



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).

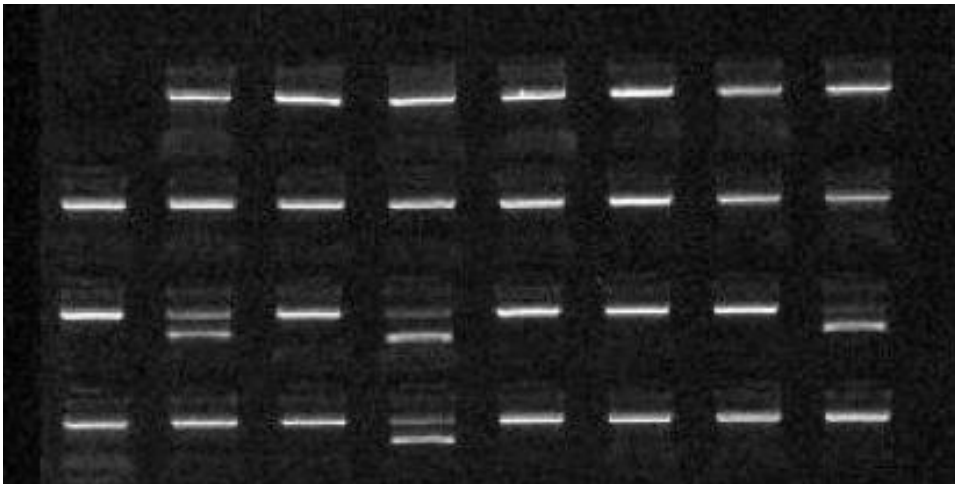
No estudo da genética da AIJ, os alelos HLA classe II representaram um fator de risco importante na predisposição ao desenvolvimento da doença. Dentre os fatores genéticos, destacam-se os alelos do sistema antígeno leucocitário humano (HLA), ou seja, um conjunto de aloantígenos, cuja importância foi 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.