



Caracterização do estado de metilação pontual nos genes *CTLA4* e *CD28* em pacientes hemofílicos: ausência de associação com o desenvolvimento de anticorpos inibidores

Thiago Barbosa de Souza, Jozimara Teixeira de Souza, Cleiton Figueiredo Osório da Silva, Liliana Rossetti, Enrique Medina-Acosta

Introdução: A hemofilia A é uma coagulopatia hereditária caracterizada pela deficiência do fator VIII de coagulação. A terapia consiste em repor o fator deficiente. Alguns hemofílicos desenvolvem anticorpos inibidores reduzindo a resposta terapêutica. Alelos de SNPs no gene *CTLA4* estão associados com risco de doenças autoimunes e com o desenvolvimento de inibidores, porém ainda não foram encontrados fatores epigenéticos que contribuem à variação fenotípica observada. O presente trabalho buscou avaliar o estado de metilação em CpG próximos aos SNPs de risco no gene *CTLA4* e no gene *CD28*, à montante do *CTLA4*, em pacientes hemofílicos positivos (Inh+) e negativos (Inh-) para inibidores, e controles não hemofílicos. Paralelamente utilizamos uma abordagem computacional para determinar os perfis de modificações pós-traducionais de histonas em genes da resposta imune em bancos de dados públicos de imunoprecipitação da cromatina - CHIP-Seq. **Objetivos:** Determinar o estado de metilação em dois sítios CpG no gene *CTLA4* e um sítio no gene *CD28* em pacientes Inh+, Inh- e controles não hemofílicos. Determinar o perfil de enriquecimento de modificações de histonas em bancos de dados públicos de CHIP-Seq em indivíduos não hemofílicos. **Metodologia:** Interrogação do estado de metilação das CpGs nos genes *CTLA4* e *CD28* em amostras de DNA genômico de sangue periférico por ensaio de digestão enzimática sensível à metilação seguida de PCR quantitativo fluorescente. Investigação das modificações de histonas nos genes *CTLA4*, *GATA3*, *IL4*, *IFNG*, *TBX21*, *IL8*, *IL6*, *IL1A*, *IL1B*, *IL10*, *CST7*, *FOXP3* e *TNF* utilizando dados públicos do *NIH Roadmap Epigenomics Mapping Consortium*. **Resultados e Discussão:** Todos os sítios CpG avaliados nos genes *CTLA4* e *CD28* apresentaram estado hipermetilado (>80%). Não foi encontrada diferença estatística entre os grupos avaliados ($p > 0,05$). Pelas análises computacionais observamos: tecidos que expressam o gene *IL4* apresentam poucas marcas de histona; o gene *IFNG* não apresenta as marcas de repressão; algumas marcas de ativação estão enriquecidas no gene *IFNG* em células NK; tecidos que expressam os genes *GATA3* e *TBX21* apresentam marcas de ativação e repressão. **Conclusão:** Não encontramos diferenças significativas nos perfis epigenéticos entre os grupos.

Palavras-chave: Hemofilia A, Inibidores, Metilação

Instituição de fomento: CNPq, FAPERJ, UENF