

# O papel do Complexo SNARE na susceptibilidade à Dependência de Álcool

Cibele Edom Bandeira<sup>1,2</sup>, Renata Basso Cupertino<sup>2</sup>, Claiton Henrique Dotto Bau<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ciências Biológicas, UFRGS (cibele.edom@gmail.com.br)

<sup>2</sup>Departamento de Genética, UFRGS



## Introdução

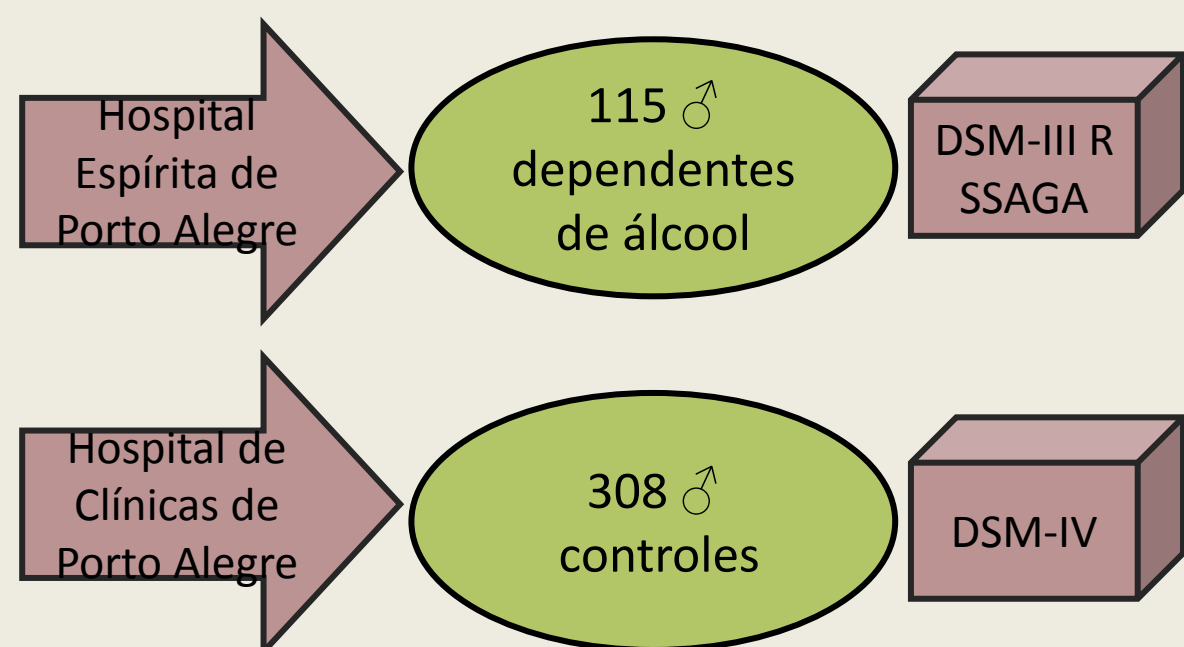
A Dependência de Álcool é um transtorno com alta prevalência e de etiologia multifatorial. Nesse sentido, têm se buscado fatores genéticos que estejam envolvidos na susceptibilidade ao transtorno, com destaque para aqueles relacionados à neurotransmissão. A liberação de neurotransmissores na fenda sináptica depende da formação de complexos proteicos que aproximem as membranas plasmática e vesicular e permitam a formação do poro de fusão para a liberação de tais neurotransmissores; processo no qual o Complexo SNARE (*Soluble NSF-Attachment Protein Receptors*; **Figura 1**), desempenha um papel chave. As principais proteínas que compõem o complexo são SNAP-25, Sintaxina-1A, VAMP-2 e proteínas regulatórias, como a Sinaptotagmina-1.

## Objetivos

- ❖ Avaliar o efeito principal e epistático dos polimorfismos nos genes do Complexo SNARE (*STX1A* rs2228607; *SYT1* rs1880867 e rs2251214; *VAMP2* 26 pb Ins/Del; *SNAP25* rs6108461 e rs8636) na susceptibilidade à Dependência de Álcool;
- ❖ Replicar possíveis associações em uma amostra independente.

## Material e Métodos

### AMOSTRA PRINCIPAL

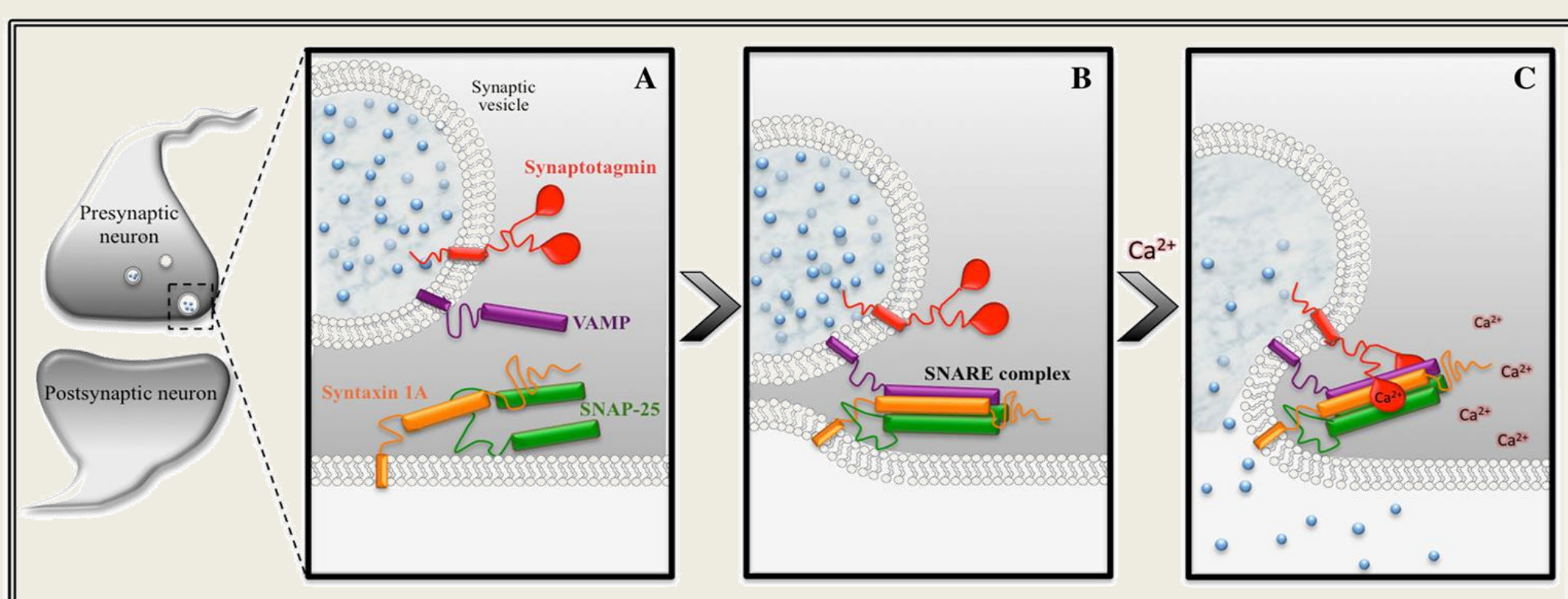
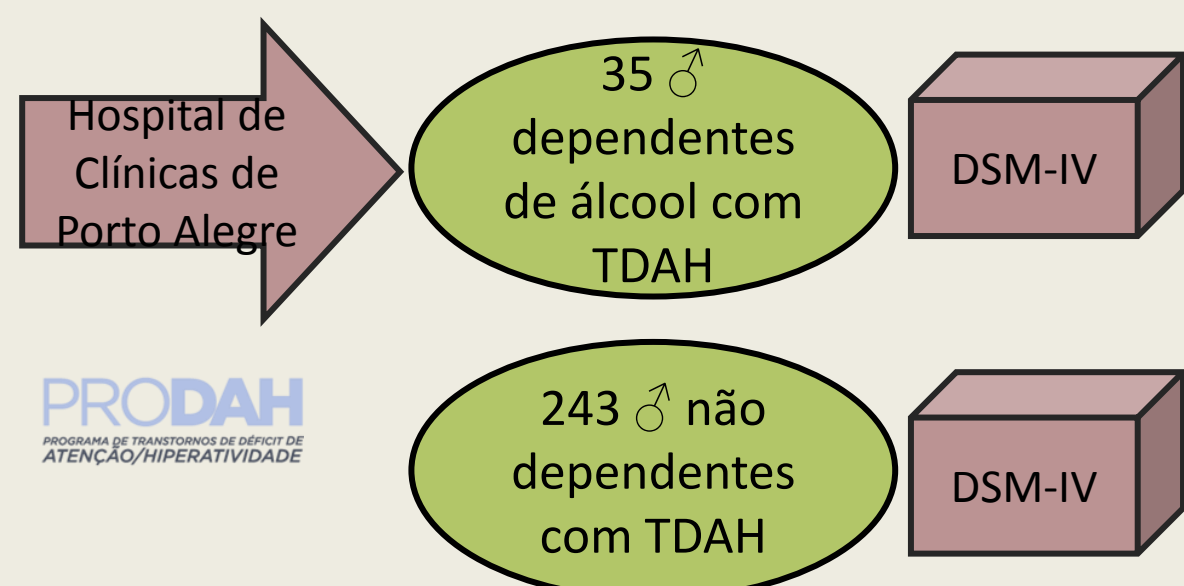


❖ Brancos / Descendentes de europeus

❖ **Extração de DNA:** *salting-out*;

❖ **Genotipagem:** *VAMP2* 26 bp Ins/Del: PCR convencional -> gel de agarose 3.5 % ; SNPs: *Real Time PCR* (discriminação alélica Taqman).

### REPLICAÇÃO



**Figura 1.** Complexo no terminal pré-sináptico. A. Proteínas do Complexo – SNAP-25 (em verde), Sintaxina 1A (em laranja), VAMP (em roxo) e Sinaptotagmina (em vermelho). B. A união das proteínas formadoras do Complexo aproxima as membranas plasmática e vesicular. C. Após o influxo de cálcio, a Sinaptotagmina se liga ao complexo, permitindo a abertura do poro de fusão e liberação dos neurotransmissores. Fonte: Cupertino et al. 2016 *J Neur Transm* 1-17.

## Resultados e Discussão

Foi observado um efeito do polimorfismo *VAMP2* 26 pb Ins/Del ( $p = 0.012$ ; **Tabela 1**), onde o genótipo Ins/Ins conferiu risco à Dependência de Álcool. Entretanto, esse resultado não sobreviveu à correção de Bonferroni para múltiplos testes, que diminuiu o limiar de significância para  $p < 0.008$ . O efeito observado foi replicado em indivíduos com Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade (TDAH;  $p = 0.008$ ).

**Tabela 1.** Influência do polimorfismo *VAMP2* – 26 pb Ins/Del na susceptibilidade à Dependência de Álcool

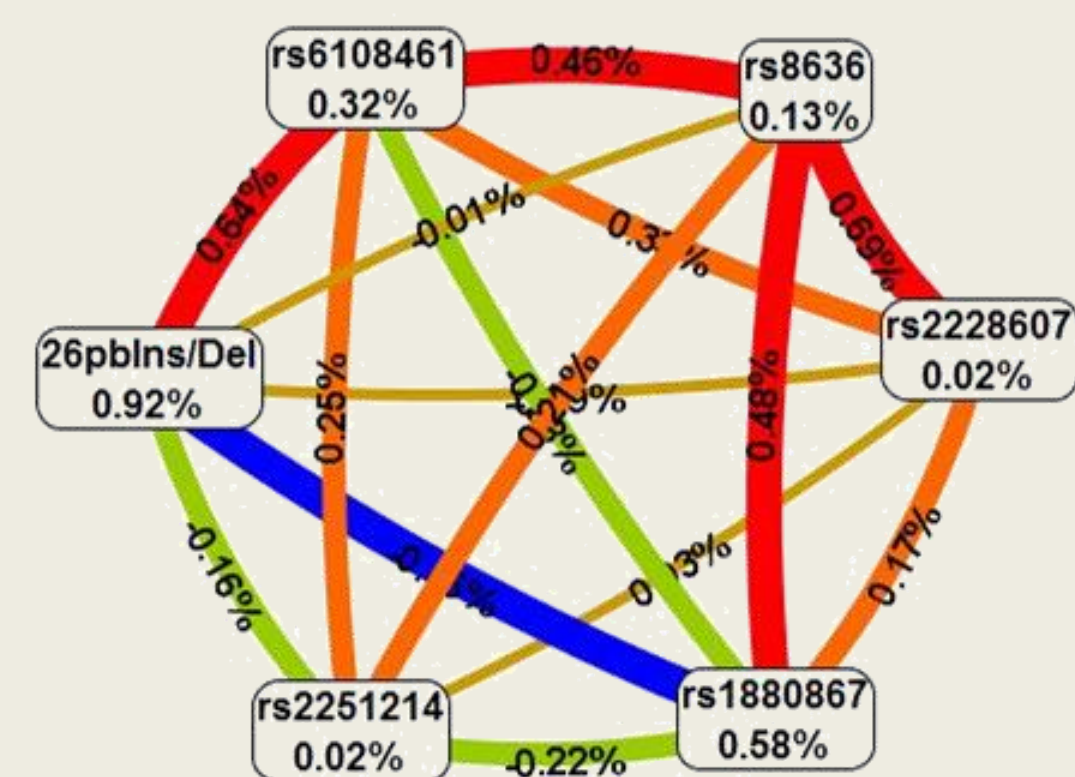
	Referência - n (%)	Teste- n (%)	OR (IC 95%)	Valor-p
<b>Amostra principal</b>	Del/Del + Ins/Del	Ins/Ins		
Casos (n=115)	21 (18.3)	94 (81.2)	2.21 (1.19-4.13)	0.012
Controles (n=308)	89 (28.9)	219 (71.1)		
<b>Replicação</b>	Del/Del + Ins/Del	Ins/Ins		
Casos (n=35)	3 (8.6)	32 (91.4)	5.29 (1.54-18.12)	<b>0.008</b>
Controles (n=243)	73 (30.0)	170 (70.0)		

OR: Odds Ratio; IC: Intervalo de Confiança. Idade foi utilizada como covariável na análise caso - controle.

Foi utilizado o software MDR (*Multifactor Dimensionality Reduction*) para avaliar o efeito de interações gene-gene (epistasia) na susceptibilidade à Dependência de Álcool. A análise baseada em entropia (Kamada-Kawai network) revelou um ganho de informação ao considerar o efeito epistático dos polimorfismos *STX1A*-rs2228607 e *SNAP25*-rs8636 na susceptibilidade à Dependência de Álcool (**Figura 2**). Porém, análises posteriores não confirmaram tal resultado. A inconsistência dos achados em relação à epistasia pode ser atribuída à falta de poder estatístico, devido ao baixo tamanho amostral. Dessa forma, deve-se explorar mais precisamente o efeito da interação entre os polimorfismos *STX1A*-rs2228607 e *SNAP25*-rs8636 na Dependência de Álcool em uma amostra maior.

Nossos resultados corroboram achados anteriores sobre um papel de genes do complexo SNARE na susceptibilidade a transtornos psiquiátricos, bem como a importância de considerar efeitos epistáticos em estudos genéticos.

**Figura 2.** Gráfico de entropia (Kamada-Kawai network) gerado pelo software MDR. As porcentagens indicadas abaixo de cada polimorfismo representam o quanto cada polimorfismo explica do fenótipo (Dependência de Álcool), onde nodos representam o efeito individual dos polimorfismos e as linhas as interações. Entropia positiva (efeitos de interação/sinergia) é representada pela linha vermelha, enquanto entropia negativa (redundância/correlação) é representada pelas linhas verdes ou azuis. A cor dourada indica independência.



## Perspectivas

- ❖ Aumentar o número amostral;
- ❖ Utilizar ferramentas de bioinformática para tentar elucidar as bases biológicas por trás do efeito principal do polimorfismo *VAMP2* 26pb Ins/Del;
- ❖ Melhor explorar os efeitos epistáticos dos polimorfismos *STX1A*-rs2228607 e *SNAP25*-rs8636.