



REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA

www.reumatologia.com.br



Artigo original

Polimorfismo do receptor Fc gama IIIa não está associado à susceptibilidade ao lúpus eritematoso sistêmico em pacientes brasileiros

Marcelle Grecco, Viviane Cardoso dos Santos, Kaline Medeiros Costa Pereira, Luís Eduardo Coelho Andrade e Neusa Pereira da Silva*

Disciplina de Reumatologia, Departamento de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), São Paulo, SP, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 22 de setembro de 2014

Aceito em 15 de junho de 2016

On-line em xxx

Palavras-chave:

Lúpus eritematoso sistêmico

Receptor Fc gama IIIa

Polimorfismo de nucleotídeo único

Polimorfismo genético

Imunogenética

R E S U M O

Avaliou-se a possível associação entre o polimorfismo FCGR3A V/F (158) e a suscetibilidade e o fenótipo clínico do lúpus eritematoso sistêmico (LES) em 305 pacientes com LES admitidos sequencialmente e 300 controles saudáveis da Região Sudeste do Brasil por reação em cadeia da polimerase alelo-específica. Os resultados do presente estudo mostraram não haver associação entre os alelos FCGR3A 158 V/F e a suscetibilidade ao LES nessa série de pacientes, ainda que o genótipo heterozigoto tenha sido fortemente associado à doença.

© 2016 Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Fc gamma receptor IIIa polymorphism is not associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Brazilian patients

A B S T R A C T

We evaluated the possible association between FCGR3A V/F (158) polymorphism and SLE susceptibility and clinical phenotype in 305 sequentially retrieved SLE patients and 300 healthy controls from the southeastern part of Brazil by allele-specific polymerase chain reaction. Our results showed no association between FCGR3A 158 V/F alleles and susceptibility to SLE in this series of patients albeit the heterozygous genotype was strongly associated with the disease.

© 2016 Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Keywords:

Systemic lupus erythematosus

Fc gamma receptor IIIa

Single nucleotide polymorphism

Gene polymorphism

Immunogenetics

* Autor para correspondência.

E-mail: npsilva@unifesp.br (N.P. Silva).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbr.2016.06.004>

0482-5004/© 2016 Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introdução

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é considerado o protótipo de doenças crônicas mediadas por complexos imunes. Em condições fisiológicas, os complexos imunes (CI) circulantes são eliminados do sangue periférico e outros líquidos biológicos pelo sistema fagocítico mononuclear.^{1,2} No LES, a eliminação inadequada dos CI pode levar a danos nos tecidos em decorrência da deposição e sobrecarga tecidual de CI, o que resulta em liberação de mediadores inflamatórios e influxo de células inflamatórias.^{2,3} Os receptores gama Fc (FcγR), presentes em células mononucleares fagocíticas, desempenham um papel importante na eliminação dos CI e das células apoptóticas.^{4,5} Além disso, a internalização de CI que contém ácido nucleico via FcγR pelas células dendríticas plasmocitoides possibilita a ligação de receptores toll-like (TLR) intracelulares e consequente ativação de cascatas a jusante que culminam na síntese de interferon tipo I.^{6,7} Descobriram-se vários polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) nos genes que codificam os FcγR e alguns deles têm consequências funcionais. Como esperado, alguns desses polimorfismos têm sido extensivamente estudados em doenças autoimunes.^{5,8}

O receptor humano FcγRIII (CD16) é uma proteína heterogênea extensivamente glicosilada com um peso molecular aparente de 50-80KDa. O gene FCGR3A codifica o receptor FcγRIIIa presente em macrófagos, células MN e linfócitos T γδ, com baixa afinidade para o CI que contém IgG.^{4,9,10} O gene FCGR3A apresenta um polimorfismo G559T que leva à substituição da valina por fenilalanina na posição 158 da cadeia polipeptídica (158V/F) e reduz ainda mais a afinidade do receptor para subclasses IgG.⁹⁻¹¹ A associação entre o polimorfismo do gene FCGR3A e o LES foi estudada por vários pesquisadores. No entanto, foram relatados resultados contraditórios a respeito dessa associação em diferentes populações.^{9,10,12-16} Diante desse cenário, o presente estudo teve como objetivo investigar o polimorfismo FcγRIIIa 158V/F em pacientes com LES brasileiros provenientes de uma população com origem étnica mista.

Material e métodos

Pacientes e controles

Coletou-se o sangue periférico de 305 pacientes com LES que sequencialmente passaram pelo Ambulatório de Reumatologia da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), Brasil. Todos os pacientes preencheram pelo menos quatro dos critérios revisados para a classificação do LES de acordo com o *American College of Rheumatology*.¹⁷ Não havia disponibilidade de características clínicas detalhadas de todos os pacientes e considerou-se somente os gráficos com dados consistentes na análise do fenótipo clínico da doença. Assim, dados do *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology-Damage Index* (Slicc-DI) estavam disponíveis para 167 pacientes. O grupo controle era composto por 300 doadores de sangue saudáveis que não tinham antecedentes familiares de doenças autoimunes conforme avaliado por um questionário detalhado. O estudo foi aprovado pelo Comitê

de Ética da instituição (# 2074/07) e todos os participantes forneceram um consentimento informado por escrito.

Classificação étnica

Países latino-americanos em geral, e em particular o Brasil, apresentam uma intensa miscigenação étnica, principalmente à custa de elementos africanos e europeus. Adotou-se a classificação étnica usada pelo Grupo Latinoamericano de Estudio del Lupus (Gladel).¹⁸ De acordo com essa classificação, o indivíduo descreve a própria etnia, bem como a de seus pais e quatro avós. Os grupos étnicos estudados foram definidos do seguinte modo:

- Etnia negra: indivíduo estudado, pais e avós classificados como negros.
- Etnia branca: indivíduo estudado, pais e avós classificados como brancos.
- Etnia mista: existência de pelo menos um desacordo na classificação da linhagem do indivíduo em avós maternos ou paternos.

Isolamento de ácido nucleico e análise do polimorfismo FCGR3A

Extraíu-se o DNA genômico de amostras de sangue por *salting out*, com base na metodologia previamente descrita por Laitinen et al.¹⁹ Examinou-se o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) G559T (rs396991) do FCGR3A (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2214>) por PCR alelo-específica de acordo com Wu et al.⁹ com pequenas modificações, com um único *primer sense* (5' TCA CAT ATT TAC AGA ATG GCA ATG G 3') e dois *primers antisense* (5' TCT CTG AAG ACA CAT TTC TAC TCC CTA C 3' para o alelo G; e 5' TCT CTG AAG ACA CAT TTC TAC TCC CTA A 3') para o alelo T. A mistura de reação de 50 μL continha 100 ng de DNA, 1,2 mM de MgCl₂, 0,2 mM de MnTP, 2,5 U de Platinum Taq DNA polimerase e 10 pmol de cada um dos *primer sense* e *antisense* aleloespecíficos. A PCR iniciou com uma etapa inicial de cinco minutos a 95° C, seguida de 35 ciclos de 30 segundos a 94° C, 45 segundos a 54° C e 20 segundos a 72° C, com uma etapa de extensão final de oito minutos a 72° C. O fragmento amplificado de 138 pb foi analisado por eletroforese em gel de agarose a 3% em TBE.

Pesquisa e procura de autoanticorpos

Identificaram-se todas as subsorologias (DNA de cadeia dupla, Sm, RNP, SSA, SSB). Usou-se a imunofluorescência indireta para o teste de ANA e ds-DNA e difusão dupla Ouchterlony para os autoanticorpos Sm, RNP, SSA-Ro e SSB-La.

Análise estatística

Usaram-se o teste de qui-quadrado e a correção de Bonferroni para comparações múltiplas para analisar as variáveis categóricas e o teste exato de Fisher foi usado quando apropriado. As variáveis contínuas foram testadas quanto ao padrão de distribuição pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. As variáveis com distribuição normal foram analisadas pelo teste t de Student e aquelas com distribuição não paramétrica foram

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/8733081>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/8733081>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)