

ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO rs5743313 (C/T) NO GENE *TLR3* E O DESENVOLVIMENTO DO DIABETES MELLITUS TIPO 1.

Guilherme Coutinho K. Duarte^{1,2}, Taís Silveira Assmann¹, Daisy Crispim¹

¹ Serviço de Endocrinologia - Hospital de Clínicas de Porto Alegre, UFRGS. Porto Alegre, RS, Brasil.

² Universidade Feevale. Novo Hamburgo, RS, Brasil.

INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune, na qual ocorre a destruição das células-beta pancreáticas dependente da interação entre resposta imunológica, fatores genéticos predisponentes e fatores ambientais, resultando numa lenta e progressiva perda de secreção de insulina. O receptor tipo toll 3 (TLR3) é um sensor-chave da imunidade inata para o reconhecimento de componentes virais, especialmente o RNA fita dupla (RNAfd), que é um subproduto da replicação viral e o mediador do dano viral na célula-beta (**Figura 1**). Como o gene *TLR3* é altamente expressado em ilhotas pancreáticas humanas e células dendríticas, polimorfismos nesse gene podem influenciar o desenvolvimento do DM1.

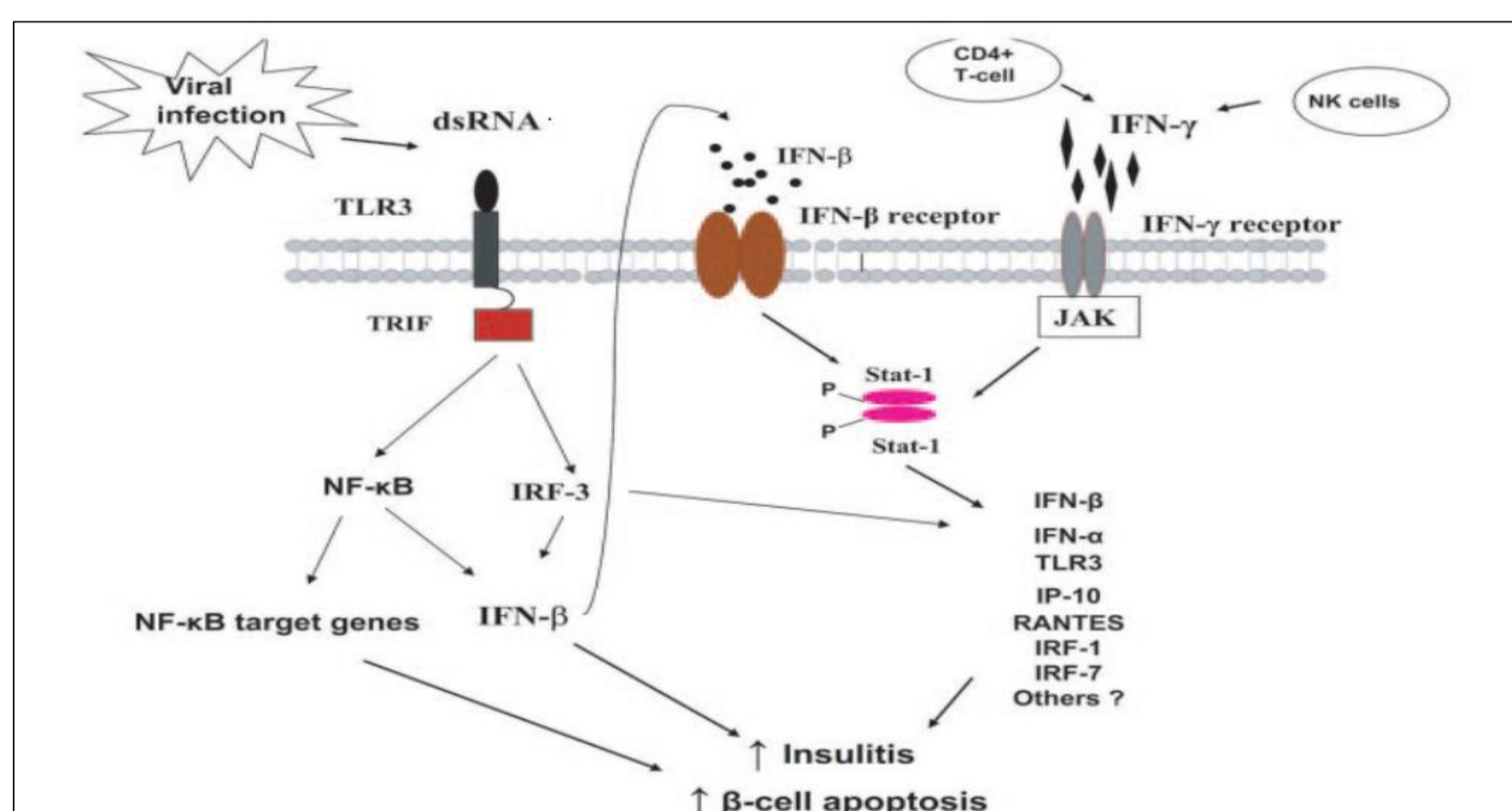


Fig 1. O RNAfd ativa o TLR3, que se liga ao adaptador TRIF, levando a liberação do NF-κB e do IRF3. A forma fosforilada do IRF-3 desloca-se para o núcleo e age em conjunto com o NF-κB aumentando a expressão de IFN-β, o qual, após ser secretado, irá ativar a expressão de quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias através da via STAT1/2 juntamente com o IFN-γ.

Desta forma, RNAfd externo + IFN-γ induzem apoptose das células beta por duas vias complementares, via ativação do NF-κB, dependente do RNAfd, e do STAT-1, dependente do IFN-γ.

RASSCHAERT *et al.*, 2005

OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi investigar a associação entre o polimorfismo rs5743313 (C/T) no gene *TLR3* e o DM1.

MÉTODOS

Amostra: Delineamento tipo caso-controle. Foram analisados 517 pacientes com DM1 (casos), proveniente de vários hospitais da região metropolitana de Porto Alegre e 509 indivíduos não-diabéticos (controles), doadores de banco de sangue.

Análise Molecular: A análise do polimorfismo rs5743313 (C/T) foi realizada através de ensaios de discriminação alélica por PCR em tempo real utilizando-se sondas do tipo TaqMan MGB (*Applied Biosystems*).

Análise Estatística: As frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo rs5743313 (C/T) foram comparadas entre pacientes com DM1 vs. indivíduos não-diabéticos pelo teste χ^2 . O equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) também foi testado por χ^2 . Variáveis clínicas e laboratoriais foram comparadas entre pacientes com DM1 diferenciados de acordo com os genótipos ou alelos do polimorfismo estudado pelo uso dos testes de χ^2 , teste-t de Student ou ANOVA. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo e todas as análises estatísticas foram realizadas no programa SPSS 18.0.

RESULTADOS

As distribuições do polimorfismo rs5743313 (C/T) no gene *TLR3* em pacientes com DM1 e indivíduos não-diabéticos estão mostradas na **Tabela 1**. As frequências genotípicas e alélicas não diferiram entre casos e controles.

Na **Tabela 2** são apresentadas características clínicas e laboratoriais em pacientes com DM1 diferenciados de acordo com os diferentes genótipos do polimorfismo estudado. Pacientes com o genótipo T/T apresentaram uma menor idade de diagnóstico do que indivíduos C/T ou C/C ($p = 0,0001$). Além disso, pacientes com o genótipo T/T apresentaram maiores níveis de glicose do que indivíduos portadores do alelo C ($p = 0,0001$) (Tabela 2).

Tabela 1. Frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo rs5743313 (C/T) no gene *TLR3* em pacientes diabéticos tipo 1 e indivíduos não-diabéticos.

	Pacientes com DM1 (n=517)	Indivíduos não diabéticos (n=509)	p*
C/C	317 (61,3%)	326 (64,1%)	0,541
C/T	168 (32,5%)	158 (31%)	
T/T	32 (6,2%)	25 (4,9%)	
C	0,78	0,80	0,318
T	0,22	0,20	

* Valores de p obtidos pelo teste χ^2 . Os dados são mostrados como n e porcentagem (%) ou proporção. As frequências deste polimorfismo estão de acordo com aquela esperada pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$) nas duas amostras estudadas.

Tabela 2. Características clínicas e laboratoriais do DM1 de acordo com os genótipos do polimorfismo rs5743313 (C/T) no gene *TLR3*

Característica/ genótipo	CC	CT	TT	p*
Idade (anos)**	37 ± 12 ^a	32,2 ± 15,4 ^a	28 ± 11,8 ^b	0,002
Sexo (% de homens)	50,6	56,3	53,3	0,549
Idade de diagnóstico (anos)**	19,6 ± 9,6 ^a	14,8 ± 10 ^a	10,3 ± 9,1 ^b	0,0001
Tempo de DM1 (anos)	17,2 ± 9,05	16,5 ± 9,9	16,1 ± 8,2	0,747
IMC (kg/m ²)	23,5 ± 4,8	23,3 ± 5,3	22,7 ± 3,2	0,790
Pressão diastólica (mmHg)	78,8 ± 12,2	76,7 ± 10,7	77,7 ± 11,6	0,050
Pressão sistólica (mmHg)**	123,6 ± 18,9 ^a	118,8 ± 18,3 ^{ab}	116,4 ± 18,2 ^b	0,034
Glicose (mg/dl)**	130,1 ± 76,4 ^a	214,7 ± 92,5 ^b	352,4 ± 150,1 ^c	0,0001
GHb (%)**	8,3 ± 1,9 ^a	9,6 ± 6,4 ^b	9,9 ± 2,1 ^b	0,006
Creatinina (μg/dl)	1,3 (0,5-10,6)	1 (0,4-11,1)	0,9 (0,5-7,6)	0,936
Triglicerídeos (mg/dl)	72 (25-900)	87 (32-424)	105 (32-309)	0,922
Colesterol total (mg/dl)	179,6 ± 49,8	185,3 ± 44,7	181,2 ± 48,7	0,602
HDL colesterol (mg/dl)	57,6 ± 18,2	57,8 ± 18	63,8 ± 19	0,241

Os dados mostrados em média ± DP, % ou mediana (valores mínimos - máximos). IMC = índice de massa corporal. * valores de p obtidos pelo teste de ANOVA. ** Letras diferentes referem-se aos valores que diferiram significativamente ($p < 0,05$) no teste *post-hoc* de Tukey. IMC = índice de massa corporal; GHb = glicohemoglobina.

CONCLUSÃO

Em suma, o polimorfismo rs5743313 (C/T) no gene *TLR3* não está associado ao desenvolvimento de DM1 na nossa população. No entanto, o genótipo T/T parece estar associado ao desenvolvimento precoce de DM1, bem como com níveis de glicemia mais elevados.