

PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO NO GENE DE METABOLISMO DE XENOBIÓTICOS *GSTP1* EM UMA POPULAÇÃO DE ALCOOLISTAS DE PARNAÍBA (PI)

Deborah Sousa (Bolsista PIBIC/CNPq), Mônica Carvalho (Colaborador, UFPI), Fábio José Nascimento Motta (Colaborador, Colegiado de Biomedicina/ UFPI), Renata Canalle (Orientador, Colegiado de Biomedicina/UFPI)

Introdução

O organismo humano é exposto diariamente a centenas de xenobióticos como fármacos, álcool e poluentes do meio ambiente. Para a eliminação desses compostos o corpo possui enzimas específicas, presentes especialmente no fígado, que promovem a biotransformação facilitando a sua eliminação do corpo, como o gene *GSTP1* que dá origem à uma enzima da família da glutathione S-transferase (AGUIAR, 2009).

O levantamento bibliográfico não apontou qualquer estudo dos polimorfismos do gene proposto neste projeto na população do Nordeste, sobretudo na população Piauiense, o que torna este trabalho inédito e de relevância para o conhecimento da distribuição das frequências deste polimorfismo genético na população Piauiense.

Metodologia

O estudo foi realizado utilizando amostras de sangue periférico de pacientes alcoolistas atendidos no Centro de Apoio Psico Social – Álcool e outras drogas (CAPS-AD) localizado na Cidade de Parnaíba, estado do Piauí (PI). Foram utilizados como controles, voluntários coletados em vários locais da cidade, e também foram utilizadas amostras de DNA já existentes no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da UFPI no Campus Ministro Reis Veloso - CMRV, pertencentes aos estudos do Prof. Dr. Giovanni Rebouças Pinto. Todos os indivíduos foram esclarecidos dos objetivos da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para a participação como sujeitos do estudo.

Foi realizada extração de DNA a partir de sangue total dos alcoolistas e controles, utilizando o *kit* de extração de DNA (*Wizard*® *Genomic* – Promega), conforme especificações do protocolo fornecido pelo fabricante.

A reação em cadeia da polimerase (Polymerase Chain Reaction - PCR) e o polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP) *Bsmal* no gene *GSTP1*, foram obtidos de acordo com HARRIES et al. (1997). O par de “primers” *P105F* e *P105R* gera um produto de amplificação constante de 176 pb, referente ao genótipo homocigoto para o alelo selvagem (Ile/Ile), o qual não sofre ação da enzima *Bsmal*, originando uma banda não clivada. O genótipo homocigoto para o alelo mutante (Val/Val) possui um sítio para a enzima de restrição *Bsmal*, que cliva o produto da amplificação, gerando uma banda de 91 e outra de 85 pb, e o genótipo heterocigoto (Ile/Val) apresenta as três bandas: 176, 91 e 85 pb (Figura 1).

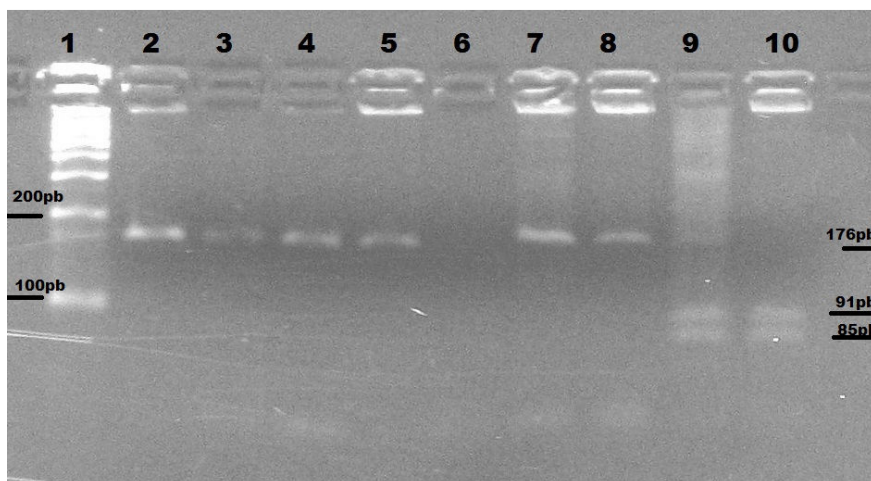


Figure 1 – PCR-RFLP do gene *GSTP1*. Em 1: Marcador de peso molecular (100 pb) ; 2,3,4,5,7 e 8: Ile/Ile; 9: Ile/Val; 10: Val/Val; 6: branco. Fotodocumentação em transluminador sob luz ultravioleta, do gel de agarose a 2% corado com GelRed (cores modificadas).

A análise estatística foi realizada pelo teste do qui-quadrado. Para a análise dos dados foi utilizado o programa GraphPrism 6.0. Por fim, para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg, as distribuições genotípicas observadas e esperadas foram comparadas pelo teste do qui-quadrado, mesmo teste utilizado para a comparação entre as frequências gênicas observadas neste estudo e as obtidas em outras populações.

Resultados e Discussão

Portanto, dos 224 indivíduos analisados, 153 (68,3%) eram homens e 71 (31,7%) eram mulheres, com idade variando entre 18 e 89 anos (média de 54 anos). Na população total de estudo (Alcoolistas e não alcoolistas) observou-se uma predominância do genótipo homocigoto selvagem Ile/Ile (89; 39,7%) e heterocigoto Ile/Val (93; 41,5%) sobre o genótipo homocigoto mutante Val/Val (42; 18,7%), quanto à frequência alélica observou-se a predominância do alelo Ile (0,605; 60,5%) (Tabela 1). A população em questão estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

O genótipo homocigoto para o alelo polimórfico (Val/Val) foi detectado em 16,5% em alcoolistas e 21,1% dos controles. Para o genótipo heterocigoto (Ile/Val) verificou-se que a frequência deste foi maior em alcoolistas (43,4%) comparado aos controles (39,4%), entretanto essas diferenças não foram estatisticamente significantes (Tabela 2). Ainda na tabela 2, as frequências alélicas para o alelo polimórfico (Val) foram 0,38 nos alcoolistas e 0,41 nos controles. Os dados mostram que não houve diferença significativa na frequência deste alelo ($p = 0,77$).

TABELA 1 – FREQUÊNCIA GENOTÍPICA, ALÉLICA E TESTE DO QUI-QUADRADO (χ^2) PARA A POPULAÇÃO TOTAL DO ESTUDO

POPULAÇÃO TOTAL DO ESTUDO			
N(%)			
Genótipos		Alelos	
Ile/Ile	89 (39,7%)	Ile	0,605 (60,5%)
Ile/Val	93 (41,5%)	Val	0,395 (39,5%)
Val/Val	42 (18,7%)		
Total	224		

TABELA 2 – DISTRIBUIÇÃO DAS FREQUÊNCIAS DO GENE *GSTP1* EM INDIVÍDUOS ALCOOLISTAS E CONTROLES

LOCUS	GENÓTIPO	NÚMERO (%)		OR(95% IC)	P
		ALCOOLISTAS	CONTROLES		
GSTP1	Ile/Ile	46/115 (40,0)	43/109 (39,4)	1,0 (referência)	-
(A313G)	Ile/Val	50/115 (43,5)	43/109 (39,4)	1,08 (0,60-1,94)	0,88
Bsmal	Val/Val	19/115 (16,5)	23/109 (21,2)	0,77 (0,37-1,68)	0,58
	Ile/Val+Val/Val	69/115 (60,0)	66/109 (57,4)	0,71 (0,34-1,48)	0,46
	Alelos				
	Ile	0,62	0,59	-	-
	Val	0,38	0,41	-	0,77

Quando comparamos o grupo controle com o grupo de alcoolistas não encontramos valores significativos nas diferenças das frequências, entretanto o intervalo de confiança aponta que novos estudos devem ser realizados utilizando uma maior amostra populacional para confirmar os resultados encontrados. A frequência populacional está coerente com o encontrado por DONGPING (2010) para uma população caucasiana. Existem alguns estudos que relacionam *GSTP1* com o aparecimento de alguns tipos de câncer como o de cabeça e pescoço (PARK, 2000).

Conclusão

O presente estudo não encontrou diferença significativa entre as populações controle e alcoolistas indicando que o gene *GSTP1* pode não estar relacionado com o surgimento do alcoolismo, mas isso não exclui a possibilidade de esse gene de metabolização de fase II ter alguma relação com o surgimento de doenças graves decorrentes do uso abusivo deste. Por isso sugere-se uma nova pesquisa que busque a análise correlacionando o uso de álcool e o desenvolvimento de doenças como doença do fígado e do pâncreas. O estudo ainda faz uma análise da frequência do gene na população piauiense o que fornece dados importantes ao governo para que sejam realizados programas específicos para a população de cada região do País já que o Brasil, devido à sua extensão territorial apresenta uma diversidade populacional elevada que varia de região para região, podendo ainda variar de estado para estado.

Apoio: CNPq, UFPI.

Referências

- AGUIAR, Ernestina Silva. **Fatores de risco para câncer de mama e polimorfismos nos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* em mulheres participantes de um programa de rastreamento mamográfico em Porto Alegre.** Dissertação (mestrado em Ciências Médicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2009.
- DOTTO BAU CH. **Estado atual e perspectivas de genética e epidemiologia do alcoolismo.** Ciência & Saúde Coletiva, v.7, n.1, p.183-90, 2002.
- GARCIA, S. M. N. **Genes de Metabolização do Álcool e o Risco de Câncer de Cabeça e Pescoço.** 85 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Palavras-chave: Alcoolismo, polimorfismo, *GSTP1*.