

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA**

GIOVANNA BLOISE DE ALMEIDA

**Perfil transcriptômico de lesões de pele de pacientes com
Hidradenite Supurativa**

RECIFE

2023

GIOVANNA BLOISE DE ALMEIDA

**Perfil transcriptômico de lesões de pele de pacientes com
Hidradenite Supurativa**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestre em Genética.

Orientador: Lucas André Cavalcanti Brandão

Co-orientadora: Ana Sofia Lima Estevão de Oliveira

RECIFE

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Almeida, Giovanna Bloise de
Perfil transcriptômico de lesões em pacientes com Hidradenite Supurativa/ Giovanna
Bloise de Almeida– 2023.

74 f. : il., fig., tab.

Orientador: Lucas André Cavalcanti Brandão
Coorientadora: Ana Sofia Lima Estevão de Oliveira

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro
de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Genética, Recife, 2023.
Inclui referências.

1. Acne 2. Genes 3. Bioinformática I. Brandão, Lucas André
Cavalcanti (orient.) II. Oliveira, Ana Sofia Lima Estevão (coorient.)
III. Título

616.56

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023 -175

GIOVANNA BLOISE DE ALMEIDA

**Perfil transcriptômico de lesões de pele de pacientes com
Hidradenite Supurativa**

Aprovado em 24/03/2023

Banca Examinadora:

**Dr. Rafael Lima Guimarães
Universidade Federal de Pernambuco**

**Dr. Wilson José da Silva Júnior
MGI Complete Genomics**

**Dr. Camilla Albertina Dantas de Lima
Universidade Federal de Pernambuco**

RECIFE

2023

À minha família, que sempre me incentivou e esteve
ao meu lado. Esta dissertação também é de vocês.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a Carlos, Gislane e Germanna, minha família, que sempre me apoiaram, e insistiram que eu não desistisse nos momentos mais difíceis. Também sou grata ao meu noivo, Paulo, que esteve ao meu lado em todos os momentos, bons e ruins.

Agradeço ao Prof. Lucas Brandão, meu orientador, que me acompanha desde que era bolsista de Iniciação Científica. Sou grata pela sua paciência e gentileza. Agradeço à minha co-orientadora, Ana Sofia, que além de me ajudar com seu conhecimento técnico, também foi minha confidente em momentos de fragilidade.

Agradeço aos meus companheiros do Laboratório de Patologia Molecular, aos quais dedico grande admiração.

Agradeço aos meus líderes, Marcel Caraciolo e Rodrigo Reis, e colegas da Genomika, Wilson, Filipe e Geórgia que tornaram a minha jornada um pouco mais fácil, e que me incentivaram no caminho da pós-graduação.

Às minhas colegas de turma, Gê, Bia Moura, Bia Melo, Carol, Na, Rayssa Valentim, Raissa Nogueira e Danízia. Vocês tornaram tudo um pouco mais leve. Obrigada pelas risadas.

Sou grata aos meus amigos, Bia, Lily, Manu, Leo, Bruna, Vini, Cris e Letycia, que estão comigo desde a graduação, e que até hoje estão junto de mim.

Por fim, agradeço a todos que participaram direta e indiretamente na produção desta dissertação. Sem vocês, nada disso seria possível. Nenhum homem é uma ilha.

RESUMO

A hidradenite supurativa (HS) é uma condição inflamatória da pele caracterizada clinicamente por nódulos profundos e dolorosos recorrentes, abscessos e tratos sinusais em áreas com glândulas apócrinas, como axilas, mamas, virilhas e nádegas. Apesar de muitos avanços recentes, o panorama fisiopatológico da HS ainda precisa ser esclarecido. Para elucidar a patogênese do HS, foi realizada uma meta-análise transcriptômica da pele a partir de estudos de sequenciamento de RNA (RNA-Seq) em pacientes com HS. Os achados corroboram a tríade HS composta por inflamação exacerbada, diferenciação epitelial alterada e sinalização do metabolismo desregulado. A regulação positiva de genes específicos, como *KRT6*, *KRT16*, genes da família das serpinas e *SPRR3*, confirma o envolvimento precoce dos folículos pilosos e o comprometimento da função da barreira da pele lesionada de HS. Além disso, os resultados sugerem que as adipocinas podem ser consideradas biomarcadores de HS e distúrbios relacionados ao metabolismo. Finalmente, a genotipagem identificou várias mutações em pacientes com HS sugerindo potenciais novos genes relacionados ao HS associados à forma esporádica desta doença. No geral, este estudo fornece informações sobre as vias moleculares envolvidas no HS e identifica potenciais biomarcadores relacionados à patogênese da HS.

Palavras-chave: Acne inversa; meta-análise; transcriptômica; bioinformática.

ABSTRACT

Hidradenitis suppurativa (HS) is an inflammatory skin condition clinically characterized by recurrent painful deep-seated nodules, abscess, and sinus track in areas bearing apocrine glands, such as axillae, breasts, groins, and buttocks. Despite many recent advances, the pathophysiological landscape of HS remains to be clarified. To elucidate HS pathogenesis, we performed a meta-analysis, Set Analysis, and a Variant Calling of selected RNA-Sequencing (RNA-Seq) studies on HS skin. Our findings corroborate the HS triad composed of upregulated inflammation, altered epithelial differentiation, and dysregulated metabolism signaling. Upregulation of specific genes, such as *KRT6*, *KRT16*, serpin-family genes, and *SPRR3* confirms the early involvement of hair follicles and the impairment of barrier function in HS lesional skin. In addition, our results suggest that adipokines could be regarded as biomarkers of HS and metabolic-related disorders. Finally, the RNA-Seq Variant Calling identified several mutations in HS patients suggesting potential new HS-related genes associated with the sporadic form of this disease. Overall, this study provides insights into the molecular pathways involved in HS, and identifies potential HS-related biomarkers.

Key words: Acne inversa; meta-analysis; transcriptomics; bioinformatics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Ilustração demonstrando os mecanismos patológicos da Hidradenite Supurativa, como inflamação exacerbada, estrutura epitelial desorganizada e sinalização metabólica desregulada. 18
- Figura 2** - Complexo da gama-secretase e seus principais componentes. 19
- Figura 3** - Esquema ilustrado da fisiopatologia da SM. 22
- Figura 4** - Diagrama geral do estudo. 28
- Figura 5** - Análise de conjuntos oriundos dos DEGs dos três estudos incluídos no presente trabalho. 1A) DEGs totais. B) DEGs regulados positivamente C) DEGs regulados negativamente. 39
- Figura 6** - Distribuição das variantes por região do genoma. 41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Conjunto total de dados achados na pesquisa no GEO e SRA.	32
Tabela 2 -	Representação das 20 vias mais relevantes identificadas através do Reactome.	36
Tabela 3 -	Eventos encontrados em nos genes <i>NCSTN</i> , <i>APH1A</i> , <i>APH1B</i> , <i>PSEN1</i> , <i>PSEN2</i> e <i>PSENE1</i> , que são parte do complexo da γ -secretase.	43
Tabela 4 -	Mutações encontradas em genes ligados a HS, em regiões exônicas e com frequência alélica menor que 0.01.	46
Tabela 5 -	Potenciais variantes patogênicas não sinônimas encontradas pela chamada de variantes em pacientes com HS com frequência alélica $\leq 0,01$, escore CADD > 15 e diferenças genotípicas estatisticamente significativas (valor de $p < 0,05$).	50

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Item	Definição
cDEGs	DEGs conjuntos
DEG	<i>Differentially expressed genes</i> , ou genes diferencialmente expressos
FC	<i>Fold Change</i>
FDR	<i>False Discovery Rate</i>
GEO	<i>Gene Expression Omnibus</i>
HS	Hidradenite Supurativa
IFN-g	Interferon Gama
IHS4	<i>International Hidradenitis Suppurativa Severity Scoring System</i>
IL-1b	Interleucina 1 Beta
IL-17	Interleucina 17
IL-36	Interleucina 36
INDEL	Inserção e deleção
mDEGs	Meta-analysis DEGs
MEC	Matriz extra-celular
NGS	<i>Next-Generation Sequencing</i>
RA	Receptor androgênico
RNA-Seq	Sequenciamento de RNA
saDEGs	<i>Set-analysis DEGs</i>

scRNA-seq	<i>Single Cell RNA sequencing</i>
SM	Síndrome Metabólica
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphisms</i>
SRA	<i>Sequence Read Archive</i>
TNF-a	Fator de necrose tumoral α
WES	<i>Whole Exome Sequencing</i>
WGS	<i>Whole Genome Sequencing</i>
UTR	<i>Untranslated regions</i>

SUMÁRIO	
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	145
2.1 HIDRADENITE SUPURATIVA	155
2.1.1 Etiologia e epidemiologia	155
2.1.2 Fisiopatologia	166
2.1.2.1 Desregulação do sistema imune	166
2.1.2.2 Complexo da Gama-secretase	19
2.1.3 Complicações clínicas e comorbidades associadas	20
2.1.4 Diagnóstico e Tratamento	
2.2 SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO	24
2.2.1 Origem	24
2.2.2 Transcriptômica por NGS	225
3 OBJETIVOS	26
3.1 OBJETIVO GERAL	26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
4 MATERIAL E MÉTODOS	267
4.1 SELEÇÃO DE ESTUDOS DISPONÍVEIS	277
4.2 DOWNLOAD E PROCESSAMENTO DOS DADOS	288
4.3 META-ANÁLISE	29
4.4 ANÁLISE DE CONJUNTOS	29
4.5 ANÁLISE DE PATHWAY	30
4.6 CHAMADA DE VARIANTES	30
4.7 FILTRAGEM DE VARIANTES E ANOTAÇÃO	31
4.8 ESTATÍSTICA	31
5 RESULTADOS	32
5.1 SELEÇÃO DO CONJUNTO DE DADOS	32
5.2 META-ANÁLISE	355
5.3 ANÁLISE DE CONJUNTOS	388
5.4 CHAMADA DE VARIANTES	40
6 DISCUSSÃO	53
6.1 INFLAMAÇÃO	53
6.2 HOMEOSTASE DA PELE	56
6.3 METABOLISMO CELULAR	59
6.4 LIMITAÇÕES	61
7 CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

A hidradenite supurativa (HS), também conhecida como acne inversa, é uma doença que afeta o folículo piloso, sendo caracterizada pelo aparecimento de lesões nas regiões inguinal, anogenital, supra-mamária e axilar do paciente. É uma doença subdiagnosticada, o que faz com que o tempo entre o surgimento da doença até o diagnóstico seja longo. A incidência média da doença fica em torno de 0,00033% a 4,1%, e existem alguns fatores de risco que podem favorecer o seu aparecimento, como tabagismo, obesidade, sedentarismo, problemas emocionais e histórico familiar.

As lesões da acne inversa são pustulares, dolorosas e podem romper, levando ao desenvolvimento de feridas purulentas na pele e cheiro fétido. O tratamento da doença é muitas vezes paliativo, envolvendo antibióticos, corticóides e, em última instância, cirurgia para remoção da área afetada. O tratamento com imunomoduladores na HS vêm sendo estudado, e o adalimumabe representa o agente biológico mais eficaz. Entretanto, a eficácia desse anticorpo monoclonal varia para cada paciente, além de existirem muitos efeitos adversos, como a susceptibilidade a infecções, dores de cabeça, confusão, problemas gastrointestinais.

A fisiopatologia da HS ainda não é completamente compreendida, porém já é associada com alguns mecanismos moleculares. Uma de suas principais características é o ambiente altamente inflamatório, com alta expressão de citocinas inflamatórias como fator de necrose tumoral α (TNF- α), interleucina 1 Beta (IL-1 β), interleucina 17 (IL-17) e interferon-gama (IFN- γ). Além disso, mutações no complexo da Gama-secretase, um conjunto multi-protéico composto por quatro subunidades, nicastrina (NCSTN), presenilina (PSEN-1), frange-anterior defeituosa 1 (APH-1) e intensificador de presenilina 2 (PEN-2), podem resultar na imparidade na sinalização

NOTCH. Esta via é importante para a diferenciação e proliferação celular, e sua regulação negativa pode acarretar na diferenciação de queratinócitos anormais, resultando em padrões desorganizados na epiderme.

Neste âmbito, a evolução das plataformas de sequenciamento de nova geração (NGS) trouxe avanços na descoberta da patogênese de diversas doenças complexas. O objetivo do trabalho foi realizar uma meta-análise de estudos selecionados de sequenciamento de RNA (RNA-Seq) comparando lesões de HS e pele saudável. Com essa abordagem de meta-análise integrada, foi possível combinar resultados de estudos independentes para aumentar o poder estatístico e obter uma estimativa mais precisa de genes diferencialmente expressos (DEGs). Além disso, foi realizada uma análise de vias para caracterizar os DEGs na patogênese do HS. Por fim, foi realizada uma análise das variantes genéticas provenientes dos dados transcriptômicos. Essas análises podem ajudar a identificar potenciais ligações entre os genes candidatos, suas transcrições, genótipos e fenótipos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HIDRADENITE SUPURATIVA

2.1.1 Etiologia e epidemiologia

A Hidradenite Supurativa (HS) é uma doença inflamatória crônica, caracterizada pela formação de abscessos, nódulos e fístulas em região axilar, submamária, perianal e inguinal (Goldburg, Strober and Payette, 2020). É caracterizada por um processo inflamatório na glândula apócrina, onde há uma desordem no epitélio que envolve a oclusão do folículo pilosebáceo, seguido de sua ruptura e conseqüente inflamação (Scala *et al*, 2021). É uma doença subdiagnosticada, e o tempo médio até a identificação da HS é de cerca de 7 anos (Saunte *et al*, 2015).

A prevalência média global da doença é estimada entre 0,00033-4,1%, sendo a taxa mais alta considerada um atípico por Nguyen *et al.*, já que é oriunda de uma coorte de doenças sexualmente transmissíveis na Dinamarca (Nguyen *et al*, 2021). Ainda existe um componente sexual e racial relacionado à prevalência da HS. Segundo um estudo conduzido na população estadunidense (Garg *et al*, 2017), existe uma maior prevalência da doença em mulheres (73,8%) do que em homens (26,2%) em grupo de 47.890 pacientes. No mesmo artigo, é relatado uma incidência maior entre brancos (54,1%) quando comparados a população de descendência africana.

São poucos os estudos populacionais relacionados a HS no Brasil. Um deles, conduzido por Ianhez, Schmitt e Miot (2018), realizou uma busca em 17.000 cidadãos em 87 municípios que possuíam mais de 300.000 habitantes, que resultou em uma prevalência geral de 0,41%, sem diferenças significativamente estatísticas entre as regiões demográficas. Em São Paulo, um estudo transversal selecionou o prontuário

de 123 pacientes oriundos de um centro de referência dermatológica na cidade de Bauru entre 2005 e 2015.

A incidência de HS também é incerta. O mesmo estudo retrospectivo encontrou uma incidência anual de 11,4 casos por 100.000, com duas vezes a incidência em mulheres em relação aos homens (Garg *et al.*, 2017).

2.1.2 Fisiopatologia

2.1.2.1 Desregulação do sistema imune

A inflamação desempenha um papel importante na patogênese da HS, com a desregulação de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 β , IL-17 e IFN- γ , além do acúmulo de células T auxiliares nas lesões (Vossen, van der Zee e Prens, 2018).

A interleucina 1 beta (IL-1 β) é uma citocina pró inflamatória importante que é produzida por várias células imunes, incluindo macrófagos e células dendríticas (van de Veerdonk *et al.*, 2011). Ela desempenha um papel importante na resposta inflamatória do organismo, ajudando a ativar outras células imunes e aumentando a expressão de moléculas pró-inflamatórias. A IL-1 β também é conhecida por sua capacidade de aumentar a permeabilidade dos vasos sanguíneos. Doenças autoinflamatórias, como a artrite reumatóide (Zhu *et al.*, 2021; Harrison *et al.*, 2008; Toluoso *et al.*, 2006), são caracterizadas por uma resposta exacerbada de IL-1 β , o que leva a resposta inflamatória crônica e excessiva, além de edema e dano tecidual. Algumas moléculas são responsáveis pela regulação da IL-1 β , como o antagonista do receptor de interleucina 1 (IL-1RA), o receptor do tipo II de interleucina 1 (IL-1RII), e são descritos como possíveis alvos terapêuticos para a inibição de IL-1 β (Gabay, Lamacchia e Palmer, 2010).

O TNF- α é uma proteína com uma função importante na regulação da inflamação, e é secretado por células imunes, como macrófagos e linfócitos T (Parameswaran e Patial, 2010). A produção de TNF- α é regulada por uma variedade de fatores, incluindo sinais inflamatórios, como a presença de bactérias ou vírus, lesões teciduais, e até mesmo estresse. Além disso, a produção de TNF- α é influenciada por interações com outras proteínas inflamatórias, como interleucinas e citocinas, que podem amplificar ou suprimir sua produção, como a IL-17. Um dos mecanismos por trás da super ativação e proliferação de células Th17 é o aumento nos níveis de TNF- α , que por sua vez causa desbalanços nos níveis de IL-17 e IL-1 β (van der Zee *et al.* 2011; Matusiak, Bieniek and Szepietowski, 2009; Witte-Händel *et al.*, 2019).

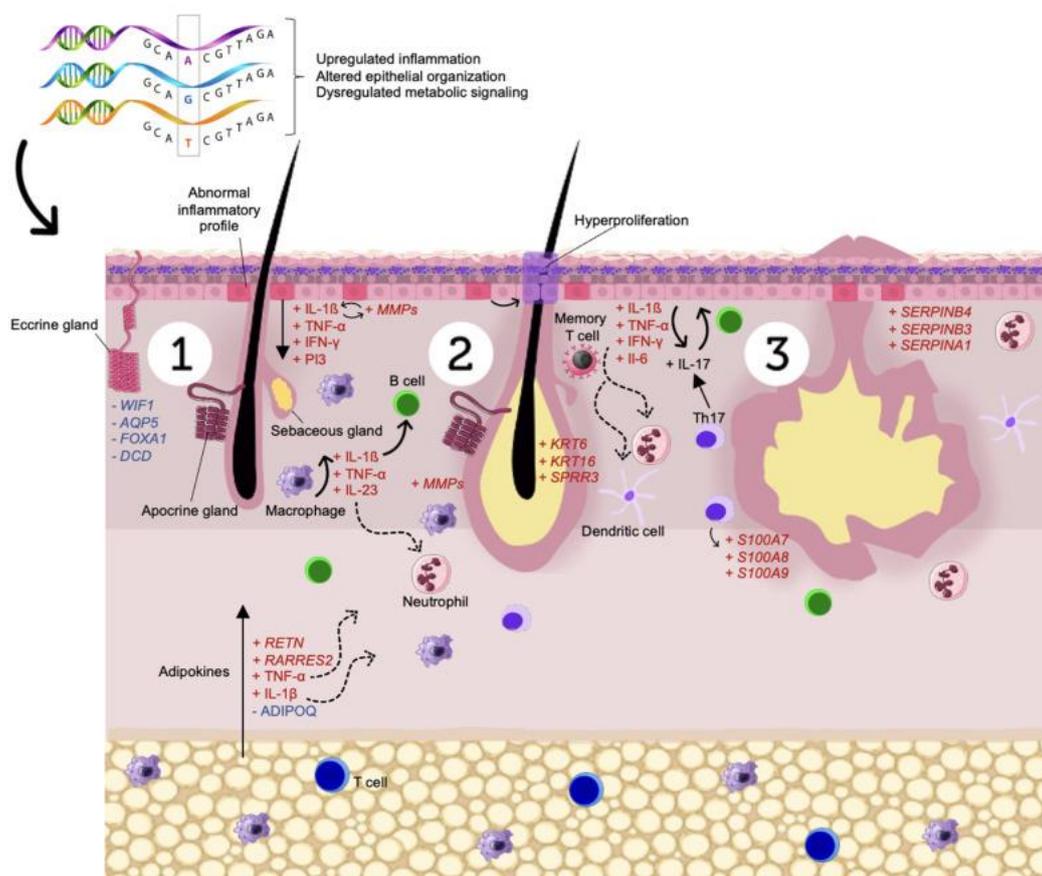
A IL-17 é uma citocina pró-inflamatória e disfunções em sua regulação podem levar a doenças autoimunes e câncer. Ela é expressa por células do tipo Th17 e tem um grande papel na sinergia entre outros marcadores pró-inflamatórios (Amatya, Garg e Gaffen, 2017), sendo o seu bloqueio efetivo em condições como a psoríase (Sanford and McKeage, 2015). Na HS, o aumento da expressão de IL-17 é um achado em células CD4+ (Hotz *et al.*, 2016; Moran *et al.*, 2017; Kelly *et al.*, 2015).

O IFN- γ , além de sua função na resposta a doenças infecciosas e neoplasias (Kak, Raza e Tiwari, 2018), está envolvido em várias doenças autoinflamatórias, incluindo artrite reumatoide, esclerose múltipla, lúpus e psoríase (Karki e Kanneganti, 2021; Barrat, Crow e Ivashkiv, 2019).

Acredita-se que os queratinócitos possam apresentar um perfil inflamatório anormal nas lesões de HS. Esses queratinócitos expressando citocinas como TNF- α ,

IL-1 β , IFN- γ , juntamente com adipocinas pró-inflamatórias, podem induzir hiperqueratose infundibular e subsequente infiltração de células imunes perifoliculares (Figura 1).

Figura 1. Ilustração demonstrando os mecanismos patológicos da Hidradenite Supurativa, como inflamação exacerbada, estrutura epitelial desorganizada e sinalização metabólica desregulada.



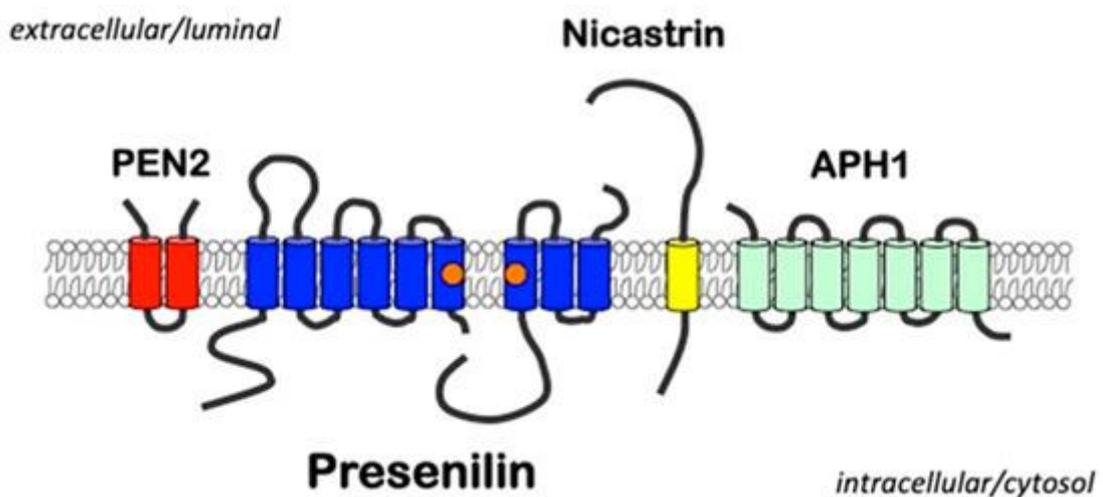
Fonte: de Oliveira et al., 2022

2.1.2.2 Complexo da Gama-secretase

Cerca de 40% dos pacientes com HS relatam a existência de outros familiares afetados pela doença. No entanto, apenas uma minoria destes pacientes exibe a

doença em um modo de herança autossômico dominante, altamente penetrante. Nestes pacientes familiares, três genes relacionados com a doença foram identificados: *NCSTN* (1q23.2), *PSEN1* (14q24.2) e *PSENEN* (19q13.12). Esses genes codificam três das quatro proteínas que constituem a γ -secretase, um complexo multiproteico transmembranar que catalisa a proteólise intramembranar dos quatro receptores NOTCH (Massi and Panelos, 2012; Wang et al., 2010). A via da sinalização do NOTCH é altamente conservada presente em diversos mamíferos, e possui papel crucial na embriogênese, formação e estruturação da epiderme. Mutações recentes que causam haploinsuficiência de *NCSTN* também foram identificadas em casos esporádicos.

Figura 2. Complexo da gama-secretase e seus principais componentes.



Fonte: Oikawa e Walter, 2019.

Cerca de um terço dos pacientes com acne inversa possuem histórico familiar, e, uma parcela destes pacientes, a herança da doença é sugerida como autossômica dominante e com penetrância incompleta (Ingram, 2016).

Inicialmente, esses pacientes foram associados com o envolvimento da Gama-secretase, porém apenas uma minoria dos pacientes com histórico familiar possui variantes neste complexo (Pink *et al.*, 2012).

2.1.3 Complicações clínicas e comorbidades associadas

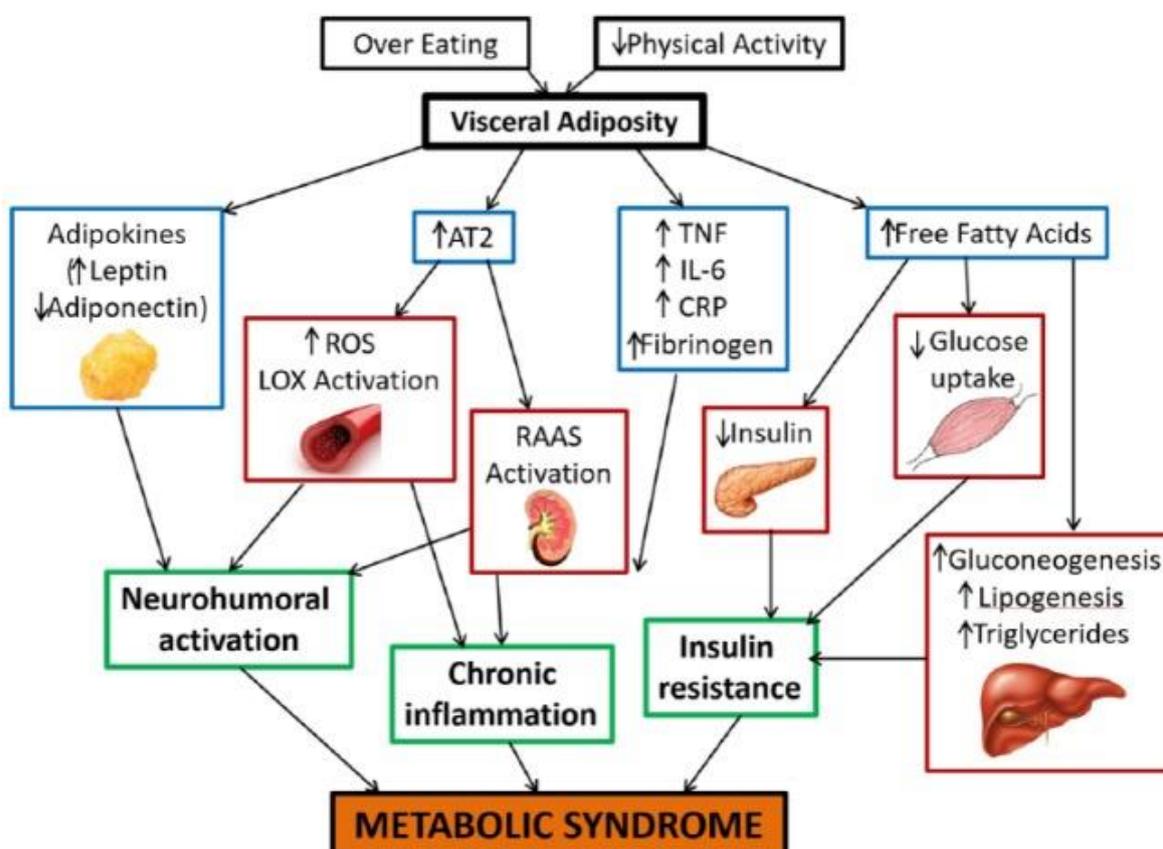
Pacientes com HS têm um risco aumentado de comorbidades, incluindo doenças inflamatórias intestinais (Shalom *et al.* 2016) e outros distúrbios autoinflamatórios crônicos, pioderma gangrenoso e espondiloartrite (Fimmel and Zouboulis, 2010).

Síndromes como PASH (Pioderma gangrenoso, acne conglobata e hidradenite supurativa), PAPASH (Artrite piogênica, pioderma gangrenoso, acne conglobata e hidradenite supurativa), PsAPASH (Artrite psoriática, pioderma gangrenoso, acne conglobata e hidradenite supurativa) e PASS (Pioderma gangrenoso, acne conglobata, hidradenite supurativa e espondilite anquilosante) representam a HS sindrômica, condição onde há o desenvolvimento de múltiplos problemas dermatológicos além da acne inversa (Garcovich *et al.*, 2021). Estas doenças autoinflamatórias têm em comum o aumento de citocinas como o IL-1 β e TNF- α , que induzem dano tecidual (Cugno, Borghi e Marzano, 2017).

A síndrome metabólica (SM) é um conjunto de condições que incluem obesidade abdominal, hipertensão arterial, níveis elevados de glicose e triglicérides no sangue e baixos níveis de colesterol HDL, que pode levar ao risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV) e resistência a insulina (Huang, 2019). A relação entre a SM e doenças inflamatórias da pele, como acne vulgaris,

psoríase, dermatite atópica, alopecia androgênica, acantose nigricans e HS já foi descrita, sendo o sobrepeso um dos indicadores chave para a presença desta condição (Hu *et al.*, 2019). Pacientes com HS tem uma alta prevalência de SM (Sabat *et al.*, 2012), e uma das razões elencadas para que isso aconteça é a alta expressão de adipocitocinas pró-inflamatórias pelo tecido adiposo, como interleucinas e TNF- α (Lin e Oon, 2016, Rochlani *et al.*, 2017). Mecanismos como a sinalização por mTORC1, uma enzima importante na sinalização celular que controla o crescimento e síntese de proteínas, são envolvidos na resistência insulínica em pacientes com acne vulgar e HS (Hu *et al.*, 2019).

Figura 3. Esquema ilustrado da fisiopatologia da SM.



Fonte: Rochlani *et al.*, 2017

Legenda: AT2, receptor de angiotensina II tipo 2; PCR, proteína C reativa; IL-6, interleucina 6; LOX, lipoproteína de baixa densidade oxidada semelhante à lectina; RAAS, sistema renina-angiotensina-aldosterona; ROS, espécies reativas de oxigênio; TNF, fator de necrose tumoral.

2.1.4 Diagnóstico e Tratamento

O diagnóstico de HS é clínico e é baseado nas diretrizes europeias de Dessau (S1) (Zouboulis *et al.*, 2015; Vankeviciute *et al.*, 2019). Os pacientes, portanto, devem apresentar lesões típicas crônicas e recorrentes, localizadas em locais típicos de glândulas apócrinas. Juntamente com a avaliação clínica, vários questionários são usados para avaliar a gravidade do fenótipo da doença e a eficácia do tratamento. Dentre eles, os mais utilizados são o Hurley score e o International Hidradenitis

Suppurativa Severity Scoring System (IHS4) (Sartorius *et al.*, 2009; Zouboulis *et al.*, 2015; van der Zee and Jemec, 2015).

O tratamento da hidradenite supurativa é complicado e muitas vezes paliativo. Em geral, os pacientes fazem uso de antibióticos, agentes anti-inflamatórios, anti-androgênicos, isotretinoína, anticorpos monoclonais, e, em último caso, cirurgia para remoção do tecido afetado (Tchero *et al.*, 2019). A antibioticoterapia, tanto tópica quanto oral, é um tratamento secundário e não curativo, pois muitas vezes as lesões apresentadas na doença são estéreis (Rivitti-Machado *et al.*, 2022). Dado o papel da inflamação na progressão da HS, o papel da ação de moduladores inflamatórios como anticorpos monoclonais se tornou foco de pesquisa, sendo o adalimumabe a única terapia biológica aprovada para tratamento da doença.

O tratamento com adalimumabe, mesmo sendo uma das condutas mais eficazes, ainda possui resultados discrepantes dependendo de fatores como gravidade da doença, além de gerar efeitos adversos como sintomas gastrointestinais inespecíficos, propensão à ceratite e microinfecções, fadiga, dores de cabeça e problemas hepáticos (Blok *et al.* 2013).

Outros fármacos estão sendo estudados para potencial uso no tratamento da HS, como o infliximabe, que é um anticorpo monoclonal humano-murino anti-TNF α , que possui uma eficácia em torno de 80% em pacientes com HS (Shih *et al.*, 2022) e o anakinra, um anticorpo recombinante que se liga ao receptor de IL-1Beta, inibindo-a competitivamente (Dinarello, 2011). Ambas as medicações possuem eficácia no tratamento da HS: o infliximabe provoca a redução das lesões dos pacientes após 8

semanas de uso, e o anakinra reduziu as lesões para 50% em 78% do grupo de pacientes, em relação ao controle (Aarts *et al.*, 2021).

A conduta terapêutica se baseia no *score* de Hurley, que é dividido em três estágios (I, II e III) e se baseia em aspectos clínicos como a presença de cicatrizes e tratos sinusais (Hessam *et al.*, 2018). Esse tipo de estadiamento ainda é limitado visto a heterogeneidade da HS, e necessita de parâmetros mais precisos, o que leva a busca de um novo método de classificação (Zouboulis *et al.*, 2017).

2.2 SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO

2.2.1 Origem

O sequenciamento de nova geração, também conhecido como NGS (do inglês *next generation sequence*), descreve um conjunto de técnicas que tem como objetivo o sequenciamento massivo e paralelo de ácidos nucleicos (DNA e RNA) baseado na amplificação de fragmentos em pequenas regiões, com alta resolução. O advento das plataformas de NGS teve início após o Projeto Genoma Humano (Watson *et al.*, 1990), o primeiro projeto governamental a sequenciar o genoma humano, na época o maior até então. O projeto durou em torno de 10 anos, e a plataforma utilizada foi o sequenciamento automático de Sanger, sendo o custo total do projeto estimado em 3 bilhões de dólares (NIH, 2021). Porém, o método de Sanger, não permitia o processamento massivo, escalável e de alto desempenho. Desta forma, pesquisadores desenvolveram os NGS para suprir tal necessidade.

A evolução das técnicas em biologia molecular, levou ao lançamento de um novo sequenciador produzido pela 454 Life Sciences, que munido da técnica do pirosequenciamento, permitiu o escalonamento do processamento de material

biológico. Como consequência direta, o custo do sequenciamento decaiu, assim como o tempo total estimado até o final do sequenciamento e a equipe necessária para manuseio das plataformas.

Atualmente, podemos enumerar diversas técnicas de NGS, como o sequenciamento por síntese, bastante utilizado por empresas como a Illumina. Ao contrário do sequenciamento de Sanger, que é baseado na síntese de uma nova cadeia de DNA complementar à cadeia de DNA original, utilizando desoxirribonucleotídeos marcados com fluorocromos coloridos em quatro reações distintas (uma para cada nucleotídeo), o sequenciamento por síntese se baseia na síntese de novas fitas, onde cada nucleotídeo possui um marcador luminoso que é detectado por um sensor no equipamento, onde as reações acontecem de uma vez só (Muzzey et al., 2015).

2.2.2 Transcriptômica por NGS

A transcriptômica é o estudo da expressão gênica a partir da análise dos transcritos de RNA. Atualmente, o NGS têm sido aplicadas em estudos transcriptômicos, permitindo a identificação e quantificação de transcritos com alta sensibilidade e especificidade. A análise transcriptômica é importante na pesquisa clínica, uma vez que permite identificar genes e vias de sinalização envolvidas em doenças e auxilia no diagnóstico e prognóstico de diferentes condições, incluindo câncer e doenças neurodegenerativas. Além disso, a análise transcriptômica também tem sido utilizada para identificar novos alvos terapêuticos e prever a resposta do paciente a diferentes tratamentos.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Descrever o perfil do transcriptoma da pele de pacientes com Hidradenite Supurativa esporádica e seu envolvimento na patogênese da doença.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

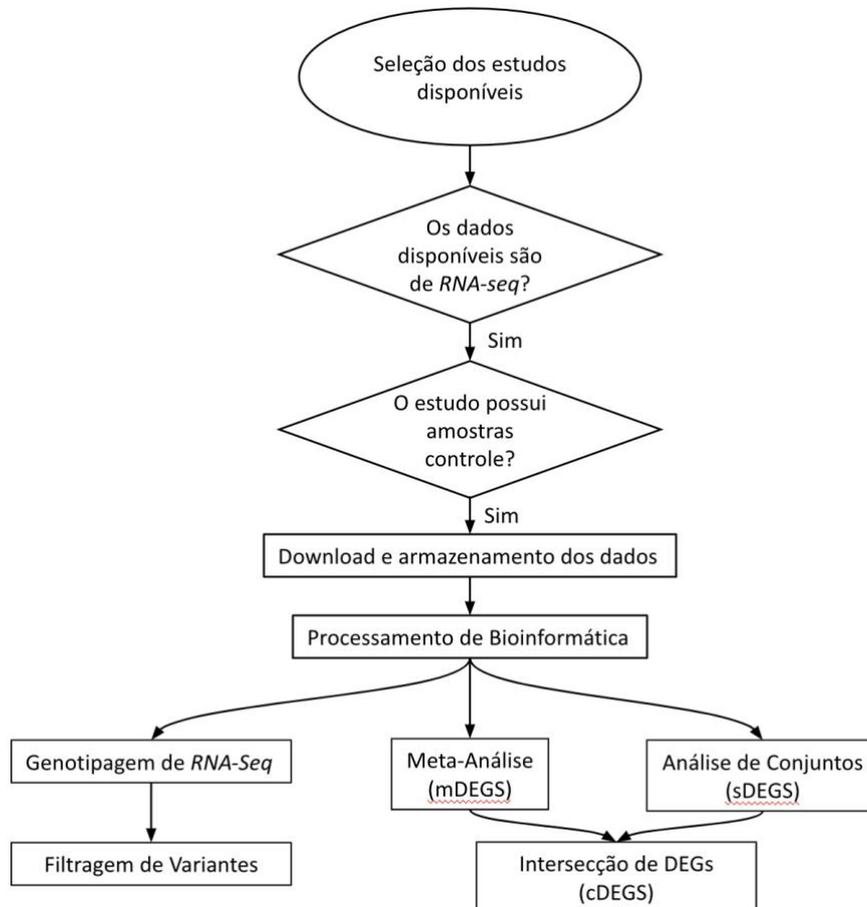
- Realizar uma meta-análise e ranquear os principais genes diferencialmente expressos em dados públicos de transcriptoma, que estejam envolvidos com a patogênese da doença na forma esporádica;
- Identificar, através de pipeline para genotipagem de dados de RNA-seq, variantes que possam estar relacionadas com a patogênese da doença;
- Efetuar uma análise de conjuntos e identificar genes diferencialmente expressos em comum entre os estudos selecionados.
- Identificar as principais vias metabólicas envolvidas na patogênese da HS
- Correlacionar os achados de genotipagem e expressão;

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 SELEÇÃO DE ESTUDOS DISPONÍVEIS

Dados brutos de transcriptoma (FASTQ) oriundos da pele de pacientes com HS foram buscados nos bancos Sequence Read Archive (SRA) e de expressão Gene Expression Omnibus (GEO). As palavras-chave utilizadas para realizar essa busca foram *((Hidradenitis Suppurativa) OR (Acne Inversa)) AND ((RNA-Seq) OR (Transcriptome))*. Depois da remoção de duplicatas, foram incluídos apenas estudos que utilizaram amostras humanas (organism filter: Homo sapiens) e que possuíam dados brutos disponíveis. Além disso, estudos de *microarray* foram descartados. Apenas estudos que possuíam amostras de controle disponíveis foram incluídos (Figura 4).

Figura 4. Diagrama geral do estudo.



Fonte: a autora.

4.2 DOWNLOAD, PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram baixados do SRA usando a ferramenta fastq-dump (<https://github.com/nbci/sra-tools>). Apenas amostras que respeitaram os critérios de inclusão foram baixadas e armazenadas. Posteriormente, os dados foram processados com o mesmo pipeline para evitar vieses dos estudos originais.

Para o fluxo de processamento dos dados, foi utilizado o Trimmomatic v0.39 (Bolger, Lohse e Usadel, 2014) para efetuar o controle de qualidade (CQ) com a

remoção de bases de baixa qualidade ($Q < 30$) e *reads* mais curtas que 25bp. As *reads* restantes foram mapeadas contra o genoma de referência GRCh38/hg38 e alinhadas utilizando o STAR (Dobin et al, 2012). Os arquivos BAM foram processados através do pacote *Rsubread* v2.12.0 (Liao, Smyth e Shi, 2019), gerando uma tabela das contagens da *reads*. Essa tabela foi convertida como objeto do pacote DESeq2 (Love, Huber e Anders, 2014) e genes com $\log_2(\text{Fold Change}) > 1$ | > -1 e *false discovery rate* (FDR) com p-valor < 0.05 foram indicados como DEGs significativamente estatísticos.

4.3 META-ANÁLISE

Os resultados produzidos pelos grupos independentes foram integrados através de uma meta-análise usando o pacote *RankProd* (v3.24.0) para o software R, que detectam genes expressos diferencialmente de experimentos independentes e replicados de forma consistente. No geral, a abordagem de meta-análise foi baseada na metodologia de Lee et al., 2019. Os DEGs achados nesta etapa foram chamados de mDEGs.

4.4 ANÁLISE DE CONJUNTOS

A lista de DEGs oriunda de cada estudo foi submetida a uma análise de conjuntos, onde foram identificados os genes em comum entre os três estudos (saDEGs). Este passo ajuda a minimizar o viés da discrepância das metodologias utilizadas. Esta análise foi realizada através do R v4.1.0 e foram gerados diagramas de Venn utilizando o pacote *VennDiagram*.

4.5 ANÁLISE DE PATHWAY

Foi realizada análise de vias metabólicas com os DEGs obtidos tanto da análise de conjunto quanto da meta-análise descrita acima. Foi feita pesquisa em banco de dados REACTOME, usando o pacote ReactomePA (v3.16) para software R, e PANTHER v17.0. Assim como nas análises anteriores, os resultados com valor de p do teste de enriquecimento ajustado para $FDR < 0,05$ foram considerados significativos.

4.6 CHAMADA DE VARIANTES

Em paralelo à análise geral de RNA-seq, foi realizada uma análise de chamada de variantes proveniente das amostras de RNA alinhadas. O pós-processamento foi aplicado usando o Genome Analysis Toolkit v4.1.2.0 para as leituras alinhadas. Duplicatas foram marcadas e removidas com MarkDuplicates e SplitNCigarReads, respectivamente. A recalibração de base foi feita com BaseRecalibrator e ApplyBQSR. Por fim, a chamada de variantes foi realizada usando Strelka v2.9.10.

4.7 FILTRAGEM DE VARIANTES E ANOTAÇÃO

Polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) e inserções e deleções (INDELS) foram separados em dois arquivos VCF usando SelectVariants, e foram filtrados usando VariantFiltration com os parâmetros $QD < 2,0$, $FS > 60,0$, $MQ < 40,0$, $MQRankSum < -12,5$ e $GQ < 20,0$. A anotação foi realizada usando Annovar (v2019Oct24). Por fim, as variantes foram mantidas se tivessem profundidade (DP) > 10 e escore de qualidade (QUAL) > 30 .

4.8 ESTATÍSTICA

A lista final de cDEGs foi criada por meio da interseção dos resultados da análise de conjuntos e da meta-análise. Os genótipos das variantes correspondentes observadas em amostras lesionais de HS foram integrados.

O teste de Shapiro-Wilk foi usado para avaliar se as contagens estavam normalmente distribuídas. Para avaliar se os genótipos estavam associados à expressão diferencial de RNA, foi utilizado um teste apropriado para contagens normalmente distribuídas e o número de genótipos observados (normal e dois genótipos: teste t de Student para amostras independentes; não normal e dois genótipos: Wilcoxon-Mann -Teste de Whitney; normal e três genótipos: ANOVA; não normal e três genótipos: teste de Kruskal-Wallis. No caso de testes de três genótipos, foi realizado um teste post-hoc pareado de Wilcoxon com correção de FDR para identificar qual genótipo foi responsável pela diferença geral).

5 RESULTADOS

5.1 SELEÇÃO DO CONJUNTO DE DADOS

A estratégia de busca foi conduzida por três autores de forma independente e resultou em 23 conjuntos de dados (Tabela 1). Dentre esses, 7 estudos usaram microarrays; sete, RNA-Seq; seis, reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (rt-PCR); dois, RNA-Seq de célula única (scRNA-seq); e um, captura de alvo. Desta forma, estudos que seguiram outras metodologias que não RNA-Seq foram excluídos (16). Dos demais estudos, cinco continham análises de biópsias de pele. Um deles não tinha controle de pele compatível e outro analisou apenas casos familiares de HS. Portanto, apenas três estudos foram incluídos na meta-análise e análise de conjunto.

Tabela 1. Conjunto total de dados achados na pesquisa no GEO e SRA.

NOME DO ESTUDO	LAYOUT	AMOSTRAS	MÉTODO	INSTRUMENTO
Gamma-secretase genes mutations in a cohort of patients with Hidradenitis Suppurativa	PAIRED	169	Targeted-capture	Illumina (Hiseq e Novaseq)
Dysregulation of tryptophan catabolism at the host-skin microbiota interface in Hidradenitis Suppurativa	PAIRED	24	AMPLICON	Illumina
scRNASeq data of CD45+CD3-CD19- normal and HS skin (human)	PAIRED	4	RNA-seq	Illumina Novaseq
Transcriptome profiling for hidradenitis suppurativa (human)	PAIRED	63	RNA-seq	Illumina NextSeq
A Hidradenitis Suppurativa Molecular Disease Signature Derived from Patient Samples by High-Throughput RNA Sequencing (human)	PAIRED	40	RNA-seq	Illumina Hiseq
The skin microbiome in Hidradenitis Suppurativa	PAIRED	145	AMPLICON	Illumina Miseq
16S(V3-V4) metagenomic sequencing of HS010 collected fromlesion groin via swab	PAIRED	133	AMPLICON	Illumina Miseq

NOME DO ESTUDO	LAYOUT	AMOSTRAS	MÉTODO	INSTRUMENTO
Fecal and skin sample collection from hidradenitis suppurativa and healthy subjects	PAIRED	53	AMPLICON	Illumina Miseq
16S of human chronic wound - hidradenitis suppurativa	SINGLE	82	AMPLICON	N/A
Illumina sequencing of VXV09094 Metagenomic Paired-End Library	PAIRED	83	AMPLICON	Illumina Miseq
Single cell transcriptome profiling for hidradenitis suppurativa	PAIRED	9	RNA-seq	Illumina Novaseq
Expression data from skin biopsies of Hidradenitis suppurativa patients	N/A	33	Array	Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array
Gene expression profiling of skin and blood in hidradenitis suppurativa	N/A	56	Array	Affymetrix HT HG-U133+ PM Array Plate
Transcriptome Patterns in Hidradenitis Suppurativa: Support for the Role of Antimicrobial Peptides and Interferon Pathways in Disease Pathogenesis	N/A	21	Array	Illumina HumanHT-12 V4.0 expression beadchip
Molecular profile of apocrine glands in hidradenitis suppurativa	N/A	30	Array	Agilent-014850 Whole Human Genome Microarray 4x44K G4112F (Feature Number version)
Effects of nicastrin (NCSTN) siRNA knockdown in HEK293 and HEK001 cells	N/A	12	Array	Illumina HumanHT-12 V4.0 expression beadchip
Replication Stress in Hair-Follicle-Stem-Cell Leads to IFI16-STING dependent inflammation in Hidradenitis Suppurativa	N/A	11	Array	Illumina HumanHT-12 V4.0 expression beadchip
Molecular profile of hidradenitis suppurativa	N/A	24	Array	Agilent-039494 SurePrint G3 Human GE v2 8x60K Microarray 039381 (Feature Number version)

NOME DO ESTUDO	LAYOUT	AMOSTRAS	MÉTODO	INSTRUMENTO
Whole Tissue Transcriptome of HS Lesional, HS Nonlesional, and Healthy Skin	PAIRED	87	RNA-seq	Illumina Hiseq
Adalimumab Induces a Wound Healing Profile in Patients with Hidradenitis Suppurativa by Regulating Macrophage Differentiation and Matrix Metalloproteinase Expression	SINGLE	28	RNA-Seq	Illumina HiSeq
Transcriptome of lesional skin of patients suffering from Acne inversa (human)	SINGLE	7	RNA-Seq	Illumina HiSeq 4000
Nicastrin/miR-30a-3p/RAB31 Axis Regulates Keratinocyte Differentiation by Impairing EGFR Signaling in Familial Acne Inversa	PAIRED	8	RNA-Seq	Illumina HiSeq X Ten
Changes to energy metabolism, and signal transduction (i.e. Notch and Wnt signalling) define the brain transcriptomic differences between mutations causative for early-onset familial Alzheimer's disease or familial acne inversa in PRESENILIN 1	PAIRED	24	RNA-Seq	Illumina 6000 NovaSeq

Fonte: a autora. N/A: informação ausente

O primeiro estudo, Lowe et al., realizado nos EUA, (SRADB id: SRP273719) teve como objetivo descobrir genes relacionados à imunogênese do HS e sua influência na capacidade de resposta dos pacientes à terapia anti-TNF- α . Este estudo foi realizado por meio do sequenciamento do transcriptoma de amostras de pele lesional e não lesional antes e após a terapia anti-TNF- α . Durante a coleta de dados, foram selecionadas para o nosso estudo apenas as amostras de pacientes que foram coletadas antes do uso do medicamento (26 amostras de lesão e 16 controles).

O segundo estudo, Gudjonsson et al., realizado nos EUA, (SRADB id: SRP272659) possui foco em delinear os principais tipos de células desreguladas e vias inflamatórias na HS. Para avaliar vias inflamatórias anormais, foi realizado RNA-Seq de pele e sangue total e scRNA-Seq. Além disso, eles compararam suas

descobertas com dados de RNA-Seq de 28 pacientes com psoríase e 32 pacientes com dermatite atópica. Em resumo, eles encontraram 4.797 DEGs no RNA-Seq da pele do HS em comparação com controles saudáveis e 332 DEGs no sangue total dos pacientes com HS. Do *dataset* disponibilizado, foram utilizadas na meta-análise apenas 32 amostras de RNA-Seq de pele, 22 de pele com lesões de HS e 10 de controles de pele saudável.

O terceiro estudo, Witte-Händel et al. (SRADB id: SRP168930), realizado na Alemanha, investigou a expressão de citocinas em lesões cutâneas de HS e identificou uma alta expressão de IL-1 β . Análises de RT-qPCR e ELISA também foram realizadas. Para a análise transcriptômica, foram utilizadas 4 amostras de pele de indivíduos saudáveis e 3 amostras de pele lesionada de pacientes com HS que não foram expostos ao tratamento com anti-IL-1 β .

Dessa forma, um total de 51 amostras únicas de lesões de HS e 30 amostras únicas de pele saudável foram coletadas para análise transcriptômica integrada.

5.2 META-ANÁLISE

Com os dados oriundos do processamento do transcriptoma dos três estudos, foi realizada uma meta-análise com os dados comparativos entre pele lesional e saudável. Como resultado, foram obtidos 6.445 genes e 3.628 mDEGs com FDR < 0,05 e $\log_2(\text{fold change}) > 1 \mid < -1$. Desses mDEGs, 1.699 foram regulados positivamente e 1.929 foram regulados negativamente.

DEFB4A/B, TCN1, MMP1, S100A7A e MMP3 estavam entre os 20 genes rankados que estavam supra-regulados, e que estão associados com a degradação da matriz extracelular, inflamação e atividade antimicrobiana.

Para genes com sua regulação diminuída, obtivemos THRSP, AWAT2, DCD, UGT3A2, e WIF1 no topo do ranking; esses genes são associados ao metabolismo energético e a barreira epitelial. Como achados adicionais, foram encontrados desregulação na expressão dos genes AQP2/4/5/6/7/8, FOXA1 e ADIPOQ, que podem causar imparidades nessas vias metabólicas.

A análise da via desses mDEGs resultou em 76 vias estatisticamente significativas; Destas, 73 foram associados aos mDEGs regulados positivamente. Importantes vias conhecidas para a patogênese do HS, a saber, queratinização, organização da matriz extracelular (MEC), degranulação de neutrófilos, sinalização PD-1, sinalização de interferon gama, sinalização por interleucinas, cascata de complemento, peptídeos antimicrobianos, interações de superfície celular na parede vascular e ligação ao receptor acoplado à proteína g (GPCR) foram identificadas. A Tabela 2 mostra as 20 vias mais relevantes identificadas através do Reactome.

Tabela 2. Representação das 20 vias mais relevantes identificadas através do Reactome.

ID	Nome da via metabólica	Elementos encontrados	FDR
R-HSA-198933	Interações imunorregulatórias entre células linfóides e não linfóides	81	7.2839×10^{-31}
R-HSA-1474244	Organização da matriz extracelular	109	2.4259×10^{-14}

R-HSA-380108	Receptores quimocina se ligam às quimocinas	35	1.4862x10 ⁻¹¹
R-HSA-373076	Classe A/1 (receptores tipo rhodopsina)	106	2.2223x10 ⁻¹¹
R-HSA-202430	Translocção do ZAP-70 para a sinapse imunológica	16	1.2195x10 ⁻⁰⁹
R-HSA-389948	Sinalização do PD-1	18	1.55x10 ⁻⁰⁹
R-HSA-6798695	Degranulação dos neutrófilos	132	5.2463x10 ⁻⁰⁹
R-HSA-500792	Ligação do ligante GPCR	126	5.25x10 ⁻⁰⁹
R-HSA-909733	Sinalização de interferon α/β	33	5.2463x10 ⁻⁰⁹
R-HSA-202433	Geração de moléculas de segundo mensageiro	22	5.2463x10 ⁻⁰⁹
R-HSA-202427	Fosforilação de CD3 e cadeias zeta TCR	17	5.2463x10 ⁻⁰⁹
R-HSA-1474228	Degradação da matriz extracelular	55	1.2723x10 ⁻⁰⁸
R-HSA-877300	Sinalização de interferon gama	40	3.5328x10 ⁻⁰⁸

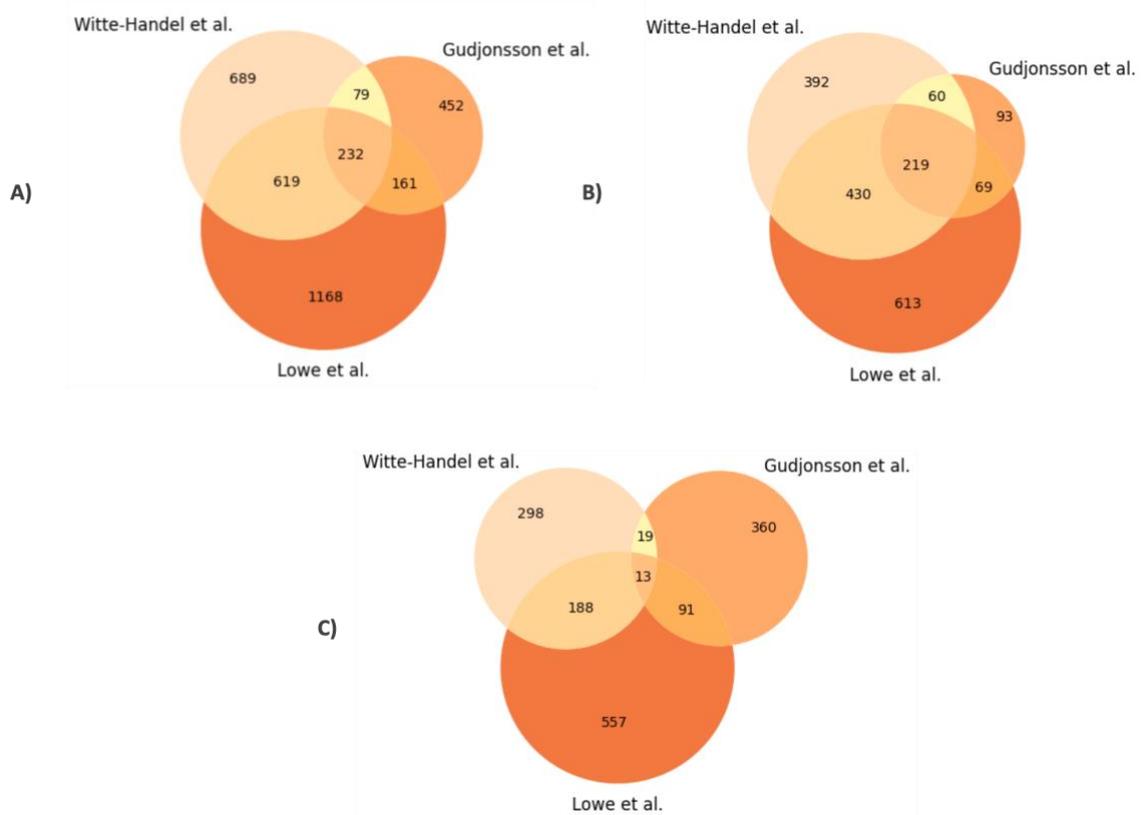
R-HSA-1442490	Degradação do colágeno	32	6.6811x10 ⁻⁰⁸
R-HSA-375276	Receptores de ligação de peptídeos	67	7.395x10 ⁻⁰⁸
R-HSA-6809371	Formação do envelope cornificado	50	8.368x10 ⁻⁰⁸
R-HSA-6785807	Sinalização de interleucina-4 e interleucina-13	44	1.1813x10 ⁻⁰⁷
R-HSA-6783783	Sinalização de interleucina-10	25	2.22x10 ⁻⁰⁷
R-HSA-1474290	Formação de colágeno	37	7.0322x10 ⁻⁰⁷
R-HSA-418594	Eventos de sinalização G alpha (i)	108	1.4245x10 ⁻⁰⁶

Fonte: a autora.

5.3 ANÁLISE DE CONJUNTOS

Em paralelo a meta-análise, foi realizada uma análise de conjuntos, onde os DEGs obtidos dos três estudos foram interseccionados. Dessa forma, foram obtidos um total de 232 saDEGS, dos quais 219 eram *up-regulated* e 13 estavam *down-regulated*. Na Figura 5, pode-se observar as intersecções através dos diagramas de Venn.

Figura 5. Análise de conjuntos oriundos dos DEGs dos três estudos incluídos no presente trabalho. 1A) DEGs totais. B) DEGs regulados positivamente C) DEGs regulados negativamente.



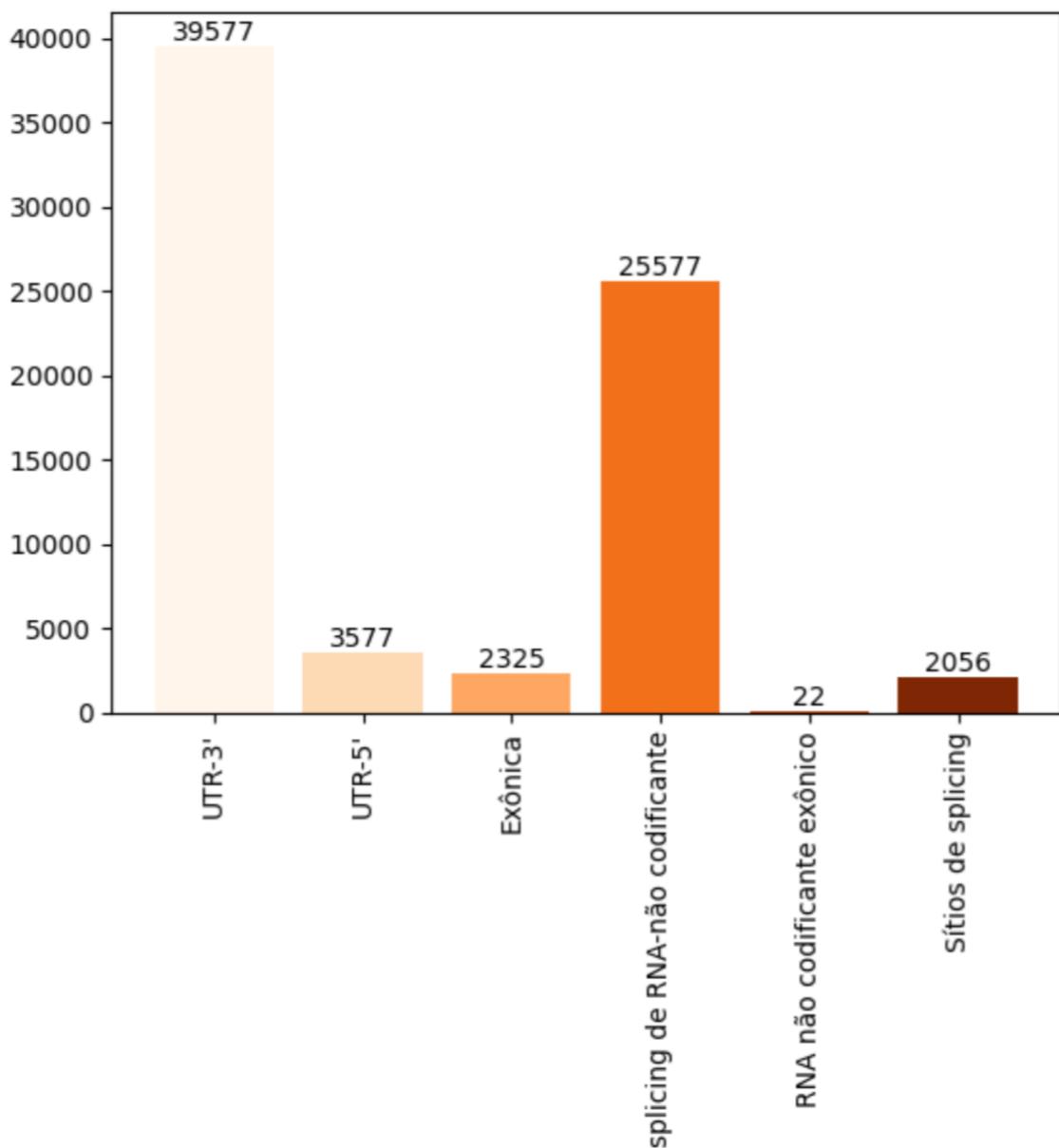
Fonte: a autora.

No geral, os resultados das vias reguladas positivamente foram congruentes com o que foi encontrado na meta-análise. De fato, 14 das vias encontradas pelo Reactome na análise de conjuntos também foram observadas na meta-análise. Algumas das vias reguladas positivamente estavam envolvidas com sistema imunológico, a organização e degradação da MEC, os receptores de ligação ao ligante peptídico, a formação e degradação do colágeno e a classe A/1 (receptores semelhantes à rodopsina). Por outro lado, vias relacionadas ao metabolismo celular geral foram reguladas negativamente.

5.4 CHAMADA DE VARIANTES

Os arquivos FASTQ do RNA-seq dos três estudos foram utilizados para realizar uma chamada de variantes. Foram obtidas 323,827 variantes únicas dentre todas as amostras. Dentre elas, 190,845 foram anotadas como SNPs e INDELS conhecidas. Depois de aplicados os filtros de população, profundidade e qualidade, foram obtidas 73,134 variantes em 12,665 genes. Elas foram distribuídas da seguinte forma: 39.577 em 3'-UTR, 3.577 em 5'-UTR, 2.325 em sítios de splicing, 25.577 exônicos, 22 splicing de RNA não codificante e 2.056 RNA não codificante exônico (Figura 6). Entre as variantes exônicas presentes apenas em pacientes, 11.890 eram sinônimos, 12.266 eram não-sinônimos, 35 eram perda inicial, 140 eram stopgain, 203 eram deleções *non-frameshift* (sem deslocamento do quadro de aminoácidos), 205 eram inserções *non-frameshift*, 120 eram deleções *frameshift* (há deslocamento no quadro de aminoácidos) e 651 eram inserções *frameshift*. De acordo com o que tem sido descrito na literatura, a genotipagem identificou variantes em genes do complexo γ -secretase: *PSEN*, *NCSTN*, *APH1* e *PEN-2*.

Figura 6. Distribuição das variantes por região do genoma.



Fonte: a autora

Assim, uma regulação NOTCH defeituosa poderia influenciar diretamente no desenvolvimento de manifestações clínicas comumente observadas em pacientes com HS, como formação de nódulos e inflamação crônica (Gratton et al, 2020). Um total de 34 variantes no complexo γ -secretase apareceu apenas entre os pacientes. As mutações foram distribuídas da seguinte forma: 12 no *NCSTN*, três no *APH1A*,

seis no *APH1B*, oito no *PSEN1*, três no *PSEN2* e dois no *PSENE1*. As variantes estão descritas na Tabela 3..

Na Tabela 2 foram resumidas as mutações encontradas em regiões exônicas de genes que já foram ligados ao HS (Higgins et al. 2017; Jfri et al, 2020. Saito et al, 2018), excluindo-se variantes sinônimas, e que apresentam frequência global menor ou igual a 0,01.

Dentre essas variantes, uma já foi relatada em pacientes com HS: uma mutação stop gain NM_172341.4:c.168T>G (p.Tyr56X) do gene *PSENE1* previamente associada à HS concomitante e à Doença de Dowling Degos (DDD), uma genodermatose rara, classicamente caracterizada por hiperpigmentação reticular adquirida em locais flexurais (Pavlovsky *et al.*, 2018). Outra variante não sinônima NM_000243.2:c.2177T>C (p.Val726Ala) no gene *MEFV*, anteriormente associada ao HS, também foi identificada (Jfri et al, 2020).

Ainda nesses genes, treze variantes em *untranslated regions* (UTR) foram identificadas, doze em UTR-3' e uma em UTR-5'. Mutações de em UTR (*untranslated regions*) podem modificar o transcrito final, afetando o seu processamento e a ligação de moléculas ligadas à tradução. Estudos de associação relacionam mutações nessas regiões à SM (rs2266788), nível de colesterol (rs629301, rs629301, rs2297991) e triglicerídeos (rs964184) (Steri *et al.*, 2018). Não foram encontradas variantes de importância clínica em regiões de UTR-3' e UTR-5'. Na HS, apesar de não haver muitos dados sobre a presença de variantes em UTRs, uma variante AIM2(ENST00000695580.1):c.-20-3301A>C, foi reportada em 6 de 12 pacientes com a forma síndrômica da doença (Moltrasio *et al.*, 2023).

Tabela 3. Eventos encontrados em nos genes *NCSTN*, *APH1A*, *APH1B*, *PSEN1*, *PSEN2* e *PSENE1*, que são parte do complexo da γ -secretase.

Gene	Chr	Start	End	Ref	Alt	Função	ID	AF
PSEN2	chr1	22689407 3	226894073	C	A	exonic	.	0,00002791
APH1A	chr1	15026778 0	150267780	A	T	exonic	rs996158631	
NCSTN	chr1	16034904 5	160349045	G	A	exonic	rs34445546	0,0082
APH1B	chr15	63305770	63305770	C	T	exonic	rs142676640	0,0004
APH1A	chr1	15026554 2	150265542	A	G	UTR-3'	rs192534646	0,0006
PSEN1	chr14	73223178	73223178	G	A	UTR-3'	rs17125952	0,0238
NCSTN	chr1	16035878 6	160358787	CA	-	UTR-3'	rs141849450	0,0117
NCSTN	chr1	16035425 2	160354252	C	T	exonic	rs61748944	0,0086
NCSTN	chr1	16035297 3	160352973	A	G	exonic	rs2296270	0,0129
NCSTN	chr1	16035863 8	160358638	C	A	UTR-3'	rs1043230	0,0095
NCSTN	chr1	16035170 9	160351709	C	T	exonic	rs6664627	0,0527

APH1A	chr1	15026629 6	150266296	A	C	UTR-3'	rs201254525	0,0002
NCSTN	chr1	16034900 9	160349009	T	C	exonic	rs34676243	0,0145
NCSTN	chr1	16034903 9	160349039	G	C	exonic	rs35603924	0,0158
APH1B	chr15	63277703	63277703	C	T	exonic	rs117618017	0,0903
PSEN1	chr14	73222153	73222153	A	C	UTR-3'	rs362389	0,0567
APH1B	chr15	63307789	63307789	C	T	UTR-3'	rs4984263	0,058
APH1B	chr15	63305658	63305658	T	G	exonic	rs1047552	0,0469
APH1B	chr15	63308088	63308088	-	T	UTR-3'	.	0,001
NCSTN	chr1	16035601 0	160356010	C	T	intronic	rs550957183	0,00003488
PSEN1	chr14	73186897	73186897	-	T	exonic	.	0,00000698 2
PSEN1	chr14	73223120	73223120	C	T	UTR-3'	.	0,0096
PSEN1	chr14	73223436	73223436	T	G	UTR-3'	rs362396	0,0159
PSEN2	chr1	22687552 8	226875528	C	T	UTR-5'	rs7961	0,0799
PSEN2	chr1	22689129 4	226891294	G	T	exonic	.	0,0345

PSEN1	chr14	73211830	73211830	A	G	exonic	rs201776669	0,0004
PSEN1	chr14	73220670	73220670	G	A	UTR-3'	.	0,0075
APH1B	chr15	63302367	63302367	C	A	exonic	rs770742592	.
PSEN1	chr14	73222080	73222080	-	T	UTR-3'	.	0,00002096
NCSTN	chr1	16035355	160353552	A	C	intronic	rs2369607	0,3131
NCSTN	chr1	16035356	160353563	A	G	intronic	rs1124379	0,631
NCSTN	chr1	16035741	160357414	T	-	intronic	.	0,242

Fonte: a autora

Legenda: Chr = Cromossomo; Start = Posição, em pares de base, do início da variante; End = Posição, em pares de base, do fim da variante; Ref = referência; Alt = Alternativo; AF = Allelic Frequency.

Tabela 4. Mutações encontradas em genes ligados a HS, em regiões exônicas e com frequência alélica menor que 0.01.

Gene	ID	Chr	Start	End	Ref	Alt	Genótipo	Expressão	Função	HGVS	AF
NCSTN	rs35603924	1	160349039	160349039	G	C	GG (50)/ GC (1)	0.1087	SNV não-sinônima	c.G231C;p.E77D	0.00432
APH1A	rs996158631	1	150267780	150267780	A	T	AA (50)/ AT(1)	0.5630	SNV não-sinônima	c.T123A;p.D41E	0.00010
APH1B	rs142676640	15	63305770	63305770	C	T	CC (50) / CT(1)	0.2229	SNV não-sinônima	c.C640T;p.R214	0.000699
PSEN2	rs143912759	1	226894073	226894073	C	A	CC (50)/ CA(1)	0.4288	SNV não-sinônima	c.C1139A;p.T380K	0.00026
PSEN1	rs117437479 9	14	73186897	73186897	-	T	--(50)/- T(1)	0.4542	inserção frameshift	c.526dupT;p.S178Ffs*10	0.000006573
PSENE1	rs751542345	19	35746709	35746709	T	G	TT(50)/ TG(1)	0.1519	stopgain	c.T168G;p.Y56X	0.000008
FGFR2	rs56226109	10	121565644	121565644	G	A	GG (49)/ GA(2)	0.2413	SNV não-sinônima	c.C170T;p.S57L	0.003722

MEFV	rs28940579	16	3243310	3243310	A	G	AA (50)/ AG(1)	0.0215	SNV não- sinônima	c.T2177C:p.V726A	0.001440
MEFV	rs104895094	16	3243403	3243403	T	C	TT(50)/ TC(1)	0.0996	SNV não- sinônima	c.A2084G:p.K695R	0.005245
NOD2	rs104895452	16	50722660	50722660	C	A	CC (50)/ CA(1)	0.9148	SNV não- sinônima	c.C2672A:p.A891D	0.000707
NOD2	rs5743279	16	50712280	50712280	G	A	GG (50)/ GA(1)	0.1775	SNV não- sinônima	c.G2288A:p.R763Q	0.001217
NOD2	rs5743272	16	50710966	50710966	A	G	AA (49)/ AG(2)	0.0699	SNV não- sinônima	c.A974G:p.H325R	0.000392
NOD2	rs35285618	16	50712034	50712034	G	A	GG (50)/ GA(1)	0.2845	SNV não- sinônima	c.G2042A:p.R681H	0.00198
NOD2	rs2066847	16	50729867	50729867	-	C	--(50) / -C (1)	0.6377	inserção frameshift	c.2936dupC:p.L980 Pfs*2	0.015002
NOD2	rs34684955	16	50699832	50699832	G	A	GG(50) / GA(1)	0.2845	SNV não- sinônima	c.G337A:p.A113T	0.00251
NOD2	rs5743278	16	50712085	50712085	C	G	CC (50) / CG(1)	0.1038	SNV não- sinônima	c.C2093G:p.A698G	0.00371

NOD2	rs576658764	16	50711532	50711532	C	T	CC (50) / CT(1)	0.2845	SNV não- sinônima	c.C1540T;p.R514W	0.00007
PSTPIP1	rs34240327	15	77032329	77032329	G	C	GG (49) / GC (2)	0.4935	SNV não- sinônima	c.G773C;p.G258A	0.00461

Fonte: a autora

Além das variantes em genes relacionados à doença, foi criada uma segunda tabela contendo potenciais novos marcadores genéticos de HS (Tabela 3). No geral, foram observadas variantes em genes associados ao metabolismo celular, resposta imune e homeostase da pele. Por exemplo, *ACSF3* desempenha um papel crucial na síntese de ácidos graxos (Witkowski, Thweatt, e Smith, 2011), e sua desregulação pode afetar a capacidade do corpo de processar certas proteínas e lipídios adequadamente. Paralelamente, pode-se observar mutações em genes como *BTN2A1*, *FNIP2*, *AKR1C3*, *ALDH6A1*, *YTHDF1*, *GALNT7* que também estão envolvidos no metabolismo de lipídios, proteínas, ácidos graxos e esteróis. Variantes associadas à resposta imune foram detectadas em genes como *GSDMD*, *SIT1*, *WDR92* e *GPANK1*. *GSDMD*, um gene que codifica a proteína Gasdermina D, é um regulador positivo de IL-1 β envolvido na morte celular por piroptose (Fenini, Contassot e French, 2017) que foi encontrado regulado positivamente na meta-análise.

O gene *SIT1* está envolvido na regulação da ativação de células T (Arndt et al., 2011), enquanto *WDR92* está envolvido na apoptose via ativação de caspase-3 (Saeki et al., 2006). Variantes que prejudicam a apoptose dos queratinócitos podem estar associadas à hiperqueratose responsável pela oclusão do folículo piloso (Raj, Brash e Grossman, 2006). No contexto da regulação da pele, foram detectadas variantes em genes como *KLF4*, *FLOT2*, *PHACTR4* e *CORO1B*. O *KLF4* é necessário para o desenvolvimento normal da função de barreira da pele. Além disso, o *KLF4* também faz parte da via NOTCH. Finalmente, o *MYOF* desempenha um papel no mecanismo de reparo da membrana celular das células endoteliais, que permite a rápida vedação das membranas rompidas pelo estresse mecânico (Dong et al., 2019). A diminuição do número de células endoteliais progenitoras circulantes e a disfunção endotelial na HS foram previamente descritas (González-López et al., 2022; Matusiak et al., 2015).

As variantes encontradas pela chamada de variantes corroboram as vias anormais encontradas pela meta-análise. Portanto, a perda ou ganho de função desses genes deve ser bem investigada para melhor entender sua influência na patogênese da HS.

Tabela 5 – Potenciais variantes patogênicas não-sinônimas encontradas pela chamada de variantes em pacientes com HS com frequência alélica maior que 0,01, escore CADD > 15 e diferenças genotípicas significativas (valor de p > 0,05)

Genes	DEGs	SNP ID	Ref	Alt	Genótipos	Expressão	HGVS	AF	CADD
ACSF3	-	rs144681140	G	A	GG (49)/GA(2)	0.0295	c.G1406A:p.R4 69Q	0.0032	22.9
KLF4	-	rs139237114	G	A	GG (49)/GA(2)	0.0385	c.C859T:p.H28 7Y	0.0016	23.8
DUSP23	-	rs115444443	A	T	AA(49)/AT(2)	0.0475	c.A371T:p.E12 4V	0.0022	25.1
BTN2A1	-	rs143104579	G	A	GG(48)/GA(3)	0.045	c.G188A:p.R63 H	0.0096	18.01
FLOT2	-	rs3736238	C	T	CC(49)/CT(2)	0.0284	c.G982A:p.A32 8T	0.0119	18.44
GPANK1	-	rs35265780	G	A	GG(49)/GA(2)	0.04	c.C335T:p.A11 2V	0.0096	32
FNIP2	-	rs62001914	C	A	CC(49)/CA(2)	0.0476	c.C1653A:p.S5 51R	0.0092	24.8
CORO1B	-	rs145707942	C	G	CC(49)/CG(2)	0.0462	c.G367C:p.E12 3Q	0.0002	24.2
ADCY4	-	rs61745073	T	A	TT(49)/TA(2)	0.0357	c.A1358T:p.E4 53V	0.0022	22.7

AKR1C3	down	rs34186955	C	T	CC(49)/CT(2)	0.0295	c.C538T:p.P18 0S	0.0086	23.3
ALDH6A1	down	rs139579994	G	A	GG(49)/GA(2)	0.0395	c.C716T:p.P23 9L	0.0018	27.9
GSDMD	up	rs62000416	C	A	CC(49)/CA(2)	0.0315	c.C556A:p.L18 6M	0.0056	23.4
YTHDF1	-	rs141487890	G	A	GG(49)/GA(2)	0.0344	c.C437T:p.A14 6V	0.0008	24
MYOF	-	rs61861290	G	A	GG(48)/GA(3)	0.0207	c.C4576T:p.P1 526S	0.0062	26.2
SIT1	up	rs138786883	C	A	CC(49)/CA(2)	0.0496	c.G520T:p.A17 4S	0.0032	17.54
RBMXL1	-	rs139713926	T	C	TT(49)/TC(2)	0.0242	c.A701G:p.Y23 4C	0.0022	25.5
GALNT7	-	rs144873913	C	A	CC(48)/CA(2)	0.0496	c.C1585A:p.P5 29T	0.0014	30
PHACTR4	-	rs72661785	G	C	GG(49)/GC(2)	0.043	c.G1609C:p.A5 37P	0.0036	26.3

WDR92	-	rs138784630	C	T	CC(49)CT(2)	0.04	c.G841A:p.A28 1T	0.0072	23.4
-------	---	-------------	---	---	-------------	------	---------------------	--------	------

*Chr = cromossomo; Ref = referência; Alt = alternativo; HGVS = Human Genome Variation Society (10.1002/humu.22981); AF = Frequência alélica; CADD = Predição de impacto da variante

6 DISCUSSÃO

6.1 INFLAMAÇÃO

É bem aceita a importância das vias imunológicas na HS, cuja desregulação pode predispor o desenvolvimento de reações inflamatórias exacerbadas. Muitos genes diferencialmente expressos relacionados à inflamação estão presentes na pele lesionada e ausentes na pele controle saudável. Esses DEGs são cruciais para a desregulação de vias comumente associadas a HS, ou seja, degranulação de neutrófilos, sinalização por interleucinas, cascata do sistema complemento, interações imunorreguladoras entre uma célula linfóide e não linfóide, peptídeos antimicrobianos e sinalização de interferon.

No geral, os resultados estão de acordo com os três estudos utilizados e corroboram o impacto da imunopatogênese do HS. Lowe et al (2020), ao comparar a pele lesionada com a pele controle saudável, identificaram IFN- γ e IL-1 β como DEGs altamente regulados. Embora esses genes não estivessem presentes na análise de conjunto, eles foram mais de 4 vezes superexpressos na meta-análise. Os resultados sugerem que a regulação positiva de ambas as moléculas pró-inflamatórias são essenciais para a inflamação local e sistêmica na condição da pele (Banerjee, McNish, e Shanmugam, 2017). Nas lesões de HS, o IFN- γ pode funcionar como o ativador primário dos macrófagos, que são as células inflamatórias mais numerosas encontradas nos infiltrados (Shah, Alhusayen e Amini-Nik, 2017). Em condições normais, o recrutamento de macrófagos é crucial não apenas para a resposta imune, mas também para a remoção de detritos celulares e promoção da cicatrização e reorganização de áreas dentro da inflamação (Krzyszczyk et al, 2018). No entanto, a

ativação desregulada e a proliferação de macrófagos podem contribuir para a secreção elevada de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β (Shah, Alhusayen e Amini-Nik, 2017). A regulação positiva de IL-1 β exacerba a inflamação, contribuindo para o recrutamento de outras células imunes para a lesão e para a formação de pus observada no abscesso do HS (Banerjee, McNish, e Shanmugam, 2017). Witte-Händel et al. (2019), que também encontraram IL-1 β altamente expressa em lesões de HS, acreditam que suas vias são de suma importância para o fenótipo de HS. Corroborando com essa teoria, foi encontrado um potencial ganho de mutação de função em um regulador positivo de IL-1 β , *GSDMD*, pela chamada variante, e expressão supra-regulada de moléculas importantes para a sinalização de IL-1 e genes que estimulam ou são estimulados pela expressão desta citocina foram encontrados nos mDEGs, cDEGs e saDEGs.

A IL-1 β que pode ser expressa por queratinócitos (Mizutani, Black e Kupper, 1991) tem sido indicada como uma citocina chave para a diferenciação de células TH17 (Mailer et al, 2015; Lasigliè et al, 2011). IL-17, secretada por TH17, foi regulada positivamente nos cDEGs. Na HS, a liberação de detritos foliculares na derme resulta na ativação de uma resposta imune mediada por Th17 (Vossen, van der Zee e Prens, 2018). A IL-17 induz a expressão de citocinas pró-inflamatórias pelos queratinócitos, contribuindo para a infiltração de células imunes por neutrófilos, células dendríticas e células T de memória para a área lesional (Keijsers, Joosten e Koenen, 2014). No entanto, Kelly e colaboradores propõem que as células Th17 estejam presentes na pele do HS antes da formação de uma lesão ativa, indicando que podem participar do desenvolvimento da lesão. Corroborando-se a regulação positiva de IL-17A nos cDEGs e IL-17F nos mDEGs. De fato, genes relacionados à sinalização, como *DEFB4A/B*,

MMP1, *MMP9*, que também foram encontrados em ambas as análises, tiveram as posições de produto mais altas na meta-análise. Outros genes da pele cuja expressão aumenta na presença de IL-17, nomeadamente psoriasina (*S100A7*), calprotectina (*S100A8/9*), também foram encontrados supra-regulados na meta-análise. Uma vez que se acredita que os queratinócitos tenham um perfil inflamatório na pele do HS, esses achados sugerem que interações viciosas entre queratinócitos e TH17/IL-17 contribuem mais para a inflamação crônica do que para aumentar a resposta protetora do tecido.

A IL-1 β também parece estar associada às células B, influenciando sua proliferação e diferenciação (Nakae et al, 2002). As assinaturas de células B aprimoradas foram encontradas por Lowe et al (2020) e Gudjonsson et al. (2020) quando compararam a pele lesionada de HS com controle saudável e outras condições da pele, como psoríase. Embora Witte-Händel et al. (2019) não exploraram a sinalização de células B, eles mencionaram também encontrar regulação positiva de *CXCL13*, um quimioatraente de células B (Kowarik et al, 2012). Vários genes associados a células B como *MZB1*, *CD19*, *CD79A* e *CXCL13* foram encontrados dez vezes mais expressos em lesões de HS quando comparados aos controles. Todos esses genes estão presentes na lista contendo cDEGs. Isso pode sugerir que a alteração de células B é um evento comum para o desenvolvimento de HS. As células B são importantes para a patogênese do HS, pois contribuem para a produção de autoanticorpos, fibrose, remodelação do estroma e resposta terapêutica (Frew et al, 2020). Este último permanece controverso. Relatos usando rituximabe, um medicamento que tem como alvo células B, mostraram melhorar o fenótipo de HS (Takahashiet al, 2017) em alguns pacientes com HS e induzir o aparecimento de

lesões semelhantes a HS em outros (Faivre et al, 2016). Ao analisar os cDEGs e mDEGs regulados positivamente na ferramenta de análise de genes PANTHER, a via de ativação de células B (*P00010*) foi enriquecida com 5 e 18 genes, respectivamente, implicando um papel importante das células B na manutenção de lesões de HS.

Gudjonsson et al. (2020) teve resultados semelhantes para IFN- γ , mas não para IL-1 β . Em vez disso, eles encontraram regulação positiva de IL36A e IL36G. Ainda assim, esses genes foram recentemente relatados como citocinas agonísticas na superfamília da interleucina IL-1 através da ativação do fator nuclear- κ B (NF- κ B) e da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) (Hessam et al, 2017). A IL-36A foi encontrada na lista de cDEGs, o que significa que esteve presente concomitantemente em todos os estudos, enquanto a IL-36G esteve presente apenas nos mDEGs. Do ponto de vista clínico, a regulação positiva de IL-36 pode estar associada a características de HS bem estabelecidas. Hessam S. et al. (2017) fornecem evidências de um papel pró-inflamatório distinto da IL-36 no desenvolvimento de uma alça inflamatória comumente observada em fenótipos de HS. Além disso, a IL-36 também induziu HS como acantose e hiperqueratose em camundongos transgênicos (Tortola et al, 2012).

6.2 HOMEOSTASE DA PELE

As principais vias enriquecidas associadas à regulação da pele foram organização da MEC, queratinização, formação do envelope cornificado, diferenciação de células epidérmicas, função de barreira prejudicada e formação de colágeno. Várias variantes associadas à interrupção dessas vias foram identificadas

pelo Variant Calling, sugerindo potenciais novos genes relacionados ao HS. Zouboulis C.C. et al (2019) demonstraram que o processo inflamatório no HS está relacionado com anormalidades nessas vias de sinalização. Por exemplo, a elafina (PI3), um inibidor específico da elastase que atua como peptídeo antimicrobiano, e é expresso por células epiteliais e algumas do sistema imunológico, apareceu oito vezes mais expresso quando comparado aos controles. Além de atuar contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, patógenos fúngicos, e estar envolvido na modulação da via NFκB, secreção de citocinas e recrutamento celular (Verrier et al, 2012), o gene que codifica a elafina também foi correlacionado à diferenciação epitelial anormal em um contexto de hiperproliferação (Wiedow et al, 1990). Além disso, foi encontrada desregulação em alguns genes da superfamília de inibidores de serina protease, a serpina. Dentre eles, *SERPINB4*, *SERPINB3*, *SERPINE1* se destacaram no ranking, corroborando o envolvimento dos folículos pilosos. A superexpressão de serpinas foi identificada anteriormente na bainha radicular interna e epitelial dos folículos pilosos em pacientes com HS (Zouboulis et al, 2019). Em geral, as serpinas estão associadas à homeostase da barreira epidérmica e inflamação crônica da pele (Sivaprasad et al, 2015). Esses papéis foram corroborados na dermatite atópica e na psoríase (Sivaprasad et al, 2015; Tian et al, 2012; Kantaputra et al, 2021), duas doenças que se sobrepõem às vias moleculares com HS (Fletcher et al, 2020; Kaakati et al, 2021). Assim, a regulação positiva de *PI3* e *SERPINAs* pode estar associada à hiperproliferação de queratinócitos responsável pelo *plug-in* do folículo piloso, uma marca registrada do HS.

Além disso, várias citoqueratinas pareciam desreguladas. *KRT6* e *KRT16* são particularmente interessantes porque são expressos juntos na bainha radicular

externa dos folículos pilosos sob situações estressantes (Lessard et al, 2013). Em condições homeostáticas, *KRT6-KRT16* são co-expressos para responder à quebra de barreira estimulando a hiperproliferação de queratinócitos interfoliculares, modulando o ferimento (Zhang, Yin, e Zhang, 2019). A desregulação desses KRTs foi previamente atribuída como biomarcadores de psoríase (Jiang, Hinchliffe, e Wu, 2015; Mommers, van Rossum, van Erp e van de Kerkhof, 2000). Em paralelo, a desregulação de outros mDEGs, como *SPRR3*, e vários subtipos de *SPRR2* e *SPRR1* também fornecem evidências de comprometimento da função de barreira no HS. As proteínas SPRRs desempenham um papel estrutural no envelope cornificado e o *SPRR3* geralmente não é detectado na pele normal (Tesfaigzi e Carlson, 1999). Foi sugerido que a expressão alterada de *SPRR3* pode afetar a função de barreira através da produção alterada de andaime de envelope cornificado que prejudica a organização supramolecular de lipídios derivados do corpo lamelar em estruturas de bicamada normais (Elias e Wakefield, 2014; Carregaro et al, 2013). Este tipo de desregulação foi observado anteriormente na dermatite atópica, onde os envelopes cornificados são mais finos que o normal (Guttman-Yassky et al, 2009). Assim, a regulação positiva desses genes pode estar ligada ao afinamento do infundíbulo folicular, impactando, portanto, em sua fragilidade e suscetibilidade de quebrar facilmente e iniciar uma reação imunológica.

Tão importante quanto a fragilidade do folículo piloso é a família de metaloproteinases de matriz (MMPs), uma protease extracelular dependente de zinco que quebra e remodela a matriz extracelular (Lukes et al., 1999). As MMPs desempenham um papel importante na patogênese da HS porque estão envolvidas na inflamação e no afinamento da membrana basal que rodeia a unidade do folículo

piloso (Wolk, Join-Lambert e Sabat, 2020). Aqui, encontramos até 12 tipos de MMPs reguladas positivamente, dos quais MMP1 e MMP3 ocupavam algumas das posições mais altas na classificação geral da meta-análise.

Além disso, genes relacionados a aquaporinas, como AQP7, AQP5, AQP6, AQP8, AQP2, AQP4, AQP7P3, AQP7P1 e AQP4-AS1, também foram encontrados como regulados negativamente nos mDEGs. Aquaporinas são proteínas de canal de membrana que, por meio do transporte bidirecional de água, glicerol e pequenos solutos através da membrana, desempenham um papel crítico na barreira da pele (Guo *et al.*, 2013). Além de seu papel essencial para a atividade correta da barreira da pele, as AQPs, principalmente a AQP7, também atuam na modulação das respostas inflamatórias da pele (Tricarico *et al.*, 2022).

6.3 METABOLISMO CELULAR

A desregulação metabólica na HS foi identificada através de genes e vias *down-regulated*, como metabolismo dos lipídios e triglicerídeos, metabolismo dos ácidos graxos e síntese de glicocorticóides. Adicionalmente, algumas variantes encontradas podem ser associadas a desordem metabólica na HS, incluindo a SM, cuja patogênese já foi relacionada à HS (Sabat et al, 2012; Mintoff et al, 2012; Shalom et al, 2015), embora não seja claro se a HS causa a SM e vice-versa (Mintoff et al, 2021). A SM é caracterizada pela combinação de fatores clínicos como a obesidade, hiperglicemia, dislipidemia e hipertensão. Mesmo que sua presença não seja mandatória, a obesidade possui um papel crítico no desenvolvimento da SM

(Cameron et al, 2008) e na severidade da HS (Kromann et al, 2014; Balgobind et al, 2019), onde é considerada um risco primário para seu desenvolvimento.

Do ponto de vista molecular, a obesidade induz baixos níveis de inflamação sistêmica e mudanças metabólicas, aumenta as dobras cutâneas do corpo e, conseqüentemente, o estresse mecânico, a maceração e as condições anaeróbicas dentro dessas dobras (Wolk, Join-Lambert e Sabat, 2020). Células inflamatórias incluindo macrófagos do tipo M1 e células T infiltram o tecido adiposo hipertrofiado e fragilizado, produzindo citocinas inflamatórias e induzindo um padrão desregulado de adipocinas (Curat et al, 2006). As adipocinas são citocinas secretadas pelo tecido adiposo, e são secretadas por células da pele, como queratinócitos, melanócitos, sebócitos e fibroblastos, e sua expressão anormal é associada com várias doenças inflamatórias da pele. Algumas delas, como a resistina (*RETN*), quemerina (*RARRES2*), fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interleucina 1-beta (IL-1 β) (Wolk and Sabat, 2016) podem induzir a resposta inflamatória, levando a alterações metabólicas e, ao mesmo tempo, representando uma conexão na interação da pele e comorbidades metabólicas (Wolk and Sabat, 2016). Essas citocinas pró-inflamatórias foram identificadas expressas positivamente na meta-análise. Além de seu papel na inflamação da pele com infiltração de tecido de células imunes e disfunção celular, eles também impulsionam a resistência à insulina, distúrbios do metabolismo da glicose e lipídios e disfunção vascular (Nagai et al, 2002; Gustafson e Smith, 2006; Gustafson et al, 2006; Andersson et al, 2008).

6.4 LIMITAÇÕES

Esse estudo possui algumas limitações. Nem todos os estudos forneceram dados clínicos dos pacientes, como peso, histórico de tabagismo e raça. Informações gerais sobre estilo de vida, comorbidades e diferentes fenótipos de HS não foram fornecidos por todos os estudos. Além disso, dados de sequenciamento do genoma completo (WGS) ou exoma completo (WES) não estavam disponíveis. Dessa forma, não se pode confirmar os resultados encontrados no *variant calling* por PCR ou sequenciamento de Sanger. Mesmo assim, variantes relacionadas a HS foram identificadas nos resultados. Por último, dados de RNA-seq de pele não-lesional ou peri-lesional com pele saudável não foram comparados. Dessa forma, não foi possível investigar genes diferencialmente expressos presentes antes da formação da lesão.

7 CONCLUSÕES

Nossos resultados demonstram que a variação da expressão de genes na pele lesionada ligados à regulação inflamatória, queratinização e metabolismo energético compõem os principais mecanismos da patogênese da HS. Apesar dessas três vias serem uma rede altamente interconectada, ainda não está claro qual desses eventos é responsável por ativar, manter e/ou progredir na cascata patogênica da doença.

Os achados confirmam a multifatorialidade da HS, sendo necessários mais estudos para esclarecer ainda mais os mecanismos de desenvolvimento da doença, assim como seus gatilhos e genes alvo, para poder fornecer aos indivíduos afetados um diagnóstico mais preciso.

REFERÊNCIAS

Aarts, P., Dudink, K., Vossen, A. R. J. V., van Straalen, K. R., Ardon, C. B., Prens, E. P., & van der Zee, H. H. (2021). Clinical Implementation of Biologics and Small Molecules in the Treatment of Hidradenitis Suppurativa. *Drugs*, 81(12), 1397–1410. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01566-2>

Amatya, N., Garg, A. V., & Gaffen, S. L. (2017). IL-17 Signaling: The Yin and the Yang. *Trends in immunology*, 38(5), 310–322. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.01.006>

Arndt, B., Krieger, T., Kalinski, T., Thielitz, A., Reinhold, D., Roessner, A., Schraven, B., & Simeoni, L. (2011). The transmembrane adaptor protein SIT inhibits TCR-mediated signaling. *PloS one*, 6(9), e23761. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023761>

Andersson, C. X., Gustafson, B., Hammarstedt, A., Hedjazifar, S., & Smith, U. (2008). Inflamed adipose tissue, insulin resistance and vascular injury. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 24(8), 595–603. <https://doi.org/10.1002/dmrr.889>

Balgobind, A., Finelt, N., Strunk, A., and Garg, A. (2019). Association between obesity and hidradenitis suppurativa among children and adolescents: A population-based analysis in the United States. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 82: [doi:/10.1016/j.jaad.2019.08.034](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.08.034)

Banerjee, A., McNish, S., and Shanmugam, V.K. 2016. Interferon-gamma (IFN- γ) is Elevated in Wound Exudate from Hidradenitis Suppurativa. *Immunological Investigations*. 46: [doi:/10.1080/08820139.2016.1230867](https://doi.org/10.1080/08820139.2016.1230867)

Barrat, F. J., Crow, M. K., & Ivashkiv, L. B. (2019). Interferon target-gene expression and epigenomic signatures in health and disease. *Nature immunology*, 20(12), 1574–1583. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0466-2>

Blok, J. L., van Hattem, S., Jonkman, M. F., & Horváth, B. (2013). Systemic therapy with immunosuppressive agents and retinoids in hidradenitis suppurativa: a systematic review. *The British journal of dermatology*, 168(2), 243–252. <https://doi.org/10.1111/bjd.12104>

Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 30(15), 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>

Cameron, A. J., Boyko, E. J., Sicree, R. A., Zimmet, P. Z., Söderberg, S., Alberti, K. G., Tuomilehto, J., Chitson, P., & Shaw, J. E. (2008). Central obesity as a precursor to the metabolic syndrome in the AusDiab study and Mauritius. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 16(12), 2707–2716. <https://doi.org/10.1038/oby.2008.412>

Carregaro, F., Stefanini, A.C.B., Henrique, T., and Tajara, E.H. 2013. Study of small proline-rich proteins (SPRRs) in health and disease: a review of the literature. *Arch Dermatol Res.* 305: doi:/10.1007/s00403-013-1415-9

Cugno, M., Borghi, A., & Marzano, A. V. (2017). PAPA, PASH and PAPASH Syndromes: Pathophysiology, Presentation and Treatment. *American journal of clinical dermatology*, 18(4), 555–562. <https://doi.org/10.1007/s40257-017-0265-1>

Curat, C.A., Wegner, V., Sengenès, C., Miranville, A., Tonus, C., Busse, R., and Bouloumié, A. 2006. Macrophages in human visceral adipose tissue: increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetologia.* 49: doi:/10.1007/s00125-006-0173-z

Oliveira M.P, Gazzalle A, Narvaes G. Hidradenitis suppurativa (acne inversa): review of the literature and case report on the surgical treatment of a presternal lesion. *Rev. Bras. Cir. Plást.*2015;30(3):487-494

de Oliveira, A. S. L. E., Bloise, G., Moltrasio, C., Coelho, A., Agrelli, A., Moura, R., Tricarico, P. M., Jamain, S., Marzano, A. V., Crovella, S., Cavalcanti Brandão, L. A. (2022). Transcriptome Meta-Analysis Confirms the Hidradenitis Suppurativa Pathogenic Triad: Upregulated Inflammation, Altered Epithelial Organization, and Dysregulated Metabolic Signaling. *Biomolecules*, 12(10), 1371. <https://doi.org/10.3390/biom12101371>

Dinarello CA. Blocking interleukin-1 β in acute and chronic autoinflammatory diseases. *J Intern Med.* 2011 Jan;269(1):16-28. doi: 10.1111/j.1365-2796.2010.02313.x. PMID: 21158974; PMCID: PMC3074355.

Dobin, A., Davis, C. A., Schlesinger, F., Drenkow, J., Zaleski, C., Jha, S., Batut, P., Chaisson, M., & Gingeras, T. R. (2013). STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 29(1), 15–21. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts635>

Dong, Y., Kang, H., Liu, H., Wang, J., Guo, Q., Song, C., Sun, Y., Zhang, Y., Zhang, H., Zhang, Z., Guan, H., Fang, Z., & Li, F. (2019). Myoferlin, a Membrane Protein with Emerging Oncogenic Roles. *BioMed research international*, 2019, 7365913. <https://doi.org/10.1155/2019/7365913>

Elias, P.M., and Wakefield, J.S. 2014. Mechanisms of abnormal lamellar body secretion and the dysfunctional skin barrier in patients with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 134: doi:/10.1016/j.jaci.2014.05.048

Elkin, K., Daveluy, S., and Avanaki, K.(. 2019. Hidradenitis suppurativa: Current understanding, diagnostic and surgical challenges, and developments in ultrasound application. *Skin Res Technol.* 26: doi:/10.1111/srt.12759

Faivre, C., Villani, A.P., Aubin, F., Lipsker, D., Bottaro, M., Cohen, J., Durupt, F., Jeudy, G., Sbidian, E., Toussiot, E., Badot, V., Barbarot, S., Debarbieux, S., Delaporte, E.,

- Goegebeur, G., Morel, J., Nassif, A., Duru, G., and Jullien, D. 2016. Hidradenitis suppurativa (HS): An unrecognized paradoxical effect of biologic agents (BA) used in chronic inflammatory diseases. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 74: doi:/10.1016/j.jaad.2016.01.018
- Fenini, G., Contassot, E., & French, L. E. (2017). Potential of IL-1, IL-18 and Inflammasome Inhibition for the Treatment of Inflammatory Skin Diseases. *Frontiers in pharmacology*, 8, 278. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00278>
- Fimmel, S., and Zouboulis, C.C. 2010. Comorbidities of hidradenitis suppurativa (acne inversa). *Dermato-Endocrinology*. 2: doi:/10.4161/derm.2.1.12490
- Fletcher, J. M., Moran, B., Petrasca, A., & Smith, C. M. (2020). IL-17 in inflammatory skin diseases psoriasis and hidradenitis suppurativa. *Clinical and experimental immunology*, 201(2), 121–134. <https://doi.org/10.1111/cei.13449>
- Frew, J., Vekic, D., Woods, J., and Cains, G. 2017. A systematic review and critical evaluation of reported pathogenic sequence variants in hidradenitis suppurativa. *Br J Dermatol*. 177: doi:/10.1111/bjd.15441
- Frew, J.W., Grand, D., Navrazhina, K., and Krueger, J.G. 2020. Beyond antibodies: B cells in Hidradenitis Suppurativa: Bystanders, contributors or therapeutic targets?. *Exp Dermatol*. 29: doi:/10.1111/exd.14092
- Garcovich, S., Genovese, G., Moltrasio, C., Malvaso, D., & Marzano, A. V. (2021). PASH, PAPASH, PsAPASH, and PASS: The autoinflammatory syndromes of hidradenitis suppurativa. *Clinics in dermatology*, 39(2), 240–247. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2020.10.016>
- Garg, A., Kirby, J.S., Lavian, J., Lin, G., and Strunk, A. 2017. Sex- and Age-Adjusted Population Analysis of Prevalence Estimates for Hidradenitis Suppurativa in the United States. *JAMA Dermatol*. 153: doi:/10.1001/jamadermatol.2017.0201
- Gauntner T. D. (2019). Hormonal, stem cell and Notch signalling as possible mechanisms of disease in hidradenitis suppurativa: a systems-level transcriptomic analysis. *The British journal of dermatology*, 180(1), 203–204. <https://doi.org/10.1111/bjd.17093>
- Gabay, C., Lamacchia, C., & Palmer, G. (2010). IL-1 pathways in inflammation and human diseases. *Nature reviews. Rheumatology*, 6(4), 232–241. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2010.4>
- González-López, M. A., Ocejo-Viñals, J. G., López-Sundh, A. E., Guiral, S., Ruiz-Solana, M., Mata, C., Portilla, V., Corrales, A., Blanco, R., & Hernández, J. L. (2022). Biomarkers of endothelial dysfunction and atherosclerosis in hidradenitis suppurativa. *The Journal of dermatology*, 49(10), 1052–1056. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.16484>

Gratton, R., Tricarico, P.M., Moltrasio, C., Lima Estevão de Oliveira, A.S., Brandão, L., Marzano, A.V., Zupin, L., and Crovella, S. 2020. Pleiotropic Role of Notch Signaling in Human Skin Diseases. *IJMS*. 21: doi:/10.3390/ijms21124214

Gudjonsson, J. E., Tsoi, L. C., Ma, F., Billi, A. C., van Straalen, K. R., Vossen, A. R. J. V., van der Zee, H. H., Harms, P. W., Wasikowski, R., Yee, C. M., Rizvi, S. M., Xing, X., Xing, E., Plazyo, O., Zeng, C., Patrick, M. T., Lowe, M. M., Burney, R. E., Kozlow, J. H., Cherry-Bukowiec, J. R., ... Prens, E. P. (2020). Contribution of plasma cells and B cells to hidradenitis suppurativa pathogenesis. *JCI insight*, 5(19), e139930. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.139930>

Guo, L., Chen, H., Li, Y., Zhou, Q., & Sui, Y. (2013). An aquaporin 3-notch1 axis in keratinocyte differentiation and inflammation. *PloS one*, 8(11), e80179. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080179>

Gustafson, B., and Smith, U. 2006. Cytokines Promote Wnt Signaling and Inflammation and Impair the Normal Differentiation and Lipid Accumulation in 3T3-L1 Preadipocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 281: doi:/10.1074/jbc.m512077200

Gustafson, B., Hammarstedt, A., Andersson, C.X., and Smith, U. 2007. Inflamed Adipose Tissue. *ATVB*. 27: doi:/10.1161/atvbaha.107.147835

Guttman-Yassky, E., Suárez-Fariñas, M., Chiricozzi, A., Nogales, K.E., Shemer, A., Fuentes-Duculan, J., Cardinale, I., Lin, P., Bergman, R., Bowcock, A.M., and Krueger, J.G. 2009. Broad defects in epidermal cornification in atopic dermatitis identified through genomic analysis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 124: doi:/10.1016/j.jaci.2009.09.031

Hay R. J. (2016). Diagnosing dermatophytic infections in the molecular age. *The British journal of dermatology*, 174(3), 483–484. <https://doi.org/10.1111/bjd.14443>

Hessam, S., Sand, M., Gambichler, T., Skrygan, M., Rüdell, I., and Bechara, F. 2017. Interleukin-36 in hidradenitis suppurativa: evidence for a distinctive proinflammatory role and a key factor in the development of an inflammatory loop. *Br J Dermatol*. 178: doi:/10.1111/bjd.16019

Harrison, P., Pointon, J. J., Chapman, K., Roddam, A., & Wordsworth, B. P. (2008). Interleukin-1 promoter region polymorphism role in rheumatoid arthritis: a meta-analysis of IL-1B-511A/G variant reveals association with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford, England)*, 47(12), 1768–1770. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/ken374>

Hessam, S., Scholl, L., Sand, M., Schmitz, L., Reitenbach, S., and Bechara, F.G. 2018. A Novel Severity Assessment Scoring System for Hidradenitis Suppurativa. *JAMA Dermatol*. 154: doi:/10.1001/jamadermatol.2017.5890

Higgins, R., Pink, A., Hunger, R., Yawalkar, N., and Navarini, A.A. 2017. Generalized Comedones, Acne, and Hidradenitis Suppurativa in a Patient with an FGFR2 Missense Mutation. *Front. Med.*. 4: doi:/10.3389/fmed.2017.00016

Hocini, H., Lévy, Y., and Hüe, S. 2016. Intrinsic Defect in Keratinocyte Function Leads to Inflammation in Hidradenitis Suppurativa. *Journal of Investigative Dermatology*. 136: doi:/10.1016/j.jid.2016.04.036

Hotz, C., Boniotto, M., Guguin, A., Surenaud, M., Jean-Louis, F., Tisserand, P., Ortonne, N., Hersant, B., Bosc, R., Poli, F., Bonnabau, H., Thiébaud, R., Godot, V., Wolkenstein, P., Hocini, H., Lévy, Y., & Hüe, S. (2016). Intrinsic Defect in Keratinocyte Function Leads to Inflammation in Hidradenitis Suppurativa. *The Journal of investigative dermatology*, 136(9), 1768–1780. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.04fA> IL-1 β que pode ser expressa por queratinócitos.036

Hu Y, Zhu Y, Lian N, Chen M, Bartke A, Yuan R. Metabolic Syndrome and Skin Diseases. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Nov 20;10:788. doi: 10.3389/fendo.2019.00788. PMID: 31824416; PMCID: PMC6880611.

Huang PL. A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Dis Model Mech*. 2009 May-Jun;2(5-6):231-7. doi: 10.1242/dmm.001180. PMID: 19407331; PMCID: PMC2675814.

Ilanhez, M., Schmitt, J. V., & Miot, H. A. (2018). Prevalence of hidradenitis suppurativa in Brazil: a population survey. *International journal of dermatology*, 57(5), 618–620. <https://doi.org/10.1111/ijd.13937>

Ingram J. R. (2016). The Genetics of Hidradenitis Suppurativa. *Dermatologic clinics*, 34(1), 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.det.2015.07.002>

Jfri, A., Litvinov, I. V., Netchiporouk, E., & O'Brien, E. (2020). Novel variants of *MEFV* and *NOD2* genes in familial hidradenitis suppurativa: A case report. *SAGE open medical case reports*, 8, 2050313X20953113. <https://doi.org/10.1177/2050313X20953113>

Jiang, S., Hinchliffe, T.E., and Wu, T. 2015. Biomarkers of An Autoimmune Skin Disease—Psoriasis. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*. 13: doi:/10.1016/j.gpb.2015.04.002

Kak, G., Raza, M., & Tiwari, B. K. (2018). Interferon-gamma (IFN- γ): Exploring its implications in infectious diseases. *Biomolecular concepts*, 9(1), 64–79. <https://doi.org/10.1515/bmc-2018-0007>

Kaakati, R.N., Tanaka, J., Liu, B., Ward, R., Macleod, A.S., Green, C.L., and Jaleel, T. 2021. Atopic dermatitis is associated with hidradenitis suppurativa diagnosis: A single institution retrospective cohort study. *JAAD International*. 4: doi:/10.1016/j.jdin.2021.04.006

Karki R, Kanneganti TD. The 'cytokine storm': molecular mechanisms and therapeutic prospects. *Trends Immunol*. 2021 Aug;42(8):681-705. doi: 10.1016/j.it.2021.06.001. Epub 2021 Jul 1. PMID: 34217595; PMCID: PMC9310545.

Kantaputra, P., Chaowattanapanit, S., Kiratikanon, S., Chaiwarith, R., Choonhakarn, C., Intachai, W., Quarto, N., Tongsimma, S., Ketudat Cairns, J. R., Ngamphiw, C., McGrath, J. A., & Chuamanochan, M. (2021). SERPINA1, generalized pustular psoriasis, and adult-onset immunodeficiency. *The Journal of dermatology*, 48(10), 1597–1601. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.16081>

Keijsers, R. R., Joosten, I., van Erp, P. E., Koenen, H. J., & van de Kerkhof, P. C. (2014). Cellular sources of IL-17 in psoriasis: a paradigm shift?. *Experimental dermatology*, 23(11), 799–803. <https://doi.org/10.1111/exd.12487>

Kelly, G., Hughes, R., McGarry, T., Born, M., Adamzik, K., Fitzgerald, R., Lawlor, C., Tobin, A., Sweeney, C., and Kirby, B. 2015. Dysregulated cytokine expression in lesional and nonlesional skin in hidradenitis suppurativa. *Br J Dermatol*. 173: [doi:/10.1111/bjd.14075](https://doi.org/10.1111/bjd.14075)

Kim, S., Scheffler, K., Halpern, A.L., Bekritsky, M.A., Noh, E., Källberg, M., Chen, X., Kim, Y., Beyter, D., Krusche, P., and Saunders, C.T. 2018. Strelka2: fast and accurate calling of germline and somatic variants. *Nat Methods*. 15: [doi:/10.1038/s41592-018-0051-x](https://doi.org/10.1038/s41592-018-0051-x)

Kowarik, M.C., Cepok, S., Sellner, J., Grummel, V., Weber, M.S., Korn, T., Berthele, A., and Hemmer, B. 2012. CXCL13 is the major determinant for B cell recruitment to the CSF during neuroinflammation. *J Neuroinflammation*. 9: [doi:/10.1186/1742-2094-9-93](https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-93)

Kromann, C., Ibler, K., Kristiansen, V., and Jemec, G. 2014. The Influence of Body Weight on the Prevalence and Severity of Hidradenitis Suppurativa. *Acta Derm Venerol*. 94: [doi:/10.2340/00015555-1800](https://doi.org/10.2340/00015555-1800)

Krzyszczczyk, P., Schloss, R., Palmer, A., and Berthiaume, F. 2018. The Role of Macrophages in Acute and Chronic Wound Healing and Interventions to Promote Pro-wound Healing Phenotypes. *Front. Physiol.* 9: [doi:/10.3389/fphys.2018.00419](https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00419)

Lasigliè, D., Traggiai, E., Federici, S., Alessio, M., Buoncompagni, A., Accogli, A., Chiesa, S., Penco, F., Martini, A., & Gattorno, M. (2011). Role of IL-1 beta in the development of human T(H)17 cells: lesson from NLPR3 mutated patients. *PLoS one*, 6(5), e20014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020014>

Lee, S.Y., Park, Y.K., Yoon, C., Kim, K., and Kim, K. 2019. Meta-analysis of gene expression profiles in long-term non-progressors infected with HIV-1. *BMC Med Genomics*. 12: [doi:/10.1186/s12920-018-0443-x](https://doi.org/10.1186/s12920-018-0443-x)

Lessard, J.C., Piña-Paz, S., Rotty, J.D., Hickerson, R.P., Kaspar, R.L., Balmain, A., and Coulombe, P.A. 2013. Keratin 16 regulates innate immunity in response to epidermal barrier breach. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110: [doi:/10.1073/pnas.1309576110](https://doi.org/10.1073/pnas.1309576110)

Liao, Y., Smyth, G. K., & Shi, W. (2019). The R package Rsubread is easier, faster, cheaper and better for alignment and quantification of RNA sequencing reads. *Nucleic acids research*, *47*(8), e47. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz114>

Lim ZV, Oon HH. Management of Hidradenitis Suppurativa in Patients with Metabolic Comorbidities. *Ann Dermatol*. 2016 Apr;*28*(2):147-51. doi: 10.5021/ad.2016.28.2.147. Epub 2016 Mar 31. PMID: 27081259; PMCID: PMC4828375.

Love, M.I., Huber, W. & Anders, S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol* **15**, 550 (2014). <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>

Lowe, M. M., Naik, H. B., Clancy, S., Pauli, M., Smith, K. M., Bi, Y., Dunstan, R., Gudjonsson, J. E., Paul, M., Harris, H., Kim, E., Shin, U. S., Ahn, R., Liao, W., Hansen, S. L., & Rosenblum, M. D. (2020). Immunopathogenesis of hidradenitis suppurativa and response to anti-TNF- α therapy. *JCI insight*, *5*(19), e139932. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.139932>

Lukes, A., Mun-Bryce, S., Lukes, M., & Rosenberg, G. A. (1999). Extracellular matrix degradation by metalloproteinases and central nervous system diseases. *Molecular neurobiology*, *19*(3), 267–284. <https://doi.org/10.1007/BF02821717>

Mailer, R.K.W., Joly, A., Liu, S., Elias, S., Tegner, J., and Andersson, J. 2015. IL-1 β promotes Th17 differentiation by inducing alternative splicing of FOXP3. *Sci Rep*. 5: [doi:/10.1038/srep14674](https://doi.org/10.1038/srep14674)

Massi, D., & Panelos, J. (2012). Notch signaling and the developing skin epidermis. *Advances in experimental medicine and biology*, *727*, 131–141. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0899-4_10

Matusiak, L., Bieniek, A., and Szepletowski, J. 2009. Increased Serum Tumour Necrosis Factor- in Hidradenitis Suppurativa Patients: Is There a Basis for Treatment with Anti-Tumour Necrosis Factor- Agents?. *Acta Derm Venerol*. 89: [doi:/10.2340/00015555-0749](https://doi.org/10.2340/00015555-0749)

Matusiak, Ł., Batycka-Baran, A., Bieniek, A., & Szepletowski, J. C. (2015). Decreased number of circulating endothelial progenitor cells in hidradenitis suppurativa patients. *Dermatology (Basel, Switzerland)*, *230*(3), 228–233. <https://doi.org/10.1159/000371877>

McKenna, A., Hanna, M., Banks, E., Sivachenko, A., Cibulskis, K., Kernytsky, A., Garimella, K., Altshuler, D., Gabriel, S., Daly, M., & DePristo, M. A. (2010). The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome research*, *20*(9), 1297–1303. <https://doi.org/10.1101/gr.107524.110>

Mintoff, D., Benhadou, F., Pace, N.P., and Frew, J.W. 2021. Metabolic syndrome and hidradenitis suppurativa: epidemiological, molecular, and therapeutic aspects. *Int J Dermatology*. 61: doi:/10.1111/ijd.15910

Mizutani, H., Black, R., and Kupper, T.S. 2008. Human keratinocytes produce but do not process pro-interleukin-1 (IL-1) beta. Different strategies of IL-1 production and processing in monocytes and keratinocytes.. *J. Clin. Invest.* 87: doi:/10.1172/jci115067

Moltrasio C, Cagliani R, Sironi M, Clerici M, Pontremoli C, Maronese CA, Tricarico PM, Crovella S, Marzano AV. Autoinflammation in Syndromic Hidradenitis Suppurativa: The Role of AIM2. *Vaccines (Basel)*. 2023 Jan 11;11(1):162. doi: 10.3390/vaccines11010162. PMID: 36680007; PMCID: PMC9862365.

Mommers, J., van Rossum, M., van Erp, P., and van de Kerkhof, P. 2003. Changes in Keratin 6 and Keratin 10 (Co-)Expression in Lesional and Symptomless Skin of Spreading Psoriasis. *Dermatology*. 201: doi:/10.1159/000018422

Moran, B., Sweeney, C. M., Hughes, R., Malara, A., Kirthi, S., Tobin, A. M., Kirby, B., & Fletcher, J. M. (2017). Hidradenitis Suppurativa Is Characterized by Dysregulation of the Th17:Treg Cell Axis, Which Is Corrected by Anti-TNF Therapy. *The Journal of investigative dermatology*, 137(11), 2389–2395. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.05.033>

Muzzey, D., Evans, E. A., & Lieber, C. (2015). Understanding the Basics of NGS: From Mechanism to Variant Calling. *Current genetic medicine reports*, 3(4), 158–165. <https://doi.org/10.1007/s40142-015-0076-8>

Nakae, S., Asano, M., Horai, R., & Iwakura, Y. (2001). Interleukin-1 beta, but not interleukin-1 alpha, is required for T-cell-dependent antibody production. *Immunology*, 104(4), 402–409. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.2001.01337.x>

National Human Genome Research Institute (2021). The Cost of Sequencing a Human Genome. Disponível em: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/Sequencing-Human-Genome-cost>

Opdenakker, G., Van den Steen, P. E., Dubois, B., Nelissen, I., Van Coillie, E., Masure, S., Proost, P., & Van Damme, J. (2001). Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology. *Journal of leukocyte biology*, 69(6), 851–859.

Oikawa, N., & Walter, J. (2019). Presenilins and γ -Secretase in Membrane Proteostasis. *Cells*, 8(3), 209. <https://doi.org/10.3390/cells8030209>

Parameswaran, N., & Patial, S. (2010). Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Critical reviews in eukaryotic gene expression*, 20(2), 87–103. <https://doi.org/10.1615/critreueukargeneexpr.v20.i2.10>

Pavlovsky, M., Sarig, O., Eskin-Schwartz, M., Malchin, N., Bochner, R., Mohamad, J., Gat, A., Peled, A., Hafner, A., & Sprecher, E. (2018). A phenotype combining hidradenitis suppurativa with Dowling-Degos disease caused by a founder mutation in

PSENEN. *The British journal of dermatology*, 178(2), 502–508. <https://doi.org/10.1111/bjd.16000>

Pink, A.E., Simpson, M.A., Desai, N., Dafou, D., Hills, A., Mortimer, P., Smith, C.H., Pol, A., Pfundt, R., Zeeuwen, P., Molhuizen, H., and Schalkwijk, J. 2003. Transcriptional Regulation of the Elafin Gene in Human Keratinocytes. *Journal of Investigative Dermatology*. 120: doi:/10.1046/j.1523-1747.2003.12043.x

Prignano, F., Pescitelli, L., Giani, I., Dini, V., Romanelli, M., & and the Tuscany HS Working Group (2019). Tuscan consensus on the diagnosis and treatment of hidradenitis suppurativa. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 33 Suppl 6, 21–24. <https://doi.org/10.1111/jdv.15825>

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Raj, D., Brash, D. E., & Grossman, D. (2006). Keratinocyte apoptosis in epidermal development and disease. *The Journal of investigative dermatology*, 126(2), 243–257. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700008>

Rochlani Y, Pothineni NV, Kovelamudi S, Mehta JL. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2017 Aug;11(8):215-225. doi: 10.1177/1753944717711379. Epub 2017 Jun 22. PMID: 28639538; PMCID: PMC5933580.

Sabat, R., Chanwangpong, A., Schneider-Burrus, S., Metternich, D., Kokolakis, G., Kurek, A., Philipp, S., Uribe, D., Wolk, K., and Sterry, W. 2012. Increased Prevalence of Metabolic Syndrome in Patients with Acne Inversa. *PLoS ONE*. 7: doi:/10.1371/journal.pone.0031810

Saeki, M., Irie, Y., Ni, L., Yoshida, M., Itsuki, Y., & Kamisaki, Y. (2006). Monad, a WD40 repeat protein, promotes apoptosis induced by TNF-alpha. *Biochemical and biophysical research communications*, 342(2), 568–572. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.02.009>

Saito, N., Minami-Hori, M., Nagahata, H., Nozaki, H., Iinuma, S., Igawa, S., Kanno, K., Kishibe, M., Kanazawa, N., & Ishida-Yamamoto, A. (2018). Novel PSTPIP1 gene mutation in pyoderma gangrenosum, acne and suppurative hidradenitis syndrome. *The Journal of dermatology*, 45(8), e213–e214. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.14259>

Sanford, M., and McKeage, K. (2015). Secukinumab: First Global Approval. *Drugs*. 75: doi:/10.1007/s40265-015-0359-0

Sartorius, K., Emtestam, L., Jemec, G. B., & Lapins, J. (2009). Objective scoring of hidradenitis suppurativa reflecting the role of tobacco smoking and obesity. *The British journal of dermatology*, 161(4), 831–839. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2009.09198.x>

Shah, A., Alhusayen, R., and Amini-Nik, S. 2017. The critical role of macrophages in the pathogenesis of hidradenitis suppurativa. *Inflamm. Res.* 66: doi:/10.1007/s00011-017-1074-y

Shalom, G., Freud, T., Ben Yakov, G., Khoury, R., Dreiher, J., Vardy, D.A., Comaneshter, D., and Cohen, A.D. 2016. Hidradenitis Suppurativa and Inflammatory Bowel Disease: A Cross-Sectional Study of 3,207 Patients. *Journal of Investigative Dermatology*. 136: doi:/10.1016/j.jid.2016.04.003

Shalom, G., Freud, T., Harman-Boehm, I., Polishchuk, I., and Cohen, A. 2015. Hidradenitis suppurativa and metabolic syndrome: a comparative cross-sectional study of 3207 patients. *Br J Dermatol*. 173: doi:/10.1111/bjd.13777

Shih T, Lee K, Grogan T, De DR, Shi VY, Hsiao JL. Infliximab in hidradenitis suppurativa: A systematic review and meta-analysis. *Dermatol Ther*. 2022 Sep;35(9):e15691. doi: 10.1111/dth.15691. Epub 2022 Jul 18. PMID: 35790062; PMCID: PMC9539481.

Sivaprasad, U., Kinker, K. G., Ericksen, M. B., Lindsey, M., Gibson, A. M., Bass, S. A., Hershey, N. S., Deng, J., Medvedovic, M., & Khurana Hershey, G. K. (2015). SERPINB3/B4 contributes to early inflammation and barrier dysfunction in an experimental murine model of atopic dermatitis. *The Journal of investigative dermatology*, 135(1), 160–169. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.353>

Sivaprasad, U., Kinker, K.G., Ericksen, M.B., Lindsey, M., Gibson, A.M., Bass, S.A., Hershey, N.S., Deng, J., Medvedovic, M., and Khurana Hershey, G.K. 2014. SERPINB3/B4 Contributes to Early Inflammation and Barrier Dysfunction in an Experimental Murine Model of Atopic Dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*. 135: doi:/10.1038/jid.2014.353

Steri M, Idda ML, Whalen MB, Orrù V. Genetic variants in mRNA untranslated regions. *Wiley Interdiscip Rev RNA*. 2018 Jul;9(4):e1474. doi: 10.1002/wrna.1474. Epub 2018 Mar 26. PMID: 29582564; PMCID: PMC6002891.

Takahashi, K., Yanagi, T., Kitamura, S., Hata, H., Imafuku, K., Iwami, D., Hotta, K., Morita, K., Shinohara, N., and Shimizu, H. 2017. Successful treatment of hidradenitis suppurativa with rituximab for a patient with idiopathic carpotarsal osteolysis and chronic active antibody-mediated rejection. *J Dermatol*. 45: doi:/10.1111/1346-8138.14144

Tchero, H., Herlin, C., Bekara, F., Fluieraru, S., and Teot, L. 2021. Hidradenitis Suppurativa: A Systematic Review and Meta-analysis of Therapeutic Interventions. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 85: doi:/10.4103/ijdv.ijdv1_69_18

Tesfaigzi, J., and Carlson, D.M. 2007. Expression, regulation, and function of the SPR family of proteins. *Cell Biochem Biophys*. 30: doi:/10.1007/bf02738069

Tian, S., Krueger, J.G., Li, K., Jabbari, A., Brodmerkel, C., Lowes, M.A., and Suárez-Fariñas, M. 2012. Meta-Analysis Derived (MAD) Transcriptome of Psoriasis Defines the “Core” Pathogenesis of Disease. *PLoS ONE*. 7: doi:/10.1371/journal.pone.0044274

Trembath, R.C., and Barker, J.N. (2012). Mutations in the γ -Secretase Genes NCSTN, PSENEN, and PSEN1 Underlie Rare Forms of Hidradenitis Suppurativa (Acne Inversa). *Journal of Investigative Dermatology*. 132: doi:/10.1038/jid.2012.162

Tolusso, B., Pietrapertosa, D., Morelli, A., De Santis, M., Gremese, E., Farina, G., Carniello, S. G., Del Frate, M., & Ferraccioli, G. (2006). IL-1B and IL-1RN gene polymorphisms in rheumatoid arthritis: relationship with protein plasma levels and response to therapy. *Pharmacogenomics*, 7(5), 683–695. <https://doi.org/10.2217/14622416.7.5.683>

Tricarico, P. M., Mentino, D., De Marco, A., Del Vecchio, C., Garra, S., Cazzato, G., Foti, C., Crovella, S., & Calamita, G. (2022). Aquaporins Are One of the Critical Factors in the Disruption of the Skin Barrier in Inflammatory Skin Diseases. *International journal of molecular sciences*, 23(7), 4020. <https://doi.org/10.3390/ijms23074020>

Tsai, S., Chu, C., and Yang, C. 2021. Hidradenitis suppurativa: Disease pathophysiology and sex hormones. *Chin J Physiol*. 64: doi:/10.4103/cjp.cjp_67_21

van de Veerdonk, F. L., Netea, M. G., Dinarello, C. A., & Joosten, L. A. (2011). Inflammasome activation and IL-1 β and IL-18 processing during infection. *Trends in immunology*, 32(3), 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.it.2011.01.003>

van der Zee, H. H., de Ruyter, L., van den Broecke, D. G., Dik, W. A., Laman, J. D., & Prens, E. P. (2011). Elevated levels of tumour necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-1 β and IL-10 in hidradenitis suppurativa skin: a rationale for targeting TNF- α and IL-1 β . *The British journal of dermatology*, 164(6), 1292–1298. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2011.10254.x>

van der Zee, H.H., and Jemec, G.B. 2015. New insights into the diagnosis of hidradenitis suppurativa: Clinical presentations and phenotypes. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 73: doi:/10.1016/j.jaad.2015.07.047

Vankevicčiūtė, R.A., Polozovaitė, B., Trapikas, J., Raudonis, T., Grigaitienė, J., and Bylaitė-Bucčinskienė, M. 2018. A 12-Year Experience of Hidradenitis Suppurativa Management. *Adv Skin Wound Care*. 32: doi:/10.1097/01.asw.0000549611.06727.52.

Verrier, T., Solhonne, B., Sallenave, J., and Garcia-Verdugo, I. 2012. The WAP protein Trappin-2/Elafin: A handyman in the regulation of inflammatory and immune responses. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 44: doi:/10.1016/j.biocel.2012.05.007

Vossen, A.R.J.V., van der Zee, H.H., and Prens, E.P. 2018. Hidradenitis Suppurativa: A Systematic Review Integrating Inflammatory Pathways Into a Cohesive Pathogenic Model. *Front. Immunol.* 9: doi:/10.3389/fimmu.2018.02965

Wang, B., Yang, W., Wen, W., Sun, J., Su, B., Liu, B., Ma, D., Lv, D., Wen, Y., Qu, T., Chen, M., Sun, M., Shen, Y., and Zhang, X. 2010. γ -Secretase Gene Mutations in Familial Acne Inversa. *Science*. 330: doi:/10.1126/science.1196284

Wang, K., Li, M., and Hakonarson, H. 2010. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Research*. 38: doi:/10.1093/nar/gkq603

Watson J. D. (1990). The human genome project: past, present, and future. *Science* (New York, N.Y.), 248(4951), 44–49. <https://doi.org/10.1126/science.2181665>

Wiedow, O., Schröder, J. M., Gregory, H., Young, J. A., & Christophers, E. (1990). Elafin: an elastase-specific inhibitor of human skin. Purification, characterization, and complete amino acid sequence. *The Journal of biological chemistry*, 265(25), 14791–14795.

Witte-Händel, E., Wolk, K., Tsaousi, A., Irmer, M.L., Mößner, R., Shomroni, O., Lingner, T., Witte, K., Kunkel, D., Salinas, G., Jodl, S., Schmidt, N., Sterry, W., Volk, H., Giamarellos-Bourboulis, E.J., Pokrywka, A., Döcke, W., Schneider-Burrus, S., and Sabat, R. 2018. The IL-1 Pathway Is Hyperactive in Hidradenitis Suppurativa and Contributes to Skin Infiltration and Destruction. *Journal of Investigative Dermatology*. 139: doi:/10.1016/j.jid.2018.11.018

Witkowski, A., Thweatt, J., & Smith, S. (2011). Mammalian ACSF3 protein is a malonyl-CoA synthetase that supplies the chain extender units for mitochondrial fatty acid synthesis. *The Journal of biological chemistry*, 286(39), 33729–33736. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.291591>

Wolk, K., and Sabat, R. 2016. Adipokines in psoriasis: An important link between skin inflammation and metabolic alterations. *Rev Endocr Metab Disord*. 17: doi:/10.1007/s11154-016-9381-0

Wolk, K., Join-Lambert, O., and Sabat, R. 2020. Aetiology and pathogenesis of hidradenitis suppurativa. *Br. J. Dermatol.* 183: doi:/10.1111/bjd.19556

Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H., Terauchi, Y., Kubota, N., Hara, K., Mori, Y., Ide, T., Murakami, K., Tsuboyama-Kasaoka, N., Ezaki, O., Akanuma, Y., Gavrilova, O., Vinson, C., Reitman, M., Kagechika, H., Shudo, K., Yoda, M., Nakano, Y., Tobe, K., Nagai, R., Kimura, S., Tomita, M., Froguel, P., and Kadowaki, T. 2002. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med*. 7: doi:/10.1038/90984

Yu, W., Barrett, J., Liu, P., Parameswaran, A., Chiu, E., and Lu, C. 2021. Novel evidence of androgen receptor immunoreactivity in skin tunnels of hidradenitis suppurativa: assessment of sex and individual variability. *Br J Dermatol*. 185: doi:/10.1111/bjd.20520

Zhang, X., Yin, M., and Zhang, L. 2019. Keratin 6, 16 and 17—Critical Barrier Alarmin Molecules in Skin Wounds and Psoriasis. *Cells*. 8: doi:/10.3390/cells8080807

Zhu, L., Chen, P., Sun, X., & Zhang, S. (2021). Associations between Polymorphisms in the IL-1 Gene and the Risk of Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus: Evidence from a Meta-Analysis. *International archives of allergy and immunology*, 182(3), 234–242. <https://doi.org/10.1159/000510641>

Zouboulis, C. C., Tzellos, T., Kyrgidis, A., Jemec, G. B. E., Bechara, F. G., Giamarellos-Bourboulis, E. J., Ingram, J. R., Kanni, T., Karagiannidis, I., Martorell, A., Matusiak, Ł., Pinter, A., Prens, E. P., Presser, D., Schneider-Burrus, S., von Stebut, E., Szepietowski, J. C., van der Zee, H. H., Wilden, S. M., Sabat, R., ... European Hidradenitis Suppurativa Foundation Investigator Group (2017). Development and validation of the International Hidradenitis Suppurativa Severity Score System (IHS4), a novel dynamic scoring system to assess HS severity. *The British journal of dermatology*, 177(5), 1401–1409. <https://doi.org/10.1111/bjd.15748>

Zouboulis, C., Desai, N., Emtestam, L., Hunger, R., Ioannides, D., Juhász, I., Lapins, J., Matusiak, L., Prens, E., Revuz, J., Schneider-Burrus, S., Szepietowski, J., van der Zee, H., and Jemec, G. 2015. European S1 guideline for the treatment of hidradenitis suppurativa/acne inversa. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 29: doi:/10.1111/jdv.12966

Zouboulis, C., Nogueira da Costa, A., Makrantonaki, E., Hou, X., Almansouri, D., Dudley, J., Edwards, H., Readhead, B., Balthasar, O., Jemec, G., Bonitsis, N., Nikolakis, G., Trebing, D., Zouboulis, K., and Hossini, A. 2019. Alterations in innate immunity and epithelial cell differentiation are the molecular pillars of hidradenitis suppurativa. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 34: doi:/10.1111/jdv.1614