

## POLIMORFISMOS NO GENE *TLR-4* EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA CARDÍACA CORONARIANA ASSOCIADA COM INFECÇÃO POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* E *C. PNEUMONIAE*

Lucas Ribeiro Brito<sup>1</sup>; Suzanne R. Cardoso Fernandes<sup>2</sup>; Antonio Carlos R. Vallinoto<sup>3</sup>; Marluísa de O. Guimarães Ishak<sup>3</sup>; Ricardo Ishak<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Acadêmico de Farmácia; <sup>2</sup>Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários;

<sup>3</sup>Doutor em Ciências Biológicas; <sup>4</sup>Doutor em Virologia

lucas.rib.brito@gmail.com

Universidade Federal do Pará (UFPA)

**Introdução:** As clamídias são bactérias imóveis, Gram-negativo, intracelulares obrigatórias. Todas as espécies do gênero *Chlamydia* sp., à exceção de *C. pecorum*, têm sido associadas a infecções em seres humanos. Estudos clínicos têm demonstrado que infecções por diversos agentes infecciosos, incluindo espécies de *Chlamydia*, em especial *C. trachomatis* e *C. pneumoniae*, estão associadas com a doença cardiovascular. Estudos experimentais têm demonstrado que a ativação do sistema imunológico inato pela via sinalizadora de receptores *Toll-Like* contribui para o desenvolvimento da aterosclerose, em consequência da resposta imune inata à infecção.

**Objetivo:** Avaliar a frequência de polimorfismos no gene *TLR-4* e sua associação com a presença de anticorpos contra *C. trachomatis* e *C. pneumoniae* em indivíduos com doença coronariana. **Material e Métodos:** Foram analisadas amostras de sangue de 230 indivíduos com doença coronariana, de ambos os sexos, entre 18 e 80 anos, residentes na cidade de Belém, os quais responderam a um questionário epidemiológico e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, sendo incluídos pacientes com doença cardíaca coronariana, submetidos à cirurgia cardíaca de revascularização do miocárdio, além de um grupo de comparação composto por pacientes que passaram por cirurgia por terem estenose aórtica, assintomáticos do ponto de vista de manifestações de isquemia miocárdica, que realizaram troca de válvula mitral e/ou troca de válvula aórtica. As amostras foram testadas com a finalidade de detecção de anticorpos para *C. trachomatis* e *C. pneumoniae* por meio de ensaios imunoenzimáticos. A partir das amostras também foi feita análise molecular do gene *TLR-4* para identificação de polimorfismos para o gene. Para a análise de comparação das informações epidemiológicas e das frequências alélica e genotípica foram utilizados o teste G e teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ) usando-se o programa BioEstat 5.0. **Resultados/Discussão:** A partir da análise dos questionários foi possível perceber diferença estatística significativa quanto ao sexo ( $p=0,0003$ ) na comparação entre os indivíduos que realizaram cirurgia de revascularização do miocárdio, no qual a maioria pertencia ao sexo masculino, cerca de 68,6% (109/159) e entre os indivíduos que realizaram troca de válvulas 57,7% (41/71) pertenciam ao sexo feminino. Para o primeiro grupo de estudo a faixa etária variou de 36 a 79 anos, enquanto que para o segundo grupo a idade variou entre 14 e 80 anos. Em relação ao estado civil, no grupo de revascularizados, 67,3% declaram ser casados, já no grupo de troca de válvulas, 43,7% se declararam solteiros. Nesta análise foi observada significância estatística ( $p<0,0001$ ). No presente estudo houve prevalência de indivíduos com doença valvular em idade abaixo dos 40 anos (39,5%), o que pode explicar a diferença quanto ao estado civil, haja vista que a maioria neste grupo declarou ser solteiro. Neste estudo foi encontrada associação quanto à renda familiar ( $p=0,0011$ ), a diferença se deu em relação ao grupo que declarou receber acima de quatro salários. Portanto, a presença de doença arterial coronariana parece estar associada também com a questão do maior poder econômico. Entretanto, grupos com menor poder econômico tendem a apresentar fatores de risco com maior frequência

(Karlmanngla *et al.*, 2010). As amostras foram submetidas ao teste sorológico de ELISA, de modo que dentre os indivíduos que realizaram cirurgia de revascularização do miocárdio 83,6% apresentaram anticorpos para *C. pneumoniae*. Este resultado corrobora o que foi encontrado por Kalay e colaboradores em 2008, onde foi encontrada soroprevalência de 92,9% em pacientes com aterosclerose coronariana. Na presente pesquisa não foi observada significância estatística entre os grupos de troca de válvula e controle, porém foi encontrada uma alta prevalência de anticorpos contra *C. pneumoniae* (84,5%) em indivíduos com doença valvar. A identificação da presença de anticorpos para a espécie *C. trachomatis* nos grupos de pacientes e controle revelou baixa prevalência de anticorpos para a espécie no grupo de revascularização, troca de válvula e no grupo controle, atingindo 30,6%, 20,3% e 36,8%, respectivamente. Enquanto que, por vezes, este estudo vem fortalecer o encontrado em outros, a referida observação confronta resultados encontrados por Feitosa (2010), que encontrou uma alta prevalência (64%) de anticorpos contra a espécie *C. trachomatis* em pacientes com doença coronariana, em Belém. Ao comparar o perfil sócio-epidemiológico entre os grupos de pacientes com sorologia positiva para *C. trachomatis* mostrou diferença estatística entre revascularizados e troca de válvula em relação à faixa etária ( $p=0,0169$ ). Quando se comparou os fatores epidemiológicos entre os grupos com sorologia positiva para *C. pneumoniae*, observou-se diferença estatística em relação ao sexo ( $p=0,0004$ ), idade ( $p<0,0001$ ) e estado civil ( $p=0,0001$ ). No estudo demonstrou-se que a maioria dos indivíduos com doença coronariana era do sexo masculino tanto para soropositivos quanto no grupo dos soronegativos para *C. pneumoniae*. A comparação entre as distribuições genóticas e alélicas do gene *Tlr-4* para os polimorfismos rs4986790 (Asp299Gly) e rs4986791 (Thr399Ile), em pacientes cardíacos e grupo controle, mostrou não haver nenhuma significância estatística. Estudos como o de Labrum *et al.*, (2007), não observaram associação entre a presença de polimorfismo e a doença aterosclerótica. Já outros autores relataram uma correlação entre polimorfismos em *Tlr-4* e doenças cardiovasculares. Ao correlacionar os polimorfismos Asp299Gly e Thr399Ile em pacientes com doença cardíaca coronariana e sorologia positiva para *C. pneumoniae* e *C. trachomatis*, não se observou diferença estatisticamente significativa quando comparadas as frequências genóticas tanto para o polimorfismo Asp299Gly quanto para o polimorfismo Thr399Ile entre os grupos de revascularização, troca de válvula e controle com sorologia positiva para *C. trachomatis*. O mesmo não ocorreu ao correlacionar ambos os polimorfismos nos grupos de revascularização e controle com sorologia positiva para a espécie considerando sua frequência alélica. Já entre os grupos de pacientes e controle com sorologia positiva para *C. pneumoniae*, não houve diferença estatística na distribuição genotípica nem na distribuição alélica. Estes resultados são os primeiros a descrever a investigação referidos polimorfismos em indivíduos com doença arterial coronariana que apresentam sorologia positiva para *C. trachomatis* e *C. pneumoniae*. **Conclusão:** A partir do estudo percebe-se que foi registrada baixa prevalência de anticorpos contra *C. trachomatis* e elevada prevalência de anticorpos contra *C. pneumoniae* em pacientes com doenças cardíaca, é sabido ainda que foram encontrados polimorfismos em *TLR4* (Asp299Gly e Thr399Ile) nos três grupos examinados e que estes polimorfismos não estão associados com a doença arterial coronariana.

## Referências:

EDFELDT, K., SWEDENBORG, J., HANSSON, G.K., YAN, Z. Expression of toll-like receptors in human atherosclerotic lesions: a possible pathway for plaque activation. **Circulation** **105**: 1158-1161, 2002.

FEITOSA, R. N. M. **Associação entre marcadores da resposta inflamatória e a imunopatogênese de agentes infecciosos de natureza viral (Vírus da Dengue, HTLV-1 e HTLV-2) e bacteriana (*Chlamydia trachomatis* e *Chlamydia pneumoniae*)**. Dissertação (mestrado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários) – Belém, Universidade Federal do Pará, 2010. 174 p.

KALAY, N., KUTUKOGLU, I., OZDOGRU, I., KILIC, H., CETINKAYA, Y., ERYOL, N. K., KARAKAYA, E., OGUZHAN, A. The relationship between *Chlamydia pneumoniae* IgG titer and coronary atherosclerosis. **Cardiology Journal** **15**(3): 245–251, 2008.

KARLAMANGLA, A. S., MERKIN, S. S., CRIMMINS, E. M., SEEMAN, T. E. Socio-economic and ethnic disparities in cardiovascular risk in the United States, 2001-2006. **Annals of Epidemiology** **20**(8): 617–628, 2010.

LABRUM, R., BEVAN, S., SITZER, M., LORENZ, M., MARKUS, H. S., Toll receptor polymorphisms and carotid artery intima-media thickness. **Stroke** **38**: 1179-1184, 2007.