



LETICIA SANTOS CELIO
THAYNA NUNES DOS SANTOS
VITORIA PIMENTA RAMOS

PADRÃO DE HERANÇA GENÉTICA NA ARTRITE IDIOPÁTICA JUVENIL

Resumo Pesquisa de Atividades do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica para o Ensino Médio – PIBIC-EM / CNPq-UNICAMP, sob a orientação do/a Prof/a. Simone Appenzeller.

Introdução e enunciado do problema

O sistema imunológico é o conjunto das barreiras físico-químicas e celulares do organismo com função de defesa, no intuito de proteger contra agentes que podem causar doenças por meio de uma ação coordenada entre células e moléculas (resposta imune). O sistema imune adaptativo evoluiu para permitir o reconhecimento e a captura de quaisquer substâncias estranhas ao organismo e, assim, promover sua remoção. Não é esperada a produção de linfócitos reativos contra os próprios componentes do organismo, pois existe um mecanismo inibidor que gera tolerância imunológica. A autoimunidade surge provavelmente do desgaste ou falha desse mecanismo supressor (1).

A artrite idiopática juvenil (AIJ) é uma doença crônica, iniciada antes dos 16 anos de idade, sendo caracterizada por inflamação persistente das articulações (2,3). O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença crônica, autoimune caracterizada pela produção de autoanticorpos que diversificam a gama de manifestações clínicas e severidade da doença (5). O LES e AIJ são doenças que apresentam hereditariedade e recorrência familiar em algum de seus, com uma apresentação clínica diversificada que pode ser explicada pela ampla ação genética, portanto o estudo tem como objetivo avaliar variações genômicas em pacientes com LES e AIJ (5,7).

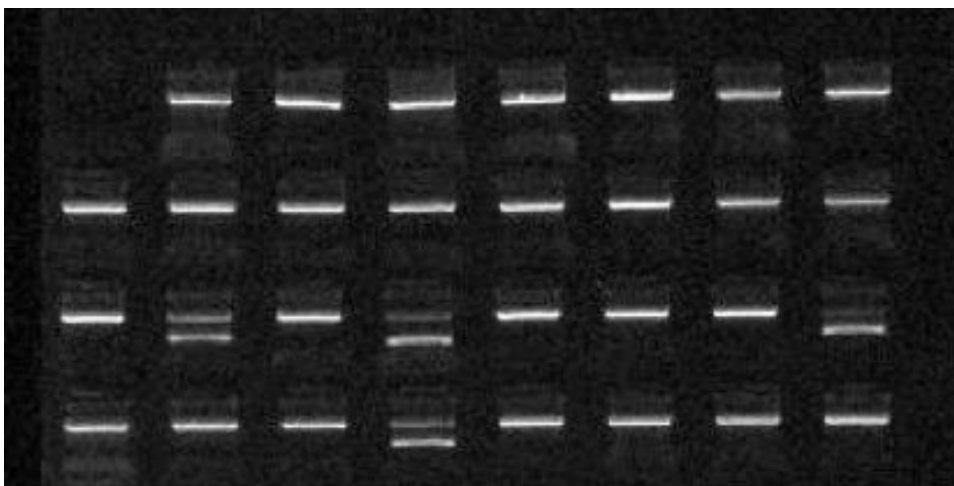
No estudo da genética da AIJ, os alelos HLA classe II representaram um fator de risco importante na predisposição ao desenvolvimento da doença. Dentre os fatores genéticos, destacam-se os alelos do sistema antígeno leucocitário humano (HLA), ou seja, um conjunto de aloantígenos, cuja importância foi inicialmente reconhecida no campo dos transplantes dos tecidos e órgãos (6,7). Os genes do sistema HLA se subdividem em classe I e classe II. As moléculas classe I estão presentes em praticamente todas as células nucleadas do organismo. As moléculas classe II são encontradas principalmente nas células que participam do sistema imune como os linfócitos B, linfócitos T ativados, monócitos e macrófagos (8,9).

Parte experimental

Extração de DNA: as amostras de sangue foram homogeneizadas e submetidas a reagentes de lise celular, proteinase K e tampão etanol para lavagem. As amostras de

DNA foram armazenadas em um tubo cônico em temperaturas de -80°C para posterior análise de estudos genéticos. Foram utilizados kits padronizados pelos fabricantes Biopour®, Qiagen® e Ge Healthcare®. As amostras de sangue foram descartadas.

Tipagem de HLA: A genotipagem do HLA Classe I e Classe II foi realizada através da técnica de amplificação pela reação em cadeia da polimerase, utilizando sequências específicas de primers, a PCR. Foi seguido protocolo do fabricante *ONE LAMBDA*.



Tipagem de alelos HLA-Classe II pelo método One Lambda® - PCR.

Discussão: aqui, previamente; extraímos o DNA de um paciente com artrite juvenil. Logo, seguimos o protocolo do PCR-One Lambda® e para visualização dos alelos de HLA, procedemos com a eletroforese à 2% em 5 minutos. Para leitura e compreensão, sabemos que cada “traço”, o qual chamamos de banda ou amplificação, corresponde ao controle de beta-globina e para aqueles que estão duplicata, “dois traços”, é o alelo HLA. Identificado este gene, adicionamos ele em software do fabricante para a numeração.

Preparo de Regantes: foi preparado o tampão TEB, na função de preparo da eletroforese (corrida e gel de agarose).

Demais técnicas: processo de esterilização por autoclavagem de material plástico como ponteiros, tubos cônicos e secagem de vidrarias. Manipulação de microvolumes por pipetagem e organização laboratorial.

Resultados e discussão

Durante o período de atividades nos laboratórios de Doenças Autoimunes e Reumatologia, nós recebemos amostras de pacientes voluntários através do Ambulatório de Reumatologia Adulta e Pediátrica do Hospital de Clínicas. Após conferir os tubos de sangue coletados com as informações emitidas pelos voluntários e alunos de graduação e pós-graduação, os mesmos são cadastrados em planilhas escritas e no sistema informatizado; sendo processados para a técnica de biologia molecular, como extração de DNA e identificação de genes do Sistema Histocompatibilidade, o HLA.

O intuito destas análises genéticas na Reumatologia é entender a etiopatogenia (causa) da doença e as frequências destes fatores genéticos neste campo, porque ainda não está bem esclarecido. Adicionalmente, o HLA é um fator que tem contribuído no diagnóstico para Artrite Reumatoide e a Espondiloastropatia (9).

Também pudemos vivenciar a aplicação de questionários em pacientes voluntários de pesquisa do Ambulatório de Reumatologia Pediátrica, como por exemplo: Pontuação de Gravidade da Intolerância ao Metotrexato (MISS). E outros demais questionários como: *Montreal Cognitive Assessment (MOCA)*; *Qualidade de Vida – SF-36*; *Fobia Social – Liebowtiz*; *Escala de Fadiga (FSS)*; *Inventario de Ansiedade de Beck (BAI)* e *Inventario de Depressão de Beck (BDI)*; estes foram usados em pacientes com lúpus.

Bibliografia

1. Giancane G, Consolaro A, Lanni S, Davi S, Schiappapietra B, Ravelli A. Juvenile Idiopathic Arthritis: Diagnosis and Treatment. *Rheumatology and Therapy*. 2016; 3:187-207.
2. Barut K, Adrovic A, Şahin S, Kasapocur O. Juvenile Idiopathic Arthritis. *Balkan Medical Journal*. 2017; 34: 90-10.
3. Girello, Ana Lúcia. Fundamentos da imuno-hematologia eritrocitária. Editora Senac. São Paulo, 2002: pág 20-81.

4. O'Neill S, Cervera R. Systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2010; 6:841-55
3. Siegel M, Lee SL. The epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum*. 1973; 3:1-54.
5. Johnson AE, Gordon C, Palmer RG, Bacon PA. The prevalence and incidence of systemic lupus erythematosus in Birmingham, England. Relationship to ethnicity and country of birth. *Arthritis Rheum*. 1995; 38:551–8.
6. Giancane G, Consolaro A, Lanni S, Davi S, Schiappapietra B, Ravelli A. Juvenile Idiopathic Arthritis: Diagnosis and Treatment. *Rheumatology and Therapy*. 2016; 3:187-207.
7. Dubois EL, Tuffanelli DL. Clinical manifestations of systemic lupus erythematosus. Computer analysis of 520 cases. *JAMA*. 1964; 190:104-11.
8. Jawaheer D, Li W, Graham RR, Chen W, Damle A, Xiao X. Dissecting the genetic complexity of the association between leukocyte antigens and rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet*. 71(3): 585-94, 2002.
9. Raychaudhuri S. Recent advances in the genetics of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 22(2): 109-18, 2010.