

## ASSOCIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE DNA COM CARACTERÍSTICAS SÓCIO-DEMOGRÁFICAS DO ESTUDO DE COORTE EM PELOTAS/RS-BRASIL NO ANO DE 1993

**DOMINGUES, William Borges<sup>1</sup>; CRUZ, Otávio Martins<sup>2</sup>; SILVA, Liziane Pereira da<sup>2</sup>; TESSMANN, Josiane Weber<sup>3</sup>; NUNES, Ana Paula<sup>4</sup>**

[lbm26@gmail.com](mailto:lbm26@gmail.com)

<sup>1</sup> Acadêmico de Ciências Biológicas – UFPEL

<sup>2</sup> Mestrando do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia – UFPEL

<sup>3</sup> Acadêmica de Biotecnologia – UFPEL

<sup>4</sup> Professora Adjunta do Departamento de Morfologia/UFPEL

### 1 INTRODUÇÃO

Estudos populacionais epidemiológicos têm buscado a construção de biobancos de DNA para investigar o efeito dos genes combinado à exposições ambientais sobre desfechos (KONI et al., 2011). O sucesso de estudos epidemiológicos genéticos está estreitamente relacionado à obtenção de amostras de DNA com qualidade e quantidade (PEPLIES et al., 2010). Para a obtenção de material genético, técnicas menos invasivas têm sido adotadas preferencialmente à venopunctura periférica, especialmente pela menor logística e facilidade de coleta.

Para avaliar a qualidade do DNA obtido, a técnica mais adotada é a espectrofotometria de luz ultravioleta, onde é calculada a razão entre as leituras a 260nm e 280nm, com limites aceitáveis entre 1,6 e 1,8. Estudos comparativos da qualidade do DNA obtido pela coleta de sangue e de saliva confirmam que ambos mantêm-se dentro dos limites recomendados (FEIGELSON et al., 2001; WOO et al, 2007).

O Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da UFPel possui três estudos de coorte de nascimentos: a coorte de 1982, 1993 e de 2004, onde todos os indivíduos nascidos na cidade de Pelotas (RS-Brasil) nos respectivos anos, foram acompanhados e suas mães entrevistadas nas maternidades. Após o nascimento, os participantes das coortes também são acompanhados em diferentes momentos de suas vidas, momentos onde são coletadas informações de caráter demográfico, biológico e sócio-econômico. A coorte de 1993 foi iniciada com 5.304 nascimentos ocorridos na zona urbana de Pelotas (TOMASI *et al*, 1996). Os indivíduos desta coorte foram acompanhados com 1, 3, 6 e 12 meses; 4,11 anos e, mais recentemente, 14-15 anos (SILVA *et al.*, 2008).

Considerando a necessidade de reforçar os achados observacionais resultantes da metodologia epidemiológica clássica, no acompanhamento dos 15 anos da coorte de 1993 foram coletadas amostras de saliva para obtenção de DNA, por onde a construção deste biobanco representou um passo fundamental para o avanço do grupo na área de epidemiologia genética. Para determinação da qualidade do biobanco formado, é necessário a comprovação da quantidade do DNA obtido, bem como a análise de fatores associados a

este. Neste sentido, o presente trabalho objetivou analisar a quantidade de DNA obtido no acompanhamento de 2008 da coorte de 1993, e sua associação com variáveis sócio-demográficas.

## 2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Durante o ano de 2008, os participantes do estudo de coorte dos nascidos vivos no ano de 1993, na cidade de Pelotas (RS, Brasil) foram entrevistados para coleta de dados sócio-demográficos e comportamentais, e realizaram medidas antropométricas e clínicas. Nesta ocasião também foram coletadas amostras biológicas de sangue da polpa digital e saliva. A coleta de saliva foi realizada em 4.110 indivíduos através da utilização do *kit* comercial *Oragene (DNA Self-Collection Kit- Genotek, Ottawa, Ontário, Canadá)* para obtenção de DNA genômico.

O DNA foi extraído segundo a metodologia proposta pelo fabricante e descrita por Silva et al. (2008). Após esta etapa, as amostras de DNA foram mantidas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , até sua avaliação quantitativa, a qual foi realizada por espectrofotometria, utilizando o Espectrofotômetro Nanovue Plus (GE Healthcare<sup>®</sup>, Buckinghamshire, UK) (Figura 1), e  $1\mu\text{L}$  de cada amostra.



Figura. 1 - Espectrofotômetro Nanovue Plus utilizado para a quantificação de DNA das amostras da coorte de indivíduos em Pelotas/RS-Brasil no ano de 1993.

Os dados espectrofotométricos do DNA foram gerados na unidade  $\text{ng}/\mu\text{L}$ . Foi realizada análise de comparação de médias entre as variáveis sexo, cor da pele (auto-referida) e nível socioeconômico (categoria Brasil-CCEB- em 5 categorias, sendo A maior e E menor), obtidas estas do banco de dados da coorte de 1993 referente ao acompanhamento dos 15 anos, utilizando o programa STATA

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da avaliação espectrofotométrica e da análise estatística foram obtidas as médias das variáveis de interesse (tabela 1).

Observou-se, conforme os dados apresentados, diferenças entre as médias gerais das concentrações de DNA conforme o sexo ( $p=0,000$ ), sendo maior nos indivíduos do sexo masculino. Relação em igual sentido foi encontrada no estudo de Chang et al. (2011), onde foi utilizado sangue venoso periférico. Uma vez que a taxa de leucócitos sanguíneos é maior em homens, igual relação pode se refletir na mucosa oral, corroborando com os resultados encontrados no presente estudo.

A quantidade média de DNA obtido variou segundo a cor da pele, sendo maior nos indivíduos negros ( $p=0,000$ ). No estudo de Chen *et al.* (2010) seus achados vão de encontro ao que foi observado neste estudo, uma vez que em sua pesquisa aponta uma maior concentração de DNA em indivíduos brancos. Entretanto, mais estudos são necessários para clarificar o presente resultado

Tabela 1. Comparação entre as médias de concentração de DNA quanto às variáveis sexo, cor da pele autorreferida e socioeconômica.

Variáveis	Média ( $\pm$ DP)	P
<b>Sexo</b>	274,81 ( $\pm$ 247,77)	,000
M	296,62 ( $\pm$ 279,86)	
F	254,01 ( $\pm$ 210,66)	
<b>Cor da pele</b>	273,62 ( $\pm$ 244,50)	,000
Branca	263,02 ( $\pm$ 226,26)	
Preta	302,37 ( $\pm$ 267,59)	
Parda	287,81 ( $\pm$ 281,49)	
<b>Nível Socioeconômico</b>	275,22 ( $\pm$ 248,27)	,048
A	262,45 ( $\pm$ 203,13)	
B	261,09 ( $\pm$ 221,99)	
C	289,78 ( $\pm$ 259,63)	
D	277,25 ( $\pm$ 234,89)	
E	285,18 ( $\pm$ 308,65)	

Em relação à variável nível socioeconômico, foram verificadas quantidades maiores de DNA em amostras de indivíduos pertencentes ao nível mais baixo (E), conforme o Critério Brasil em Cinco Categorias (A,B,C e D). Apoiamos nosso pensamento na publicação de Pollit et al (2008), onde é explanada uma maior concentração de DNA na classe E pela maior taxa de leucócitos circulantes nesses indivíduos desta. Os presentes resultados sugerem que, quando associamos a concentração de DNA às variáveis propostas, um maior número de leucócitos circulantes contribua para uma maior concentração de DNA. Ainda assim, existem poucas publicações que investiguem e suportem estas observações, indicando que maior investigação é necessária nesta área.

#### 4 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a utilização do *kit* comercial *Oragene* proporciona a obtenção de quantidades satisfatórias de DNA para a construção de biobanco de DNA. Foi observada maior concentração de DNA em indivíduos do sexo masculino, negros e da classe socioeconômica E.

#### 5 REFERÊNCIAS

CHEN, W; SRINIVASAN, SR; XU,J; BERENSON, GS. Black-white divergence in the relation of white blood cell count to metabolic syndrome in preadolescents, adolescents, and young adults: the Bogalusa Heart Study. **Diabetes Care**. Nov;33(11):2474-6. Epub 2010

CHANG, YH; YANG, SH; WANG, TF, LIN, TY; YANG, KL; CHEN, SH. Complete blood count reference values of cord blood in Taiwan and the influence of gender and delivery route on them. **Pediatr Neonatol**. Jun;52(3):155-60. Epub 2011

FEIGELSON, HS; RODRIGUEZ, C; ROBERTSON, AS; JACOBS, EJ; CALLE, EE; REID, YA; THUN, MJ. Determinants of DNA yield and quality from buccal cell samples collected with mouthwash. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**. 10(9):1005-1008. 2001

KONI, AC; SCOTT, RA; WANG, G; BAILEY, ME; PEPLIES, J; BAMMANN, K; PITSILADIS, YP. DNA yield and quality of saliva samples and suitability for large-scale epidemiological studies in children. **International Journal of Obesity**. 35 Suppl 1:S113-118. 2011

PEPLIES, J; FRATERMAN, A; SCOTT, R, RUSSO, P; BAMMANN, K. Quality management for the collection of biological samples in multicentre studies. **European Journal of Epidemiology**., 25(9):607-617. 2010

POLLIT, RA; KAUFMAN, JS; ROSE, KM; DIEZ-ROUX, AV; ZENG,D; HEISS,G. Cumulative life course and adult socioeconomic status and markers of inflammation in adulthood. **J Epidemiol Community Health**. Jun;62(6):484-91. 2008

SILVA, L; MILECH, C; SANTOS; RAMOS, C; MADRUGA,S; NUNES, A P; OLIVEIRA, I. Obtenção do Banco de DNA da coorte de indivíduos nascidos em Pelotas/RS no ano de 1993 com a utilização do Kit Oragene. **XVII Congresso de Iniciação Científica UFPel**, 2008.

TOMASI, E., BARROS, C. F., VICTORA, C. G. As mães e suas gestações: comparação de duas coortes de base populacional no Sul do Brasil. **Cad. Saúde Públ**, 1996,12 (Supl.1), p.21-25.

WOO JG, SUN G, HAVERBUSCH M, INDUGULA S, MARTIN LJ, BRODERICK JP, DEKA R, WOO D. Quality assessment of buccal versus blood genomic DNA using the Affymetrix 500 K GeneChip. **BMC genetics**. 8:79. 2007