

O Polimorfismo VNTR no Gene Codificador do Antagonista do Receptor da Interleucina-1 está Associado com a Doença Arterial Coronariana

Interleukin-1 Receptor Antagonist Gene VNTR Polymorphism is Associated with Coronary Artery Disease

Ahmet Arman, Ozer Soylu, Ahmet Yildirim, Andrzej Furman, Nesrin Ercelen, Hakki Aydogan, Ajda Coker, Tuna Tezel
Departamento de Cardiologia da Faculdade de Engenharia da Universidade Marmara, Hospital Dr. Siyami Ersek; Instituto de Ciências Ambientais, Universidade Bogazici; Departamento de Genética Médica, Hospital Americano; Departamento de Biologia, Artes e Ciências da Universidade Marmara, Istambul, Turquia.

Resumo

Fundamento: A Doença Arterial Coronariana (DAC) é a aterosclerose das artérias coronárias que transportam o sangue para o coração. A aterosclerose é uma doença inflamatória. As variações gênicas das citocinas – como as associadas à família IL1 – fazem parte da patogênese da aterosclerose.

Objetivo: O objetivo deste estudo foi determinar a relação entre os polimorfismos da família IL1 (VNTR do IL1RN, posições -511 e +3953 do IL1B) e a DAC na população turca.

Métodos: Um total de 427 indivíduos foram submetidos à angiografia coronariana e em seguida divididos da seguinte forma: 170 no grupo controle e 257 no grupo de pacientes com DAC. Os sujeitos com DAC foram divididos em dois subgrupos: 91 no grupo de Doença Coronariana em um único vaso (Single Vessel Disease - SVD) e 166 no grupo Doença Coronariana em múltiplos vasos (Multiple Vessel Disease - MVD). Os genótipos de IL1RN e IL1B (-511, +3953) foram determinados por reação em cadeia da polimerase (RCP), seguida de análise da digestão por enzima de restrição.

Resultados: Não foram observadas diferenças significantes nas distribuições de genótipos de IL1RN e IL1B (-511 e +3953) entre os sujeitos com DAC e os controles, ou entre sujeitos com MVD e controles. No entanto, observou-se uma relação significativa no genótipo IL1RN 2/2 entre sujeitos portadores de SVD e controles ($P= 0,016$, $x^2: 10,289$, $OR: 2,94$ $95\% \text{ CI: } 1,183 - 7,229$). Tampouco foi observada diferença estatisticamente significativa nas frequências dos alelos de IL1RN e IL1B (-511 e +3953) entre os sujeitos com DAC e controles, os sujeitos com MVD e controles, ou ainda os sujeitos SVD e controles.

Conclusão: Não foi observada nenhuma relação na frequência alélica e nem na distribuição genotípica dos polimorfismos de IL1RN e IL1B entre sujeitos com DAC e grupos controle. No entanto, o genótipo IL1RN 2/2 pode representar um fator de risco para sujeitos com SVD na população turca. (Arq Bras Cardiol 2008; 91(5) : 293-298)

Palavras-chave: Interleucina 1, repetições mini-satélites, aterosclerose coronariana, população, Turquia / epidemiologia.

Summary

Background: Coronary Artery Disease (CAD) is the atherosclerosis of coronary arteries that carry blood to the heart muscle. Atherosclerosis is an inflammatory disease. Cytokine gene variations such as those associated with the IL1 family are involved in the pathogenesis of atherosclerosis.

Objective: The purpose of this study was to determine the relationship between IL1 family polymorphisms (IL1RN VNTR, IL1B positions -511 and +3953) and CAD in Turkish population.

Methods: 427 individuals were submitted to coronary angiography and were grouped as 170 control subjects and 257 CAD patients. The CAD subjects were divided into two subgroups: 91 Single Vessel Disease (SVD) and 166 Multiple Vessel Disease (MVD) subjects. The genotypes of IL1RN and of IL1B (-511, +3953) were determined by polymerase chain reaction (PCR) followed by restriction digestion analysis.

Results: No significant difference was found in IL1RN and IL1B (-511 and +3953) genotype distributions between CAD and control subjects or MVD and control subjects. However, significant association was seen in IL1RN 2/2 genotype between SVD and control subjects ($P= 0.016$, $x^2: 10.289$, $OR: 2.94$, $95\% \text{ CI: } 1.183-7.229$). Similarly, no statistically significant difference was found in IL1RN and IL1B (-511 and +3953) allele frequencies between CAD and control subjects, MVD and control subjects or SVD and control subjects.

Conclusion: No association was found in either allele frequency or genotype distribution of IL1RN and IL1B polymorphisms between CAD and the control groups. However, IL1RN 2/2 genotype may be a risk factor for SVD in the Turkish population. (Arq Bras Cardiol 2008; 91(5) : 268-273)

Key words: Interleukin 1; mini-satellite repeats; coronary arteriosclerosis; population; Turkey / epidemiology.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Ahmet Arman •

Department of Engineering, Marmara University, Goztepe Campus, 34722, Istanbul, Turkey

E-mail: aarman@eng.marmara.edu.tr

Artigo recebido em 28/08/07; revisado recebido em 24/01/08;

aceito em 14/02/08

Introdução

A aterosclerose é uma doença inflamatória que afeta as artérias grandes ou médias e causa gangrena, acidente vascular cerebral e doença coronariana. A doença arterial coronariana (DAC) é uma doença cardíaca causada pela aterosclerose das artérias coronárias¹. Fatores como crescimento e coagulação, citocinas, moléculas de adesão e seus efeitos nas células endoteliais (CE) e células de músculos lisos (SMC- Smooth Muscle Cells) foram estudados para maior compreensão dos processos da aterosclerose². A inflamação das paredes da artéria desencadeia a produção de citocinas pró-inflamatórias primárias como a Interleucina-1 β (IL-1 β), o Fator de Necrose Tumoral α (TNF α), que pode induzir a citocina pró-inflamatória secundária (IL-6), a quimiocina (IL-8) e a produção da molécula de adesão (E-selectina)³.

A família IL-1 tem três membros muito bem estudados, dois agonistas - IL-1 α e IL-1 β - e o antagonista IL-1Ra. A IL-1Ra inibe a ação inflamatória induzida pela IL-1 ao bloquear a ligação de IL-1 ao receptor tipo I da IL-1 (IL-1RI)⁴. IL-1Ra se expressa pelo gene IL1RN, que apresenta uma variação de comprimento dentro do intron 2⁵ causada por número variável de repetições em tandem (Variable Number of Tandem Repeats - VNTR) com 86 pares de bases (bp).⁶ De acordo com o número de repetições de 86 bp há seis alelos correspondentes às repetições 1, 2, 3, 4, 5, 6⁶⁻⁷. Os polimorfismos de nucleotídeo único (Single Nucleotide Polymorphisms - SNPs) foram determinados na posição promotora -511 C/T⁸ e no exon 5 na posição +3953 C/T do gene IL1B⁹. Considera-se que estes polimorfismos dos genes IL1RN e IL1B exerçam influência sobre a expressão gênica⁸⁻⁹.

Há vários relatos demonstrando a relação entre VNTR e SNPs nos genes da família IL1 e as doenças. Foi demonstrado que o genótipo 2/2 da IL1RN é significativamente associado com a doença coronariana em um único vaso (SVD) na população de Sheffield, na Inglaterra¹⁰. Foi observada grande importância entre o alelo 2 do IL1RN e a DAC em pacientes com diabetes tipo 2¹¹. O alelo 2 do IL1RN tem também um efeito protetor sobre a reestenose após angioplastia transluminal percutânea coronariana (PTCA)¹². Porém, nenhuma relação foi demonstrada entre os SNPs da IL1B e a DAC^{10,13}.

O objetivo deste estudo foi investigar a existência de relação entre polimorfismos nos genes IL1RN (VNTR) e IL1B (-511, +3953) e DAC na Turquia. Nossos resultados demonstraram que nem a distribuição genotípica dos SNP de IL1B (+3953) e nem de IL1B (-511), assim como a frequência de seus alelos, são suscetíveis à DAC. Porém, os portadores do genótipo IL1RN 2/2 podem ser suscetíveis à SVD na população turca.

Métodos

Sujeitos

A população do estudo foi selecionada entre pacientes que se submeteram à angiografia coronariana no Hospital Dr. Siyami Ersek entre 2003 e 2006. As indicações para arteriografia coronariana em nossa clínica seguem as indicações para angiografia coronariana¹⁴. De acordo com os resultados da angiografia coronariana,^{12,15} os participantes que apresentassem estenose $\geq 70\%$ em pelo menos uma

das grandes artérias coronárias eram considerados pacientes com DAC (n= 257); os demais que apresentassem estenose $\leq 30\%$ seriam aceitos como grupo normal (n= 170). O grupo DAC foi dividido em dois subgrupos: Doença coronariana em vaso único (SVD - n= 91) e Doença coronariana em múltiplos vasos (MVD - n= 166).

Avaliação do fator de risco

Dados sobre idade, sexo, história familiar de DAC, tabagismo, e história de hipertensão foram obtidos pelo preenchimento de um questionário. Peso, altura, pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) foram medidos. O índice de massa corpórea (IMC) foi calculado pelas medidas de peso e altura. A presença de Diabetes Mellito (DM) foi definida por níveis glicêmicos repetidos em jejum > 126 mg/dl, pelo uso de medicação antidiabetes ou ambos. Os níveis de colesterol total (TC), lipoproteínas de alta densidade (HDL) e lipoproteínas de baixa densidade (LDL) foram determinados por métodos enzimáticos, e também medidos por métodos enzimáticos após precipitação com sulfato de dextrano¹⁶. Todos os pacientes—inclusive o grupo controle – foram informados sobre o estudo, e todos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Genotipagem

Amostras de sangue foram colhidas de 427 participantes e mantidas em tubos com EDTA. O isolamento genômico de DNA foi feito usando-se o kit GENTRA DNA. Amplificamos a região VNTR no íntron 2 do gene IL1RN, do IL1B (-511) e do IL1B (nas regiões +3953 do exon 5 conforme descrito anteriormente)¹⁷. Os genótipos do gene IL1RN foram determinados pelo tamanho das unidades de repetição dos produtos da PCR. O genótipo de IL1B (-511) foi determinado com base no tamanho dos produtos de digestão da PCR com Aval, e o genótipo de IL1B (+3953) nos produtos de digestão com Taq I.

Análise estatística

Os testes χ^2 e U de Mann-Whitney foram utilizados para a comparação de dois grupos de sujeitos segundo os fatores de risco para DAC. As frequências dos alelos e dos genótipos entre casos e controles foram comparadas pelo modelo de Hardy-Weinberg usando a análise χ^2 . A análise de regressão logística multivariada foi utilizada para a avaliação da distribuição dos genótipos de IL1RN e IL1B nos grupos controle e de casos. Os resultados foram expressos por OR (odds ratio) e intervalo de confiança (IC) 95%. O modelo final foi ajustado para idade, sexo, história familiar de DAC, tabagismo e história de hipertensão. As frequências dos alelos e a distribuição dos genótipos entre os casos e os controles foram comparadas e os valores calculados pelo teste χ^2 . A probabilidade para valores de $p < 0,05$ (bicaudal) foi considerada estatisticamente significativa. O software SPSS 11.5 foi utilizado para a análise estatística.

Aprovação pelo comitê de ética

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade de Marmara na Turquia, e preserva todos os

direitos dos participantes. Todas as aprovações foram emitidas pelo Comitê de Ética.

Resultados

As características de referência para os grupos controle e DAC estão demonstrados na Tabela 1. Diferenças significativas entre DAC e controles com relação a sexo ($P = <0,001$), história familiar de DAC ($P = 0,014$), Diabetes ($P < 0,001$), história de hipertensão ($P = <0,001$) e tabagismo ($P = <0,001$) estão demonstradas na Tabela 1.

A distribuição genotípica e a frequência dos alelos de VNTR do IL1RN estão demonstrados na Tabela 2. Dos seis genótipos no gene de IL1RN quatro foram observados nos sujeitos com DAC e nos sujeitos controle. Entre estes genótipos, apenas IL1RN 2/2 apresentou diferença significativa entre os sujeitos com SVC e os sadios ($P = 0,016$, χ^2 : 10,289, 3 GL, OR: 2,94IC 95% 1,183-7,229). No entanto, nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada entre os dois controles e DAC ($P = 0,262$) e entre MVD e controles ($P = 0,257$). A distribuição genotípica entre SVD e MVD também se mostrou estatisticamente significativa ($P = 0,003$, χ^2 : 13,806, 3 GL, OR: 5,22IC 95% 1,995-14,195). Nenhuma relação foi identificada entre controles e casos para as frequências alélicas de IL1RN: DAC ($P = 0,211$), MVD ($P = 0,247$), SVD ($P = 0,423$); (Tabela 2).

A distribuição genotípica e a frequência dos alelos de IL1B (-511) nos grupos DAC, SVD, MVD e controle estão demonstradas na Tabela 3. O genótipo de IL1B -511 não demonstrou diferença significativa entre os grupos DAC e

Tabela 1 - Características básicas para os grupos controle e DAC na população turca

	Controle (n= 170)	DAC (n= 257)
Idade (anos± DP)	51,4 ± 11,4	58,0 ± 11,07**
Sexo masculino (%)	53,5	72,4**
Altura (cm±DP)	167,3 ± 7,8	169,2 ± 7,0
Peso (kg± DP)	78,5 ± 10,4	78,8 ± 10,0
IMC (kg/ m ² ± DP)	27,1 ± 3,3	28,3 ± 4,6
História familiar de DAC (%)	34,7	46,7*
PAS (mmHg± DP)	132,3 ± 20,9	151,3 ± 24,4
PAD (mmHg±DP)	75,6 ± 12,6	86,5 ± 13,3
Hipertensão (%)	38,2	65**
Diabete (%)	11,7	32,7**
Tabagismo Nunca (%)	66,5	28,8
Anterior (%)	22,4	23
Atualmente(%)	11,2	48,2**
HDL (mg/dl ± DP)	45,8 ± 8,6	41,3 ± 8,4
LDL (mg/dl ± DP)	126,4 ± 33,1	133,7 ± 36,3
TC (mg/dl ± DP)	198,2 ± 41,3	203 ± 32,4

* $P < 0,05$ é considerado estatisticamente significativo, ** $P < 0,001$ é considerado estatisticamente muito significativo; IMC - Índice de Massa Corporal, HDL - Lipoproteínas de Alta Densidade, LDL - Lipoproteínas de Baixa Densidade, TC - Colesterol total ±DP - Desvio-Padrão

Tabela 2 - Distribuição de genótipos e frequência de alelos do polimorfismo VNTR de IL-1RN na população turca

IL1RN Genótipo	DAC (n ; %)	DAC + (n ; %)	SVD (n ; %)	MVD (n ; %)
1/1	94 (55,3)	125 (48,6)	50 (54,9)	75 (45,2)
1/2	56 (32,9)	84 (32,7)	19 (20,9)	65 (39,2)
1/3	11 (6,5)	25 (9,7)	8 (8,8)	17 (10,2)
2/2	9 (5,3)	23 (8,9)	14 (15,4)	9 (5,4)
P vs DAC	--	0,262	0,016*	0,257
P vs MVD	--	--	--	0,003*
IL1RN Alelos				
IL1RN 1	0,750	0,698	0,698	0,699
IL1RN 2	0,218	0,253	0,258	0,250
IL1RN 3	0,032	0,049	0,044	0,051
P vs DAC		0,211	0,423	0,247
P vs MVD				0,924

Os genótipos são expressos como número de pacientes (proporção em % entre parênteses); os valores de p foram obtidos pelo teste qui-quadrado.

Tabela 3 - Distribuição de genótipos e frequência de alelos dos polimorfismos SNP de IL1B (-511) nos grupos DAC, SVD, MVD e controle na população turca.

IL1B (-511) Genótipo	DAC (n ; %)	DAC + (n ; %)	SVD (n ; %)	MVD (n ; %)
1/1	51 (30,0)	75 (29,2)	30 (33)	45 (27,1)
1/2	74 (43,5)	130 (50,6)	41 (45,1)	89 (53,6)
2/2	45 (26,5)	52 (20,2)	20 (22)	32 (19,3)
P vs DAC		0,242	0,712	0,142
P vs MVD				0,416
IL1B (-511) Alelos				
IL1B 1	0,518	0,545	0,555	0,539
IL1B 2	0,482	0,455	0,445	0,461
P vs DAC		0,442	0,462	0,589
P vs MVD				0,781

Os genótipos são expressos como número de pacientes (proporção em % entre parênteses); os valores de p foram obtidos pelo teste qui-quadrado.

controle ($P = 0,242$), SVD e controle ($P = 0,712$) e MVD e controle ($P = 0,142$). Da mesma forma, não foram observadas diferenças significativas na distribuição alélica entre os controles e DAC ($P = 0,442$), SVD ($P = 0,098$), e MVD ($P = 0,142$) (Tabela 3).

A distribuição dos genótipos e a frequência de alelos de IL1B +3953 nos grupos DAC, SVD, MVD e controle estão demonstradas na Tabela 4. Quando o genótipo de IL1B +3953 foi comparado entre os grupos, não se observou diferença

Artigo Original

Tabela 4 - Distribuição de genótipos e frequência de alelos dos polimorfismos SNP de IL-1B (+3953) nos grupos DAC, SVD, MVD e controle na população turca

IL1B (+3953) Genótipo	DAC (n : %)	DAC + (n : %)	SVD (n : %)	MVD (n : %)
1/1	93 (54,7)	151 (58,8)	52 (57,1)	99 (59,6)
1/2	68 (40)	91 (35,4)	35 (38,5)	56 (33,7)
2/2	9 (5,3)	15 (5,8)	4 (4,4)	11 (6,6)
P vs DAC		0,629	0,907	0,472
P vs MVD				0,627
IL1B (+3953) Alelos				
IL1B 1	0,747	0,765	0,764	0,765
IL1B 2	0,253	0,235	0,236	0,235
P vs DAC		0,569	0,750	0,591
P vs MVD				0,973

Os genótipos são expressos como número de pacientes (proporção em % entre parênteses); os valores de p foram obtidos pelo teste qui-quadrado.

significante entre os grupos controle e DAC (P= 0,629), SVD (P= 0,907) e MVD (P= 0,472). Da mesma forma, não foram observadas diferenças significantes na distribuição de alelos entre os controles e DAC (P= 0,569), SVD (P= 0,750), e MVD (P= 0,591) (Tabela 4).

Observou-se que a homozigose para o alelo IL1RN 2 é significativa entre SVD e grupos controle (χ^2 : 7,510, P= 0,010, OR: 3,253, IC 95%: 1,349-7,844). Esta associação, no entanto, não é identificada em heterozigotos para o alelo IL1RN 2 (P=0,757). (Tabela 5). Uma associação significativa foi ainda encontrada em homozigotos para o alelo IL1RN 2 entre os grupos MVD e SVD (χ^2 : 7,160, P= 0,011, OR: 2,838, IC 95%: 1,278-6,299); (Tabela 5). Além disso, o efeito relativo do polimorfismo da família IL1 sobre o risco de DAC não pôde ser observado em modelo de regressão logística múltipla incluindo os efeitos dominantes, recessivos e co-dominantes (Tabela 6).

Discussão

A DAC é a maior causa de mortalidade e morbidade nos Estados Unidos, nos países europeus, e também na Turquia¹⁸. A etiologia e os processos de desenvolvimento da DAC não

Tabela 5 - Associação dose gênica-dependente entre o alelo IL-1RN 2 e DAC

Portador de IL1RN 2	Homozigoto		Heterozigoto	
	p	IC 95%	p	IC 95%
DAC vs DAC+	0,160	(0,793-3,999)	0,545	(0,775-1,713)
DAC vs MVD	0,959	(0,397-2,651)	0,268	(0,841-2,008)
DAC vs SVD	0,010 *	(1,349-7,844)	0,757	(0,542-1,558)
MVD vs SVD	0,011 *	(1,278-6,299)	0,234	(0,836- 2,391)

P < 0,05 é considerado estatisticamente significativo.

Tabela 6 - O modelo de regressão logística múltipla para avaliar os efeitos relativos dos polimorfismos sobre o risco de DAC

Polimorfismos IL1RN	β	EP	Exp (B)	p
Efeito dominante	0,156	0,236	1,168	0,509
Efeito recessivo	-0,069	0,469	0,933	0,883
Efeito co-dominante	-0,063	0,483	0,939	0,896
IL1 B (-511)				
Efeito dominante	0,126	0,249	1,134	0,615
Efeito recessivo	0,459	0,273	1,582	0,093
Efeito co-dominante	0,469	0,292	1,599	0,109
IL1B (+3953)				
Efeito dominante	-0,148	0,229	0,862	0,518
Efeito recessivo	-0,372	0,491	0,689	0,449
Efeito co-dominante	0,290	0,500	1,337	0,561

Modelo ajustado para idade, sexo, história familiar de DAC, tabagismo, e história de hipertensão.

são bem conhecidos; porém, já está demonstrado que tanto os processos inflamatórios quando a genética desempenham um papel importante na patogênese da aterosclerose². Muitos estudos epidemiológicos já investigaram a associação entre DAC e os polimorfismos de genes de citocinas inflamatórias¹⁹. Uma das citocinas pró-inflamatórias candidatas associadas à susceptibilidade de DAC é a IL-1 β , que afeta a maioria das células e está envolvida em casos de imunidade, sepse, infecção e inflamação. Opostamente, a IL-1Ra age como um agente anti-inflamatório que inibe a ação de IL-1²⁰.

Francis e cols.¹⁰ identificaram a associação entre o genótipo IL-1RN 2/2 e SVD na população caucasiana de Sheffield, no Reino Unido, mas não na população londrina. Nenhuma diferença significativa foi observada para MVD em nenhum dos grupos populacionais¹⁰. Outros relatos tampouco encontraram significância estatística entre o alelo IL1RN 2 e SVD ou entre o alelo IL1RN 2 e CAD^{21,13}. Além disso, foi relatado anteriormente que o alelo IL1RN 2 mantém associação significativa com DAC em pacientes com diabetes do tipo 2¹¹. O alelo IL1RN 2 tem, ainda, um efeito protetor sobre a reestenose após PTCA¹² e há relatos da associação entre a presença de IL1RN 2 e aterosclerose da carótida²². Foi também relatado que o risco de futuro infarto de miocárdio aumentou com o alelo IL1RN 2 e altos níveis de PCR em pacientes jovens²³. Em nosso estudo, observamos uma associação entre SVD e o genótipo IL1RN 2/2 ($P = 0,016$, OR: 2,94IC 95% 1,183-7,229); porém, nenhuma associação estatística entre os alelos IL1RN e DAC ($P = 0,211$) ou MVD ($P = 0,247$) ou SVD ($P = 0,423$). Além disso, a análise da distribuição genotípica indicou que os homozigotos portadores de IL1RN2 apresentavam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos SVD e controle (χ^2 : 7,510, $P = 0,010$, OR: 3,253, IC 95%: 1,349-7,844). Indivíduos homozigotos para o alelo IL1RN 2 têm probabilidade 3,25 vezes maior para apresentar SVD do que indivíduos portadores dos outros genótipos. **No entanto, a heterozigose para IL1RN 2 não demonstrou a mesma associação ($P = 0,757$).** Os homozigotos para IL1RN 2 demonstraram diferença significativa entre os grupos MVD e SVD (χ^2 : 7,160, $P = 0,011$, OR: 2,838, IC 95%: 1,278-6,299). Indivíduos com alelo IL1RN 2 em homozigose têm probabilidade 2,83 vezes maior para SVD do que para MVD. No entanto, a heterozigose na expressão de IL1RN 2 não demonstrou a mesma associação ($P = 0,234$; Tabela 5). Além disso, não encontramos nenhuma influência estatisticamente significativa nos polimorfismos da família IL1 (efeitos dominantes, recessivos e co-dominantes) sobre o risco para DAC (Tabela 6). Muito embora os polimorfismos da família IL1 não tenham demonstrado efeito direto com relação à DAC, podem modular alguns dos processos para o desenvolvimento da DAC.

Parece haver um equilíbrio entre a IL-1 e a proteína IL-1Ra, exceto no caso de doenças autoimunes²⁴. Os resultados referentes à função do alelo IL1RN 2 na expressão de IL-1Ra são controversos. Já foi relatado que o alelo IL1RN 2 está associado a níveis aumentados de IL-1Ra in vitro,²⁵⁻²⁷ a níveis reduzidos na colite ulcerativa, mas a níveis semelhantes para doenças intestinais inflamatórias em pacientes sul-africanos²⁸. Estes resultados implicam que o papel do polimorfismo de IL1RN 2 ao afetar a expressão da proteína IL-1Ra depende

do tipo de célula e da origem étnica.

Foi sugerido anteriormente que a IL-1 β pode desempenhar um papel importante na patogênese da aterosclerose pelo estímulo das células do músculo liso vascular. Foram também detectados níveis aumentados de mRNA para IL-1 β em placas ateroscleróticas²⁹. Os polimorfismos na expressão do gene IL-1B podem afetar a gravidade ou a susceptibilidade a diferentes doenças. Foram demonstrados dois importantes SNPs no gene IL1B: uma substituição C>T na posição -511 da região promotora e uma substituição C>T no exon 5 na posição +3953^{8,9}.

Resultados controversos e diferentes foram relatados para os efeitos do polimorfismo de IL1B (-511) sobre a produção de IL-1Ra e de IL-1 β : indivíduos com alelo 2 de IL1B (-511) apresentam níveis mais altos de IL-1Ra²⁶. A produção de IL-1 β induzida por LPS apresentou-se aumentada de 2 a 3 vezes por um alelo T na posição -511³⁰. Não se observou relação significativa entre os alelos -511 de IL1B e DAC^{10,13}. No entanto, Iacoviello e cols.³¹ indicaram que o genótipo de IL1B (-511) 1/1 (C/C) demonstrou estar associado ao IM em idade jovem³¹. Na mesma linha, Zhang e cols.³² relataram que o polimorfismo de IL1B (-511) se mostrou associado à severidade da doença coronariana na população chinesa³². No entanto, não detectamos nenhum risco de DAC relacionado ao polimorfismo de IL1B (-511) na população turca. Não foram observadas diferenças significantes nas frequências dos alelos 1 e 2 ou dos genótipos 1/1 e 2/2 de IL1B (-511) entre os grupos SVD e controle ou MVD e controle ou DAC e controle (Tabela 3).

Outro polimorfismo na expressão do gene de IL1B está localizado na posição +3953 no exon 5. Considera-se que influencie a expressão de IL-1 β . Resultados diferentes foram relatados sobre o efeito do alelo de IL1B (+3953) sobre a produção de proteína de IL-1 β . Alguns estudos demonstraram associação entre IL1B (+3953) e níveis plasmáticos aumentados de IL-1 β ^{9,30}. Outros, porém, não detectaram nenhum efeito sobre os níveis de IL-1³³⁻³⁵. Não há estudos disponíveis sobre a relação entre a DAC e o polimorfismo do gene de IL1B (+3953). Tampouco se registrou relação entre a frequência do alelo ou a distribuição do genótipo de IL1B (+3953) e DAC na população britânica¹⁰. A mesma ausência de relação entre DAC e o polimorfismo de IL1B (+3953) foi observada na população turca (Tabela 4).

O presente estudo demonstrou que homozigotos com o alelo 2 do gene IL-1RN podem estar sob fator de risco para SVD. Resultados controversos foram obtidos para a associação entre IL1RN 2 e DAC em estudos e locais diferentes, o que demonstra que a origem étnica e a localização geográfica desempenham um papel importante para que esta associação ocorra.

Agradecimentos

A presente pesquisa teve o apoio do Fundo de Pesquisa da Universidade Marmara e subvenção parcial do Hospital Americano na Turquia. Nossos agradecimentos ao Professor Philip E. Auron, do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Duquesne, pela revisão crítica do texto.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento

externas.

Vinculação Acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

Referências

1. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 320: 115-26.
2. Russell R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature.* 1993; 362: 801-8.
3. Saadeddin SM, Habbab MA, Ferns GA. Markers of inflammation and coronary artery disease. *Med Sci Monit.* 2002; 8: RA5-12.
4. Dinarello CA. Interleukin-1. *Cytokine & Growth Factors Rev.* 1997; 8: 253-65.
5. Steinkasserer A, Koelble K, Sim RB. Length variation within intron 2 of the human IL-1 receptor antagonist gene (IL-1RN). *Nucleic Acid Res.* 1991; 19: 5095.
6. Tarlow JK, Blakemore AI, Lennard A, Solari R, Huges HN, Steinkasserer A, et al. Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Hum Genet.* 1993; 91: 403-4.
7. Vamvakopoulos JE, Taylor CJ, Morris-Stiff GJ, Green C, Metcalfe S. The interleukin-1 receptor antagonist gene: a single-copy variant of the intron 2 variable number tandem repeat (VNTR) polymorphism. *Eur J Immunogenet.* 2002; 29: 337-40.
8. di Giovine FS, Takhsh E, Blakemore AI, Duff GW. Single base polymorphism at -511 in the human interleukin-1 beta gene (IL1 beta). *Hum Mol Genet.* 1992; 1 (6): 450.
9. Pociot F, Molvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J. A Taq I polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest.* 1992; 22 (6): 396-402.
10. Francis SE, Camp NJ, Dewberry RM, Gunn J, Syrris P, Carter ND, et al. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and coronary artery disease. *Circulation.* 1999; 99: 861-6.
11. Marculescu R, Endler G, Schillinger M, Iordanova N, Exner M, Hayden E, et al. Interleukin-1 receptor antagonist genotype is associated with coronary atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2002; 51: 3582-5.
12. Francis SE, Camp NJ, Burton AJ, Dewberry RM, Gunn J, Stephens-Lloyd A, et al. Interleukin 1 receptor antagonist gene polymorphism and restenosis after coronary angioplasty. *Heart.* 2001; 86: 336-40.
13. Vohnout B, Di Castelnuovo A, Trotta R, D'Orazi A, Panniteri G, Montali A, et al. IL-1 gene cluster polymorphisms and risk of coronary artery disease. *Haematologica.* 2003; 88: 54-60.
14. Scanlon PJ, Faxon DP, Audet AM, Carabello B, Dehmer GJ, Eagle KA, et al. ACC/AHA guidelines for coronary angiography: a report of the American College of Cardiology / AHA. Task Force on practice guidelines (Committee on Coronary Angiography). Developed in collaboration with the Society for Cardiac Angiography and Interventions. *J Am Coll Cardiol.* 1999; 33: 1756-824.
15. Deligonul U. Coronary angiography as a prognostic tool. *Anadolu Kardiyol Derg.* 2001; 3: 189-96.
16. Friedewald WT, Levi RI, Fredrickson DJ. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972; 18: 499-502.
17. Arman A, Yilmaz B, Coker A, Inanc N, Direskeneli H. Interleukin-1 receptor antagonist (IL-1RN) and interleukin-1B gene polymorphisms in Turkish patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2006; 24 (6): 643-8.
18. Onat A. Risk factors and cardiovascular disease in Turkey. *Atherosclerosis.* 2001; 156: 1-10.
19. Andreotti F, Porto I, Crea F, Maseri A. Inflammatory gene polymorphisms and ischaemic heart disease: review of population association studies. *Heart.* 2002; 87: 107-12.
20. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest.* 2000; 118: 503-8.
21. Zee RY, Lunze K, Lindpaintner K, Ridker PM. A prospective evaluation of the interleukin-1 receptor antagonist intron 2 gene polymorphism and the risk of myocardial infarction. *Thromb Haemost.* 2001; 86: 1141-3.
22. Worrall BB, Azhar S, Nyquist PA, Ackerman RH, Hamm TL, DeGraba TJ. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms in carotid atherosclerosis. *Stroke.* 2003; 34: 790-3.
23. Manzoli A, Androtti F, Varlotta C, Mollicelli N, Verde M, Van de Greed W, et al. Allelic polymorphism of the IL-1Ra gene in patients with acute or stable presentation of ischaemic heart disease. *Cardiologia.* 1999; 44: 825-30.
24. Arend WP. The balance between IL-1 and IL-1 Ra in disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2002; 13: 323-40.
25. Danis VA, Millington M, Hyland VJ, Grennan D. Cytokine production by normal human monocytes: inter-subject variation and relationship to an IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphism. *Clin Exp Immunol.* 1995; 99: 303-10.
26. Hurme M, Santtila S. IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) plasma levels are co-ordinately regulated by both IL-1Ra and IL-1beta genes. *Eur J Immunol.* 1998; 28 (8): 2598-602.
27. Tountas NA, Casini-Raggi V, Yang H, di Giovine FS, Vecchi M, Melani L, et al. Functional and ethnic association of allele 2 of the interleukin-1 receptor antagonist gene in ulcerative colitis. *Gastroenterology.* 1999; 117: 806-13.
28. Mwantembe O, Gaillard MC, Barkhuizen M, Pillay V, Berry SD, Dewar JB, et al. Ethnic differences in allelic association of the interleukin-1 gene cluster in South African patients with inflammatory disease and in control individuals. *Immunogenetics.* 2001; 52: 249-54.
29. Offner FA, Feichtinger H, Stadlmann S, Obrist P, Marth C, Klingler P, et al. Transforming growth factor-beta synthesis by human peritoneal mesothelial cells. *Am J Pathol.* 1996; 148 (5): 1679-88.
30. Hall SK, Perregaux DC, Gabel CA, Woodworth T, Durham LK, Huizinga TW, et al. Correlation of polymorphic variation in the promoter region of the interleukin-1 beta gene with secretion of interleukin-1 beta protein. *Arthritis Rheum.* 2004; 50 (6): 1976-83.
31. Iacoviello L, Donati MB, Gattone M. Possible different involvement of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism in coronary single vessel disease and myocardial infarction. *Circulation.* 2000; 101 (18): E193.
32. Zhang YM, Zhong LJ, He BX, Li WC, Nie J, Wang X, et al. The correlation between polymorphism at position -511C/T in the promoter region of interleukin 1B and the severity of coronary heart disease: *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 2006; 23 (1): 86-8.
33. Camargo JF, Correa PA, Castiblanco J, Anaya JM. Interleukin-1beta polymorphisms in Colombian patients with autoimmune rheumatic diseases. *Genes Immun.* 2004; 5 (8): 609-14.
34. Dominici R, Malferrari G, Mariani C, Grimaldi L, Biunno I. The Interleukin 1-beta exonic (+3953) polymorphism does not alter in vitro protein secretion. *Exp Mol Pathol.* 2002; 73 (2): 139-41.
35. Buchs N, di Giovine FS, Silvestri T, Vannier E, Duff GW, Miossec P. IL-1B and IL-1Ra gene polymorphisms and disease severity in rheumatoid arthritis: interaction with their plasma levels. *Genes Immun.* 2001; 2 (4): 222-8.