

PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO C677T DO GENE *MTHFR* EM UMA POPULAÇÃO DE IDOSOS<sup>1</sup>PREVALENCE OF *MTHFR* C677T POLYMORPHISM IN AN ELDERLY POPULATION

Hygor FERREIRA-FERNANDES<sup>2</sup>; Hianny Ferreira FERNANDES<sup>2</sup>; Ari Pereira de Araújo NETO<sup>3</sup>; Pablo Nunes COSTA<sup>3</sup>; France Keiko Nascimento YOSHIOKA<sup>4</sup> e Giovanny Rebouças PINTO<sup>4</sup>

## RESUMO

**Objetivo:** determinar a prevalência do polimorfismo *MTHFR* C677T em uma amostra de 200 idosos da cidade de Parnaíba-PI e comparar suas frequências genotípicas e alélicas com as observadas em outras populações. **Método:** a presença do polimorfismo *MTHFR* C677T foi determinada pela técnica de reação em cadeia da polimerase seguida por tratamento com a enzima de restrição *HinfI* (PCR-RFLP), acompanhado de eletroforese em gel de poli(acrilamida) 8%, corado com nitrato de prata. **Resultados:** dos 200 indivíduos estudados, 120 (60%) apresentaram genótipo homocigoto normal (CC); 63 (31,5%) foram heterocigotos (CT) e 17 (8,5%) mostraram-se homocigotos TT. A frequência do alelo polimórfico T foi de 23,4%. As frequências genotípicas mostraram-se sob equilíbrio de Hardy-Weinberg e não houve diferenças estatisticamente significantes quanto à distribuição do alelo T por sexo ou faixa etária. **Conclusão:** os resultados apresentados neste estudo representam o primeiro relato indicativo da frequência deste polimorfismo em uma população piauiense. A frequência do alelo T foi consideravelmente elevada (24,3%) comparada com a população geral e, portanto, estudos são necessários para investigar a contribuição desse polimorfismo na etiologia e/ou gravidade a determinadas doenças, nessa população.

**DESCRITORES:** polimorfismo genético, epidemiologia molecular, pessoa idosa.

## INTRODUÇÃO

A enzima metilenotetrahidrofolato redutase (*MTHFR*) desempenha uma ação central no metabolismo do folato, mantendo o equilíbrio entre as diferentes formas desse importante nutriente no organismo, catalisando a conversão irreversível do 5,10-metilenotetrahidrofolato em 5-metilenotetrahidrofolato, a forma prevalente de folato no plasma sanguíneo, responsável pela doação de grupos metil para a síntese de metionina a partir da homocisteína.<sup>1</sup>

No gene *MTHFR*, localizado em 1p36.3, é comum a presença de uma substituição de uma citosina (C) por uma timina (T) na posição 677 da sequência de nucleotídeos do gene (C677T), que provoca a troca do aminoácido alanina por valina dentro do domínio catalítico N-terminal da enzima. O fenótipo resultante dessa substituição é uma enzima termolábil com atividade catalítica reduzida. Especificamente, os portadores dos genótipos CT e TT expressam uma enzima com redução de 30 e 65% da sua atividade, respectivamente, quando comparados com o genótipo selvagem CC.<sup>2</sup>

A homocigose para o alelo T está associada com hiper-homocisteinemia, níveis reduzidos de folato sérico e hipometilação genômica, o que torna o polimorfismo *MTHFR* C677T um fator de risco genético para vários agravos à saúde, como doenças cardiovasculares, defeitos de formação do tubo neural, síndrome de Down, complicações gestacionais, desordens psiquiátricas e câncer.<sup>3-8</sup>

A distribuição da frequência do polimorfismo *MTHFR* C677T apresenta uma grande variabilidade étnica e geográfica em todo o mundo. A prevalência do genótipo TT varia em torno de 1% em populações negras dos Estados Unidos, África sub-Saariana e América do Sul e 20% em hispano-americanos, colombianos e ameríndios brasileiros.<sup>9</sup> Diante dessa situação, torna-se importante investigar a frequência do polimorfismo *MTHFR* C677T em diferentes populações, para avaliar o seu papel no aumento ou diminuição do risco de desenvolver determinados tipos de doenças.

A população idosa brasileira sofreu um rápido crescimento nas últimas décadas e há a expectativa de uma intensificação desse processo. Por esse motivo, os idosos

<sup>1</sup>Trabalho realizado no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Campus de Parnaíba

<sup>2</sup>Graduandos do Curso de Biomedicina da UFPI.

<sup>3</sup>Biomédicos, Mestrandos do Curso de Biotecnologia da UFPI.

<sup>4</sup>Docentes do Curso de Biomedicina e do Mestrado em Biotecnologia da UFPI.

representam um alvo atraente de estudo, uma vez que a presença do polimorfismo *MTHFR* C677T, associada a outros fatores de risco aos quais estiveram expostos ao longo dos anos, torna-os mais susceptíveis ao desenvolvi-

mento de doenças. Dessa forma, informações sobre a prevalência dessa variação podem auxiliar no direcionamento de medidas de prevenção, contribuindo, portanto, para a diminuição dos gastos públicos com saúde.

## OBJETIVO

Em virtude da relevância médica do polimorfismo *MTHFR* C677T e da ausência de estudos de investigação de sua prevalência no Estado do Piauí, o objetivo deste trabalho foi determinar as frequências genotípica e alélica desta variação em uma população de idosos da cidade de Parnaíba, litoral piauiense, e compará-las com as frequências obtidas em outras populações.

## MÉTODO

### População estudada e aspectos éticos

Foram incluídos neste estudo 200 indivíduos idosos, residentes na cidade de Parnaíba, PI, voluntários do maior projeto de fragilidade em idosos, já desenvolvido no Brasil, denominado Rede FIBRA (Rede de Pesquisa Sobre Fragilidade em Idosos Brasileiros). Anteriormente à coleta de 4 mL de sangue periférico para estudo, todos os voluntários foram informados sobre a finalidade da pesquisa e sobre os procedimentos experimentais aos quais seriam submetidos, e ao concordarem em participar assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Este trabalho foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí.

### Análise do polimorfismo *MTHFR* C677T

O DNA genômico foi extraído de leucócitos de sangue periférico com o kit *Wizard® Genomic DNA Purification* (Promega), de acordo com as especificações do fabricante.

Para análise do polimorfismo *MTHFR* C677T foi utilizada a técnica de reação em cadeia da polimerase, seguida por tratamento com endonuclease de restrição (PCR-RFLP). A região do polimorfismo *MTHFR* C677T foi amplificada com os *primers forward* 5'-CTG ACT GTC ATC CCT ATT GGC A-3' e *reverse* 5'-CCT CAC CTG GAT GGG AAA GAT-3', resultando em um produto de 251 pb. Para um volume total de reação de 25 µL, foram utilizadas as seguintes condições: DNA (10 ng), tampão 1x (100 mM Tris-HCl; pH 8,5; 500 mM KCl), MgCl<sub>2</sub> (1,5 mM); 0,4 mM de cada *primer*; 0,2 mM de dNTP; 1,5 U de Taq DNA polimerase e H<sub>2</sub>O destilada. Os parâmetros utilizados na reação foram: uma etapa de desnaturação inicial de 3 minutos a 95°C, trinta e cinco ciclos de 45 segundos a 95°C, 1 minuto a 54°C e 45 segundos a 72°C.

Após amplificação da região de interesse do polimorfismo *MTHFR* C677T os produtos da reação foram submetidos ao procedimento de RFLP, incubados na presença da enzima *HinfI* (*New England BioLabs*), de acordo com as instruções do fabricante. Após a digestão, os produtos da RFLP foram submetidos à eletroforese em gel de poli-acrilamida 8% a uma diferença de potencial de 160V por duas horas, e corado com nitrato de prata para a visualização dos padrões de banda dos três genótipos possíveis (CC, CT e TT). Na presença do alelo T a enzima *HinfI* reconhece um sítio de restrição que, após a digestão enzimática, gera dois fragmentos de tamanhos diferentes (148 pb e 103 pb), enquanto que o alelo C permanece com 251 pb. Portanto, indivíduos com genótipo CC apresentarão uma única banda de 251 pb, enquanto que indivíduos com genótipo TT serão evidenciados pela presença de duas bandas, uma de 148 pb e outra de 103 pb. Os indivíduos heterozigotos apresentarão os três padrões de banda mencionados.

### Análise estatística

Após a genotipagem da população, foram determinadas as frequências genotípicas e alélicas por simples contagem. Para testar se a população em estudo encontrava-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg, foi calculado o número de genótipos esperados a partir das frequências alélicas e seu desvio em relação ao número de genótipos observados foi determinado pelo teste do Qui-quadrado, mesmo teste estatístico aplicado para comparar as distribuições genotípicas e alélicas observadas neste estudo com as obtidas em outras populações. Foi adotado nível de significância de 5%. Para a avaliação estatística dos dados, utilizou-se o programa Bioestat, versão 5.0.

## RESULTADOS

Dos 200 idosos estudados, 71(36%) eram do sexo masculino e 128 (64%) do sexo feminino, com idade média de 72,75 ± 7,44 anos (idades entre 65 e 93 anos). Conforme representado na Tabela I, 120 indivíduos apresentaram genótipo CC (60%), enquanto que 63 foram genotipados como CT (31,5%) e 17 como homozigotos TT (8,5%) (Figura 1). O alelo polimórfico T apresentou frequência de 24,3%.

A distribuição do polimorfismo *MTHFR* C677T encontrou-se sob equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2 = 1,779$ ,  $p = 0,4108$ ). Com relação ao sexo, a frequência do alelo T foi de 27% entre as mulheres e 19% entre os homens ( $p = 0,893$ ). Não houve diferença estaticamente significante

quanto à distribuição por idade, pois o alelo T mostrou frequência de 24% entre os indivíduos com idade igual ou inferior a 73 anos, e de 25% naqueles com idade superior a esta idade ( $p > 0,05$ ).

**Tabela I** – Distribuição da frequência genotípica e alélica do polimorfismo *MTHFR* C677T na população de Parnaíba-PI.

	Frequência genotípica $n$ (%)			p	Frequência alélica (%)		p
	CC	CT	TT		C	T	
Total ( $n = 200$ )	120 (60)	63 (31,5)	17 (8,5)	0,411	75,7	24,3	-
Sexo							
M ( $n = 71$ )	47 (66,2)	21 (29,6)	3 (4,2)	0,145	81	19	0,893
F ( $n = 129$ )	73 (56,6)	42 (32,5)	14 (10,9)		73	27	
Idade							
$\leq 73$ ( $n = 123$ )	74 (60,2)	39 (31,7)	10 (8,1)	0,968	76	24	0,987
$> 73$ ( $n = 77$ )	46 (59,7)	24 (31,2)	7 (9,1)		75	25	



**Figura 1** – Análise dos padrões de banda dos três genótipos possíveis para o polimorfismo *MTHFR* C677T, em gel de poliacrilamida 8% corado com nitrato de prata. L: Marcador de peso molecular de 100 pb; 2, 5 e 6: CC (homocigotos selvagens); 1 e 3: CT (heterocigotos); 4: TT (homocigoto mutante).

## DISCUSSÃO

Nas últimas décadas os avanços na área da biologia molecular proporcionaram um grande avanço no reconhecimento de genes envolvidos na etiologia de várias doenças. As alterações em genes do metabolismo do folato, especialmente o polimorfismo *MTHFR* C677T e a sua relação com vários problemas de saúde, têm atraído a atenção de diferentes grupos de pesquisa no mundo. No nosso conhecimento, os resultados apresentados neste estudo representam o primeiro relato indicativo da frequência deste polimorfismo em uma população piauiense.

A frequência do polimorfismo *MTHFR* C677T varia entre as diferentes populações étnicas. A frequência de homocigotos TT na população mundial varia de 1 a 32%, enquanto o alelo T se distribui com uma frequência entre 12 a 57% (Tabela II). A frequência do alelo T encontrada neste estudo foi consideravelmente elevada (24,3%), comparado com outros estudos populacionais, porém foi signi-

ficativamente inferior às frequências observadas na maioria dos países asiáticos<sup>3,10-12</sup>, com exceção das populações do Nordeste da Índia<sup>13</sup>, cuja frequência do alelo T foi de 17% ( $p = 0,2711$ ) e do Paquistão<sup>14</sup>, onde se observou a menor frequência do alelo T (15%) entre os países asiáticos ( $p = 0,1397$ ). Neste último estudo, Micheal *et al.* (2009) relataram associação entre o genótipo TT com glaucoma de ângulo fechado em dois grupos étnicos distintos do Paquistão, também se correlacionando com os altos níveis séricos de homocisteína encontrado nesses pacientes.

A população brasileira é uma das populações mais heterogêneas do mundo, resultado de mais de quinhentos anos de cruzamentos entre europeus, africanos e ameríndios. Em relação às populações europeias, nossos resultados divergiram dos encontrados por Wilcken *et al.* (2003)<sup>15</sup> na Itália e por Matevska *et al.* (2008)<sup>16</sup> na República da Macedônia, onde as frequências do alelo T foram de 45,3% e 41,35%, respectivamente. No entanto, mostraram-se semelhantes aos encontrados na Eslováquia (25,2%)<sup>17</sup>. A frequência do alelo T observada neste estudo (24,3%) encontrou-se superior a observada na Romênia<sup>18</sup> e inferior à encontrada na Espanha<sup>15</sup>, porém sem diferenças estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

Dos países do continente americano, o México foi o que apresentou a maior prevalência do polimorfismo *MTHFR* C677T<sup>15</sup>, onde 32,2% dos indivíduos foram homocigotos TT, refletindo numa frequência alélica de 57%. Em estudo realizado por Wilcken *et al.* (2003)<sup>15</sup> em recém-nascidos norte-americanos de diferentes origens étnicas, a frequência do alelo T foi maior nos caucasianos (31,7%) do que nos afro-americanos (12,6%), corroborando a diversidade da prevalência desse polimorfismo entre diferentes grupos étnicos. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre a frequência alélica observada neste estudo (24,3%) e a frequência observada em

uma população caucasiana do Canadá<sup>15</sup>, onde a frequência do alelo T foi de 24,6% ( $p > 0,05$ ).

Em um estudo realizado por Shannon *et al.* (2002)<sup>8</sup>, em uma população australiana, 9% dos indivíduos apresentaram genótipo TT, com frequência do alelo T de 32,6% ( $p = 0,2526$ ). Neste estudo, o genótipo TT foi associado com o aumento do risco de desenvolvimento de câncer colorretal em indivíduos idosos, sendo atribuído também aos distúrbios no metabolismo do folato comuns nessa faixa etária.

No Brasil, a frequência do genótipo TT varia de 2,7 a 17,5% e a frequência do alelo T encontra-se entre 19 e 38% (Tabela III). Em um estudo conduzido por Zanrosso *et al.* (2005)<sup>19</sup> com 240 indivíduos de quatro regiões brasileiras, a frequência do alelo T observada foi de 29%, sendo

9% dos indivíduos com genótipo TT. A frequência do genótipo TT nas diferentes regiões foi de 12% no Sul, 7% no Sudeste, 8% no Nordeste e 14% no Centro-Oeste, sendo esta última a única frequência que diferiu estatisticamente do observado em nosso estudo ( $p < 0,0001$ ).

A frequência alélica encontrada na população de Parnaíba, PI (24,3%) foi similar à observada nos Estados da Bahia<sup>20</sup> (23%), Pernambuco<sup>21</sup> (22,7%) e Minas Gerais<sup>22</sup> (19%). Nossos resultados também não diferiram estatisticamente dos observados nos Estados do Pará<sup>23</sup> ( $p = 0,135$ ), São Paulo<sup>24</sup> ( $p = 0,454$ ) e Rio Grande do Sul<sup>25</sup> ( $p = 0,052$ ), tendo este último mostrado a maior frequência do polimorfismo dentre os Estados brasileiros (38%) e, conseqüentemente, uma proximidade do limite de significância estatística.

**Tabela II** – Comparação da distribuição das frequências genótípicas e alélicas do polimorfismo *MTHFR* C677T em diferentes populações.

País	Região/Etnia	n	Frequências (%)						
			Genótípicas			P	Alélicas		P
			CC	CT	TT		C	T	
<b>Brasil</b>	<b>Região Nordeste*</b>	<b>200</b>	<b>60</b>	<b>31,5</b>	<b>8,5</b>	<b>Ref.</b>	<b>75,7</b>	<b>24,3</b>	<b>Ref.</b>
Itália	Caucasianos <sup>15</sup>	468	29,5	50,4	20,1	<0,0001	54,7	45,3	0,003
Espanha	Caucasianos <sup>15</sup>	601	44,1	44,1	11,8	0,0795	66,1	33,9	0,1351
Eslováquia	Caucasianos <sup>17</sup>	290	56,5	36,6	6,9	0,7213	74,8	25,2	0,9869
Romênia	Caucasianos <sup>18</sup>	67	70,15	25,37	4,47	0,2587	82,8	17,2	0,2875
Macedônia	Caucasianos <sup>16</sup>	185	35,13	47,03	17,84	0,0016	58,65	41,35	0,0157
Índia	Região Nordeste <sup>13</sup>	188	68,6	28,7	2,7	0,1565	83	17	0,2711
Coréia do Sul	Asiáticos <sup>10</sup>	1700	31,8	50,7	17	0,0003	57	43	0,0081
China	Asiáticos <sup>3</sup>	75	35	48	17	0,0016	59	41	0,0179
Japão	Asiáticos <sup>11</sup>	244	39,34	47,5	13,1	0,0141	63,1	39,9	0,0393
Japão	Asiáticos <sup>12</sup>	500	36,4	46	17,6	0,0029	59,4	40,6	0,0208
Paquistão	Punjabis e Pathans <sup>14</sup>	143	71	28	1	0,0294	85	15	0,1397
Estados Unidos	Afro-americanos <sup>15</sup>	298	77,5	19,8	2,7	0,0193	87,4	12,6	0,0511
Estados Unidos	Caucasianos <sup>15</sup>	300	47,3	42	10,7	0,1962	69,3	31,7	0,3355
Canadá	Caucasianos <sup>15</sup>	240	56,7	37,5	5,8	0,5698	75,4	24,6	0,9083
México	Hispanicos <sup>15</sup>	500	18,2	49,6	32,2	<0,0001	43	57	<0,0001
Brasil	Região Norte <sup>19</sup>	240	51	40	9	0,4159	71	29	0,554
Austrália	Australianos (ocidente) <sup>8</sup>	1207	44	47	9	0,0628	67,4	32,6	0,2526

\* Presente estudo.

**Tabela III** – Prevalência do polimorfismo *MTHFR* C677T em diferentes populações brasileiras.

Estado	Cidade	n	Frequências (%)						
			Genotípica			p	Alélica		p
			CC	CT	TT		C	T	
Piauí	Parnaíba*	200	60	31,5	8,5	Ref.	75,7	24,3	Ref.
São Paulo	Campinas <sup>24</sup>	188	48,9	42	9,1	0,265	70	30	0,454
Rio Grande do Sul	Porto Alegre <sup>25</sup>	74	41,9	40,5	17,5	0,024	62	38	0,052
Minas Gerais	Belo Horizonte <sup>22</sup>	37	64,9	32,4	2,7	0,201	81	19	0,460
Pernambuco	Recife <sup>21</sup>	108	63	28,7	8,3	0,902	77,3	22,7	0,920
Bahia	Salvador <sup>20</sup>	843	58,5	36,2	5,3	0,580	77	23	0,920
Pará	Belém <sup>23</sup>	127	44	44	12	0,077	66,1	33,9	0,135

\* Presente estudo.

Os resultados demonstram que o alelo T foi mais frequente entre as mulheres (27%) do que nos homens (19%), o que também foi observado por Devi *et al.* (2004)<sup>26</sup>. A frequência do alelo T na população feminina deste estudo foi similar à observada por Biselli *et al.* (2008)<sup>5</sup> no Estado de São Paulo (28,6%) e por Dusse *et al.* (2006)<sup>27</sup> em Belo Horizonte (26%). A frequência do alelo T na população masculina (19%) foi inferior à observada em homens caucasianos da Suécia<sup>28</sup> (28,2%) e dos Estados Unidos<sup>29</sup> (33,5%). Neste último estudo, Cicek *et al.* (2004)<sup>29</sup> mostraram evidências de que o alelo T pode estar associado com a redução do risco do câncer de próstata progredir para formas mais avançadas.

Os resultados demonstraram não haver diferenças, estatisticamente significantes, entre as frequências alélicas e genotípicas dos indivíduos mais jovens ou mais velhos que 73 anos ( $p > 0,05$ ) na população de Parnaíba, PI. As frequências observadas foram estatisticamente similares às encontradas em uma população idosa com idade média de 73,9 anos de Pernambuco<sup>30</sup>, onde a frequência de homozigotos TT foi de 4% ( $p = 0,072$ ) e do alelo T foi de 27% ( $p = 0,783$ ). Shanon *et al.* (2002)<sup>8</sup> também relataram, numa população idosa australiana, frequências do polimorfismo *MTHFR* C677T semelhantes às observadas na população parnaibana, sendo que a frequência de homozigotos TT foi de 10% em indivíduos com idade inferior a 70 anos e de

7% em indivíduos com idade igual ou superior a 70 anos. Esse mesmo estudo mostrou que o genótipo TT está associado a uma mortalidade aumentada em populações idosas, tendo como justificativa a maior predisposição para desenvolvimento de câncer colorretal favorecida por esse genótipo.

## CONCLUSÃO

O polimorfismo *MTHFR* C677T se distribui com uma frequência consideravelmente elevada (24,3%) na população de Parnaíba PI, comparada com a população geral, sendo essa frequência semelhante à observada na maioria das populações caucasianas da Europa e inferior às da Ásia. Esses dados reforçam a necessidade de estudos que investiguem a contribuição deste polimorfismo na etiologia e/ou gravidade de doenças na população parnaibana.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (processo: 502193/2009-3).

## SUMMARY

### PREVALENCE OF *MTHFR* C677T POLYMORPHISM IN AN ELDERLY POPULATION

Higor FERREIRA-FERNANDES; Hianny Ferreira FERNANDES; Ari Pereira de Araújo NETO; Pablo Nunes COSTA; France Keko Nascimento YOSHIOKA e Giovanni Rebouças PINTO.

**Objective:** to determine the prevalence of *MTHFR* C677T polymorphism in a sample of 200 elderly individuals from Parnaíba, Piauí, Brazil and to compare its genotypic and allelic frequencies with those observed in other populations. **Method:** the presence of *MTHFR* C677T polymorphism was evaluated by polymerase chain reaction followed by restriction enzyme analysis with *HinfI* endonuclease (PCR-RFLP). After cleavage, the genotypes were evaluated by 8% silver stained polyacrylamide gel. **Results:** of the 200 individuals studied, 120 (60%) were homozygous normal (CC), 63

(31.5%) were heterozygous (CT) and 17 (8.5%) were homozygous TT. The frequency of the polymorphic allele T was 23.4%. The genotypic frequencies were found to be in Hardy-Weinberg equilibrium and there was no statistically significant differences regarding the distribution of T-allele by sex or age. **Conclusion:** the results presented in this study represent the first report of the *MTHFR* C677T polymorphism frequency in a population of Piauí. The T-allele frequency was significantly higher (24.3%) compared to the general population and therefore studies are needed to investigate the contribution of this polymorphism in the etiology and/or severity of certain diseases in this population.

**KEYWORDS:** polymorphism/genetic, molecular epidemiology, aged.

## REFERÊNCIAS

1. Friso, S; Choi, SW. Gene-nutrient interactions in one-carbon metabolism. *Current Drug Metabolism*. 2005; 6: 37-46.
2. Frosst, P; Blom, HJ; Milos, R; Goyette, P; Sheppard, CA; Matthews, RG *et al*. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genetics*. 1995. 10: 111-3.
3. He, JA; Hu, XH; Fan, YY; Yang, J; Zhang, ZS; Liu, CW *et al*. Hyperhomocysteinaemia, low folate concentrations and methylene tetrahydrofolate reductase C677T mutation in acute mesenteric venous thrombosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2010; 39: 508-513.
4. Van der Linden, IJ; Afman, LA; Heil, SG; Blom, HJ. Genetic variation in genes of folate metabolism and neural-tube defect risk. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2006. 65: 204-215.
5. Biselli, JM; Goloni-Bertollo, EM; Zampieri, BL; Haddad, R; Eberlin, MN; Pavarino-Bertelli, EC. Genetic polymorphisms involved in folate metabolism and elevated plasma concentrations of homocysteine: maternal risk factors for Down syndrome in Brazil. *Genetics and Molecular Research*. 2008. 7(1): 33-42
6. Mtiraoui, N; Zammiti, W; Ghazouani, L; Jmili Braham, N; Saidi, S; Finan, RR *et al*. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphism and changes in homocysteine concentrations in women with idiopathic recurrent pregnancy losses. *Society for Reproduction and Fertility*. 2006. 131: 395-401
7. Gilbody, S; Lewis, S; Lightfoot, T. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genetic polymorphisms and psychiatric disorders: AHuGE review. *Am J Epidemiol*. 2007. 165: 1-13.
8. Shannon, B; Gnanasampanthan, S; Beilby, J; Lacopetta, B. A polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene predisposes to colorectal cancers with microsatellite instability. *Gut*, 2002. 50: 20-524.
9. Sharp, L; Little, J. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism and colorectal neoplasia: A HuGE review. *Am J Epidemiol*. 2004. 159: 423-443.
10. Cui, LH; Shin, MH; Kim, HN; Song, HR; Piao, JM; Kweon, SS *et al*. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in patients with lung cancer in a Korean population. *BMC Medical Genetics*. 2011; 12:28.
11. Sadewa, AH; Sunarti Sutomo, R; Hayashi, C; Lee, MJ; Ayaki, H *et al*. The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene among the Indonesian Javanese population. *Kobe J. Med. Sci*. 2002; 48: 137-144.
12. Matsuo, K; Hamajima, N; Suzuki, R; Ogura, M; Kagami, Y; Taji, H *et al*. Methylenetetrahydrofolate reductase gene (*MTHFR*) polymorphisms and reduced risk of malignant lymphoma. *American Journal of Hematology*. 2004; 77: 351-357.
13. Somarajan, BI; Kalita, J; Mittal, B; Misra, UK. Evaluation of *MTHFR* C677T polymorphism in ischemic and hemorrhagic stroke patients. a case-control study in a Northern Indian population. *Journal of the Neurological Sciences*. 2011; 304(1-2): 67-70.
14. Micheal, S; Qamar, R; Akhtar, F; Khan, MI; Khan, WA; Ahmed, A. *MTHFR* gene C677T and A1298C polymorphisms and homocysteine levels in primary open angle and primary closed angle glaucoma. *Molecular Vision*. 2009; 5: 2268-2278.
15. Wilcken, B; Bamforth, F; Li, Z; Zhu, H; Ritvanen, A; Redlund, M. Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. *J Med Genet*. 2003; 40: 619-625.
16. Matevska, N; Josifovski, T; Kapedanovska, A; Sterjev, Z; Serafimoska, Z; Panosvski *et al*. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and risk of colorectal Cancer in the Macedonian population. *Balkan Journal Of Medical Genetics*. 2008; 10-24.
17. Behunova, J; Klimcakova, L; Zavadilkova, E; Potocekova, D; Sykora, P; Podracka, L. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and neural tube defects epidemiology in the Slovak population. *Birth Defects Research*. 2010; 88: 695-700.
18. Osian, G; Procopciuc, L; Vlad, L. *MTHFR* polymorphisms as prognostic factors in sporadic colorectal cancer. *Gastrointest Liver Dis*. 2007; 16: 251-256.

19. Zanrosso, CW; Emerenciano, M; Figueiredo, A; Reis, M; Cordeiro, SNS; Splendore, A *et al.* Influência da metileno-tetrahidrofolato redutase na patogênese das leucemias agudas infantis. *Revista Brasileira de Cancerologia*. 2005; 51(4): 289-295.
20. Couto, FD; Adorno, EV; Menezes, JF; Neto, JPM; Rêgo, MAV; Reis, MG *et al.* C677T polymorphism of the *MTHFR* gene and variant hemoglobins: a study in newborn s from Salvador, Bahia, Brazil. *Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro*. 2004; 20(2): 529-533.
21. Muniz, MTC; Siqueira, ERF; Fonseca, RA; D'Almeida, V; Hotta, JK; Santos, JE dos. Avaliação da relação entre o polimorfismo C677T no gene para MTHFR e a concentração plasmática de homocisteína na doença arterial coronariana. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2006; 50(6): 1059-1065.
22. Sabino, A; Fernandes, AP; Lima, LM; Ribeiro, DD; Sousa, MO; Santos, MER de, C *et al.* Polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) gene and homocysteine levels: a comparison in Brazilian patients with coronary arterial disease, ischemic stroke and peripheral arterial obstructive disease. *J Thromb Thrombolysis*. 2009; 27: 82-87.
23. Yoshioka, FKN; Araújo, AG; Tavella, MH; Hamoy, IG; Guerreiro, JF. Prevalence of hereditary risk factors for thrombophilia in Belém, Brazilian Amazon. *Genetics and Molecular Biology*. 2006; 29 (1): 38-40.
24. Lima, CSP; Ortega, MM; Ozelo, MC; Araujo, RC; De Souza, CA, Lorand-Metze, I *et al.* Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), methionine synthase (MTR), methionine synthase reductase (MTRR), and thymidylate synthase (TYMS) in multiple myeloma risk. *Leukemia Research*. 2008; 32: 401-405.
25. Lopes, A. Análise do polimorfismo C677T da metileno-tetrahidrofolato redutase em pacientes com episódio de trombose venosa. 2006; 68 p. Dissertação (mestrado). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, MG.
26. Devi, ARR; Govindaiah, V; Ramakrishna, G; Naushad, SM. Prevalence of methylene tetrahydrofolate reductase polymorphism in South Indian population. *Current Science*. 2004; 86(3): 440-443.
27. Dusse, LMS; Carvalho, M das G; Bragança, WF; Paiva, SG; Godoi, LC; Guimarães, DAM *et al.* Inherited thrombophilias and pre-eclampsia in Brazilian women. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2007; 134: 20-23.
28. Johansson, M; Guelpen, BV; Hultdin, J; Wiklund, F; Adami, HO; Bälter, K *et al.* The MTHFR 677C/T polymorphism and risk of prostate cancer: results from the CAPS study. *Cancer Causes Control*. 2007; 18: 1169-1174.
29. Cicek, MS; Nock, NL; Li, L; Conti, DV; Casey, G; Witte, JS. Relationship between methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C genotypes and haplotypes and prostate cancer risk and aggressiveness. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004; 13(8): 1331-1336.
30. Silva, VC da; Ramos, FJ da C; Freitas, EM; Brito-Marques, PR de; Calvacanti, MN de H; D'Almeida, V *et al.* Alzheimer's disease in brazilian elderly has a relation with homocysteine but not with *MTHFR* polymorphisms. *Arq Neuropsiquiatr*. 2006; 64(4): 941-945.

**Endereço para correspondência:**

Prof. Dr. Giovanny Rebouças Pinto  
Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Reis Velloso  
Av. São Sebastião, 2891. Bairro Reis Velloso. CEP 64202-020. Parnaíba-PI  
e-mail: pintogr@ufpi.edu.br  
Fone: (86) 3323-5846

Recebido em 31.01.2012 – Aprovado em 28.05.2012