

# ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO (G/C) *MIR146a* COM A SÍNDROME METABÓLICA EM UMA AMOSTRA POPULACIONAL DE VITÓRIA DA CONQUISTA.

Arcanjo, L.F.J.<sup>1</sup>, Silva, R.A.N.<sup>1</sup> Sousa, S.M.B.<sup>2</sup>, Lima, P.S.P.<sup>2</sup>

## RESUMO

A síndrome metabólica (SM) é um importante alvo de estudos por ser caracterizada pela presença de vários fatores de risco para doenças cardiovasculares, como a resistência à insulina e acúmulo de gorduras nas vísceras, além do aumento dos níveis de triglicerídeos e glicose circulando no sangue. O indivíduo portador da SM apresenta pelo menos três dos seguintes fatores: circunferência abdominal > 102cm para homens e 88cm para mulheres, triglicerídeos  $\geq$  150 mg/dL, colesterol HDL < 40 mg/dL para homens e 50 mg/dL para mulheres, pressão arterial  $\geq$  130 mmHg e glicemia em jejum  $\geq$  110 mg/dL. É uma doença relacionada a processos inflamatórios e influenciada por fatores ambientais e genéticos. Nesse sentido, considerando que o gene *mir146a* participa da regulação do sistema imunológico, principalmente em processos inflamatórios, o objetivo deste trabalho foi verificar se há associação entre o polimorfismo G/C do *mir146a* com a SM e com os fatores utilizados no diagnóstico da mesma. Este estudo foi realizado com 92 participantes, sendo 50 classificados como portadores da SM (casos) e 42 controles. Para a genotipagem foi utilizado a técnica da PCR-RFLP. As análises estatísticas indicaram que a população se encontra em Equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0,05$ ). As frequências alélicas de G e C para os grupos controle e caso, foram 0,69, 0,31 e 0,76, 0,24, respectivamente. As frequências genotípicas de GG, GC e CC para os grupos controle e caso foram 0,5, 0,38 e 0,12 e 0,56, 0,38 e 0,06, respectivamente. As análises estatísticas também indicaram que não houve associação entre o polimorfismo e a SM. Porém, a análise da associação com os parâmetros clínicos indicou um efeito do alelo C sobre o Índice de massa corpórea (IMC). Foi observado que os indivíduos que apresentam pelo menos um alelo C, possuem médias de IMC menor do que os indivíduos selvagens (GG). Contudo, se faz necessário ampliar o número de amostras analisadas para confirmar os resultados obtidos.

**PALAVRAS-CHAVE:** *mir146a*, polimorfismo, Síndrome Metabólica

## ASSOCIATION OF MIR146a POLYMORPHISM (G/C) WITH METABOLIC SYNDROME IN A POPULATION SAMPLE FROM VITÓRIA DA CONQUISTA.

### ABSTRACT:

Metabolic syndrome (MS) is characterized by the presence of several risk factors for cardiovascular diseases, such as insulin resistance and accumulation of fat in the viscera, in addition to increased levels of triglycerides and glucose circulating in the blood. The individual with MS has at least three of the following factors: waist circumference > 102cm for men and 88cm for women, triglycerides  $\geq$  150 mg/dL, HDL cholesterol < 40 mg/dL for men and 50 mg/dL for women, blood pressure  $\geq$  130 mmHg and fasting blood glucose  $\geq$  110 mg/dL. It is a disease related to inflammatory processes and influenced by environmental and genetic factors. In this sense, considering that the mir146a gene participates in the regulation of the immune system, mainly in inflammatory processes, the objective of this work was verify whether there is an association between the mir146a G/C polymorphism with MS and with the factors used in the diagnosis of same. This study was carried out with 92 participants, 50 of whom were classified as having MS and 42 controls. For genotyping, the PCR-RFLP technique was used. Statistical analyzes indicated that the population is in Hardy-Weinberg Equilibrium ( $p > 0.05$ ). The allele frequencies of G and C for the control and case groups were 0.69, 0.31 and 0.76, 0.24, respectively. The genotype frequencies of GG, GC and CC for the control and case groups were 0.5, 0.38 and 0.12 and 0.56, 0.38 and 0.06, respectively. Statistical analyzes also indicated that there was no association between the polymorphism and MS. However, the analysis of the association with clinical parameters indicated an effect of the genotype on BMI. It was observed that individuals that have at least one C allele have lower average BMI than wild-type. However, it is necessary to increase the number of samples analyzed to confirm the results obtained.

KEYWORDS: Metabolic syndrome, *mir146a*, PCR

### INTRODUÇÃO

A Síndrome metabólica (SM) é considerada um transtorno complexo, sendo caracterizada por diversos fatores de risco para doenças cardiovasculares, dentre estes fatores, estão inclusos a obesidade central, elevação da glicemia, elevação dos níveis de triglicerídeos e redução dos níveis de colesterol HDL (BARROSO *et al.*, 2020), apresentando, portanto, grande suscetibilidade à influência de fatores genéticos e ambientais. (JOY *et al.*, 2008).

São caracterizados os indivíduos portadores de SM, aqueles que apresentam pelo menos três dos cinco fatores apresentados a seguir, segundo os critérios do *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* (III Painel de tratamento de adultos do Programa Nacional de Educação em Colesterol) (NCEP-ATP III): circunferência abdominal > 102cm para homens e 88cm para mulheres, triglicerídeos  $\geq$  150 mg/dL, colesterol HDL < 40 mg/dL para homens e 50 mg/dL para mulheres, pressão arterial  $\geq$  130 mmHg, e glicemia de jejum  $\geq$  110 mg/dL, (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2005).

O *miRNA146a* apresenta um importante papel na regulação do sistema imunológico em resposta a inflamação. (PERRY *et al.*, 2008). Considerando que a SM está associada a diversos mecanismos biológicos, e dentre eles, a processos inflamatórios (ROCHLANI *et al.*, 2017), este trabalho possui como objetivo verificar a associação entre o polimorfismo G/C do *mir146a* e a SM, assim como, com os fatores clínicos em uma amostra populacional de Vitória da Conquista- BA.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram genotipados por PCR-RFLP 92 indivíduos, sendo 42 considerados do grupo controle e 50 do grupo caso. Para a amplificação da região polimórfica G/C do gene *mir146a* foi feito o uso de dois primers específicos com posterior digestão com a enzima de restrição *Hpy188I* (*New England BioLabs*). As condições da PCR foram previamente estabelecidas por Mehanna e colaboradores (2015) e a digestão enzimática conforme as instruções do fabricante.

O produto do PCR de 372 pb (pares de bases) e o produto da digestão foram separados em gel de agarose de 3% e 4%, respectivamente, corados com brometo de etídeo e visualizados em um aparelho de fotodocumentação. Após a digestão, eram considerados portadores do genótipo GG aqueles em que foram observadas duas bandas no gel, uma de 272pb e outra de 164pb; o genótipo GC, apresentando três bandas no gel, 272pb, 164pb e 134pb; e o CC, também com duas bandas, mas uma de 272pb e outra com 134pb.

As frequências alélicas e genotípicas foram estimadas por contagem direta. O teste do qui-quadrado foi utilizado para verificar se a população se encontra em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) e se há associação entre a SM e o polimorfismo (Teste do qui-quadrado de Pearson). Para análise de associação, foram também avaliados o modelo dominante e recessivo. Também foi feito o teste de associação entre os genótipos com os componentes da SM, utilizando a ANOVA (Análise de Variância Unidirecional), seguido pelo teste de *Post Hoc* de Tukey para verificar qual genótipo foi mais influente na determinação de associação. Análise de Regressão Logística foi realizada para estimar a associação do polimorfismo com o risco para a SM pela Razão de Chance (OR) com intervalo de confiança de 95%. Todas as análises estatísticas foram realizadas pelo *software* SPSS, versão 20.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises das frequências alélicas e genotípicas das amostras indicaram que os grupos se encontram em Equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0,05$ ). Não foi observada associação entre o polimorfismo G/C *mir146a* com a SM,

independentemente do modelo analisado (Tabela 1). Mehanna e colaboradores (2015), analisaram esse mesmo polimorfismo e a SM em uma amostra de 200 mulheres egípcias identificando que o alelo C era mais frequente em indivíduos portadores da SM do que no grupo controle. Essa diferença observada entre os estudos, podem estar ligadas ao número amostral utilizado ser relativamente pequeno quando comparado a outros trabalhos com o mesmo objetivo. Além disso, segundo Pena e colaboradores (2012), a população brasileira apresenta uma composição genética heterogênea, portanto, diferindo geneticamente da população egípcia.

**TABELA 1:** Frequências alélicas, genotípicas e associação entre o polimorfismo G/C do *mir146a* com a Síndrome metabólica.

Polimorfismo	Casos n=50 (%)	Controle n=42 (%)	<i>p</i>
GG	28 (56)	21 (50)	0,603
GC	19 (38)	16 (38,10)	
CC	3 (6)	5 (11,9)	
G	76 (76)	58 (69,04)	
C	24 (24)	26 (30,95)	
<b>Modelo Dominante</b>			
GG	29 (56)	21 (50)	0,443
GC+CC	21 (44)	21 (50)	
<b>Modelo Recessivo</b>			
CC	3 (6)	5 (11,9)	0,325
GC+GG	47(94)	37(88,10)	

Os parâmetros clínicos analisados foram os níveis de triglicerídeos, glicemia, colesterol total e o IMC. As análises estatísticas demonstraram que há um efeito do genótipo sobre o IMC ( $p=0,001$ ). O teste *Post-hoc* de Tukey mostrou que em média os indivíduos portadores do genótipo GG apresentam IMC superior aos indivíduos GC e CC, ou seja, a presença do alelo C, na amostra estudada, está associada a redução destas médias (Tabela 2).

Nos trabalhos realizados por Oner e colaboradores (2015) e Srivastava e colaboradores (2017), foi observado que o alelo C atua como um fator de proteção em doenças associadas a processos inflamatórios, como a doença de Behçet e a psoríase, respectivamente. Considerando que o excesso de peso também está associado aos processos inflamatórios (McDADE *et al.*, 2021), nossos resultados parecem confirmar esse fator protetivo ao alelo C.

**TABELA 2:** Associação entre os genótipos e os parâmetros clínicos da SM.

Variáveis	GG (N=50)	GC (N=34)	CC (N=8)	p
Triglicerídeos (mg/dL)	390 ± 56	301 ± 42	230 ± 46	0,47
Glicemia (mg/dL)	239 ± 72	310 ± 75	113 ± 78	0,65
IMC	42,5 ± 20,3	36,1 ± 18,7	27,4 ± 18	0,001*
Colesterol Total (mg/dL)	272 ± 129	308 ± 143	261 ± 140	0,53
LDL-C (mg/dL)	192 ± 33	202 ± 75	166 ± 83	0,666
HDL-C (mg/dL)	72 ± 33	78 ± 30	88 ± 31	0,672
Dados apresentados como média ± DP (desvio padrão). As comparações foram realizadas pelo teste ANOVA seguido pelo teste de Tukey ( <i>post hoc</i> ) para múltiplas comparações. *indica diferença significativa em relação aos portadores do genótipo GG (p < 0,05)				

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho, demonstraram que na população avaliada, o polimorfismo do *mir146a* não está relacionado com a SM. No entanto, o alelo C mostrou estar associada com valores menores de IMC. Contudo, se faz necessário ampliar o número de amostras analisadas para confirmar os resultados obtidos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARROSO, W. K. S.; RODRIGUES, C. I. S.; BORTOLOTTI, L. A. *et al.* Diretrizes brasileiras de hipertensão arterial-2020. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 116, p. 516-658, 2021.
2. JOY, T.; LAHIRY, P.; POLLEX, R. L.; HEGELE, R. A. Genetics of metabolic syndrome. **Current diabetes reports**, v. 8, n. 2, p. 141-148, 2008.
3. MEHANNA, E. T.; GHATTAS, M. H.; MESBAH, N. M. *et al.* Association of microRNA-146a rs2910164 gene polymorphism with metabolic syndrome. **Folia Biologica**, v. 61, n. 1, p. 43, 2015.
4. Ministério da Saúde. Brasil. [homepage na Internet]. Painéis Saúde Brasil: mortalidade geral - causas de óbito. Disponível em: <http://svs.aims.gov.br/dantps/centrais-de-conteudos/paineis-de-monitoramento/saude-brasil/mortalidade-geral/>
5. ONER, T.; YENMIS, G.; TOMBULTURK, K. *et al.* Association of pre-miRNA-499 rs3746444 and pre-miRNA-146a rs2910164 polymorphisms and susceptibility to Behcet's disease. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers**, v. 19, n. 8, p. 424-430, 2015.
6. PENA, S. D. J.; PIETRO, G. D.; MORAES, M. F. *et al.* The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. **PloS one**, v. 6, n. 2, p. e17063, 2011.

7. PERRY, M. M.; MOSCHOS, S. A.; WILLIAMS, A. E. *et al.* Rapid changes in microRNA-146a expression negatively regulate the IL-1 $\beta$ -induced inflammatory response in human lung alveolar epithelial cells. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 8, p. 5689-5698, 2008.
8. ROCHLANI, Y.; POTHINENI, N. V.; KOVELAMUDI, S.; MEHTA J. L. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. **Therapeutic advances in cardiovascular disease**, v. 11, n. 8, p. 215-225, 2017.
9. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.84, p.1-27,2005.
10. SRIVASTAVA, A.; NIKAMO, P.; LOHCHAROENKAL, W. *et al.* MicroRNA-146a suppresses IL-17-mediated skin inflammation and is genetically associated with psoriasis. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 139, n. 2, p. 550-561, 2017.
11. MCDADE, T. W.; MEYER, J. M.; KONING, S. M. *et al.* Body mass and the epidemic of chronic inflammation in early mid-adulthood. **Social Science & Medicine**, v. 281, p. 114059, 2021.