



Identificação de regiões diferencialmente metiladas entre indivíduos hemofílicos e não hemofílicos: associação com o desenvolvimento de anticorpos inibidores

Thiago Barbosa de Souza, Liliana Carmen Rossetti, Carlos Daniel de Brasi, Enrique Medina-Acosta

Introdução: A hemofilia A é uma coagulopatia caracterizada pela deficiência do fator VIII. Resulta em sangramentos espontâneos ou de maior intensidade em procedimentos cirúrgicos e traumas. A terapia consiste em repor por infusão intravenosa o fator VIII. Um hemofílico pode desenvolver anticorpos, denominados de inibidores, que reduzem a eficácia terapêutica, o que encarece o tratamento. Diversos fatores genéticos e não genéticos têm sido associados ao desenvolvimento de inibidores. Nenhum estudo descreveu ainda influências epigenéticas associadas ao desenvolvimento de inibidores. Este trabalho tem como proposta interrogar o estado de metilação pontual em genes da resposta imune em indivíduos hemofílicos e não hemofílicos para identificar marcas epigenéticas associadas ao desenvolvimento de inibidores. **Objetivo:** Determinar o estado de metilação em 10 sítios CpG selecionados nos genes *IL1B*, *IL2*, *IL4*, *IL6*, *IL10*, *CST7*, *TNF* e *IFNG* em indivíduos argentinos sendo hemofílicos positivos para inibidores (*Inh+*), hemofílicos negativos (*Inh-*) ou controles não hemofílicos (*CNH*). **Metodologia:** Interrogação do estado de metilação pontual em sítios CpG nos genes alvo por ensaio de digestão enzimática sensível à metilação seguida de PCR quantitativa por fluorescência em 10 hemofílicos (*Inh+*), 10 hemofílicos (*Inh-*) e 10 indivíduos *CNH*. **Resultados e Discussão:** Dos 10 sítios CpGs alvo, três (*IFNG*, *IL4* alvo 2 e *IL4* alvo 3) apresentaram estado de hipermetilação (próximo a 100%). Outros três sítios CpG (*IL2*, *IL1B* e *TNF*) apresentaram estado de hipometilação (próximo a 0%). Quatro demais sítios (*IL4* CpG alvo 1, *IL10*, *CST7* e *IL6*) apresentaram estado intermediário de metilação (próximo a 50%). As diferenças dos estados de metilação pontual foram estatisticamente significativas ($P < 0,05$) entre os grupos: *CNH* x *Inh(+)* para os sítios CpG alvo 1 e 3 do gene *IL4* e *IL6*, respectivamente, e *CNH* x *Inh(-)* no sítio CpG no gene *CST7*. Contudo, a variação observada nos perfis de metilação entre os grupos *Inh(+)* e *Inh(-)* não foi significativa. **Conclusão:** Foram identificadas diferenças probabilisticamente significativas na marca epigenética de metilação de DNA em sítios CpG exclusivamente entre os grupos de indivíduos hemofílicos e não hemofílicos independentemente da ocorrência de inibidores.

Palavras-chave: Hemofilia A, Inibidores, Metilação do DNA.

Instituição de fomento: CONICET/FAPERJ, NUDIM