



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE CEILÂNDIA

CURSO DE FARMÁCIA

VINÍCIUS BRACELOTI VILHENA DE MOURA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO NA REGIÃO PROMOTORA DO GENE
IL10 (-819 T/C) E LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO EM UMA AMOSTRA
BRASILEIRA**

Brasília

2016

VINÍCIUS BRACELOTI VILHENA DE MOURA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO NA REGIÃO PROMOTORA DO GENE
IL10 (-819 T/C) E LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO EM UMA AMOSTRA
BRASILEIRA**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado à
Faculdade de Ceilândia, da Universidade de
Brasília, como requisito parcial para obtenção do
grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Dr.^a Izabel Cristina Rodrigues da Silva

Co-orientadora: Dr.^a Vivian Taís Fernandes Cipriano

Brasília

2016

VINÍCIUS BRACELOTI VILHENA DE MOURA

**ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO NA REGIÃO PROMOTORA DO GENE
IL-10 (-819 T/C) E LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO EM UMA AMOSTRA
BRASILEIRA**

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Dr.^a Izabel Cristina Rodrigues da Silva
(FCE/Universidade de Brasília)

Dr.^a Calliandra Maria de Souza Silva
(UnB)

Msc. Daniel Oliveira
(Faculdade LS)

Brasília

2016

Dedico esse trabalho à Deus e ao Brasil, meu senhor e minha nação.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus.

À minha mãe, por me aguentar todos esses anos.

À Tia Lucy, por ser uma madrinha presente e austera.

Ao meu padrasto Joaquim Oliveira, por proteger a família enquanto não estive pronto.

À Professora Izabel, por ser a mulher mais atenciosa da faculdade, mesmo tendo tantos orientandos e mestrandos sob sua proteção.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, em especial aos Drs. Luzitano Ferreira e Carlos Lins pelas amostras dos pacientes, ao Renato e à Suzana por terem me ajudado nas minhas PCRs, corridas de gel e extrações de DNA.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição genotípica e frequência alélica do polimorfismo na região promotora do gene IL-10 (-819 T/C) em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES).....	18
Tabela 2 - Distribuição genotípica do polimorfismo da região promotora do gene IL-10 (-819 T/C) em pacientes com Lúpus eritematoso sistêmico (LES) conforme os critérios ACR.	19
Tabela 3 - Distribuição genotípica do polimorfismo da região promotora do gene IL-10 (-819 T/C) em pacientes com Lúpus eritematoso sistêmico (LES) conforme características clínicas.	19

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A – Adenina

G – Guanina

LES – Lúpus Eritematoso Sistêmico

SNP – *Single nucleotide polymorphism*

mg – Miligrama

mL – Mililitro

mm – Milímetro

mM – Milimolar

μl - Microlitro

P – p-valor

PCR – Reação em cadeia da polimerase

dNTPs – Desoxirribonucleotídeos Fosfatados

χ^2 – qui-quadrado

NCBI – *National Center for Biotechnology Information*

IC OR – Intervalo de Confiança para a *Odds Ratio*

OR – *Odds Ratio*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	OBJETIVOS.....	13
2.1	Objetivo geral	13
2.2	Objetivos Específicos	13
3	JUSTIFICATIVA.....	14
4	MATERIAIS E MÉTODOS	15
4.1	Participantes da pesquisa	15
4.2	Extração de DNA	15
4.3	PCR (Reação em cadeia de Polimerase) Qualitativo.....	16
4.4	Digestão enzimática.....	17
4.5	Análise Estatística	17
5	RESULTADOS	18
6	DISCUSSÃO.....	20
7	CONCLUSÃO	23
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
	ANEXO.....	28

RESUMO

O Lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença auto-imune caracterizada pela perda da tolerância imunológica, produção de auto-anticorpos e amplo espectro de manifestações clínicas. Alguns estudos têm observado associação do polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) na região promotora do gene IL10 (-819 T/C)(rs1800871) como fator de risco para LES em diferentes grupos étnicos, embora a participação deste gene em LES não esteja esclarecida, o que já está descrito na literatura é um aumento da produção da citocina em pacientes com LES. Para investigar a possível associação entre o polimorfismo na região promotora do gene IL10 (-819 T/C)(rs1800871) com susceptibilidade para LES e suas manifestações clínicas em brasileiros, foi realizado um estudo caso-controle de base geográfica envolvendo 61 casos de LES em pacientes e 61 controles, pareados pelo sexo e idade. Para a genotipagem desta região foi utilizada a técnica PCR-RFLP (*restriction fragment length polymorphism -polymerase chain reaction*). Os resultados sugerem ausência de associação do SNP IL-10 rs1800871 e susceptibilidade ao LES. No grupo caso não houve diferença estatística em relação ao grupo controle quando comparados às distribuições genotípicas ($P= 0,437$). Com relação aos critérios ACR para uniformização dos estudos científicos de LES, também não foi observada associação entre qualquer um dos onze critérios em LES ($P>0,05$) e a presença do polimorfismo IL10 rs1800871. Por fim, foram executados estudos de associação entre características clínicas específicas, como: anemia, anemia hemolítica, abortamentos, morbidade obstétrica, trombose venosa e arterial e o polimorfismo. Para nenhuma dessas, a ausência do alelo C foi considerada fator protetor ou fator de risco ($P>0,005$).

Palavras-chave: IL10, polimorfismo, lúpus.

ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease characterized by loss of immune tolerance, autoantibody production and a broad spectrum of clinical manifestations. Some studies have observed the association of the single nucleotide polymorphism (SNP) in the promoter region of the IL10 gene (-819 T / C) (rs1800871) as a risk factor for SLE in different ethnic groups, although the participation of this gene in SLE is not clear, what is already described in the literature is an increase of cytokine production in patients with SLE. In order to investigate the possible association between the polymorphism in the IL10 (-819 T / C) promoter region (rs1800871) with susceptibility to SLE and its clinical manifestations in Brazilians, a case-control study was carried out on a geographic basis involving 61 cases of SLE in patients and 61 controls, matched by sex and age. For the genotyping of this region, the PCR-RFLP (*restriction fragment length polymorphism -polymerase chain reaction*) technique was used. The results suggest a lack of association of SNP IL-10 rs1800871 and susceptibility to SLE. In the case group there was no statistical difference in relation to the control group when compared to the genotypic distributions ($P = 0.437$). Regarding the ACR criteria for the standardization of SLE scientific studies, no association was observed between any of the eleven criteria in SLE ($P > 0.05$) and the presence of the IL10 polymorphism rs1800871. Finally, association studies were performed between specific clinical features, such as anemia, hemolytic anemia, abortion, obstetric morbidity, venous and arterial thrombosis, and polymorphism. For none of these, absence of the C allele was considered a protective factor or risk factor ($P > 0.005$).

Keywords: IL10, polymorphism, lupus.

1 INTRODUÇÃO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune sistêmica caracterizada por vários danos aos órgãos, várias manifestações clínicas e títulos altos de autoanticorpos (ASKANASE et al. 2012). O LES tem patogênese multifatorial, com fatores ambientais e genes de susceptibilidade envolvidos no desenvolvimento da doença (BERTSIAS et al. 2012). O LES, por ter uma natureza sistêmica, se manifesta clinicamente de formas diversas, sendo as articulações, o sistema nervoso, a pele, os elementos sanguíneos e outros, fortemente envolvidos. As manifestações ocorrem de forma variada em cada paciente e ao longo do tempo podem mudar (MINA, BRUNNER. 2010). Assim, há um grande interesse na identificação de biomarcadores que são responsáveis pelo aparecimento e progressão da doença.

Polimorfismos localizados dentro de regiões promotoras de genes de citocinas como TNF- α (ANGELO et al. 2012), IL8 (HUANG et al 2006), IL6 (CHUA et al. 2009), IL10 (SONG et al. 2013) e IFN- γ (KIM et al. 2010), principalmente polimorfismos de nucleotídeo único, afetam a transcrição gênica, podendo causar elevadas variações na produção de citocinas e, por isso, têm se mostrado envolvidos nas características clínicas do LES, como susceptibilidade, gravidade e tipos de manifestação.

A interleucina 10 (IL-10) é uma citocina de vasta ação com fortes propriedades imunossupressoras e é incisiva na regulação da resposta imune, principalmente por meio da inibição de mediadores pró-inflamatórios. Esta proteína é produzida principalmente por células T ativadas, monócitos/macrófagos ativados, células B estimuladas e mastócitos (SABAT; ROBERT et al. 2010). Foi descrito certo número de polimorfismos do promotor do gene IL-10. A região promotora do gene IL-10 é polimórfica e se localiza em 1q31-32, tem três polimorfismos de nucleotídeo único em -1082 (G/A), -819 (C/T), e -592 (C/A) (LIU et al. 2013).

Algumas doenças autoimunes foram associadas aos polimorfismos de gene IL-10, como asma, artrite reumatoide e psoríase (LEE et al, 2012). Os níveis de IL-10 estão associados com a atividade ou susceptibilidade de doenças autoimunes. Os baixos níveis de expressão da IL-10 têm um papel na patogênese da asma, a IL-

10 pode modular a gravidade da doença na artrite reumatoide e a deficiência de IL-10 é uma característica da psoríase (LEE et al. 2012; TARZI et al. 2006).

Os níveis de IL-10 no LES são significativamente elevados e correlacionam-se com a atividade da doença (GODSELL et al. 2016). Há relatos na literatura sobre a associação: produção de IL-10 e polimorfismos de IL-10 (LOPEZ, 2010). Uma vez que a IL-10 é um estimulador forte da maturação das células B e da produção de imunoglobulinas, a atividade aumentada de IL-10 é considerada uma característica principal da hiperatividade das células B no LES (KALAMPOKIS, 2013). Assim, a IL-10 é considerada um gene interessante no estudo do LES baseado em sua localização cromossômica e relevância funcional (LIU et al. 2013). É justificado então o estudo sobre os efeitos dos polimorfismos do gene IL10 em relação ao LES, como o investigado nesse trabalho: nucleotídeo único na região promotora, posição -819 T/C.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo é investigar a associação do polimorfismo da região promotora do gene IL10 (-819 T/C)(rs1800871) com a ocorrência de LES em uma amostra brasileira.

2.2 Objetivos Específicos

- a)** Identificar a frequência do polimorfismo da região promotora do gene IL10 (-819 T/C), cromossomo 1, posição 1q31-q32, em pacientes com LES atendidos por um hospital do Distrito Federal, Brasil;
- b)** Investigar se o polimorfismo na região promotora do gene IL10 está associado com a susceptibilidade à patologia auto-imune LES e ao prognóstico dos pacientes.

3 JUSTIFICATIVA

Como o nível de produção da citocina IL-10 é fator de risco para o desencadeamento da patologia e que o polimorfismo da região promotora do gene IL10 -819 T/C (rs1800871) está associado com o aumento endógeno dessa citocina, é necessária a investigação de associação entre o polimorfismo e o desencadeamento dos quadros de LES, para o entendimento da etiopatogenia da doença e ajudar tanto no diagnóstico como no prognóstico de pacientes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Participantes da pesquisa

O estudo foi conduzido com 122 participantes, sendo pacientes diagnosticados como portadores de LES (61 mulheres, entre os 18 e 76 anos, idade de 37 ± 12 anos) e 61 controles. Estas pacientes portadoras de LES foram recrutadas em uma unidade hospitalar do Distrito Federal. As participantes selecionadas preencheram os critérios de classificação revisados e modificados pelo *American College of Rheumatology* (ACR), em 1982 (TAN et al., 1982) e 1997 (HOCHBERG, 1997).

As características clínicas de cada paciente com LES foram avaliadas cuidadosamente a partir dos respectivos prontuários. Comprometimento renal, perfil de auto-anticorpos, e ademais características clínicas também foram registradas. O comprometimento renal foi definido como proteinúria considerada maior que 0,5g/24 horas ou comprovada por biópsia de nefrite lúpica. Foram utilizados os altos índices para o título de anti-dsDNA e reduzidos para o nível C3. Para cada paciente foram determinados o número de critérios do ACR, o índice de *SLE Disease Activity* (SLEDAI) e o Lúpus Internacional de Colaboração Clínicas (SLICC) / Índice de Danos ACR.

Este trabalho foi aprovado pelo comitê de ética da FEPECS (ANEXO 1).

4.2 Extração de 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 etídio. O rendimento médio alcançado foi de 20 ng/ μ L.

4.3 PCR (Reação em cadeia de Polimerase) Qualitativo

A PCR é um método baseado na habilidade da enzima DNA polimerase em sintetizar novas cadeias de DNA complementar a uma cadeia molde. Este quesito permite delinear uma região específica da sequência do molde que se pretende amplificar. Ao final da reação de PCR, a sequência específica é replicada em milhões de cópias.

As sequências de oligonucleotídeos utilizadas neste trabalho foram (Invitrogen Inc):

Senso 5-TCATTCTATGTGCTGGAGATGG-3'

Antisenso 5'-TGGGGGAAGTGGGTAAGAGT-3'

Este par de oligonucleotídeos flanqueia a região promotora do gene IL-10, no qual ocorre uma troca do nucleotídeo T por C (rs1800871).

As condições de termociclagem foram: 94°C por 5 minutos (desnaturação inicial), seguida por 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento dos oligonucleotídeos a 59°C por 45 segundos e 72°C por 55 segundos para a extensão dos fragmentos. A extensão final foi realizada a 72°C por 8 minutos e resfriamento por 4 minutos. O equipamento utilizado foi o termociclador Life Express Thermal Cycler TC-96/G/H(b).

Em cada reação, foram utilizados 4,0 µL de DNA genômico na concentração de 2,5 ng/µL; 2,5 µL de tampão 10x (10 mM de Tris e 50 mM de KCl); 0,75 µL de MgCl₂ (Ludwig Biotech®), 2 µL de dNTPs (2,5mM; Ludwig Biotech ®); 0,4 µL de Taq-Polimerase (Ludwig Biotech®, 5U/µL), 1 µL de cada oligonucleotídeo *forward* e *reverse* (IDT®, 10 pM); completando com água Milli-Q para um volume final de 25 µL por reação.

O fragmento resultante dessa PCR é de 209 pb.

4.4 Digestão enzimática

O produto da PCR (fragmento, 209pb) foi digerido com a enzima MaeIII (Sigma Aldrich®). O alelo 1 (C) cria um novo sítio de restrição, e o fragmento de 209 pb é clivado em dois de 125 pb e 84pb; o alelo 2 (T) não é clivado pela enzima, e assim, o polimorfismo foi dividido em genótipo de clivagem (CC), heterozigoto (CT) e genótipo de não clivagem (TT). Para montagem do sistema de digestão foram utilizados: 10,0 µL da PCR; 5µL de tampão 10x UB; 1 µL de enzima NcoI (10U/µL), completando com água Milli-Q para um volume final de 50 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.

4.5 Análise Estatística

As frequências genotípica e alélica dos pacientes foram descritas em termos de frequências absolutas e relativas (em porcentagem). Para associação das características clínicas para cada genótipo foi aplicado o teste qui-quadrado e o nível de significância adotado foi de 5%. Foi calculado o *Odds ratio* (OR) das frequências alélicas e genotípicas e utilizado intervalo de confiança (IC) de 95%. O programa estatístico utilizado foi o SPSS (versão 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

5 RESULTADOS

A frequência genotípica do polimorfismo IL10 rs1800871 nos controles estava em equilíbrio Hardy-Weinberg ($P = 0,399$). Ainda sobre a distribuição genotípica, os resultados sugerem ausência de associação do SNP da região promotora do gene IL-10 (-819 T/C) e susceptibilidade ao LES. O grupo caso não houve diferença estatística do grupo caso em relação ao grupo controle quando comparados às distribuições genotípicas ($P = 0,437$) (Tabela 1).

Com isto, o genótipo dominante TT esteve presente em mais da metade da amostra estudada, independente de qual grupo o participante foi disposto. Ainda, o alelo dominante estava presente em 70% da população, e também estava distribuído equitativamente entre os grupos ($P = 0,192$; OR = 1,46).

Tabela 1 – Distribuição genotípica e frequência alélica do polimorfismo na região promotora do gene IL10 (-819 T/C) em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES).

IL10 1800871	Grupo				P	OR	IC
	Lupus		Controle				
	N	%	N	%			
TT	38	62,3	31	50,8	0,437	NA [#]	NA
CT	18	29,5	23	37,7			
CC	5	8,2	7	11,5			
Total	61	100,0	61	100,0			
TT	38	62,3	31	50,8	0,201	1,8	0,78-3,29
CT+CC	23	37,7	30	49,2			
Total	61	100,0	61	100,0			
T	94	77,0	85	69,7	0,192	1,46	0,82-2,59
C	28	23,0	37	30,3			
Total	122	100,0	122	100,0			

[#]NA= não se aplica

Com relação aos critérios ACR para uniformização dos estudos científicos de LES, também não foi observada associação entre qualquer um dos onze critérios e a presença do polimorfismo IL10 rs1800871 ($P > 0,05$). Os estudos de associação estão descritos na tabela 2.

Tabela 2 - Distribuição genotípica do polimorfismo da região promotora do gene IL10 (-819 T/C) em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) conforme os critérios ACR.

Critérios - ACR	IL10 rs1800871				P
	TT		CT+CC		
	Contagem	N % da linha da camada	Contagem	N % da linha da camada	
ARTRITE NÃO EROSIVA - ACR	29	54,7%	24	45,3%	0,117
RASH MALAR - ACR	19	54,3%	16	45,7%	0,531
LESÕES DISCOIDES - ACR	3	42,9%	4	57,1%	0,654
FOTOSENSIBILIDADE - ACR	19	46,3%	22	53,7%	0,316
SEROSITES - ACR	10	41,7%	14	58,3%	0,249
NEFRITES - ACR	19	57,6%	14	42,4%	0,252
HEMATOLÓGICO - ACR	27	50,0%	27	50,0%	0,722
ÚLCERAS ORAIS/NASAIS - ACR	6	50,0%	6	50,0%	0,949
FAN - ACR	31	50,8%	30	49,2%	NA
ALTERAÇÃO IMUNOLÓGICA - ACR	18	47,4%	20	52,6%	0,488
PSICOSE CONVULSÕES - ACR	4	44,4%	5	55,6%	0,679

Por fim, foram executados estudos de associação entre características clínicas específicas, como: anemia, anemia hemolítica, abortamentos, morbidade obstétrica, trombose venosa e arterial e o referido polimorfismo. Para nenhuma dessas, a ausência do alelo C foi considerada fator protetor ou fator de risco ($P > 0,005$).

Tabela 3 - Distribuição genotípica do polimorfismo da região promotora do gene IL10 (-819 T/C) em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) conforme características clínicas

Características clínicas	IL10 rs1800871				P
	TT		CT+CC		
	N	%	N	%	
ANEMIA	14	45,2%	13	43,3%	0,886
ANEMIA HEMOLÍTICA	4	12,9%	6	20,0%	0,454
ABORTAMENTOS	10	32,3%	4	13,3%	0,079
MORBIDADE OBSTÉTRICA	7	22,6%	2	6,7%	0,081
TROMBOSE VENOSA	1	3,2%	3	10,0%	0,285
TROMBOSE ARTERIAL	1	3,2%	2	6,7%	0,534

6 DISCUSSÃO

A análise de associação é uma abordagem eficaz na identificação de genes candidatos que contribuem para susceptibilidade à uma determinada doença. Uma associação positiva surge se uma das variantes testadas (genótipos ou alelos) está diretamente envolvida na patogênese da doença, e esta associação deve ser válida na maioria ou todas as populações para que seja considerada como ponto relevante para o acompanhamento do diagnóstico ou do prognóstico do paciente (JORDE, 2004).

Por outro lado, também é possível que a associação seja observada não com o estudo de um marcador não envolvido diretamente na patogênese, e sim com um desequilíbrio de ligação entre este marcador e uma região gênica próxima, o que resulta no surgimento do desfecho.

Neste último caso, a possibilidade de uma associação é fortemente dependente do nível de desequilíbrio de ligação entre o marcador e a outra região gênica putativa, e isso pode variar muito conforme a história da população em particular que foi testada. Fatores como o isolamento genético, mistura entre diferentes grupos étnicos, e a deriva genética podem alterar as frequências genéticas dos haplótipos e, assim, modificar os desequilíbrios de ligação das duas regiões gênicas (KRUGLYAK, 1999). Portanto, é importante que diferentes populações sejam analisadas para verificar se as associações relatadas anteriormente são verdadeiras, e para aumentar a probabilidade de detectar novas associações.

O presente estudo apontou que não há associação estatisticamente significativa entre o polimorfismo IL10 rs1800871 e susceptibilidade ao LES em uma população atendida em unidade hospitalar do Distrito Federal. Até o presente momento, não há estudos brasileiros que associam este polimorfismo e o desfecho lúpico. Há outro estudo latino americano (em colombianos) que também apontou que não há associação deste polimorfismo com LES (CRAWLEY; WOO; ISENBERG, 1999). Também não foi verificada esta associação em uma amostra anglo-saxônica (GUARNIZO-ZUCCARDI et al. 2007).

No entanto, um recente estudo egípcio com 96 mulheres verificou que esta região polimórfica esteja relacionada à ocorrência de LES, sendo que há uma

redução da frequência dos genótipos CC e CT nos pacientes com LES em relação ao grupo controle (TALAAT, R. M. et al., 2016). Uma meta-análise desenvolvida por Song et al. (2013) apontou também o alelo C como fator de risco para desenvolvimento de LES em pacientes asiáticos.

Portanto, a literatura é divergente no tocante à associação: polimorfismo IL10 rs1800871 e susceptibilidade ao LES, e assim não é conclusivo o efeito desta mutação sobre o desfecho.

Outros estudos que envolvem este polimorfismo tratam de dificuldades relacionadas à gestação. Por exemplo, um estudo francês relatou que as portadoras do alelo Rs1800871 (T) foram três vezes mais propensas a terem suas gestações interrompidas no início da gestação (<10 semanas) do que as portadoras do alelo (C), com base em um estudo de aproximadamente 500 gravidezes (COCHERY-NOUVELLON et al., 2009).

As mulheres portadoras de lúpus cursam com gestações de alto risco, pois exibem maiores taxas de abortamento (com registros de 20 a 22%), partos prematuros, restrição do crescimento fetal, mortalidade perinatal. Como consequência clínica, o momento para a concepção deve ser programado em período fora de atividade da doença, quando a paciente, possivelmente, estará utilizando pequenas doses de corticosteroide (RUIZ-IRASTORZA, G. et al. 2004).

Como geralmente estas pacientes apresentam presença anticorpos antifosfolípidos, e isto pode ser a principal causa destes abortamentos; e a superexpressão de IL-10 afeta a biossíntese de autoanticorpos que ocorre em pacientes com LES (CIGNI et al, 2014), o presente estudo também verificou a associação do polimorfismo da região promotora de IL10 e a presença de abortamentos nas pacientes, e não apontou associação estatisticamente relevante entre a mutação genética e o desfecho clínico desfavorável.

Outras características clínicas também não foram associadas ao desfecho lúpico. É importante ressaltar que a ainda, a participação da IL-10 em LES permanece não esclarecida, o que já está descrito na literatura é um aumento da produção da citocina foi observado em pacientes com LES (MCCARTHY et al., 2014). Porém, para este polimorfismo, o aumento da expressão da proteína não estava associado a um tipo específico de genótipo analisado, estando sempre

aumentado em relação a produção em controle para o mesmo genótipo (TT, CT ou CC) (TALAAT, R. M. et al., 2016).

7 CONCLUSÃO

Em conclusão, este estudo preliminar indicou que nenhum dos genótipos do polimorfismo IL10 rs1800871 podem ser considerados como fator de risco para LES, e que, portanto, este polimorfismo não teria um papel na suscetibilidade ao LES nos pacientes. A presença do polimorfismo também não se associa ao prognóstico ou manifestações clínicas descritas, como os critérios ACR ou abortamentos.

A complexidade do polimorfismo das citocinas evoca a necessidade de uma meticulosa análise do seu papel no LES, a fim de especificar associações com diferentes desfechos, particularmente sob aspectos funcionais, no contexto da fisiopatologia do LES. Contudo, o número de pacientes e controles saudáveis neste estudo foi relativamente pequeno, portanto estudos com mais pacientes e controles devem ser conduzidos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASKANASE, Anca; SHUM, Katrina; MITNICK, Hal. Systemic lupus erythematosus: an overview. **Social work in health care**, v. 51, n. 7, p. 576-586, 2012.

BERTSIAS, George; CERVERA, Ricard; BOUMPAS, Dimitrios T. Systemic lupus erythematosus: pathogenesis and clinical features. **EULAR textbook on rheumatic diseases, Geneva, Switzerland: European League Against Rheumatism**, p. 476-505, 2012.

MINA, Rina; BRUNNER, Hermine I. Pediatric lupus—are there differences in presentation, genetics, response to therapy, and damage accrual compared with adult lupus?. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v. 36, n. 1, p. 53-80, 2010.

ANGELO, Hildson Dornelas et al. Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphism— 308 G/A in Brazilian patients with systemic lupus erythematosus. **Human immunology**, v. 73, n. 11, p. 1166-1170, 2012.

HUANG, Chung-Ming et al. Lack of association of interleukin-6 and interleukin-8 gene polymorphisms in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. **Journal of clinical laboratory analysis**, v. 20, n. 6, p. 255-259, 2006.

CHUA, K. H. et al. Interleukin-6 promoter polymorphisms (-174 G/C) in Malaysian patients with systemic lupus erythematosus. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 42, n. 6, p. 551-555, 2009.

SONG, Gwan Gyu et al. Associations between interleukin-10 polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. **Human immunology**, v. 74, n. 3, p. 364-370, 2013.

KIM, Kwangwoo et al. Interferon-gamma gene polymorphisms associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 69, n. 6, p. 1247-1250, 2010.

SABAT, Robert et al. Biology of interleukin-10. **Cytokine & growth factor reviews**, v. 21, n. 5, p. 331-344, 2010.

LIU, Ping et al. IL-10 gene polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e69547, 2013.

LEE, Young Ho et al. Associations between interleukin-10 polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis: a meta-analysis. **Molecular biology reports**, v. 39, n. 1, p. 81-87, 2012.

LEE, Young Ho et al. Associations between interleukin-10 polymorphisms and susceptibility to psoriasis: a meta-analysis. **Inflammation Research**, v. 61, n. 7, p. 657-663, 2012.

TARZI, M. et al. Induction of interleukin-10 and suppressor of cytokine signalling-3 gene expression following peptide immunotherapy. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 36, n. 4, p. 465-474, 2006.

NIE, Wei et al. Interleukin-10 promoter polymorphisms and asthma risk: a meta-analysis. **Cytokine**, v. 60, n. 3, p. 849-855, 2012.

GODSELL, Jack et al. Clinical associations of IL-10 and IL-37 in systemic lupus erythematosus. **Scientific Reports**, v. 6, 2016.

LÓPEZ, Patricia; GUTIÉRREZ, Carmen; SUÁREZ, Ana. IL-10 and TNF α Genotypes in SLE. **BioMed Research International**, v. 2010, 2010.

KALAMPOKIS, Ioannis; YOSHIZAKI, Ayumi; TEDDER, Thomas F. IL-10-producing regulatory B cells (B10 cells) in autoimmune disease. **Arthritis research & therapy**, v. 15, n. 1, p. 1, 2013.

TAN, Eng M. et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. **Arthritis & Rheumatism**, v. 25, n. 11, p. 1271-1277, 1982.

HOCHBERG, M. C. Updating the American College of Rheumatology Revised criteria for the classification of Systemic Lupus Erythematosus. **Arthritis & Rheumatism**, v. 40, n. 9, p. 1997, 1997.

JORDE, Lynn B. **Genética médica**. Elsevier Brasil, 2004.

KRUGLYAK, Leonid. Genetic isolates: Separate but equal?. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n. 4, p. 1170-1172, 1999.

CRAWLEY, Esther; WOO, Patricia; ISENBERG, David A. Single nucleotide polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region are not associated with renal disease or serology in caucasian patients with systemic lupus erythematosus. **Arthritis & Rheumatism**, v. 42, n. 9, p. 2017-2018, 1999.

COCHERY-NOUVELLON, Eva et al. Interleukin 10 gene promoter polymorphisms in women with pregnancy loss: preferential association with embryonic wastage. **Biology of reproduction**, v. 80, n. 6, p. 1115-1120, 2009.

GUARNIZO-ZUCCARDI, P. et al. Cytokine gene polymorphisms in Colombian patients with systemic lupus erythematosus. **Tissue antigens**, v. 70, n. 5, p. 376-382, 2007.

TALAAT, R. M. et al. Genetic polymorphisms of interleukin 6 and interleukin 10 in Egyptian patients with systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v. 25, n. 3, p. 255-264, 2016.

RUIZ-IRASTORZA, G. et al. Measuring systemic lupus erythematosus activity during pregnancy: validation of the lupus activity index in pregnancy scale. **Arthritis Care & Research**, v. 51, n. 1, p. 78-82, 2004.

CIGNI, Alessandro et al. Interleukin 1, interleukin 6, interleukin 10, and tumor necrosis factor α in active and quiescent systemic lupus erythematosus. **Journal of Investigative Medicine**, v. 62, n. 5, p. 825-829, 2014.

MCCARTHY, Eoghan M. et al. The association of cytokines with disease activity and damage scores in systemic lupus erythematosus patients. **Rheumatology**, v. 53, n. 9, p. 1586-1594, 2014.

ANEXO

Aprovação do projeto pelo comitê de ética

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 ERITEMATOSO 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