



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

MARIANA PAULA SANCHEZ ZANOTTI

**ENVOLVIMENTO DE VARIANTES DOS GENES *IL17A* E
IL17RA NA RETOCOLITE ULCERATIVA**

Londrina

2022

MARIANA PAULA SANCHEZ ZANOTTI

**ENVOLVIMENTO DE VARIANTES DOS GENES *IL17A* E
IL17RA NA RETOCOLITE ULCERATIVA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Andréa Name Colado Simão

Londrina
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Z32e Zanotti, Mariana Paula Sanchez.
 Envolvimento de Variantes dos genes IL17A e IL17RA na Retocolite Ulcerativa / Mariana Paula Sanchez Zanotti. - Londrina, 2022.
 95 f. : il.

 Orientador: Andréa Name Colado Simão.
 Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, 2022.
 Inclui bibliografia.

 1. Retocolite Ulcerativa - Tese. 2. Interleucina 17 - Tese. 3. IL17A - Tese. 4. IL17RA - Tese. I. Simão, Andréa Name Colado. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial. III. Título.

CDU 616-092

MARIANA PAULA SANCHEZ ZANOTTI

ENVOLVIMENTO DE VARIANTES DOS GENES *IL17A* E *IL17RA* NA RETOCOLITE ULCERATIVA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA (TITULARES)

Orientadora: Profa. Dra. Andréa Name
Colado Simão
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dra. Edna Maria Vissoci Reiche
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dra. Karen Brajão de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 15 de junho de 2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela minha vida e por ter alcançado feitos que jamais pude imaginar.

A meus pais, Lauro e Elisabete, e minhas irmãs, Amanda e Rafaela, por todo o apoio em todos os passos da minha vida pessoal e acadêmica.

A meu noivo Walton, por ser meu companheiro de vida e carreira médica.

A minha orientadora Profa. Dra. Andréa Name Colado Simão, pela dedicação e pelo grande conhecimento dividido.

Aos meus professores de toda graduação e pós-graduação e minhas colegas gastroenterologistas Profa. Ms. Cláudia Junko Inoue e Ms. Beatriz Piantoni Gonçalves, por me encorajarem e dividirem comigo momentos de estudo e discussão.

Aos professores do programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, pela excelência dos conteúdos ministrados.

Aos colegas do Laboratório de Pesquisa em Imunologia Aplicada do programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, pela dedicação na realização deste estudo.

Aos pacientes que contribuíram para este trabalho e que confiam em mim nos seus momentos de enfermidade.

ZANOTTI, Mariana Paula Sanchez. **Envolvimento de Variantes dos genes *IL17A* e *IL17RA* na Retocolite Ulcerativa**. 2022. 94 F. Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, Centro de Ciências da Saúde – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

RESUMO

Introdução:

A Retocolite Ulcerativa (RCU) é uma desordem inflamatória intestinal crônica que acomete exclusivamente o intestino grosso, de forma proximal e contínua. Os processos patológicos envolvidos na RCU são guiados por uma excessiva resposta imune contra antígenos da microbiota luminal em indivíduos geneticamente predispostos e como resultado da ação de diferentes fatores ambientais. As citocinas relacionadas a resposta Th17 estão aumentadas na mucosa intestinal dos pacientes com RCU, sugerindo que as células Th17 exerçam um papel importante na atividade da doença e no dano à mucosa. Estudos genéticos têm mostrado associação entre variantes do gene *IL17* e suscetibilidade à RCU. **Objetivo:** avaliar o envolvimento das variantes genéticas do *IL17A* e do *IL17RA* nos níveis plasmáticos da IL-17A, na suscetibilidade e atividade endoscópica da RCU. **Sujeitos e Métodos:** Este é um estudo caso-controle que incluiu 104 pacientes com RCU, de ambos os sexos e com idade entre 18 e 70 anos. A atividade da inflamação intestinal determinada pelo escore de Mayo foi classificada em remissão (0), atividade leve (1), moderada (2) e grave (3). Baseado nos valores de Mayo, os pacientes foram divididos em dois grupos de atividade endoscópica: Mayo ≤ 1 (remissão / doença leve) e Mayo > 1 (doença moderada a grave). As variantes do *IL17A* -444 A>G (rs3819024) e G>A (rs3819025) e do *IL17RA* (T>C rs2241043, A>G rs2241049 e G>A rs6518661) foram genotipadas por ensaio de discriminação alélica *TaqMan* pelo sistema de reação em cadeia de polimerase em tempo real (qPCR). Os níveis plasmáticos de IL-17 foram determinados por imunofluorimetria. **Resultados:** Os principais achados foram que as variantes genéticas *IL17A* e do *IL17RA* avaliadas no estudo não foram associadas a suscetibilidade a RCU. Entretanto, pacientes com o genótipo AG rs3819024 apresentaram maiores níveis séricos de IL-17A que os demais genótipos, e essa associação não foi demonstrada no grupo

controle. Em relação a atividade da doença, as variantes do *IL17A* (rs3819024 e rs3819025) e do *IL17RA* (rs2241043 e rs6518991) não foram associadas com a com a gravidade da RCU nos vários modelos genéticos avaliados. No entanto, a presença do alelo G da variante rs2241049 no modelo dominante foi associada a 2,944 vezes mais chance de desenvolvimento de doença moderada a grave.

Conclusão: Os achados do presente estudo sugerem que o genótipo AG do *IL17A* rs3819024 está associada a maiores níveis de IL-17A apenas na presença da doença, sugerindo associação dessa interleucina com a presença de RCU. Os genótipos AG + GG do *IL17RA* rs2241049 foram associados com maior atividade endoscópica na RCU.

Palavras-chave: Retocolite Ulcerativa; Interleucina 17; *IL17A*; *IL17RA*; MAYO.

ZANOTTI, Mariana Paula Sanchez. ***IL17A* and *IL17RA* Genetic Variants And Its Association With Disease Activity In Ulcerative Colitis.** 2022. 94 P. Master in Clinical and Laboratory Physiopathology – State University of Londrina, Londrina, Paraná, Brazil, 2022.

ABSTRACT

Background: Ulcerative colitis (UC) is a chronic intestinal inflammatory disorder that exclusively affects the large intestine, proximally and continuously. The pathological processes evolved in UC are guided by an excessive immune response against antigens from the luminal microbiota in genetically predisposed individuals and by result of the action of different environment factors. The cytokines from Th17 response, linked to autoinflammation and at the center of several autoimmune diseases, are increased in the intestinal mucosa of UC patients, suggesting that Th17 cells play an important role in disease activity and mucosal damage. Genetic studies have showed association between polymorphisms in *IL17* genes and susceptibility to UC. **Objective:** to evaluate the involvement of *IL17A* and *IL17RA* genetic variants in plasma levels, susceptibility and disease activity in UC. **Subjects and Methods:** This is a case-control study that included 104 patients with UC of both sexes and aged between 18 and 70 years old. The intestinal inflammatory severity determined by Mayo was classified in remission (0), mild (1), moderate (2), and severe activity (3). Based on their Mayo values, patients were divided into two groups of endoscopic activity: remission/mild (Mayo ≤ 1) and moderate/severe (Mayo > 1) for statistical analysis. The *IL17A* -444 A>G (rs3819024) and G>A (rs3819025) and *IL17RA* (T>C rs2241043, A>G rs2241049 and G>A rs6518661) variants were genotyped by TaqMan allelic discrimination assay on real-time polymerase chain reaction (qPCR) system. The IL-17 plasma levels were determined by immunofluorimetry. **Results:** The main findings are that the genetic variants of *IL17A* and *IL17RA* evaluated in the study were not associated to UC susceptibility. Otherwise, patients that showed the genotype rs3819024 had higher IL-17 plasma levels than the other genotypes, and we did not find this association in the control group. Regarding to disease activity, the *IL17A* (rs3819024 and rs3819025) and *IL17RA* (rs2241043, rs2241049 and rs6518661) variants were not associated with

disease activity in UC in the various allelic models evaluated. Nonetheless, the presence of G allele of the variant rs2241049 in the dominant model was associated to 2.944 times more chance of developing moderate to severe disease. **Conclusion:** The findings of the present study suggest that the variant *IL17A* rs3819024 is associated to higher IL-17 plasma levels only in the presence of the disease, suggesting association of this cytokine with the UC presence. The genotypes AG and GG from *IL17RA* rs2241049 were associated with higher endoscopic disease activity in UC.

Keywords: Ulcerative Colitis; interleukin 17; *IL17A*; *IL17RA*; MAYO.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Remodelamento dinâmico da rede de citocinas durante a progressão das doenças inflamatórias intestinais.....	27
Figura 2 – Diferenciação das células Th1, Th2, Th17 e T regulatórias.....	30
Figura 3 – Receptores da IL-17	32
Figura 4 - Gene <i>IL17A</i>	36
Figura 5 – Gene <i>IL17RA</i>	36
Figura 6 – Visão geral do eixo IL-23/IL-17 na Retocolite Ulcerativa e das drogas ativas nessa via	40

LISTA DE QUADROS

Tabela 1 - Escore clínico de Mayo - Índice de gravidade da Retocolite Ulcerativa.....	22
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-ASA	<i>5-Aminosalicylic acid</i> (Ácido 5 aminossalicílico)
ACT	<i>Active Ulcerative Colitis Trials</i> (Ensaio sobre Retocolite Ulcerativa ativa)
ADA	Adalimumabe
AKT	<i>Protein kinase B</i> (Proteína quinase B)
ANCA	<i>Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies</i> (Anticorpo anti-citoplasma de neutrófilo)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APCs	<i>Antigen presenting cells</i> (Células apresentadoras de antígenos)
ASCA	<i>Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies</i> (Anticorpo anti- <i>Saccharomyces cerevisiae</i>)
C	Citosina
CARD	<i>Caspase activation and recruitment domain</i> (Domínio de ativação e recrutamento de caspase)
CCR	Câncer colorretal
CD	Célula dendrítica
CDAI	<i>Crohn's Disease Activity Index</i> (Índice de Atividade da Doença de Crohn)
CDEIS	<i>Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity</i> (Índice de gravidade endoscópica da Doença de Crohn)
CEP	Colangite Esclerosante Primária
CXCL	<i>Chemokine (C-X-C motif) ligand 1</i> (Ligante de quimiocina CXC 1)
DAMPs	<i>Damage associated molecular patterns</i> (Padrões moleculares associados ao dano)
DC	Doença de Crohn
DII	Doenças Inflamatórias Intestinais
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> (Ácido Desoxirribonucléico)
EA	Espondilite Anquilosante
GM-CSF	<i>Granulocyte and monocyte colony stimulating factor</i> (fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos)
GWAS	<i>Genome-wide association studies</i> (Estudos de associação genômica ampla)

HBI	<i>Harvey-Bradshaw Index (Índice de Harvey-Bradshaw)</i>
HLA	<i>Human Leukocyte Antigen (Antígeno leucocitário humano)</i>
IADC	Índice de Atividade da Doença de Crohn
IC	Intervalo de confiança
ICAM-1	<i>Intercellular Adhesion Molecule 1 (Molécula de adesão celular 1)</i>
IECs	<i>Intestinal Epithelial Cells (Células intraepiteliais intestinais)</i>
IFN	Interferon
IFN- γ	Interferon gama
IFX	Infliximabe
IL	Interleucina
ILC	<i>Innate lymphoid cells (Células Linfoides Inatas)</i>
Ig	Imunoglobulina
IL-23R	Receptor de interleucina 23
iNKT	<i>Invariant T natural killer (Célula T NK invariante)</i>
JAK1	<i>Janus kinase 1 (Janus quinase 1)</i>
JAK2	<i>Janus kinase 2 (Janus quinase 2)</i>
MALT	<i>Mucosal associated lymphoid tissue (Tecido linfoide associado as mucosas)</i>
MAPK	<i>Mitogen Activated Protein kinase (Proteína quinase ativada por mitógenos)</i>
MEI	Manifestações Extraintestinais
MHC-II	<i>Major Histocompatibility Complex II (Complexo Principal de Histocompatibilidade II)</i>
NLR	<i>NOD-like receptor (Receptor do tipo NOD)</i>
NK	<i>Natural killers (Células matadoras)</i>
NOD2	<i>Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2</i>
OR	<i>Odds ratio (Razão de chances)</i>
PAMPs	<i>Pathogen associated molecular patterns (Padrões moleculares associados a patógenos)</i>
pANCA	<i>Antineutrophil cytoplasmic antibody, perinuclear pattern (Anticorpo anti-citoplasma de neutrófilo perinuclear)</i>
PCR	Proteína C Reativa
PI3K	<i>Phosphoinositide 3-kinase (Fosfoinositídeo 3-quinase)</i>
PMN	Polimorfonucleares

RCU	Retocolite Ulcerativa
RIA	Resposta imune adaptativa
RII	Resposta imune inata
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> (Ácido Ribonucleico)
ROR α	<i>Retinoic acid-related orphan receptor</i> (Receptor órfão de ácido retinoico)
RRP	Receptor de Reconhecimento Padrão
SES-CD	<i>Simple Endoscopic Score for Crohn's disease</i> (Escore endoscópico simplificado para Doença de Crohn)
SNV	<i>Single Nucleotide Variation</i> (Variante de nucleotídeo único)
SONIC	<i>Study of Biologic and Immunomodulator Naive Patients in Crohn's Disease</i> (Estudo de biológicos e imunomoduladores em pacientes com doença de Crohn virgens de tratamento)
STAT	<i>Signal Transducers and Activators of Transcription</i> (Transdutores de sinal e ativadores de transcrição)
TLR	<i>Toll-like receptor</i> (Receptor do tipo <i>Toll</i>)
TGF- β	<i>Transforming growth factor beta</i> (Fator transformador de crescimento beta)
Th	<i>T helper</i>
TMF	Transplante de Microbiota Fecal
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor alpha</i> (Fator de necrose tumoral alfa)
Treg	Célula T regulatória

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	EPIDEMIOLOGIA E QUADRO CLÍNICO DAS DII.....	15
1.2	ETIOLOGIA.....	17
1.2.1	GENÉTICA E DII.....	17
1.2.2	MICROBIOTA.....	18
1.3	DIAGNÓSTICO E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DAS DII.....	19
1.4	FISIOPATOLOGIA DA DC E DA RCU.....	23
1.4.1	RESPOSTA IMUNE INATA E ADAPTATIVA E A HOMEOSTASE INTESTINAL.....	23
1.4.2	VARIANTES GENÉTICAS DO <i>IL17A</i> E <i>IL17RA</i>	35
1.5	TRATAMENTO.....	37
2	JUSTIFICATIVA.....	43
3	OBJETIVO.....	44
3.1	OBJETIVO GERAL.....	44
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	44
4	SUJEITOS E MÉTODOS.....	45
4.1	ASPECTOS ÉTICOS.....	45
4.2	DELINEAMENTO DO ESTUDO E AMOSTRAGEM.....	45
4.3	EXAMES DE IMAGEM.....	46
4.4	EXAMES LABORATORIAIS.....	46
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	50
5	RESULTADOS.....	49
5.1	ARTIGO.....	50
6	CONCLUSÕES.....	74
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75
8	REFERÊNCIAS.....	76
	APÊNDICES	
	APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	88

APÊNDICE B – FICHA DE AVALIAÇÃO EM DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL.....	90
---	----

ANEXOS

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS.....	91
---	----

1. INTRODUÇÃO

As Doenças Inflamatórias Intestinais (DIIs) são desordens inflamatórias crônicas imunomediadas tipicamente categorizadas em dois subtipos: Doença de Crohn (DC) e Retocolite Ulcerativa (RCU) (GRAHAM; XAVIER, 2020).

A RCU é uma inflamação superficial da mucosa do intestino grosso, enquanto a DC pode acometer qualquer porção do tubo digestivo, geralmente de forma profunda, descontínua e transmural (CHANG, 2020).

A RCU quase invariavelmente acomete o reto, e a extensão proximal pela mucosa do intestino grosso é de forma circunferencial e contínua e de extensão variável, dando à doença diferentes classificações quanto ao grau de envolvimento em proctite ulcerativa (quando acomete o reto), colite esquerda (que se estende além do reto até a flexura esplênica) e pancolite (com extensão proximalmente à flexura esplênica) (SATSANGI *et al.*, 2006).

A DC acomete especialmente a topografia ileocecal e é caracterizada por cursos de atividade e remissão, podendo se complicar em grande parte dos casos com estenoses, fístulas e abscessos, mesmo nos períodos de aparente remissão clínica em que a inflamação subclínica pode persistir (NGUYEN; SINGH; SANDBORN, 2020).

Ainda não há uma completa compreensão dos mecanismos fisiopatológicos específicos que resultam nas divergentes manifestações clínicas dessas duas doenças (CHANG, 2020). Porém, é amplamente aceito que, em ambas as doenças, o processo patológico é guiado por uma excessiva resposta imune contra antígenos da microbiota luminal em indivíduos geneticamente predispostos e como resultado da ação de vários fatores ambientais (XAVIER; PODOLSKY, 2007). Ambas as doenças são crônicas e sem cura e causam significativa redução da qualidade de vida dos pacientes acometidos, resultando em grandes prejuízos do ponto de vista social e elevados custos ao sistema de saúde.

1.1 EPIDEMIOLOGIA E QUADRO CLÍNICO DAS DII

1 A primeira descrição do que pode hoje significar DC ocorreu em 1913,
2 quando o médico britânico Kennedy Dalziel descreveu pacientes com inflamação
3 transmural dos intestinos delgado e grosso. Em 1932, Dr Burrill Crohn, Dr Leon
4 Ginzburg e Dr Gordon Oppenheimer publicaram artigos descrevendo uma ileíte
5 regional ou terminal, condição essa que posteriormente ficaria conhecida como
6 DC (KIRSNER, 1988). Já a RCU foi descrita inicialmente por Hipócrates na
7 Grécia antiga, sendo nomeada em 1660 por Thomas Sydenham a condição
8 como “fluxo sanguinolento” e em 1859 Samuel Winks - (ambos britânicos) -
9 identificou a RCU como entidade clínica (KIRSNER, 1988).

10 A DII é mais comum em populações ocidentais, especialmente na
11 América do Norte e Europa; porém, na última década a incidência nas
12 populações asiática e hispânica vem aumentando. Embora possam ocorrer em
13 qualquer idade, o pico de incidência da DC geralmente ocorre dos 15 aos 25
14 anos e o da RCU dos 25 aos 35 anos, sem predileção por sexo (FLYNN, 2019).

15 A incidência das DII na população latino-americana, durante as últimas
16 décadas, vem aumentando, e sua prevalência vem se tornando equivalente a de
17 vários países asiáticos e se aproximando de países do sul e leste europeu.
18 Historicamente, a RCU era mais diagnosticada do que a DC no ocidente, mas
19 durante o último século numerosos estudos confirmaram a transição na relação
20 RCU:DC, e a incidência da DC aproxima-se ou até mesmo ultrapassa a da RCU
21 em alguns países. Conforme o número de pacientes com DII aumenta, o cuidado
22 a esses indivíduos e a expansão dos registros e estudos sobre DII são
23 necessários nesses países (KOTZE *et al.*, 2020).

24 A RCU é de acometimento exclusivamente colônico e a gravidade dos
25 sintomas se correlaciona com a extensão da inflamação (SAIRENJI; COLLINS;
26 EVANS, 2017). O quadro clínico consiste em episódios diarreicos de moderada
27 a grande intensidade, na maioria das vezes envolvendo perda de muco e sangue
28 e precedidos de dor abdominal tipo cólica, que melhora com a evacuação. Outros
29 sintomas como anorexia, febre, astenia, urgência evacuatória e tenesmo,
30 também, podem ocorrer. A dor abdominal varia em intensidade e pode ser
31 severa em complicações como a colite fulminante ou megacólon tóxico
32 (TEIXEIRA; HOSNE; SOBRADO, 2015).

33 Por se tratar de doenças sistêmicas, as DII podem cursar com diversas
34 manifestações extraintestinais (MEI), que podem acometer desde o sistema

1 musculoesquelético até o oftalmológico, e até 25,0% dos pacientes apresentarão
2 alguma MEI ao longo da vida (MONSÉN *et al.*, 1990). As manifestações
3 musculoesqueléticas como as artropatias (artralgia e artrite) podem ser
4 subdivididas em artrite periférica, sacroileíte e espondilite anquilosante (EA)
5 soronegativa, além da sobreposição com a EA com positividade para o antígeno
6 leucocitário de histocompatibilidade (HLA)-B27. A artrite é a manifestação mais
7 comum e pode preceder em muito tempo as manifestações intestinais
8 (NIKOLAUS; SCHREIBER, 2007). As manifestações cutâneas mais comuns são
9 o eritema nodoso e o pioderma gangrenoso, enquanto as oftalmológicas
10 comumente observadas são uveíte, episclerite, esclerite, conjuntivite, iriíte e
11 iridociclite. As manifestações hepatobiliares são representadas especialmente
12 pela colangite esclerosante primária (CEP), ocorrendo também doença hepática
13 gordurosa, colelitíase e síndromes de superposição com hepatite autoimune. A
14 CEP ocorre especialmente em concomitância com a RCU e é de predominância
15 maior no sexo masculino e em pacientes com menos de 45 anos de idade
16 (NIKOLAUS; SCHREIBER, 2007). No sistema hematopoiético, pacientes com
17 DII têm incidência aumentada de tromboembolismos venosos e arteriais
18 (IRVING; PASI; RAMPTON, 2005). Ocorrem, ainda, MEI inespecíficas como
19 osteopenia e osteoporose, comuns nas DII seja por alterações no metabolismo
20 ósseo causadas pela inflamação crônica ou pelo uso frequente de corticoides
21 (NIKOLAUS; SCHREIBER, 2007).

22 1.2 ETIOLOGIA

23 1.2.1 GENÉTICA E DII

24

25 Embora estudos de associação genômica (GWAS) tenham levado à
26 identificação de cerca de 240 *loci* relacionados ao desenvolvimento de DII, o
27 contínuo estudo dessas associações tem potencial de demonstrar novos *loci* que
28 ajudariam a entender aspectos da complexa biologia das DII, incluindo possíveis
29 mecanismos terapêuticos (DE LANGE *et al.*, 2017). Estudos de ancestralidade
30 identificaram associações do gene *NOD2* em populações europeias e do gene
31 *TNFSF15* em populações asiáticas (GRAHAM; XAVIER, 2020). Estudos
32 genéticos em coortes de diferentes etnias têm grande potencial na identificação

1 da heterogeneidade dos fatores de risco genéticos, e sugerem a existência de
2 diferentes subtipos de doença de acordo com diferentes mecanismos.

3 Sequências de exoma têm identificado múltiplos códigos independentes
4 em genes que coletivamente representam séries alélicas associadas com um
5 espectro de fenótipos variando de proteção a risco das doenças (GRAHAM;
6 XAVIER, 2020). Um dos primeiros genes associados a DII de início precoce foi
7 o *IL10RA*, em que alelos hipomórficos reduzem a sinalização da IL-10 e resultam
8 em piora da tolerância (GLOCKER *et al.*, 2009). Sequenciamentos de exoma
9 identificaram variantes de risco e proteção em genes como *CARD9*, *IL23R* e
10 *RNF186* (GRAHAM; XAVIER, 2020).

11 Partindo desse princípio, o estudo genético, genômico e epigenômico tem
12 o potencial de identificar futuros alvos terapêuticos ou servir de biomarcadores
13 para ajuda em futuras tomadas de decisão terapêutica (CHANG, 2020).

14 Variantes do gene *IL6* foram demonstrados por Gonçalves e
15 colaboradores (2020) como tendo efeito protetor (rs1800796) ou de risco
16 (rs1800795) para o desenvolvimento de DC e RCU.

18 1.2.2. MICROBIOTA INTESTINAL

20 A microbiota intestinal, além de ter numa enorme influência na nutrição,
21 metabolismo e fisiologia do hospedeiro, é amplamente aceita como
22 imunomoduladora do desenvolvimento e manutenção de um sistema imune
23 saudável (NOVIELLO *et al.*, 2021).

24 Variações genéticas podem levar a uma microbiota alterada e
25 anormalidades na formação da microbiota (por exemplo com a exposição
26 precoce a antibióticos na infância) podem levar a alterações imunológicas e
27 maior risco de desenvolvimento de DII (SHANAHAN, 2012). Quando infecções
28 ou outros agentes ambientais criam uma quebra temporária da barreira mucosa
29 intestinal habitual, o sistema imune do hospedeiro é exposto a microbiota nativa
30 o que leva a proliferação de células T efetoras de vida longa em associação com
31 as células T efetoras patógeno-específicas; esse mecanismo pode ser
32 responsável pelo desbalanço entre a inflamação fisiológica e a patológica (HAND
33 *et al.*, 2012).

1 Round e Mazmanian, em 2009, demonstraram que ratos adultos *germen-*
2 *free* tinham menos células Th17 e menores placas de Peyer no intestino delgado,
3 confirmando o papel crucial da microbiota no desenvolvimento do sistema imune
4 (ROUND; MAZMANIAN, 2009). O tecido linfoide associado as mucosas
5 (*mucosal associated lymphoid tissue*, MALT) representa o maior componente do
6 sistema imune e, ao mesmo tempo, tem o papel de fornecer proteção contra
7 agentes patogênicos e prevenir resposta imune excessiva contra antígenos
8 alimentares inócuos e micro-organismos comensais (CHANG, 2020).

9 O microbioma colonizador humano está presente em todas as superfícies
10 mucosas e, de maneira mais pronunciada, no trato gastrintestinal (CHANG,
11 2020) e, dentro dele, no íleo distal e cólon; tais micro-organismos em simbiose
12 têm importância na manutenção da saúde digestiva e digestão de algumas
13 substâncias. Outro papel fundamental da microbiota intestinal é a produção de
14 componentes vitais como a vitamina K e ácidos graxos de cadeia curta (CHANG,
15 2020).

16 A taxa de concordância da microbiota em indivíduos geneticamente
17 idênticos é de cerca de 40-50% na DC e 10% na RCU, o que sugere uma
18 influência ambiental significativa, especialmente na RCU. Além disso, o aumento
19 expressivo da incidência de ambas as doenças recentemente não é explicado
20 exclusivamente por causas genéticas (SHANAHAN, 2012). Apesar de
21 constantes esforços na identificação de associações com variantes genéticas,
22 somente cerca de 16% dos casos de RCU podem ser explicados por *loci*
23 claramente identificados (EK *et al.*, 2014).

24 Algumas revisões sistemáticas demonstram benefício do transplante de
25 microbiota fecal (TMF) no manejo de pacientes com DII. Uma meta-análise de
26 2020 mostrou taxa de resposta de 53,8% de remissão clínica em relação ao
27 placebo, com a administração de material fecal congelado a pacientes com DII,
28 em especial na DC (CALDEIRA *et al.*, 2020).

30 1.3 DIAGNÓSTICO E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA RCU

31
32 Até a presente data, não há disponibilidade de um único exame padrão
33 ouro para o diagnóstico da RCU. O diagnóstico é confirmado pela avaliação
34 clínica e uma combinação de dados endoscópicos, histológicos, radiológicos e

1 bioquímicos. Colites infecciosas, como por *Clostridioides difficile*, devem ser
2 excluídas. Exames adicionais podem ser realizados de acordo com o histórico
3 individual, como por exemplo história de viagens recentes. Embora diversos
4 SNVs tenham sido associados a suscetibilidade a DII, testes genéticos para
5 essas variantes não permitem o diagnóstico das DII (MAASER *et al.*, 2019).

6 Avaliações dos níveis séricos de marcadores sugestivos de inflamação
7 podem ajudar no diagnóstico, porém não possuem especificidade para
8 diferenciação entre as duas formas de doença. A calprotectina fecal é uma
9 proteína derivada do citoplasma dos neutrófilos e surge como resultado da
10 degranulação neutrofílica em estados de inflamação ou infecção da mucosa
11 intestinal. Sugere-se um nível de calprotectina de 50,0 a 100,0 µg/g como
12 indicativo de doença quiescente, de 100,0 a 250,0 µg/g como doença
13 indeterminada e acima de 250,0 µg/g como processo inflamatório ativo
14 (BRESSLER *et al.*, 2015). Tanto a calprotectina fecal quanto a proteína C reativa
15 (PCR) vem sendo utilizadas como marcadores de resposta ao tratamento.

16 Os marcadores sorológicos mais amplamente estudados são os
17 anticorpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA) perinucleares (pANCA) e os
18 anticorpos anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA). Usualmente, os pANCA são
19 detectados em até 65% dos pacientes com RCU e em menos de 10% dos
20 pacientes com DC. Devido a atual sensibilidade limitada desses marcadores, seu
21 uso rotineiro no diagnóstico e decisões terapêuticas não é clinicamente
22 justificado (MAGRO *et al.*, 2017).

23 A colonoscopia com múltiplas biópsias é considerada primeira linha para
24 o diagnóstico das DII (VAN ASSCHE *et al.*, 2010). Na RCU, o processo
25 inflamatório com edema, congestão, friabilidade e granularidade da mucosa
26 acontece de forma contínua e difusa, acometendo o reto em cerca de 95,0% dos
27 casos e raramente o íleo terminal (ileíte de refluxo, em cerca de 5,0%). O
28 processo inflamatório geralmente ocorre de forma mais intensa no reto e mais
29 branda nos segmentos proximais do cólon (TEIXEIRA; HOSNE; SOBRADO,
30 2015). A ileíte de refluxo pode ocorrer na RCU, quase sempre associada a
31 inflamação do ceco (KORNBLUTH; SACHAR; 2010, VAN ASSCHE *et al.*, 2010).

32 No momento do diagnóstico da RCU, cerca de 1/3 dos pacientes tem
33 acometimento em retosigmoide, 1/3 tem inflamação até a flexura esplênica e o
34 restante se apresenta como pancolite (doença proximal a flexura esplênica)

1 (BURISCH; MUNKHOLM, 2015). Existem relatos de até 50,0% dos pacientes
2 com proctite ou proctosigmoidite progredindo para doença mais extensa em 25
3 anos de acompanhamento (BENGSTON *et al.*, 2009).

4 Histologicamente, na RCU a mucosa mostra separação, distorção e
5 atrofia de criptas; células inflamatórias na lâmina própria, presença de neutrófilos
6 no epitélio das criptas, aumento do número de linfócitos e plasmócitos na base
7 das criptas, encurtamento de criptas que não atingem a muscular da mucosa,
8 agregados linfóides basais. A metaplasia das células de Paneth no reto favorece
9 o diagnóstico de RCU, enquanto a presença de microabscessos de cripta é
10 indicação não específica de inflamação (KORNBLUTH; SACHAR; 2010, VAN
11 ASSCHE *et al.*, 2010).

12 As DII podem ser classificadas de acordo com o cenário clínico em
13 associação com parâmetros laboratoriais e endoscópicos (TEIXEIRA; HOSNE;
14 SOBRADO, 2015). Em 1955, pesquisadores da Universidade de Oxford (Reino
15 Unido) produziram a classificação de Truelove – Witts, que não inclui parâmetros
16 clínicos de gravidade da doença e tampouco achados endoscópicos e do estado
17 geral do paciente. Em 1987, o grupo da *Mayo Clinic* em Rochester, Minnesota,
18 Estados Unidos da América, publicou a classificação que viria a se tornar a mais
19 amplamente utilizada em todo o mundo tanto na prática clínica quanto nos
20 estudos de pacientes com RCU. Pela classificação da *Mayo Clinic*, a doença
21 pode ser classificada em leve, moderada e grave, e o tratamento é baseado na
22 intensidade e extensão do processo inflamatório (TEIXEIRA; HOSNE;
23 SOBRADO, 2015). Define-se remissão clínica quando o escore de *Mayo* total for
24 menor ou igual a 1 (KORNBLUTH; SACHAR, 2010). O quadro 1 demonstra o
25 escore clínico de *Mayo*.

26
27
28
29
30
31
32
33
34

1 **Quadro 1** - Escore clínico de Mayo - Índice de gravidade da Retocolite Ulcerativa.

Frequência de movimentos intestinais	Sangramento retal
0 = Normal para o paciente	0 = Sem sangramento
1 = 1-2 evacuações/dia a mais que o usual	1 = Manchas de sangue em menos da metade das evacuações
2 = 3-4 evacuações/dia a mais que o usual	2 = Evidência de sangue vivo na maioria das evacuações
3 = >5 evacuações/dia além do usual	3 = Evacuações com sangue puro

2

Achados Endoscópicos
0 = Mucosa normal ou doença inativa
1 = Doença leve (enanterna, perda do padrão vascular, friabilidade leve)
2 = Doença moderada (enanterna evidente, perda do padrão vascular, friabilidade, erosões)
3 = Doença grave (sangramento espontâneo, ulcerações)

3

Avaliação médica global *
0 = Normal
1 = Doença leve
2 = Doença moderada
3 = Doença grave

4

Escore (Pontuação)	Gravidade da doença
≤ 2	Remissão clínica
3-5	Atividade leve
6-10	Atividade moderada
11-12	Atividade grave

5

*A avaliação médica global leva em consideração a queixa diária do paciente em relação ao desconforto, dor e sensação de bem-estar (normal, acima ou abaixo da média), achados do exame físico e performance do paciente nas atividades diárias.

6

Fonte: adaptado de TEIXEIRA, HOSNE e SOBRADO (2015).

7

8
9
10 Pacientes com DII apresentam risco aumentado de desenvolvimento de
11 câncer colorretal (CCR) e os riscos para o seu aparecimento incluem a duração
12 da DII, a presença de CEP associada e a história familiar de CCR
13 (LICHTENSTEIN *et al.*, 2018).

14

1 1.4 FISIOPATOLOGIA DA RCU

3 1.4.1 RESPOSTA IMUNE INATA E ADAPTATIVA E A HOMEOSTASE 4 INTESTINAL

6 A fisiopatologia das DII envolve uma complexa interação de fatores
7 genéticos, ambientais, imunológicos, epiteliais e da microbiota intestinal
8 (CHANG, 2020; ZHAO *et al.*, 2021).

9 O epitélio intestinal compreende uma camada de células entremeadas por
10 junções estreitas – “*tight junctions*” - e intercaladas com células do sistema imune
11 (KURASHIMA; KIYONO, 2017). Quando a mucosa intestinal está sob agressão
12 há o rompimento do epitélio e neutrófilos são recrutados para o local (LEPPKES;
13 NEURATH, 2020), caracterizando as DII.

14 A integridade física do epitélio intestinal, a permeabilidade da sua barreira
15 e a produção de peptídeos antimicrobianos são processos regulados por
16 citocinas e fatores de crescimento produzidos pelas células residentes no
17 intestino. Os linfócitos intraepiteliais, os clones de células T CD8⁺ invariáveis
18 associadas a mucosa e as células linfóides inatas (ILCs) produzem citocinas que
19 induzem fatores de transcrição e induzem a ativação do fator de transcrição 3
20 (STAT3), sinalizando as células epiteliais intestinais para proliferação e
21 sobrevivência (FRIEDRICH *et al.*, 2019).

22 As células caliciformes produtoras de muco têm papel importante na
23 homeostase intestinal e há evidências que sugerem um papel de regulação
24 negativa dessas células no epitélio intestinal na RCU. Essa anormalidade da
25 formação do muco quebraria a barreira epitelial mucosa, facilitaria a colonização
26 e invasão da microbiota (PARIKH *et al.*, 2019).

27 A imunidade inata intestinal é fundamental para a manutenção da
28 homeostase uma vez que exerce várias funções essenciais para o controle da
29 microbiota e proteção das lesões teciduais (ABBAS; LICHTAM; PILLAI, 2019). É
30 a primeira linha de defesa contra micro-organismos infecciosos, uma vez que as
31 células presentes nos tecidos, como células epiteliais, células dendríticas (CD)
32 e macrófagos apresentam receptores de reconhecimento padrão (RRP)
33 direcionados contra padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) ou
34 padrões moleculares associados ao dano (DAMPs). Vários RRP como os *toll-*

1 *like receptors* (TLRs), os *NOD-like receptores* (NLRs), e várias outras moléculas
2 tais como a família de receptores de domínio de recrutamento de caspase
3 (CARD), proteínas do sistema complemento e algumas citocinas permitem
4 reconhecimento e ativação dentro da resposta imune inata (RII). Dentre as
5 citocinas, a interleucina (IL)-1, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a IL-6 e
6 o interferon (IFN) do tipo 1 estão particularmente implicadas nesta resposta
7 (SZEKANECZ *et al.*, 2021). As citocinas da família IL-1, como IL-1 β e IL-18, têm
8 efeitos pró inflamatórios (FRIEDRICH; POHIN; POWRIE, 2019) e a IL-1 β
9 também promove respostas patogênicas de células T, como diferenciação em
10 Th17 e produção de IFN gama (IFN- γ).

11 As células intraepiteliais (IECs) e as células subepiteliais inatas formam
12 juntas uma linha de defesa precoce do hospedeiro contra patógenos luminiais.
13 Dentro do compartimento imune da mucosa, o grupo das ILCs é caracterizado
14 por sua proximidade da superfície epitelial e sua excepcional capacidade de
15 iniciar uma resposta rápida tanto a patógenos invasores quanto a danos no
16 epitélio, além de apoiar, amplificar e modular respostas imunes adaptativas.
17 Essas células são diferenciadas das células T pela falta da expressão de
18 receptores antígeno-específicos e pela sua capacidade de completa ativação
19 independente da maquinaria de apresentação e reconhecimento desses
20 antígenos. As ILCs podem ser categorizadas em ILC1, ILC2 e ILC3 de acordo
21 com os fatores de transcrição que expressam e o perfil de citocinas produzido.

22 As ILC1s são associadas com respostas imunes tipo 1 classicamente
23 direcionadas contra patógenos intracelulares e células tumorais. As ILC1s são
24 produtoras de IFN- γ e sua principal representante são as células *natural killers*
25 (NK), caracterizadas por possuírem um potente efeito citotóxico. As ILC2s estão
26 envolvidas no controle imunológico nas infecções parasitárias e doenças
27 alérgicas e são uma importante fonte produtora das citocinas IL-4, IL-5, IL-9 e IL-
28 13. Já as ILC3s têm importante papel na organogênese linfóide e na produção
29 de IL-17A, IL-22 e do fator estimulador das colônias de granulócitos e
30 macrófagos (GM-CSF) e representam a maior população de ILCs no ceco, íleo
31 e cólon do trato gastrointestinal humano em homeostase. Possuem uma alta
32 capacidade migratória e são encontradas em grande quantidade em todos os
33 sítios de inflamação. Uma célula da resposta imune inata a produzir IL-17 é a

1 célula T NK invariante (iNKT), sob estímulo das CD e da ativação do receptor de
2 interleucina 23 (IL-23R) (ROSINE; MICELI-RICHARD, 2021). A IL-22 produzida
3 pelas ILC3s, pelas células Th17 e pelas células T $\gamma\delta$, age nas IECs, ativando a
4 via STAT3 para promover defesa antimicrobiana e integridade e reparo da
5 barreira intestinal (ZHOU; SONNENBERG, 2018). Metabólitos da dieta como o
6 ácido retinoico derivado da vitamina A, aumentam a produção de IL-22 pelos
7 ILC3s (SCHIERING *et al.*, 2017).

8 Enquanto alguns estudos mostram o efeito protetor da IL-22 no epitélio
9 dos pacientes portadores de DII, outros mostram que amostras de tecido
10 colônico de pacientes com DC e RCU tiveram expressão aumentada de IL-22.
11 Dessa forma, há indicativos de efeito tanto protetor quanto patogênico da IL-22
12 derivada das ILC3 no epitélio dos pacientes com DII a depender do
13 microambiente e da microbiota envolvidos. As ILC2 e ILC3 regulam a função
14 secretora de muco pelas células caliciformes, atuando diretamente na proteção
15 das IECs de patógenos intestinais (SCHULZ-KUHNT *et al.*, 2021).

16 Em resposta a citocinas inflamatórias, as células epiteliais, mesenquimais
17 e os fagócitos mononucleares produzem elevadas quantidades de IL-6 que, por
18 sua vez, tem efeito sobre diferentes tipos celulares. A IL-6 induz o recrutamento
19 de polimorfonucleares (PMNs) e macrófagos envolvidos no processo de
20 cicatrização; porém, também promove secreção de citocinas por meio das
21 células Th1, Th2 e Th17 (HUNTER; JONES, 2015).

22 Outra importante citocina envolvida no processo inflamatório intestinal e
23 que é alvo de diversas terapêuticas é o TNF- α . O TNF- α é uma citocina de alta
24 potência produzida pelos PMN e tem efeito pleiotrópico nas células intestinais.
25 Excesso de TNF- α altera a integridade epitelial e induz apoptose nas IECs,
26 enfraquecendo a função de barreira. As drogas inibidoras do TNF- α atuam
27 bloqueando o processo inflamatório induzindo a apoptose das células T e
28 promovendo reparo da mucosa através de macrófagos reparadores
29 (FRIEDRICH *et al.*, 2019).

30 Algumas citocinas têm propriedades imunoregulatórias que controlam a
31 interação entre o sistema imune e a microbiota, com destaque para a IL-10. Além
32 das ILC2 produtoras de IL-10, as células T regulatórias (Treg) residentes no
33 tecido intestinal também podem produzir IL-10 e fator transformador de

1 crescimento beta (TGF- β), importantes citocinas imunomoduladoras (CHINEN *et*
2 *al.*, 2016). Moore e colaboradores, em 2001, demonstraram essa habilidade da
3 IL-10 em induzir fenótipos anti-inflamatórios em macrófagos. A IL-10 tem papel
4 inibitório na sensibilidade dos monócitos aos ligantes dos TLR e defeitos na
5 produção dessa citocina levam a enterocolite espontânea (NOLD *et al.*, 2010).

6 O intestino é ainda rico em plasmócitos e células B ativadas localizadas
7 especialmente nas placas de Peyer no intestino delgado e em áreas de tecido
8 linfóide no intestino grosso. A imunoglobulina (Ig) A facilita a defesa efetiva
9 revestindo bactérias patogênicas e prevenindo a interação destas com o epitélio
10 (FRIEDRICH; POHIN; POWRIE, 2019).

11 A Figura 1 ilustra o remodelamento dinâmico da rede de citocinas durante
12 a progressão das DII.

13

HOMEOSTASE

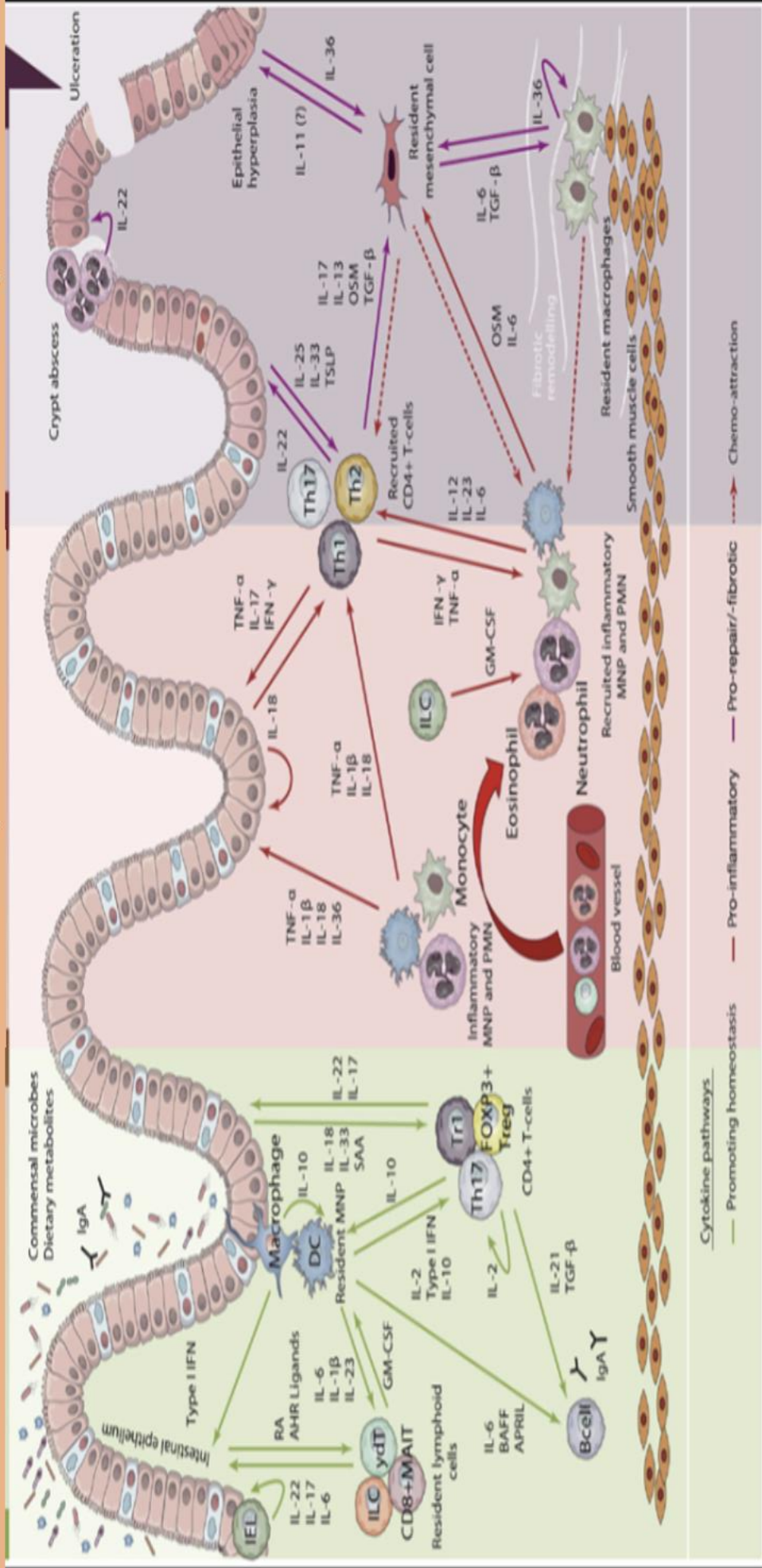
Sinais da dieta e microbiota
Suporte de barreira
Tolerância

INICIAÇÃO/PROGRESSÃO

Patógeno ou dano
Recrutamento PMN
Ativação da RIA

CRÔNICO/GRAVE

Erosão epitelial
Resistência a terapia
Remodelação fibrótica



1 **Figura 1 – Remodelamento dinâmico da rede de citocinas durante a progressão das**
2 **doenças inflamatórias intestinais.** Rede de citocinas entre as células epiteliais e as respostas
3 imunes inata (RII) e resposta imune e adaptativa (RIA) mantendo a barreira epitelial e a tolerância
4 à microbiota em homeostase (setas verdes). A ruptura dessa ligação de citocinas leva ao início
5 da inflamação, especialmente por citocinas da RIA na fase inicial das doenças inflamatórias
6 intestinais (DII) (setas vermelhas). Se a inflamação inicial não for resolvida, MNPs pró
7 inflamatórios e PMN são recrutados para o tecido (setas tracejadas), criando um ambiente de
8 citocinas que molda as respostas patogênicas Th1 e Th17 (setas vermelhas). O estabelecimento
9 da inflamação crônica é caracterizado por uma resposta inflamatória substancial dirigida por
10 mecanismos imunes adaptativos, que podem com o tempo evoluir em direção a resposta tipo 2
11 pró reparativa (setas roxas). A inflamação crônica persistente, por exemplo, devido a falta de
12 resposta a terapia, pode conduzir a respostas desordenadas, levando a remodelação fibrótica
13 no estágio tardio das DII. AHR – receptor aril hidrocarboneto; APRIL – ligante indutor de
14 proliferação; BAFF – fator ativador de células B; DC – célula dendrítica; FOXP3 – *forkhead box*
15 *p3*; GM-CSF – fator estimulador de colônia de granulócitos e macrófagos; IEL – linfócito
16 intraepitelial; IFN – interferon; Ig – imunoglobulina; IL – interleucina; ILC – célula linfóide inata;
17 MAIT – célula T invariante associada a mucosa; MNPs – fagócitos mononucleares; OSM –
18 oncostatina M; PMN – leucócito polimorfonuclear; RA - ácido retinoico; SAA – amiloide sérico A;
19 TGF – fator de crescimento transformador; Th – T helper; TNF – fator de necrose tumoral; Tr1 –
20 células regulatórias tipo 1; TSLP – linfopoietina estromal tímica. **Fonte:** Adaptado de Friedrich;
21 Pohin; Powrie (2019).
22

23 A RII estimula a resposta imune adaptativa (RIA) e pode influenciar a
24 natureza dessa resposta para torná-la otimamente efetiva. Ela fornece sinais que
25 atuam em conjunto com o antígeno para estimular a proliferação e diferenciação
26 de linfócitos T e B antígeno-específicos (ABBAS; LICHTAM; PILLAI, 2019).

27 Ao serem ativadas, as CD da RII migram, pela circulação linfática, para o
28 órgão linfóide secundário mais próximo e apresentam os antígenos via
29 Complexo Principal de Histocompatibilidade de Classe II (MHC-II) aos
30 linfócitos Th ou TCD4⁺ *naive* (Th0) e estimulam a sua diferenciação em células
31 efectoras (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019). Após o contato das células Th
32 *naive* com as células apresentadoras de antígeno (APCs) ocorre uma expansão
33 clonal e diferenciação em diferentes subtipos celulares, a depender de alguns
34 fatores tais como o estímulo das citocinas do microambiente. A IL-12 secretada
35 pelas CD e outras células da RII, associada a IL-23 produzida nas fases iniciais
36 da DII, ativam a diferenciação em células Th1, que estão relacionadas a
37 autoimunidade órgão-específica e participam da eliminação de patógenos
38 intracelulares. Na resposta imune Th1, as principais citocinas envolvidas são o
39 IFN- γ e o TNF- α . O efeito do IFN- γ e do TNF- α mostrou ser variado nos modelos
40 com colite induzida em vários estudos, e a natureza muitas vezes contraditória
41 dessas respostas sugere outros fatores envolvidos na fisiopatologia das DII
42 (IMAM *et al.*, 2018).

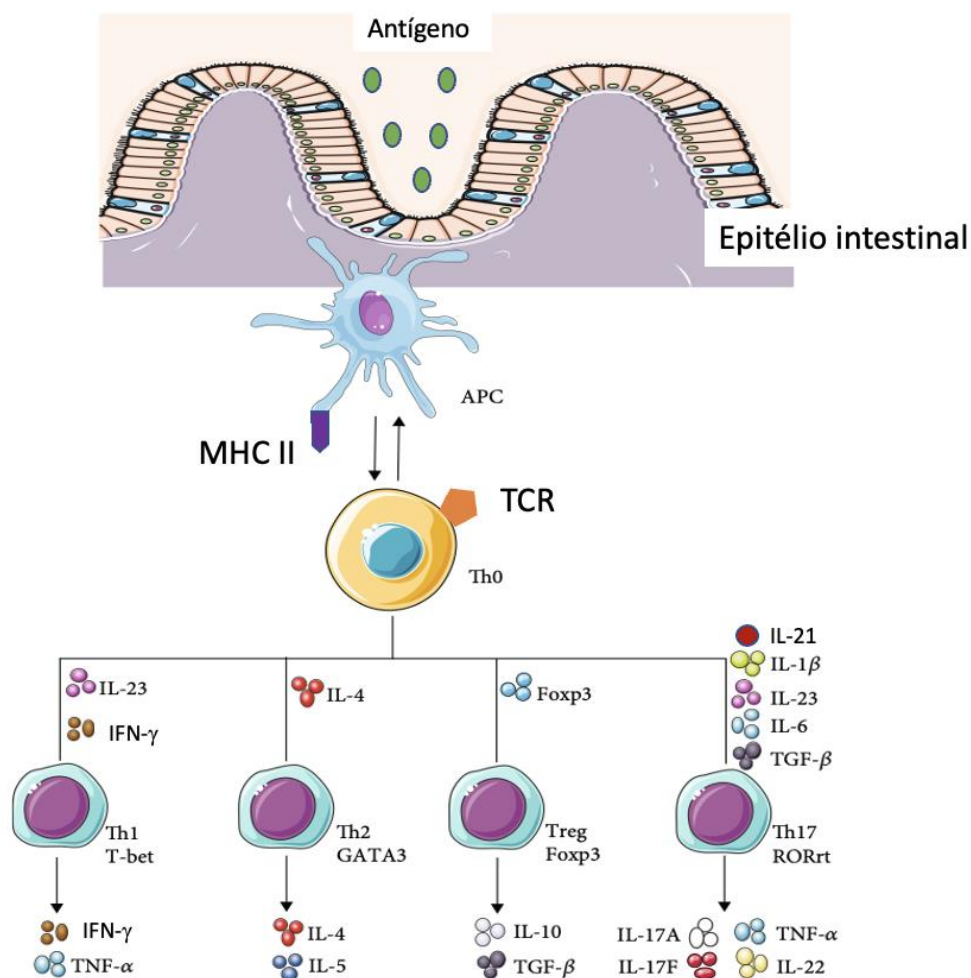
1 A IL-4 é a principal citocina indutora da resposta Th2 que exerce
2 importante papel na resposta imune em doenças alérgicas e contra parasitas.
3 Outras citocinas importantes na resposta Th2 são a IL-5 e a IL-13 (IMAM *et al.*,
4 2018).

5 Tradicionalmente, a patogênese da DC e da RCU é considerada como
6 sendo Th1 e Th2 mediada, respectivamente. No entanto, com os avanços na
7 imunologia, outros subtipos de células Th têm sido implicados, tais como Th9,
8 Th17 e Treg. Entre eles, as células Th17 têm recebido atenção especial nos
9 últimos anos devido sua participação nas doenças autoimunes e na resposta
10 imune na mucosa intestinal (LIU *et al.*, 2009, ZHAO *et al.*, 2021). As células Th17
11 estão envolvidas na patogênese das doenças autoimunes mais comuns, como
12 psoríase, artrite reumatoide, DII e esclerose múltipla (YANG *et al.*, 2014).
13 Estudos mostraram que as células Th17 estão especialmente ligadas a resposta
14 autoinflamatória e atuam no centro do desenvolvimento das DII (ZHAO *et al.*,
15 2021). Sob condições fisiológicas, as células Th17 regulam a integridade da
16 barreira física epitelial intestinal por meio da quimiotaxia de neutrófilos e
17 macrófagos e estimulam as células epiteliais na produção de peptídeos
18 antimicrobianos (BLASCHITZ; RAFFATELLY, 2010).

19 Para que ocorra a diferenciação das células Th0 para a subpopulação de
20 Th17, a presença de IL-23, IL-6, IL-21, TGF- β e IL-1 β tem papel decisivo (ZHAO
21 *et al.*, 2021). A IL-6 é uma citocina produzida por monócitos, macrófagos,
22 linfócitos, fibroblastos, células endoteliais, células epiteliais intestinais e algumas
23 células tumorais e promove a resposta Th17, capaz de induzir a produção de
24 proteínas de fase aguda como a PCR e proteína sérica amiloide A (TANAKA *et al.*
25 *et al.*, 2014). A IL-6 também exerce importante função no balanço entre as
26 respostas Th17 e Treg (ZHAO *et al.*, 2021).

27 As células Th17 secretam IL-17, IL-21, IL-22, fator estimulador da colônia
28 de granulócitos (G-CSF), IFN- γ e TNF- α . Esta subpopulação de células Th
29 modula respostas inflamatórias nas superfícies mucosas e exerce um importante
30 papel na autoimunidade, tanto na DC quanto na RCU (BEVIVINO;
31 MONTELEONE, 2018). A Figura 2 demonstra a diferenciação das células Th0
32 em outros subtipos.

33



1
2
3
4
5
6
7
8
9

Figura 2 - Diferenciação das células Th1, Th2, Th17 e T regulatórias. Legenda: APC – célula apresentadora de antígeno; Th – T helper; IL – interleucina; MHC – complexo de histocompatibilidade principal; TCR – receptor de células T; Treg – célula T regulatória; TNF – fator de necrose tumoral; IFN- γ - interferon gama; TGF – fator de transformação de crescimento; T-bet – fator de transcrição T bet; GATA – fator de transcrição “dedo de zinco”; FOXP3 – forkhead box p3; RORrt – receptor órfão de ácido retinoico rt. **Fonte:** Adaptado de Zhao (2021).

10 A IL-17 é uma família de citocinas que compreende seis proteínas, IL-17A
11 a IL-17F. A IL-17A é uma potente citocina que amplifica a resposta inflamatória
12 pela sustentação da liberação de mediadores como o TNF- α e IL-6 (GAFFEN *et*
13 *al.*, 2014), assim como também induzindo genes relacionados a quimioatração
14 de neutrófilos como os ligantes de CXC-quimiocina (CXCL) 1, CXCL2 e CXCL5
15 (MALOY; KULLBERG, 2008). A IL-17F compartilha cerca de metade da estrutura
16 da IL-17A (STARNES *et al.*, 2001) e seus efeitos pró inflamatórios são menos
17 expressivos (YANG *et al.*, 2008). As IL-17B, IL-17C e IL-17D são classificadas
18 como citocinas pró inflamatórias; porém, seu papel ainda não é totalmente

1 elucidado e, finalmente, a IL-17E é conhecida como IL-25 e está envolvida na
2 resposta Th2 (BERINGER; NOACK; MIOSSEX, 2016).

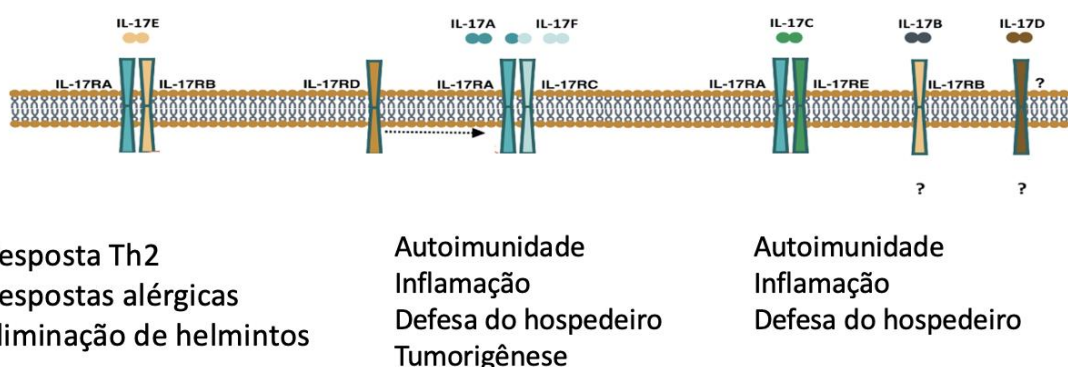
3 Na família da IL-17, a IL-17A e a IL-17F são consideradas as principais
4 citocinas que dirigem a inflamação e a autoimunidade. A IL-17A pode existir
5 como um homodímero ou pode se juntar com a IL-17F para formar um
6 heterodímero (ZHAO *et al.*, 2021). No entanto, o papel das citocinas IL-17A e IL-
7 17F é controverso (FRIEDRICH; POHIN; POWRIE, 2019). Aparentemente, a
8 atividade dessas citocinas é muito dependente do contexto e pode ser
9 redundante. Suas funções também podem ser órgão dependente, possivelmente
10 explicando por que a terapia anti-IL-17 é efetiva no tratamento da psoríase e não
11 na DC (FRIEDRICH; POHIN; POWRIE, 2019).

12 Na fase inflamatória aguda, a IL-17A e IL-22 promovem a proliferação e
13 migração de células intestinais. Se o balanço não for mantido a longo prazo,
14 levará a infamação crônica e os níveis altos dessas citocinas a longo prazo
15 podem promover câncer (KEMPSKI *et al.*, 2017).

16 A família de receptores da IL-17 é composta por cinco membros (IL-17RA,
17 IL-17RB, IL-17RC, IL-17RD e IL-17RE), que compartilham sequências
18 homólogas (Figura 3). O receptor IL-17RA é expresso em diferentes tipos
19 celulares e sua estimulação pela IL-17A inicia vias de sinalização que induzem
20 a produção de moléculas pró-inflamatórias. Essa estimulação é feita por meio de
21 um complexo heterodimérico receptor composto por IL-17RA e IL-17RC. Devido
22 sua homologia com a IL-17A, a IL-17F também exerce sinalização pelo mesmo
23 receptor IL-17RA, embora com menor afinidade (GU; WU; LI, 2013).

24

25



1
2 **Figura 3.** Receptores da IL-17. A família da IL-17 é composta de seis membros, IL-17A-F,
3 enquanto seus receptores consistem em cinco membros, IL-17RA a IL-17RE. O IL-17RA é um
4 receptor comum que forma complexos heterodiméricos com a IL-17B, IL-17C e IL-17E. A
5 sinalização da IL-17E (IL-25) pelo receptor IL-17RA-RB induz a respostas Th2. A IL-17C, através
6 de sinais pelo complexo IL-17RA-RE contribui, assim como a IL-17A, na patogênese das
7 doenças autoimunes. A IL-17B mostrou interagir com o IL-17RB, porém sua função biológica
8 ainda é incerta. O receptor da IL-17D ainda é desconhecido. Legenda: IL- Interleucina. R –
9 Receptor. **Fonte:** Adaptado de Gu; Wu; Li (2013).

10
11 Em relação a IL-21, é uma importante citocina membro da família da IL-2,
12 que quando ligada ao seu receptor IL-21R nas células B, T, NK e CD, ativa as
13 vias JAK1/STAT3, PI3K/AKT e MAPK, atuando na proliferação celular (TIAN;
14 ZAJAC, 2016). Quando em combinação com o TGF- β , a IL-21 pode induzir a
15 diferenciação dos linfócitos Th0 em Th17. Macrófagos ativados produzem a IL-
16 1 β que, juntamente com a IL-6, induz a resposta Th17 e a diferenciação em
17 células Th1 produtoras de IFN- γ que agrava a inflamação intestinal.

18 Já a IL-22 é um membro da família da IL-10, tem efeito protetor conta a
19 inflamação intestinal, é produzida por uma variedade de células e tem papel na
20 conexão entre inflamação e regeneração tecidual das células do epitélio (ZHAO
21 *et al.*, 2021). Suas células produtoras se mostraram significativamente reduzidas
22 em tecidos inflamados de pacientes com RCU, sendo substituídas pelas células
23 Th17 produtoras de IL-17 (IMAM *et al.*, 2018). Zenewicz e colaboradores (2009)
24 mostraram que ratos deficientes em IL-22 ou que receberam células Th
25 deficientes em IL-22 exibiram maior perda ponderal e inflamação colônica em
26 comparação a controles. A IL-22 produzida em grande quantidade pelas células
27 Th17 e pelas ILC3s após estimulação da IL-23 promove defesa antimicrobiana
28 e reparação epitelial (ZHOU; SONNENBERG, 2018). A administração de IL-22
29 recombinante está sendo testada em ensaios clínicos para o tratamento da RCU

1 e da DC moderadas a graves (FRIEDRICH; POHIN; POWRIE, 2019). Uma
2 proteína de fusão hIL-22 IgG, UTTR1147A, demonstrou induzir a ativação de
3 STAT3 em hepatócitos humanos primários e linhas celulares de cólon humano
4 (STEFANICH *et al.*, 2018). Outra proteína de fusão recombinante, F652, consiste
5 em duas moléculas de IL-22 humana ligadas a uma região constante de
6 imunoglobulina (IgG2-Fc) e foi avaliada em um estudo randomizado, duplo-cego,
7 controlado por placebo. A administração deste dímero de hIL-22 a voluntários
8 saudáveis do sexo masculino foi segura e bem tolerada (TANG *et al.*, 2019). Um
9 ensaio clínico (NCT02847052) para estudar o papel da proteína ligadora de IL-
10 22 (IL-22BP) em pacientes com DII está concluído, embora os resultados ainda
11 não estejam disponíveis (WEI; WANG; LI, 2020).

12 Um estudo recente demonstrou que valores aumentados de TNF- α
13 durante a DII induzem a expressão de IL-22BP solúvel no cólon e, assim,
14 antagonizam o reparo da mucosa mediado por IL-22/STAT3 durante a colite.
15 Portanto, o bloqueio farmacológico de TNF- α produzido apenas por células Th1
16 resultou em inflamação reduzida e diminuição da produção de TNF- α colônico.
17 Isso levou à diminuição da expressão de IL-22BP no cólon, aumento da
18 abundância de IL-22 bioativa, seguido por aumento da proliferação de IECs
19 intestinais e restauração das funções epiteliais do cólon. Os autores
20 demonstraram que o TNF- α produzido por IECs controla a produção de IL-22BP
21 durante a colite. Assim, esses dados demonstraram que a terapia anti-TNF- α
22 induz a cicatrização da mucosa aumentando a biodisponibilidade de IL-22 e
23 sugere novas estratégias terapêuticas para o tratamento de DII em humanos
24 (NINNEMANN *et al.*, 2022).

25 Na mucosa intestinal dos pacientes com DII, as citocinas relacionadas à
26 resposta Th17 aumentam, sugerindo que as células Th17 exerçam um papel
27 importante na atividade da doença e no dano à mucosa (JIANG *et al.*, 2014).
28 Entretanto, células Th17 no intestino delgado de ratos livres de doença
29 mostraram melhorar a função da barreira epitelial intestinal pela estimulação da
30 formação de *tight junctions* e de peptídeos antimicrobianos (KINUGASA *et al.*,
31 2000). Dessa forma, a patogenicidade das células Th17 na DII é incerta e o papel
32 da resposta Th17 no intestino é heterogêneo, podendo ser protetor ou agressor
33 (ZHAO *et al.*, 2021).

1 A microbiota intestinal tem um papel crucial na geração e funcionamento
2 das células inatas e adaptativas, incluindo as células Th17, o tipo celular T CD4⁺
3 mais comum nas mucosas (IVANOV *et al.*, 2008). A maioria das células Th17
4 são específicas para antígenos microbianos. Algumas bactérias filamentosas
5 como *Citrobacter* e *Escherichia coli* podem se aderir as células epiteliais
6 intestinais e exercer um papel importante na manutenção da integridade da
7 barreira intestinal. Sob condições inflamatórias essas bactérias podem induzir as
8 CD a produzir IL-6 e IL-1 β e assim induzir a diferenciação da resposta Th17
9 patogênica e produção de citocinas inflamatórias (ZHAO *et al.*, 2021).

10 Hansen e colaboradores (2010) demonstraram que, em modelos murinos
11 de DII, componentes de microbiota associados a DII podem induzir respostas
12 celulares Th17 e exacerbar a atividade da doença. A transferência de microbiota
13 com DII em ratos *germen-free* aumentou o número de células intestinais Th17 e
14 diminuiu o número de células Treg-ROR γ t⁺, um subtipo celular relacionado à
15 tolerância à microbiota (BRITTON *et al.*, 2019).

16 A IL-12 compartilha sua subunidade p40 com a IL-23, uma citocina
17 envolvida na amplificação e estabilização das respostas Th17. O
18 ustequinumabe, um anti-IL-12/p40, é efetivo na manutenção da remissão clínica
19 e endoscópica dos pacientes com DC, e estudos sugerem que, na realidade, o
20 bloqueio da IL-23 possa ser o alvo a ser atingido na DC (FEAGAN, 2017). Uhlig
21 e colaboradores (2006) demonstraram que a redução da doença em modelos
22 animais IL-23 p19 negativos se correlacionou com a redução das células TCD4
23 IL-17⁺, particularmente as que coproduzem IFN- γ , sugerindo que essas células
24 sejam as maiores indutoras da doença.

25 As células produtoras de IL-23 são as CD, os macrófagos, as células B e
26 células endoteliais, e essa citocina exerce papel inflamatório importante nas
27 células intestinais (OPPMANN *et al.*, 2000). Uma produção sustentada de IL-23
28 leva a indução de múltiplas citocinas como IFN- γ , IL-17A e fator estimulador de
29 colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF). A IL-23 antagoniza células T
30 regulatórias Foxp3⁺ anti-inflamatórias e está envolvida na mobilização e ativação
31 de precursores de granulócitos e monócitos pró inflamatórios e eosinófilos da
32 medula óssea para o intestino (FRIEDRICH; POHIN; POWRIE, 2019).

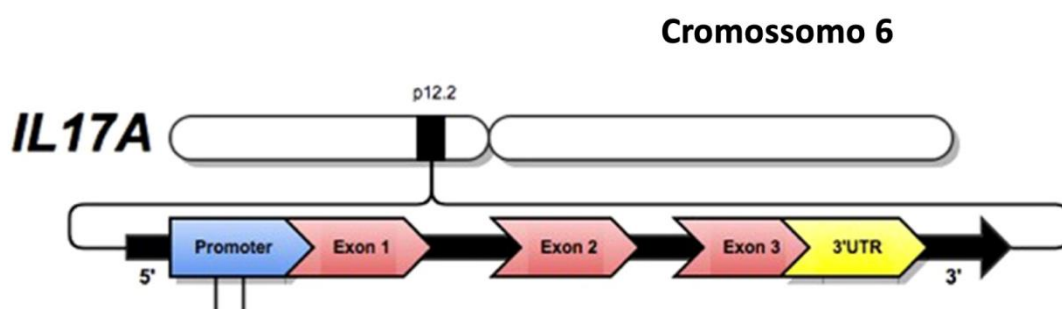
1 O eixo IL-23 / Th17 é importante na manutenção das DII pela indução da
2 proliferação de células Th17 patogênicas e produção de IL-17 e outros fatores
3 inflamatórios como IFN- γ , que agravam a progressão das DII. Além disso, a IL-
4 23 atua no desbalanço entre as células Treg e Th17 (FENG *et al.*, 2011). A
5 capacidade de transformação das células Th17 em células Treg, e o desbalanço
6 entre esses dois fenótipos celulares pode estar envolvido em situações de
7 inflamação crônica e doenças autoimunes (LI; BOUSSIOTIS, 2013). Eastaff-
8 Leung e colaboradores (2010) demonstraram um número reduzido de células
9 Treg periféricas e aumento do número de células Th17 no sangue periférico de
10 pacientes com DII.

11 A evidência de que a IL-23 amplifica a resposta celular Th17 abriu novos
12 universos para explorar o eixo IL-23/IL-17 como um alvo terapêutico promissor
13 nas DII (NOVIELLO *et al.*, 2021).

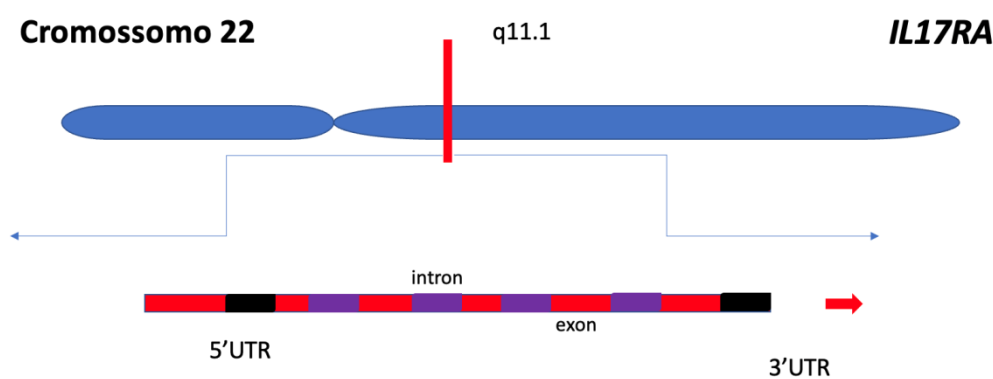
14 A descoberta e caracterização do papel das citocinas que promovem ou
15 suprimem a inflamação intestinal levou a terapêuticas eficazes na DII que ou já
16 estão em uso ou estão sendo testadas (ABRAHAM *et al.*, 2017). Existe um nível
17 de plasticidade na progressão da DII que ainda é pouco compreendido, como
18 demonstrado em casos de paciente com RCU que evoluem para uma forma de
19 inflamação ileal (pouchite) após colectomia. Além disso, a RCU pode ser
20 associada a complicações envolvendo o eixo intestino-fígado como a colangite
21 esclerosante primária (GRAHAM; XAVIER, 2020).

22 23 1.4.2 VARIANTES GENÉTICAS DO *IL17A* e *IL17RA*

24
25 O gene *IL17A* encontra-se no braço curto do cromossomo 6 na posição
26 6p12.2. A variante genética do *IL17A* A>G rs3819024 encontra-se na posição
27 52185988, uma região *upstream* (-444 A>G), enquanto a variante G>A
28 rs3819025 está na posição 52186476, uma região de introns (não codificante)
29 (Figura 4). O gene *IL17RA* encontra-se no braço longo do cromossomo 22, na
30 posição 22q11.1, sendo que a variante T>C rs2241043 localiza-se na posição
31 17086917, a variante A>G rs2241049 na posição 17106790 e a variante G>A
32 rs6518661 na posição 17107085, todas em regiões intrônicas (Figura 5).



1
2
3 **Figura 4.** Gene *IL17A*. IL- Interleucina. UTR – *untranslated region*. **Fonte:** Adaptado de Ponce-
4 Gallegos (2020).
5



6
7 **Figura 5.** Gene *IL17RA*. UTR – *untranslated region*. **Fonte:** o próprio autor.

8
9 Em 2009, McGovern e colaboradores estudaram pacientes com DC e
10 controles para dez SNVs e encontraram associações tanto de risco quanto de
11 proteção com os haplótipos do *IL17A*. O haplótipo H2 (rs2275913, rs3819025,
12 rs10484879, rs1974226) relacionou-se a efeito protetor para o desenvolvimento
13 de DC em pacientes judeus, enquanto mostrou ser fator de risco para DC em
14 pacientes não judeus.

15 Há poucas referências na literatura associando os SNVs estudados neste
16 trabalho com a DC e a RCU. Tais SNVs foram estudados em outras populações
17 de pacientes com doenças imunomediadas.

18 Yan e colaboradores, em 2012, estudaram uma população chinesa de
19 pacientes com Doença de Graves e pacientes com tireoidite de Hashimoto e
20 encontraram relação com a menor frequência do alelo A da variante G>A
21 rs3819025 do gene *IL17A* nos pacientes com doença de Graves em relação aos

1 controles. Dessa forma, o alelo A foi considerado um fator protetor contra tal
2 doença autoimune.

3 Em 2013, Catanoso e colaboradores estudaram uma população italiana
4 de pacientes com artrite psoriásica e controles e, analisando 40 SNVs dos genes
5 *IL17A*, *IL17R*, *IL23A* e *IL23R*, as variantes *IL17A* rs3819025 e *IL17RA*
6 rs2241043, rs2241049 e rs6518661 não foram associadas à suscetibilidade a
7 doença.

8 Já em 2015, Senhaji e colaboradores estudaram dez variantes em cinco
9 genes, incluindo o rs3819024 no gene *IL17A* em pacientes com DII e controles
10 e não encontraram associação dessa variante com o desenvolvimento de DC ou
11 RCU.

12 Ainda em 2015, Somers e colaboradores avaliaram pacientes submetidos
13 a transplante pulmonar e encontraram associação com o genótipo do *IL17RA*
14 GG rs2241049 e o risco de disfunção primária do enxerto, provavelmente devido
15 a ganho de função com o aumento de IL-17RA, e o aumento da proliferação e
16 diferenciação das células produtoras de IL-17, citocinas e fatores de
17 crescimento. As células produtoras de IL-17 envolvidas foram provavelmente a
18 população de células inatas produtoras de IL-17.

19 Kim e colaboradores (2016) analisaram, em pacientes com psoríase e
20 controles, 31 SNVs em 12 genes, incluindo a SNV rs2241049 do *IL17RA* e a
21 rs3819025 do *IL17A*, e não encontraram associação destes com a
22 suscetibilidade à psoríase.

23 Em 2018, Wu e colaboradores estudaram 134 SNVs nos genes que
24 codificam as IL-17A-F e os IL-17R A-E em pacientes com doença aterosclerótica,
25 e as SNVs rs3819024 e rs3819025 do *IL17A* e rs2241043 do *IL17RA* não se
26 correlacionaram com a espessura da camada íntima da carótida.

27 Um estudo posterior demonstrou que a variante genética rs3819025 do
28 *IL17A* foi associada em haplótipos a menores níveis séricos de IL-17 em
29 pacientes com câncer de mama. Van Vugt et al (2020) sugeriram que variantes
30 genéticas nas regiões ao redor de regiões codificadoras poderiam levar a
31 alterações na expressão ou função da IL-17, influenciando a efetividade das
32 drogas inibidoras da IL-17A.

33
34

1 1.5 TRATAMENTO

2
3 O objetivo a ser alcançado com o tratamento das DII inclui não somente o
4 controle dos sintomas, mas também a indução e manutenção da remissão
5 endoscópica. Além disso, busca-se a melhora da qualidade de vida do paciente,
6 o não uso de esteroides, a diminuição de chances de hospitalização, cirurgia,
7 complicações infecciosas, bem como a diminuição do risco de câncer e de
8 evolução para óbito (SANDS, 2007, KORNBLUTH; SACHAR, 2010).

9 Ao longo dos anos, com o desenvolvimento de uma maior compreensão
10 da história natural da doença e desenvolvimento de novos agentes
11 imunossupressores, as estratégias de tratamento tendem a uma introdução mais
12 precoce de terapias altamente efetivas com o objetivo de induzir remissão clínica
13 e endoscópica da DII e modificar o curso natural da doença (NGUYEN; SINGH;
14 SANDBORN, 2020). Dessa forma, atenção para o dano intestinal cumulativo
15 relacionado a doença e o impacto desta na qualidade de vida são fundamentais
16 na estratificação de risco e decisão sobre o momento de início das drogas
17 modificadoras de doença (PEYRIN-BIROULET *et al.*, 2016).

18 A estratégia *top-down* de tratamento se inicia com as medicações
19 imunomoduladoras e imunobiológicas, enquanto a estratégia *step-up* se inicia
20 com drogas menos potentes e com menores reações adversas. A escolha de
21 qual estratégia adotar inclui os objetivos finais do tratamento, a tolerância do
22 paciente, a presença de reações adversas, os riscos envolvidos e o desejo do
23 próprio paciente (TEIXEIRA; HOSNE; SOBRADO, 2015).

24 Para tratamento da RCU, a mesalazina tópica é a primeira linha para
25 proctite, enquanto a combinação de 5 aminossalicílico (5-ASA) tópico e oral é
26 mais efetiva quando o acometimento mucoso é inferior a 50 cm. A combinação
27 com corticoides tópicos (diproprionato de beclometasona) pode ser benéfica,
28 especialmente nos pacientes com resposta inadequada ou intolerantes a 5-ASA
29 tópica. A colite esquerda leve a moderada deve ser tratada com enemas de
30 salicilato associados a mesalazina oral. Corticoides sistêmicos são apropriados
31 em pacientes com doença moderada a grave e naqueles com doença leve não
32 responsiva a mesalazina (HARBORD *et al.*, 2017). Pacientes com RCU devem
33 ser reavaliados após 4 a 8 semanas da terapia de indução com aminossalicilatos
34 para determinação de necessidade de mudança da terapia (BRESSLER, B. *et*

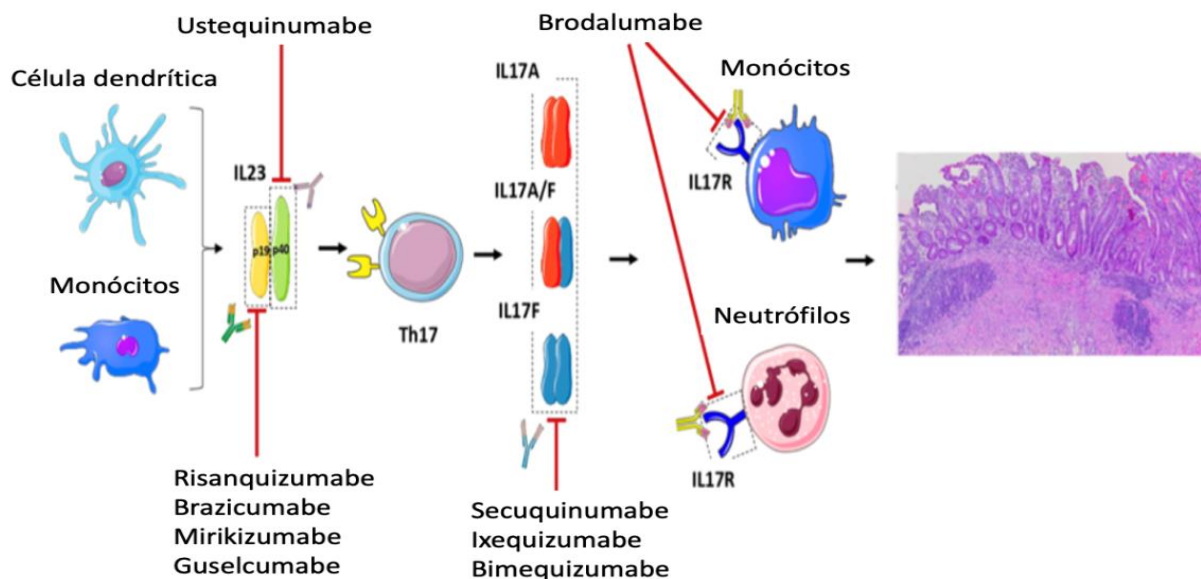
1 *al.*, 2015b). As colites extensas e graves devem ter seu tratamento realizado em
2 ambiente intensivo hospitalar. Pacientes com tratamento dependente de
3 esteroides devem ser tratados com uma tiopurina, anti-TNF, vedolizumabe ou
4 metrotexate (HARBORD *et al.*, 2017).

5 O infliximabe (IFX) é um anticorpo monoclonal quimérico IgG1 que se liga
6 ao TNF- α e neutraliza sua atividade. É efetivo na indução e manutenção da
7 remissão clínica, tratamento de fístulas indicado para pacientes com DC
8 refratária a terapia convencional. Os estudos *Active Ulcerative Colitis Trials*
9 (ACT) 1 e ACT 2 mostraram que pacientes com RCU tratados com IFX
10 mostraram melhor resposta clínica e maior cicatrização mucosa do que
11 pacientes tratados com placebo (RUTGEERTS *et al.*, 2005). Em 2014, a Agência
12 Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde do Brasil
13 aprovou o uso de outro agente anti-TNF, o adalimumabe (ADA), anticorpo
14 monoclonal totalmente humano, para uso na RCU moderada a grave refratária
15 a terapia convencional (TEIXEIRA; HOSNE; SOBRADO, 2015).

16 O bloqueio das citocinas produzidas pelas células Th1 e Th17 tem
17 sucesso terapêutico limitado (FRIEDRICH; POHIN; POWRIE, 2019). A
18 neutralização do IFN- γ pelo fontolizumabe não mostrou resposta clínica na DC
19 moderada a grave (HOMMES *et al.*, 2006). O anticorpo monoclonal anti-IL17A
20 secuquinumabe também não mostrou benefícios na DC, inclusive com efeitos
21 adversos graves durante a terapia (HUEBER *et al.*, 2012). O bloqueio da IL-17
22 no intestino promove também bloqueio do seu efeito de barreira, o que pode
23 explicar a falta de eficácia; porém, em mecanismo independente da IL-23, o que
24 explica a manutenção dessa função quando se faz uso das terapias anti-IL-23
25 (LEE *et al.*, 2015). Uma explicação para a piora da doença pode ser os efeitos
26 compensatórios de outros subtipos de citocinas inflamatórias do perfil Th1
27 (O'CONNOR *et al.*, 2009). Outra hipótese é a de que o bloqueio da IL-17A ou IL-
28 17F isoladamente seria insuficiente para reduzir a gravidade da doença,
29 enquanto o bloqueio de ambas as citocinas reduziu os níveis de inflamação
30 (WEDEBYE *et al.*, 2013). Outra hipótese para explicar a piora da inflamação com
31 a ausência da IL-17A seria seu papel na regulação da função da barreira epitelial
32 e na produção de peptídeos anti-inflamatórios (MAXWELL *et al.*, 2015).

33 Em variados modelos de colite, o bloqueio da IL-17 por meio de anticorpos
34 monoclonais ou deleção genética levou a resultados contrastantes, desde efeitos

1 protetores e irrelevantes até efeitos deletérios (LEPPKES *et al.*, 2009, YANG *et al.*,
 2 *et al.*, 2008, OGAWA *et al.*, 2004, O'CONNOR *et al.*, 2009). Hueber *et al.*
 3 recrutaram 59 pacientes com DC moderada a grave e os alocaram em uma razão
 4 2:1 para receber secuquinumabe ou placebo. O estudo foi interrompido devido
 5 altas taxas de sérios eventos adversos no grupo do tratamento (HUEBER *et al.*,
 6 2012).
 7



9 **Figura 6 - Visão geral do eixo IL-23/IL-17 na Retocolite Ulcerativa e das drogas ativas nessa**
 10 **via.** Os anticorpos monoclonais rizankizumabe, brazicumabe, miriquizumabe e guselcumabe
 11 reconhecem especificamente a IL-23 pela ligação a subunidade p19. Por outro lado, o
 12 ustequinumabe se liga a subunidade p40 compartilhada pela IL-23 e IL-12. O bloqueio a jusante
 13 da via pode ser atingido com anticorpos monoclonais dirigidos contra a IL- 17 (secuquinumabe,
 14 ixequizumabe e bimequizumabe) e ao IL-17R (brodalumabe) que é especialmente presente nos
 15 neutrófilos e monócitos. Legenda: IL –interleucina. Th – T helper. R – Receptor. **Fonte:** Adaptado
 16 de Noviello (2021).
 17

18 Além da extensão e intensidade da colite, é importante realizar a avaliação
 19 do paciente de forma global e atentar-se a presença de manifestações
 20 extraintestinais e a qualidade de vida como um todo, bem como atentar-se ao
 21 estado vacinal e a presença de doenças infecciosas latentes (KORNBLUTH;
 22 SACHAR, 2010). A sulfassalazina confere maior chance de efeitos adversos do
 23 que os novos aminosalicilatos, como náuseas, vômitos, dispepsia, anorexia,
 24 cefaleia, e até mesmo reações mais graves como reações alérgicas, pancreatite,
 25 hepatotoxicidade, supressão medular, nefrite intersticial, anemia hemolítica ou
 26 megaloblástica e doenças do tecido conectivo induzidas por drogas
 27 (KORNBLUTH; SACHAR, 2010).

1 Como já dito anteriormente, nos pacientes que falham ao tratamento com
2 aminosalicilatos e imunossupressores, o uso de anti-TNF é recomendado, de
3 preferência em terapia combinada com uma tiopurina ou metotrexate, e o
4 controle de resposta a terapia deve ser realizado entre 8 e 12 semanas.
5 Pacientes que falham a terapia com um anti-TNF devem ser candidatos a uso
6 de vedolizumabe para indução de remissão livre de corticoides (BRESSLER *et*
7 *al.*, 2015b).

8 Uma importante meta-análise mostrou que os biológicos IFX, ADA,
9 golimumabe e vedolizumabe apresentaram resposta clínica e cicatrização da
10 mucosa na terapia de indução, em superioridade ao placebo (DANESE *et al.*,
11 2014).

12 Não é recomendado o TMF para pacientes com RCU fora de ensaios
13 clínicos. Também, os dados são insuficientes para a recomendação do uso de
14 probióticos e nicotina nesses pacientes (BRESSLER *et al.*, 2015b).

15 A terapia combinada teve superioridade demonstrada em relação a
16 monoterapia em diversos *trials* randomizados, dentre eles o estudo SONIC
17 (*Study of Biologic and Immunomodulator Naive Patients in Crohn's Disease*), no
18 qual a combinação de um agente anti-TNF (IFX) com uma tiopurina –
19 azatioprina- foi superior ao anti-TNF em monoterapia em atingir remissão livre
20 de corticoide na semana 30 (COLOMBEL *et al.*, 2010). Isso se dá devido ao fato
21 de a terapia combinada ser superior na aquisição de maiores níveis séricos de
22 droga e menor imunogenicidade comparada à monoterapia (COLOMBEL *et al.*,
23 2010). Tal efeito sinérgico não foi estudado com outras classes de
24 imunobiológicos como o vedolizumabe e ustequinumabe.

25 Apesar do sucesso da terapia com os anti-TNF no tratamento das DII, até
26 40,0% dos pacientes mostram falha de resposta primária ou secundária a essa
27 classe de drogas (BEN-HORIS; CHOWERS, 2014, GUERRA; BERMEJO, 2014).
28 Estudos mostram a IL-23 e oncostatina M como alvos alternativos nos pacientes
29 com DII resistente aos medicamentos anti-TNF. Apesar de excelentes
30 terapêuticas anti-inflamatórias, os anti-TNF aparentemente não têm efeito na
31 diminuição da formação de fibrose (FRIEDRICH; POHIN; POWRIE, 2019). O
32 TGF- β representa a principal citocina profibrótica relacionada a formação de
33 estenoses na DC (RIEDER; FIOCCHI; ROGLER, 2017). No entanto, a terapia

1 tendo como alvo o TGF- β se torna difícil devido suas marcadas propriedades
2 anti-inflamatórias (FRIEDRICH; POHIN; POWRIE, 2019).

3 O ustequinumabe, anticorpo monoclonal totalmente humano contra a
4 subunidade p40 da IL-12 e IL-23 é aprovado para uso em RCU e DC moderada
5 a grave. Sua eficácia na indução da remissão foi demonstrada tanto em
6 pacientes que falharam a terapêutica com os anti-TNF quanto aos que falharam
7 a terapia convencional. Trata-se de uma droga com excelente perfil de
8 segurança que não oferece aumento no risco de infecções ou malignidades. No
9 entanto, não existem ainda estudos *head-to-head* que comparem o
10 ustequinumabe com a classe dos anti-integrinas ou anti-TNF, e a decisão
11 terapêutica deve ser individualizada pelo perfil de cada paciente e de acordo com
12 as preferências do mesmo e do médico prescritor (LICHTENSTEIN *et al.*, 2018).

13 As indicações absolutas de terapia cirúrgica na RCU consistem em
14 hemorragias volumosas, perfuração, diagnóstico ou alta suspeita de carcinoma
15 e colites graves com ou sem megacólon tóxico irresponsivo a terapia
16 medicamentosa convencional máxima, além de pacientes com sintomas menos
17 graves, porém intratáveis ou que possuam intolerância a efeitos adversos
18 medicamentosos (KORNBLUTH; SACHAR, 2010).

19 Um desafio futuro será encontrar meios de selecionar os pacientes mais
20 prováveis de responder a uma terapia específica a fim de facilitar a medicina de
21 forma personalizada nos casos de DII.

22 Em muitos casos, existem mecanismos imunológicos compensatórios que
23 levam a inefetividade dos tratamentos existentes ou tornam a doença com pior
24 fenótipo. Uma saída para tratamentos de sucesso seria ter múltiplas respostas
25 de células Th diferentes como alvo no intuito de compensar esses mecanismos
26 compensatórios individuais. Esses tratamentos personalizados podem incluir
27 anticorpos bi específicos ou múltiplos biológicos usados em conjunto. Um modo
28 interessante seria a inibição “pan-Th”, que teria como alvo citocinas múltiplas –
29 e nesse caso os inibidores da JAK se tornam medicações atrativas. É necessário
30 levar em conta o risco potencial aumentado de infecções e neoplasias que essa
31 terapia mais abrangente poderia trazer aos pacientes com DII (IMAM *et al.*,
32 2018).

33
34

2. JUSTIFICATIVA

A RCU é uma doença de etiologia bastante complexa e sua abordagem clínica ainda constitui um grande desafio. A IL-17 tem sido alvo de inúmeros estudos devido a sua importância na fisiopatologia da doença, inclusive sendo alvo terapêutico promissor no tratamento da RCU.

A avaliação de variantes genéticas do *IL17*, que possam interferir na expressão de IL-17 e alterar a suscetibilidade e prognóstico da doença, é de suma importância. Os dados acerca do papel dessas variantes, bem como acerca do papel das variantes dos receptores da IL-17, por meio dos quais a IL-17 exerce sua função biológica, são muito escassos ou inexistentes na fisiopatologia da RCU.

Desta forma, a hipótese deste estudo é que variantes genéticas do *IL17A* e do *IL17RA* possam estar envolvidas na suscetibilidade e/ou atividade endoscópica da RCU.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar se as variantes A>G (rs3819024) e G>A (rs3819025) do gene *IL17A* e as variantes T>C (rs2241043), A>G (rs2241049) e G>A (rs6518661) do gene *IL17RA* estão associadas à suscetibilidade ao desenvolvimento da doença, bem como com a atividade endoscópica em pacientes com RCU.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar a frequência das variantes do gene *IL17A* (rs3819024 e rs3819025) e *IL17RA* (rs2241043, rs2241049 e rs6518661) em pacientes com RCU e indivíduos controles;
- Avaliar a associação entre as variantes genéticas do *IL17A* e a concentração plasmática de IL-17A em pacientes com RCU e em indivíduos controles;
- Associar as variantes genéticas com a atividade endoscópica em pacientes com RCU.

1 4. SUJEITOS E MÉTODOS

3 4.1 ASPECTOS ÉTICOS

4 O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo
5 Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (UEL) (CAAE.
6 06405812.1.0000.5231). Os indivíduos foram convidados a participar
7 voluntariamente da pesquisa e um termo de consentimento livre e esclarecido foi
8 obtido dos indivíduos envolvidos na pesquisa ou de seus responsáveis
9 (Apêndice A). Este estudo foi conduzido de acordo com as diretrizes
10 estabelecidas na Declaração de Helsinque.

12 4.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO E AMOSTRAGEM

14 Este é um estudo caso-controle em que foram selecionados 213
15 indivíduos saudáveis (grupo controle) e 104 pacientes com RCU, de ambos os
16 sexos e com idade entre 18 e 70 anos, atendidos no Hemocentro Regional de
17 Londrina (grupo controle) e pelo ambulatório de Gastroenterologia do
18 Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário de Londrina (AEHU),
19 respectivamente, no período compreendido entre junho de 2018 e junho de 2021.
20 Posteriormente, os pacientes com RCU foram alocados em dois grupos de
21 acordo com a atividade endoscópica: Mayo ≤ 1 (remissão/ atividade leve) e Mayo
22 >1 (atividade moderada/grave) (GOMOLLÓN *et al.*, 2017).

23 Informações referentes a estilo de vida e histórico médico foram obtidas a
24 partir de avaliação clínica de cada indivíduo (Apêndice B). Foram considerados
25 critérios de exclusão em ambos os grupos os seguintes fatores: presença de
26 outras doenças autoimunes, doenças cardiovasculares, doença renal
27 crônica, doença hepática crônica, doenças infecciosas agudas ou crônicas.

28 O diagnóstico de RCU foi realizado de acordo com a avaliação clínica e
29 combinação de investigações endoscópica, histológica e bioquímica conforme
30 proposto pelo terceiro consenso europeu baseado em evidências sobre
31 diagnóstico e manejo das DII (GEDIIB, 2010). Na avaliação clínica, foi
32 considerada a presença de sintomas como aumento da frequência e diminuição
33 da consistência das fezes, presença de diarreia mucossanguinolenta, dor
34 abdominal, tenesmo, urgência fecal, associados ou não à presença de febre,

1 fadiga e anorexia; uso prévio de medicamentos (anti-inflamatórios não
2 esteroidais, antibióticos); doenças infecciosas entéricas; história familiar de DC
3 ou RCU e de CCR; presença de manifestações extraintestinais (reumatológicas,
4 dermatológicas, oftálmicas, e outras) (MAGRO *et al.*, 2017).

6 4.3 EXAMES DE IMAGEM

8 Foram utilizados como critérios as videocolonoscopias com ileoscopias ou
9 videorretossigmoidoscopias dos pacientes para avaliação da atividade
10 endoscópica da DII, com preparo intestinal prévio realizado com manitol a 20%
11 pelo protocolo do serviço do ambulatório de Gastroenterologia do AEHU.

12 As colonoscopias foram realizadas por médicos gastroenterologistas e os
13 achados classificados de acordo com o escore endoscópico de Mayo para RCU.
14 A intensidade da inflamação intestinal determinada por Mayo foi classificada em
15 remissão (0), atividade leve (1), moderada (2) e grave (3) (FAUSEL;
16 KORNBLUTH; DUBINSKI, 2016).

18 4.4 EXAMES LABORATORIAIS

19 *Coleta de sangue e dosagem plasmática da IL-17A*

20 Após jejum de 12h, amostras de sangue foram obtidas com o
21 anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), centrifugadas a 3000
22 rpm por 15 minutos; posteriormente, *buffy-coats* e plasma foram separados e
23 divididos em alíquotas e estocadas a -80 °C até o uso.

24 Os níveis plasmáticos de IL-17A foram determinados usando-se
25 ensaio imunofluorimétrico de microesferas (IL-17A, CTLA-8, Human
26 ProcartaPlex™ Simplex Kit Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific, Vienna,
27 Austria) para a plataforma Luminex (MAGPIX™, Luminex Corp., Austin,
28 TX, USA). Todas as análises foram realizadas de acordo com as
29 instruções do fabricante.

30

1 *Extração do DNA genômico e genotipagem das variantes genéticas do IL17A e* 2 *IL17RA*

3 O DNA genômico foi extraído das células do sangue periférico utilizando-
4 se um protocolo de extração em coluna de resina para genotipagem do *IL17A* e
5 *IL17RA* (Purelink Genomic DNA, Invitrogen by Life Technologies, Carlsbad, CA,
6 USA), seguindo orientações do fabricante. As amostras de DNA foram
7 quantificadas em espectrofotômetro NanoDrop 2000c™ (ThermoScientific,
8 Waltman, MA, USA) em 260nm e a pureza foi avaliada medindo a razão 260/280
9 nm.

10 As variantes do *IL17A* e *IL17RA* foram genotipadas por reação em cadeia
11 da polimerase (PCR) em tempo real (qPCR) utilizando sondas TaqMan®
12 (StepOne, Applied Biosystems by Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)
13 contendo *primers* específicos e sondas fluorescentes para determinação dos
14 genótipos. Os níveis de fluorescência dos produtos de qPCR foram avaliados
15 pelo termociclador StepOne (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

16 Duas SNVs do *IL17A* foram genotipadas: A>G rs3819024 na posição
17 52185988, G>A rs3819025 na posição 52186476, e três SNVs do *IL17RA* T>C
18 rs2241043 na posição 17086917, A>G na rs2241049 na posição 17106790 e
19 G>A na posição 17107085, de acordo com o banco de dados internacional de
20 SNVs (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>).

21

22 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

23

24 Os dados categóricos foram avaliados pelo teste de X^2 ou Exato de Fisher
25 conforme apropriado, e os resultados expressos como número absoluto (n) e
26 percentagem (%). As variáveis contínuas foram avaliadas pelo teste não
27 paramétrico de Mann-Whitney e os dados expressos como mediana e
28 percentis (25% -75%).

29 A associação entre as variantes genéticas do *IL17A* e da *IL17RA* foi
30 analisada em modelos alélico, codominante, dominante, recessivo e
31 overdominante. A análise de regressão logística binária foi realizada para avaliar
32 o efeito das variantes genéticas no grupo estudado e foi determinada a razão de
33 chances (OR) e o intervalo de confiança (IC) de 95%. Para todos os testes
34 estatísticos, foi considerado nível de significância quando $p < 0,05$. Todas as

1 análises foram realizadas usando SPSS IBM Windows versão 24.0 (SPSS, Inc.,
2 Chicago, IL, USA).

3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

1 5. RESULTADOS

2

3 Os resultados desta dissertação estão demonstrados no artigo científico
4 intitulado “**Involvement of *IL17A* e *IL17RA* variants in interleukin-17A levels**
5 **and disease activity in Ulcerative Colitis**” que foi submetido ao periódico
6 científico *Clinical and Experimental Medicine* com fator de impacto de 3.984
7 (2020).

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

1 5.1 ARTIGO

2
3 **Involvement of *IL17A* e *IL17RA* variants in interleukin-17A levels and**
4 **disease activity in Ulcerative Colitis**5
6
7 Mariana Paula Sanchez Zanotti^{1,2}, Camila Cataldi de Alcântara¹, Cláudia Junko
8 Inoue^{1,2}, Beatriz Piantoni Gonçalves^{1,2}, Beatriz Rabello Espinosa¹, Pedro Luiz
9 Cândido de Souza Cassela¹, Guilherme Lerner Trigo¹, Tainhah Mendes
10 Ahrens¹, Marcell Alysson Batisti Lozovoy^{1,3}, Edna Maria Vissoci Reiche^{1,3},
11 Andréa Name Colado Simão^{1,3}.12
13 ¹. Laboratory of Research in Applied Immunology, University of Londrina,
14 Londrina, PR, Brazil15 ². Department of Gastroenterology, University of Londrina, Londrina, PR, Brazil16 ³. Department of Pathology, Clinical Analysis and Toxicology, Laboratory of
17 Research in Applied Immunology, University of Londrina, Londrina, PR, Brazil18
19 * Corresponding author: Andréa Name Colado Simão. Postal address:
20 Department of Pathology, Clinical Analysis and Toxicology – Rua Robert
21 Koch, n 60. University of Londrina, Londrina, Paraná, Brazil. CEP: 86038-440.
22 Tel.: +55- 43-3371-2321; Fax: +55-43-3371-2619.23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41

1 **Abstract**

2
3 **Background:** Ulcerative colitis (UC) is a condition characterized by chronic
4 inflammation of the large intestine. Disease activity and mucosal injury are
5 significantly affected by Th17 cells. Some researches have studied the link
6 between genetic variations in *IL17A* genes and autoimmunity susceptibility,
7 however the data are contradictory and limited in UC.

8 **Objective:** The purpose of this study was to assess the involvement of genetics
9 variants of *IL17A* and *IL17A* receptor (*IL17RA*) on susceptibility, interleukin-17A
10 plasma levels, and endoscopic activity in patients with UC.

11 **Subjects:** The case-control study included 104 UC patients and 213 healthy
12 controls. Patients were divided into two groups of endoscopic activity:
13 remission/mild (MAYO ≤ 1) and moderate/severe (MAYO > 1). The *IL17A*
14 (*rs3819024*, *rs3819025*) and *IL17RA* (*rs2241043*, *rs2241049*, *rs6518661*)
15 variants were genotyped by TaqMan allelic discrimination assay on qPCR. IL-
16 17A plasma levels were determined using microspheres immunofluorimetric
17 assay.

18 **Results:** Our data indicated that neither *IL17A* nor *IL17RA* variants were
19 associated with UC susceptibility. However, *IL17A* GA genotype (*rs3819024*) was
20 associated to elevated levels of IL-17 only in UC patients. Patients with G allele
21 (dominant model) of *IL17RA* (*rs2241049*) showed 2.944 more chance of
22 developing moderate to severe disease.

23 **Conclusion:** In conclusion, *IL17A* GA genotype (*rs3819024*) was associated with
24 elevated IL-17A plasma levels only in UC patients but not in controls. In addition,
25 AG+GG genotypes of *IL17RA* (*rs2241049*) were associated to moderate to
26 severe UC. There is a possible existence of a hidden interaction between the
27 *IL17A* variant (*rs3819024*) and other genetic, epigenetic or environmental
28 variables in IL-17A level modulation, presents in the patients with UC and absent
29 in controls.

30
31 **Keywords:** Ulcerative Colitis; IL-17A; *IL17A* variants; *IL17RA*; MAYO.

32
33
34
35

1 INTRODUCTION

2
3 Ulcerative colitis (UC) is a chronic immune-mediated intestinal
4 inflammatory disease (GRAHAM; XAVIER, 2020). It affects exclusively the
5 proximal and continuous mucosa of the large intestine (CHANG, 2020).

6 According to studies, IL17 cells are uniquely associated with the
7 autoinflammatory response and play a central role in the development of
8 inflammatory bowel diseases (IBD) (ZHAO *et al.*, 2021). Due to their role in
9 autoimmune illnesses and the immune response in the intestinal mucosa, IL17
10 cells have attracted a great deal of interest in recent years (LIU *et al.*, 2009, ZHAO
11 *et al.*, 2021).

12 Th17 cells modulate the inflammatory response in mucosal surfaces and
13 play a significant role in UC autoimmunity (BEVIVINO; MONTELEONE, 2018).
14 IL-17 is a cytokine family composed of six proteins, IL-17A through IL-17F. IL-
15 17A is a potent cytokine that amplifies the inflammatory response by promoting
16 the release of mediators such as tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and
17 interleukin 6 (IL-6) (GAFFEN *et al.*, 2014), as well as inducing genes related to
18 neutrophils chemoattraction, such as the chemokine ligands (CXC) – CXCL1,
19 CXCL2, and CX (MALOY; KULLBERG, 2008).

20 IL-17A can exist either as a homodimer or as a heterodimer with IL-17F.
21 (ZHAO *et al.*, 2021). The function of the cytokines IL-17A and IL-17F is
22 controversial. Apparently, the activity of these cytokines is context-dependent
23 and redundant at times. Moreover, their roles may be organ-dependent
24 (FRIEDRICH; POHIN; POWRIE, 2019).

25 IL-17 exerts its biological function via binding to its receptor. The IL-17
26 receptor (IL-17R) family consists of five sequence-identical members: IL-17RA,
27 IL-17RB, IL-17RC, IL-17RD, and IL-17RE. Numerous cell types express IL-17RA,
28 and its activation by IL-17A initiates communication pathways that stimulate the
29 production of pro-inflammatory molecules. A heterodimeric receptor complex
30 consisting of IL-17RA and IL-17RC is responsible for this activation. Due of its
31 similarity to IL-17A, IL-17F also signals through IL-17RA, but with less affinity
32 (GU; WU; LI, 2013).

33 Although studies from genomic association had led to the identification of
34 some loci related to the development of IBD, single nucleotides variants (SNVs)

1 from non-coding regions and that affect the genetic expression by epigenetic
2 mechanisms, evaluation of these associations with pathophysiological
3 mechanisms of the disease is still required (DE LANGE *et al.*, 2017).

4 Both genome-wide association studies (GWAS) and candidate-gene
5 analysis have revealed a key role for genetic susceptibility factors involving
6 several immunological components in the pathogenesis of IBD (SENHAJI *et al.*,
7 2015). Genetic studies have demonstrated a link between variants in *IL17* genes
8 and susceptibility to UC. However, there are currently no clinical investigations
9 targeting the IL-17 pathway in UC.

10 Despite the significance of IL-17 in the physiopathology of UC, we
11 hypothesize that some SNVs may affect its serum level and be associated with
12 disease activity. Thus, the main goal of this study was to assess the involvement
13 of genetics variants of *IL17A* (rs3819024, rs3819025) and *IL17RA* (rs2241042,
14 2241049, rs6518661) on susceptibility, interleukin-17A plasma levels, and
15 endoscopic activity in patients with UC.

17 **SUBJECTS AND METHODS**

19 *Subjects*

20 This case-control study included 104 patients with UC of both sexes and
21 aged between 18 and 70 years old, consecutively recruited from the
22 Gastroenterology Outpatient of the State University of Londrina, Londrina,
23 Paraná, South Brazil. The diagnosis was established according to clinical
24 evaluation and combination of endoscopic, histological, radiological and
25 biochemical investigations as proposed in 3rd European Evidence-based
26 Consensus on the Diagnosis and Management of UC (MAGRO *et al.*, 2017). As
27 controls, 213 healthy individuals were selected among blood donors of the
28 Regional Blood Bank of Londrina, from the same geographic region of the IBD
29 patients. Based on their MAYO values, patients were divided into two groups of
30 endoscopic activity: remission/mild (MAYO ≤ 1) and moderate/severe (MAYO > 1)
31 (GOMOLLÓN *et al.*, 2017). None of the participants in the study presented other
32 autoimmune diseases, acute or chronic infectious diseases, heart, thyroid,
33 kidney, hepatic or oncologic diseases.

1 Demographic, clinical, and anthropometric data were obtained using a
2 standard questionnaire at the individual's admission. Briefly, body mass index
3 (BMI) was calculated as weight (kg) divided by height (m) squared and the
4 ethnicity was self-reported as Caucasian and non-Caucasian (IBGE, 2011;
5 SUAREZ-KURTZ *et al.*, 2012).

6 This study was conducted after approval by the Institutional Research
7 Ethics Committees of University of Londrina, Paraná, Brazil (CAAE:
8 91833018.2.0000.5231) and all the individuals invited were informed in detail
9 about the research and gave written informed consent.

10 11 *Clinical and endoscopic examinations*

12 The colonoscopies were performed by gastroenterologists and the findings
13 were graded according to Mayo endoscopic score for UC. The inflammatory
14 severity within the intestine determined by Mayo was classified in remission (0),
15 mild (1), moderate (2), and severe (3) (FAUSEL; KORNBLUTH; DUBINSKI,
16 2016).

17 18 *Blood collection and IL-17 evaluation*

19 After fasting for 12 h, venous blood samples were obtained with
20 anticoagulant ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA), centrifuged at 3000 rpm
21 for 15 min; further, buffy-coats and plasma samples were separated and divided
22 into aliquots and stored at -80 °C until use.

23 IL-17A plasma levels were determined using microspheres
24 immunofluorimetric assay (IL-17A, CTLA-8, Human ProcartaPlex™ Simplex
25 Kit Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific, Vienna, Austria) for Luminex platform
26 (MAGPIX™, Luminex Corp., Austin, TX, USA). All the analyzes were performed
27 according to the manufacturer's instructions.

28

1 *Genomic DNA Extraction, IL17A and IL17RA genetic variants genotyping*

2 Genomic DNA was extracted from a buffy coat of peripheral blood cells
3 using a resin column procedure for *IL17A and IL17RA* genotyping (Biopur,
4 Biometrix Diagnostika, Curitiba, Brazil), following the manufacturer's instructions.
5 DNA concentration was measured using a NanoDrop 2000c™
6 spectrophotometer (ThermoScientific, Waltman, MA, USA) at 260nm, and purity
7 was assessed by 260/280 nm ratio.

8 Two SNVs of the *IL17A* gene located on chromosome 6 were genotyped:
9 A>G rs3819024 at position 52185988, G>A rs3819025 at position 52186476, and
10 three SNVs of the *IL17RA* gene located on chromosome 22: T>C rs2241043 at
11 position 17086917, G>A rs2241049 at position 17106790 and A>G rs6518661 at
12 position 17107085, according to the international SNV database
13 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>).

14 The *IL17A* and *IL17RA* variants were genotyped by TaqMan allelic
15 discrimination assay on real-time polymerase chain reaction (qPCR) system
16 (StepOne, Applied Biosystems by Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) and
17 performed using 0.5 µL TaqMan SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems,
18 Foster City, CA, USA) containing two sequence-specific primes and two allele-
19 specific TaqMan® MGB probes with a reporter dye at its 5' end (VIC® or FAM™),
20 5 µL TaqMan Universal Genotyping Master Mix (Applied Biosystems, Foster City,
21 CA, USA), and 5 ng of genomic DNA.

23 *Statistical Analysis*

24 Analysis of contingency tables (χ^2 or Fisher's exact test) were employed
25 to check the associations between categorical variables and diagnostic groups.
26 We assessed the differences in continuous variables between groups using the
27 Mann-Whitney test. Categorical variables were expressed as absolute number
28 (n) and percentage (%) and continuous variables were expressed as median and
29 percentiles (25%-75%). The p-value was adjusted for extraneous variables (age,
30 sex, ethnicity, and BMI) by binary logistic regression test. The odds ratio (OR)
31 and 95% confidence interval (95% CI) were calculated. For all statistical tests
32 $p < 0.05$ was considered for significance level. Statistical analyses were performed
33 using IBM SPSS windows version 24 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

1 RESULTS

2 3 *Characteristics of the subjects*

4 Table 1 shows that patients and controls did not differ in sex ($p=0.358$),
5 ethnicity ($p=0.351$), and BMI ($p=0.344$). However, UC patients were older than
6 controls ($p=0.048$) and were less often smokers ($p=0.032$). According to
7 endoscopic activity evaluated by Mayo, 40 (41.7%) were in remission, 19 (19.8%)
8 presented mild, 27 (28.1%) moderate, and 10 (10.4%) severe endoscopic
9 activity. About the medications currently in use, 75 (88.2%) were taking
10 aminosalicylates, 14 (16.3%) corticosteroids, 16 (18.6%) TNF-inhibitors, while 30
11 (34.9%) used other immunosuppressors. In addition, UC patients showed higher
12 plasma levels of IL-17A when compared to healthy controls ($p<0.001$) (Figure
13 1A).

14 Associations with UC susceptibility were tested in five different genetic
15 models: allelic, codominant, dominant, recessive and overdominant. The groups
16 did not differ regarding the allelic and genotype frequency of *IL17A* rs3819024
17 and rs3819025 variants (Table 2).

18 In addition, there were not association between UC and *IL17RA*
19 rs2241043, rs2241049, and rs6518661 genetic variants. All the analysis were
20 adjusted by age, sex, ethnicity, and tabagism (Table 3).

21 We categorized the patients in two groups according to endoscopic
22 disease activity evaluated by Mayo score: patients in remission or in mild disease
23 activity were classified in group Mayo ≤ 1 , while patients with moderate or severe
24 activity were classified in group Mayo >1 (Table 4). The patients did not differ
25 between ethnicity, sex, tobacco use or treatment with aminosalicylates and TNF
26 inhibitors, but differed between the use of corticosteroids and other
27 immunosuppressive medications.

28 Regarding to endoscopic disease activity, Mayo groups did not differ about
29 allelic and genotype frequency of *IL17A* (rs3819024 and rs3819025) (Table 5),
30 and *IL17RA* (rs2241043 and rs651866) genetic variants (Table 6). However,
31 *IL17RA* rs2241049 variant was associated with moderate to severe disease
32 activity in dominant model (OR 2.944, CI 95% 1.012-8.563, $p=0.047$) (Table 6).
33 The data were adjusted by sex, ethnicity and age. In addition, IL-17A plasma
34 levels did not differ in relation to disease activity (Figure 1B).

1 When we analyzed IL-17A plasma levels, according to the genetic models
2 of rs3819024, we demonstrated that heterozygotic patients (AG, overdominant
3 model) have higher IL-17A plasma levels ($p=0.018$) than other genotypes in UC
4 patients (Figure 1C), but not in control group (data not shown). In relation to the
5 rs3819025 variant, there was a statistic trend toward an association of GA
6 genotype and elevated IL-17A plasma levels ($p=0.079$) when compared to the
7 other genotypes (Figure 1D). There were no associations in controls group (data
8 not shown).

10 **DISCUSSION**

12 The main findings of the present study are that *IL17A* (rs3819024 and
13 rs3819025) and *IL17RA* (rs2241043, rs2241049 and rs6518661) genetic variants
14 were not associated to susceptibility to RCU. Aside from that, the *IL17A* GA
15 genotype (rs3819024) was related with higher IL-17A plasma levels in UC
16 patients but not in healthy controls. Additionally, AG+GG genotypes of *IL17RA*
17 variant (rs2241049) were associated with a 2.94-fold increased chance of
18 developing moderate to severe illness.

19 Our data demonstrated that UC patients had higher IL-17A plasma levels
20 than healthy controls. However, IL-17A was not associated with disease severity.
21 Our data agree with previous studies that also demonstrated elevated IL-17
22 plasma levels in UC patients (LU *et al.*, 2014, KAPLAN *et al.*, 2016). IL-17A was
23 abundantly detected in inflamed IBD mucosa, and its identification represented a
24 hallmark in IBD immunology by revealing a novel pathway for the interaction
25 between adaptive and innate immunity. Upregulation of the pleiotropic
26 proinflammatory IL-17A cytokine has also been reported in patients with active
27 Crohn's disease (CD) and UC (SENHAJI *et al.*, 2015). Th17-related cytokines are
28 elevated in the intestinal mucosa of IBD patients, suggesting that Th17 cells play
29 a major role in disease activity and mucosal destruction (JIANG *et al.*, 2014).
30 However, Th17 cells in the intestines of disease-free mice appeared to enhance
31 intestinal barrier function by stimulating the development of tight junctions and
32 antimicrobial peptides (KINUGASA *et al.*, 2000). Thus, the pathogenicity of Th17
33 cells in IBD is unknown, and the role of Th17 response in the bowel is

1 heterogeneous, with the capacity to be either protective or inflammatory (ZHAO
2 *et al.*, 2021).

3 In the current study, two SNVs of *IL17A* (rs3819024 and rs3819025) and
4 three SNVs of *IL17RA* (rs2241043, rs2241049, and rs6518661) in UC patients
5 that could impact IL-17A concentration or biological effects were examined. The
6 genetic variant rs3819024 is situated in an upstream region (-444 A>G), whereas
7 the variants rs3819025, rs2241043, rs2241049, and rs6518661 are in intron
8 (non-coding) regions. There was no association between *IL17A* rs3819024 and
9 rs3819025 variants and UC susceptibility. Senhaji *et al.* (2015) investigated 10
10 SNVs in five genes, including the SNV rs3819024, in IBD patients and healthy
11 controls and found no indication of a significant connection between these
12 variants and the development of UC. Our results are consistent with those of
13 Senhaji *et al.* (2015). However, Mc Govern *et al.* (2009) investigated patients with
14 CD and controls for 10 SNVs and found that *IL17A* haplotypes were associated
15 with both risk and protection. The H2 haplotype (rs2275913, rs3819025,
16 rs10484879, and rs1974226) was found to be protective in Jewish individuals
17 with CD, but risky in non-Jewish patients. Consequently, it is possible that
18 haplotypes of other *IL17A* variants are related with UC susceptibility.

19 To our knowledge, the *IL17A* variant rs3819025 as well as the *IL17RA*
20 variants rs2241043 and rs6518661 have not been examined in patients with
21 UC but have been studied in patients with other autoimmune disorders
22 (CATANOSO *et al.*, 2013, YAN *et al.*, 2012, KIM *et al.*, 2017). Catanoso *et al.*
23 (2013) demonstrated that the rs2241043, rs2241049, rs3819025, and rs6518661
24 variants were not related with psoriatic arthritis susceptibility. Moreover, Kim *et*
25 *al.* (2017) investigated *IL17RA* (rs2241049) and *IL17A* (rs3819025) variants and
26 found no association between these variants with psoriasis susceptibility.

27 We found that the AG genotype of *IL17A* variant (rs3819024) was related
28 with elevated IL-17A plasma levels in UC patients but not in healthy controls. It is
29 possible that the small number of participants with the GG genotype limited us
30 from finding an association. There are no studies that associated this *IL17A*
31 variant to IL-17 plasma levels or the severity of UC. In addition, patients with the
32 AG genotype of *IL17A* variant (rs3819025) had a statistical tendency toward
33 elevated IL-17A plasma levels when compared to patients with other genotypes,
34 but only in UC patients and not in controls. A previous study found an association

1 between rs3819025 and increased IL-17A serum levels in breast cancer in the
2 presence of G allele (ERDEI *et al.*, 2010).

3 In the present study, the association between AG genotype and IL-17A
4 plasma levels, but not other genotypes, was intriguing. However, an important
5 observation must be made regarding molecular heterosis, which occurs when
6 subjects heterozygous for a particular genetic polymorphism exhibit a
7 significantly greater effect (positive heterosis) or a significantly smaller effect
8 (negative heterosis) than subjects homozygous for each allele (COMINGS, MAC
9 MURRAY, 2000). Interactions between multimeric protein products are believed
10 to be a common source of overdominance, which is anticipated to be quite
11 common. Moreover, intermediate expression levels may be optimum for specific
12 functions (SADAGHIANI *et al.*, 2017).

13 In relation to *IL17RA* variants, we did not find any association between the
14 variants studied and UC susceptibility. Nevertheless, AG+GG genotypes
15 (dominant model) (rs2241049) were associated with a more severe phenotype of
16 UC disease, as assessed by the Mayo score. Somers *et al.* (2015) evaluated
17 patients submitted to lung transplant and found an association between the GG
18 rs2241049 variant and the risk of primary graft dysfunction, most likely due to an
19 increase in IL-17RA and the proliferation and differentiation of IL-17 producing
20 cells, cytokines, and growth factors. The IL-17A producing cells involved are
21 probably part of the innate subset of IL-17 producing cells.

22 There are a number of considerations that must be taken into account
23 when comparing our results to those of others, including the design of the
24 research, the sample size, and the variability of variation frequency within
25 ethnically distinct cohorts. It is essential to underline the extremely diverse ethnic
26 traits of the Brazilian people as a whole. In addition, the complicated interplay
27 between genotypes analyzed and disease severity in UC merits additional
28 exploration.

29 Some limitations of this study should be considered, as the small sample
30 size of participants in the group of UC, which could explain some statistical
31 trends. This is also a case–control design, which does not allow inferences on
32 causal relationship. However, this study has some strength such as the
33 adjustment of variables for many confounding variables including sex, ethnicity,
34 tabagism, and BMI. In addition, to our knowledge, this is the first study to

1 investigate the relationship between *IL17A* rs3819025 and *IL17RA* rs2241043
2 and rs6518661 variants in UC patients.

3 In conclusion, *IL17A* GA genotype (rs3819024) was associated with
4 elevated IL-17A plasma levels only in UC patients but not in controls. In addition,
5 AG+GG genotypes of *IL17RA* (rs2241049) were associated to moderate to
6 severe UC. In addition, we cannot ignore the possibility of a hidden interaction
7 between the *IL17A* variant (rs3819024) and other genetic, epigenetic or
8 environmental variables in IL-17A level modulation, presents in the patients with
9 UC and absent in controls.

11 REFERENCES

12
13 BEVIVINO, G.; MONTELEONE, G. Advances in understanding the role
14 of cytokines in inflammatory bowel disease. *Expert Review of*
15 ***Gastroenterology & Hepatology***, v. 12, n. 9, p. 907-915, 2018.

16
17 CATANOSO, M. G. *et al.* IL-23A, IL-23R, IL-17A and IL-17R
18 polymorphisms in different psoriatic arthritis clinical manifestations in the
19 northern Italian population. ***Rheumatology International***, v. 33, n. 5, p.
20 1165-1176, 2013.

21
22 CHANG, J.T. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Diseases. ***The***
23 ***New England Journal of Medicine***, v. 383, p. 2652-2654, 2020.

24
25 COMINGS, D.; MACMURRAY, J. Molecular heterosis: a
26 review. ***Molecular Genetics and Metabolism***, v. 71, n. 1-2, p. 19-31,
27 2000.

28
29 DE LANGE, K.M. *et al.* Genome-wide association study implicates
30 immune activation of multiple integrin genes in inflammatory bowel
31 disease. ***Nature Genetics***, v. 49, n.2, p. 256-261, 2017.

32
33 ERDEI, Esther *et al.* Polymorphisms in cytokine genes and serum
34 cytokine levels among New Mexican women with and without breast
35 cancer. ***Cytokine***, v. 51, n. 1, p. 18-24, 2010.

36
37 FAUSEL, R. A.; KORNBLUTH, A.; DUBINSKI, M. The first Endoscopy in
38 suspected inflammatory bowel disease. ***Gastrointestinal Endoscopy***
39 ***Clinics***, v. 26, p. 593-610, 2016.

40
41 FRIEDRICH, Matthias; POHIN, Mathilde; POWRIE, Fiona. Cytokine
42 networks in the pathophysiology of inflammatory bowel
43 disease. ***Immunity***, v. 50, n. 4, p. 992-1006, 2019.

44 GAFFEN, S.L. *et al.* Immune Axis: From Mechanisms to Therapeutic
45 Testing. ***Nature Reviews Immunology***, v. 14, n. 9, p. 585-600, 2014.

1
2 GRAHAM, D.B.; XAVIER, R.J. Pathway paradigms revealed from the
3 genetics of inflammatory bowel disease. **Nature**, v. 578, n. 7796, p. 527-
4 539, 2020.

5
6 GOMOLLÓN, F. *et al.* 3rd European Evidence-based Consensus on the
7 Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 1: Diagnosis
8 and Medical Management. **Journal of Crohn's and Colitis.**, v.11, n.1, p.
9 3-25, 2017.

10
11 GU, C.; WU, L.; LI, X. IL-17 family: cytokines, receptors and
12 signaling. **Cytokine**, v. 64, n. 2, p. 477-485, 2013.

13
14 IBGE. Brazilian Institute of Geography and Statistics (2011)
15 Characteristics of the population and households: results of the universe.
16 https://ww2.ibge.gov.br/english/estatistica/populacao/censo2010/caracteristicas_da_populacao/default_caracteristicas_da_populacao.shtm.
17 Accessed 3 Jul 2018.

18
19
20 JIANG, W. *et al.* Elevated levels of Th17 cells and Th-17 related
21 cytokines are associated with disease activity in patients with
22 inflammatory bowel disease. **Inflammation Research**, v. 63, n. 11, p.
23 943-950, 2014.

24
25 KAPLAN, Mustafa *et al.* Are sTWEAK and IL-17A levels in inflammatory
26 bowel disease associated with disease activity and etiopathogenesis?
27 **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 22, n. 3, p. 615-622, 2016.

28
29 KIM, S. Y. *et al.* A preliminary study of new single polymorphisms in the
30 T helper type 17 pathway for psoriasis in the Korean population. **Clinical
31 & Experimental Immunology**, v. 187, n. 2, p. 251-258, 2017.

32
33 KINUGASA, T. *et al.* Claudins regulate the intestinal barrier in response
34 to immune mediators. **Gastroenterology.**, v. 118, n. 6, p. 1001-1011,
35 2000.

36
37 LIU, Z.J. *et al.* Potential role of Th17 cells in the pathogenesis of
38 inflammatory bowel disease. **World Journal of Gastroenterology**, v.
39 15, n. 46, p. 5784-5788, 2009.

40
41 LU, Y. L. *et al.* Effect of qingchang huashi recipe on IL-17 in the plasma
42 and colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. **Chinese Journal
43 of Integrated Traditional and Western Medicine**, v. 34, n. 10, p. 1160-
44 1163, 2014.

45
46 MAGRO, F. *et al.* Third European Evidence-based Consensus on
47 Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 1: Definitions,
48 Diagnosis, Extra-intestinal Manifestations, Pregnancy, Cancer
49 Surveillance, Surgery, and Ileo-anal Pouch Disorders. **Journal of
50 Crohn's and Colitis**, v. 11, n. 6, p. 649-670, 2017.

1
2 MALOY, K.J.; KULLBERG, C. IL-23 and Th17 Cytokines in Intestinal
3 Homeostasis. **Mucosal Immunology**, v. 1, n. 5, p. 339-349, 2008.

4
5 MCGOVERN, Dermot PB *et al.* Genetic Epistasis of IL23/IL17 Pathway
6 Genes in Crohn's Disease Dermot. **Inflammatory Bowel Diseases**, v.
7 15, n. 6, p. 883-889, 2009.

8
9 SADAGHIANI, S. *et al.* Overdominant effect of a CHRNA4 polymorphism
10 on cingulo-opercular network activity and cognitive control. **Journal of**
11 **Neuroscience**, v. 37, n. 40, p. 9657-9666, 2017.

12
13 SENHAJI, N. *et al.* Association of inflammatory cytokine gene
14 polymorphisms with inflammatory bowel disease in a Moroccan
15 cohort. **Genes & Immunity**, v. 17, n. 1, p. 60-65, 2016.

16
17 SUAREZ-KURTZ, G. *et al.* Pharmacogenomic Diversity among
18 Brazilians: Influence of Ancestry, Self-Reported Color, and Geographical
19 Origin. **Frontiers in Pharmacology**, v.3, p.1–7, 2012.

20
21 VAN VUGT, L. J. *et al.* Response to IL-17A inhibitors secukinumab and
22 ixekizumab cannot be explained by genetic variation in the protein-
23 coding and untranslated regions of the IL-17A gene: results from a
24 multicentre study of four European psoriasis cohorts. **Journal of the**
25 **European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 34, n. 1, p.
26 112-118, 2020.

27
28 ZHAO, J. *et al.* Th17 Cells in Inflammatory Bowel Disease: Cytokines,
29 Plasticity, and Therapies. **Journal of Immunology Research**, v. 2021,
30 2021.

31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50

1 **Table 1.** Characteristics of patients with ulcerative colitis (UC) and healthy controls (HC)

	HC	UC	p value
Sex (F/M)	130 (61.0%) / 83 (39.0%)	69 (66.3%) / 35 (33.7%)	0.358
Ethnicity (C/NC)	160 (75.1%) / 53 (24.9%)	73 (70.2%) / 31 (29.8%)	0.351
Tabagism (N/Y)	189 (88.3%) / 25 (11.7%)	94 (95.9%) / 4 (4.1%)	0.032
Age (years)	41 (32-50)	47 (33-55)	0.048
BMI (kg/m ²)	23.3 (22.3 – 28.7)	26.6 (22.8 – 28.4)	0.344
MAYO Endoscopic Score			
Remission		40 (41.7%)	
Mild		19 (19.8%)	
Moderate		27 (28.1%)	
Severe		10 (10.4%)	
Treatment			
Aminosalicylates	---	75 (88.2%)	
Other medications	---	30 (34.9%)	
Corticosteroids	---	14 (16.3%)	
TNF inhibitors	---	16 (18.6%)	

2 Data were expressed by absolute number (%) or as median (25%-75%). F: female; M: male; C:
3 caucasian; NC: non-caucasian; Y: yes; N: no; BMI: body mass index; TNF: tumor necrosis factor.

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

1 **Table 2. *IL17A* genotypes and allele distribution among Brazilian patients with**
 2 **ulcerative colitis (UC) and healthy controls (HC) in different genetic models**

3

	HC (n= 213)	UC (n= 104)	p value*	OR (CI 95%)
<i>IL17A</i> G>A (rs3819024)				
Allelic				
A	304 (71.4%)	150 (72.1%)	Reference	
G	122 (28.6%)	58 (27.9%)	0.8433	0.963 (0.667 – 1.384)
Codominant				
AA	107 (50.2%)	51 (49.0%)	Reference	
AG	90 (42.3%)	48 (46.2%)	0.509	1.181 (0.721 – 1.934)
GG	16 (7.5%)	5 (4.8%)	0.468	0.671 (0.229 – 1.967)
Dominant				
AA	107 (50.2%)	51 (49.9%)	Reference	
AG+GG	106 (49.8%)	53 (51.0%)	0.668	1.103 (0.684 – 1.779)
Recessive				
AA+AG	197 (92.5%)	99 (95.2%)	Reference	
GG	16 (7.5%)	5 (4.8%)	0.373	0.621 (0.218 – 1.771)
Overdominant				
AA+GG	123 (57.7%)	56 (53.8%)	Reference	
AG	90 (42.3%)	48 (46.2%)	0.393	1.233 (0.762 – 1.995)
<i>IL17A</i> A>G (rs3819025)				
Allelic				
A	366 (85.9%)	179 (86.0%)	Reference	
G	60 (14.1%)	29 (14.0%)	0.9614	0.988 (0.610 – 1.597)
Codominant				
AA	156 (73.2%)	77 (74.0%)	Reference	
AG	54 (25.4%)	25 (24.0%)	0.922	1.029 (0.584 – 1.812)
GG	3 (1.4%)	2 (1.9%)	0.735	1.380 (0.213 – 8.933)
Dominant				
AA	156 (73.2%)	77 (74.0%)	Reference	
AG+GG	57 (26.8%)	27 (26.0%)	0.873	1.046 (0.601 – 1.821)
Recessive				
AA+AG	210 (98.6%)	102 (98.1%)	Reference	
GG	3 (1.4%)	2 (1.9%)	0.741	1.367 (0.213 – 8.766)
Overdominant				

AA+GG	159 (74.6%)	79 (76.0%)	Reference	
AG	54 (25.4%)	25 (24.0%)	0.947	1.019 (0.580 – 1.790)

1 Data were expressed by absolute number (%). Bold values represent statistically significant
2 values. *Adjusted by age, sex, and ethnicity. HC: healthy controls; UC: ulcerative colitis; OR:
3 Odds ratio. CI: confidence interval.

4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

1 **Table 3: *IL17RA* genotypes and allele distribution among Brazilian patients**
 2 **with ulcerative colitis (UC) and healthy controls (HC) in different genetic**
 3 **models**
 4

	HC (n= 213)	UC (n= 104)	p value*	OR (CI 95%)
<i>IL17RA</i> T>C rs2241043				
Allelic				
T	241 (56.6%)	103 (49.5%)	Reference	
C	185 (43.4%)	105 (50.5%)	0.0942	1.328 (0.954 – 1.852)
Codominant				
TT	67 (31.5%)	24 (23.1%)	Reference	
TC	107 (50.2%)	55 (52.9%)	0.270	1.383 (0.777 – 2.459)
CC	39 (18.3%)	25 (24.0%)	0.121	1.738 (0.865 – 3.492)
Dominant				
TT	67 (31.5%)	24 (23.1%)	Reference	
TC+CC	146 (68.5%)	80 (76.9%)	0.163	1.476 (0.854 – 2.5510)
Recessive				
TT+TC	174 (81.7%)	79 (76.0%)	Reference	
CC	39 (18.3%)	25 (24.0%)	0.252	1.406 (0.785 – 2.516)
Overdominant				
TT+CC	106 (49.8%)	49 (47.1%)	Reference	
TC	107 (50.2%)	55 (52.9%)	0.729	1.088 (0.675 – 1.755)
<i>IL17RA</i> A>G rs2241049				
Allelic				
A	257 (60.3%)	107 (51.4%)	Reference	
G	169 (39.7%)	97 (46.6%)	0.0610	1.379 (0.981 – 1.935)
Codominant				
AA	78 (36.6%)	29 (28.4%)	Reference	
AG	101 (47.4%)	49 (48.0%)	0.254	1.384 (0.792 – 2.418)
GG	34 (16.0%)	24 (23.5%)	0.082	1.841 (0.925 – 3.666)
Dominant				
AA	78 (36.6%)	29 (28.4%)	Reference	
AG+GG	135 (63.4%)	73 (71.6%)	0.127	1.505 (0.891 – 2.542)
Recessive				
AA+AG	179 (84.0%)	78 (76.5%)	Reference	

GG	34 (16.0%)	24 (23.5%)	0.172	1.517 (0.834 – 2.760)
Overdominant				
AA+GG	112 (52.6%)	53 (52.0%)	Reference	
AG	101 (47.4%)	49 (48.0%)	0.702	1.099 (0.678 – 1.782)
<hr/> IL17RA G>A rs6518661 <hr/>				
Allelic				
G	289 (67.8%)	149 (71.6%)	Reference	
A	137 (32.2%)	59 (28.4%)	0.332	0.835 (0.585 – 1.207)
Codominant				
GG	99 (46.5%)	52 (50.0%)	Reference	
GA	91 (42.7%)	45 (43.3%)	0.893	0.966 (0.585 – 1.595)
AA	23 (10.8%)	7 (6.7%)	0.193	0.537 (0.211 – 1.368)
Dominant				
GG	99 (46.5%)	52 (50.0%)	Reference	
GA+AA	114 (53.5%)	52 (50.0%)	0.593	0.877 (0.543 – 1.418)
Recessive				
GG+GA	189 (88.7%)	97 (93.3%)	Reference	
AA	24 (11.3%)	7 (6.7%)	0.155	0.520 (0.212 – 1.279)
Overdominant				
GG+AA	122 (57.3%)	59 (56.7%)	Reference	
GA	91 (42.7%)	45 (43.3%)	0.804	1.063 (0.656 – 1.724)

1 Data were expressed by absolute number (%). Bold values represent statistically significant
2 values. *Adjusted by age, sex, and ethnicity. HC: healthy controls; UC: ulcerative colitis;
3 OR: Odds ratio; CI: confidence interval.
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22

Table 4. Demographic and clinical parameters in ulcerative colitis according to endoscopic disease activity evaluated by Mayo

	MAYO \leq 1	MAYO > 1	p value*
Ethnicity (C/NC)	42 (71.2%) / 17 (28.8%)	24 (64.9%) / 13 (35.1%)	0.515
Sex (F/M)	40 (67.8%) / 19 (32.2%)	24 (64.9%) / 13 (35.1%)	0.767
Tobacco (Y/N)	3 (5.3%) / 54 (94.7%)	1 (2.7%) / 36 (97.3%)	0.548
Treatment			
Aminosalicylates (Y/N)	47 (92.2%) / 4 (7.8%)	28 (82.4%) / 6 (17.6%)	0.169
Corticosteroids (Y/N)	3 (5.9%) / 48 (94.1%)	11 (31.4%) / 24 (68.6%)	0.002
Other medications (Y/N)	12 (23.5%) / 39 (76.5%)	17 (48.6%) / 18 (51.4%)	0.016
TNF inhibitors (Y/N)	9 (17.6%) / 42 (82.4%)	7 (20.0%) / 28 (80.0%)	0.783

MAYO \leq 1: remission + mild disease; MAYO >1: moderate + severe disease. Data were expressed by absolute number (%). Bold values represent statistically significant values. *Adjusted by age, sex, and ethnicity. F: female; M: male; C: caucasian; NC: non-caucasian; Y: yes; N: no; BMI: body mass index; TNF: tumor necrosis factor.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22

1 **Table 5. *IL17A* genotypes and allele distribution among Brazilian patients**
 2 **with ulcerative colitis according to Mayo score**

3

	MAYO \leq 1	MAYO > 1	p value*	OR (CI 95%)
<i>IL17A</i> A>G				
rs3819024				
Allelic				
A	85 (72%)	53 (71.6%)	Reference	
G	33 (28%)	21 (28.4%)	0.951	1.021 (0.547 – 1.930)
Codominant				
AA	29 (49.2%)	18 (48.6%)	Reference	
AG	27 (45.8%)	17 (45.9%)	0.817	1.108 (0.466 – 2.636)
GG	3 (5.1%)	2 (5.4%)	0.969	0.963 (0.143 – 6.476)
Dominant				
AA	29 (49.2%)	18 (48.6%)	Reference	
AG+GG	30 (50.8%)	19 (51.4%)	0.841	1.090 (0.472 – 2.516)
Recessive				
AA+AG	56 (94.9%)	35 (94.6%)	Reference	
GG	3 (5.1%)	2 (5.4%)	0.933	0.923 (0.142 – 5.989)
Overdominant				
AA+GG	32 (54.2%)	20 (54.1%)	Reference	
AG	27 (45.8%)	17 (45.9%)	0.808	1.111 (0.475 – 2.603)
<i>IL17A</i> G>A				
rs3819025				
Allelic				
G	101 (85.6%)	66 (89.2%)	Reference	
A	17 (14.4%)	8 (10.8%)	0.471	0.720 (0.305 – 1.711)
Codominant				
GG	43 (72.9%)	29 (78.4%)	Reference	
GA	15 (25.4%)	8 (21.6%)	0.441	0.667 (0.239 – 1.866)
AA	1 (1.7%)	0 (0)	1.000	0.0 (0-0)
Dominant				
GG	43 (72.9%)	29 (78.4%)	Reference	
GA + AA	16 (27.1%)	8 (21.6%)	0.359	0.621 (0.224 – 1.720)
Recessive				
GG+GA	58 (98.3%)	37 (100%)	Reference	

AA	1 (1.7%)	0 (0)	1.000	0.0 (0 – 0)
Overdominant				
GG+AA	44 (74.6%)	29 (78.4%)	Reference	
GA	15 (25.4%)	8 (21.6%)	0.478	0.690 (0.248 – 1.922)

1 MAYO \leq 1: remission + mild disease; MAYO >1: moderate + severe disease. Data were expressed
2 by absolute number (%). Bold values represent statistically significant values. *Adjusted by age,
3 sex, and ethnicity. OR: Odds ratio; CI: confidence interval.
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26

1 **Table 6. *IL17RA* genotypes and allele distribution among Brazilian**
 2 **patients with ulcerative colitis according to Mayo score (continuation)**

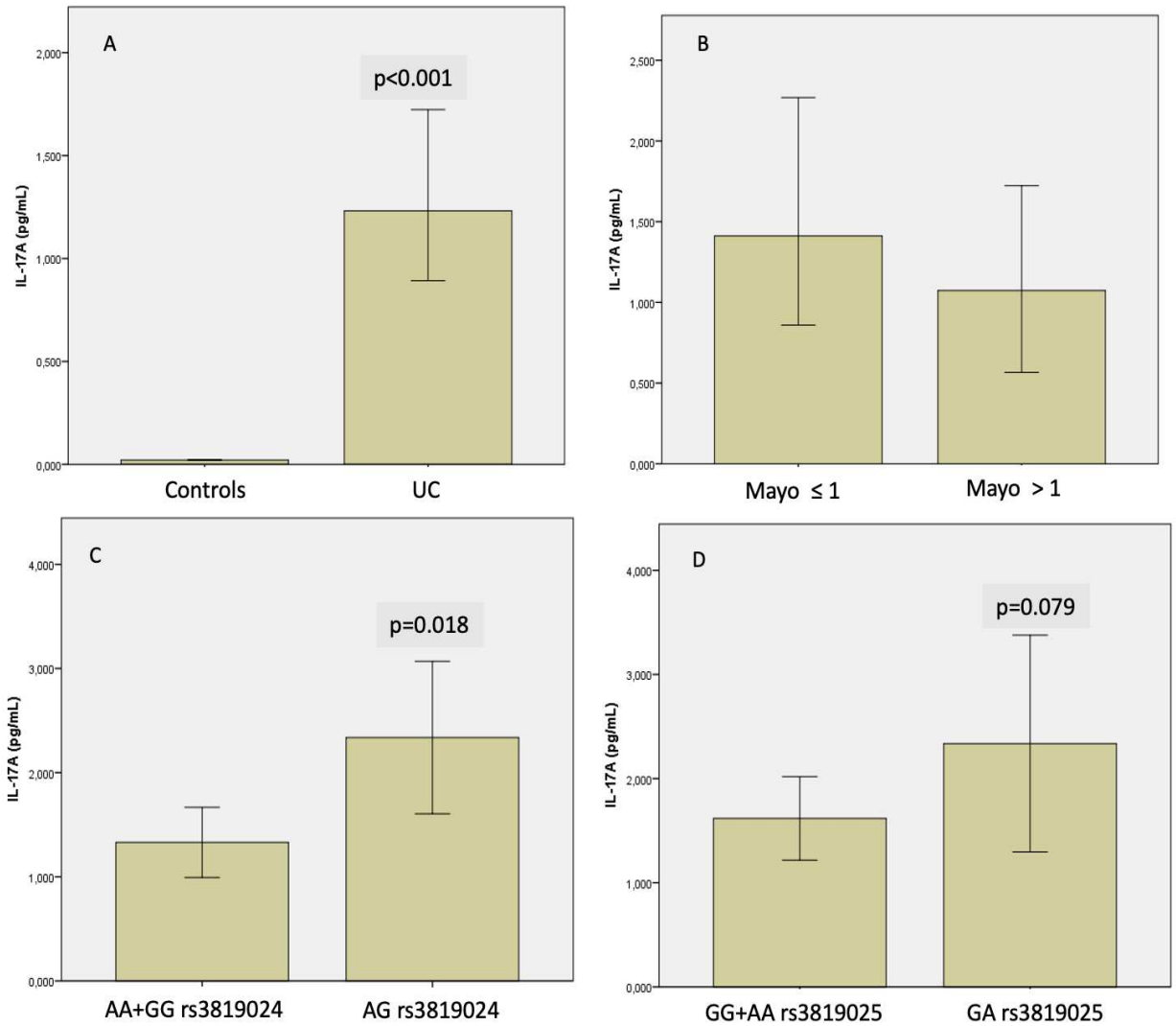
	MAYO ≤1	MAYO > 1	p value*	OR (CI 95%)
<i>IL17RA</i> T>C				
rs2241043				
Allelic				
T	61 (51.7%)	34 (45.9%)	Reference	
C	57 (48.3%)	40 (54.1%)	0.438	1.259 (0.711 – 2.254)
Codominant				
TT	14 (23.7%)	9 (24.3%)	Reference	
TC	33 (55.9%)	16 (43.2%)	0.609	0.764 (0.272 – 2.147)
CC	12 (20.3%)	12 (32.4%)	0.480	1.530 (0.471 – 4.972)
Dominant				
TT	14 (23.7%)	9 (24.3%)	Reference	
TC+CC	45 (76.3%)	28 (75.7)	0.938	0.962 (0.365 – 2.539)
Recessive				
TT+TC	47 (79.7%)	25 (67.6%)	Reference	
CC	12 (20.3%)	12 (32.4%)	0.213	1.835 (0.706 – 4.770)
Overdominant				
TT+CC	26 (44.1%)	21 (56.8%)	Reference	
TC	33 (55.9%)	16 (43.2%)	0.255	0.615 (0.267 – 1.419)
<i>IL17RA</i>				
rs2241049				
Allelic				
A	67 (56.8%)	33 (44.6%)	Reference	
G	51 (43.2%)	41 (55.4%)	0.100	1.632 (0.919 – 2.950)
Codominant				
AA	21 (35.6%)	6 (16.2%)	Reference	
AG	25 (42.4%)	21 (56.8%)	0.050	3.040 (0.998 – 9.260)
GG	13 (22.0%)	10 (27.0%)	0.123	2.742 (0.761 – 9.879)
Dominant				
AA	21 (35.6%)	6 (16.2%)	Reference	
AG+GG	38 (64.4%)	31 (83.8%)	0.047	2.944 (1.012 – 8.563)
Recessive				
AA+AG	46 (78.0%)	27 (73.0%)	Reference	
GG	13 (22.0%)	10 (27.0%)	0.647	1.257 (0.472 – 3.349)

Overdominant				
AA+GG	34 (57.6%)	16 (43.2%)	Reference	
AG	25 (42.4%)	21 (56.8%)	0.172	1.803 (0.773 – 4.202)
<hr/>				
IL17RA G>A				
rs6518661				
<hr/>				
Allelic				
G	85 (72%)	53 (71.6%)	Reference	
A	33 (28%)	21 (28.4%)	0.951	1.021 (0.547 – 1.930)
Codominant				
GG	31 (52.5%)	18 (48.6%)	Reference	
GA	23 (39.0%)	17 (45.9%)	0.510	1.341 (0.561 – 3.205)
AA	5 (8.5%)	2 (5.4%)	0.819	0.811 (0.134 – 4.909)
Dominant				
GG	31 (52.5%)	18 (48.6%)	Reference	
GA+AA	28 (47.5%)	19 (51.4%)	0.592	1.261 (0.541 – 2.940)
Recessive				
GG+GA	54 (91.5%)	35 (94.6%)	Reference	
AA	5 (8.5%)	2 (5.4%)	0.687	0.699 (0.122 – 3.993)
Overdominant				
GG+AA	36 (61.0%)	20 (54.1%)	Reference	
GA	23 (39.0%)	17 (45.9%)	0.458	1.376 (0.592 – 3.200)

1 MAYO ≤1: remission + mild disease; MAYO >1: moderate + severe disease. Data were expressed
2 by absolute number (%). Bold values represent statistically significant values. *Adjusted by age,
3 sex, and ethnicity. OR: Odds ratio; CI: confidence interval.
4

5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

1



2
3 Figure 1: IL-17A plasma levels. A) In Healthy Control (HC) and Ulcerative Colitis (UC), * $p < 0.001$, B)
4 According to endoscopic disease activity. C) According to *IL17A* rs3819024 overdominant model,
5 # $p = 0.018$. D) According to *IL17A* rs3819025 overdominant model, & $p = 0.079$. p values adjusted by age, sex,
6 ethnicity, BMI and medications in use.

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

1 **6. CONCLUSÕES**

2

3 - As variantes avaliadas do *IL17A* (rs3819024, rs3819025) e do *IL17RA*
4 (rs2241043, rs2241049, rs6518661) não foram associadas à suscetibilidade à RCU;

5 - O genótipo AG da variante rs3819024 foi associado a valores plasmáticos
6 mais elevados de IL-17A quando comparado aos demais genótipos, apenas em
7 pacientes com RCU;

8 - A presença do alelo G, em homozigose ou heterozigose, da variante genética
9 do *IL17RA* A>G (rs12241049) foi associada a 2,944 vezes maior chance de atividade
10 endoscópica moderada a grave em pacientes com RCU.

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

1 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

2

3 Nosso estudo encontrou relação entre os níveis séricos de IL-17A apenas em
4 pacientes com RCU, o que levanta a hipótese de uma possível modulação gênica pela
5 doença nesses pacientes.

6 Outro achado importante do estudo foi a relação entre a variante *IL17RA*
7 *rs2241049* e uma maior atividade endoscópica da RCU, o que pode significar um
8 possível marcador de atividade da doença.

9 Os achados citados abrem caminho para um maior entendimento entre
10 polimorfismos do *IL17* e do *IL17RA* e a apresentação da RCU.

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

8. REFERÊNCIAS

- 1
2
3 ABBAS, A.; LICHTAM, A. H.; PILLAI. **Imunologia Celular e Molecular**. Rio
4 de Janeiro: Elsevier: 2019.
5
6 ABRAHAM, C. *et al.* Lessons learned from trials targeting cytokine pathways
7 in patients with inflammatory bowel diseases. **Gastroenterology**, v 152, n.
8 2, p. 374-388. e4. 2017.
9
10 ANDOH, A. *et al.* Interleukin-22, a member of the IL-10 subfamily, induces
11 inflammatory responses in colonic subepithelial myofibroblasts.
12 **Gastroenterology**, v. 129, n. 3, p. 969-984, 2005.
13
14 BENGSTON, M.B. *et al.* Clustering in time of familiar IBD separates
15 ulcerative colites from Crohns disease. **Inflammatory Bowel Diseases**, v.
16 15, n. 12, p. 1867-1874, 2009.
17
18 BEN-HORIS, S.; CHOWERS, Y. Tailoring anti-TNF therapy in IBD: drug
19 levels and disease activity. **Nature Reviews Gastroenterology &**
20 **Hepatology**, v. 11, n. 4, p. 243-255, 2014.
21
22 BERINGER, A.; NOACK, M.; MIOSSEX, P. IL-17 in Chronic Inflammation:
23 From Discovery to Targeting. **Trends in Molecular Medicine**, v. 22, n. 3, p.
24 230-241, 2016.
25
26 BERNSTEIN, C.N. *et al.* The epidemiology of inflammatory bowel disease in
27 Canada: a population-based Study. Official journal of the **American College**
28 **of Gastroenterology**, v. 101, n. 7, p. 1559-1568, 2006.
29
30 BEVIVINO, G.; MONTELEONE, G. Advances in understanding the role of
31 cytokines in inflammatory bowel disease. Expert Review of
32 **Gastroenterology & Hepatology**, v. 12, n. 9, p. 907-915, 2018.
33
34 BLASCHITZ, C.; RAFFATELLY, M. Th17 cytokines and the gut mucosal
35 barrier. **Journal of Clinical Immunology**, v. 30, n. 2, p. 196-203, 2010.
36
37 BRESSLER, B. *et al.* Clinicians' guide tot he use of fecal calprotectin to
38 identify and monitor disease activity in inflammatory bowel disease.
39 **Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 29, n. 7, p.
40 369-372, 2015.
41
42 BRESSLER, B. *et al.* Clinical Practice Guidelines for the Medical
43 Management of Nonhospitalized Ulcerative Colitis: The Toronto Consensus.
44 **Gastroenterology**, v. 148, n. 5, p. 1035-1058. E3, 2015. B
45
46 BRITTON, G.J. *et al.* Microbiotas from humans with inflammatory bowel
47 disease alter the balance of gut Th17 and RORyt+ regulatory T cells and
48 exacerbates colitis in mice. **Immunity**, v. 50, n. 1, p. 212-224. E4, 2019.
49

- 1 BURISCH, J.; MUNKHOLM, P. The epidemiology of inflammatory bowel
2 disease. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 50, n. 8, p. 942-
3 951, 2015.
- 4
- 5 CALDEIRA, L. F. *et al.* Fecal microbiota transplantation in inflammatory
6 bowel disease patients: A systematic review and meta-analysis. **PloS One**,
7 v. 15, n. 9, p. e0238910, 2020.
- 8
- 9 CATANOSO, M. G. *et al.* IL-23A, IL-23R, IL-17A and IL-17R polymorphisms
10 in different psoriatic arthritis clinical manifestations in the northern Italian
11 population. **Rheumatology International**, v. 33, n. 5, p. 1165-1176, 2013.
- 12
- 13 CHANG, J.T. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Diseases. **The New**
14 **England Journal of Medicine**, v. 383, p. 2652-2654, 2020.
- 15
- 16 COLOMBEL, J.F. *et al.* Infliximab, azathioprine, or combination therapy for
17 Crohn's disease. **The New England Journal of Medicine**, v. 362, n. 15, p.
18 1383-1395, 2010.
- 19
- 20 COSNES, J. *et al.* Epidemiology and natural history of inflammatory bowel
21 diseases. **Gastroenterology**, v. 140, n. 6, p. 1785-1794. E4, 2011.
- 22
- 23 DANESE, S. *et al.* Biological agents for moderately to severely active
24 ulcerative colitis: a systematic review and network meta-analysis. **Annals of**
25 **Internal Medicine**, v. 160, n. 10, p. 704-711, 2014.
- 26
- 27 DEFENDENTI, C. *et al.* Significance of serum IL-9 levels in inflammatory
28 bowel disease. **International Journal of Immunopathology and**
29 **Pharmacology**, v. 28, n. 4, p. 569-575, 2015.
- 30
- 31 DE LANGE, K.M. *et al.* Genome-wide association study implicates immune
32 activation of multiple integrin genes in inflammatory bowel disease. **Nature**
33 **Genetics**, v. 49, n.2, p. 256-261, 2017.
- 34
- 35 DIGNASS, A. *et al.* Second European evidence-based consensus on the
36 diagnosis and management of ulcerative colitis part 2: current
37 management. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 6, n. 10, p. 991-1030,
38 2012.
- 39
- 40 DIGNASS, A. *et al.* Second European evidence-based consensus on the
41 diagnosis and management of ulcerative colitis part 1: definitions and
42 diagnosis. **Journal of Crohn's and Colitis** v. 6, n. 10, p. 965-990, 2012.
- 43
- 44 EASTAFF – LEUNG *et al.* Foxp3+ regulatory T cells, Th17 effector cells, and
45 cytokine environment in inflammatory bowel disease. **Journal of Clinical**
46 **Immunology**, v. 30, n. 1, p. 80-89, 2010.
- 47
- 48 EK, W.; D'AMATO, M.; HALFVARSON, J. The history of genetics in
49 inflammatory bowel disease. **Annals of Gastroenterology**, v. 27, n. 4, p.
50 294, 2014.

1
2 FAUSEL, R. A.; KORNBLUTH, A.; DUBINSKI, M. The first endoscopy in
3 suspected inflammatory bowel disease. **Gastrointestinal Endoscopy**
4 **Clinics**, v. 26, p. 593-610, 2016.

5
6 FEAGAN, B.G. *et al.* Induction therapy with the selective interleukin-23
7 inhibitor risankinumab in patients with moderate-to-severe Crohn's disease:
8 a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 study. **The Lancet**,
9 v. 389, n. 10080, p. 1699-1709, 2017.

10
11 FENG, T. *et al.* Th17b cells induce colitis and promote Th1 cell responses
12 through IL-17b induction of innate IL-12 and IL-23 production. **Journal of**
13 **Immunology**, v. 186, n. 11, p. 6313-6318, 2011.

14
15 FLYNN, S.; EISENSTEIN, S. Inflammatory Bowel Disease Presentation and
16 Diagnosis. **Surgical Clinics of North America**, v. 99, n. 6, p. 1051-1062,
17 2019.

18
19 FRIEDRICH, Matthias; POHIN, Mathilde; POWRIE, Fiona. Cytokine
20 networks in the pathophysiology of inflammatory bowel disease. **Immunity**,
21 v. 50, n. 4, p. 992-1006, 2019.

22
23 FUSS, I.J. *et al.* Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13
24 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. **The Journal of**
25 **Clinical Investigation**, v. 113, n. 10, p. 1490-1497, 2004.

26
27 GAFFEN, S.L. *et al.* Immune Axis: From Mechanisms to Therapeutic
28 Testing. **Nature Reviews Immunology**, v. 14, n. 9, p. 585-600, 2014.

29
30 GARRETT *et al.* Communicable ulcerative colitis induced by T- bet
31 deficiency in the innate immune system. **Cell**, v. 131, n. 1, p. 33-45, 2007.

32
33 Grupo de Estudos da Doença Inflamatória Intestinal do Brasil (GEDIIB).
34 Consenso sobre Tratamento da Doença Inflamatória Intestinal 2010.
35 **Gastroenterology** [online], v.47, n.3, p. 313-325, 2010. ISSN 0004-2803.

36
37 GERLACH, K. *et al.* Th9 cells that express the transcription factor PU.1 drive
38 T cell-mediated colitis via IL-9 receptor signaling in intestinal epithelial cells.
39 **Nature Immunology**, v. 15, n. 7, p. 676-686, 2014.

40
41 GLOCKER, E-O. *et al.* Inflammatory bowel disease and mutations affecting
42 the interleukin-10 receptor. **The New England Journal of Medicine**, v. 361,
43 n. 21, p. 2033-2045, 2009.

44
45 GONÇALVES, B. P. *et al.* IL6 genetic variants haplotype is associated with
46 susceptibility and disease activity but not with therapy response in patients
47 with inflammatory bowel disease. **International Journal of Colorectal**
48 **Disease**, v. 36, n. 2, p. 383-393, 2021.

49

1 GRAHAM, D.B.; XAVIER, R.J. Pathway paradigms revealed from the
2 genetics of inflammatory bowel disease. **Nature**, v. 578, n. 7796, p. 527-
3 539, 2020.

4
5 GUERRA, I.; BERMEJO, F. Management of inflammatory bowel disease in
6 poor responders to infliximab. **Clinical and Experimental**
7 **Gastroenterology**, v. 7, p. 359-367, 2014.

8
9 GU, C.; WU, L.; LI, X. IL-17 family: cytokines, receptors and
10 signaling. **Cytokine**, v. 64, n. 2, p. 477-485, 2013.

11
12 HAND, T.W. *et al.* Acute Gastrintestinal infection induces long-lived
13 microbiota-specific T cell responses. **Science**, v. 337, n. 6101, p. 1553-
14 1556, 2012.

15
16 HANSEN, J.; GULATI, A.; SARTOR, R.B. The role of mucosal immunity and
17 host genetics in defining intestinal commensal bacteria. **Current Opinion in**
18 **Gastroenterology**, v. 26, n. 6, p. 564-571, 2010.

19
20 HELLER, F. *et al.* Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative
21 colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution.
22 **Gastroenterology**, v. 129, n. 2, p. 550-564, 2005.

23
24 HOMMES, D. *et al.* Fontolizumab, a humanised anti-interferon gamma
25 antibody, demonstrates safety and clinical activity in patients with moderate
26 to severe Crohn's disease. **Gut**, v. 55, n. 8, p. 1131-1137, 2006.

27
28 HUEBER, W. *et al.* Secukinumab, a human anti-IL-17A monoclonal antibody
29 for moderate to severe Crohn's Disease. Unexpected results of a
30 randomised, double-Blind, placebo-controlled trial. **Gut**, v. 61, n. 12, p.
31 1693-1700, 2012.

32
33 HUNTER, C.A.; Jones, S.A. IL-6 as a keystone cytokine in health and
34 disease. **Nature Immunology**, v. 16, n. 5, p. 448-457, 2015.

35
36 IM, E.; JUNG, J.; RHEE, S.H. Toll-Like Receptor 5 Engagement Induces
37 Interleukin-17C Expression in Intestinal Epithelial Cells. **Journal of**
38 **Interferon & Cytokine Research**, v. 32, n. 12, p. 583-591, 2012.

39
40 IMAM, T. *et al.* Effector T helper cell subsets in inflammatory bowel
41 diseases. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1212, 2018.

42
43 IRVING, P.M.; PASI, K.J.; RAMPTON, D.S. Thrombosis and inflammatory
44 bowel disease. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 3, n. 7, p.
45 617-628, 2005.

46
47 IVANOV, I.I. *et al.* The orphan nuclear receptor RORgammat directs the
48 differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. **Cell**, v. 126,
49 n. 6, p. 1121-1133, 2006.

50

1 IVANOV, I.I. *et al.* Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-
2 producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. **Cell Host &**
3 **Microbe**, v. 4, n. 4, p. 337-349, 2008.

4
5 IWAKURA, Y. *et al.* Functional specialization of interleukin-17 family
6 members. **Immunity**, v. 34, n. 2, p. 149-162, 2011.

7
8 JIANG, W. *et al.* Elevated levels of Th17 cells and Th-17 related cytokines
9 are associated with disease activity in patients with inflammatory bowel
10 disease. **Inflammation Research**, v. 63, n. 11, p. 943-950, 2014.

11
12 KEMPSKI, J. *et al.* Th17 cell and epithelial cell crosstalk during inflammatory
13 bowel disease and carcinogenesis. **Frontiers in Immunology**, v. 8, p. 1373,
14 2017.

15
16 KOTZE, P. G. *et al.* Progression of inflammatory bowel diseases throughout
17 Latin America and the Caribbean: a systematic review. **Clinical**
18 **Gastroenterology and Hepatology**, v. 18, n. 2, p. 304-312, 2020.

19
20 KIM, S.H.; HAN, S.Y.; AZAM, T. Interleukin-32: a cytokine and inducer of
21 TNFalpha. **Immunity**, v. 22, n. 1, p. 131-142, 2005.

22
23 KIM, S. Y. *et al.* A preliminary study of new single polymorphisms in the T
24 helper type 17 pathway for psoriasis in the Korean population. **Clinical &**
25 **Experimental Immunology**, v. 187, n. 2, p. 251-258, 2017.

26
27 KINUGASA, T. *et al.* Claudins regulate the intestinal barrier in response to
28 immune mediators. **Gastroenterology**, v. 118, n. 6, p. 1001-1011, 2000.

29
30 KIRSNER, J.B. Historical aspects of inflammatory bowel disease. **Journal**
31 **of Clinical Gastroenterology**, v. 10, n. 3, p. 286-297, 1988.

32
33 KORNBLUTH, A.; SACHAR, D.B. Ulcerative colitis practice guidelines in
34 adults: American College of Gastroenterology, Practice Parameters
35 Committee. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 105, n. 3, p.
36 501-523, 2010.

37
38 KURASHIMA, Y.; KIYONO, H. Mucosal ecological network of epithelium and
39 immune cells for gut homeostasis and tissue healing. **Annual Review of**
40 **Immunology**, v. 35, p. 119-147, 2017.

41
42 LANGHOLZ, E. *et al.* Incidence and prevalence of ulcerative colitis in
43 Copenhagen County from 1962 to 1987. **Scandinavian Journal of**
44 **Gastroenterology**, v. 26, n. 12, p. 1247-1256, 1991.

45
46 LEE, J. *et al.* Interleukin-23-Independent IL-17 production regulates
47 intestinal epithelial permeability. **Immunity**, v. 43, n. 4, p. 727-738, 2015.

48
49 LEPPKES, M.; NEURATH, M.F. Cytokines in inflammatory bowel diseases –
50 Update 2020. **Pharmacological Research**, v. 158, p. 104835, 2020.

1
2 LI, H. *et al.* Cloning and Characterization of IL-17B and IL-17C, Two New
3 Members of the IL-17 Cytokine Family. **Proceedings of the National**
4 **Academy Sciences**, v. 97, n. 2, p. 773-778, 2000.

5
6 LI, L.; BOUSSIOTIS, V.A. The role of IL-17 producing Foxp3+ CD4+ T cells
7 in inflammatory bowel disease and colon cancer. **Clinical Immunology**, v.
8 148, n. 2, p. 246-253, 2013.

9
10 LICHTENSTEIN, G. R. *et al.* ACG clinical guideline: management of Crohn's
11 disease in adults. **Official Journal of the American College of**
12 **Gastroenterology**, v. 113, n. 4, p. 481-517, 2018.

13
14 LIN, W. *et al.* Function of CSF1 and IL34 in macrophage homeostasis,
15 inflammation, and Cancer. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 2019.

16
17 LIU, J.Z. *et al.* Association analyses identify 38 susceptibility loci for
18 inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across
19 populations. **Nature Genetics**, v. 47, n. 9, p. 979-986, 2015.

20
21 LIU, Z.J. *et al.* Potential role of Th17 cells in the pathogenesis of
22 inflammatory bowel disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 15, n.
23 46, p. 5784-5788, 2009.

24
25 LU, D. *et al.* The phosphatase DUSP2 controls the activity of the
26 transcription activator STAT3 and regulates Th17 differentiation. **Nature**
27 **Immunology**, v. 16, n. 12, p. 1263-1273, 2015.

28
29 MAASER, C. *et al.* ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in
30 IBD Part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of
31 complications. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 13, n. 2, p. 144-164K,
32 2019.

33
34 MAGRO, F. *et al.* Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis
35 and Management of Ulcerative Colitis. Part 1: Definitions, Diagnosis, Extra-
36 intestinal Manifestations, Pregnancy, Cancer Surveillance, Surgery, and
37 Ileo-anal Pouch Disorders. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 11, n. 6, p.
38 649-670, 2017.

39
40 MALOY, K.J.; KULLBERG, C. IL-23 and Th17 Cytokines in Intestinal
41 Homeostasis. **Mucosal Immunology**, v. 1, n. 5, p. 339-349, 2008.

42
43 MATUSIEWICZ, M. *et al.* Systemic interleukin-9 in inflammatory bowel
44 disease: association with mucosal healing in ulcerative colitis. **World**
45 **Journal of Gastroenterology**, v. 23, n. 22, p. 4039-4046, 2017.

46
47 MAXWELL, J.R. *et al.* Differential roles for interleukin-23 and interleukin-17
48 in intestinal immunoregulation. **Immunity**, v. 43, n. 4, p. 739-750, 2015.

49

1 MCGOVERN, Dermot PB *et al.* Genetic Epistasis of IL23/IL17 Pathway
2 Genes in Crohn's Disease Dermot. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 15, n.
3 6, p. 883-889, 2009.

4
5 MOLODECKY, N.A. *et al.* Increasing incidence and prevalence of the
6 inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review.
7 **Gastroenterology**, v. 142, n. 1, p. 46-54. E42, 2012.

8
9 MONSÉN, U. *et al.* Extracolonic diagnoses in ulcerative colitis: an
10 epidemiological study. **American Journal of Gastroenterology** (Springer
11 Nature), v. 85, n. 6, 1990.

12
13 MONTELEONE, G. *et al.* Interleukin 12 is expressed and actively released
14 by Crohn's disease intestinal lamina propria mononuclear cells.
15 **Gastroenterology**, v. 112, n. 4, p. 1169-1178, 1997.

16
17 MONTELEONE, G. *et al.* Interleukin-21 enhances T-helper cell type I
18 signaling and interferon-gama production in Crohn's disease.
19 **Gastroenterology**, v. 128, n. 3, p. 687-694, 2005.

20
21 MONTELEONE, G. *et al.* Control of matrix metalloproteinase production in
22 human intestinal fibroblasts by interleukin 21. **Gut**, v. 55, n. 12, p. 1774-
23 1780, 2006.

24
25 MOSCHEN, A.R.; TILG, H.; RAINE, T. IL-12, IL-23 and IL-17 in IBD:
26 Immunobiology and Therapeutic Targeting. **Nature Reviews**
27 **Gastroenterology & Hepatology**, v. 16, n. 3, p. 185-196, 2019.

28
29 NG, S.C. *et al.* Relationship between human intestinal dendritic cells, gut
30 microbiota, and disease activity in Crohn's disease. **Inflammatory Bowel**
31 **Diseases**, v. 17, n. 10, p. 2027-2037, 2011.

32
33 NGUYEN, N.H, MD, MAS; SINGH, S., MD, MS; SANDBORN, W.J., MD.
34 Positioning Therapies in the Management of Crohn's Disease. **Clinical**
35 **Gastroenterology and Hepatology**, v. 18, n. 6, p. 1268-1279, 2020.

36
37 NIKOLAUS, S.; SCHREIBER, S. Diagnostics of inflammatory bowel
38 disease. **Gastroenterology**, v. 133, n. 5, p. 1670-1689, 2007.

39
40 NINNEMANN, J. *et al.* TNF hampers intestinal tissue repair in colitis by
41 restricting IL-22 bioavailability. **Mucosal Immunology**, p. 1-19, 2022.

42
43 NOLD, M.F. *et al.* IL-37 is a fundamental inhibitor of innate immunity. **Nature**
44 **Immunology**, v. 11, n. 11, p. 1014-1022, 2010.

45
46 NOVIELLO, D. *et al.* The IL23-IL17 Immune Axis in the Treatment of
47 Ulcerative Colitis: Successes, Defeats, and Ongoing Challenges. **Frontiers**
48 **in Immunology**, v. 12, p. 1735, 2021.

49

1 O'CONNOR, W. Jr. *et al.* A protective function for interleukin 17A in T cell-
2 mediated intestinal inflammation. **Nature Immunology**, v. 10, n. 6, p. 603-
3 609, 2009.

4
5 OPPMANN, B. *et al.* Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine,
6 IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12.
7 **Immunity**, v. 13, n. 5, p. 715-725, 2000.

8
9 PARIKH, K. *et al.* Colonic epithelial cell diversity in health and inflammatory
10 bowel disease. **Nature**, v. 567, n. 7746, p. 49-55, 2019.

11
12 PEYRIN-BIROULET, L. *et al.* Defining disease severity in inflammatory
13 bowel diseases: current and future directions. **Clinical Gastroenterology**
14 **and Hepatology**, v. 14, n. 3, p. 348-354. e17, 2016.

15
16 PICKERT, G. *et al.* STAT3 links IL-22 signaling in intestinal epithelial cells to
17 mucosal wound healing. **Journal of Experimental Medicine**, v 206, n. 7, p.
18 1465-1472, 2009.

19
20 POWRIE, F. *et al.* Regulatory interactions between CD45RB^{high} and
21 CD45RB^{low} CD4⁺ T cells are important for the balance between protective
22 and pathogenic cell-mediated immunity. **Journal of Experimental**
23 **Medicine**, v. 179, n. 2, p. 589-600, 1994.

24
25 PINCHBECK, B.R.; KIRDEIKIS, J.; THOMSON, A.B. Inflammatory bowel
26 disease in Northern Alberta. An epidemiological Study. **Journal of Clinical**
27 **Gastroenterology**, v. 10, n. 5, p. 505-515, 1988.

28
29 PONCE-GALLEGOS, Marco A. *et al.* Genetic variants in IL17A and serum
30 levels of IL-17A are associated with COPD related to tobacco smoking and
31 biomass burning. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-11, 2020.

32
33 POTT, J.; KABAT, A.M.; MALOY, K.J. Intestinal Epithelial Cell Autophagy is
34 required to protect against TNF-induced apoptosis during Chronic colitis in
35 mice. **Cell Host & Microbe**, v. 23, n. 2, p. 191-202. e4, 2018.

36
37 RAMAKRISHNAN, S. *et al.* Role of IL-17 in asthma pathogenesis and its
38 implications for the clinic. **Expert Review of Respiratory Medicine**, v. 13,
39 n. 11, p. 1057-1068, 2019.

40
41 RAMPAL, R. *et al.* Retinoic acid is elevated in the mucosa of patients with
42 active ulcerative colitis and displays a proinflammatory role by augmenting
43 IL-17 and IFN γ production. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 27, n. 1, p.
44 74-83, 2021.

45
46 REYNOLDS, J.M. *et al.* Regulation of Intestinal Inflammation and Barrier
47 Function by IL-17C. **The Journal of Immunology**, v. 189, n. 9, p. 4226-
48 4230, 2012.

49

1 RIEDER, F.; FIOCCHI, C.; ROGLER, G. Mechanisms, Management, and
2 treatment of Fibrosis in patients with inflammatory bowel diseases.
3 **Gastroenterology**, v. 152, p. 340-350. e6., 2017.

4
5 ROSINE, N.; MICELI-RICHARD, C. Innate Cells: The Alternative Source of
6 IL-17 in Axial and Peripheral Spondyloarthritis? **Frontiers in Immunology**,
7 v. 11, p. 3206, 2020.

8
9 ROUND, J.L.; MAZMANIAN, S.K. The gut microbiota shapes intestinal
10 immune responses during health and disease. **Nature Reviews**
11 **Immunology**, v. 9, n. 5, p. 313-323, 2009.

12
13 RUTGEERTS, P. *et al.* Infliximab for induction and maintenance therapy for
14 ulcerative colitis. **The New England Journal of Medicine**, v. 353, n. 23, p.
15 2462-2476, 2005.

16
17 SAIRENJI, T.; COLLINS, K.L.; EVANS, D.V. An update on inflammatory
18 bowel disease. **Primary Care**, v. 44, n. 4, p. 673-692, 2017.

19
20 SANDS, B.E. Inflammatory bowel disease: past, present and future. **Journal**
21 **of Gastroenterology**, v. 42, n. 1, p. 16-25, 2007.

22
23 SANDS *et al.* Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for
24 Ulcerative Colitis. **The New England Journal of Medicine**, v. 381, n. 13, p.
25 1201-1214, 2019.

26
27 SATSANGI, J1. *et al.* The Montreal classification of inflammatory bowel
28 disease: controversies, consensus, and implications. **Gut**, v.55, n. 6, p. 749-
29 753, 2006.

30
31 SCHIERING, C. *et al.* Feedback control of AHR signaling regulates intestinal
32 immunity. **Nature**, v. 542, n. 7640, p. 242-245, 2017

33
34 SCHULZ-KUHNT, A. *et al.* Innate lymphoid cells as regulators of epithelial
35 integrity: therapeutic implications for inflammatory bowel
36 diseases. **Frontiers in Medicine**, v. 8, p. 350, 2021.

37
38 SENHAJI, N. *et al.* Association of inflammatory cytokine gene
39 polymorphisms with inflammatory bowel disease in a Moroccan
40 cohort. **Genes & Immunity**, v. 17, n. 1, p. 60-65, 2016.

41
42 SHANAHAN, F. The gut microbiota – A clinical perspective on lessons
43 learned. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 9, n. 10, p.
44 609-614, 2012.

45
46 SHEVACH, E.M.; THORNTON, A.M. tTregs, pTregs and iTregs: similarities
47 and differences. **Immunological Reviews**, v. 259, n. 1, p 88-102, 2014.

48
49 SIEGEL, C.A. *et al.* Development of an index to define overall disease
50 severity in IBD. **Gut**, v. 67, n. 2, p. 244-254, 2018.

1
2 SOMERS, J. *et al.* Interleukin-17 receptor polymorphism predisposes to
3 primary graft dysfunction after lung transplantation. **The Journal of Heart**
4 **and Lung Transplantation**, v. 34, n. 7, p. 941-949, 2015.

5
6 STARK, M.A. *et al.* Phagocytosis of apoptotic neutrophils regulates
7 granulopoiesis via IL-23 and IL-17. **Immunity**, v. 22, n. 3, p. 285-294, 2005.

8
9 STARNES, T. *et al.* IL-17F, a Novel Cytokine Selectively Expressed in
10 Activated T Cells and Monocytes, Regulates Angiogenesis and Endothelial
11 Cell Cytokine Production. **The Journal of Immunology**, v. 167, n. 8, p.
12 4137-4140, 2001.

13
14 STEFANICH, E. G. *et al.* Pre-clinical and translational pharmacology of a
15 human interleukin-22 IgG fusion protein for potential treatment of infectious
16 or inflammatory diseases. **Biochemical Pharmacology**, v. 152, p. 224-235,
17 2018.

18
19 SZEKANECZ *et al.* Autoinflammation and autoimmunity across rheumatic
20 and musculoskeletal diseases. **Nature Reviews Rheumatology**, p. 1-11,
21 2021.

22
23 TANAKA, T. *et al.* IL-6 in inflammation, immunity and disease. **Cold Spring**
24 **Harbor Perspectives in Biology**, v. 6, n. 10, p. a016295, 2014.

25
26 TANG, K-Y. *et al.* Safety, pharmacokinetics, and biomarkers of F-652, a
27 recombinant human interleukin-22 dimer, in healthy subjects. **Cellular &**
28 **Molecular Immunology**, v. 16, n. 5, p. 473-482, 2019.

29
30 TEIXEIRA, F.V.; HOSNE, R.S; SOBRADO, C.W. Management of ulcerative
31 colitis: a clinical update. **Journal of Coloproctology**, v. 35, n. 4, p. 230-237,
32 2015.

33
34 TIAN, Y.; ZAJAC, A.J. IL-21 and T-cell differentiation: consider the context.
35 **Trends in Immunology**, v.37, n. 8, p. 557-568, 2016.

36
37 TRINCHIERI, G. *et al.* The IL-12 family of heterodimeric cytokines: new
38 players in the regulation of T cell responses. **Immunity**, v. 19, n. 5, p. 641-
39 644, 2003.

40
41 UHLIG, H.H. *et al.* Differential activity of IL-12 and IL-23 in mucosal and
42 systemic innate immune pathology. **Immunity**, v. 25, n. 2, p. 309-318, 2006.

43
44 VAN ASSCHE, G. *et al.* The second evidence-based Consensus on the
45 diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and
46 diagnosis. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 4, n. 1, p. 7-27, 2010.

47
48 VAN ASSCHE, G. *et al.* Second European evidence-based consensus on
49 the diagnosis and management of ulcerative colitis part 3: special
50 situations. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 7, n. 1, p. 1-33, 2013.

1
2 VAN VUGT, L. J. *et al.* Response to IL-17A inhibitors secukinumab and
3 ixekizumab cannot be explained by genetic variation in the protein-coding
4 and untranslated regions of the IL-17A gene: results from a multicentre
5 study of four European psoriasis cohorts. **Journal of the European**
6 **Academy of Dermatology and Venereology**, v. 34, n. 1, p. 112-118, 2020.

7
8 VIND, I. *et al.* Increasing incidences of inflammatory bowel disease and
9 decreasing surgery rates in Copenhagen City and County, 2003-2005: a
10 population-based Study from the Danish Crohn colitis database. Official
11 journal of the **American College of Gastroenterology**, v. 101, n. 6, p.
12 1274-1282, 2006.

13
14 WANG *et al.* Targeting JAK/STAT signaling pathways in treatment of
15 inflammatory bowel disease. **Inflammation Research**, p. 1-12, 2021.

16
17 WATANABE, T. *et al.* NOD2 is a Negative Regulator of Toll-like receptor 2-
18 Mediated T helper type 1 responses. **Nature Immunology**, v. 5, n. 8, p.
19 800-808, 2004.

20
21 WEDEBYE SCHMIDT, E.G. *et al.* Th17 cell induction and effects of IL-17A
22 and IL-17F blockade in experimental colitis. **Inflammatory Bowel Diseases**,
23 v. 19, n. 8, p. 1567-1576, 2013.

24
25 WEI, H-X; WANG, B.; LI, B. IL-10 and IL-22 in mucosal immunity: driving
26 protection and pathology. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 1315, 2020.

27
28 WU, TW *et al.* Associations of common genetic variants on IL-17 genes and
29 carotid intima-media thickness. **Journal of Atherosclerosis and**
30 **Thrombosis**, v. 25, n. 11, p. 1156-1167, 2018.

31
32 XAVIER, R.J.; PODOLSKY, D.K. Unravelling the pathogenesis of
33 inflammatory bowel disease. **Nature**, v. 448, n. 7152, p. 427-434, 2007.

34
35 YAN, Ni *et al.* Association of interleukin-17A and-17F gene single-nucleotide
36 polymorphisms with autoimmune thyroid diseases. **Autoimmunity**, v. 45, n.
37 7, p. 533-539, 2012.

38
39 YANG, X.O. *et al.* Regulation of Inflammatory Responses by IL-17F. **The**
40 **Journal of Experimental Medicine**, v. 205, n. 5, p. 1063-1075, 2008.

41
42 YANG, J. *et al.* Targeting Th17 cells in autoimmune diseases. **Trends in**
43 **Pharmacological Sciences**, v. 35, n. 10, p. 493-500, 2014.

44
45 ZENEWICZ, L.A. *et al.* Innate and adaptive interleukin-22 protects mice from
46 inflammatory bowel disease. **Immunity**, v. 29, n. 6, p. 947-957, 2008.

47
48 ZHANG, J. *et al.* Associations between STAT3 rs744166 polymorphisms
49 and susceptibility to ulcerative colitis and Crohn's disease: a meta-analysis.
50 **PLoS One**, v. 9, n. 10, p. e109625, 2014.

1
2 ZHAO, J. *et al.* Th17 Cells in Inflammatory Bowel Disease: Cytokines,
3 Plasticity, and Therapies. **Journal of Immunology Research**, v. 2021,
4 2021.

5
6 ZHENG, Y. *et al.* Interleukin-22 mediates early host defense against
7 attaching and effacing bacterial pathogens. **Nature Medicine**, v. 14, n. 3, p.
8 282-289, 2008.

9
10 ZHOU, L.; SONNENBERG, G.F. Essential immunologic orchestrators of
11 intestinal homeostasis. **Science Immunology**, v. 3, n. 20, 2018.
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37

APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) para participar da pesquisa **“AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS, DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA E DOS BIOMACADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL: ASSOCIAÇÃO COM A ATIVIDADE DA DOENÇA”**, a ser realizada no Ambulatório de Gastroenterologia do Hospital Universitário de Londrina . O objetivo da pesquisa é “estudar os mecanismos imunológicos, genético e de estresse oxidativo envolvidos na Doença Intestinal Inflamatória”. Sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: realização de uma avaliação clínica pelo médico gastroenterologista e uma coleta de sangue.

Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo o (a) senhor (a): recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Todos os dados coletados, clínicos e laboratoriais, serão descartados após a publicação do estudo. Esclarecemos ainda, que o(a) senhor(a) não pagará e nem será remunerado(a) por sua participação.

Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação. A sua participação neste estudo contribuirá para o melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos no desenvolvimento da doença. Quanto aos riscos, informamos que sua participação não acarretará em qualquer risco à sua saúde nem alteração de qualquer um dos seus tratamentos. A coleta de sangue pode ocasionar sinais decorrentes da punção venosa e consiste: dor no local da punção venosa ou pequeno hematoma e, muito raramente, vermelhidão ou infecção local. Mesmo sendo mínimos, caso ocorra algum tipo de desconforto o participante será prontamente atendido e amparado pelos farmacêuticos responsáveis pela coleta de sangue e um dos

1 pesquisadores deste estudo.
2 Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá
3 nos contatar (**Andréa Name Colado Simão, Avenida Robert Koch 60, telefone:**
4 **3371-2321, 99627-8181**), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo
5 Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC –
6 Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371- 5455, e-mail:
7 cep268@uel.br

8

9 Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas
10 devidamente preenchida, assinada e entregue ao (à) senhor(a).

11

12

13

Londrina, ___ de _____ de 202_.

14

15 **Pesquisadores Responsáveis:**

16 **Profa Dra. Andréa Name Colado Simão**

17 RG: 6.226.736-4

18 Tel: 3371-2321 / 99627-8181

19

20

21

22 _____ tendo sido devidamente esclarecido
23 sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da
24 pesquisa descrita acima.

25

26

Assinatura : _____

27

Data: _____

28

29

30

31

32

33

34

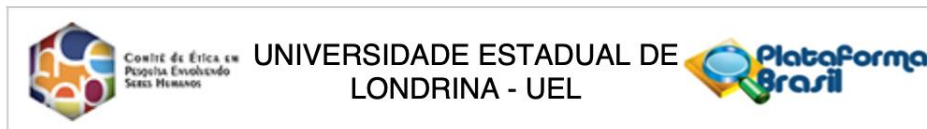
1

APÊNDICE B - FICHA DE AVALIAÇÃO PROJETO DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL

Nome:	Prontuário:
DN:	Idade na coleta:
Telefone:	
Etnia: () Caucasiano	() Não Caucasiano
Sexo: () Feminino	() Masculino
Peso:	Altura:
IMC:	
Circ. Abdominal:	PA:
Fumante: () Não () Sim	Frequência semanal:
Etilismo: () Não () Sim	Frequência semanal:
Diagnóstico: () Doença de Crohn	() Retocolite Ulcerativa
Depressão: () Sim	() Não
Medicamentos	
Antioxidantes/Vitaminas:	
Mesalazina: () oral () retal	Dose:
Sulfassalazina:	Dose:
Azatioprina:	Dose:
Metotrexate:	Dose:
Inibidores de TNF: () Infliximabe	Dose:
() Adalimumabe	Dose:
Prednisona:	Dose:
Outros Medicamentos:	
Metformina:	
Sinvastatinas:	
Anti-hipertensivos:	
Outros:	
Atividade da Doença: () Sim () Não	
Clínico: CDAI	
TrueLove Whit:	
Endoscópico: Mayo:	
Rutgeers:	
CDEIS:	
Outras doenças:	

ANEXOS

1 ANEXO A - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES
2 HUMANOS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação de polimorfismos genéticos, da resposta imunológica e dos biomarcadores de estresse oxidativo em pacientes com doença inflamatória intestinal: associação com a atividade da doença

Pesquisador: Andréa Name Colado Simão

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 91833018.2.0000.5231

Instituição Proponente: CCS - Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicologias

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.767.257

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo caso-controle prospectivo. Serão avaliados 200 indivíduos controles e 200 pacientes com Doença Inflamatória Intestinal (DII), de ambos os sexos e com idade entre 18 a 70 anos, atendidos pelo ambulatório de gastroenteriologia do Ambulatório de Especialidade do Hospital Universitário (AEHU) cuja contribuição para a pesquisa será a realização de uma avaliação clínica pelo médico gastroenterologista e uma coleta de sangue. O grupo controle será composto por indivíduos avaliados em projeto de pesquisa anterior, cuja amostras já foram coletadas (CAAE: 06405812.1.0000.5231) e os testes laboratoriais já realizados. As DIIs são caracterizadas por condições inflamatórias crônicas em resposta a um desequilíbrio imunológico da mucosa intestinal, principalmente associado às células do sistema imune adaptativo que reconhecem autoantígenos. Os dois grandes exemplos destas doenças são a Retocolite Ulcerativa Idiopática (RCUI) e a Doença de Crohn (DC). A RCUI caracteriza-se por uma inflamação limitada à mucosa colônica em um processo que envolve o reto em 95% dos casos e manifesta-se principalmente com diarreia sanguinolenta associada a tenesmo e urgência fecal. Já a DC pode acometer todo o trato digestório, desde a boca até o ânus, e é caracterizada por formação de estenoses, fístulas, úlceras e granulomas na mucosa. A hipótese do presente estudo é que o polimorfismo genético (PCR, TNF-, CCR5, FOXP3) junto com os biomarcadores imunológicos e estado redox dos pacientes com DII estejam associados com a atividade da doença.

Endereço: LABESC - Sala 14

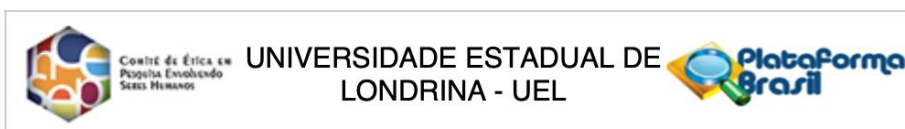
Bairro: Campus Universitário

UF: PR **Município:** LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

CEP: 86.057-970

E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 2.767.257

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o polimorfismo genético (PCR, TNF-, CCR5, FOXP3); o perfil de citocinas, e o estado redox em pacientes com DII e verificar se estes fatores estão associados com a atividade da doença.

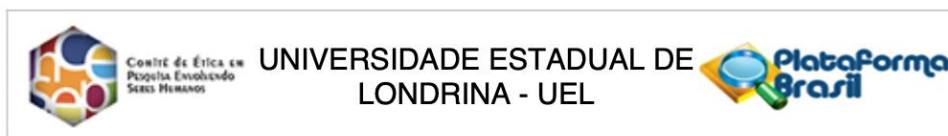
Objetivo Secundário:

- Determinar a frequência dos polimorfismos da PCR em pacientes com DII e indivíduos controles;
- Avaliar a associação entre os polimorfismos da PCR e as características clínicas e laboratoriais dos pacientes com DII;
- Determinar a frequência do polimorfismo do gene do TNF em pacientes com DII e indivíduos controles;
- Avaliar a associação entre o polimorfismo do gene do TNF e as características clínicas e laboratoriais dos pacientes com DII;
- Determinar a frequência do polimorfismo genético CCR532 em pacientes com DII e indivíduos controles;
- Avaliar a associação entre o polimorfismo genético CCR532 e as características clínicas e laboratoriais dos pacientes com DII;
- Determinar a frequência dos polimorfismos da FOXP3 em pacientes com DII e indivíduos controles;
- Avaliar a associação entre os polimorfismos da FOXP3 e as características clínicas e laboratoriais dos pacientes com DII;
- Comparar os níveis plasmáticos dos marcadores de EO em indivíduos controles (saudáveis) e pacientes com DII;
- Verificar se há associação entre os marcadores de EO e a atividade da doença; - Estabelecer o perfil de resposta imunológica em indivíduos controles (saudáveis) e em pacientes com DII;
- Verificar se há associação entre os níveis de citocinas e a atividade da doença;
- Propor preditores genéticos, imunológicos e de estresse oxidativos para diagnóstico, atividade e progressão da doença.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo a pesquisadora a coleta de sangue pode ocasionar sinais decorrentes da punção venosa e consiste: dor no local da punção venosa ou pequeno hematoma e, muito, raramente vermelhidão ou infecção local. Mesmo sendo mínimos, caso ocorra algum tipo de desconforto o participante será prontamente atendido e amparado pelos farmacêuticos responsáveis pela coleta de sangue e um dos pesquisadores deste estudo. Os benefícios do estudo será a contribuição para o

Endereço: LABESC - Sala 14
Bairro: Campus Universitário **CEP:** 86.057-970
UF: PR **Município:** LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455 **E-mail:** cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 2.767.257

conhecimento das frequências de vários polimorfismos genéticos em pacientes brasileiros com DII e o seu possível envolvimento com a susceptibilidade a RCU e DC. Espera-se com este estudo contribuir para o entendimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos no desenvolvimento e atividade da doença, assim como propor preditores de diagnóstico, atividade e progressão da doença.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é relevante.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisadora apresentou folha de rosta assinada pela vice chefe do Departamento de Análises Clínicas e autorização da Instituição coparticipante. O TCLE foi apresentado em forma de convite e está adequado, o orçamento é de R\$ 26.000,00 referente aos kits de reagentes químicos e a pesquisadora esclarece que os mesmos foram adquiridos com verbas de projetos anteriores e que todos os outros custos referentes ao projeto de pesquisa serão de responsabilidade dos pesquisadores envolvidos. O cronograma prevê o início da pesquisa em agosto/2018. Os riscos foram previstos e constam no TCLE e nas informações básicas do Projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

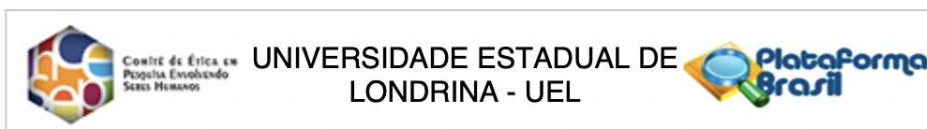
Não há pendências ou inadequações.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1130772.pdf	18/06/2018 21:18:20		Aceito
Outros	material_biologico.pdf	18/06/2018 21:09:08	Andréa Name Colado Simão	Aceito
Outros	confidenciabilidade_sigilo.pdf	18/06/2018 21:08:42	Andréa Name Colado Simão	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	termo_sigilocoletadados.pdf	18/06/2018 21:07:50	Andréa Name Colado Simão	Aceito
Declaração de Instituição e	ParecerHU.pdf	18/06/2018 21:07:29	Andréa Name Colado Simão	Aceito

Endereço: LABESC - Sala 14
Bairro: Campus Universitário **CEP:** 86.057-970
UF: PR **Município:** LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455 **E-mail:** cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 2.767.257

Infraestrutura	ParecerHU.pdf	18/06/2018 21:07:29	Andréa Name Colado Simão	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	18/06/2018 21:07:11	Andréa Name Colado Simão	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetoDII.docx	18/06/2018 21:07:00	Andréa Name Colado Simão	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto.pdf	18/06/2018 21:05:39	Andréa Name Colado Simão	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LONDRINA, 11 de Julho de 2018

Assinado por:
Adriana Lourenço Soares
(Coordenador)

Endereço: LABESC - Sala 14
Bairro: Campus Universitário
UF: PR **Município:** LONDRINA **CEP:** 86.057-970
Telefone: (43)3371-5455 **E-mail:** cep268@uel.br

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Zanotti, Mariana Paula Sanchez.

ENVOLVIMENTO DE VARIANTES DOS GENES IL17A E IL17RA NA RETOCOLITE ULCERATIVA / Mariana Paula Sanchez Zanotti. - Londrina, 2022.
100 f. : il.

Orientador: Andrea Name Colado Simão.

Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, 2022.
Inclui bibliografia.

1. Doença de Crohn - Tese. 2. Retocolite Ulcerativa - Tese. 3. Doença inflamatória intestinal - Tese. 4. Polimorfismo genético - Tese. I. Simão, Andrea Name Colado. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial. III. Título.

CDU 61]