
Influência das Variantes Genéticas do Gene *TLR7* na Fisiopatologia do Lúpus Eritematoso Sistêmico

Influence of Genetic Variants of the *TLR7* Gene on the Pathophysiology of Systemic Lupus Erythematosus

Luana Brilhante de Sousa¹ ; Tereza Raquel Xavier Viana² ; Larissa Teodoro Rabi³ 

¹Graduanda em Biomedicina, Universidade Paulista (UNIP), Campinas-SP, Brasil; ²Graduanda em Biomedicina, Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio (CEUNSP), Itu-SP, Brasil. ³Mestra em ciências, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Docente da Universidade Paulista (UNIP), Campinas-SP, Brasil.

*Autor correspondente: espacotr@hotmail.com

Recebido: 20/07/2024 | Aprovado: 28/08/2024 | Publicado: 12/09/2024

Resumo

Introdução: O gene *TLR7* codifica a proteína TLR7, essencial no reconhecimento de patógenos e ativação de fatores pró-inflamatórios. Sua desregulação está associada ao Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), uma doença autoimune caracterizada pela deposição de complexos imunes nos tecidos. **Objetivo:** Analisar as variantes genéticas do *TLR7* e suas implicações fisiopatológicas e terapêuticas no LES. **Métodos:** Trata-se de uma revisão integrativa da literatura. Os artigos foram coletados nas bases de dados PubMed, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), aplicando os descritores “*TLR7*”, “*TLR*”, “*Autoimmune Diseases*”, “*Lúpus*”, “*Systemic Lupus Erythematosus*”, “*Treatments*”, “*Gain Of Function*” e “*Polymorphism*”, consultados no Descritores em Ciências da Saúde (Decs). Os critérios de inclusão foram artigos datados de 2014 à 2024, em português ou inglês, disponíveis gratuitamente. Os critérios de exclusão foram artigos não relacionados ao *TLR7* e sua expressão no LES. **Resultados:** A literatura demonstra que variantes de ganho de função além de ativarem a proteína TLR7 se relacionam a danos neurológicos. Pesquisas realizadas em busca de SNPs significativos, demonstraram que o rs3853839, seus genótipos e alelos, não apenas se correlacionaram com o desenvolvimento da doença, mas também demonstraram associação com os componentes relacionados ao *TLR7* e sinais clínicos do LES. **Conclusão:** As variantes genéticas detectadas no *TLR7* foram consistentemente ligadas à suscetibilidade ao LES em diferentes populações ao redor do mundo. Em particular, o rs3853839 emergiu como um marcador crucial nesse contexto. Essas descobertas destacam potenciais alvos terapêuticos e biomarcadores para o LES.

Palavras-chave: Genética. Lúpus Eritematoso Sistêmico. *TLR7*. Variantes. Tratamentos.

Abstract

Introduction: The *TLR7* gene encodes the TLR7 protein, which is essential for recognizing pathogens and activating pro-inflammatory factors. Its deregulation is associated with Systemic Lupus Erythematosus (SLE), an autoimmune disease characterized by the deposition of immune complexes in tissues. **Objective:** Analyzing *TLR7* genetic variants and their pathophysiological and therapeutic implications in SLE. **Methods:** It is an integrative review of the literature. The articles were collected from the PubMed, Virtual Health Library (VHL) and Scientific Electronic Library Online (SciELO) databases, using the descriptors “*TLR7*”, “*TLR*”, “*Autoimmune Diseases*”, “*Lupus*”, “*Systemic Lupus Erythematosus*”, “*Treatments*”, “*Gain Of Function*” and “*Polymorphism*”, consulted in the Health Sciences Descriptors (Decs). The inclusion criteria were articles dated from 2014 to 2024, in Portuguese or English, available free of charge. Exclusion criteria were articles not related to *TLR7* and its expression in SLE. **Results:** The literature shows that gain-of-function variants in addition to activating the TLR7 protein are related to neurological damage. Searches for significant SNPs showed that rs3853839, its genotypes and alleles, not only correlated with disease development, but also showed an association with *TLR7*-related components and clinical signs of SLE. **Conclusion:** The genetic variants detected in *TLR7* have been consistently linked to SLE susceptibility in different populations around the world. In particular, rs3853839 has emerged as a crucial marker in this context. These findings highlight potential therapeutic targets and biomarkers for SLE.

Keywords: Genetics. Systemic Lupus Erythematosus. *TLR7*. Variants. Treatments.

1 Introdução

Os receptores do tipo *Toll Like Receptors* (TLR) são declarados como uma família de proteínas de receptores de reconhecimento de padrões que conseguem reconhecer os Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMPs), e ativar as respostas imune inata e adaptativa mediante patógenos infecciosos microbianos. Nos últimos tempos, os TLRs têm sido identificados como elementos relevantes nas doenças autoimunes (Zhang *et al.*, 2021; Baek *et al.*, 2021).

O gene *TLR7* encontrado no cromossomo X, no locus Xp22.2, situado no interior de células B e células dendríticas plasmocitoides (pDCs), codifica a proteína TLR7 que possui como função reconhecer fitas simples de RNA (ssRNA) dos patógenos, ao ligar-se com a guanosina ou 2',3' *Cyclophosphate Guanosine Monophosphate* (cGMP), e ativar fatores pró-inflamatórios. Devido a sua localização no cromossomo X salienta-se que sua expressão é maior em mulheres do que em homens, sabe-se que mulheres que expressam bialélicamente *TLR7* nas células B possuem maior susceptibilidade a doenças autoimunes. De maneira análoga, é observada uma maior predisposição das mulheres ao desenvolvimento do Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) (Baek *et al.*, 2021; Marwa *et al.*, 2022; Brown *et al.*, 2022; Villalvazo *et al.*, 2022).

A proteína TLR7, ao recrutar a proteína MyD88, inicia uma série de sinalizações intracelulares, uma cascata de sinalização é iniciada com a ativação do *Interferon Regulatory Factor 7* (IRF7) e ativação do NF- κ B, fator de transcrição pró inflamatório, que induz a secreção de citocinas e Interferonas do Tipo I (IFNs-I) (Villalvazo *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2022).

Em consequência da ação da proteína TLR7 que atua na sinalização da resposta imune através da ativação de fatores pró inflamatórios e linfócitos B, a desregulação do gene é associada ao desenvolvimento do LES (Vinuesa *et al.*, 2023). Regularmente em pacientes com LES que possuem uma hiperatividade no gene *TLR7* é observado excessivo número de células B em circulação concomitantemente (Vinuesa *et al.*, 2023; Fillatreau *et al.*, 2020).

Estudos genéticos reconheceram a associação entre polimorfismos nos genes *TLRs* e o desenvolvimento do LES. A produção exacerbada de citocinas pró-inflamatórias e IFNs-I no LES foi associada à desregulação do *TLR7* a partir de *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP). A vinculação dos SNPs e *Copy Number Variations* (CNV) ao gene *TLR7* e a susceptibilidade à doença foi ratificada por pesquisas genéticas. Especialmente, o SNP rs3853839, encontrado na região não codificante 3', foi correlacionado ao aumento dos RNAs mensageiros do *TLR7*, à expressão da proteína TLR7 e à *up-regulation* (regulação positiva) de genes estimulados pelo IFN-I (Marwa *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2014).

Além disso, pesquisas conduzidas em camundongos demonstraram que alterações no gene *TLR7* o tornam um fator patogênico no LES, enquanto estudos conduzidos em humanos demonstraram que seja por mutação de ganho de função ou por escape da inativação do cromossomo X, o *TLR7* é associado e contribui com o desenvolvimento da doença (Cosgrove *et al.*, 2023).

Recentemente, um conjunto de cientistas conduziu uma pesquisa que efetivamente vinculou as variantes de ganho de função no gene *TLR7* ao LES. Através da técnica de *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated protein 9* (CRISPR/Cas9) foi introduzido um alelo ortólogo da *TLR7Y264H* em camundongos. O resultado desse teste resultou no ganho de função do gene *TLR7* nos camundongos testados, que desenvolveram autoimunidade e obtiveram aumento de linfócitos B, centros germinais, células no plasma, células associadas a idade e citocinas inflamatórias, além de desenvolverem leucopenia, trombocitopenia, glomerulonefrites e infiltrações linfocitárias. O presente estudo também demonstrou que camundongos *TLR7*-deficientes ou *MyD88*-deficientes possuíam níveis diminuídos de linfócitos B e T e tinham o fenótipo celular e sorológico normalizados, nessa ordem. Essas evidências podem contribuir para novas pesquisas e estudos, com intuito de alavancar a formação de novas terapias para o LES (Brown *et al.*, 2022).

Em um contexto mais amplo, o Lúpus é categorizado em dois tipos principais: o LES e o Lúpus Cutâneo Sistêmico (LCS). O LES é uma doença autoimune multifatorial que pode atingir os órgãos vitais do corpo humano (Vale & Garcia, 2023). Ocorre quando o sistema imunológico não consegue distinguir os antígenos nocivos dos componentes do organismo, atacando assim os próprios tecidos, resultado de um aumento excessivo da produção de anticorpos por células B ativadas, o que causa inflamação e prejudica a imunidade da pessoa que contém a doença (Vale & Garcia, 2023; Loures *et al.*, 2023).

Os sintomas relacionados ao LES podem se desencadear de maneira branda como em erupções cutâneas, assim como podem se desencadear de forma mais agressiva, alvejando principalmente os órgãos vitais, atingindo e debilitando o sistema nervoso central, os rins e/ou o coração levando a pessoa com a doença ao óbito (Vale & Garcia, 2023; Barbosa *et al.*, 2023; Accapezzato *et al.*, 2023). Além desses sintomas, outros são relatados por pacientes e são clinicamente considerados comuns, como fadiga, dor nas juntas, e até mesmo ansiedade e depressão (Jiao *et al.*, 2022).

A origem do LES é complexa, e consegue envolver múltiplos fatores sendo eles hormonais, ambientais, epigenéticos e genéticos, por isso a etiologia da doença ainda é discutida e estudada (Vale & Garcia, 2023). O LES também é considerado uma doença poligênica (Villalvazo *et al.*, 2022), na qual é de conhecimento geral que a sinalização das vias regulatórias e pró inflamatórias entram em desequilíbrio nos pacientes, resultando em um aumento significativo de autoanticorpos devido a ativação das células B e ocasionando a perda da tolerância imunológica (Robinson & Thomas, 2021; Loures *et al.*, 2023). Não apenas os linfócitos B são significativos nesse momento ao produzirem anticorpos, mas os linfócitos T também ao passo que mutam os anticorpos a partir dos centros germinais. Assim, a deposição de complexos imunes formados causa inflamação e dano aos tecidos atingidos caracterizando a LES (Robinson & Thomas, 2021).

Atualmente o tratamento da LES se baseia no uso de imunossuppressores, drogas anti-inflamatórias, glicocorticoides e hidroxicloroquina. Porém eles são utilizados apenas para controle de sintomas e não para cura da doença (Pan *et al.*, 2019). A heterogeneidade clínica do LES é um fator agravante que proporciona resistência à realização de estudos contemporâneos para surgimento de novas terapias (Sim *et al.*, 2022). Nos últimos 10 anos, apenas dois novos tratamentos surgiram e foram aceitos. O Belimumabe, anticorpo

monoclonal apto a reduzir a atividade dos linfócitos B, aprovado em 2011 e o Anifrolumabe, anticorpo monoclonal apto a bloquear o receptor IFN-I, aprovado em 2021, os dois medicamentos possuem cunho biológico e foram os primeiros e únicos medicamentos com essas características aprovados até o presente momento (Sim *et al.*, 2022; Nandakumar & Nündel, 2022).

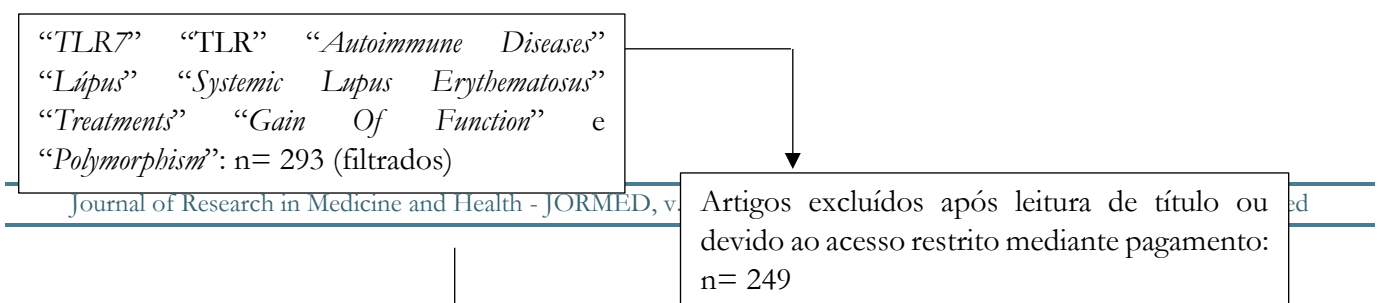
A preocupação atual no uso de glicocorticoides são os diversos efeitos adversos severos que eles trazem, como: o aumento da pressão alta, diabetes e a osteoporose. Ao passo que a utilização de imunossupressores igualmente detém efeitos adversos, ademais não são recomendados para pacientes gestantes. Alguns pacientes não respondem de modo efetivo a tais tratamentos enquanto outros ficam em demasia debilitados imunologicamente e suscetíveis a infecções pelo uso destas terapias por um longo período de tempo (Jiao *et al.*, 2022). Como tais recursos terapêuticos não são específicos cria-se a urgência de novos tratamentos. Inicia-se então uma discussão sobre a criação de novas terapias com caráter agora genético devido as recentes descobertas sobre as variantes genéticas no gene *TLR7* e sua associação ao LES. Assim, terapias capazes de inibir a TLR 7 ou a MyD88 podem ser o futuro do tratamento do LES. (Brown *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2022; Accapezzato *et al.*, 2023; Tanaka, 2020).

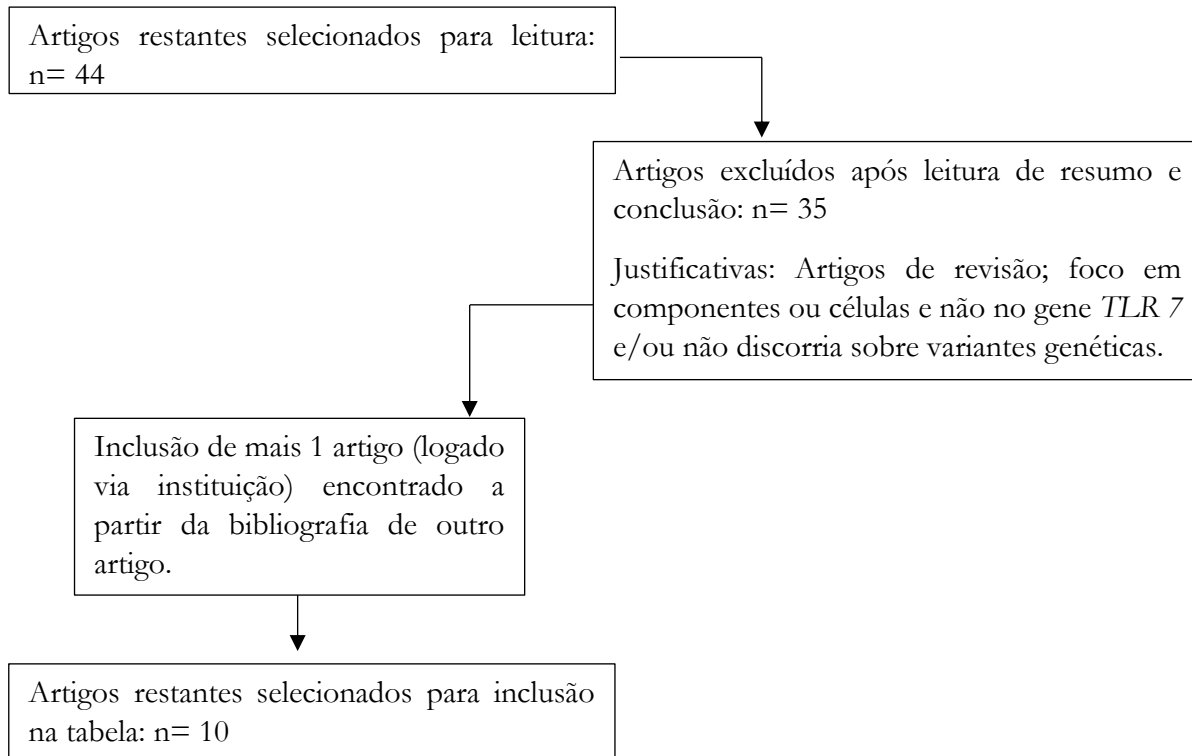
Desse modo, o objetivo deste trabalho foi analisar as principais mutações e polimorfismos, reportados na literatura, para o gene *TLR7*, demonstrando a associação dessas variantes com a fisiopatologia do LES, bem como, sua relevância no desenvolvimento de tratamentos inovadores.

2 Material e métodos

Foi realizada uma revisão integrativa da literatura. Os artigos científicos foram coletados nas bases de dados PubMed, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), aplicando os descritores “*TLR7*” “*TLR*” “*Autoimmune Diseases*” “*Lúpus*” “*Systemic Lupus Erythematosus*” “*Treatments*” “*Gain Of Function*” e “*Polymorphism*”, consultados no Descritores em Ciências da Saúde (Decs). Os critérios de inclusão foram artigos datados de 2014 à 2024, publicados em português ou inglês, disponíveis gratuitamente. Os critérios de exclusão foram artigos que se concentravam exclusivamente em TLRs específicos sem considerar o gene *TLR7* ou sua proteína, artigos sobre tratamentos do LES em gestantes ou em determinada faixa etária e artigos que descreviam o mecanismo patológico de células ou componentes não relacionados ao *TLR7* e sua expressão.

Figura 1 - Fluxograma delineando o processo de seleção dos artigos originais sobre a influência das variantes genéticas do gene *TLR7* na fisiopatologia do LES para inclusão nos resultados e discussão.





Fonte - Elaborado pelos autores.

3 Resultados e discussão

A tabela a seguir exibe 10 artigos selecionados, mediante os critérios estabelecidos na metodologia, que exploram variantes genéticas no gene *TLR7*. Tais variantes genéticas destacadas na tabela podem facilitar a busca por novos alvos terapêuticos, e assim proporcionar uma melhor qualidade de vida aos portadores de LES.

Tab. 1 – Apresentação dos artigos originais incluídos na discussão.

Autor/Ano	Metodologia	Objetivo	Variantes genéticas significativas	Conclusão
Laska <i>et al.</i> (2014)	Genotipagem <i>Multiplex Sequenom</i> para SNPs e PCR em tempo real para mRNA de células mononucleares do sangue periférico.	Compreender polimorfismos dos TLRs e sua relação com o LES, além das alterações na expressão desses receptores celulares.	Nenhuma encontrada.	SNPs em TLR3, TLR8 e TLR9 ligados ao LES; ausência de vínculo com polimorfismos em TLR7. Limitações destacadas pelos pesquisadores explicam os resultados.

Wang <i>et al.</i> (2014)	Genotipagem de SNPs nos genes <i>TLR3</i> , <i>TLR7</i> e <i>TLR8</i> usando ensaios TaqMan em pacientes com LES e em controles.	Investigar a associação entre variações genéticas no <i>TLR3</i> , <i>TLR7</i> e <i>TLR8</i> , o LES e suas manifestações clínicas, em uma população taiwanesa.	rs3853839 (SNV) rs179010 (SNV) rs5935436 (SNV)	SNPs no <i>TLR7</i> e <i>TLR8</i> , destaque para o <i>TLR7</i> rs3853839-G.C, relacionam-se com a suscetibilidade ao LES, as manifestações e produção de autoanticorpos.
Skonieczna <i>et al.</i> (2018)	PCR em tempo real para identificação de novos SNPs em grupo de casos e controle.	Esclarecer o papel de dois novos SNPs no gene <i>TLR7</i> em condições imunológicas, como LES, lúpus discoides e aspergilose invasiva, em pacientes poloneses.	rs1634318 (SNV) rs1616583 (SNV)	Foi indicado que os dois SNPs no gene <i>TLR7</i> estão vinculados ao desenvolvimento do LES, participando também no reconhecimento de patógenos na aspergilose invasiva.
Hisada <i>et al.</i> (2019)	Quarente e seis pacientes com Síndrome do Anticorpo Antifosfolípideo (SAF), entre eles pacientes com LES e SAF. Genotipagem de SNP usando Taqman e mais abordagens.	Entender a produção de anticorpos antifosfolípidicos na SAF, investigando o <i>TLR7</i> rs3853839 como potencial alvo terapêutico, relacionando às doenças (SAF e LES).	rs3853839 C/G (SNV, do Inglês, <i>Single Nucleotide Variant</i>)	A pesquisa indicou que na SAF, o aumento de plasmablastos está ligado ao gene <i>TLR7</i> e IFN-I, sugerindo similaridades na fisiopatologia com o LES.
Wang <i>et al.</i> (2019)	Abordagem abrangente: Cultura de células, análise fenotípica de células B, genotipagem, citometria de fluxo, PCR em tempo real e análise estatística.	Examinar o SNP rs3853839 para entender seu impacto na expressão do <i>TLR7</i> , sua ligação com a ativação de células B autorreativas e a produção de autoanticorpos.	rs3853839 C/G (SNV)	Destacou-se ligação direta entre alta expressão do <i>TLR7</i> e anormalidades nas células B, expansão de células B transitórias e aumento na produção de autoanticorpos.
Brown <i>et al.</i> (2022)	Abordagem ampla, utilizou-se de CRISPR-Cas9 para geração de camundongos mutantes para <i>TLR7</i> e sequenciamento genético humano utilizando kits.	Compreender como as variantes genéticas de ganho de função no gene <i>TLR7</i> podem impactar a resposta imunológica e o desenvolvimento de distúrbios autoimunes.	TYR264HIS (Substituição) PHE507LEU (Substituição) ARG28GLY (Substituição)	Foi demonstrado que a mutação <i>TLR7</i> Y264H aumenta seletivamente a sensibilidade a guanosina, ativando o TLR 7, contribuindo para o desenvolvimento do LES.
Marwa <i>et al.</i> (2022)	Utilização de PCR em tempo real e <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i> (RFLP) em 100 pacientes com LES e 100 controles.	Entender se os polimorfismos nos genes <i>TLR7</i> e <i>TLR9</i> estão relacionados à susceptibilidade ao LES e seus sintomas clínicos.	rs3853839 Variante de Nucleotídeo Único	Através do estudo demonstrou-se que o SNP <i>TLR7</i> rs3853839 é associado ao desenvolvimento do LES e suas variações a alguns sintomas clínicos, especialmente a nefrite.

Pacheco <i>et al.</i> (2022)	PCR em tempo real para analisar o CNV do <i>TLR7</i> e ensaios de discriminação alélica com sondas TaqMan (c_2259574_10) para identificar o SNP e alelos.	Analisar o CNV do gene <i>TLR7</i> e a frequência de SNPs no mesmo, os considerando possíveis fatores de risco do LES para população do Iucatã e México Central.	rs179008 (SNV)	O <i>TLR7</i> tem um papel no LES em mestiços mexicanos, cópias adicionais do gene podem ser um fator de risco para o desenvolvimento da doença em maias.
Jassim <i>et al.</i> (2023)	Análise genética realizada pela <i>Macrogen</i> (empresa sul-coreana) em pacientes com LES e grupo controle (mulheres), após PCR.	Investigar o SNP rs385383 e sua associação com o desenvolvimento do LES na população iraquiana.	rs179008 (SNV) rs3853839 (SNV)	Compreendeu-se que a presença do genótipo GG no rs3853839 do <i>TLR7</i> mostra associação com o LES. O genótipo CG é comum em pessoas sem a doença.
David <i>et al.</i> (2024)	Sequenciamento genético, sendo um painel personalizado para a família AGS571 e exoma completo para a família AGS3740.	Investigar mutações no gene <i>TLR7</i> e sua proteína para compreender seu impacto na resposta imune.	PHE507SER (Substituição) LEU528ILE (Substituição)	Salienta-se que as mutações no <i>TLR7</i> não se limitam ao fenótipo comum do LES, mas revelam uma ampla gama de condições, especialmente comprometimento neurológico.

Fonte: Elaborada pelos autores.

O LES é uma doença que afeta atualmente aproximadamente 5 milhões de indivíduos globalmente, especialmente mulheres. A taxa de mortalidade entre os pacientes com LES chega a ser duas a três vezes maior do que a da população em geral. Além disso, atualmente o LES é apontado como uma das principais causas de morte entre mulheres jovens. Identificado a partir dos sintomas, estes que variam significativamente. Seu diagnóstico impõe um imenso sofrimento aos pacientes e isso ocorre porque a doença é intratável, potencialmente fatal e requer intervenções terapêuticas, tanto medicamentosas quanto não medicamentosas, ao longo de toda a vida (Barber *et al.*, 2021).

A utilização dos medicamentos atuais (imunossupressores, drogas anti-inflamatórias, glicocorticoides e hidroxiquina) não garante a excelência na melhora da qualidade de vida; pois estão relacionados a mortalidade e morbidade dos pacientes em função dos efeitos adversos que proporcionam, além de não serem efetivos para todos (Pan *et al.*, 2019).

Por conseguinte, devido ao caráter multifatorial do LES e as sucessivas falhas na utilização das terapias convencionais ou no desenvolvimento de medicamentos com diferentes alvos, cria-se a urgência de novos estudos capazes de proporcionar terapias eficazes. Portanto, através das variantes encontradas no gene *TLR7*, acende-se um alerta de esperança para pacientes com LES e a comunidade científica que esperam a aplicação desses novos achados na terapêutica (Wang *et al.*, 2022).

O estudo de Wang *et al.* (2014), publicado em 2014, abordou a atuação de 6 SNPs nos genes *TLR3*, *TLR7* e *TLR8* e procurou identificá-los e associa-los ao LES e seus sinais e sintomas. Os SNPs analisados foram os rs3775291 e rs3775296 para *TLR3*; rs3853839, rs5935436 e rs179010 para *TLR7* e rs3764880 para

TLR8. Os pesquisadores investigaram 795 pacientes com LES e 1162 pessoas em estado de saúde satisfatório como grupo controle, realizando após extração de DNA, a genotipagem dos SNPs destes a partir de ensaios TaqMan e análises estatísticas. A pesquisa identificou que há uma associação alélica importante entre o LES e o SNP rs3853839 presente no gene *TLR7*, também foi observado que o alelo G obteve um efeito recessivo, propondo que esse mesmo SNP atua no desenvolvimento da doença. Além disso, as manifestações clínicas mais sérias do LES foram associadas ao alelo de risco G do *TLR7* rs3853839. Tais achados foram identificados apenas nas mulheres presentes entre os pacientes. Os resultados encontrados indicaram que entre os SNPs analisados, as variações encontradas nos genes *TLR8* e *TLR7*, em especial o SNP *TLR7* rs3853839-G > C, foram associadas ao risco de susceptibilidade ao LES e sua fisiopatologia, tornando-as assim possíveis biomarcadores que poderão auxiliar na previsão e prevenção de manifestações advindas do LES.

Semelhantemente, Hisada *et al.* (2019) conduziu uma pesquisa em 2019, na qual analisou o gene *TLR7* e o SNP *TLR7* rs3853839, frente a necessidade de assimilar e esclarecer o mecanismo de produção de anticorpos fosfolipídicos. Para realização da pesquisa, foram genotipados após extração de DNA, 46 pacientes com SAF, entre eles 19 pacientes com SAF associada ao LES, e 10 pacientes saudáveis como grupo controle. Ao analisarem em pacientes com SAF, um subconjunto de células B e o SNPs que contém relação com a doença, os pesquisadores apresentaram que o alelo GG do SNP *TLR7* rs3853839, suscetível ao LES, possuía correlação com a redução de células B, a elevação de plasmablastos e a *up-regulation* do IFN-I, um elemento importante para o processo de origem e desenvolvimento do LES. Portanto, há evidências que a fisiopatologia do LES e do SAF são semelhantes e o SNP *TLR7* rs3853839 possui um papel importante nessa fisiopatologia.

Wang *et al.* (2019), em sua pesquisa realizada também em 2019, buscou compreender como variações afetam a expressão do gene *TLR7*, destacando o *TLR7* rs3853839 C/G e sua influência na expressão do gene, nas células B autorreativas e nos autoanticorpos em pacientes diagnosticados com LES. Quarenta e sete pacientes diagnosticados com LES e 16 controles em boa saúde foram avaliados. Para obterem os resultados, os pesquisadores realizaram um estudo abrangente, genotipando para o SNP C/G rs3853839 e verificando a expressão do gene *TLR7* nas células mononucleares do sangue periférico. Foi evidenciado que os resultados sugerem um possível papel patogênico das células B transitórias na patogênese do LES em humanos, demonstrando uma relação entre a expressão elevada de *TLR7*, a expansão dessas células e a produção aumentada de autoanticorpos. Além de apresentarem que o polimorfismo C/G rs3853839 aumenta a expressão do *TLR7*. Apontando assim possíveis biomarcadores e alvos terapêuticos (inibição do *TLR7* e/ou IFN ou terapias com foco nas células B).

Corroborando com as pesquisas anteriormente realizadas, Marwa *et al.* (2022), ao buscar entender a relação dos SNPs *TLR7* rs3853839 e *TLR9* rs187084 e o LES em pacientes egípcios, conseguiu não só associar o SNP rs3853839 do gene *TLR7* à doença, como também o associou às manifestações clínicas da mesma. Através das técnicas de PCR em tempo real e *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), 100 pacientes egípcios com LES e 100 indivíduos em plena saúde como grupo controle foram avaliados. Com isso, foi sugerido que o genótipo CG e o alelo G do *TLR7* rs3853839 possuem uma correlação significativa com o LES.

Em relação aos sintomas clínicos, foi elucidado que todos os genótipos e alelos desse SNP possuem vínculo com a nefrite e os genótipos/alelos GG, CG e G possuem correlação com a artrite, ulcera oral e trombocitopenia, manifestações comuns no LES. Sugerindo assim que essas variantes genéticas encontradas no *TLR7* podem auxiliar no surgimento de novos tratamentos preventivos, além de serem potenciais biomarcadores.

Mais recentemente, Jassim *et al.* (2023), publicou um estudo abordando também o SNP *TLR7* rs3853839 e sua associação com o LES, agora em pacientes Iraquianos. Cinquenta mulheres diagnosticados com LES e 50 mulheres saudáveis foram avaliadas para o estudo. A determinação do SNP aconteceu a partir da genotipagem pela empresa sul-coreana *Macrogen*, após PCR realizada pelos pesquisadores. Além de outros componentes como anticorpos antinucleares (ANA) e anticorpos anti-dsDNA dos pacientes com LES obterem seus níveis séricos comparados aos do grupo controle. Foi notado por Jassim *et al.* (2023) um aumento nos níveis séricos de todos os componentes em relação ao grupo controle. Logo, o genótipo GG do SNP rs3853839 foi fortemente correlacionado a fisiopatologia do LES, enquanto o CG do SNP rs3853839 foi associado ao grupo controle no estudo.

Na pesquisa de Skonieczna *et al.* (2018), novos SNPs foram encontrados e associados ao LES. Skonieczna *et al.* (2018) procurou compreender o papel de duas novas variantes flanqueadoras do promotor *TLR7* no desenvolvimento de condições imunológicas em pacientes poloneses: os SNPs rs1634318 e rs1616583. Sessenta e cinco pacientes com leucemia foram analisados, 35 com Lúpus Eritematosos Discoide (LED) e 84 com LES. Paralelamente, 100 indivíduos saudáveis foram selecionados como grupo controle. Através da PCR em tempo real a genotipagem para encontrar os SNPs rs1634318 e rs1616583 foi realizada. Pacientes com leucemia, com LES e do grupo controle foram identificados como portadores desses SNPs no *TLR7*. Além disso, o estudo identificou que em relação as frequências do alelo C e G, nos SNPs rs1634318 e rs1616583, nessa ordem, eram duas vezes mais altas do que nos pacientes controles. Em suma, foi identificado que essas variantes possuem um papel no desenvolvimento do LES e na resposta imunológica frente a *Aspergilose Invasiva*, mas não no LED.

O estudo conduzido por Pacheco *et al.* (2022), investigou o CNV e a frequência do SNP rs179008 no gene *TLR7* e a associação dessa variante com o desenvolvimento e a susceptibilidade do LES em duas populações mexicanas. Elucidando assim o papel da genética e a complexidade da patogenia do LES. Cerca de 100 pacientes com LES e 102 pessoas saudáveis foram selecionados para estudo da população Iucatã, enquanto 151 pacientes com LES e 121 controles saudáveis foram analisados para estudo da população do México Central. A partir da PCR em tempo real, o CNV e as frequências alélicas e genotípicas do SNP *TLR7*rs179008 foram determinadas. Mediante os resultados encontrados, foi identificado que obter mais de duas cópias do gene *TLR7* aumenta a probabilidade de desenvolvimento do LES principalmente para os Iucatã e que também há uma associação estatisticamente significativa do alelo T e dos genótipos A/T e T/T do SNP rs179008 em mulheres da região central do México. Fornecendo desse modo, evidências que apoiam a ideia de que as diferenças genéticas e o gene *TLR7* estão envolvidos na patogênese do LES em populações mestiças no México.

Através dos estudos conduzidos por Brown *et al.* (2022), com o propósito de estabelecer uma relação entre o gene *TLR7* e o LES através de mutações genéticas, o que não havia sido relatado até o momento, realizou-se análise do sequenciamento genético em três famílias, nomeadas A, B e C. Paralelamente foi realizada pesquisas em modelo animal, para testar possível indução do LES através das variantes encontradas. O sequenciamento genético humano foi conduzido com kits específicos, enquanto para a pesquisa em modelo animal, camundongos foram manipulados geneticamente através da técnica de CRISPR-Cas9. Durante o processo, foram identificadas mutações significativas. Uma dessas mutações foi uma variante missense de novo, *TLR7*p.Tyr264His, localizada na oitava repetição rica em leucina do gene. Notavelmente, o resíduo de tirosina afetado está na porção endossômica do receptor. Além disso, uma variante heterozigótica, *RNASEH2B* p.Ala177Thr, também foi identificada. O sequenciamento completo do exoma em outros participantes revelou duas variantes adicionais, B.I.2 F507L e C.I.1 R28G. Os pesquisadores também identificaram que as mutações *TLR7*Y264H e *TLR7*F507L ativavam de forma aprimorada o NF-Kb após estimulação com 2'3'-cGMP e que a guanosina teve uma afinidade aumentada ao local de ligação do TLR 7 com a mutação H264, indicando uma maior capacidade de se ligar a esse local. Em relação as pesquisas em modelo animal, foi constatado que a deleção do *TLR7* ou a eliminação da MyD88 em células B resultaram na diminuição dos níveis de anticorpos em camundongos com características similares às do LES em humanos. Além de ter sido observada uma normalização das diferenças fenotípicas e sorológicas em ratos deficientes para a proteína TLR 7 ou MyD88.

Portanto, de acordo com Brown *et al.* (2022), tais resultados sugerem que a mutação Y264H aumenta a resposta da proteína TLR 7 à guanosina, fornecendo percepções valiosas sobre como essa mutação pode estar envolvida em respostas imunológicas alteradas. E com isso, os pesquisadores acreditam que terapias capazes de bloquear a TLR 7 ou a MyD88 podem ajudar a controlar a doença.

Similarmente, David *et al.* (2024), analisando novas mutações que poderiam correlacionar o gene *TLR7* a doenças autoimunes, incluindo o LES, no qual os pesquisadores buscaram compreender os papéis exercidos por elas nessas condições. As mutações identificadas por eles foram a F507S (c.1520 T > C) e a L528I (c.1582C > A). Duas famílias foram sequenciadas para o estudo. A primeira, denominada família A foi chamada de AGS571, o sequenciamento dela foi feito através do sistema de sequenciamento *NovaSeq 6000 Illumina*. A segunda família, denominada família B foi identificada como AGS3740, para o sequenciamento desta foram utilizados o *Illumina HiSeq2000* e o *Sureselect Human All Exon Kit (Agilent Technologies)* para enriquecimento direcionado. Na família A, tanto a mãe, como a filha e o filho possuíam a mutação F507S, onde a Phenilalamina no resíduo 507 foi substituída por Serina. Sintomas graves se desenvolverem na infância dos dois irmãos e foram pautados pelos pesquisadores, tais como: febre, erupção malar e citopenia (na filha) e epilepsia refratária (no filho). Já na família B, uma menina de 11 anos, diagnosticada com uma síndrome similar à de Evans/Lúpus, foi descrita como possuidora da mutação L528I de novo, onde ocorreu uma mudança de Leucina para Isoleucina no resíduo 528. Através de testes em células HEK293T, se observou que tanto a variante F507S quanto a L528I aumentaram a atividade da TLR 7 em comparação com o estado normal, indicando que as duas se associam ao ganho de função.

David *et al.* (2024), sugeriu então que a partir dos dados coletados há evidências que as mutações com ganho de função no *TLR7* podem abranger não só os fenótipos comuns ao LES, mas também podem causar dano neurológico.

Em contraste com as pesquisas até agora apresentadas, um estudo realizado por Laska MJ *et al.* (2014), com o objetivo de verificar a relação dos polimorfismos nos *TLRs* e o LES e a expressão desses genes nas Células Mononucleares do Sangue Periférico (PBMC, do inglês, *peripheral blood mononuclear cell*) nos pacientes dinamarqueses, não conseguiu correlacionar nenhum SNP específico com o *TLR7* e o LES. Cento e quarenta e três pacientes com LES e 432 pessoas saudáveis como grupo controle foram genotipados no estudo através da tecnologia *Sequenom Multiplex*. A expressão do mRNA dos genes nas PBMCs foi feita através da PCR em tempo real a partir de 56 pacientes com LES e 56 pessoas saudáveis. O presente estudo encontrou uma associação significativa apenas entre três SNPs (rs3775291, rs37648 e rs352143) e o LES. Além disso, observou-se que os pacientes com LES apresentavam níveis mais elevados de expressão de certos genes (*TLR7*, *TLR8*, *IFN-* e *LY6E*) em comparação com indivíduos saudáveis.

Portanto, a pesquisa de Laska *et al.* (2014) demonstrou que não houve associação entre os SNPs do *TLR7* e o LES, apesar de seu papel como receptor intracelular, mas concluíram que outros *TLRs* (*TLR3*, *TLR8* e *TLR9*) possuem sim correlação com o gene e a fisiopatologia do LES. Todavia, os pesquisadores deixaram ressalvas advindas das limitações que encontraram, que se deram mediante a disparidade de sintomas entre os pacientes.

4 Conclusão

Estudos genéticos do gene *TLR7* no LES revelaram descobertas de variantes significativas relacionadas à patogênese da doença e seu fenótipo, destacando o rs3853839, consistentemente associado ao desenvolvimento da doença, suas manifestações clínicas e severidade, em diversas populações. Esses achados destacam potenciais biomarcadores e terapias direcionadas ao *TLR7* no tratamento do LES, contrastando com as limitações dos tratamentos atuais. As variantes relacionadas ao gene *TLR7* sugerem que a inibição da proteína ou de seus componentes podem oferecer resultados promissores na terapêutica.

No entanto, é essencial continuar pesquisando o papel do gene *TLR7* e tais variantes para validar essas descobertas em uma variedade mais ampla e diversificada de populações, permitindo avanços na compreensão da base genética e imunológica do LES e o desenvolvimento de intervenções terapêuticas mais eficazes e adaptadas às necessidades individuais.

Agradecimentos

Ao Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Paulista (Unip) de Campinas.

Referências

- Accapezzato, D., Caccavale, R., Paroli, M. P., Gioia, C., Nguyen, B. L., Spadea, L., & Paroli, M. (2023). Advances in the Pathogenesis and Treatment of Systemic Lupus Erythematosus. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6578–6578. <https://doi.org/10.3390/ijms24076578>
- Baek, W.-Y., Choi, Y.-S., Lee, S.-W., Son, I.-O., Jeon, K.-W., Choi, S.-D., & Suh, C.-H. (2021). Toll-like Receptor Signaling Inhibitory Peptide Improves Inflammation in Animal Model and Human Systemic Lupus Erythematosus. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12764. <https://doi.org/10.3390/ijms222312764>
- Barber, M. R. W., Drenkard, C., Falasinnu, T., Hoi, A., Mak, A., Kow, N. Y., Svenungsson, E., Peterson, J., Clarke, A. E., & Ramsey-Goldman, R. (2021). Global epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Nature Reviews Rheumatology*, 17(9), 515–532. <https://doi.org/10.1038/s41584-021-00668-1>
- Barbosa, L. M., Santiago, M. B., Moretto, V.T., Athanazio, D. A., Takahashi, D., Reis, E. G, Lopes, M., Lemaire, D. C., & Reis, M. G. (2023). Toll-like receptor 9 polymorphisms in brazilian patients with systemic lupus erythematosus: a pilot study. *Brazilian Journal of Biology*, 83. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.244123>
- Brown, G. J., Cañete, P. F., Wang, H., Medhavy, A., Bones, J., Roco, J. A., He, Y., Qin, Y., Cappello, J., Ellyard, J. I., Bassett, K., Shen, Q., Burgio, G., Zhang, Y., Turnbull, C., Meng, X., Wu, P., Cho, E., Miosge, L. A., & Andrews, T. D. (2022). TLR7 gain-of-function genetic variation causes human lupus. *Nature*, 605(7909), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04642-z>
- Cosgrove, H. A., Gingras, S., Kim, M., Bastacky, S., Tilstra, J. S., & Shlomchik, M. J. (2023). B cell–intrinsic TLR7 expression drives severe lupus in TLR9-deficient mice. *JCI Insight*, 8(16). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.172219>
- David, C., Badonyi, M., Kechiche, R., Insalaco, A., Zecca, M., Benedetti, F. D., Orcesi, S., Chiapparini, L., Comoli, P., Federici, S., Gattorno, M., Ginevrino, M., Giorgio, E., Matteo, V., Moran-Alvarez, P., Politano, D., Prencipe, G., Sirchia, F., Volpi, S., & Masson, C. (2024). Interface Gain-of-Function Mutations in TLR7 Cause Systemic and Neuro-inflammatory Disease. *Journal of Clinical Immunology*, 44(2). <https://doi.org/10.1007/s10875-024-01660-6>
- Fillatreau, S., Manfroi, B., & Dörner, T. (2020). Toll-like receptor signalling in B cells during systemic lupus erythematosus. *Nature Reviews Rheumatology*, 17(2), 98–108. <https://doi.org/10.1038/s41584-020-00544-4>
- Hisada, R., Kato, M., Sugawara, E., Kanda, M., Fujieda, Y., Oku, K., Bohgaki, T., Amengual, O., Horita, T., Yasuda, S., & Atsumi, T. (2019). Circulating plasmablasts contribute to antiphospholipid antibody production, associated with type I interferon upregulation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 17(7), 1134–1143. <https://doi.org/10.1111/jth.14427>
- Jassim, A. S., Auda, I. G., & Ali, E. N. (2023). Toll-like receptor-7 gene polymorphism at 3– UTR (rs3853839) in relation to Systemic Lupus Erythematosus pathogenesis in Iraqi patients. *Gene Reports*, 33, 101822–101822. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2023.101822>
- Jiao, H., Acar, G., Robinson, G. A., Ciurtin, C., Jury, E. C., & Kalea, A. Z. (2022). Diet and Systemic Lupus Erythematosus (SLE): From Supplementation to Intervention. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(19), 11895. <https://doi.org/10.3390/ijerph191911895>
- Laska, M. J., Troldborg, A., Hansen, B., Stengaard-Pedersen, K., Junker, P., Nexø, B. A., & Voss, A. (2014). Polymorphisms within Toll-like receptors are associated with systemic lupus erythematosus in a cohort of Danish females. *Rheumatology*, 53(1), 48–55. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/ket316>

- Loures, C. M. G., Mara, Guimarães T. M. P. D., Ferreira, K. S., Silva, M. V. F., Alves, L. C. V., Cicarini, W. B., Nunes, F. F.C, Consoli, R. V., Neiva, C. L. S., Madureira de Pádua, P., Santos, I. L., Moreira, J. D., Peixoto, V. P. C. T., & Carvalho, M. G. (2023). Cell phenotypes as activity biomarkers in patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 59. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902023e20052>
- Marwa, A., Mostafa, F. M., Khalil, M., Salama, M. F., Abdelrahman, A., & Ali, A. (2022). Association of *TLR7* and *TLR9* genes polymorphisms in Egyptian patients with systemic lupus erythematosus. *Heliyon*, 8(11), e11680–e11680. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11680>
- Nandakumar, K. S., & Nündel, K. (2022). Editorial: Systemic lupus erythematosus - predisposition factors, pathogenesis, diagnosis, treatment and disease models. *Frontiers in Immunology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1118180>
- Pacheco, G. V., Nakazawa, E., Bello, J. R., Barbosa, R. E., Jiménez, E. D., González, L. J., Pérez, G. J., Rivero, N. A., Angulo, V., & López, R. F. (2022). Copy Number Variation and Frequency of rs179008 in *TLR7* Gene Associated with Systemic Lupus Erythematosus in Two Mexican Populations. *Journal of Immunology Research*, 2022(553901), 1–6. <https://doi.org/10.1155/2022/2553901>
- Pan, L., Lu, M.-P., Wang, J.-H., Xu, M., & Yang, S.-R. (2019). Immunological pathogenesis and treatment of systemic lupus erythematosus. *World Journal of Pediatrics*, 16(1), 19–30. <https://doi.org/10.1007/s12519-019-00229-3>
- Robinson, S., & Thomas, R. (2021). Potential for Antigen-Specific Tolerizing Immunotherapy in Systemic Lupus Erythematosus. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.654701>
- Sim, T. M., Ong, S. J., Mak, A., & Tay, S. H. (2022). Type I Interferons in Systemic Lupus Erythematosus: A Journey from Bench to Bedside. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5), 2505. <https://doi.org/10.3390/ijms23052505>
- Skonieczna, K., Woźniacka, A., Czajkowski, R., Styczyński, J., Krenska, A., Robak, E., Gawrych, M., Kaszewski, S., Wysocki, M., & Grzybowski, T. (2018). X-linked *TLR7* gene polymorphisms are associated with diverse immunological conditions but not with discoid lupus erythematosus in Polish patients. *Postępy Dermatologii I Alergologii*, 35(1), 26–32. <https://doi.org/10.5114/pdia.2017.69984>
- Tanaka, Y. (2020). State-of-the-art treatment of systemic lupus erythematosus. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 23(4), 465–471. <https://doi.org/10.1111/1756-185x.13817>
- Vale, E. C. S. do, & Garcia, L. C. (2023). Cutaneous lupus erythematosus: a review of etiopathogenic, clinical, diagnostic and therapeutic aspects. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 98(3). <https://doi.org/10.1016/j.abd.2022.09.005>
- Villalvazo, P., Carriazo, S., Rojas-Rivera, J., Ramos, A. M., Ortiz, A., & Perez-Gomez, M.V. (2022). Gain-of-function *TLR7* and loss-of-function *A20* gene variants identify a novel pathway for Mendelian lupus and lupus nephritis. *Ndt Plus*, 15(11), 1973–1980. <https://doi.org/10.1093/kj/sfac152>
- Vinuesa, C. G., Shen, N., & Ware, T. (2023). Genetics of SLE: mechanistic insights from monogenic disease and disease-associated variants. *Nature Reviews Nephrology*, 19(9), 558–572. <https://doi.org/10.1038/s41581-023-00732-x>

- Wang, C.-M., Chang, S.-W., Wu, Y.-J. J., Lin, J.-C., Ho, H.-H., Chou, T.-C., Yang, B., Wu, J., & Chen, J.-Y. (2014). Genetic variations in Toll-like receptors (TLRs 3/7/8) are associated with systemic lupus erythematosus in a Taiwanese population. *Scientific Reports*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/srep03792>
- Wang, M., Peng, Y., Li, H., & Zhang, X. (2022). From monogenic lupus to TLR7/MyD88-targeted therapy. *The Innovation*, 3(5), 100299–100299. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2022.100299>
- Wang, T., Marken, J., Chen, J., Tran, V. B., Li, Q.-Z., Li, M., Cerosaletti, K., Elkon, K. B., Zeng, X., & Giltiy, N. V. (2019). High TLR7 Expression Drives the Expansion of CD19+CD24hiCD38hi Transitional B Cells and Autoantibody Production in SLE Patients. *Frontiers in Immunology*, 10(1243). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01243>
- Zhang, Y., Liu, J., Wang, C., Liu, J., & Lu, W. (2021). Toll-Like Receptors Gene Polymorphisms in Autoimmune Disease. *Frontiers in Immunology*, 12(672346):1-11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.672346>