

ANÁLISE DE POLIMORFISMO CYS1367ARG DO GENE *WRN* NA POPULAÇÃO DE PARNAÍBA (PI)

Ricardo Teixeira de Sousa (bolsista ICV), Hygor Ferreira Fernandes (PIBIC/CNPQ), Ari Pereira de Araújo Neto (bolsista IC/CNPQ), Pablo Nunes Costa (bolsista do PIBIC/UFPI), Giovanny Rebouças Pinto (Orientador, Curso de Biomedicina - UFPI).

INTRODUÇÃO

O câncer é uma patologia multifatorial, resultante da interação de vários fatores genético e ambientais, existem várias vias em comum aos diversos tipos de câncer, como por exemplo, o papel desempenhado pela proteína p53.

Mutações em *TP53* estão presentes em mais da metade dos cânceres, sendo assim evidente a importância desta proteína na homeostase celular (LOPES, et al., 2008).

Comprovadamente, o gene *WRN* (RecQL2) possui um papel importante para que a proteína p53 atue de forma ideal, uma vez que a atividade desta proteína é prejudicada em células de pacientes com a Síndrome de Werner (SW) (SPILLARE et al., 1999).

O polimorfismo *WRN* Cys1367Arg está localizado a apenas 3 bases de uma importante região para a sinalização da localização nuclear desta proteína (MATSUMOTO, 1997), e é nessa região (C-terminal) que também acontece a interação das proteínas *WRN* e p53 (SPILLARE et al., 1999). Assim, mesmo não estando o gene *tp53* mutado, bastaria apenas a inatividade (ou diminuição da atividade) da proteína *WRN* para que houvesse a diminuição da atividade da p53, consequentemente levando, ou pelo menos predispondo ao risco de um processo neoplásico.

Assim, este estudo visou determinar a prevalência do polimorfismo *WRN* Cys1367Arg em uma amostra populacional do município de Parnaíba (PI), para que assim se possa estimar o risco de predisposição desta população ao cancer.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletado, por meio de punção venosa em tubos a vácuo com EDTA, 4 mL de sangue periférico de 104 idosos, sem distinção de cor, sexo ou classe social, no município de Parnaíba (PI), o DNA foi extraído a partir do *kit Wizard® Genomic DNA Purification* (Promega), seguindo o protocolo do fabricante.

Foram desenhados *primers* a partir da região de interesse que continha o polimorfismo *WRN* Cys1367Arg, obtidas no banco de dados SNP (dbSNP) do NCBI (<http://www.ncbi.nih.gov/SNP>). De posse da seqüência alvo, os *primers* foram construídos com o auxílio do programa *Gene Runner* (Versão 3.05, *Hasting Software, Inc.*).

A Tabela 1 lista os *primers* construídos para o SNP *WRN* Cys1367Arg, com o tamanho do seu respectivo *amplicon* após a PCR.

Tabela 1. Sequência dos *primers* para a amplificação do SNP de interesse no gene *WRN*.

Gene	Primer	Sequência (5' – 3')	Tamanho (pb)	Produto PCR (pb)
<i>WRN</i>	<i>WRN-F</i>	GAC ACG TAC CTT ATC CAC ATG G	22	152
	<i>WRN-R</i>	GAA CAG ATC TCT TCA GAA CCG	21	

A genotipagem foi feita utilizando marcadores PCR-RFLP, com digestão enzimática pela enzima *PmlI*, os fragmentos polimórficos foram visualizados em gel de poliacrilamida a 8% corado com prata. Assim, por simples contagem obteve-se as frequências genotípicas e alélicas. Para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg, as distribuições genotípicas observadas e esperadas foram comparadas pelo teste do Qui-quadrado.

RESULTADOS

Dos 104 indivíduos analisados 59 (56,7%) apresentaram genótipo selvagem (T/T), 42 (40,4%) o genótipo heterozigoto (T/C) e 3 (2,9%) homozigotos mutantes (C/C). A comparação entre as frequências genotípicas revelou que a distribuição se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg, uma vez que não houve diferença significativa ($p=0,580$) entre as frequências genotípicas esperadas e as observadas (Tabela 2).

Tabela 2. Resumo das frequências genotípicas observadas e esperadas, frequências alélicas e os valores de p encontrado.

Genótipo	Frequências N (%)		p
	Observadas	Esperadas	
T/T	59 (56,7)	61,6 (59,3)	0,580
T/C	42 (40,4)	36,8 (35,4)	
C/C	3 (2,9)	5,5 (5,3)	
Alelo			
T	101* (77,0)		
C	45* (23,0)		

* Número de indivíduos com aquele alelo observado.

DISCUSSÃO

Pelo fato do polimorfismo *WRN* Cys1367Arg está localizado próximo a essa região, e que é nessa região que ocorre a interação da proteína *WRN* com p53, o genótipo mutante

homozigoto para Arg na posição 1367 do gene WRN pode está associado ao risco aumentado de predisposição ao câncer pela diminuição da atividade da proteína p53 pela falta de interação com a proteína WRN.

A frequência do alelo mutante que codifica o aminoácido Arg é de 19,4% na população mundial; 5,4 a 12, 5% em asiáticos; 10,6 a 15% em africanos sub-saarianos e de 12 a 15% em afroamericanos, a frequência para esse mesmo alelo na população parnaibana é de 23%, um pouco acima de todas essas populações, inclusive a mundial.

A frequência do genótipo 1367Arg é 2,9% na população parnaibana, muito acima das populações asiáticas, afroamericanas e africana sub-saariana que obtiveram frequência 0% para esse mesmo genótipo.

CONCLUSÃO

De acordo com os dados obtidos, no que diz respeito ao SNP WRN Cys1367Arg, conclui-se que a população de Parnaíba pode apresentar risco aumentado para o desenvolvimento de cânceres. Entretanto, estudos de associação com os diferentes tipos de câncer são necessários para a elucidação do papel do polimorfismo na população parnaibana.

Palavras-chave: Câncer; WRN; Cys1367Arg; p53.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Lopes, A.; Iyeyasu, H.; Castro, Rosa Maria R. P. S. **ONCOLOGIA PARA GRADUAÇÃO**. Tecmedd. SP. 2.ed. 2008.

Matsumoto, T.; Shimamoto, A.; Goto, M.;Furuichi, Y. Impaired nuclear localization of defective DNA helicases in Werner's syndrome. **Nat Genet**. 16: 335–336, 1997.

Passarino, G.; Shen, P.; Van Kirk, J.B.; Lin, A.A.; De Benedictis, G.; Cavalli Sforza, L.L.; Oefner, P.J.; Underhill, P.A.; The Werner syndrome gene and global sequence variation. **Genomics** 71, 118-122. 2001.

Spillare, E.A., Robles, A.I., Wang, X.W., Shen, J.C., Yu, C.E., Schellenberg, G.D. and Harris, C.C. p53-mediated apoptosis is attenuated in Werner syndrome cells. **Genes Dev.**, 13, 1355–1360. 1999.