



CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DE PACIENTES COM DOENÇA DE CROHN EM USO DE ADALIMUMABE

Palavras-Chave: Doença de Crohn, DII, Anti-TNF α

Autores(as):

Millene Leal Nascimento¹, FCM - Unicamp;

Lívia Moreira Genaro¹, FCM - Unicamp;

Juliana Carron², FCM - Unicamp;

Gustavo Jacob Lourenço², FCM - Unicamp;

Carmen Silvia Passos Lima², FCM - Unicamp;

Raquel Franco Leal¹, FCM - Unicamp.

1. Laboratório de Investigação em Doenças Inflamatórias Intestinais, Departamento de Cirurgia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) Campinas (SP) Brasil.

2. Laboratório de Genética do Câncer, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP) Brasil.

INTRODUÇÃO:

A doença de Crohn (DC) é classificada como uma Doença Inflamatória Intestinal (DII), junto à retocolite ulcerativa e se caracteriza pelo estabelecimento de um quadro inflamatório crônica passível de afetar as células gastrointestinais e sistêmicas. Essa doença é influenciada por múltiplos fatores, e sua causa ainda não é completamente estabelecida; no entanto, foi observada uma relação significativa entre o seu desenvolvimento e a elevação de células produtoras de TNF-alfa, uma citocina pró-inflamatória, na lâmina própria de pacientes com DC, que favorece a progressão da cascata inflamatória característica dessa enfermidade.

Em vista dessa relação, atualmente são utilizadas medicações biológicas, como o adalimumabe, um anticorpo monoclonal anti-TNF no tratamento da DC. Esse fármaco tem se mostrado promissor desde o início da sua utilização; entretanto, nos últimos anos, foram constatados sinais de perda na sua eficácia expressos por uma redução do número de pacientes em remissão clínica, e daquelas que permanecem nesse estágio após 1 ano; frente ao uso desse medicamento. Diante disso, a partir de estudos realizados foi verificado como uma das causas desse insucesso no tratamento, a imunogenicidade medicamentosa, influenciada por fatores genéticos, como a variação do locus *CD96* e a presença do gene *ATG16L1*. Além disso, foi constatado um aumento na preferência pela terapia com o adalimumabe, em detrimento de outros tratamentos, em pacientes que apresentavam polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) no gene *ATG16L1*.

Portanto, é de interesse estabelecer a relação entre a apresentação clínica da DC, a escolha do tratamento, e o genótipo de cada paciente.

OBJETIVOS:

Analisar o genótipo dos pacientes com DC em tratamento com o adalimumabe, e avaliar a relação entre as suas características genotípicas e a resposta a essa medicação biológica.

METODOLOGIA:

O estudo incluiu 58 pacientes, nos quais foram feitas a coleta de dados e da amostra sanguínea antes da aplicação do adalimumabe subcutâneo. Antes de serem incluídos no estudo, foi aplicado aos indivíduos selecionados o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), com duas vias, sendo uma de posse do paciente. Aqueles que aceitaram a participação no estudo, tiveram colhidas suas assinaturas com local e data.

As amostras de sangue coletadas foram coletadas em tubos contendo anticoagulante ácido etilenodiamina tetracético (EDTA) para a obtenção do DNA genômico.

Os genótipos do polimorfismo para ATG16L1(rs10210302), CD96 (rs9828223) foram avaliados por meio da PCR em tempo real com o uso do ensaio para genotipagem TaqMan®. Os resultados da genotipagem foram visualizados por meio do programa TaqMan® Genotyper (Applied Biosystems®, Estados Unidos), que é um software que faz a representação gráfica da distribuição dos três distintos genótipos de um determinado polimorfismo (homogizotos e heterozigoto, e negativo).

Em relação às variáveis contínuas, foi utilizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk para avaliar a distribuição da normalidade. Os dados normais (Crohn's Disease Activity Index - CDAI, hematócrito, PCR, VHS, albumina, calprotectina, Crohn's Disease Index of Severity - CDEIS e nível sérico de adalimumabe) foram avaliados através de teste t, e os não normais (plaquetas) pelo teste de Mann-Whitney.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A partir da inclusão dos 58 pacientes que apresentavam diagnóstico clínico e endoscópico de doença de Crohn (DC) em tratamento regular com o adalimumabe e acompanhados com regularidade no Ambulatório do Gastrocentro e do Hospital das Clínicas - UNICAMP; foram formados dois grupos, um composto por 37 pacientes que apresentavam a DC em atividade (DCA) e 21 pacientes que apresentavam a DC em remissão (DCR); sem diferenças significativas quando a idade dos participantes; e com mediana de tempo de evolução da doença ativa e em remissão igual a 11 e 13, respectivamente. Nesse conjunto analisado, 24 pessoas do grupo DCA foram submetidas ao longo do seu acompanhamento, a pelo menos uma intervenção cirúrgica; enquanto no grupo DCR esse número foi igual a 10 indivíduos. No grupo DCA e no grupo DCR, respectivamente, 19 e 10, pacientes fizeram o uso concomitante de imunossupressor (IMM) e de adalimumabe.

Além disso, a mediana de duração da terapia com adalimumabe foi de 48 meses no grupo DCA e de 60 meses no grupo DCR. Sendo que 5 pacientes do grupo DCA apresentaram reação adversa a esse tratamento, e 1 no grupo DCR; com destaque para lesões dermatológicas, como rash cutâneo; e reação sistêmica que foram as principais manifestações colaterais decorrentes do uso do adalimumabe descritas pelos pacientes no grupo DCA e DCR, respectivamente. Dos pacientes

incluídos no grupo DCA, 14 apresentaram doença perianal, e o mesmo foi visto em 7 pacientes do grupo DCR. Quanto às manifestações extraintestinais, elas estavam presentes em 19 pacientes do grupo DCA e em 13 do grupo DCR; e as principais foram as oftalmológicas, as dermatológicas e a artralgia. A artralgia, as manifestações oftalmológicas e as manifestações dermatológicas apareceram, respectivamente, em 18, 4, e 1 pacientes, no grupo DCA; e 11, 1, e 1 pacientes no grupo DCR. Em relação ao índice de atividade clínica da DC (IADC), foi encontrada uma diferença significativa entre os dois conjuntos analisados, já previamente esperada; essa variável foi igual a 190,2 no grupo DCA, e 119,2 no grupo DCR. Os parâmetros laboratoriais de hematócrito (%) foi igual a 40,2 no DCA e 42,6 no DCR; e de plaquetas ($10^3/\text{mm}^3$) foi igual a 291 no grupo DCA, e 266 no grupo DCR. Os percentuais de velocidade de hemossedimentação (mm/h) foram 47,5 e 29,5, nos grupos DCA e DCR, respectivamente. Os níveis de albumina (g/dL) foram 3,9 no grupo DCA; 4,15 no grupo DCR. De maneira semelhante, não encontramos diferenças significativas quanto aos níveis de plaquetas e albumina. Houveram diferenças significativas quanto aos níveis de proteína C-reativa e calprotectina fecal, sendo ambos maiores no grupo DCA, comparado ao grupo DCR; visto que esses são biomarcadores de inflamação tanto no sangue periférico, quando nas fezes de indivíduos com a doença ativa.

No que concerne à análise do DNA genômico dos pacientes incluídos no estudo, foi constatado que os valores de Proteína C-Reativa (PCR) (mg/L) foi maior nos pacientes com genótipo selvagem CC para o gene *CD96*, em comparação àqueles portadores dos genótipos variantes sozinho (TT) ou na forma heterozigótica (CT). Ademais, ao observar o gene *ATG16L1*; verificou-se um aumento dos níveis de calprotectina fecal ($\mu\text{g/g}$), e nos valores de *Crohn's Disease Index of Severity* (CDEIS) nos pacientes portadores do genótipo CC para esse gene, em relação aos portadores dos demais genótipos. Para a calprotectina fecal, a diferença nos níveis foi de duas vezes maior para o grupo portador do genótipo CC para *ATG16L1*.

CONCLUSÕES:

Com base nos resultados obtidos no estudo, é possível verificar uma associação entre os genótipos CC para os genes *CD96* e *ATG16L1* e as alterações verificadas nos parâmetros de exames laboratoriais e endoscópicos; demonstrando o possível papel do genótipo selvagem na perda de eficácia do tratamento com o medicamento biológico adalimumabe, em pacientes com DC.

BIBLIOGRAFIA

ADEGBOLA, S. O. et al. Anti-TNF Therapy in Crohn's Disease. **Int J Mol Sci**, v. 19, n. 8, Jul 31 2018. ISSN 1422-0067. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30065229> >.

ATERIDO, A. et al. Genetic association between CD96 locus and immunogenicity to anti-TNF therapy in Crohn's disease. **Pharmacogenomics J**, v. 19, n. 6, p. 547-555, 12 2019. ISSN 1473-1150. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31043678> >.

CÔTÉ-DAIGNEAULT, J. et al. Biologics in inflammatory bowel disease: what are the data? **United European Gastroenterol J**, v. 3, n. 5, p. 419-28, Oct 2015. ISSN 2050-6406. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26535119> >.

ELLINGHAUS, D. et al. The genetics of Crohn's disease and ulcerative colitis--status quo and beyond. **Scand J Gastroenterol**, v. 50, n. 1, p. 13-23, Jan 2015. ISSN 1502-7708. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25523552> >.

GARCÊS, S.; DEMENGEOT, J.; BENITO-GARCIA, E. The immunogenicity of anti-TNF therapy in immune-mediated inflammatory diseases: a systematic review of the literature with a meta-analysis. **Ann Rheum Dis**, v. 72, n. 12, p. 1947-55, Dec 2013. ISSN 1468-2060. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23223420> >.

HOLLERAN, G. et al. The Innate and Adaptive Immune System as Targets for Biologic Therapies in Inflammatory Bowel Disease. **Int J Mol Sci**, v. 18, n. 10, Sep 21 2017. ISSN 1422-0067. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28934123> >.

NGUYEN, D. L. et al. Optimizing the use of anti-tumor necrosis factor in the management of patients with Crohn's disease. **Ther Adv Chronic Dis**, v. 6, n. 3, p. 147-54, May 2015. ISSN 2040-6223. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25954499> >.

NUIJ, V. J. A. A. et al. Genetic polymorphism in ATG16L1 gene is associated with adalimumab use in inflammatory bowel disease. **J Transl Med**, v. 15, n. 1, p. 248, 12 11 2017. ISSN 1479-5876. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29228965> >.

RUTGEERTS, P.; VAN ASSCHE, G.; VERMEIRE, S. Optimizing anti-TNF treatment in inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, v. 126, n. 6, p. 1593-610, May 2004. ISSN 0016-5085. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15168370> >.

SAZONOV, A. et al. HLA-DQA1*05 Carriage Associated With Development of Anti-Drug Antibodies to Infliximab and Adalimumab in Patients With Crohn's Disease. **Gastroenterology**, v. 158, n. 1, p. 189-199, 01 2020. ISSN 1528-0012. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31600487> >.