

PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO G20210A DO GENE DO FATOR II DA COAGULAÇÃO EM IDOSOS DO MUNICÍPIO DE PARNAÍBA (PI)

Edmar Alves de Ceia Junior (bolsista do PIBIC/CNPq), Pablo Nunes Costa (bolsista do PIBIC/UFPI), Ari Pereira de Araújo Neto (bolsista do PIBIC/CNPq), Catarina Louise Azevedo Visgueira de Sousa (colaboradora, UFPI), France Keiko Nascimento Yoshioka (co-orientadora, Biomedicina-UFPI), Giovanny Rebouças Pinto (Orientador, Biomedicina-UFPI).

INTRODUÇÃO

Tromboembolismo venoso (TEV) é o termo utilizado genericamente para designar duas patologias que acometem o ser humano, portanto a mesma compreende a trombose venosa profunda (TVP) e a embolia pulmonar (EP), sendo esta última considerada sua consequência imediata mais grave. A incidência estimada para o TEV é de 0,6 casos por 1.000 habitantes/ano (Andrade et al., 2009). A TVP e a EP ainda constituem graves problemas de saúde pública, especialmente em idosos (Pereira et al., 2007). Segundo Guimarães et al. (2009) a predisposição elevada ao tromboembolismo devido à presença de fatores genéticos ou adquiridos é denominada trombofilia. Poort et al. (1996) identificaram a mutação G20210A no gene da protrombina (fator II da coagulação). Essa mutação pode gerar um quadro de hipertrombinemia, devido a um aumento de até 30% dos níveis plasmáticos de protrombina, levando ao aumento do risco de trombose. Este estudo contemplou estimar a prevalência da mutação G20210A no gene do fator II da coagulação que confere risco para o TEV em idosos do município de Parnaíba (PI) e comparar as frequências genotípicas e alélicas obtidas com as observadas em outras regiões do Brasil e do mundo.

METODOLOGIA

Foram obtidos, por meio de punção venosa em tubos a vácuo com EDTA, 4 mL de sangue periférico de 143 idosos, com 65 anos ou mais, residentes no município de Parnaíba (PI). Por meio do kit Wizard® (*Genomic DNA Purification Kit*, Promega) as amostras sanguíneas foram submetidas à extração do DNA de leucócitos de acordo com as recomendações do fabricante. A qualidade do DNA extraído foi avaliada em gel de agarose a 0,8%, corado com brometo de etídio e visualizado em transiluminador (Vilber Lourmat) à luz ultravioleta, após corrida em corrente elétrica de 150V. A análise foi realizada por meio da amplificação de um fragmento da região 3'-UTR da protrombina por reação em cadeia da polimerase (PCR), de acordo com o protocolo de Yoshioka et al. (2006), com modificações. Os *primers* utilizados para flanquear o fragmento foram desenhados por Poort et al. (1996) (Tabela 1). A reação envolveu 35 ciclos de amplificação com temperaturas de 95°C, 45 seg; 47°C, 1 min; e 72°C, 1 min, em cicladador de temperatura programável (PCR Sprint ThermoHybrid).

Tabela 1 – Seqüência dos *primers* para a amplificação do SNP do gene do Fator II da Coagulação.

Gene	Primer	Seqüência (5' – 3')	Tamanho (pb)	Produto PCR (pb)
FII	Senso	TCT AGA AAC AGT TGC CTG GC	20	345
	Antisenso	ATA GCA CTG GGA GCA TTG AAG C	22	

A detecção da mutação G20210A ocorreu através da digestão do DNA amplificado. A mutação G20210A, presença do alelo A, gera um sítio de clivagem para a enzima Hind III (New England Biolabs). O produto digerido foi separado e analisado em gel de poli-acrilamida a 10%, corado com prata, após corrida em corrente elétrica de 150V. A corrida do gel de poli-acrilamida ocorreu em cuba vertical utilizando um tampão TBE 1x (Tris, EDTA e ácido bórico).

As frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos estudados foram determinadas por simples contagem. Para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg, as distribuições genotípicas observadas e esperadas foram comparadas pelo teste do qui-quadrado. Foi adotado nível de significância de 5%. Para a análise dos dados foi utilizado o programa BioEstat 5.0.

RESULTADOS

No total foram genotipadas 143 amostras. Na Tabela 3 encontram-se distribuídas as frequências genotípicas e alélicas do locus *FII* G20210A. O locus estudado não se mostrou polimórfico, portanto o alelo mutante não foi encontrado na população em questão.

A comparação entre a frequência genotípica encontrada e esperada no locus, utilizando-se o método do qui-quadrado, revelou que a distribuição não apresentou diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%, percebendo-se então, que a população estudada se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Tabela 3 – Distribuição das frequências genotípica e alélica no locus *FII* G20210A.

Mutação	N	Normal	Heterozigoto	Homozigoto	f
<i>FII</i> G20210A	143	GG	GA	AA	A
		1,00	0,00	0,00	0,00

DISCUSSÃO

A mutação da protrombina confere, enquanto fator de risco genético, um aumento da probabilidade à ocorrência do TEV. Apesar de a literatura apresentar diversos trabalhos voltados ao estudo desse fator de risco genético, além dos adquiridos, dados referentes a indivíduos brasileiros e em especial do estado do Piauí são ainda escassos.

A mutação *FII* G20210A associada ao evento trombótico apresenta-se em altas frequências na população caucasóide e chega a ser rara ou ausente em negros, ameríndios e japoneses (Franco et al., 1998). Em nosso país classificar a população quanto à origem étnica, acaba por ser muito impreciso, uma vez que os brasileiros formam uma das nações mais heterogêneas do mundo.

Ehrenforth et al. (1999) encontraram uma frequência alélica de 0,010 da mutação *FII* G20210A em alemães, enquanto Angelopoulou et al. (2000) observaram uma frequência de 0,040 na população grega. Tal fato justifica-se devido a população amostral ser em sua maioria caucasóide. O presente estudo mostrou frequência de 0,00% para a mutação *FII* G20210A. Esses dados são

semelhantes aos publicados por Angchaisuksiri et al. (2000), o qual apresentou frequência de 0,001, tendo a população tailandesa como amostra e diferente dos achados de Yoshioka et al. (2006), que informaram uma frequência alélica de 0,008 em uma população miscigenada da região Norte do Brasil.

CONCLUSÃO

No presente estudo observou-se, portanto, ausência do alelo 20210A no gene da protrombina na população parnaibana, dado que sugere que, no que diz respeito a essa mutação, a mesma não está predisposta ao TEV.

Cumprе ressaltar que o presente estudo representa um dado epidemiológico importante para o estado do Piauí, e que novos estudos com um número mais significativo de indivíduos faz-se necessário.

Palavras-chave: Tromboembolismo venoso. Mutação G20210A da protrombina. Prevalência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angchaisuksiri, P. et al. Prevalence of the G1691A mutation in the factor V gene (factor V Leiden) and the G20210A prothrombin gene mutation in the Thai population. *American Journal of Hematology*, 65 (2): 104-7, Apr 2000.
- Angelopoulou, K. et al. Prevalence of genetic mutation that predispose to thrombophilia in a Greek Cypriot population. *Clinical and Applied Thrombosis-Hemostasis*, 6 (2): 104-7, Apr 2000.
- Andrade, E.O. et al. Fatores de risco e profilaxia para tromboembolismo venoso em hospitais da cidade de Manuas. *J Bras Pneumol*. 2009; 35(2): 114-121.
- Ehrenforth, S. et al. Study of Protrombin Gene 20210 GA Variant in FV: Q⁵⁰⁶ Carriers in Relationship to the presence or Absence of Venous Thromboembolism. *Atherosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 19: 276-280, 1999.
- Franco, R.F. et al. Prevalence of the G20210A Polymorphism in the 3'-Untranslated Region of the Prothrombin Gene in Different Human Populations. *Acta Haematologica*, 100: 9-12, 1998.
- Guimarães, S.P. et al. Mutações predisponentes à trombofilia em indivíduos de Minas Gerais – Brasil com suspeita clínica de trombose. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*. 2009;31(1):19-24.
- Poort, S.R. et al. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood*, 88: 3698, 1996.
- Pereira, C.A. et al. Profilaxia da trombose venosa profunda: aplicação prática e conhecimento teórico em um hospital geral. *J Vasc Bras* 2008, Vol. 7, No 1.
- Yoshioka, F.K.N., Araújo A.G, Tavella M.H, Hamoy I.G, Guerreiro J.F. Prevalence of hereditary risk factors for thrombophilia in Belém, Brazilian Amazon. *Genet Mol Biol*. 29(1):38-40, 2006.