

# CONIC-SEMESP

## 13º Congresso Nacional de Iniciação Científica

Anais do Conic-Semesp. Volume 1, 2013 - Faculdade Anhanguera de Campinas - Unidade 3. ISSN 2357-8904

**TÍTULO:** ANÁLISE ENTRE O POLIMORFISMO -238G>A NO GENE TNF-ALFA E A MALARIA VIVAX EM REGIÃO ENDÊMICA DO BRASIL.

**CATEGORIA:** EM ANDAMENTO

**ÁREA:** CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE

**SUBÁREA:** FARMÁCIA

**INSTITUIÇÃO:** CENTRO UNIVERSITÁRIO DE RIO PRETO

**AUTOR(ES):** MICHELE ENCINAS, DIEGO LONGO MADI, ISABELLA ASSUMPÇÃO NAPOLITANO

**ORIENTADOR(ES):** ADRIANA ANTÔNIA DA CRUZ FURINI, GUSTAVO CAPATTI CASSIANO, MARINETE MARINS POVOA, RICARDO LUIZ DANTAS MACHADO

**COLABORADOR(ES):** LUCIANA MORAN CONCEIÇÃO, VALERIA DAL TIBARI FRAGA

Realização:



Apoio:



## RESUMO

O Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ) é a principal citocina envolvida na resposta inflamatória aguda na malária. Foram analisados 91 pacientes com malária vivax diagnosticados por técnica molecular e não molecular e 51 indivíduos não-maláricos provenientes do município de Goianésia do Pará, no Estado do Pará. O polimorfismo no gene do *TNF $\alpha$*  (-238G>A) foi analisado por PCR-RFLP. As frequências obtidas para os genótipos foram maiores para o GG (90,2% para não maláricos e 89% para maláricos) seguido do G/A (9,9% para não maláricos e 9,9% para maláricos) e o genótipo AA foi encontrado em apenas 1,1% dos pacientes com malária. Esse polimorfismo não influencia na susceptibilidade ou resistência a infecção pelo *Plasmodium vivax*.

## 2. INTRODUÇÃO

A malária é uma doença protozoária causada por parasitos do gênero *Plasmodium*. Cinco espécies reconhecidas infectam o homem: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* e, recentemente, o *P. knowlesi*. Dentre esses, os dois primeiros estão associados respectivamente ao maior número de mortalidade/virulência e disseminação (WHO, 2011). No Brasil o *P. vivax* tem sido a espécie mais prevalente, responsável por aproximadamente 83% dos casos de malária na região Amazônica brasileira (ANDRADE et al., 2010).

A resposta imune contra malária envolve mecanismos inatos e adaptativos (MEDINA et al., 2011). O TNF- $\alpha$  é a principal citocina envolvida na resposta inflamatória aguda. Flori e colaboradores, em 2005 em Burkina Faso, descreveram que o alelo T do -1031 e o G do -308 foram associados com ataque de malária não complicada, e o T (-1031) e G (-238) com parasitemia máxima (FLORI et al., 2005).

## 3. OBJETIVOS

Padronizar a técnica de PCR-RFLP para determinação do SNP -238 G>A no gene *TNF $\alpha$* . Estimar as frequências alélicas e genotípicas em

indivíduos com malária vivax e não maláricos e possíveis associações com susceptibilidade ou resistência à malária.

#### **4. METODOLOGIA**

As amostras foram coletadas no município de Goianésia do Pará (03°50'33" S; 49°05'49" W), Estado do Pará. A amostragem foi constituída por 90 pacientes com malária vivax, com mais de 10 anos de idade, residentes na localidade de abrangência do projeto, selecionadas após a confirmação do diagnóstico positivo para malária por *P. vivax* pelo método da Gota Espessa, confirmadas posteriormente por Nested-PCR e 51 indivíduos não maláricos da mesma região (SNOUNOU et al., 1993). O DNA foi extraído empregando-se o kit de extração/purificação Easy-DNA™ (Invitrogen, Califórnia – USA).

A identificação dos alelos G e A na posição - 238 do gene do *TNF $\alpha$*  foram efetuadas por meio do método de PCR-RFLP. A reação de amplificação deste SNP foi seguida da análise de restrição do produto amplificado com a enzima MspI, com tempo de 15 minutos em banho-maria à 37°C. Após a digestão, o genótipo AA foi identificado em gel de agarose 2,5%, quando observado um fragmento na eletroforese, de 153 pb; o genótipo GG na presença de um fragmentos de 133 pb e o genótipo GA por dois fragmentos de 153 e 133 pb (HEDAYATI et al., 2012).

As frequências alélicas obtidas para o SNP foram testadas para verificação de divergência do teorema de Hardy-Weinberg com o programa computacional BioEstat versão 5.0.

#### **4. DESENVOLVIMENTO**

O presente estudo auxiliou para fortalecer uma cooperação nacional para investigação em *Plasmodium vivax*, promovida pelo Centro de Investigação de Microrganismos (CIM) da FAMERP, São José do Rio Preto, e o Instituto Evandro Chagas e a Universidade Federal do Pará. O projeto será composto da análise de outros polimorfismos do gene *TNF $\alpha$*  nas posições -308 G>A e -1031 T>C, para as amostras avaliadas até o presente momento.

#### **5. RESULTADOS PRELIMINARES**

As frequências genotípicas para o gene estão de acordo com o Equilíbrio de Hardy-Weinberg. As frequências obtidas para os genótipos foram maiores para o GG, tanto em não maláricos (90,2%) quanto em pacientes com malária (89%); seguido do GA (9,8 para não maláricos e 9,9% para não maláricos) e o genótipo AA foi encontrado em apenas 1,1% dos pacientes maláricos. Esse polimorfismo não influencia na susceptibilidade ou resistência a infecção pelo *Plasmodium vivax*.

## 6. FONTES CONSULTADAS

\*ANDRADE, B.B. et al. Severe *Plasmodium vivax* malaria exhibits marked inflammatory imbalance. *Malar J*, Londres, v. 9, p. 9-13, 2010.

\*FLORI L. et al. TNF as a malaria candidate gene: polymorphism-screening and family-based association analysis of mild malaria attack and parasitemia in Burkina Faso. *Genes Immun* 2005; 6: 472–480.

\*HEDAYATI M, SHARIFI K, ROSTAMI F, DANESHPOUR MS, YEGANEH MZ, AZIZI F. Association between TNF- $\alpha$  promoter G-308A and G-238A polymorphisms and obesity. *Mol Biol Rep* 2012, 39:825–829.

\*MEDINA, T.S. et al. Increased interleukin-10 and interferon- $\gamma$  levels in *Plasmodium vivax* malaria suggest a reciprocal regulation which is not altered by IL-10 gene promoter polymorphism. *Malar J*, Londres, v. 10, p. 264, 2011.

\*SNOUNOU, G. et al. Identification of the four human malaria parasite species in field samples by the polymerase chain reaction and detection of a high prevalence of mixed infection. *Mol Biochem Parasitol*, Nova York, v. 58, n. 2, p. 283-292, 1993.

\*WHO. World Health Organization. World Malaria Report 2011. Disponível em: [http://www.who.int/malaria/world\\_malaria\\_report\\_2011/9789241564403\\_eng.pdf](http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/9789241564403_eng.pdf). Acesso em: 10/03/2012.