

PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO G1691A DO GENE DO FATOR V DA COAGULAÇÃO EM IDOSOS DO MUNICÍPIO DE PARNAÍBA (PI)

Pablo Nunes Costa (bolsista do PIBIC/UFPI), Catarina Louise Azevedo Visgueira de Sousa (ICV/UFPI), Ari Pereira de Araújo Neto (bolsista IC/CNPQ), France Keiko Nascimento Yoshioka (co-orientadora, Curso de Biomedicina - UFPI), Giovanny Rebouças Pinto (Orientador, Curso de Biomedicina - UFPI).

INTRODUÇÃO

A trombose é uma doença multifatorial causada pela formação de trombos que acomete artérias e/ou veias (Franco, 2001). Quando essa patologia acomete as veias é denominado tromboembolismo venoso (TEV), afetando preferencialmente veias profundas dos membros inferiores causando a trombose venosa profunda (TVP), e quando se desprende e ganha à circulação tem como principal complicação a obstrução da árvore respiratória causando a embolia pulmonar (Maffei et al., 2001). Sua causa é atribuída a três fatores primários, são eles: lesão endotelial, estase ou turbulência do fluxo sanguíneo e hipercoagulabilidade (tríade de Virchow). Sendo este último influenciado fortemente pela genética dos indivíduos. As trombofilias de base genética são as principais causas do TEV (Duque et al., 2003), logo a presença de mutações como no fator V, pode trazer grande risco à ocorrência do TEV. O objetivo do estudo foi determinar a frequência da mutação no gene do fator V, denominada de fator V de Leiden (FVL), em idosos do município de Parnaíba (PI) e comparar os resultados obtidos com os observados em outras regiões do Brasil e do mundo.

METODOLOGIA

O estudo foi realizado no período de agosto de 2009 a julho de 2010, com 177 idosos de ambos os sexos, com idade entre 65 e 92 anos. Foi coletado sangue periférico dos indivíduos com tubos a vácuo de 4 mL contendo EDTA, do qual foi extraído DNA através *kit Wizard® Genomic DNA Purification* (Promega), de acordo com as especificações do fabricante.

Os *primers* foram construídos a partir das seqüências genômicas das regiões polimórficas, dos genes em questão, obtidas no banco de dados de SNP (dbSNP) do NCBI (<http://www.ncbi.nih.gov/SNP>). As informações referentes ao SNP de interesse do gene do fator V foram acessadas no dbSNP, a partir da entrada do seu número de acesso rs6025 (FV G1691A). A Tabela 1 lista os *primers* construídos para a mutação de interesse, com os tamanhos dos seus respectivos produtos após a PCR.

Tabela 1 – Sequência dos *primers* para a amplificação do SNP de interesse no gene do fator V

Gene	Primer	Seqüência (5' – 3')	Tamanho (pb)	Produto PCR (pb)
FV	FV-F	GCC CAG TGC TTA ACA AGA CC	20	204
	FV-R	CCA TTA TTT AGC CAG GAG ACC	21	

Para análise do FVL foi utilizada a técnica de reação em cadeia da polimerase, seguida por tratamento com endonucleases de restrição (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphisms – PCR-RFLP*), como descrito em estudos prévios (Bertina et al., 1994; Yoshioka et al., 2006).

RESULTADOS

As frequências genótípicas e alélicas observadas nesse estudo estão distribuídas na Tabela 2. O *locus* investigado não se mostrou polimórfico, logo os alelos mutantes não estão presentes na população estudada.

A comparação entre as frequências genótípicas observadas e esperadas no *locus* por meio do qui-quadrado revelou que a distribuição não apresenta diferença estatisticamente significativa ao nível de 5%, logo a população está em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Tabela 2 – Distribuição das frequências genótípicas e alélicas no *locus* FVG1691A.

Mutação	N	Normal (GG)	Heterozigoto (GA)	Homozigoto (AA)	f (A)
FVG1691A	177	177 (1,0)	0	0	0

DISCUSSÃO

A análise da distribuição do FVL neste estudo revelou que a população estudada não apresentou o alelo polimórfico, resultado bem próximo do encontrado na população tailandesa (Angchaisuksiri et al., 2000). Outros estudos brasileiros também relatam uma baixa frequência do alelo A em diferentes populações. Yoshioka et al. (2006) informaram uma frequência de 0,016 do alelo A em uma população miscigenada da região norte, enquanto que Franco et al. (1999) relataram uma frequência de 0,015 em indivíduos de origem européia e de 0,003 para ameríndios e Souza et al. (1999) de 0,008 para uma população da região sudeste.

A prevalência da mutação FVL é relativamente comum, ocorrendo com frequências entre 1,3% e 6,9% em populações caucasóides. Assim espera-se de 2,6% a 13% de heterozigotos, com ascendência européia, enquanto que a frequência esperada em indivíduos homozigotos é de 1,7 em 10.000 a 4,8 em 1.000 nascimentos. A análise da distribuição do FVL neste estudo revelou que a população estudada não apresentou o alelo polimórfico, resultado bem próximo do encontrado na população tailandesa (Angchaisuksiri et al., 2000). Em outros estudos principalmente onde a população é predominantemente caucasóide houve um maior número de casos como a frequência do alelo A de 1,6%, que foi similar a encontrada em holandeses (Rosendaal et al., 1995), italianos (Pepe et al., 1997), argentinos (Adamczuck et al., 2000) e em indivíduos de origem européia que residem no Brasil (Franco et al., 1999). No entanto, a frequência observada deste trabalho é significativamente menor do que a frequência de 0,069 estimada por Angelopoulou et al. (2000) em gregos.

A miscigenação histórica da população brasileira reflete a diferença de frequência e distribuição regional de muitas doenças hereditárias comuns, entre elas pode-se citar o TEV, que tem a origem genética como o principal desencadeador da doença (Franco et al., 1999).

CONCLUSÃO

Uma vez que o *locus* investigado não se mostrou polimórfico na população estudada, nosso resultado nos permite concluir que, no que diz respeito ao FVL, a população de Parnaíba não apresenta risco da ocorrência de TEV.

Palavras-chave: Fator V de Leiden, Tromboembolismo venoso, Fatores de risco.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGCHAI SUKIRI, P., PINGSUTHIWONG, S., ARYUCHAI, K., BUSABARATANA, M., SUR, T., ATICHARTAKARN, V., SRITARA, P. 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.
- BERTINA, R.M., KOELEMAN, B.P., KOSTER, T., ROSENDAAL, F.R., DIRVEN, R.J., DE RONDE, H., VAN DER VELDEN, P.A., REITSMA, P.H. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature*, 369: 64-67. 1994.
- DUQUE, F.L.V., MELLO, N.A. Thrombogenesis – Thrombophilia. *J Vasc Br*, Vol. 2, Nº2, 2003.
- FRANCO RF, ELION J, SANTOS SEB, ARAÚJO AG, TAVELLA MH, ZAGO MA. Heterogeneous ethnic distribution of the factor V Leiden mutation. *Genet Mol Biol.*;22(2):143-5, 1999.
- FRANCO, RF. Trombofilias hereditárias. *Medicina*, Ribeirão Preto, 34: 248-257. 2001.
- MAFFEI FHAL. Tromboses Venosas. In: *Hematologia: Fundamentos e Prática*. ZAGO M.A.; FALCÃO R.P.; PASQUINI R. (eds.). São Paulo, Editora Atheneu. p. 855-878. 2001.
- FRANCO, RF., ELION, J., SANTOS, S.E B., ARAÚJO, A.G., TAVELLA, M.H., ZAGO, M.A. Heterogeneous Ethnic Distribution of Factor V Leiden Mutation. *Genetics and Molecular Biology*,22(2): 142-145, 1999.
- PEPE, G., RICKARDS, O., VANEGAS, O.GIUSTI, B., ATTANASIO, M., PRISCO, D., GENSINI, G.F., ABBATE, R. Prevalence of factor V Leiden mutation in non – European populations. *Thrombosis and Haemostasis*, 77 (2):329-31, Feb 1997.
- ROSENDAAL, F.R.,KOSTER, T., VANDENBROUCK, J.P., REITSMA, P.H. High risk of thrombosis in patients homozygous for Factor V Leiden (activated protein C resistance). *Blood*,85: 1505-1508, 1995.
- 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.