

Efeito de polimorfismos do gene DAT1 sobre dose equivalente e complicações do uso crônico de levodopa em pacientes com Doença de Parkinson

Altmann, V¹; Schuh, AS²; Rieck, M¹; Francisconi, CLM²; Monte, TL²; Rosso, ALZ³; Nicaretta, DH⁴; Pereira, JS⁵; Bastos, IC⁶; Pimentel, M⁵; Rebouças, CBS⁵; Rieder, CRM²; Hutz, MH¹

¹Laboratório de Genética Humana, Departamento de Genética, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

²Serviço de Neurologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

³Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

⁴Santa Casa de Misericórdia, Rio de Janeiro.

⁵Laboratório de Genética, Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

⁶Instituto de Neurologia Deolindo Couto, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson é segunda doença neurodegenerativa mais comum, associada a uma perda de neurônios dopaminérgicos da substância negra do SNC e à degeneração dos terminais nervosos no estriado.

A terapia sintomática do Parkinson é feita principalmente pela levodopa e está associada com a melhora dos sintomas motores em cerca de 80% dos pacientes. Porém, essa terapia anti-parkinsoniana, com o uso continuado, provoca o surgimento de fenômenos indesejados como a flutuação motora, discinesia e alucinação. Além disso, a dose ótima para o controle adequado dos sintomas apresenta grande variação individual. Estudos recentes tem apontado fatores genéticos como importantes na patogênese da doença de Parkinson esporádica.

O transportador de dopamina (DAT1) é um neurotransmissor que tem importante papel na via dopaminérgica, por ser responsável pela recaptação de dopamina pré-sináptica. Acredita-se que polimorfismos no gene deste receptor possam influenciar a variabilidade na resposta ao uso de levodopa. O objetivo deste estudo é avaliar a influência de um VNTR de 40pb mapeado na região 3' não traduzida do gene (UTR) e um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) na região promotora (-839 C>T) do gene DAT1(SLC6A3).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram incluídos 165 pacientes em atendimento em clínicas de Distúrbios do Movimento de hospitais universitários de Porto Alegre e do Rio de Janeiro, com diagnóstico de doença de Parkinson idiopática, com idade de início dos sintomas acima de 45 anos e uso mínimo de 200mg de dose equivalente de levodopa por dia.

Coletou-se amostras dos pacientes em atendimento. A extração de DNA foi feita pelo método de *salting out* a partir de sangue periférico. Os polimorfismos foram amplificados pela técnica de *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Para identificar os genótipos do VNTR, os produtos de amplificação foram submetidos diretamente a eletroforese em gel de agarose a 2,5% contendo brometo de etídio. Os produtos de amplificação do SNP da região promotora foram clivados com MspI. Os fragmentos foram separados por eletroforese em gel de agarose a 3% corado com brometo de etídio.

As análises estatísticas foram feitas pelo programa SPSS 12.0.

RESULTADOS

Com o polimorfismo do VNTR 3', obteve-se a presença de 6 alelos de 3, 6, 8, 9, 10, e 11 repetições de 40pb. A frequência do genótipo 10/10 foi de 50%, que foi maior do que os demais genótipos (Tabela 1). A frequência do alelo de 9 repetições foi de 32,4% para a amostra do RS e de 40,6% para a

amostra do RJ. No DAT -839C/T, a frequência do genótipo CT foi de 47,1%. A frequência do alelo T foi de 37,5% para a amostra do RS e de 36,2% para a amostra do RJ.

Os fatores sexo masculino, idade de início da doença, tempo de duração da doença e dose equivalente de levodopa foram analisados nos dois polimorfismos. O fator dose equivalente de levodopa, controlando para tempo de doença, foi menor nos pacientes portadores do alelo de 9 repetições (665,80mg±370 vs 763,31mg±441,3; p=0,042) (Tabela 2). A dose equivalente de levodopa, controlando para tempo de doença, foi menor nos pacientes portadores do alelo de 9 repetições (665,80mg±370 vs 763,31mg±441,3; p=0,042).

Efeitos adversos da medicação como flutuação motora, discinesia e alucinações foram categorizados por presença ou ausência (Tabela 3). Ambos os polimorfismos foram estudados. Sobre o SNP da região promotora, verificou-se que em homozigotos para o alelo C, a frequência de alucinações era maior em comparação com os portadores do alelo T(OR 5,17 CI 95% 1,45-18,41 p=0,01).

Tabela 1. Distribuição genotípica do DAT VNTR e DAT -839C/T.

DAT VNTR		DAT -839C/T	
10/11	3(1,8%)	CC	38(24,5%)
10/10	83(50%)	CT	73(47,1%)
9/10	63(38%)	TT	44(28,4%)
9/9	12(7,2%)		
6/10	1(0,6%)		
6/9	1(0,6%)		
3/10	2(1,2%)		
8/10	1(0,6%)		

Tabela 2. Análises com os polimorfismos DAT VNTR 3' e DAT -839 C/T

	DAT VNTR				p	DAT -839C/T				p
	All (n=217)	9 allele present	9 allele absent			All (155)	CC	CT	TT	
Males	122(56,2%)	44(57,9%)	45(50,6%)		84(54,2%)	20(52,6%)	41(56,2%)	23(52,3%)	0,93	
Age at onset	60,64±9,8	62,05±8,99	60,62±10,64	0,26	61,37±9,81	59,82±10,95	61,37±9,9	62,73±8,56	0,44	
Disease duration	9,21±5,1	9,71±5,36	9,22±5,16	0,15	9,29±5,15	9,45±5,18	9,42±5,06	8,93±5,39	0,62	
Levodopa equivalent dosage	702,28±397,27	665,8±370,09	763,31±441,32	0,04	716,56±407,9	756,18±492,38	731,5±401,7	657,52±334,34	0,42	

Tabela 3. Efeitos adversos da levodopa

	Motor Fluctuation		p	Dyskinesia		p	Hallucination		p
	Present	Absent		Present	Absent		Present	Absent	
DAT VNTR	(n=87)	(n=63)		(n=42)	(n=67)		(n=36)	(n=115)	
9 absent	46	33	0,99	0,95(0,46-1,94)	22	40	18	63	0,62
9 present	41	30			20	27	18	52	1,22(0,56-2,62)
DAT -839C/T	(n=88)	(n=64)		(n=42)	(n=68)		(n=36)	(n=117)	
CC	21	17	0,6**	1,24(0,55-2,81)	10	17	3	35	0,01**
CT	44	27			21	33	26	46	5,17(1,45-18,41)
TT	23	20			11	18	7	36	

CONCLUSÃO

Os resultados mostram uma associação dos polimorfismos do DAT1 com a farmacogenética da doença de Parkinson na população estudada. O estudo mostrou uma influência do polimorfismo VNTR 3' do DAT1 sobre a dose da levodopa, podendo ser utilizado futuramente para uma dose ótima individual.

Apoio Financeiro:

