



REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA

www.reumatologia.com.br



Artigo de revisão

Influência dos polimorfismos genéticos (IL10/CXCL8/CXCR2/NFκB) na susceptibilidade das doenças reumatológicas autoimunes

Patricia Hartstein Salim^a, Ricardo Machado Xavier^{b,*}

^aHospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

^bServiço de Reumatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

INFORMAÇÕES

Histórico do artigo:

Recebido em 5 de maio de 2013

Aceito em 21 de outubro de 2013

Palavras-chave:

Doenças reumatológicas

Quimioquinas

Citocinas

NF-κB

RESUMO

As doenças reumatológicas autoimunes, na maioria das vezes, possuem uma via genética comum para a autoimunidade. Vários genes foram associados com as doenças reumatológicas, para tanto iremos analisar somente alguns genes nos quais há várias evidências da existência de associação com risco ou proteção de doença autoimune. O fator de transcrição nuclear kappa B (NF-kappa B), o qual regula as respostas imunes e inflamatórias, está associado com esclerose sistêmica (ES), artrite reumatoide (AR) e lúpus eritematoso sistêmico (LES), assim como os genes CXCR2 e CXCL8. Já a interleucina 10 (IL-10), que é uma citocina anti-inflamatória, está associada com quase todas as doenças reumatológicas. Neste artigo, revisamos os potenciais papéis desses genes no sistema imunológico e em diversas doenças reumatológicas. Com relação à IL-10, diversos estudos foram realizados, porém em sua maioria contraditórios - alguns encontraram ausência de associação e outros encontraram associação em diferentes polimorfismos do genes. Já em relação ao NF-kappa B, somente foi estudado em AR e LES, e não foram observadas análises significativas relevantes. Os polimorfismos genéticos do gene CXCR2 foram associados com ES, mas não estão associados com AR e LES. Já os polimorfismos genéticos do gene CXCL8 não estão associados com ES, mas estão associados com AR.

© 2014 Sociedade Brasileira de Reumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda.

Todos os direitos reservados.

Influence of genetic polymorphisms (IL-10/CXCL8/CXCR2/NFκB) on the susceptibility of autoimmune rheumatic diseases

ABSTRACT

The autoimmune rheumatologic disorders mostly have a common genetic path to the autoimmunity. Several genes have been associated with rheumatologic disorders; therefore, we are analyzing just the ones in those containing several evidences of the existence of association with the risk or protection from autoimmune disorder. The nuclear factor kappa beta (NF-kappa B), which regulates the autoimmune and anti-inflammatory responses, is

Keywords:

Rheumatologic diseases

Cytokine

Chemokine

NF-κB

* Autor para correspondência.

E-mail: rmaxavier@hcpa.ufrgs.br (R.M. Xavier).

associated with systemic sclerosis (SS), rheumatoid arthritis (RA) and systemic lupus erythematosus (SLE), just as the CXCR2 e CXCL8 genes. On the other hand, the interleukin-10 (IL-10), which is an anti-inflammatory cytokine, is associated with almost all rheumatologic disorders. In this article, we are reviewing the potential roles of these genes in the immune system and in several rheumatologic disorders. In relation to IL-10, several studies have been carried out, but most of them are controversial – some detected the absence of association, and others found association in different genetic polymorphisms. Conversely, in relation to NF-kappa B, it was studied just in RA and SLE, and no relevant significant analyses were observed. The genetic polymorphisms of the CXCR2 gene were associated with SS, but not with RA e SLE. On the other side, the genetic polymorphisms of the CXCL8 gene are not associated with SS, but with RA.

© 2014 Sociedade Brasileira de Reumatologia. Published by Elsevier Editora Ltda.

All rights reserved.

Introdução

Estudos de associação genética procuram determinar variantes genéticas associadas a estados de doença ou traços específicos. Como mais estudos têm sido realizados em diferentes doenças complexas, tornou-se claro que a contribuição dos genes individuais ao risco genético para a doença pode ser muito modesta e que os múltiplos loci estão envolvidos no mecanismo. Nesse sentido, a interpretação de estudos de associação genética em uma doença rara e fenotipicamente heterogênea, como a esclerodermia, deve ser realizada utilizando diretrizes rígidas. Tais estudos são muitas vezes limitados pela falta de poder estatístico suficiente para gerar resultados confiáveis e reproduzíveis por causa de amostras pequenas em estudos de casos e controles, heterogeneidade genética, extensão e grau de desequilíbrio de ligação entre os marcadores genéticos que variam entre as populações.¹

A complexa fisiopatologia da esclerose sistêmica (ES) implica o envolvimento de genes que afetam, individualmente ou, mais provavelmente, em conjunto, a condução do processo da doença. Muitos desses genes foram associados com outras doenças autoimunes, tais como lúpus eritematoso sistêmico (LES) e artrite reumatoide (AR), o que sugere uma via comum genética para autoimunidade.²

Diante do exposto, faz-se necessário estudar a influência do polimorfismo dos genes da interleucina 10 (IL-10), do fator de transcrição nuclear kappa das células B do tipo 1 (NFkB1) e do receptor de quimiocina 2 e seu ligante (CXCR2 e CXCL8) nessas patologias. A identificação de associações entre esses polimorfismos e a esclerose sistêmica poderia impactar não somente na melhor compreensão da fisiopatogênese, mas também na identificação de grupos de risco para o desenvolvimento da doença e de subgrupos de pacientes com melhor ou pior prognósticos.

Metodologia

A pesquisa bibliográfica foi realizada na base de dados PubMed, utilizando os termos “systemic sclerosis and interleukin 10 genes”, “systemic sclerosis and CXCL8 polymorphism”, “systemic sclerosis and CXCR2 polymorphism”, “systemic

sclerosis and interleukin 8 genes”, “systemic sclerosis and NFkB1 polymorphism”, “Rheumatoid arthritis and interleukin 10 polymorphism”, “Rheumatoid arthritis and CXCL8 polymorphism”, “Rheumatoid arthritis and CXCR2 polymorphism”, “Rheumatoid arthritis and NFkB1 polymorphism”, “lupus erithematosus systemic and CXCR2 polymorphism”, “lupus erithematosus systemic and CXCL8 polymorphism”, “lupus erithematosus systemic and IL10 polymorphism”. Todos os artigos encontrados foram avaliados, e os dados incluídos nesta revisão compreendem resultados de estudos de associação tanto positivos quanto negativos encontrados desde o ano de 1991, ano de publicação do primeiro artigo sobre o tema. O critério de exclusão utilizado foi a presença de estudos relacionados com microssatélites.

Função das proteínas e dos seus respectivos genes

NFkB

O fator de transcrição nuclear kappa das células B (NF-kappa B) é um grupo de proteínas que participa na expressão de uma ampla variedade de genes que estão envolvidos na regulação de respostas imunes e inflamatórias.³ Os genes que são ativados pelo NF-kappa B incluem as citocinas pró-inflamatórias, as quimiocinas e as moléculas de adesão. Alguns genes regulados pela NF-kappa B, tais como descrever fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interleucina 1 β (IL-1 β) também ativam diretamente o NF-kappa B para amplificar e aumentar a resposta inflamatória primária. A ativação de NF-kappa B por receptores de células B ou T é também necessária para a proliferação induzida por antígeno, a produção de citocinas e a sobrevivência de células T e B.⁴

Até o momento foram identificados cinco membros da família do NF-kB: NFkB1 (p105/p50), NFkB2 (p100/p52), RELA (p65), RelB e c-Rel. O gene NFkB1 é localizado na região 4q23-q24 e é composto por 24 exons e introns. O gene que codifica a proteína P105 é uma molécula não ligante do DNA citoplasmático, enquanto o gene que codifica a proteína p50 é uma proteína de ligação do DNA e corresponde ao N-terminal da p105 (Omin, 164,011). O gene NFkB2 é situado no braço longo do cromossomo, localizado na região 10q24, e codifica as proteínas P100 e P52 (Omin, 164,012). Já o gene RelA (NFkB3) é localizado na região 11q12-q13 com 10 e codifica a proteína p65 (Omin, 164,014); o gene RelB é situado no cromossomo 19

(OMIM, 604,758, MI-12.248) e o gene c-Rel está localizado na região 2p13-p12.⁵

Além disso, as funções do NFκB1 (P105) e NFκB2 (p100) são diferentes, embora as suas estruturas sejam semelhantes. Estudos têm relatado que o processamento da proteína P105 para a p50 é indispensável, sendo esse processo essencial para a organogênese de tecidos linfoides periféricos e de desenvolvimento das células B. Outra importância é que a indução do processamento da proteína p100 é regulada por um subconjunto de ligantes que ativam a NF-κappa B.⁶ O NF-κappa B fornece um elo mecanicista determinante entre a inflamação e o tumor. Com efeito, várias citocinas inflamatórias, quimiocinas, produtos de células necróticas, bactérias e vírus estimulam a ativação do NF-κappa B. Por outro lado, as proteínas do NF-κappa B aumentam a expressão de alguns genes celulares que envolvem as citocinas, quimiocinas, o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) e receptores necessários para adesão de neutrófilos e migração.⁷

Um estudo analisou a ativação do NF-κappa B em sinóvia de pacientes com artrite reumatoide, sugerindo um papel no controle da inflamação.⁸ Sabe-se que a artrite reumatoide é uma doença complexa, com contribuições de autoimunidade sistêmica e inflamação local. No entanto, a ativação de NF-κappa B é significativamente diminuída em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico.⁹ Essas observações indicam que o mecanismo de regulação do NF-κappa B é diferente entre essas doenças autoimunes.

O NF-κappa B é encontrado no citoplasma das células imunes, em associação com proteínas acessórias. O seu modo de ativação varia de acordo com o tipo de célula imune, com o seu estado de ativação ou com a sua fase de desenvolvimento.¹⁰ Além disso, o NF-κappa B normalmente é impedido de entrar no núcleo de linfócitos periféricos T (células T), pois suas subunidades estão fortemente ligadas à proteína inibidora. Após a indução celular por citoquinas, ocorre uma série de alterações bioquímicas, incluindo fosforilação, ubiquitinação e, em seguida, a degradação por proteassoma. Quando o NF-κappa B é capaz de translocar para o núcleo, onde se liga dentro de minutos ao DNA, inicia a expressão de genes-alvo diferentes.¹¹

A ativação e a translocação nuclear da via clássica dos dímeros NF-κappa B (principalmente p50-RELA) estão associadas com a transcrição aumentada de genes que codificam as quimiocinas, citocinas, moléculas de adesão, enzimas que produzem secundários mediadores inflamatórios e inibidores da apoptose.¹² Essas moléculas são componentes importantes da resposta imune inata e são necessárias para a migração de células inflamatórias e fagocíticas para os tecidos onde o NF-κappa B foi ativado em resposta à infecção ou lesão. Uma extensa lista de bactérias e produtos bacterianos ativam NF-κappa B em macrófagos e outros tipos celulares. Por exemplo, bactérias enteroinvasivas podem ativar o NF-κappa B em células epiteliais intestinais, um processo que leva à produção de mediadores inflamatórios, incluindo as quimiocinas. Essas proteínas conduzem o recrutamento de células inflamatórias e fagocíticas para o local da infecção. Ademais, há também vias indiretas que levam à ativação do NF-κappa B, o que resulta na liberação de IL-1 e de ativação da via clássica de NF-κappa B em células adjacentes.¹³

Quimiocinas

Quimiocinas são citocinas pró-inflamatórias quimiotáticas que recrutam leucócitos para sítios de inflamação, mas também desempenham papéis importantes no crescimento tumoral, angiogênese, cicatrização/esclerose tecidual e autoimunidade.¹⁴ As quimiocinas são uma grande família de proteínas de pequeno tamanho (7-15-kD), estruturalmente relacionados com proteínas ligantes de heparina, que podem mediar interações leucócitos-endotélio e transmigração de células. A iniciação e progressão das doenças reumatológicas envolvem múltiplas quimiocinas e células inflamatórias, tais como células T, macrófagos, células dendríticas, eosinófilos e mastócitos. As interações complexas entre células inflamatórias e quimiocinas estimulam a superprodução de síntese de proteínas da matriz extracelular por fibroblastos. Portanto, as quimiocinas são de fundamental importância na patogênese dessas doenças.¹⁵

Os membros da família das quimiocinas são divididos em quatro grupos de acordo com o espaçamento dos seus primeiros dois resíduos de cisteína. CXCL8 é um membro da família CXC das quimiocinas que mostra ligação de alta afinidade para o CXCR1 (receptor IL-8 tipo 1) e CXCR2 (receptor IL-8 tipo 2). Embora o CXCR1 seja seletivamente ativado apenas pelo CXCL8, o CXCR2 responde a várias quimiocinas adicionais. O denominador comum dividido por todas as quimiocinas que ativam o CXCR2 é a sequência Glu-Leu-Arg (ELR) no terminal amino, que aparece para servir como uma sequência de reconhecimento para ligação ao receptor e ativação.¹⁶

As primeiras investigações concentravam-se sobre o efeito do CXCL8 em neutrófilos, que respondem com a mobilização de cálcio, a polimerização da actina, a liberação da enzima, a quimiotaxia e explosão respiratória fraca.¹⁷ Apesar de afinidades semelhantes para o CXCL8 e número de receptores semelhantes da CXCR1 e CXCR2, a quimiotaxia dos neutrófilos é primeiramente mediada pelo CXCR1. No entanto, apesar do CXCR2 estar associado com a forma de inibição da subunidade alfa da proteína G (G_{α_2}) um estudo indicou que tanto o CXCR1 como o CXCR2 são acoplados à proteína G inibidora (G_i) em neutrófilos em que G_{α_2} é muito abundante. Portanto, foi demonstrado que o acoplamento do receptor do CXCL8 não se restringe a G_i . Pelo menos sob condições em que $G_{\alpha_{14}}$ e $G_{\alpha_{16}}$ foram superexpressos, essas proteínas G foram capazes de servir como elementos alternativos de sinal do transdutor da resposta celular mediada pelo CXCL8.¹⁸

Assim sendo, CXCL8 é ativado tanto por CXCR1 como por CXCR2 em células endoteliais. Os dois receptores usam diferentes cascatas de sinalização de transdução que resultam na ativação de proteínas G pequenas e invocam respostas que merecem ser investigadas. Essas respostas das quimiocinas mediadas por células endoteliais podem contribuir para o aumento da permeabilidade vascular e adesão de leucócitos, como observado durante a inflamação aguda, por um lado, e migração de células endoteliais e proliferação durante o processo angiogênico, por outro lado.¹⁹ A atividade do NF-κappa B pode ser necessária em etapas múltiplas durante esta cascata, quer para a indução da síntese de proteínas ou por interação direta no citoplasma.²⁰

Com efeito, as quimiocinas e seus receptores são fatores cruciais para o dano tecidual na ES, potencialmente direcionando a migração de células pró-inflamatórias para as áreas

afetadas. Têm sido observados níveis aumentados de proteína CXCL8 em biopsia de pele e no fluido de lavagem broncoalveolar de pacientes com ES.²¹ Um estudo mencionou que fibroblastos da pele esclerodérmica cultivados *in vitro* produzem mais CXCL8 do que fibroblastos normais. As concentrações séricas de CXCL8 foram significativamente maiores em pacientes com ES do que nos controles (indivíduos saudáveis).²²

Em pacientes com alveolite fibrosante (FA) foi observado um aumento da secreção de CXCL8 por macrófagos alveolares (MA) e monócitos. Sabe-se que na esclerodermia existe uma predisposição para o desenvolvimento de FA, mas a secreção de CXCL8 por MA em pacientes com ES sem FA foi maior do que em indivíduos normais e mais baixa do que em pacientes com alveolite fibrosante associado à ES (FASSc). Isso sugere que o aumento da secreção de CXCL8 por MA em FASSc não é constitutivo. É possível que a resposta do CXCL8 a fatores iniciais da doença seja diferente naqueles que irão desenvolver FA em comparação com os que não irão.²³

Outro estudo mostrou que pacientes com urticária idiopática crônica (UIC) apresentam um padrão de secreção de quimiocina alterada que está potencialmente ligado a um estado inflamatório crônico. Aferindo a regulação dos genes CXCL8, avaliada por níveis de mRNA e proteína no soro, o estudo indicou uma capacidade de resposta elevada a partir de monócitos, contribuindo para a criação de um ambiente pró-inflamatório. Esses achados sugerem que o sistema imune inato, por meio de quimiocinas e monócitos, pode levar à ativação imune.²⁴

Citocinas

As citocinas são mediadores essenciais do sistema imunitário com um amplo conjunto de funções, que vão desde a regulação da inflamação para a ativação das células, a proliferação ou a diferenciação. As citocinas também podem promover a deposição de colágeno e de fibrose, por isso muitos estudos estão se focando sobre o papel destes como mediadores da ES, descrevendo alterações nas suas concentrações ou no equilíbrio entre os níveis de citocinas T helper tipo 1 (Th1) e tipo 2 (Th2).²⁵

As citocinas incluem as interleucinas, que são proteínas (polipeptídeos) envolvidas na comunicação entre leucócitos. As atividades das interleucinas podem ser resumidas em reconhecimento de antígenos estranhos por células T, amplificação da proliferação de células T ativadas e na atração de macrófagos e identificação de mecanismos efetivos para fagocitose de microrganismos. Cada interleucina atua sobre um grupo limitado e específico de células que expressam receptores adequados para cada interleucina. A interleucina 10 (IL-10) inibe a produção da citocina Th1, suprime função dos macrófagos e ativa os linfócitos B.²⁶

A interleucina 10 (IL-10) é uma citocina anti-inflamatória potente, que desempenha um papel crucial, muitas vezes essencial, na prevenção de patologias inflamatórias e autoimunes. A deficiência ou expressão anormal de IL-10 pode aumentar a resposta inflamatória ao desafio microbiano, conduzir ao desenvolvimento de doença inflamatória do intestino e uma série de distúrbios autoimunes. Assim, a expressão diminuída de IL-10 pode aumentar os agentes patogênicos durante uma infecção aguda, mas também exacerba a resposta inflamatória, que resulta em imunopatologia e danos teciduais.²⁷

Existe uma variação muito grande na produção de IL-10 entre os indivíduos; estudos em gêmeos sugerem que até 75% da variabilidade se devem a fatores genéticos. A produção é controlada no nível da transcrição e algumas variações podem ser explicadas por dois polimorfismos de microssatélites (IL10G e IL10R) na região promotora.²⁸ Onze polimorfismos de um único nucleotídeo (SNP) também têm sido descritos na região promotora, dos quais três estão nas proximais 1,3 kb [1082 (G / A), 819 (C / T), 592 (C / A)], e sete na região distal 1,3-4 kb, das quais três [3575 (T / A), 2849 (G / A), 2763 (C / A)] têm frequência alélica igual.^{29,30} Em indivíduos normais caucasianos o haplótipo distal AA / GA foi mais frequente naqueles que produziram menos IL-10.²⁹ Em pacientes afro-caribenhos com LES a frequência do alelo A do polimorfismo 2763 foi menor. Não há outras associações com doenças reumatológicas descritas com os SNPs na região distal. Os SNP 819 e 592 estão em desequilíbrio de ligação.³⁰ De mais a mais, apenas três haplótipos são comuns em indivíduos da raça branca: GCC, ACC e ATA; GTA é mais comum no sul da China.³¹ O genótipo GCC / GCC é mais comum naqueles que produzem maiores níveis de IL-10, enquanto o genótipo ATA / ATA predomina em baixos produtores de IL-10.²⁹

Os genes e os receptores das citocinas tradicionalmente têm atraído grande interesse como plausíveis fatores de risco genético para a doença autoimune. Devido à produção de citocinas ser regulada geneticamente, foi levantada a hipótese de que polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) perto de genes da citocina podem ser relevantes para o desenvolvimento de ES.³² No entanto, estudos realizados não conseguiram demonstrar resultados positivos e, em alguns casos, as associações descritas por alguns autores não foram confirmadas em outras populações independentes.^{33,34} Esses resultados contraditórios podem ser atribuídos a diversos fatores. Em primeiro lugar, os estudos que usam amostras pequenas e, portanto, não são capazes de representar uma associação real, devido ao tipo de erro II.³⁵ Em segundo lugar, os SNPs estudados não podem ter um papel causal na patogênese da ES, mas sim apenas poderiam ser relevantes para a progressão ou expressão da doença.³⁶ Em terceiro lugar, cada SNP pode não ter um efeito perceptível principal independente sobre o risco de doença, mas o seu efeito pode ser dependente de outras variações genéticas (interação gene-gene).³⁷

O gene da IL-10 é um candidato provável para estudar na patogênese da ES, não só devido às suas propriedades anti-inflamatórias, mas também porque protege contra a fibrose. Além disso, a IL-10 reduz a produção de colágeno e fibronectina a partir de fibroblastos.³⁸ Ademais, a relevância funcional do SNP proximal na região 5' do gene da IL-10 está bem definida.³⁹

Evidências genéticas nas doenças reumatológicas

CXCL8

Vários polimorfismos do gene CXCL8 foram estudados em relação às doenças reumatológicas (tabela 1). Em pacientes com ES foram avaliados os polimorfismos genéticos (+293 G/T), (+678 T/C), (-353 A/T) e (-251 T/A), entretanto nenhum destes polimorfismos demonstrou associação com a doença.⁴⁰⁻⁴² Somente foi encontrada associação quando analisada a interação gene-gene entre o polimorfismo do gene CXCL8 (-353

Tabela 1. Análise do polimorfismo CXCR8 em doenças reumatológicas

Gene	Doença	Polimorfismo	Resultados	Número (N)		Estudo ^{Ref}
				Pacientes	Controles	
CXCL8	Esclerose Sistêmica	(+)293 G/T	sem associação	128	194	Renzoni et al. 2000 ⁴⁰
		(+)678 T/C	sem associação	128	194	Renzoni et al. 2000 ⁴⁰
		(-)353 A/T	associação com o gene CCL5 -403 G/A (P=0,039)	99	198	Lee et al. 2007 ⁴¹
		(-)251 T/A	associação com o gene CXCR2 +1208 C/T (P<0,001)	128	194	Renzoni et al. 2000 ⁴⁰
				151	147	Salim et al. 2012 ⁴²
	Artrite Reumatoide	(+)781 C/T	homozigoto CC (P<0,0001; rs2227306)	376	463	Emonts et al. 2011 ⁴³
		3'UTR 2767 A/G	homozigoto AA (P=0,02; rs10938092)	199	130	Lo et al. 2008 ⁴⁴
	Lúpus Eritematoso Sistêmico	rs4694178 C/A	alelo C (OR=1,26; P<0,001)	826	1310	Sandling et al. 2011 ⁴⁵
			sem associação	150	130	Huang et al. 2006 ⁴⁶
		(-)353A/T; (+)781C/T	sem associação	500	481	Sanchez et al. 2006 ⁴⁷

A/T) com o gene CCL5⁴¹ e entre o polimorfismo do gene CXCL8 (-251 A/T) com o gene CXCR2.⁴²

Em LES, um estudo evidenciou uma forte associação entre o SNP rs2227306 do gene CXCL8 e a doença, demonstrando um fator de risco.⁴⁵ Porém, quatro estudos prévios não haviam demonstrado associação com a doença, sendo que destes apenas dois tinham um poder de estudo semelhante ao estudo de Sandling et al.^{46,47} Esses polimorfismos não foram estudados na artrite reumatoide (AR), entretanto outros polimorfismos foram estudados e associados com a doença. O polimorfismo (-781 C/T) do gene CXCL8 está associado com o início da doença, sendo fator de risco o homozigoto CC.⁴³ Já o polimorfismo (-767 A/G) não está associado com o risco de desenvolver a doença, mas o homo-

zigoto AA está associado com o desenvolvimento da doença em idade precoce.⁴⁴

CXCR2

Até o momento, em pacientes com EA, não foram realizados estudos genéticos em associação do polimorfismo do gene CXCR2, mas outros estudos analisaram a presença do polimorfismo em ES, LES, SS e AR (tabela 2). Por conseguinte, um estudo avaliou a susceptibilidade do polimorfismo (-786 C/T) do gene CXCR2 em pacientes com artrite reumatoide; contudo, não foi encontrada associação entre o gene e a doença. Da mesma maneira não foi encontrada associação quando avaliada a correlação desse mesmo polimorfismo em pacientes com LES e ES.^{41,48} No entanto, estudos seguintes realiza-

Tabela 2. Análise do polimorfismo CXCR2 em doenças reumatológicas

Gene	Doença	Polimorfismo	Resultados	Número (N)		Estudo ^{Ref}
				Pacientes	Controles	
CXCR2	Esclerose Sistêmica	(-)786 C/T	sem associação	14	242	Kato et al. 2000 ⁴⁸
			homozigoto CC (OR=1,7; P=0,04)	99	198	Lee et al. 2007 ⁴¹
		(+)785 C/T	homozigoto CC (OR=2,33; P=0,01)	128	194	Renzoni et al. 2000 ⁴⁰
		(+)1208 C/T	homozigoto TT (OR=2,67; P=0,003)	128	194	Renzoni et al. 2000 ⁴⁰
			homozigoto CC (OR=2,76, P=0,001)	151	147	Salim et al. 2012 ⁴²
	Artrite Reumatoide	(+)1440 G/A	sem associação	128	194	Renzoni et al. 2000 ⁴⁰
		(-) 786 C/T	sem associação	146	242	Kato et al. 2000 ⁴⁸
	Lúpus Eritematoso Sistêmico	(-) 786 C/T	sem associação	80	242	Kato et al. 2000 ⁴⁸
		Síndrome de Sjögren	(-) 786 C/T	sem associação	12	242

dos em pacientes com ES analisaram outro polimorfismo do gene CXCR2, obtendo resultados distintos. Primeiramente foi avaliado o polimorfismo (+1208 C/T) em pacientes britânicos, obtendo-se uma forte associação do gene homocigoto TT com o fator de risco para a doença.⁴⁰ Contrariando esses achados, no sul do Brasil, encontramos uma forte associação do homocigoto CC desse mesmo polimorfismo em relação à susceptibilidade da doença.⁴² Esta diferença encontrada talvez possa ser explicada pela grande miscigenação brasileira devido à imigração de africanos e europeus no passado, o que causou uma população altamente diversificada.⁴⁹

NFκB1

O polimorfismo do NFκB1 foi avaliado em várias doenças reumatológicas (tabela 3). Em pacientes com ES, nenhum estudo encontrou associação com a inserção/deleção dos aminoácidos ATTG na posição -94 do gene NFκB1. No entanto, um estudo demonstrou um fator de proteção para a doença com a interação do polimorfismo homocigoto para inserção (inserção/inserção) do ATTG no gene NFκB1 (-94ins/delATTG) com o polimorfismo homocigoto CC do gene IL-10 (-819). Também demonstramos como fator de risco para a ES a interação do gene NFκB1 heterocigoto (inserção/deleção) com o polimorfismo homocigoto CC do gene IL-10 (-592).⁵⁰

Na AR também não foi encontrada associação diretamente do gene com a doença,⁵¹⁻⁵³ contudo um estudo demonstrou que o genótipo homocigoto com a deleção do ATTG (Del/Del) no gene NFκB1 tem alto risco para eventos cardiovasculares em pacientes com AR comparado com pacientes que eram homocigotos para a inserção do gene.⁵⁴ Outro estudo estratifi-

cou os pacientes de acordo com o genótipo do NFκB1 e avaliou sua combinação com o polimorfismo FCRL3, observando uma susceptibilidade à doença nos pacientes que eram heterocigotos (ins/Del) para o gene NFκB1.⁵³

Segundo um estudo, pacientes com LES tem um risco menor de desenvolver a doença quando incidir a presença do heterocigoto (inserção/deleção) do gene NFκB1 (-94ins/delATTG).⁵⁵ Entretanto outro estudo realizado não encontrou associação do gene NFκB1 em pacientes com LES.⁵¹

Interleucina-10

Diferentes estudos associaram diversos polimorfismos da IL-10 em doenças reumatológicas (tabela 4). Uma meta-análise realizada em pacientes com ES relatou que o polimorfismo -819 (C/T) da IL-10 está associado com a susceptibilidade para o desenvolvimento da ES. Eles observaram que o alelo C no locus -819 da IL-10 pode ser um fator de risco e o alelo A do polimorfismo 3575 pode contribuir para a doença, especialmente em caucasoides.⁵⁸ Contudo, outros estudos realizados individualmente não obtiveram os mesmos resultados. No oeste da Escócia não houve diferença estatística na distribuição dos genótipos da IL-10 entre pacientes e controles, mas, interessantemente, pacientes com a forma difusa da doença apresentavam uma baixa frequência do genótipo GCC/GCC (que está associado com uma alta produção de IL-10), sugerindo que a herança dos genótipos da IL-10 pode ser um dos eventos moleculares que determinam o fenótipo clínico.³⁴ Na Itália³⁶ e na Turquia⁵⁷, o haplótipo GCC estava mais expresso em pacientes com ES do que em controles, e no sul do Brasil observamos que o genótipo GCC/GCC demonstrou ser um fa-

Tabela 3. Análise do polimorfismo NFκB1 -94ins/delATTG (rs28362491) em doenças reumatológicas

Gene	Doença	Resultados	Número (N)		Estudo ^{Ref}
			Pacientes	Controles	
NFκB1 -94ins/ delATTG (rs28362491)	Esclerose Sistêmica	associação da inserção do ATTG (homocigoto) com o gene IL10 (-819)CC e (-592)CC	151	147	Salim et al. 2013 ⁵⁰
		Artrite Reumatoide	sem associação	272	264
	Lúpus Eritematoso Sistêmico	sem associação	458	657	Dieguez-Gonzalez et al. 2009 ⁵²
		associação do gene heterocigoto (ins/del) com o gene FCRL3 (-169)GG (P=0,003)	592	646	Martinez et al. 2006 ⁵³
		associação do gene homocigoto para a deleção (del/del) com o risco para eventos cardiovasculares (OR=1,76; P=0,03)	1437	*	Lopez-Mejias et al. 2002 ⁵⁴
	Espondilite Anquilosante	proteção com o gene heterocigoto (ins/del) (OR=0,52; P=0,012)	224	256	Gao et al. 2012 ⁵⁵
		sem associação	181	264	Orozco et al. 2005 ⁵¹
		sem associação	205	200	Kim et al. 2005 ⁵⁶

*O estudo somente avaliou a interação entre os pacientes

tor de risco para o desenvolvimento da doença.⁴⁸ No entanto, outro estudo realizado na Itália não encontrou tais associações com a doença.³³ No Japão, outros polimorfismos foram avaliados: -3575 A/T, -2849 A/G, e -2763 A/C. A frequência do heterozigoto AC na posição 2763 foi mais alta nos pacientes com ES do que nos controles. Já os pacientes com a forma difusa da esclerodermia tinham a frequência do homozigoto

to CC mais baixa quando comparados com controles sadios. Em caucasoides a frequência do homozigoto AA nas posições -3575 e 2763 foi maior em pacientes com ES comparados com os controles.⁶⁰

Alguns estudos em pacientes com artrite reumatoide não encontraram associação de polimorfismos da IL-10 com a doença.⁶³ No entanto, determinados estudos observaram um fa-

Tabela 4. Análise do polimorfismo da interleucina 10 (IL-10) em doenças reumatológicas

Gene	Doença	Polimorfismo	Resultados	Número (N)		Estudo ^{Ref}
				Pacientes	Controles	
IL-10	Esclerose Sistêmica	(-)1082G/A; (-)819C/T; (-)592C/A	associação do haplótipo GCC com a forma difusa (OR=1,84; P=0,04)	161	94	Beretta et al. 2007 ³⁶
			genótipo GCC/GCC (OR=1,87; P=0,019)	151	147	Salim et al. 2013 ⁴⁸
			proteção do genótipo GCC/GCC com a forma difusa (OR=0,10; P=0,005)	51	94	Crilly et al. 2003 ³⁴
			associação do genótipo GCC/GCC (OR=5,07; P=0,002)	45	150	Ates et al. 2008 ⁵⁷
		(-)590 A/C (-)3575 A/T	sem associação	242	242	Peng et al 2012 ⁵⁸
			associação do haplótipo AA com a forma limitada (OR=3,60; P=0,0002)	105	143	Beretta et al. 2008 ⁵⁹
			sem associação	78	692	Hudson et al. 2005 ⁶⁰
			associação do haplótipo GG com a forma limitada (OR=0,53; P=0,03)	105	143	Matuzzi et al. 2007 ³³
			associação do haplótipo AA com a forma limitada (OR=3,50; P=0,003) e a forma difusa (OR=3,0; P=0,03)	105	143	Hudson et al. 2005 ⁶⁰
	Artrite Reumatoide	(-)1082G/A; (-)819C/T; (-)592C/A	associação do haplótipo GCC (OR=1,46; P=0,006) e ACC (OR=1,43; P=0,011)	98	122	Ates et al. 2008 ⁵⁷
			associação do haplótipo ACC em pacientes positivos para fator reumatoide IgA (OR=1,6; P=0,05)	234	238	Hajeer et al. 1998 ⁶¹
			associação do genótipo GCC/GCC (OR=2,18; P<0,005)	95	104	Pawlik et al. 2005 ⁶²
			sem associação	222	398	Gambhir et al. 2010 ⁶³
		(-)1087G/A; (-)824C/T; (-)597C/A	haplótipo ATA associado com baixa produção de IL-10 (P<0,05)	84	95	Hee et al. 2007 ⁶⁴
			associação do alelo G em pacientes positivos para fator reumatoide IgG (P<0,001)	283	1220	Lard et al. 2003 ⁶⁵
(-)1082 G/A	sem associação (rs1800896)	376	463	Emonts et al. 2011 ⁴³		
	sem associação	108	128	Cantagrel et al. 1999 ⁶⁶		
	proteção com o genótipo AA (OR=0,56; P=0,006)	162	373	de Paz et al. 2010 ⁶⁷		
	sem associação (rs3021097)	376	463	Emonts et al. 2011 ⁴³		
(-)819 C/T (-)592 C/A	associação do alelo A (OR=1,31; P=0,008)	164	196	Ying et al. 2011 ⁶⁸		
	associação do genótipo CA (OR=46,34; P<0,001)	244	106	Paradowska-Gorycka et al. 2009 ⁶⁹		

*O estudo somente avaliou a interação entre os pacientes

tor de proteção desse gene para esses pacientes. Paradowska-Gorycka⁶⁹ et al. (2010) ressaltaram que o alelo G do SNP -1082 da IL-10 assim como o alelo C do SNP -592 foram mais frequentes nos controles do que nos pacientes com AR. De Paz⁶⁷ et al. (2010) também encontraram um fator de proteção nesse gene, mas no haplótipo AA do SNP -1082 da IL-10.

Por outro lado, todos os outros estudos observaram um fator de susceptibilidade para a doença. Ying et al. (2011)⁶⁸ relataram uma maior frequência do alelo C do SNP -592 C nos pacientes com AR, concordando com Hee et al. (2007),⁶⁴ que também achou esse resultado. De outro modo Pawlik et al. (2005)⁶² referiram uma maior frequência do haplótipo GG do SNP -1082 em pacientes com AR. Ates et al.⁵⁷ e Cantagrel et al.⁶⁶ também mencionaram o SNP -1082 como um fator de susceptibilidade para a doença. Alguns estudos com outros polimorfismos realizados com população brasileira não observaram associação com as doenças reumatológicas.⁷⁰

Analisando os haplótipos e genótipos da IL-10 em doenças reumatológicas, observamos que o genótipo GCC/GCC está associado com ES, AR e LES. Já o haplótipo ACC está associado com SS e LES; e o haplótipo GGC está associado com EA e AR. Por outro lado, em pacientes com AIJ, observou-se uma proteção com o genótipo GCC.

Conclusão

Os fatores genéticos podem contribuir para a insuficiência de tolerância e para o desenvolvimento de respostas autoimunes. Aqui se apresentou quão os genes NFKB1, IL-10, CXCL8 e CXCR2 poderiam estar aludidos na iniciação e progressão de doenças reumatológicas autoimunes. Existem ainda muitas divergências entre os estudos, mas isso se deve ao fato de as populações serem geneticamente diferentes. Portanto, a identificação de componentes individuais desses genes como a chave para uma determinada doença e o desenvolvimento de compostos inibitórios capazes de exercer uma atividade específica será uma tarefa promissora e desafiadora para o futuro.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- Campbell H, Rudan I. Interpretation of genetic association studies in complex disease. *Pharmacogenomics J*. 2002;2:349-60.
- Hewagama A, Richardson B. The genetics and epigenetics of autoimmune diseases. *J Autoimmun*. 2009;33:3-11.
- Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF- κ B. *Genes Dev*. 2004;18:2195-2224.
- Bonizzi G, Karin M. The two NF- κ B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends Immunol*. 2004;25:280-288.
- Le Beau MM, Ito C, Cogswell P, Espinosa R, Fernald AA, Baldwin AS Jr. Chromosomal localization of the genes encoding the p50/p105 subunits of NF- κ B (NFKB2) and the I κ B/MAD-3 (NFKBI) inhibitor of NF- κ B to 4q24 and 14q13, respectively. *Genomics*. 1992;14:529-531.
- Beinke S, Ley SC. Functions of NF- κ B1 and NF- κ B2 in immune cell biology. *Biochem J*. 2004;382:393-409.
- Dejardin E, Deregowski V, Greimers R, Cai Z, Chouaib S, Merville MP, Bours V. Regulation of major histocompatibility complex class I expression by NF- κ B-related proteins in breast cancer cells. *Oncogene*. 1998;16:3299-3307.
- Miagkov AV, Kovalenko DV, Brown CE, Didsbury JR, Cogswell JP, Stimpson SA et al. NF- κ B activation provides the potential link between inflammation and hyperplasia in the arthritic joint. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:13859-64.
- Wong HK, Kammer GM, Dennis G, Tsokos GC. Abnormal NF- κ B activity in T lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus is associated with decreased p65-RelA protein expression. *J Immunol*. 1999;163:1682-1689.
- Pimentel-Muinos FX, Seed B. Regulated commitment of TNF receptor signaling: a molecular switch for death or activation. *Immunity*. 1999; 11:783-793.
- Lin L, DeMartino GN, Greene WC. Co-translational biogenesis of NF- κ B p50 by the 26S proteasome. *Cell*. 1998;92:819-828.
- Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF- κ B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol*. 1998;16:225-260.
- Wickremasinghe MI, Thomas LH, Friedland JS. Pulmonary epithelial cells are a source of IL-8 in the response to *Mycobacterium tuberculosis*: essential role of IL-1 from infected monocytes in a NF- κ B-dependent network. *J Immunol*. 1999;163:3936-3947.
- Mackay CR. Chemokines: immunology's high impact factors. *Nat Immunol*. 2001;2:95-101.
- Atamas SP, White B. The role of chemokines in the pathogenesis of scleroderma [review]. *Curr Opin Rheumatol*. 2003;15:772-7.
- Hebert C, Vitangcol R, Baker J. Scanning mutagenesis of interleukin-8 identifies a cluster of residues required for receptor binding. *J Biol Chem*. 1991;266:18989-18994.
- Norgauer J, Krutmann J, Dobos GJ, Traynor-Kaplan AE, Oades ZG, Schraufstatter IU. Actin polymerization, calcium transients, and phospholipid metabolism in human neutrophils after stimulation with interleukin-8 and N-formyl peptide. *J Invest Dermatol*. 1994;102:310-314.
- Wu D, LaRosa GJ, Simon MI. G-protein-coupled signal transduction pathways for interleukin-8. *Science*. 1993;261:101-103.
- Schraufstatter IU, Chung J, Burger M. IL-8 activates endothelial cell CXCR1 and CXCR2 through Rho and Rac signaling pathways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;280:L1094-L1103.
- Witherow, DS, Garrison TR, Miller WE, Lefkowitz RJ. b-Arrestin inhibits NF- κ B activity by means of its interaction with the NF- κ B inhibitor I κ Ba. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:8603-8607.
- Bolster MB, Ludwicka A, Sutherland SE, Strange C, Silver RM. Cytokine concentrations in bronchoalveolar lavage fluid of patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 1997;40:743-51.
- Furuse S, Fujii H, Kaburagi Y, Fujimoto M, Hasegawa M, Takehara K et al. Serum concentrations of the CXC chemokines interleukin 8 and growth-regulated oncogene are elevated in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2003;30:1524-8.
- Pantelidis P, Southcott AM, Black CM, Du Bois RM. Up-regulation of IL-8 secretion by alveolar macrophages from patients with fibrosing alveolitis: a subpopulation analysis. *Clin Exp Immunol*. 1997;108:95-104.
- Santos JC, de Brito CA, Futata EA, Azor MH, Orii NM, Maruta CW et al. Up-regulation of chemokine C-C ligand 2 (CCL2) and C-X-C chemokine 8 (CXCL8) expression by monocytes in chronic idiopathic urticaria. *Clin Exp Immunol*. 2012;167:129-36.

25. Mavalia C, Scaletti C, Romagnani P, Carossino AM, Pignone A, Emmi L et al. Type 2 helper T-cell predominance and high CD30 expression in systemic sclerosis. *Am J Pathol.* 1997;151:1751-8.
26. Banchereau J, Pascual V, O'Garra A. From IL-2 to IL-37: the expanding spectrum of anti-inflammatory cytokines. *Nat Immunol.* 2012;13:925-31.
27. Sun J, Madan R, Karp CL, Braciale TJ. Effector T cells control lung inflammation during acute influenza virus infection by producing IL-10. *Nat Med.* 2009;15:277-84.
28. Eskdale J, Kube D, Gallagher G. A second polymorphic dinucleotide repeat in the 50-flanking region of the human IL-10 gene. *Immunogenetics.* 1996;45:82.
29. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV. An investigation of polymorphisms in the interleukin 10 gene promoter. *Eur J Immunogenet.* 1997;24:1-8.
30. Gibson AW, Edberg JC, Wu J, Westendorp RGJ, Huizinga TWJ, Kimberly RP. Novel single nucleotide polymorphisms in the distal IL-10 promoter affect IL-10 production and enhance the risk of systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 2001;166:3915-22.
31. Mok CC, Lanchbury JS, Chan DW, Lau SC. Interleukin 10 promoter polymorphisms in southern Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1998;41:1090-5.
32. Suarez A, Castro P, Alonso R, Mozo L, Gutierrez C. Interindividual variations in constitutive interleukin-10 messenger RNA and protein levels and their association with genetic polymorphisms. *Transplantation.* 2003;75:711-7.
33. Mattuzzi S, Barbi S, Carletto A, Ravagnani V, Moore PS, Bambara LM et al. Association of polymorphisms in the IL1B and IL2 genes with susceptibility and severity of systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2007;34:997-1004.
34. Crilly A, Hamilton J, Clark CJ, Jardine A, Madhok R. Analysis of the 5' flanking region of the interleukin 10 gene in patients with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford).* 2003;42:1295-8.
35. Ommen ES, Winston JA, Murphy B. Medical risks in living kidney donors: absence of proof is not proof of absence. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2006;1:885-95.
36. Beretta L, Bertolotti F, Cappiello F, Barili M, Masciocchi M, Toussoun K et al. Interleukin-1 gene complex polymorphisms in systemic sclerosis patients with severe restrictive lung physiology. *Hum Immunol.* 2007;68:603-9.
37. Moore JH. The ubiquitous nature of epistasis in determining susceptibility to common human diseases. *Hum Hered.* 2003;56:73-82.
38. Yamamoto T, Eckers B, Kreig T. Effect of interleukin 10 on the gene expression of type 1 collagen, fibronectin and decorin in human skin fibroblasts: Differential regulation by transforming growth factor and monocyte chemoattractant protein-1. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;281:200-5.
39. Crawley E, Kay R, Sillibourne J, Patel P, Hutchinson I, Woo P. Polymorphic haplotypes of the interleukin 10 5' flanking region determine variable interleukin 10 transcription and are associated with phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1999;42:1101-8.
40. Renzoni E, Lympany P, Sestini P, Pantelidis P, Wells A, Black C et al. Distribution of novel polymorphisms of the interleukin-8 and CXC receptor 1 and 2 genes in systemic sclerosis and cryptogenic fibrosing alveolitis. *Arthritis Rheum.* 2000;43:1633-40.
41. Lee EB, Zhao J, Kim JY, Xiong M, Song YW. Evidence of potential interaction of chemokine genes in susceptibility to systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2007 Jul;56:2443-8.
42. Salim PH, Jobim M, Bredemeier M, Chies JA, Brenol JC, Jobim LF, Xavier RM. Combined effects of CXCL8 and CXCR2 gene polymorphisms on susceptibility to systemic sclerosis. *Cytokine.* 2012;60:473-477.
43. Emonts M, Hazes MJ, Houwing-Duistermaat JJ, van der Gaast-de Jongh CE, de Vogel L, Han HK et al. Polymorphisms in genes controlling inflammation and tissue repair in rheumatoid arthritis: a case control study. *BMC Med Genet.* 2011;7:12-36.
44. Lo SF, Huang CM, Lin HC, Chen WC, Tsai CH, Tsai FJ. Cytokine (IL-6) and chemokine (IL-8) gene polymorphisms among rheumatoid arthritis patients in Taiwan. *Clin Exp Rheumatol.* 2008;26:632-7.
45. Sandling JK, Garnier S, Sigurdsson S, Wang C, Nordmark G, Gunnarsson I et al. A candidate gene study of the type I interferon pathway implicates IKBKE and IL8 as risk loci for SLE. *Eur J Hum Genet.* 2011;19:479-84.
46. Huang CM, Huo AP, Tsai CH, Chen CL, Tsai FJ. Lack of association of interleukin-6 and interleukin-8 gene polymorphisms in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Lab Anal.* 2006;20:255-9.
47. Sánchez E, Sabio JM, Callejas JL, de Ramón E, García-Portales R, García-Hernández FJ et al. Association study of genetic variants of pro-inflammatory chemokine and cytokine genes in systemic lupus erythematosus. *BMC Med Genet.* 2006;7:48.
48. Kato H, Tsuchiya N, Tokunaga K. Single nucleotide polymorphisms in the coding regions of human CXC-chemokine receptors CXCR1, CXCR2 and CXCR3. *Genes and Immunity.* 2000;1:330-337.
49. Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SD. Color and genomic ancestry in Brazilians. *P Natl Acad Sci USA.* 2003;100:177-82.
50. Salim PH, Jobim M, Bredemeier M, Chies JA, Brenol JC, Jobim LF et al. Interleukin-10 Gene Promoter and NFKB1 Promoter Insertion/Deletion Polymorphisms in Systemic Sclerosis. *Scand J Immunol.* 2013;77:162-8.
51. Orozco G, Sánchez E, Collado MD, López-Nevot MA, Paco L, García A et al. Analysis of the functional NFKB1 promoter polymorphism in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens.* 2005;65:183-6.
52. Dieguez-Gonzalez R, Akar S, Calaza M, Perez-Pampin E, Costas J, Torres M, Vicario JL et al. Genetic variation in the nuclear factor kappaB pathway in relation to susceptibility to rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2009;68:579-83.
53. Martínez A, Sánchez E, Valdivia A, Orozco G, López-Nevot MA, Pascual-Salcedo D et al. Epistatic interaction between FCRL3 and NFkappaB1 genes in Spanish patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:1188-91.
54. López-Mejías R, García-Bermúdez M, González-Juanatey C, Castañeda S, Miranda-Filloo JA, Gómez-Vaquero C et al. NFKB1-94ATTG ins/del polymorphism (rs28362491) is associated with cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis.* 2012 Oct;224:426-9.
55. Gao M, Wang CH, Sima X, Han XM. NFKB1 -94 insertion/deletion ATTG polymorphism contributes to risk of systemic lupus erythematosus. *DNA Cell Biol.* 2012;31:611-5.
56. Kim TH, Stone MA, Rahman P, Yoo DH, Park YW, Payne U et al. Interleukin 1 and nuclear factor-kappaB polymorphisms in ankylosing spondylitis in Canada and Korea. *J Rheumatol.* 2005;32:1907-10.
57. Ates O, Müsellim B, Ongen G, Topal-Sarikaya A. Association between 'interleukin' 10 gene (IL10) polymorphisms and systemic sclerosis with interstitial lung involvement. *Rheumatol Int.* 2008;28:1123-6.
58. Peng WJ, Wang BX, Pan HF, Tao JH, Zhang JQ, He Q et al. Association of the interleukin-10 1082G/A, 819C/T and 3575T/A gene polymorphisms with systemic sclerosis: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2012;39:6851-5.
59. Beretta L, Cappiello F, Barili M, Scorza R. Proximal interleukin-10 gene polymorphisms in Italian patients with systemic sclerosis. *Tissue Antigens.* 2007;69:305-12.

60. Hudson LL, Rocca KM, Kuwana M, Pandey JP. Interleukin-10 genotypes are associated with systemic sclerosis and influence disease-associated autoimmune responses. *Genes and Immunity*. 2005;6:274-278.
61. Hajeer AH, Lazarus M, Turner D, Mageed RA, Vencovsky J, Sinnott P et al. IL-10 gene promoter polymorphisms in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*. 1998;27:142-5.
62. Pawlik A, Kurzawski M, Szklarz BG, Herczynska M, Drozdziak M. Interleukin-10 promoter polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2005;24:480-484.
63. Gambhir D, Lawrence A, Aggarwal A, Misra R, Mandal SK, Naik S. Association of tumor necrosis factor alpha and IL-10 promoter polymorphisms with rheumatoid arthritis in North Indian population. *Rheumatol Int*. 2010;30:1211-1217.
64. Hee CS, Gun SC, Naidu R, Gupta E, Somnath SD, Radhakrishnan AK. Comparison of single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-10 gene promoter between rheumatoid arthritis patients and normal subjects in Malaysia. *Mod Rheumatol*. 2007;17:429-35.
65. Lard LR, van Gaalen FA, Schonkeren JJ, Pieterman EJ, Stoeken G, Vos K, Nelissen RG, Westendorp RG et al. Association of the -2849 interleukin-10 promoter polymorphism with autoantibody production and joint destruction in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2003;48:1841-8.
66. Cantagrel A, Navaux F, Loubet-Lescoulié P, Nourhashemi F, Enault G, Abbal M et al. Interleukin-1beta, interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-4, and interleukin-10 gene polymorphisms: relationship to occurrence and severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1999;42:1093-100.
67. de Paz B, Alperi-López M, Ballina-García FJ, Prado C, Mozo L, Gutiérrez C et al. Interleukin 10 and tumor necrosis factor-alpha genotypes in rheumatoid arthritis-association with clinical response to glucocorticoids. *J Rheumatol*. 2010;37:503-11.
68. Yíng B, Shi Y, Pan X, Song X, Huang Z, Niu Q, Cai B, Wang L. Association of polymorphisms in the human IL-10 and IL-18 genes with rheumatoid arthritis. *Mol Biol Rep*. 2011;38:379-385.
69. Paradowska-Gorycka A, Trefler J, Maciejewska-Stelmach J, Lacki JK. Interleukin-10 gene promoter polymorphism in Polish rheumatoid arthritis patients. *Int J Immunogenet*. 2010;37:225-231.
70. Mota LM, Rabelo FS, Lima FA, Lima RA, Carvalho JF, Barra GB, Amato AA. Lack of association between the CC genotype of the rs7903146 polymorphism in the TCF7L2 gene and rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol*. 2012 Aug;52:523-8.