



IMPACTO DE POLIMORFISMOS DELETÉRIOS NO GENE *IL7R*: UMA ANÁLISE BIOINFORMÁTICA NA ESCLEROSE MÚLTIPLA

GABRIELA CRISTINA DA SILVA; KARINA COLOMBERA PERES

RESUMO

A esclerose múltipla (EM) é uma doença autoimune que atinge o sistema nervoso central (SNC) causando desmielinização dos axônios, e consequentemente dificulta a transmissão do impulso nervoso. A fisiopatologia envolve uma grande produção de linfócitos T reativos, que seguem para a bainha de mielina, causando um processo inflamatório e destrutivo. O gene *IL7R* codifica uma proteína que tem função essencial para a ligação da interleucina 7 (IL-7), sendo esta a responsável pela maturação dos linfócitos B e ativação de células T. Estudos anteriores descreveram que a de sinalização excessiva desta ligação pode ser associada à EM. Polimorfismos (SNPs) são trocas de nucleotídeos único que acontecem no DNA e sua localização pode ter grande influência na produção, tamanho e função da proteína codificada. A identificação de SNPs em genes associados a doenças pode ser útil na verificação da suscetibilidade individual e prognóstico de casos clínicos. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito deletério de SNPs na proteína *IL7R*. Foi realizada uma análise bioinformática do gene *IL7R*, por meio de 11 ferramentas diferentes, para avaliar os impactos presença dos SNPs na função e estabilidade da proteína. Vinte e um (21) SNPs foram considerados deletérios por 75% das ferramentas computacionais, com destaque para o SNP rs193922644, deletério em 100%. Análises pós-traducionais demonstram maior estabilidade proteica na presença do novo resíduo e a ferramenta HOPE esclarece que essas modificações danosas envolvem tamanho, carga e hidrofobicidade do novo resíduo. Além disso, a ferramenta gnomAD trouxe uma correlação entre o SNP rs201940568 e a EM. Em conclusão, demonstramos, com o uso de ferramentas computacionais, que 21 SNPs do gene *IL7R* podem acarretar alterações de estrutura e função da proteína, com destaque a dois SNPs como potenciais candidatos para investigação em pacientes com EM.

Palavras-chave: autoimunidade; interleucina; biotecnologia, aminoácidos, SNPs.

1 INTRODUÇÃO

A esclerose múltipla (EM) é uma doença inflamatória autoimune, que age de maneira progressiva no organismo, atingindo o sistema nervoso central, causando a desmielinização dos axônios e dificultando a transmissão do impulso nervoso (OLIVEIRA e SOUZA, 1998; SÁ, 2012). Fatores genéticos e ambientais interferem na manifestação e evolução clínica da doença, contudo, os mecanismos etiológicos e patológicos da EM ainda não são completamente compreendidos. Diversos estudos demonstram ser crucial o envolvimento de linfócitos T CD4⁺ autorreativos direcionados à bainha de mielina e outras proteínas, mas todo o sistema imune parece atuar para a instalação da doença.

O estudo de polimorfismos (SNPs) é fundamental para entender a variabilidade individual na predisposição a doenças e nas respostas aos tratamentos médicos. SNPs localizados em regiões de codificação podem produzir diferentes isoformas de proteínas e gerar interações proteína-proteína disfuncionais, além de interromper caminhos de ação.

Podendo influenciar em diversos processos da produção e função proteica, a identificação de SNPs pode fornecer valiosas informações de suscetibilidade genética e evolução clínica do paciente (KATARA, 2014; (ZIEMSEN, AKGUN e BRUCK, 2019).

O gene *IL7R* está localizado no cromossomo 5 e tem grande participação na ligação da IL-7, responsável pelo crescimento e maturação dos linfócitos B e ativação dos linfócitos T. Esse gene codifica um domínio transmembranar da cadeia α do receptor de IL-7 (HAFLER et. al, 2007). No caso de deficiência na via IL-7, ocorre imunodeficiência, pela linfopenia. Já na sinalização excessiva da via é associada a síndromes autoimunes, como o caso da EM (WINER, 2022).

Nosso objetivo foi investigar o efeito de SNPs deletérios no gene *IL7R*, e seus impactos na estrutura, morfologia e função da proteína codificada, a fim de compreender melhor o seu papel e eventual utilidade clínica no diagnóstico e prognóstico dos pacientes com EM.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas informações dos SNPs e a sequência de aminoácido da proteína nas bases de dados do NCBI dbSNP e Uniprot, respectivamente. A seguir, uma análise morfofuncional da proteína com aminoácidos modificados pela presença de SNPs foi realizada com auxílio do software PredictSNP1.0 que possui um consenso de oito ferramentas de análise (SIFT, PANTHER, PolyPhen-1, PolyPhen-2, MAPP, SNAP, nsSNPAnalyzer e PhD-SNP) prevê se a substituição de um aminoácido específico afeta a função da proteína em suas características bioquímicas e biofísicas. As ferramentas de análise complementar usadas foram a MUPRO e HOPE que fornecem, respectivamente, informações sobre a estabilidade proteica e alterações morfofuncionais da proteína na presença dos SNPs. Por último, foi utilizado o software gnomAD para avaliar o significado clínico e a frequência destes em grupos populacionais e em doenças genéticas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cerca de 10138 SNPs do gene *IL7R* foram recuperados do NCBI. Destes, foram filtrados por mutação missense, em que essa alteração de nucleotídeo causa uma alteração na codificação, sintetizando um aminoácido diferente, podendo (ou não) alterar a proteína, sendo encontrados 805 SNPs. Estes foram submetidos para análise no SIFT, onde foram encontradas informações sobre a troca de aminoácido de apenas 426 polimorfismos. Os SNPs em duplicidade foram excluídos, resultando em 157 SNPs diferentes. O PredictSNP1.0 selecionou 112 SNPs válidos (que possuem a troca de aminoácido já registrada), que foram avaliadas em suas 8 ferramentas diferentes. Vinte e um (21) SNPs foram considerados deletérios, em pelo menos 75% das ferramentas, indicando que a alteração pode impactar na conformação da proteína (Tabela 1). Nas análises pós traducionais dos 21 SNPs selecionados (Tabela 2), a ferramenta Mupro, utilizada para prever a estabilidade proteica dessas mudanças, demonstrou menor estabilidade em 20 SNPs, sendo maior apenas em 1 (rs193922644). Na ferramenta HOPE, foi realizado um relatório com previsão de mudanças no tamanho, hidrofobicidade, conservação da proteína e imagens em 3D dessas trocas selecionadas (Tabela 3).

Tabela 1. Resultado dos SNPs de *IL7R* com todas as ferramentas PredictSNP1.0 integradas.

SNP	Troca de aa	Predict SNP	MAPP	PHD-SNP	POLYP HEN1	POLYP HEN2	SIFT	SNAP	PANTHER
rs373694709	Y43C	D	D	N	D	D	D	D	D
rs11567704	S44R	D	D	D	D	D	D	D	D
rs200464578	Q45H	D	D	N	D	D	D	D	D

rs202083738	G50V	D	D	D	D	D	D	D	D
rs147423300	F71Y	D	D	N	D	D	D	D	D
rs201106853	G103R	D	D	D	D	D	D	D	D
rs104893894	P132S	D	D	D	D	D	D	D	D
rs199779006	L135R	D	D	D	D	D	D	D	D
rs372676633	A143T	D	D	D	D	D	D	D	D
rs201940568	T149I	D	D	D	D	D	D	D	D
rs145210284	R170C	D	D	D	D	D	D	D	D
rs193922642	H180P	D	D	N	D	D	D	D	D
rs145810271	Y201C	D	D	N	D	D	D	D	D
rs193922644	R206Q	D	D	N	D	D	D	D	D
rs193922644	R206L	D	D	D	D	D	D	D	D
rs193922645	G215V	D	D	D	D	D	D	D	D
rs374232919	S218N	D	D	D	D	D	D	D	D
rs201412341	T228I	D	D	N	D	D	D	D	D
rs200107390	F303S	D	D	D	D	D	D	D	D
rs374876660	L370Q	D	D	D	D	D	D	D	D
rs141919625	S453P	D	N	D	D	D	D	D	D

Tabela 2. Resultados de estabilidade proteica dos 21 SNPs do gene *IL7R* selecionados pela ferramenta MUpro.

SNP	Troca	Score	Estabilidade
rs373694709	Y43C	-0,56	Menor
rs11567704	S44R	-0,79	Menor
rs200464578	Q45H	-1,36	Menor
rs202083738	G50V	-0,44	Menor
rs147423300	F71Y	-0,85	Menor
rs201106853	G103R	-1,07	Menor
rs104893894	P132S	-0,91	Menor
rs199779006	L135R	-1,63	Menor
rs372676633	A143T	-0,88	Menor
rs201940568	T149I	-0,19	Menor
rs145210284	R170C	-0,31	Menor
rs193922642	H180P	-0,72	Menor
rs145810271	Y201C	-0,43	Menor
rs193922644	R206Q	-0,38	Menor
rs193922644	R206L	0,09	Maior
rs193922645	G215V	-0,77	Menor
rs374232919	S218N	-0,42	Menor
rs201412341	T228I	-0,58	Menor
rs200107390	F303S	-1,24	Menor
rs374876660	L370Q	-1,33	Menor
rs141919625	S453P	-0,88	Menor

Tabela 3. Resultados das alterações no tamanho, carga, conservação e hidrofobicidade dos SNPs selecionados do gene *IL7R*.

SNP	Troca de aa	Carga			Conservação		Hidrofobicidade
		Resíduo novo	Selvagem	Novo	Selvagem	Novo	Resíduo novo
rs373694709	Y43C	C > Y	-	-	Conservado	-	C < Y
rs11567704	S44R	R > S	Neutra	Positiva	Conservado	-	S > R
rs200464578	Q45H	H > Q	-	-	Conservado	-	-
rs202083738	G50V	V > G	-	-	Conservado	-	V > G
rs147423300	F71Y	Y > F	-	-	Conservado	-	F > Y
rs201106853	G103R	R > G	Neutra	Positiva	Conservado	-	G > R
rs104893894	P132S	P > S	-	-	Conservado	-	P > S
rs199779006	L135R	R > L	-	-	Conservado	-	-
rs372676633	A143T	T > A	-	-	Conservado	-	-
rs201940568	T149I	I > T	-	-	Conservado	-	-
rs145210284	R170C	R > C	Positiva	Neutra	Conservado	-	C > R
rs193922642	H180P	H > P	-	-	Conservado	-	P > H
rs145810271	Y201C	Y > C	-	-	Conservado	-	C > Y
rs193922644	R206Q	R > Q	Positiva	Neutra	Conservado	-	-
rs193922644	R206L	R > L	Positiva	Neutra	Conservado	-	L > R
rs193922645	G215V	V > G	-	-	Conservado	-	V > G
rs374232919	S218N	N > S	-	-	Conservado	-	S > N
rs201412341	T228I	I > T	-	-	Conservado	-	I > T
rs200107390	F303S	F > S	-	-	Conservado	-	F > S
rs374876660	L370Q	Q > L	-	-	Conservado	-	L > Q
rs141919625	S453P	P > S	-	-	Conservado	-	P > S

Esses SNPs foram avaliados individualmente no software gnomAD, e os resultados são apresentados na tabela a seguir (Tabela 4). De acordo com o gnomAD, o SNP rs201940568 (T149I) tem relação com doenças genéticas congênitas, como a EM.

Tabela 4. Resultados das consequências e significados clínicos dos SNPs do gene1 *IL7R*.

SNP	Troca	Consequência	Significado clínico
rs373694709	Y43C	Missense	Incerto
rs11567704	S44R	-	-
rs200464578	Q45H	Missense	Possivelmente patogênico
rs202083738	G50V	Missense	Significado incerto
rs147423300	F71Y	Missense	-
rs201106853	G103R	-	-
rs104893894	P132S	Missense	Patogênico
rs199779006	L135R	Missense	-
rs372676633	A143T	Missense	-
rs201940568	T149I	Missense	Significado incerto
rs145210284	R170C	Missense	Significado Incerto
rs193922642	H180P	Missense	Conflito de resultado
rs145810271	Y201C	Missense	Conflito de resultado
rs193922644	R206Q	Missense	Significado incerto
rs193922644	R206L	-	-
rs193922645	G215V	Missense	Possivelmente patogênico
rs374232919	S218N	Missense	Significado incerto
rs201412341	T228I	Missense	-
rs200107390	F303S	Missense	Significado incerto
rs374876660	L370Q	Missense	-
rs141919625	S453P	Missense	Significado incerto

Dessa forma, visto que a EM é uma patologia autoimune, as interleucinas têm um papel essencial no mecanismo inflamatório. A IL-7, responsável pela maturação dos linfócitos B, e consequentemente dos anticorpos, não é capaz de responder de forma adequada. Dessa forma, ocorre a produção de autoanticorpos, que tem como alvo o tecido nervoso. O gene *IL7R* é o receptor da IL-7 e é encontrado na superfície das células em que acontece a ligação e sinalização da interleucina. Com isso, alterações nesse gene em específico podem afetar diretamente a resposta imunológica.

O primeiro SNP em destaque foi o rs193922644, que apresentou resultado deletério em todas as ferramentas utilizadas pelo PredictSNP1.0. Este, consiste na troca do aminoácido arginina (R) por uma leucina (L) na posição 206. Além disso, segundo o software MUpro, apresenta maior estabilidade proteica diante do resíduo mutado. Sabe-se que a expressão deste se encontra aumentado em casos de EM (RANE, 2010). Em seguida, com o software HOPE, foi possível observar as mudanças químicas da proteína, em que há diminuição da molécula, mudança de carga positiva para neutra e aumento da hidrofobicidade. Essas características dificultam a ligação de hidrogênio da molécula.

O segundo SNP destacado foi o rs201940568 pelo software gnomAD. Este, consiste em uma troca de uma timina (T) por uma isoleucina (I) na posição 149. Apresentou significado incerto para doenças genéticas congênitas, sendo mais comum em homens e no Sul da Ásia. No software HOPE, este SNP apresenta tamanho maior em sua forma mutada. Todas essas alterações podem impactar o funcionamento da proteína, portanto, análises funcionais são necessárias, mas hipotetizamos que esses SNPs possam ter um papel importante na fisiopatologia da EM.

4 CONCLUSÃO

Demonstramos com o uso de ferramentas computacionais que 21 SNPs do gene *IL7R* podem acarretar alterações de estrutura e função proteica, em especial os SNPs rs193922644 e o rs201940568. Essas alterações podem estar correlacionadas com a maior presença dessa proteína em casos de EM, como evidenciado pela literatura. Dessa forma, SNPs de *IL7R*, em especial rs193922644 e rs201940568, são potenciais candidatos para investigação em pacientes com EM.

REFERÊNCIAS

HAFLER, D. A. et. al. **Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study.** N Engl J Med. 2007 Aug 30;357(9):851-62.

KATARA, P. **Single nucleotide polymorphism and its dynamics for pharmacogenomics.** Interdiscip Sci. 2014 Jun;6(2):85-92.

OLIVEIRA, E. M. L. de; SOUZA, N. A. de. Esclerose Múltipla. **Revista Neurociências**, [S. l.], v. 6, n. 3, p. 114–118, 1998. DOI: 10.34024/rnc. 1998. v6.10324

RANE, L., et al. Alternative splicing of interleukin-7 (IL-7) and interleukin-7 receptor alpha (IL-7R α) in peripheral blood from patients with multiple sclerosis (MS). **Journal of Neuroimmunology**. Volume 222, Issues 1–2, May 2010, Pages 82-86.

SÁ, M. J. **Esclerose Múltipla**. Universidade Fernando Pessoa; Porto, 2012.

WINER, H. et al. **IL-7: Comprehensive review.** Cytokine Volume 160, December 2022, 156049.

ZIEMSEN, T.; AKGÜN, K.; BRÜCK, W. **Molecular biomarkers in multiple sclerosis.** J Neuroinflammation. 2019 Dec 23;16(1):272.