

Resumo de Tese / Thesis

## Polimorfismo nos genes metilenotetrahidrofolato redutase e cistationina-beta-sintase e a sua relação com eventos vaso-oclusivos na doença falciforme

### *Polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase and cystathionine-beta-synthase genes and their relationship to vaso-occlusive events in sickle cell disease*

Maza A. Jacob

Orientadora: Claudia Regina Bonini-Domingos

#### Resumo

A doença falciforme é uma condição inflamatória com fisiopatologia dependente de episódios vaso-oclusivos. Mutações nos genes metilenotetrahidrofolato redutase (*MTHFR*) e cistationina-beta-sintase (*CBS*), constituem fatores de risco para doenças vasculares. Diante da importância em se identificar fatores de risco para eventos vaso-oclusivos em doentes falciformes (DF), objetivamos avaliar a frequência das mutações C677T no gene *MTHFR* e 844ins68 no gene *CBS* nesses pacientes. Foram avaliados 300 indivíduos com HbSS, HbSC e HbS/Beta talassemia, provenientes de Brasília, Goiânia, Rio de Janeiro, São José do Rio Preto e São Paulo. Foram coletados 5mL de sangue venoso em EDTA, após consentimento informado. As metodologias clássicas foram realizadas para a confirmação do fenótipo de hemoglobina. As mutações para os genótipos de Hemoglobina e polimorfismos pesquisados foram avaliadas por Polimorfismo de Comprimento do Fragmento de Restrição e Alelo Específico. Os resultados mostraram que 93 pacientes (31,00%) foram heterozigotos e 13 (4,33%) homozigotos para a mutação C677T e 90 heterozigotos (30,00%) e 8 homozigotos (2,66%) para a mutação 844ins68, ambas com diferença significativa para as frequências genotípicas entre para as localidades. As frequências alélicas estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg para os dois polimorfismos. A frequência das mutações foi significativa e a presença de eventos vaso-oclusivos foi mais incidente nos pacientes com Hb SS ( $p=0,007$ ). A mutação 844ins68 foi aproximadamente três vezes mais frequente nos pacientes com presença de complicações vaso-oclusivas ( $p=0,011$ ). A mutação C677T não mostrou associação com o risco para manifestações vaso-oclusivas ( $p=0,193$ ). A interação C677T/844ins68 ocorreu em 12,08% dos DF e mostrou aumento de duas vezes no risco para manifestação vaso-oclusiva. Assim concluímos que as frequências das mutações estão de acordo com o esperado

para a população brasileira e que a presença da mutação 844ins68 no gene da *CBS* mostrou ser um potencial fator de risco para evento vaso-oclusivo nos DF avaliados

**Palavras-chave:** Doença falciforme; vaso-oclusão; polimorfismos; *MTHFR*; *CBS*.

#### Abstract

Sickle cell disease is an inflammatory condition with a pathophysiology that involves vaso-occlusive episodes. Mutations of the methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) and cystathionine beta-synthase (*CBS*) genes are risk factors for vascular disease. Due to the importance of identifying risk factors for vaso-occlusive events in sickle cell patients, we investigated the frequencies of the C677T and 844ins68 mutations of the *MTHFR* and *CBS* genes, respectively. Three hundred patients with Hb SS, Hb SC and HbS/Beta thalassemia, from Brasília, Goiânia, Rio de Janeiro, São Jose do Rio Preto and São Paulo were evaluated. Samples of 5 mL of venous blood were collected in EDTA after informed consent was received from patients. Classical diagnostic methods were used to confirm the hemoglobin phenotypes. The hemoglobin genotypes and polymorphisms studied were evaluated by Restriction Fragment Length Polymorphism and Allele Specific amplification. The results showed that 93 patients (31.00%) were heterozygous and 13 (4.33%) homozygous for the C677T mutation and 90 were heterozygotes (30.00%) and 8 homozygous (2.66%) for the 844ins68 mutation, both with significant differences for genotype frequency between the localities. The allelic frequencies are in Hardy-Weinberg equilibrium for both polymorphisms. The frequency of mutations was significant and the presence of related vaso-occlusive events was more common in patients with Hb SS

Resumo de dissertação para obtenção do título de Mestre em Genética, apresentada ao Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, Departamento de Biologia da Unesp – São Paulo-SP.

**Correspondência:** Maza Alves Jacob

LHGDH, Ibilce, Unesp

Rua Cristóvão Colombo, 2265 – Jardim Nazareth

15054-000 – São José do Rio Preto-SP

E-mail: mazajacob@hotmail.com

( $p = 0.007$ ). The 844ins68 mutation was approximately three times more frequent in patients with vaso-occlusive complications ( $p = 0.011$ ). The C677T mutation did not prove to be associated with risk of vaso-occlusive events ( $p = 0.193$ ). A C677T-844ins68 interaction occurred in 12.08% of the patients, doubling the risk of vaso-occlusive manifestations. The frequencies of the polymorphisms are consistent with those expected in the Brazilian population. The presence of the 844ins68 mutation of the CBS gene proved to be a potential risk factor for vaso-occlusive events in sickle cell patients.

**Key words:** Sickle cell disease; vaso-occlusion; polymorphisms; *MTHFR*, *CBS*.

Suporte Financeiro: CNPQ

Avaliação: A Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia publica os resumos e abstracts de teses da área apresentados em entidades que tenham programas de pós-graduação reconhecidos pelo MEC/Capes e considera a obtenção do título suficiente para sua publicação na forma como se propõe a seção.

Recebido: 09/03/2009

Aceito: 12/03/2009