

INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO INSERÇÃO/DELEÇÃO -196 A -174 DO RECEPTOR CELULAR HUMANO TOLL-LIKE 2 NA INFECÇÃO POR TUBERCULOSE E NA COINFECÇÃO POR TUBERCULOSE/HIV NA POPULAÇÃO DO SUL DO BRASIL

Gabriel Tassi Mousquer^{1,2}, Elis Regina Dalla Costa¹.

¹ Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde – Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico;

² Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

INTRODUÇÃO

O *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) e o vírus da imunodeficiência humana (HIV) são patógenos intracelulares que causam tuberculose (TB) e a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), respectivamente. TB é a principal causa de morte dentre indivíduos coinfetados com HIV e estudos recentes indicam que a estimulação da resposta imune contra o *M. tuberculosis*, via receptor *toll-like* 2 (TLR2), pode induzir a replicação viral sistêmica, contribuindo, assim, para a progressão mais rápida para a AIDS e, conseqüentemente, uma maior mortalidade em função da doença (Figura 1).

O TLR2 é responsável por reconhecer padrões moleculares associados a patógenos (PAMP's), identificando lipoproteínas micobacterianas e ativando a transcrição de genes que codificam citocinas, enzimas e outras proteínas envolvidas na resposta antimicrobiana. Estudos recentes no gene que codifica o TLR2, identificaram um polimorfismo inserção/deleção de 22 nucleotídeos (-196 a -174del), localizado em sua região promotora. Essa deleção pode alterar significativamente a atividade do promotor, inibindo a transcrição do gene, e reduzindo a expressão do receptor, o que a torna interessante para investigações quanto as relações de proteção e suscetibilidade.

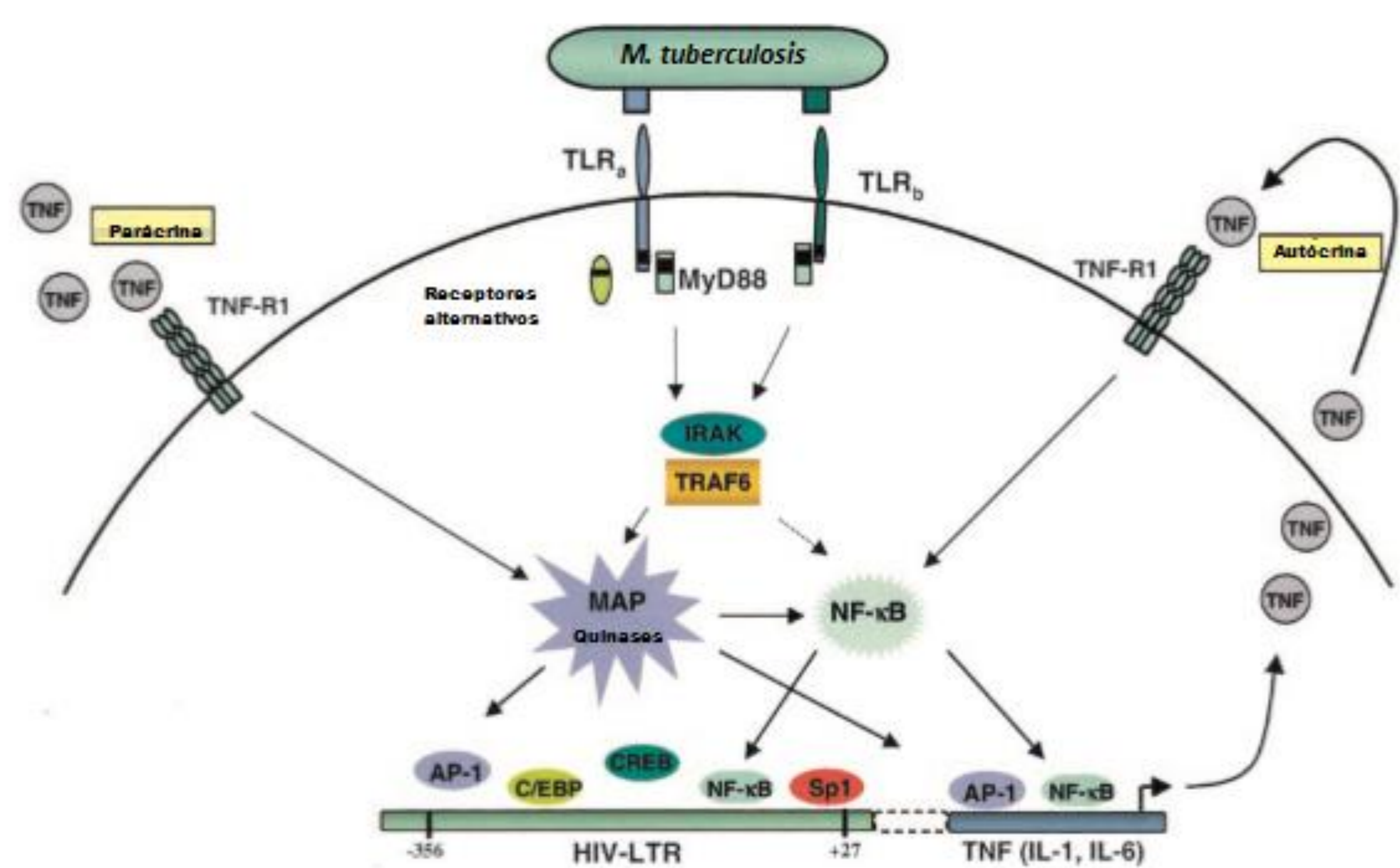


Figura 1 – Vias de indução da replicação do HIV por consequência da ativação do receptor TLR2

Fonte: Traduzida de Báfica, A., Scanga, C.A., Schito, M., Chaussabel, D., Sher, A., Influence of coinfecting pathogens on HIV expression: evidence for a role of Toll-like receptors, J. Immunol., 172(12), 7229–7234, 2004.

OBJETIVOS

O presente estudo tem como objetivo avaliar a associação dos genótipos definidos pelo polimorfismo -196 a -174del do TLR2 (rs111200466) na suscetibilidade, ou na proteção contra, a TB pulmonar e na coinfeção TB/HIV na população do sul do Brasil. Projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FEPPS-RS, número 09/2011.

METODOLOGIA

Consiste em um estudo caso-controle. Foram coletadas amostras de sangue de 170 pacientes com TB pulmonar ativa e de 85 pacientes coinfetados com TB e HIV, ambos os grupos coletados no Hospital Sanatório Partenon – Porto Alegre, RS, juntamente com 236 amostras de sangue de indivíduos saudáveis, utilizadas como grupo controle e coletadas no Hemocentro do Estado do Rio Grande do Sul - Porto Alegre, RS. Logo após a coleta, o sangue foi centrifugado e os leucócitos separados em alíquotas, utilizadas para a extração de DNA através do kit comercial por coluna de sílica *NucleoSpin Bood*® (MECHEREY-NAGEL, Alemanha). Para o estudo da deleção foi utilizada a técnica de PCR alelo-específico, com o produto amplificado sendo visualizado através de eletroforese com gel de agarose 4% (Tabela 1).

POLIMORFISMO (Posição relativa ao ATG)	NÚMERO rs	PRIMERS E CONDIÇÕES DA PCR
-196 a -174 Ins>Del	111200466	5' - CAC GGA GGC AGC GAG AAA - 3' (FORWARD) 5' - CTG GGC CGT GCA AAG AAG - 3' (REVERSE) Condições: 95°C, 5 min; (95°C, 30seg; 60°C, 40 seg; 72°C, 40 seg) - 35 ciclos; 72°C, 10 min.

Quadro 1 – Identificação do polimorfismo e condições de PCR.

A presença de um único *amplicon* de 286 pb caracteriza o genótipo como *wild-type* (selvagem ou ancestral), um único *amplicon* de 264 pb é considerado como homozigoto para deleção, enquanto que o genótipo heterozigoto apresenta dois *amplicons* de 286 e 264 pb, respectivamente (Figura 2). Para validar a técnica, algumas das amostras foram também sequenciadas, confirmando que a amplificação ocorreria no loci correto. As análises dos dados foram realizada através do software estatístico *IBM SPSS Statistics V21 x86* (IBM, Estados Unidos).

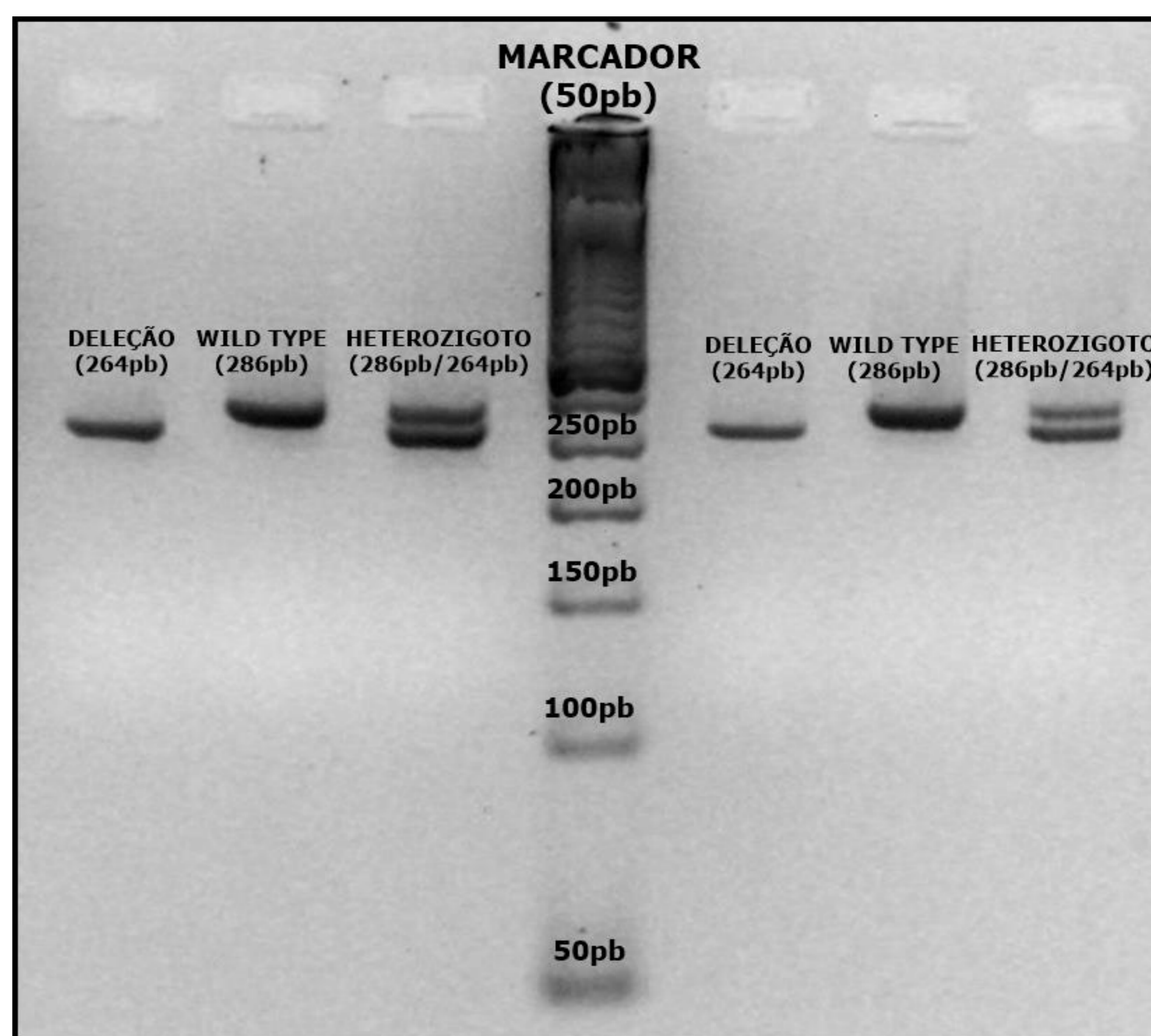


Figura 2 – Gel de agarose 4% contendo os diferentes fragmentos esperados para cada genótipo.

RESULTADOS PARCIAIS E PERSPECTIVAS

Até o presente momento, as frequências calculadas do genótipo homozigoto para a deleção foram relativamente maiores no grupo de pacientes com a coinfeção TB/HIV e no grupo de controles saudáveis, quando que comparados aos pacientes do grupo com TB pulmonar (10,5%, 5,6% e 1,2%, respectivamente) ($p=0,0876$). Os modelos de regressão logística desenvolvidos apontam que as variáveis étnicas não influenciaram nos resultados das análises realizadas. Apesar do valor de p obtido, tais resultados preliminares sugerem que o alelo deletério atua como um possível fator de proteção, principalmente dentre os indivíduos coinfetados por TB/HIV, entretanto, um maior número amostral ainda será genotipado, com a inclusão de um quarto grupo amostral proveniente de pacientes infectados apenas pelo HIV, e novas análises e testes serão ser realizadas, levando em conta dados referentes a contagem de células CD4+ e de carga viral.

AGRADECIMENTOS: