

QUAL O PAPEL DO *TOLL-LIKE RECEPTOR* (TLR) NA INDUÇÃO DE LESÃO DE TUBA UTERINA NAS INFECÇÕES POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*?

WHAT IS THE ROLE OF *TOLL-LIKE RECEPTOR* (TLR) IN THE INDUCTION OF TUBAL DAMAGES CAUSED BY *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* INFECTION?

Rosiane AS Teles¹, Ana Carolina R Andrade², Angélica Maria HP Silva², Bruno HM Dias², Francisco Eugênio de Vasconcelos Filho², Paulo César Giraldo³, Ana Katherine S Gonçalves⁴, José Eleutério Júnior⁵

RESUMO

Introdução: a suscetibilidade à infecção por *C. trachomatis*, curso, complicações e resolução da doença depende do tipo da bactéria, de fatores ambientais e da genética do paciente. Entre as mulheres uma forma frequente da infecção é a endocervicite, que pode se complicar com salpingite com consequente lesão tubária. Acredita-se que as complicações a longo prazo desta infecção ocorrem via *heat shock protein* HSP 60 e *toll-like receptors* (TLR). **Objetivo:** realizar uma revisão sistemática de artigos publicados que estudaram as alterações tubárias geradas pela infecção por *Chlamydia trachomatis* e o papel dos TLR durante esse processo. **Métodos:** para realização dessa revisão, três revisores realizaram uma ampla pesquisa nas principais bases de dados científicas: Pubmed, Lilacs, Embase, Cochrane library, Highwire e Google Scholar. As palavras-chave utilizadas foram: *Chlamydia* ou *Chlamydia infections* ou *Chlamydia trachomatis* e *toll like receptors* ou *toll-like receptor* ou *receptor*, *toll-like*, e *fallopian tube diseases* ou *tubal obstruction* ou *tubal occlusion*. Trabalhos em português, inglês e espanhol foram incluídos e excluídos: trabalho de revisão de literatura, estudos publicados em outras línguas e estudos sem desenho experimental definido. A avaliação foi realizada conforme recomendação da Associação Médica Brasileira. **Resultados:** entre janeiro de 2000 e junho de 2012 foram encontrados 536 artigos, dos quais 11 preencheram critérios de inclusão. Após avaliação qualitativa, foram selecionados seis estudos. Entre os resultados encontrados temos que em ratos *knockout* a deficiência de TLR2 esteve associada a menor risco de lesão tubária. Um outro modelo experimental em ratos demonstrou que a ativação do IFN-beta e do IP-10 durante a infecção por *C. trachomatis* é independente de TLR2 e de TLR4, mas dependente de MyD88. Ao se utilizar uma integração entre modelo experimental e clínico, evidenciou-se que TLR4 está associado à severidade, mas não à suscetibilidade a infecção. Já pesquisando em mulheres foram observadas expressões aumentadas de TLR2 e NFκB no epitélio da tuba uterina, indicando o possível envolvimento no aumento de PROKR2, predispondo à gravidez tubária. Outro estudo mostrou que a presença de múltiplos SNPs em múltiplos genes dobrou o risco para patologia tubária em mulheres com anticorpo para *C. trachomatis*. Nesse mesmo contexto é considerado que variações genéticas no sistema imune podem ser impactantes na suscetibilidade e severidade da infecção genital por *C. trachomatis*. **Conclusão:** os estudos demonstram que há uma menor participação de TLR4 na fisiopatogênese da lesão tubária induzida pela *C. trachomatis*, ao passo que TLR2 teria um papel mais importante neste processo e dependente de variação genética no sistema imune.

Palavras-chave: *toll-like receptor*, *Chlamydia trachomatis*, doenças tubárias e obstrução tubária, DST

ABSTRACT

Introduction: the susceptibility, course, complications and outcome of *Chlamydia trachomatis* infection depends on the type of bacteria, environmental factors and host genetic factors. Among women, the most common infection is cervicitis that can be complicated by salpingitis leading to tubal damage. It is believed that long-term complications occur via HSP 60 and toll-like receptors. **Objective:** to conduct a systematic review of published articles that studied tubal alterations caused by *Chlamydia trachomatis* infection and the role of toll like receptors during this process. **Methods:** to perform this review, three reviewers conducted extensive research in major scientific databases: PubMed, Lilacs, Embase, Cochrane library, Google Scholar and Highwire. The keywords used were: *Chlamydia* or *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia infections* or toll like receptors and toll-like receptor or receptor, toll-like diseases fallopian tube occlusion or tubal obstruction or tubal. Studies in English, Portuguese and Spanish were included. Studies excluded: literature review, studies published in other languages and studies without experimental design set. The evaluation was performed as recommended by the Brazilian Medical Association (from 2000 to 2012). **Results:** we found 536 articles, of which 11 were included in this study. After a qualitative assessment, we selected six articles. In our research we found that TLR2 knockout mice were associated with tubal pathology protection. Another experimental model using mice, demonstrate that IFN-beta and IP-10 activation during *C. trachomatis* infection are not TLR2 and TLR4 dependent, but MyD88 dependent. An integration between a clinical and an experimental model showed that TLR4 is associated to severity but not to susceptibility to *C. trachomatis* infection. In women it was observed increased expressions in TLR4 and NFκB in the tubal epithelium, indicating a possible involvement in the increased PROKR-2, which predisposes to ectopic pregnancy. Another study showed that the presence of SNPs in multiple genes doubled the risk of tubal pathology in *C. trachomatis* infected women. Finally, it is believed that genetic variations in the immune system might have an impact in the susceptibility and severity to the genital infection by *C. trachomatis*. **Conclusion:** these studies showed a minor involvement of TLR4 in the pathogenesis of tubal damage induced by *C. trachomatis*, while TLR2 have a major role in this process and it is dependent of the immune system genetic variations.

Keywords: toll-like receptor, *Chlamydia trachomatis*, fallopian tube diseases and tubal obstruction, STD

INTRODUÇÃO

Chlamydia trachomatis (CT) é uma bactéria Gram-negativa intracelular obrigatória que infecta principalmente células epiteliais colunares, causando doenças genitais, oculares e respiratórias.

Pode ser dos tipos A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, sendo os sorotipos A ao C responsáveis pela doença tracoma e os D ao K responsáveis por doenças do trato genital^(1,2).

A infecção do trato genital por este patógeno é a doença bacteriana sexualmente transmissível mais prevalente no mundo⁽³⁾, sendo muito comum em países desenvolvidos como EUA, Inglaterra, Japão, Alemanha e França⁽⁴⁾.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que a ocorrência de infecções por clamídia, na população sexualmente ativa, é de 1.967.200 casos por ano⁽⁵⁾. No Brasil, há poucos dados sobre a prevalência dessa infecção.

¹ Mestranda pelo Departamento de Patologia da Universidade Federal do Ceará – UFC.

² Acadêmico de Medicina da Universidade Federal do Ceará – UFC.

³ Professor titular da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP.

⁴ Professora associada da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN.

⁵ Professor adjunto da Universidade Federal do Ceará – UFC.

A suscetibilidade à infecção por *C. trachomatis*, o curso, as complicações e resolução da doença dependem do tipo da bactéria, de fatores ambientais e da genética do paciente⁽⁶⁾.

A CT é capaz de produzir potenciais ligantes que ativam os componentes da imunidade inata, em especial os *toll-like receptors* (TLR)⁽²⁾, que são atores muito importantes na resposta imune natural a diversos microrganismos. São encontrados na superfície celular e em membranas intracelulares de diversas células, como macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, células epiteliais mucosas e células endoteliais⁽⁷⁾.

Quando o ligante se acopla a esses receptores, eles se dimerizam e mudam sua conformação, gerando uma cascata de sinalização que culminará na produção de citocinas inflamatórias.

São relatados dez tipos de TLR em humanos. Estes apresentam codificação genética, formas de ativação e cascatas de sinalização diferentes, gerando distintas respostas frente aos estímulos recebidos⁽⁸⁾.

Acredita-se que o TLR tipo 4 (TLR4) e o TLR tipo 2 (TLR2) participam do reconhecimento do ataque de bactérias Gram-negativas, já que o TLR4 parece reconhecer o lipopolissacarídeo (LPS), componente de membrana externa de bactérias Gram-negativas, e o TLR2 participa do reconhecimento de lipoproteínas e glicolipídios presentes em bactérias Gram-negativas, Gram-positivas e micoplasmas⁽⁸⁾.

As regiões mais afetadas pela *Chlamydia*, em mulheres, são o colo do útero e a uretra, podendo gerar endocervicite e disúria. Se não tratada rapidamente, a infecção endocervical pode atingir as trompas, culminando na doença inflamatória pélvica (DIP) e em aderências⁽⁹⁾. A DIP, em longo prazo, pode gerar complicações como: dor pélvica crônica, gravidez ectópica e infertilidade⁽¹⁰⁾. Acredita-se que 15 a 35% dos casos de infertilidade são devidos à lesão tubária, a qual está muito ligada à infecção por *Chlamydia trachomatis*⁽¹¹⁻¹³⁾.

OBJETIVO

O objetivo dessa revisão foi avaliar artigos publicados que estudaram as alterações tubárias geradas pela infecção por *Chlamydia trachomatis* e o papel dos TLR, durante esse processo.

MÉTODOS

Para realizar essa revisão sistemática foi feita uma ampla pesquisa na literatura científica utilizando bases de dados como: Pubmed, Lilacs, Embase, Cochrane library, Highwire e Google Scholar. Na pesquisa na mídia digital, foram utilizados termos como: *Chlamydia* ou *chlamydia infections* ou *Chlamydia trachomatis* e *toll-like receptors* ou *toll-like receptor* ou *receptor*; *toll-like e fallopian tube diseases* ou *tubal obstruction* ou *tubal occlusion*. Após avaliação criteriosa feita por três revisores, realizada conforme recomendação da Associação Médica Brasileira, foram incluídos trabalhos realizados entre os anos 2000 a 2012, em português, inglês e espanhol, sendo excluídos trabalhos de revisão de literatura, estudos publicados em outras línguas e estudos sem desenho experimental definido. Os artigos selecionados foram então avaliados por três revisores quanto à qualidade metodológica. Os artigos aprovados foram incluídos na pesquisa. Os artigos que apresentaram discordância foram avaliados por um quarto revisor para definição de sua inclusão ou exclusão.

RESULTADOS

Entre 2000 e 2012 foram encontrados 536 artigos, dos quais 11 preencheram os critérios de inclusão do estudo. Após avaliação qualitativa, foram selecionados seis estudos com grau de recomendação e força de evidência B, mas não foi possível realizar avaliação quantitativa dos mesmos devido à heterogeneidade dos dados (Figura 1).

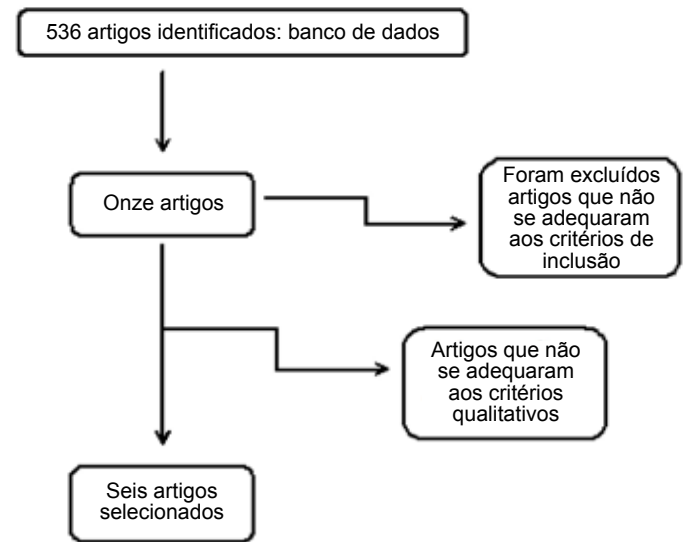


Figura 1 – Processo de seleção dos artigos.

Darville *et al.*, em experimentação com animais, avaliaram a função dos TLR2 e TLR4 na ativação de citocinas inflamatórias durante infecção por *C. trachomatis*. As ratas com deficiência no TLR2 tiveram diminuição na produção de *tumor necrosis factor-alfa* (TNF- α), *macrophage inflammatory protein-2* (MIP-2), *interleucina-6* (IL-6) e *interferon-gama* (IFN-gama), os dois primeiros com redução estatisticamente significativa. Em contrapartida, ratas deficientes para TLR4 tiveram um aumento inesperado nos níveis dessas citocinas quando analisadas *in vitro*, mas não *in vivo*. Assim, a deficiência de TLR4 parece estimular vias alternativas de outros TLRs para produção dessas citocinas. A produção mais significativa de citocinas só foi observada quando a infecção pela CT era ativa. Em todos os grupos, o curso da infecção foi o mesmo, mas, nos grupos com deficiência para o TLR2, a patologia de oviduto crônica foi marcadamente menor, aparecendo menos dilatação de oviduto, menos células de inflamação aguda, menor inflamação mesossalpingeal e menos fibrose que o controle. As ratas deficientes para o TLR4 não demonstraram diferenças em relação ao grupo-controle⁽¹⁴⁾.

Shaw *et al.*, estudando 38 pacientes com patologia ginecológica benigna submetidas a histerectomia, em que nenhuma paciente estava infectada por CT, 14 mulheres tiveram resultado positivo para infecção antiga por CT e 24 nunca tiveram infecção. Comparando os grupos, foi encontrada uma expressão maior de PROKR2 (receptor do PROK 2, que predispõe a gravidez ectópica) em pacientes com infecção prévia. O mecanismo pelo qual isso ocorre também foi proposto, visto que foram encontradas expressões aumentadas de TLR2 e NF κ B (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) no epitélio da tuba uterina, indicando o possível envolvimento dessas substâncias no aumento de PROKR2 e, conseqüentemente, predispondo à gravidez tubária⁽¹⁵⁾.

No estudo de Hartog *et al.* foi feita uma pesquisa com 227 pacientes com subfertilidade, em busca de possível patologia tubária causada por *C. trachomatis*. Um risco aumentado para desenvolvimento dessa patologia foi mostrado nos genótipos do TLR9, TLR4, CARD15/NOD2 (gene envolvido no processo de reconhecimento bacteriano pelos monócitos). A presença de múltiplos SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) em múltiplos genes dobrou o risco para patologia tubária em mulheres com anticorpo para CT em comparação ao grupo IgG negativo (73% e 33%, respectivamente), o que mostra uma tendência, apesar de não ser estatisticamente significativa, devido à amostra ser pequena⁽³⁾.

Karimi *et al.* estudaram 468 mulheres holandesas, das quais 147 apresentaram sorologia positiva ou teste de DNA positivo pra *C. trachomatis*. Este estudo mostrou que não existe diferença estatística em relação à distribuição genotípica do TLR2 entre os grupos estudados quando relacionamos com suscetibilidade e severidade da infecção pela CT. Entretanto, quando os polimorfismos foram combinados em haplótipos foi demonstrada a ação protetora dos polimorfismos do TLR2 contra o desenvolvimento de complicações após infecção bacteriana⁽¹⁶⁾.

Por sua vez, Hartog *et al.*, em outro estudo, fizeram uma integração entre modelo clínico e experimental, em um estudo com 614 mulheres para analisar a suscetibilidade da infecção por *C. trachomatis* e 259 pacientes participaram do estudo para avaliar a subfertilidade em mulheres com patologia tubária decorrente da infecção. Para o modelo experimental foram utilizadas ratas *knockout* para TLR4 e ratas normais, em que ambos os grupos foram infectados e reinfectados. Ambos os modelos demonstraram que o TLR4 está associado à severidade da infecção, mas não à suscetibilidade, desempenhando um papel modesto no reconhecimento da *C. trachomatis*⁽⁶⁾.

No estudo de Nagarajan *et al.* foi usado um modelo experimental em ratos, no qual mostrou a ativação do IFN-beta (interferon-beta) e do IP-10 (*inducible protein 10*) durante a infecção por *C. trachomatis* independentemente de TLR2 e de TLR4, mas altamente dependente de MyD88 (*myeloid differentiation primary response protein*). Ainda nos ratos deficientes para MyD88 foi demonstrado que a taxa para eliminação do patógeno se encontrava reduzida, quando comparada com o controle ou com ratos com deficiência de TLR2 e TLR4. Segundo esse estudo a expressão de IP-10 é regulada por IFN tipos 1 e 2⁽¹⁷⁾.

CONCLUSÃO

Podemos inferir com esse estudo que entre os diversos TLRs encontrados no organismo, os que mais podem ser implicados nas complicações pela infecção por CT são os TLR2 e TLR4.

O TLR2 está mais relacionado a complicações devido à estimulação exagerada, levando a uma produção maior de citocinas inflamatórias. Já o TLR4 aparentemente exerce um papel modesto na estimulação da imunidade inata durante a infecção por CT.

Entender as consequências imunológicas de uma infecção genital por CT serve como base para estímulo de mais pesquisas que comprovem o papel de cada receptor neste processo.

A heterogeneidade dos estudos que abordam este assunto é fator limitante para melhores conclusões, sugerindo a necessidade de um mais amplo estudo.

Conflito de interesses

Não há conflito de interesses a declarar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- O'Connell CM, Ionova IA, Quayle AJ, Visintin A, Ingalls RR. Localization of TLR2 and MyD88 to *Chlamydia trachomatis* inclusions. The Journal of biological chemistry. 2006;281(3):1652-1659.
- Bas S, Neff L, Vuillet M et al. The proinflammatory cytokine response to *Chlamydia trachomatis* elementary bodies in human macrophages is partly mediated by a lipoprotein, the macrophage infectivity potentiator, through TLR2/TLR1/TLR6 and CD14. J Immunol. 2008;180:1158-1168.
- Hartog JE, Ouburg S, Land JA et al. Do host genetic traits in the bacterial sensing system play a role in the development of Chlamydia trachomatis-associated tubal pathology in subfertile women? BMC Infectious Diseases. 2006;6(122). Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/6/122> Acessado em: 2012 jul 5.
- Barr EL, Ouburg S, Igietseme JU et al. Host inflammatory response and development of complications of *Chlamydia trachomatis* genital infection in CCR5-deficient mice and subfertile women with the CCR5delta32 gene deletion. J Microbiol Immunol Infect. 2005;38: 244-254.
- Ministério da Saúde (Brasil). Doenças Sexualmente Transmissíveis. Dados e pesquisas. DST em números. DST no Brasil. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pagina/dst-no-brasil> Acessado em: 2012 jul 8.
- Hartog JE, Lyons JM, Ouburg S et al. TLR4 in *Chlamydia trachomatis* infections: knockout mice, STD patients and women with tubal factor subfertility. Drugs of today. 2009;45(Suppl. B):75-82.
- Abbas, AK, Lichtman, AH, Pillai S. Imunologia celular e molecular. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.
- Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll like receptors: critical proteins linking innate and acquired immune. Nature publishing group. 2001;2(8):675-680.
- Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted disease treatment guidelines. MMWR Recomm Rep. 2006;55(RR-11):1-94.
- Magriples U, Copel JA. Can risk factor assessment replace universal screening for gonorrhea and Chlamydia in the third trimester? AM J Perinatol. 2001;18(8):465-468.
- Keltz MD, Gera PS, Moustakis M. Chlamydia serology screening in infertility patients. Fertil Steril. 2006;85(3):752-754.
- Perquin DAM, Beersma MFC, Craen AJM, Helmerhorst FM. The value of Chlamydia trachomatis-specific IgG antibody testing and hysterosalpingography for predicting tubal pathology and occurrence of pregnancy. Fertil Steril. 2007;88(1):224-6.
- Akande VA, Hunt LP, Cahill DJ et al. Tubal damage in infertile women: prediction using chlamydia serology. Hum Reprod. 2003;18(9):1841-1847.
- Darville T, O'Neill JM, Andrews CW et al. Toll-like receptor-2, but not toll-like receptor-4, is essential for development of oviduct pathology in chlamydial genital tract infection. J Immunol. 2003;171:6187-6197.
- Shaw JLY, Wills, GS, Lee K, Horner PJ et al. Chlamydia trachomatis infection increases fallopian tube PROKR2 via TLR2 and NFκB activation resulting in a microenvironment predisposed to ectopic pregnancy. The American Journal of Pathology. 2011;178(1):253-260.
- Karimi O, Ouburg S, Vries HJC et al. TLR2 Haplotypes in the susceptibility to and severity of *Chlamydia trachomatis* infections in dutch women. Drugs of today. 2009;45(Suppl. B):67-74.
- Nagarajan UM, Ojcius DM, Stahl L et al. *Chlamydia trachomatis* induces expression of IFN-γ-inducible protein 10 and IFN-β independent of TLR2 and TLR4, but largely dependent of MyD88. J Immunol. 2005;175:450-460.

Endereço para correspondência:

ANGÉLICA MARIA HOLANDA PASCOAL DA SILVA

Rua: Ana Neri nº 175 apto. 502, Bairro Jardim Meireles, Fortaleza, CE. CEP: 60416-020

Fone: (+5588) 9969-0691

E-mail: angelicahpascoal@gmail.com

Recebido em: 08.10.2012

Aprovado em: 22.12.2012