70.710-904

BRASÍLIA - PATRIMÔNIO CULTURAL DA HUMANIDADE