



ANÁLISE DAS VARIANTES POLIMÓRFICAS DO ÉXON 1 DO GENE QUE CODIFICA LECTINA DE LIGAÇÃO A MANOSE (*MBL2*) EM PACIENTES COM A ARTRITE REUMATÓIDE

Fernanda Letícia Martiny, Maurício Reis Bogo (orientador), José Artur Bogo Chies (colaborador)

Programa Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Biociências, PUCRS,

Resumo

Introdução

A artrite reumatóide (AR) é uma doença do sistema auto-imune que atua primeiramente através de uma inflamação nas articulações tornando-se crônica com o passar dos anos. Pode desenvolver uma deformidade e destruição destas articulações devido à erosão da cartilagem e do osso. Esta doença atinge pessoas de ambos os sexos com idades variáveis, porém há uma prevalência maior nas mulheres com idade entre 40 e 60 anos (ALAMANOS; DROSOS; 2005; KORB; PAVENSTADT; PAP, 2009; PAN; GABAY; FINCKH, 2007). Em um estudo multicêntrico realizado no Brasil constatou-se uma prevalência de AR em adultos variando de 0,2 a 1% (LOUZADA et al, 2007). O diagnóstico da doença depende de uma série de combinações de sintomas clínicos, diagnósticos laboratoriais e radiográficos (LEE; WEINBLAT, 2001).

A etiologia da AR é multifatorial, resultando da interação de fatores ambientais, hormonais e genéticos, que contribuem para sua ocorrência e expressão. Evidências epidemiológicas mostram que fatores genéticos são relatados como risco para o aumento da AR (ALAMANOS; DROSOS; 2005). Acredita-se que vários genes possam estar envolvidos com o aparecimento da AR, e um deles é o gene *MBL2*, responsável pela codificação da proteína Lectina de Ligação à Manose (MBL). Estudos realizados demonstram a relação entre polimorfismos neste gene e a suscetibilidade em desenvolver AR em pacientes indianos (GUPTA et al 2006; GUPTA et al, 2005).

A MBL é uma proteína da família das colectinas importante para o sistema imunológico, relacionada com a promoção de fagocitose de microorganismos, modulação da resposta inflamatória e apoptose (KILPATRICK, 2003; TURNER, 2003 DOMMETT; KLEIN; TURNER, 2006; TURNER et al., 1996). Os baixos níveis de MBL estão associados com mutações genéticas através de polimorfismos do gene *MBL2* e a possível produção de

anti-corpos anti-MBL (GUPTA et al, 2005; MADSEN et al, 1995). A MBL é codificada pelo gene *MBL2* localizado ao longo do braço do cromossomo 10 q11.2-21. Três polimorfismos de base única (SPNs) foram localizados no éxon 1 nos códons 52 (alelo D), 54 (alelo B) e 57 (alelo C). A ausência de qualquer destas variantes, e consequente estado selvagem nestes três sítios caracteriza o alelo A. As variantes são no códon 52 a substituição de um C para T que leva à substituição de uma arginina por cisteína, no códon 54 um G para A (ácido aspártico para glicina) e no códon 57 substituição de G para A (glicina para ácido glutâmico). Estas substituições causam mudanças estruturais que determinam baixos níveis de MBL no plasma (GARRED et al., 2003; TURNER,1996).

O objetivo deste estudo é analisar o polimorfismo gênico da região do éxon 1 do gene da *MBL2* em pacientes brasileiros com Artrite Reumatóide e comparar com um grupo controle saudável.

Metodologia

Para realizar este estudo serão utilizadas 420 amostras de pessoas acometidas pela AR, já coletados junto ao Serviço de Reumatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) formando um banco de DNA estabelecido com o intuito de estudos imunogenéticos. As amostras dos indivíduos controles já foram coletadas e encontram-se armazenadas no Laboratório de Hemostasia da UFRGS, formando um banco de DNA de indivíduos doadores de sangue saudáveis perfazendo um total de 345 amostras.

A região do gene *MBL2* das amostras está sendo amplificada por PCR (*Polymerase chain reaction*), seguida de uma quantificação através de marcador de peso molecular (*Low Mass DNA Ladder*) em gel de agarose 1%. Após, as sequências das amostras estão sendo determinadas utilizando-se o aparelho MEGABACE 1000 (Amersham Biosciences); e o sequenciamento está sendo analisado através do programa Chromas.

A análise estatística será realizada através de testes de independência entre os pacientes e controles utilizando-se o teste *qui-quadrado* com correção de Yates ou teste exato de Fisher. Será utilizada a correção de Bonferroni quando os valores de P forem significantes. Serão considerados níveis de significância quando $\alpha = 0,05$, e todas as análises estatísticas serão realizadas utilizando o programa SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) e WINPEPI.

Resultados e Discussão

Até o presente momento foram analisadas 35 amostras, destas, aproximadamente 63% apresentaram homozigose para o alelo A, 34% heterozigotos no códon 54; 3% heterozigoto no códon 52. De acordo com o estudo realizado por Ip et al. (2000) 67,8% pacientes chineses

com AR apresentaram homozigose para o alelo A e 30,3% heterozigotos e 1,9% homozigotos apresentaram polimorfismo no códon 54 (aleloB), indicando que existe uma relação entre o polimorfismo e a AR. Entretanto, Geijn et al (2008) não encontrou relação entre AR e os polimorfismos.

Conclusão

No presente estudo ainda não foi possível estabelecer uma relação entre AR e os polimorfismos dos alelos B, C e D no gene MBL2. Julga-se necessária a realização desta pesquisa para determinar se esta relação existe na população brasileira e com que frequência ela ocorre.

Referências

- ALAMANOS, Yannis; DROSOS, Alexandros A.. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. **Autoimmunity Reviews** 4 (2005) 130–136.
- DOMMETT, R. M.; KLEIN, N.; TURNER, M. W.. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. **Journal Compilation** 68 (2006)193–209.
- GARRED, Peter et al. Mannose-binding lectin deficiency—revisited. **Molecular Immunology** 40 (2003) 73–84.
- GEIJN, F. E. van de et al. Mannose-binding lectin polymorphisms are not associated with rheumatoid arthritis-confirmation in two large cohorts. **Rheumatology** 47 (2008) 1168–1171
- GUPTA, Bhawna, et al Anti-MBL autoantibodies in patients with rheumatoid arthritis: prevalence and clinical significance. **Journal of Autoimmunity**. 27 (2006) 125e133.
- GUPTA, Bhawna, et al. Association of mannose-binding lectin gene (MBL2) polymorphisms with rheumatoid arthritis in an Indian cohort of case-control samples. **J Hum Genet** 50: (2005) 583–591.
- IP, W. K. Mannose-binding lectin and rheumatoid arthritis in southern chinese. **Arthritis & Rheumatism**. Vol. 43, No. 8, (2000) 1679–1687
- KILPATRICK, D.C.. Therapeutic Applications of Mannan-Binding Lectin. **Biochemical Society Transactions** Vol. 31 (2003).
- KORB, Adelheid; PAVENSTADT, Hermann; PAP, Thomas. Cell death in rheumatoid arthritis. **Apoptosis** 2009.
- LEE, David M.; WEINBLATT, Michael E.. Rheumatoid arthritis: review. **The Lancet**, Vol 358, (2001).
- LOUZADA, Paulo J.. Descriptive analysis of the demographical and clinical characteristics of the patients with rheumatoid arthritis in the state of São Paulo, Brazil. **Rev Bras Reumatol**, Vol. 47, No 2, (2007) 84-90
- MADSEN, H.O et al. Interplay between promoter-and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. **J. Immunol**. 155, (1995) 3013–3020.
- PAN, Sophie M.; GABAY, Cem; FINCKH, Axel. A systematic review of infl iximab in the treatment of early rheumatoid arthritis. **Therapeutics and Clinical Risk Management**: vol. 3, n 5, (2007) 905–911,.
- TURNER, Malcolm W.. The role of mannose-binding lectin in health and disease. **Molecular Immunology** 40 (2003) 423–429.
- TURNER, Malcolm W.. Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. **Immunology Today** vol. 17 n 11(1996).