

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular**

**INFLUÊNCIA DOS GENES DRD2 E ANKK1 NA RESPOSTA AO  
TRATAMENTO DA DOENÇA DE PARKINSON**

**MARIANA RIECK**

**Dissertação submetida ao Programa  
de Pós-Graduação em Genética e  
Biologia Molecular da UFRGS como  
requisito parcial para a obtenção do  
grau de Mestre**

**Orientadora: Dr.<sup>a</sup> Mara H. Hutz**

**Porto Alegre, dezembro de 2012**

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de Genética Humana do Departamento de Genética do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e foi subvencionado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) e CAPES.

*À minha família,*

*Dedico*

---

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Mara H. Hutz, pela oportunidade que me deste de ser uma das tuas “filhas”, por acreditar no meu trabalho e pela orientação dedicada.

Ao Carlos Rieder e Artur Schuh, por todo apoio indispensável para a realização deste projeto.

Aos meus pais e meu irmão por todo amor, compreensão, colos e ensinamentos. Por rirem e chorarem comigo e sempre me mostrar como a vida é bonita e o quanto é valiosa. Sem vocês eu nada seria.

Aos meus avós, por todo apoio e incentivo à minha formação.

Aos meus amigos queridos Eduardo Minossi, Érico Loyola, Khalil Nieves e Thomas Kang, por me ajudarem de forma tão incondicional a manter a minha sanidade e me provarem a cada dia o valor das amizades.

Ao Tiago Salomon e ao Rafael Rauber, pelos excelentes cafés da tarde, companheirismo e pelas lágrimas secadas.

Ao meu eterno dindo Pedro Beschoren da Costa, por sempre me trazer as notícias mais maravilhosas.

As meninas do laboratório: Angélica, Deise, Estela, Gabi, Glaucia, Jaque, Ju, Lu Lima, Lu Tovo e Vivi, por deixarem meus dias muito mais risonhos e leves.

Aos meninos do laboratório: Artur, Diego, Guilherme e Vinícius, por sempre estarem à disposição para me ajudar.

À Elisa Kich, por estar sempre ao meu lado e ter aceitado ser minha irmã.

Ao Elmo, por toda dedicação ao Programa e por sempre estar à disposição para ajudar com um sorriso no rosto.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular – UFRGS, em especial a Professora Sidia M. Callegari-Jacques.

Aos órgãos que financiaram este projeto, e a todos aqueles que ajudaram a torná-lo possível.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES .....	6
RESUMO.....	7
ABSTRACT .....	9
CAPÍTULO I - <i>INTRODUÇÃO</i> .....	11
I.1. Considerações gerais .....	12
I.2. Geração do movimento – Alça Motora.....	13
I. 3. Farmacoterapia e seus Efeitos Adversos.....	15
I.4. Farmacogenética Da Doença De Parkinson .....	18
I.4.1 Receptor de Dopamina .....	19
I.4.2. DRD2 .....	20
I.4.3. ANKK1 .....	25
CAPÍTULO II - <i>JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS</i> .....	29
CAPÍTULO III - <i>DRD2 haplotype is associated with dyskinesia induced by levodopa therapy in Parkinson's disease patients.</i> .....	31
CAPÍTULO IV - <i>DISCUSSÃO</i> .....	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	47
ANEXO.....	69

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

AADC: Enzima L-aminoácido aromático decarboxilase

AC: Adenilato ciclase

ANKK1: *Ankyrin repeat and kinase domain containing 1*

cAMP: Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico

D2L: Isoforma longa do receptor de dopamina D2

D2S: Isoforma curta do receptor de dopamina D2

DAT: Transportador de dopamina

DDC: Dopa-decarboxilase

DP: Doença de Parkinson

DRD2: Receptor de dopamina D2

GABA: Ácido gama-aminobutírico

Ins/Del: Inserção/Deleção

kb: Kilo (quilo) pares de base

NF-κB: Fator nuclear kappaB

PET: Tomografia por emissão de pósitrons

SNP: *Single nucleotide polymorphism* (polimorfismos de nucleotídeo único)

VMAT2: Transportador vesicular de monoaminas 2

5-HT: Serotonina

## RESUMO

A doença de Parkinson é a segunda doença neurodegenerativa mais frequente na espécie humana. A doença é caracterizada por tremor de repouso, bradicinesia (lentidão para executar os movimentos) e rigidez muscular. Os pacientes apresentam um processo de degeneração da *substantia nigra*, região produtora de dopamina e que modula a geração e manutenção do movimento ao liberar dopamina no estriado. Entre todos os distúrbios neurodegenerativos, esse é o único que possui uma opção terapêutica realmente eficaz: o precursor de dopamina levodopa. Porém, efeitos adversos, como discinesia e flutuações motoras, surgem como frequentes e sérios problemas decorrentes do seu uso crônico.

O receptor de dopamina D2 (DRD2) é reconhecido como um dos maiores sítios de ação da dopamina no sistema nigroestriatal, controlando funções relacionadas ao movimento. Visto que fatores genéticos podem ter papel fundamental na determinação da ocorrência desses problemas, o objetivo do presente trabalho foi de investigar se polimorfismos na região dos genes DRD2 e ANKK1 (*ankyrin repeat and kinase domain containing 1*) estão associados com o risco de desenvolver discinesia e flutuações motoras em pacientes com Parkinson.

Foram selecionados e avaliados 199 pacientes do ambulatório de Distúrbios do Movimento do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (RS), com diagnóstico de doença de Parkinson idiopática. Foram excluídos pacientes com: menos de um ano de tratamento com levodopa, diagnóstico incerto ou características consistentes de parkinsonismo atípico. Cento e noventa e nove pacientes foram genotipados para os polimorfismos -141C Ins/Del (rs1799732), rs2283265, rs1076560, C957T (rs6277), TaqIA (rs1800497) e rs2734849 na região dos genes DRD2/ANKK1.

Portadores do haplótipo TTCTA apresentaram um risco aumentado para o aparecimento de discinesia ( $P=0.007$ ; 1.538 [CI95% 1.126-2.101]). Não foi encontrada nenhuma associação entre o polimorfismo -141C Ins/Del e risco para o desenvolvimento de discinesia. Nenhum polimorfismo ou haplótipo teve

associação com o aparecimento de flutuações motoras ou estava relacionado com a dose de medicação administrada diariamente aos pacientes.

Nossos dados sugerem que polimorfismos na região envolvendo os genes DRD2 e ANKK1 estão associados com o aparecimento de discinesia decorrente do uso prolongado de levodopa.



## ABSTRACT

Parkinson's disease is the second most common neurodegenerative disorder. The disease is marked by tremors, muscular rigidity, bradykinesia (slowness in the execution of movement) and postural instability. The patients present an ongoing degeneration process of *substantia nigra*, a dopamine producing region that modulates the generation and maintenance of movement by releasing dopamine in the striatum. The patients exhibit degeneration of *substantia nigra* dopamine, producing region and modulates the generation and maintenance of movement to release dopamine in the striatum. Among all neurodegenerative disorders, this is the only one who has a really effective therapeutic option: the dopamine precursor levodopa. However, its chronic use is associated with the occurrence of adverse effects such as motor fluctuations and dyskinesias.

The dopamine receptor type 2 (DRD2) is recognized as one of the largest sites of action of dopamine in the nigrostriatal circuit, controlling functions related to movement. Since genetic factors could play a role in determining the occurrence of those problems, the aim of the present study was to investigate whether polymorphisms among DRD2 and ANKK1 (ankyrin repeat and kinase domain containing 1) genes are associated with the risk of developing dyskinesia and motor fluctuations in Parkinson's disease patients.

A total of 199 patients diagnosed with idiopathic Parkinson's disease were recruited and evaluated at the Movement Disorder Clinics at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (RS). Patients with less than one year of treatment with levodopa, atypical or secondary Parkinsonisms were excluded. One hundred ninety-nine patients were genotyped for the -141C/Ins/Del, rs2283265, rs1076560, C957T, *TaqIA* and rs2734849 polymorphism at the DRD2/ANKK1 gene region.

Carriers of the TTCTA haplotype showed an increased risk for the presence of dyskinesia ( $P=0.007$ ; 1.538 [CI95% 1.126-2.101]). No association between the -141C Ins/Del polymorphism and dyskinesia was observed. No polymorphism or haplotype was associated with the appearance of motor

fluctuations or was related to the daily dosage medication administered to patients.

These results suggest that polymorphisms at the DRD2/ANKK1 gene region might play a role in the pathogenesis of levodopa-induced dyskinesia.

**CAPÍTULO I**

***INTRODUÇÃO***

---

## I.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A doença de Parkinson (DP), descrita pela primeira vez por James Parkinson em 1817 (Parkinson, 2002), é a segunda doença neurodegenerativa mais frequente na espécie humana e acomete cerca de 1 a 3% da população acima de 65 anos, o que hoje representa em torno de 5 milhões de pessoas. Aproximadamente 15% dos casos apresentam recorrência familiar. Apesar de ser uma doença majoritariamente de início tardio, 4% dos pacientes são diagnosticados com menos de 45 anos (Alves, *et al.*, 2008).

Clinicamente, a doença é caracterizada por tremor de repouso, bradicinesia (lentidão para executar os movimentos) e rigidez muscular. Essas alterações, usualmente, apresentam início assimétrico. Dificuldades na marcha e no controle do tônus postural (causando dores e cansaço), disfunção autonômica, perda de olfato, ansiedade, insônia e déficits cognitivos e comportamentais são sintomas que costumam estar associados com a evolução do quadro (Gelb, *et al.*, 1999). Todos esses achados clínicos constituem o que se costuma chamar de síndrome parkinsoniana, cuja causa mais frequente é a doença de Parkinson idiopática.

O substrato patológico diferencia uma síndrome parkinsoniana da doença de Parkinson idiopática, podendo ainda estar presente em etiologias diversas. O diagnóstico definitivo dessa afecção é obtido com o exame do cérebro post-mortem, onde será encontrada degeneração da *substantia nigra pars compacta*. Ademais, são observadas inclusões citoplasmáticas eosinofílicas, denominadas corpúsculos de Lewy, nas áreas de degeneração neuronal desses pacientes. Uma vez que o diagnóstico definitivo só é dado à necropsia, no contexto clínico existe um espectro de graus de certeza diagnóstica entre doença de Parkinson “provável” e doença de Parkinson “possível”, de acordo com as manifestações presentes e com a exclusão de outras etiologias (Gelb, *et al.*, 1999).

Quase 200 anos se passaram desde a descrição da doença, mas suas causas ainda são pouco conhecidas. Admite-se que vários fatores independentes contribuam para o seu surgimento. Uma interação entre a genética e o ambiente parece ser a explicação mais plausível para o desenvolvimento da DP. Nesse modelo, os indivíduos herdariam traços determinantes de maior susceptibilidade neuronal a agressões, tanto exógena (toxinas ambientais, p. ex.) como endógena (estresse oxidativo celular, p. ex.) (Tanner e Goldman, 1996, Schapira, 2006). Existem formas familiares da doença associadas à herança mendeliana, mas esses casos são raros e usualmente acometem indivíduos mais jovens (Bandmann, *et al.*, 1998, Duvoisin, 1998).

Um ponto crítico para o desenvolvimento da doença é a metabolização da dopamina dentro do sistema nigroestriatal. Em pH neutro ela consegue se auto-oxidar e, dentro das células onde o pH é mais baixo, sua metabolização gera grandes quantidades de espécies reativas, danificando as membranas lipídicas e impedindo um correto funcionamento mitocondrial (Obeso, *et al.*, 2010). Fora isso, o envelhecimento naturalmente diminui a eficiência energética das células. Indivíduos com alguma falha no sistema de eliminação dessas espécies reativas, bem como taxas de metabolização da dopamina elevadas, tornam-se candidatos a desenvolver essa doença neurodegenerativa.

## **I.2. GERAÇÃO DO MOVIMENTO – ALÇA MOTORA**

Os movimentos voluntários são gerados no córtex motor e o sinal é direcionado para os núcleos da base a fim de refinar a escolha dos músculos participantes do movimento e amplificar o sinal inicial. Os núcleos da base (núcleo caudado, putâmen e globo pálido), juntamente com o subtálamo e a *substantia nigra*, formam o circuito da alça motora e se organiza em duas vias:

a direta e a indireta. Estas duas vias trabalham em conjunto facilitando a iniciação e aprimorando a execução do movimento.

O sinal proveniente do córtex chega ao núcleo caudado e putâmen, de onde é redirecionado para o globo pálido. Se seguir pela via direta, as aferências chegarão ao globo pálido interno e seguirão para o núcleo ventrolateral do tálamo. Se seguirem pela via indireta, as aferências chegarão ao globo pálido externo, passarão pelo núcleo subtalâmico e a *substantia nigra pars reticulata*, se juntando a via direta no núcleo ventrolateral do tálamo. As duas vias trabalham em conjunto inibindo os neurônios excitatórios do tálamo através da liberação de ácido gama-aminobutírico (GABA) na fenda sináptica, gerando uma redução da atividade muscular. Porém, quando há um sinal do córtex cerebral esse circuito é inibido e permite a ativação do núcleo ventrolateral do tálamo, que por sua vez libera glutamato no córtex motor (Lewis, *et al.*, 2003).

Essa intrincada rede tem seu sinal modulado por aferências dopaminérgicas oriundas da *substantia nigra pars compacta*, por estimulação dos receptores de dopamina que se encontram nos neurônios espinhais médios do estriado. A *substantia nigra* se encontra no núcleo mesencefálico e recebe este nome por apresentar coloração escura decorrente da metabolização da dopamina em neuromelanina. A alça motora é a principal via implicada na fisiopatologia da DP devido à degeneração da *substantia nigra pars compacta* com consequente perda da estimulação dos receptores de dopamina que se encontram do estriado. Quando a morte celular chega a taxas de 50 a 70%, o sistema não consegue mais se sustentar e a modulação dos sinais que permitem e restringem o movimento muscular, que se torna anormal (Schnabel, 2010). Essa disfunção gera os tremores involuntários e faz com que movimentos voluntários sejam de difícil inicialização e manutenção, caracterizando a DP.

### I. 3. FARMACOTERAPIA E SEUS EFEITOS ADVERSOS

Na década de 1960, iniciou-se a farmacoterapia com o uso da levodopa para o tratamento da DP. Entre todos os distúrbios neurodegenerativos, esse é o único que possui uma opção terapêutica realmente eficaz. A levodopa é um precursor da dopamina, substância que está diminuída no circuito nigroestriatal. A droga passa livremente pela barreira hematoencefálica e, já nos neurônios nigrais, é convertida a dopamina pela enzima dopa-decarboxilase, permitindo um tônus de estimulação adequado ao núcleo estriado (Hardman e Limbird, 1996).

Apesar de ter sido considerada uma droga milagrosa, por devolver os movimentos e a liberdade para pacientes há muitos anos imobilizados, logo apareceram os problemas dessa terapia. A levodopa é uma molécula muito difícil de controlar terapêuticamente, devido a sua meia-vida curta e a falta de entendimento de sua farmacodinâmica (Abbott, 2010). Seu uso prolongado, associado aos aumentos de dose por perda de eficácia ao decorrer do tratamento, determina o surgimento de flutuações da resposta motora (fenômenos “*on-off*”, “*wearing-off*” e “*no-on*”) (Barbeau, 1976, Marsden e Parkes, 1977, Lesser, *et al.*, 1979).

Passando o período inicial chamado de “lua-de-mel” em que os sintomas da doença aparentam estar controlados, o tempo de duração dos benefícios da levodopa começa a encurtar e os sinais da doença ressurgem. Essa deterioração de final de dose é conhecida como fenômeno de “*wearing-off*”. Durante os estágios intermediários de complicações motoras, os pacientes podem apresentar flutuações imprevisíveis, passando do estado móvel (“*on*” - tratamento sendo efetivo) para o imóvel (“*off*” - sintomas característicos da doença) de forma abrupta e sem ligação com o tratamento farmacológico, em um fenômeno conhecido como “*on-off*” (ou flutuações complexas). Em estágio mais avançados observa-se o aparecimento do fenômeno “*no-on*” onde o medicamento não faz mais efeito algum (Bhidayasiri e Truong, 2008).

Com o avanço da severidade das lesões no sistema nigroestriatal, os níveis de dopamina não conseguem mais se manter constantes, mesmo com a utilização de levodopa, e os receptores de dopamina são expostos a uma grande variação de concentrações de dopamina. Esse estresse resulta no aparecimento da discinesia, que consiste no aparecimento de movimentos involuntários anormais e em excesso (hipercineses) (Krack, *et al.*, 1999, Del Sorbo e Albanese, 2008). A discinesia pode ser decorrente de uso de medicamentos, sendo de grande importância a discinesia induzida por levodopa. Fora do contexto da DP, pacientes com quadros psicóticos podem necessitar do uso de drogas bloqueadoras dopaminérgicas, os antipsicóticos (Tenback, *et al.*, 2010, Lai, *et al.*, 2011). Esses pacientes, após o uso crônico dessa medicação, podem apresentar quadro com fenomenologia semelhante a da discinesia induzida por levodopa.

Dois características são predominantes na discinesia induzida por levodopa: a distonia e a coreia (Fahn, 2000). A distonia é a contração e relaxamento dos músculos de forma involuntária, repetitiva, padronizada e muitas vezes com torções do corpo. Já coreia vem da palavra grega referente à dança, e se caracteriza por movimentos rápidos, breves, irregulares que não são repetitivos ou rítmicos, mas parecem fluir de um músculo para o outro.

Segundo Krack, *et al.*, (1999) e Bhidayasiri e Truong (2008), a discinesia induzida por levodopa pode ser diferenciada em três fases:

- Distonia do período “*off*”: os níveis plasmáticos de levodopa estão baixos (principalmente ao amanhecer), ocorrendo posturas distônicas fixas. É um período quase sempre doloroso para o paciente e normalmente piora devido ao estresse e a ansiedade.
- Discinesia difásica: aparece no começo e no final do efeito da levodopa, quando há o aumento e a diminuição de sua concentração. Os pacientes apresentam movimentos lentos, estereotipados e repetitivos, juntamente com tremores, caracterizando o começo ou o fim da fase “*on*”.



- Discinesia de pico de dose: é a forma mais comum de discinesia e ocorre no momento de máximo benefício da administração da levodopa, com sinais mínimos de parkinsonismo. Nesse momento se dá o aparecimento da coréia ou uma mistura de distonia e coréia, porém com a predominância da coréia.

Estima-se que 10% de todos os pacientes tratados com levodopa poderão desenvolver essas complicações em um ano e a prevalência total situa-se ao redor de 50% (Marsden e Parkes, 1977, Denny e Behari, 1999, Ahlskog e Muentner, 2001), mas pode chegar a 90% (Van Gerpen, *et al.*, 2006). Essas complicações alteram a qualidade de vida do paciente com Parkinson, levando a constantes modificações nas doses de levodopa, de esquemas posológicos complexos e, eventualmente, do uso de outras medicações. Os pacientes são confrontados com um grande paradoxo, pois o mesmo agente que fornece alívio dos sintomas parkinsonianos é a causa da discinesia.

Alguns fatores clínicos parecem predispor um paciente com DP a apresentar complicações da terapia com levodopa. Entre eles: sexo feminino (Zappia, *et al.*, 2005), início precoce da doença (Cedarbaum, *et al.*, 1991), tempo de tratamento com levodopa (Barbeau, 1976, de Jong, *et al.*, 1987), tempo de doença, gravidade da doença quando da iniciação do tratamento terapêutico, e dose usada de levodopa (Caraceni, *et al.*, 1991, Grandas, *et al.*, 1999, Schrag e Quinn, 2000).

Na tentativa de diminuir esses efeitos adversos, uma complexa posologia foi desenvolvida, fazendo uso de:

- Inibidores da dopa-descarboxilase (tais como a carbidopa e a benzerazida);

- Inibidores da catecol-O-metiltransferase (COMT) e da monoamina oxidase (MAO), enzimas que metabolizam a dopamina (tais como selegilina e rasagilina);
- Agonistas da dopamina (como a apomorfina);
- Antiglutamatergicos (como a amantadina).

Esses são apenas alguns exemplos das drogas mais utilizadas. Inúmeras outras estão no mercado e outras tantas estão em desenvolvimento (Obeso, *et al.*, 2010).

#### **I.4. FARMACOGENÉTICA DA DOENÇA DE PARKINSON**

Nem todos os pacientes respondem da mesma maneira a um tratamento farmacológico, e essa grande variabilidade de resposta pode ser em parte explicada por diferenças no genoma. Através de uma abordagem gene candidato, a farmacogenética estuda a influência dos fatores genéticos na resposta individual aos fármacos, tanto no que diz respeito à eficácia como a efeitos adversos. Polimorfismos que afetam proteínas envolvidas com os efeitos bioquímicos e fisiológicos, com os mecanismos de ação das drogas (i. e. farmacodinâmica), bem como seu metabolismo e transporte (i. e. farmacocinética) são comumente apontados como sendo a fonte mais importante da variabilidade individual. A esperança é de que, ao se identificar os polimorfismos responsáveis por essa variabilidade se consiga individualizar a terapia medicamentosa, reduzindo a toxicidade e aumentando os benefícios do tratamento (Davies, 2006, Ma e Lu, 2011). Apesar de a DP ter o tratamento mais eficaz entre as doenças neurodegenerativas, os efeitos causados pela medicação acarretam grandes prejuízos na qualidade de vida do paciente e o

papel da farmacogenética no tratamento da doença é relativamente inexplorado (Arbouw, *et al.*, 2007).

É importante caracterizar toda a seqüência e leque de ação da levodopa, a droga de eleição, para entendermos sua farmacodinâmica e farmacocinética, avançando na tentativa de aumentar o bem estar dos pacientes. A levodopa é transformada em dopamina dentro das fibras dopaminérgicas da *substantia nigra* e liberada na fenda sináptica, fazendo contato com os receptores de dopamina das células do estriado. Com isso, os receptores de dopamina se tornam um alvo promissor no estudo da farmacogenética da doença de Parkinson.

#### **I.4.1 Receptor de Dopamina**

Os receptores de dopamina formam uma família de cinco membros que se dividem em dois grandes grupos: classe D1 e D2 de receptores de dopamina. Essa divisão foi baseada em estudos bioquímicos e se norteia na forma como o receptor modula a atividade da adenilato ciclase (AC) e a produção de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (cAMP). A classe D1 (composta pelos receptores D1 e D5) ativa a família de proteína  $G\alpha_{s/olf}$  ocasionando a estimulação da produção de cAMP pela AC. Eles se encontram exclusivamente na membrana pós-sináptica. A classe D2 (composta pelos receptores D2, D3 e D4) ativa a família de proteína  $G\alpha_{i/o}$  ocasionando a inibição da produção de cAMP pela AC (Beaulieu e Gainetdinov, 2011).

Ao contrário da classe D1, os receptores D2 e D3 se encontram tanto na membrana pós-sináptica quanto na pré-sináptica. Evidências sugerem que a atividade motora é primariamente controlada pelos receptores de dopamina D1, D2 e D3, sendo o efeito de D1 e D3 moderado e o de D4 e D5 mínimo sobre a estimulação da motricidade (Missale, *et al.*, 1998, Sibley, 1999, Joseph, *et al.*,

2002, Rondou, *et al.*, 2010). Assim, o receptor de dopamina D2 é reconhecido como um dos maiores sítios de ação da dopamina no circuito nigroestriatal. Seu efeito é mais complexo devido à presença na membrana pré e pós-sináptica. Autorreceptores na membrana pré-sináptica originam um importante mecanismo de *feedback* negativo, ajustando a taxa de disparo neuronal, a síntese e a liberação do neurotransmissor, em resposta a alterações nos níveis de neurotransmissores extracelulares (Wolf e Roth, 1990, Missale, *et al.*, 1998, Sibley, 1999). A separação entre via direta e indireta da alça motora é feita a partir dos neurônios espinhais médios. Os que expressam seletivamente receptores de dopamina D1 seguirão pela via direta, os que expressam seletivamente D2 seguirão pela indireta. Apenas de 5 a 15% dos neurônios espinhais médios expressam concomitantemente os dois receptores (Valjent, *et al.*, 2009).

#### **I.4.2. DRD2**

O gene do receptor de dopamina humano D2 (DRD2) está localizado no cromossomo 11 (11q.23.2) em uma região de 65.56 kb, engloba oito éxons e expressa um mRNA de 2.713 kb que é traduzido para uma proteína de 443 aminoácidos (Grandy, *et al.*, 1989, Missale, *et al.*, 1998). O escape do éxon 6, por splicing alternativo, leva a um mRNA 29 aminoácidos mais curto, aminoácidos estes localizados no terceira alça da proteína. A isoforma curta é denominada de D2S e a longa de D2L, sendo as duas formas expressas nas mesmas células (Picetti, *et al.*, 1997). Estudos *in vivo* sugerem que D2S atua como autorreceptor e se concentra na membrana pré-sináptica, enquanto D2L se encontra preferencialmente na membrana pós-sináptica (Usiello, *et al.*, 2000). *In vitro*, as duas isoformas aparentam possuir capacidade equivalente de regular a excitabilidade neuronal bem como a liberação de dopamina, sugerindo que a expressão dominante do D2S nos neurônios dopaminérgicos

seja a responsável pelo direcionamento da função (Jomphe, *et al.*, 2006), mas mais estudos são necessários para se determinar se há diferença ou não de função entre as duas isoformas.

Os autorreceptores pré-sinápticos modulam a liberação do próprio neurotransmissor (Starke, *et al.*, 1989, Benoit-Marand, *et al.*, 2001), prevenindo que seja excessiva (Thompson, *et al.*, 1993) e fazendo o ajuste fino na intensidade do sinal (Isaacson, *et al.*, 1993, Wu e Saggau, 1997). No caso do receptor de dopamina D2 o autorreceptor previne a liberação extracelular excessiva de dopamina quando ocorre a onda de liberação do neurotransmissor e atrasa e prolonga a inibição da próxima onda (Benoit-Marand, *et al.*, 2001).

Muitos estudos já mostraram a associação do DRD2 com diferentes fenótipos, tais como mecanismos de recompensa e dependência a drogas (Missale, *et al.*, 1998, Hyman, *et al.*, 2006, Di Chiara e Bassareo, 2007, De Mei, *et al.*, 2009, Koob e Volkow, 2010,), aprendizado e memória (Xu, *et al.*, 2009, Frank e Fossella, 2011), surtos psicóticos (Seeman, *et al.*, 2006), esquizofrenia (Roth, *et al.*, 2004, Ayalew, *et al.*, 2012), comportamento (Sibley, 1999) e déficit de atenção e hiperatividade (Wu, *et al.*, 2012). A proteína codificada pelo DRD2 é reconhecida como um dos maiores sítios de ação da dopamina no circuito nigroestriatal e já há na literatura alguns trabalhos que avaliam seus polimorfismos em associação com os efeitos adversos da levodopa, muitos com resultados contraditórios (Oliveri, *et al.*, 1999, Goetz, *et al.*, 2001, Kaiser, *et al.*, 2003, Zappia, *et al.*, 2005, Paus, *et al.*, 2008, Liu, *et al.*, 2009).

O DRD2 engloba um total de 559 polimorfismos de nucleotídeo único (SNP), sendo 21 deles em regiões codificantes e sete são modificações não-sinônimas (Gorwood, *et al.*, 2012). Os polimorfismos escolhidos para o estudo deste gene serão caracterizados a seguir:

### **a) Polimorfismo -141C Ins/Del (rs1799732)**

O polimorfismo -141C Ins/Del é caracterizado por uma inserção/ deleção de uma citosina na região promotora do DRD2 e é provavelmente funcional. Um estudo *in vitro*, utilizando construções com luciferase em dois tipos celulares (células Y-79 e 293), apresentou uma diminuição na força do promotor nos fragmentos que continham o alelo -141C Del, enquanto um estudo *in vivo* mostrou, através de tomografia por emissão de pósitrons (PET) em voluntários saudáveis, uma associação entre o alelo Del e uma alta densidade de receptores de dopamina no estriado (Arinami, *et al.*, 1997, Jonsson, *et al.*, 1999). Assim como a associação com esquizofrenia (Arinami, *et al.*, 1997, Breen, *et al.*, 1999, Inada, *et al.*, 1999, Mihara, *et al.*, 2001, Kaiser, *et al.*, 2002, Nakazono, *et al.*, 2005, Lafuente, *et al.*, 2008a, Lafuente, *et al.*, 2008b, Cordeiro, *et al.*, 2009) e dependência ao álcool e a nicotina (Ishiguro, *et al.*, 1998, Parsian, *et al.*, 2000, Lerman, *et al.*, 2006, Preuss, *et al.*, 2007, Saiz, *et al.*, 2010, Voisey, *et al.*, 2012), a associação desse polimorfismo com a DP e com os efeitos adversos devidos a medicação ainda são inconsistentes (Higuchi, *et al.*, 1995, Oliveri, *et al.*, 1999, Maude, *et al.*, 2001, Kaiser, *et al.*, 2003, McGuire, *et al.*, 2011). A frequência desse polimorfismo varia conforme os grupos étnicos. Em populações europeias ou de sua ascendência, o alelo Del tem uma frequência de aproximadamente 10%, enquanto que na população africana esse mesmo alelo ocorre numa frequência de 40% (Gelernter, *et al.*, 1998, McGuire, *et al.*, 2011).

### **b) Polimorfismo rs2283265**

O polimorfismo rs2283265 foi mapeado no quinto íntron do DRD2, onde há uma substituição de uma guanina (alelo G) por uma timina (alelo T). Este

polimorfismo foi relatado pela primeira vez por Zhang, *et al.*, (2007), em um estudo que indica uma ligação entre esse polimorfismo e o *splicing* alternativo do gene. O alelo G gera um sítio de ligação para o fator de *splice* SRP55, enquanto o alelo T gera um sítio para o fator de *splice* SC35. O alelo T aparenta induzir uma menor quantidade de formação do D2S que o alelo G. Neste mesmo estudo foi observada uma associação robusta entre o polimorfismo rs2283265 e a atividade cerebral no estriado, tálamo, córtex pré-frontal dorsolateral e córtex pré-motor durante testes com a memória de trabalho e controle de atenção em humanos saudáveis. Já foram encontradas associações com esquizofrenia (Bertolino, *et al.*, 2009a, Glatt, *et al.*, 2009), enxaqueca (Corominas, *et al.*, 2009), tomada de decisão (Frank e Hutchison, 2009), abuso de cocaína (Moyer, *et al.*, 2011) e com o transtorno da compulsão alimentar periódica (Davis, *et al.*, 2012).

A frequência do alelo T é de aproximadamente 17% em europeus, 45% em asiáticos e 9% em africanos (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html>). Não há relatos na literatura sobre a associação desse polimorfismo com a DP e nem com os efeitos adversos gerados pela medicação.

### **c) Polimorfismo rs1076560**

O polimorfismo rs1076560 se localiza no sexto íntron do DRD2 e se caracteriza por uma substituição de uma guanina (alelo G) por uma timina (alelo T). O alelo T gera um sítio de ligação para o fator de *splice* SRP40 e teria papel no *splicing* alternativo, reduzindo a formação de D2S em favor do DRD2L (Zhang, *et al.*, 2007). A frequência do alelo T é de aproximadamente 13% em europeus, 45% em asiáticos e 10% em africanos (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html>).

Já foram observadas associações desse polimorfismo com dependência de álcool (Sasabe, *et al.*, 2007), resposta hormonal induzida por apomorfina em alcoolistas (Lucht, *et al.*, 2010), memória de trabalho em indivíduos saudáveis (Zhang, *et al.*, 2007, Bertolino, *et al.*, 2009b, Bertolino, *et al.*, 2010), esquizofrenia (Bertolino, *et al.*, 2009a, Blasi, *et al.*, 2011, Zheng, *et al.*, 2012), tomada de decisão (Frank e Hutchison, 2009), atividade motora cortical e comportamento (Fazio, *et al.*, 2011) e abuso de cocaína (Moyer, *et al.*, 2011). Blasi, *et al.*, (2009) observaram influencia deste polimorfismo nos traços de personalidade relacionados ao processamento de emoções e na variabilidade individual das respostas cerebrais específicas para entradas emocionalmente relevantes. Nenhum estudo relacionando o polimorfismo rs1076560 com a DP foi feito até agora.

#### **d) Polimorfismo C957T (rs6277)**

O polimorfismo C957T (rs6277) localiza-se no sétimo éxon do DRD2 e determina uma substituição de uma citosina (alelo C) por uma timina (alelo T) codificando uma mudança silenciosa (prolina para prolina) no códon 319. A presença do alelo T parece reduzir a estabilidade do mRNA, conforme um estudo *in vitro* (Duan, *et al.*, 2003). Já estudos *in vivo* relacionaram a presença do alelo T com uma alta disponibilidade de DRD2 no estriado de indivíduos saudáveis (Hirvonen, *et al.*, 2004) e com diminuição da afinidade do receptor (Hirvonen, *et al.*, 2009). O alelo T encontra-se majoritariamente em populações eurodescendentes. Sua frequência nesse grupo é de aproximadamente 53%, enquanto que em grupos de asiáticos e africanos esse número gira em torno de 5% (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html>).

Estudos relatam associação desse polimorfismo com esquizofrenia (Lawford, *et al.*, 2005, Hanninen, *et al.*, 2006, Hoenicka, *et al.*, 2006, Allen, *et al.*, 2008, Monakhov, *et al.*, 2008, Betcheva, *et al.*, 2009, Fan, *et al.*, 2010),



consumo de álcool (Hill, *et al.*, 2008, Ponce, *et al.*, 2008, Yang, *et al.*, 2008, Kraschewski, *et al.*, 2009, Swagell, *et al.*, 2012), dependência de nicotina (Lerman, *et al.*, 2006, Perkins, *et al.*, 2008a, Perkins, *et al.*, 2008b, Wernicke, *et al.*, 2009, Voisey, *et al.*, 2012), traços de personalidade e comportamento (Davis, *et al.*, 2008, Voisey, *et al.*, 2009, White, *et al.*, 2009, Colzato, *et al.*, 2010, Huertas, *et al.*, 2010, Colzato, *et al.*, 2011, Walter, *et al.*, 2011, Mileva-Seitz, *et al.*, 2012), capacidade cognitiva (Bolton, *et al.*, 2010, Montag, *et al.*, 2012) e aprendizado motor (Huertas, *et al.*, 2012). Apesar desses estudos intensivos, não há trabalhos relacionando o polimorfismo C957T com a doença de Parkinson.

#### **I.4.3. ANKK1**

O DRD2 está localizado muito próximo a região do gene ANKK1 (*ankyrin repeat and kinase domain-containing 1*) e, até 2004, polimorfismos encontrados neste segundo gene eram considerados como pertencentes ao DRD2. O ANKK1 se encontra na região cromossômica 11q.23.1, a 9.5 kb a jusante do DRD2, contém 8 éxons e codifica uma proteína de 765 aminoácidos. A estrutura predita da proteína inclui um domínio quinase serina/ treonina tirosina e 11 domínios repetidos de anquirina, usualmente envolvida em interações proteína-proteína (Dubertret, *et al.*, 2004, Neville, *et al.*, 2004).

Hoenicka, *et al.*, (2010) demonstraram que mRNAs e proteínas do ANKK1 são expressos no sistema nervoso central de humanos adultos e roedores, mas exclusivamente em astrócitos e que o ANKK1 é ativado por apomorfina, um agonista dopaminérgico. Dados sugerem uma possível conexão entre variações dentro do ANKK1 e taxas de expressão do DRD2. Os dois genes estariam ligados por uma via indireta, pois ANKK1 regula o fator nuclear kappaB (NF-κB) (Huang, *et al.*, 2009) e a presença deste fator é necessária e suficiente para a transcrição do DRD2 (Bontempi, *et al.*, 2007).

Um total de 158 SNPs foram identificados no gene ANKK1, sendo 44 deles em regiões codificantes e 17 são modificações não-sinônimas (Gorwood, *et al.*, 2012). Os polimorfismos escolhidos para o estudo deste gene serão caracterizados a seguir:

#### **a) Polimorfismo Taq1A (rs1800497)**

O polimorfismo Taq1A foi identificado a 3' do códon de terminação do DRD2, no 8º éxon do gene ANKK1 e confere uma substituição de uma citosina (alelo A2) por uma timina (alelo A1), gerando uma troca de uma glutamina por uma lisina no códon 713. A frequência do alelo T é de aproximadamente 20% em europeus, 45% em asiáticos e 40% em africanos (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html>). Cinco estudos, incluindo três estudos post-mortem (Noble, *et al.*, 1991, Thompson J., *et al.*, 1997, Ritchie e Noble, 2003), observaram que portadores do alelo A1 possuem uma menor densidade de DRD2 no cérebro (Pohjalainen, *et al.*, 1998, Jonsson, *et al.*, 1999). Um estudo não encontrou associação entre o genótipo e a densidade de DRD2 (Guzey, *et al.*, 2012). Laakso *et al.* (2005) demonstraram que o alelo A1 está associado com uma atividade aumentada da enzima L-aminoácido aromático decarboxilase (AADC), que converte levodopa em dopamina, e Laine *et al.* (2001) observaram uma maior densidade do transportador de dopamina (DAT) em portadores do alelo A1. Garrido, *et al.*, (2011) demonstraram que células portadoras do alelo A2, após tratamento com apomorfina, tinham expressões basais mais elevadas que portadoras do alelo A1. Assim, é plausível a ideia de que este polimorfismo seja funcional.

Taq1A é a variação mais estudada numa ampla variedade de distúrbios psiquiátricos e traços de personalidade. Um grande número de estudos encontrou ligação desse polimorfismo com dependência ao álcool, traços antissociais, esquizofrenia, desordens alimentares e transtornos

comportamentais da infância. O alelo A1 está principalmente associado com vícios, desordens antissociais, desordens alimentares e déficit de atenção e hiperatividade. Enquanto que o alelo A2 está associado com esquizofrenia e transtornos compulsivos-obsessivos (revisado por Ponce, *et al.*, 2009). Em relação à DP, dois estudos já demonstraram associação positiva entre o alelo A1 e a doença (Oliveri, *et al.*, 2000, Singh, *et al.*, 2008). McGuire, *et al.*, (2011) observaram essa mesma associação em europeus não-hispânicos, mas a relação se dava no sentido oposto na população africana. Outro estudo encontrou uma tendência de associação com a doença quando ocorre interação entre o Taq1A e um polimorfismo no gene da monoamina oxidase B (Costa-Mallen, *et al.*, 2000). Os resultados ainda são contraditórios visto que três estudos não conseguiram replicar a associação entre Taq1A e a doença de Parkinson (Comings, *et al.*, 1991, Tan, *et al.*, 2003, Kiyohara, *et al.*, 2011). Bartres-Faz, *et al.*, (2007) relataram que pacientes com DP portadores do alelo A1 apresentam uma atividade cerebral aumentada e mais espalhada durante a execução de uma tarefa motora exigente. Como o desempenho entre os grupos era equivalente, ele concluiu que esse aumento de atividade ocorre por um mecanismo de compensação devido a uma diminuição da eficiência do sistema nos portadores do alelo A1.

Alguns estudos relacionando Taq1A com a farmacogenética da doença de Parkinson já foram publicados, descrevendo a associação com discinesia e flutuações motoras (Wang, *et al.*, 2001, Kaiser, *et al.*, 2003), embora em um trabalho essa associação não tenha sido observada (Lee, *et al.*, 2011). Paus, *et al.*, (2008) não observaram associação do polimorfismo Taq1A com a demanda diária de medicamento. Os estudos relacionando o polimorfismo Taq1A com a farmacogenética da DP são escassos e contraditórios, sendo de grande importância novas investigações para o entendimento dos mecanismos envolvidos na DP.

## **b) Polimorfismo rs2734849**

O polimorfismo rs2734849 foi mapeado no 8° éxon e determina uma troca de uma adenina (A) por uma guanina (G), o que gera uma substituição de uma arginina por uma histidina (respectivamente) no códon 490. A frequência do alelo G é de aproximadamente 47% em europeus, 5% em asiáticos e 9% em africanos (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html>). O alelo A estaria influenciando a afinidade de ligação do ANKK1 ao NF-κB e inibindo esse fator (Huang, *et al.*, 2009). Como a região promotora do DRD2 contém sítios de ligação para o NF-κB (Fiorentini, *et al.*, 2002, Bontempi, *et al.*, 2007) esta substituição aparenta estar envolvida na regulação da expressão do DRD2. Dubertret, *et al.*, (2010) relataram uma associação desse polimorfismo com esquizofrenia. Um estudo mostrou uma tendência de associação com consumo de nicotina (Ducci, *et al.*, 2011) e outro descreveu uma diminuição da atividade relativa de ANKK1 em dependentes de nicotina na presença do alelo G (Huang, *et al.*, 2009). Nada ainda foi feito em relação à doença de Parkinson.

## **CAPÍTULO II**

### ***JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS***

---

Com as estimativas de envelhecimento populacional para as próximas décadas, as doenças neurodegenerativas, que usualmente acometem indivíduos a partir da sexta década de vida, sofrerão um incremento significativo em sua incidência e prevalência, determinando novos cenários para a saúde pública e um desafio crescente para a Medicina. Entre essas desordens, a doença de Parkinson é a segunda mais frequente.

Ademais, em nosso meio, existe uma grande quantidade de pacientes parkinsonianos em uso de levodopa e parte deles apresentam eventos adversos pelo uso dessa medicação. Essas condições determinam significativa diminuição da qualidade de vida do paciente. Portanto, é fundamental que se estude os fatores que possam estar envolvidos na gênese das complicações motoras, o que fornecerá valiosas ferramentas para orientar as condutas clínicas, tanto no sentido de minimizar efeitos adversos, quanto no sentido de tentar evitá-los.

Reunindo todas essas informações, o principal objetivo do trabalho é identificar se polimorfismos dos genes DRD2 e ANKK1 possam estar associados com as diferenças individuais na resposta ao uso de levodopa. Essas diferenças podem ser devido à eficácia da medicação e/ou na ocorrência de efeitos adversos.

Sendo assim, são objetivos específicos deste trabalho:

1. Explorar o efeito da presença dos polimorfismos nos genes DRD2 e ANKK1 sobre a dose diária de medicação recomendada.
2. Determinar se polimorfismos nos genes DRD2 e ANKK1 estão associados com os efeitos adversos da terapia com levodopa, tais como discinesia e flutuações motoras.

### CAPÍTULO III

***DRD2 haplotype is associated with dyskinesia induced by levodopa therapy in Parkinson's disease patients.***

---

**Pharmacogenomics (13 : 1701 - 1710, 2012)**

**CAPÍTULO IV**

***DISCUSSÃO***

---



A discussão específica e completa, referente aos resultados obtidos no presente trabalho, se encontra no manuscrito (capítulo III). Neste capítulo serão abordados aspectos gerais, relacionados com a farmacogenética da doença de Parkinson e sua relação com os efeitos adversos decorrentes do tratamento com levodopa, bem como as perspectivas deste trabalho. Assim, pretende-se que o texto não seja repetitivo. Porém, alguma sobreposição é inevitável visto a complexidade do tema abordado.

Como mencionado no capítulo I, a doença de Parkinson é a segunda doença neurodegenerativa mais frequente na espécie humana e entre todos os distúrbios neurodegenerativos, esse é o único que possui uma opção terapêutica realmente eficaz: a levodopa. A levodopa consegue atravessar a barreira hematoencefálica e é convertida em dopamina, repondo assim o neurotransmissor que está faltando no sistema devido à morte dos neurônios nigroestriatais (Abbott, 2010). Os primeiros cinco anos de terapia são conhecidos como período de “lua-de-mel”, pois a medicação controla todos os sintomas parkinsonianos e o paciente se sente “curado”. Depois desse período começam a aparecer os efeitos adversos da medicação, tais como a discinesia e flutuação motora. A frequência dessas complicações é alta: essencialmente todos os pacientes devem desenvolver alguma complicação motora depois de uma década do início do tratamento (Marsden e Parkes, 1977, Denny e Behari, 1999, Ahlskog e Muentner, 2001, Van Gerpen, *et al.*, 2006). Apesar de tudo, muitos optam por continuar o tratamento e conviver com os efeitos adversos do que apresentar os sintomas parkinsonianos (Hung, *et al.*, 2010).

Os mecanismos responsáveis pelo aparecimento das complicações motoras ainda não estão completamente decifrados. A hipótese principal sugere que os pontos críticos para a indução e manutenção desses efeitos seriam os componentes pré-sinápticos, tais como produção, estocagem, controle de liberação e recaptação da dopamina pelos neurônios nigroestriatais; e pós-sinápticos, tais como estado do receptor e sinalização via segundo mensageiro nos neurônios do estriado (Ulusoy, *et al.*, 2010). Os neurônios que ainda se mantêm vivos apresentam uma resposta compensatória: aumentar suas ramificações em uma tentativa de manter a

densidade de terminais dopaminérgicos (Stanic, *et al.*, 2003a). Essa compensação seria talvez o motivo pelo qual os pacientes apresentem os primeiros sintomas da doença apenas depois que a morte celular chega a taxas de 50 a 70% (Schnabel, 2010). Embora esse brotamento tente manter a densidade dos terminais dopaminérgicos, as estruturas recém-formadas têm sua estrutura e função alterada (Stanic, *et al.*, 2003b).

Com a progressiva morte celular, esse mecanismo de compensação não consegue mais suprir o sistema, necessitando que outros entrem em ação. O armazenamento da dopamina fica em segundo plano e o neurotransmissor começa a ser liberado quase tão rapidamente quanto é sintetizado (Lee, *et al.*, 2008). Assim que o cérebro é inundado com a medicação, uma grande quantidade de dopamina é sintetizada e liberada na fenda. Estudos sugerem que a discinesia está relacionada com aumentos dramáticos dos níveis de dopamina na fenda sináptica e conseqüentemente a mudanças profundas no nível de estimulação do seu receptor (de la Fuente-Fernandez, *et al.*, 2001). Além disso, com a perda da capacidade de armazenamento, o tempo de efeito do medicamento irá gradualmente diminuir, gerando as flutuações motoras.

O presente trabalho buscou investigar a contribuição de polimorfismos na ocorrência dessas complicações motoras e a influência deles na dose de medicamento diária prescrita ao paciente. Para isso, escolhemos o gene DRD2, reconhecido como um dos maiores sítios de ação da dopamina no circuito nigroestriatal; e o ANKK1, por sua importância histórica, pois os polimorfismos encontrados no ANKK1 eram considerados como pertencentes ao DRD2 até 2004 (Neville, *et al.*, 2004) e seu papel na regulação da transcrição do DRD2. As análises revelaram que um haplótipo, formado pelos polimorfismos rs2283265, rs1076560, C957T - rs6277, TaqIA - rs1800497 e rs2734849, está relacionado ao risco do aparecimento de discinesia. Baseado em estudos funcionais, a presença em conjunto dos alelos TTCTA estaria associada com uma redução generalizada da expressão do DRD2.

Uma redução da expressão de DRD2 gera, conseqüentemente, uma diminuição das taxas da proteína tanto na membrana pré- quanto pós-sináptica. Indivíduos que naturalmente apresentam taxas reduzidas teriam mais

dificuldades de manter o ajuste fino da liberação de dopamina na fenda por apresentarem menos autorreceptores, e consequente perda do sinal de *feedback* negativo. Além do comprometimento da regulação na membrana pré-sináptica, a transmissão do sinal pela membrana pós-sináptica seria afetada. Teoricamente, esses indivíduos ficariam mais propícios do que portadores de outros haplótipos a variações severas do neurotransmissor na fenda, apresentando maior risco de desenvolver discinesia. Não foi encontrada nenhuma associação dos polimorfismos, individualmente ou em haplótipos, com as flutuações motoras ou a dose diária de medicamento.

Este estudo vem colaborar na construção do conhecimento da farmacogenética da DP por conseguir identificar um haplótipo na região dos genes DRD2 e ANKK1 associado ao aparecimento de discinesia. Estudos replicando e validando este achado seriam de extrema importância. Sugere-se a continuidade do estudo por meio de experimentos *in vivo*, através da técnica de PET, investigando se portadores deste haplótipo apresentam uma diminuição real da densidade de DRD2 no circuito nigroestriatal.

Além disso, esta é apenas uma pequena parte dos mecanismos envolvidos na manifestação da discinesia. Sabe-se que a levodopa é convertida em dopamina dentro das fibras dopaminérgicas da *substantia nigra* pela AADC, transcrito pelo gene da dopa-decarboxilase (DDC) e que é empacotada em vesículas pela proteína transportadora vesicular de monoaminas 2 (VMAT2) para ser liberada na fenda. Estudar os genes que transcrevem essas duas proteínas abriria o leque sobre o conhecimento da maquinaria pré-sináptica. Porém, neurônios dopaminérgicos não são os únicos que possuem essas duas proteínas. Neurônios serotoninérgicos expressam os genes DDC e VMAT2 de igual forma e possuem densa inervação no estriado e sua co-localização permite complexas interações entre os dois sistemas (Wallman, *et al.*, 2011).

Com a morte das fibras dopaminérgicas, a liberação da dopamina por essa via alternativa aumenta de importância (Huot, *et al.*, 2011, Cheshire e Williams, 2012). A dopamina liberada pelos neurônios serotoninérgicos não é regulada pelos autorreceptores do DRD2, presentes apenas nos neurônios

dopaminérgicos, inundando o cérebro de forma desregrada. Este fato contribuiria para as oscilações drásticas da disponibilidade do neuroreceptor no estriado e pode ser uma das explicações para o aparecimento dos efeitos adversos decorrentes do uso de levodopa, principalmente da discinesia (Carta, *et al.*, 2007, Carta, *et al.*, 2008a, Carta, *et al.*, 2008b, Nevalainen, *et al.*, 2011).

Outra consequência é a competição entre a dopamina e a serotonina, tanto pelos mecanismos de liberação e recaptção, quanto pelos neuroreceptores. Estudos apontam que a liberação de dopamina pelo sistema serotoninérgico é acompanhada por uma redução na liberação de serotonina (5-HT) (revisado por Huot, *et al.*, 2011). Além da redução de 5-HT na fenda por competição, foi demonstrada que os neurônios serotoninérgicos nos pacientes com PD sofrem atrofia e também morte (Gibb, 1989, Halliday, *et al.*, 1990a, Halliday, *et al.*, 1990b, Paulus e Jellinger, 1991, Gai, *et al.*, 1995). Em conjunto, estes dados sugerem que os neurônios serotoninérgicos são responsáveis por grande parte do manejo pré-sináptico aberrante de levodopa, e cada vez mais evidências de modelos animais sugerem que este é um mecanismo primário para a indução e manutenção da discinesia (Cheshire e Williams, 2012). Estudos com genes envolvidos nessa via secundária podem ser a chave para se desenvolver novas formas mais efetivas de tratamento.

A expectativa é de que no futuro, os principais componentes moleculares possam ser identificados, podendo o médico estar ciente desta informação na hora da prescrição dos medicamentos ou da tomada de decisão do tratamento e determinar o esquema posológico ideal para cada paciente. Com isso poderíamos almejar um retardamento, mitigação ou, utopicamente, a extinção destes efeitos adversos que prejudicam tanto a qualidade de vida dos pacientes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

Abbott A (2010) Levodopa: the story so far. *Nature* 466(7310):S6-7.

Ahlskog JE and Muentner MD (2001) Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature. *Mov Disord* 16(3):448-458.

Allen NC, Bagade S, McQueen MB, Ioannidis JP, Kavvoura FK, Khoury MJ, Tanzi RE and Bertram L (2008) Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. *Nat Genet* 40(7):827-834.

Alves G, Forsaa EB, Pedersen KF, Dreetz Gjerstad M and Larsen JP (2008) Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neurol* 255 Suppl 5:18-32.

Arbouw ME, van Vugt JP, Egberts TC and Guchelaar HJ (2007) Pharmacogenetics of antiparkinsonian drug treatment: a systematic review. *Pharmacogenomics* 8(2):159-176.

Arinami T, Gao M, Hamaguchi H and Toru M (1997) A functional polymorphism in the promoter region of the dopamine D2 receptor gene is associated with schizophrenia. *Hum Mol Genet* 6(4):577-582.

Ayalew M, Le-Niculescu H, Levey DF, Jain N, Changala B, Patel SD, Winiger E, Breier A, Shekhar A, Amdur R, et al. (2012) Convergent functional genomics of schizophrenia: from comprehensive understanding to genetic risk prediction. *Mol Psychiatry* 17(9):887-905.

Bandmann O, Marsden CD and Wood NW (1998) Genetic aspects of Parkinson's disease. *Mov Disord* 13(2):203-211.

Barbeau A (1976) Six years of high-level levodopa therapy in severely akinetic parkinsonian patients. *Arch Neurol* 33(5):333-338.

Bartres-Faz D, Marti MJ, Junque C, Sole-Padullés C, Ezquerra M, Bralten LB, Gaig C, Campdelacreu J, Mercader JM and Tolosa E (2007) Increased cerebral activity in Parkinson's disease patients carrying the DRD2 TaqIA A1 allele

during a demanding motor task: a compensatory mechanism? *Genes Brain Behav* 6(6):588-592.

Beaulieu JM and Gainetdinov RR (2011) The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev* 63(1):182-217.

Benoit-Marand M, Borrelli E and Gonon F (2001) Inhibition of dopamine release via presynaptic D2 receptors: time course and functional characteristics in vivo. *J Neurosci* 21(23):9134-9141.

Bertolino A, Fazio L, Caforio G, Blasi G, Rampino A, Romano R, Di Giorgio A, Taurisano P, Papp A, Pinsonneault J, et al. (2009a) Functional variants of the dopamine receptor D2 gene modulate prefronto-striatal phenotypes in schizophrenia. *Brain* 132(2):417-425.

Bertolino A, Fazio L, Di Giorgio A, Blasi G, Romano R, Taurisano P, Caforio G, Sinibaldi L, Ursini G, Popolizio T, et al. (2009b) Genetically determined interaction between the dopamine transporter and the D2 receptor on prefronto-striatal activity and volume in humans. *J Neurosci* 29(4):1224-1234.

Bertolino A, Taurisano P, Pisciotta NM, Blasi G, Fazio L, Romano R, Gelao B, Lo Bianco L, Lozupone M, Di Giorgio A, et al. (2010) Genetically determined measures of striatal D2 signaling predict prefrontal activity during working memory performance. *PLoS One* 5(2):9348.

Betcheva ET, Mushiroda T, Takahashi A, Kubo M, Karachanak SK, Zaharieva IT, Vazharova RV, Dimova, II, Milanova VK, Tolev T, et al. (2009) Case-control association study of 59 candidate genes reveals the DRD2 SNP rs6277 (C957T) as the only susceptibility factor for schizophrenia in the Bulgarian population. *J Hum Genet* 54(2):98-107.

Bhidayasiri R and Truong DD (2008) Motor complications in Parkinson disease: clinical manifestations and management. *J Neurol Sci* 266(1-2):204-215.

Blasi G, Lo Bianco L, Taurisano P, Gelao B, Romano R, Fazio L, Papazacharias A, Di Giorgio A, Caforio G, Rampino A, et al. (2009) Functional

variation of the dopamine D2 receptor gene is associated with emotional control as well as brain activity and connectivity during emotion processing in humans. *J Neurosci* 29(47):14812-14819.

Blasi G, Napolitano F, Ursini G, Taurisano P, Romano R, Caforio G, Fazio L, Gelao B, Di Giorgio A, Iacovelli L, et al. (2011) DRD2/AKT1 interaction on D2 c-AMP independent signaling, attentional processing, and response to olanzapine treatment in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(3):1158-1163.

Bolton JL, Marioni RE, Deary IJ, Harris SE, Stewart MC, Murray GD, Fowkes FG and Price JF (2010) Association between polymorphisms of the dopamine receptor D2 and catechol-o-methyl transferase genes and cognitive function. *Behav Genet* 40(5):630-638.

Bontempi S, Fiorentini C, Busi C, Guerra N, Spano P and Missale C (2007) Identification and characterization of two nuclear factor-kappaB sites in the regulatory region of the dopamine D2 receptor. *Endocrinology* 148(5):2563-2570.

Breen G, Brown J, Maude S, Fox H, Collier D, Li T, Arranz M, Shaw D and StClair D (1999) -141 C del/ins polymorphism of the dopamine receptor 2 gene is associated with schizophrenia in a British population. *Am J Med Genet* 88(4):407-410.

Caraceni T, Scigliano G and Musicco M (1991) The occurrence of motor fluctuations in parkinsonian patients treated long term with levodopa: role of early treatment and disease progression. *Neurology* 41(3):380-384.

Carta M, Carlsson T, Kirik D and Bjorklund A (2007) Dopamine released from 5-HT terminals is the cause of L-DOPA-induced dyskinesia in parkinsonian rats. *Brain* 130(Pt 7):1819-1833.

Carta M, Carlsson T, Munoz A, Kirik D and Bjorklund A (2008a) Involvement of the serotonin system in L-dopa-induced dyskinesias. *Parkinsonism Relat Disord* 14 Suppl 2:S154-158.



Carta M, Carlsson T, Munoz A, Kirik D and Bjorklund A (2008b) Serotonin-dopamine interaction in the induction and maintenance of L-DOPA-induced dyskinesias. *Prog Brain Res* 172:465-478.

Cedarbaum JM, Gandy SE and McDowell FH (1991) "Early" initiation of levodopa treatment does not promote the development of motor response fluctuations, dyskinesias, or dementia in Parkinson's disease. *Neurology* 41(5):622-629.

Cheshire PA and Williams DR (2012) Serotonergic involvement in levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease. *J Clin Neurosci* 19(3):343-348.

Colzato LS, Slagter HA, de Rover M and Hommel B (2011) Dopamine and the management of attentional resources: genetic markers of striatal D2 dopamine predict individual differences in the attentional blink. *J Cogn Neurosci* 23(11):3576-3585.

Colzato LS, van den Wildenberg WP, Van der Does AJ and Hommel B (2010) Genetic markers of striatal dopamine predict individual differences in dysfunctional, but not functional impulsivity. *Neuroscience* 170(3):782-788.

Comings DE, Comings BG, Muhleman D, Dietz G, Shahbahrani B, Tast D, Knell E, Kocsis P, Baumgarten R, Kovacs BW, et al. (1991) The dopamine D2 receptor locus as a modifying gene in neuropsychiatric disorders. *JAMA* 266(13):1793-1800.

Cordeiro Q, Siqueira-Roberto J, Zung S and Vallada H (2009) Association between the DRD2-141C Insertion/Deletion polymorphism and schizophrenia. *Arq Neuropsiquiatr* 67(2A):191-194.

Corominas R, Ribases M, Camina M, Cuenca-Leon E, Pardo J, Boronat S, Sobrido MJ, Cormand B and Macaya A (2009) Two-stage case-control association study of dopamine-related genes and migraine. *BMC Med Genet* 10:95.

Costa-Mallen P, Costa LG, Smith-Weller T, Franklin GM, Swanson PD and Checkoway H (2000) Genetic polymorphism of dopamine D2 receptors in Parkinson's disease and interactions with cigarette smoking and MAO-B intron 13 polymorphism. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 69(4):535-537.

Davies SM (2006) Pharmacogenetics, pharmacogenomics and personalized medicine: are we there yet? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*:111-117.

Davis C, Levitan RD, Kaplan AS, Carter J, Reid C, Curtis C, Patte K, Hwang R and Kennedy JL (2008) Reward sensitivity and the D2 dopamine receptor gene: A case-control study of binge eating disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 32(3):620-628.

Davis C, Levitan RD, Yilmaz Z, Kaplan AS, Carter JC and Kennedy JL (2012) Binge eating disorder and the dopamine D2 receptor: genotypes and sub-phenotypes. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 38(2):328-335.

de Jong GJ, Meerwaldt JD and Schmitz PI (1987) Factors that influence the occurrence of response variations in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 22(1):4-7.

de la Fuente-Fernandez R, Lu JQ, Sossi V, Jivan S, Schulzer M, Holden JE, Lee CS, Ruth TJ, Calne DB and Stoessl AJ (2001) Biochemical variations in the synaptic level of dopamine precede motor fluctuations in Parkinson's disease: PET evidence of increased dopamine turnover. *Ann Neurol* 49(3):298-303.

De Mei C, Ramos M, Iitaka C and Borrelli E (2009) Getting specialized: presynaptic and postsynaptic dopamine D2 receptors. *Curr Opin Pharmacol* 9(1):53-58.

Del Sorbo F and Albanese A (2008) Levodopa-induced dyskinesias and their management. *J Neurol* 255 Suppl 4:32-41.

Denny AP and Behari M (1999) Motor fluctuations in Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 165(1):18-23.

Di Chiara G and Bassareo V (2007) Reward system and addiction: what dopamine does and doesn't do. *Curr Opin Pharmacol* 7(1):69-76.

Duan J, Wainwright MS, Comeron JM, Saitou N, Sanders AR, Gelernter J and Gejman PV (2003) Synonymous mutations in the human dopamine receptor D2 (DRD2) affect mRNA stability and synthesis of the receptor. *Hum Mol Genet* 12(3):205-216.

Dubertret C, Bardel C, Ramoz N, Martin PM, Deybach JC, Ades J, Gorwood P and Gouya L (2010) A genetic schizophrenia-susceptibility region located between the ANKK1 and DRD2 genes. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34(3):492-499.

Dubertret C, Gouya L, Hanoun N, Deybach JC, Ades J, Hamon M and Gorwood P (2004) The 3' region of the DRD2 gene is involved in genetic susceptibility to schizophrenia. *Schizophr Res* 67(1):75-85.

Ducci F, Kaakinen M, Pouta A, Hartikainen AL, Veijola J, Isohanni M, Charoen P, Coin L, Hoggart C, Ekelund J, et al. (2011) TTC12-ANKK1-DRD2 and CHRNA5-CHRNA3-CHRNA4 influence different pathways leading to smoking behavior from adolescence to mid-adulthood. *Biol Psychiatry* 69(7):650-660.

Duvoisin RC (1998) Role of genetics in the cause of Parkinson's disease. *Mov Disord* 13 Suppl 1:7-12.

Fahn S (2000) The spectrum of levodopa-induced dyskinesias. *Ann Neurol* 47(4 Suppl 1):S2-9; discussion S9-11.

Fan H, Zhang F, Xu Y, Huang X, Sun G, Song Y, Long H and Liu P (2010) An association study of DRD2 gene polymorphisms with schizophrenia in a Chinese Han population. *Neurosci Lett* 477(2):53-56.

Fazio L, Blasi G, Taurisano P, Papazacharias A, Romano R, Gelao B, Ursini G, Quarto T, Lo Bianco L, Di Giorgio A, et al. (2011) D2 receptor genotype and striatal dopamine signaling predict motor cortical activity and behavior in humans. *Neuroimage* 54(4):2915-2921.

Fiorentini C, Guerra N, Facchetti M, Finardi A, Tiberio L, Schiaffonati L, Spano P and Missale C (2002) Nerve growth factor regulates dopamine D(2) receptor expression in prolactinoma cell lines via p75(NGFR)-mediated activation of nuclear factor-kappaB. *Mol Endocrinol* 16(2):353-366.

Frank MJ and Fossella JA (2011) Neurogenetics and pharmacology of learning, motivation, and cognition. *Neuropsychopharmacology* 36(1):133-152.

Frank MJ and Hutchison K (2009) Genetic contributions to avoidance-based decisions: striatal D2 receptor polymorphisms. *Neuroscience* 164(1):131-140.

Gai WP, Blessing WW and Blumbergs PC (1995) Ubiquitin-positive degenerating neurites in the brainstem in Parkinson's disease. *Brain* 118 (6):1447-1459.

Garrido E, Palomo T, Ponce G, Garcia-Consuegra I, Jimenez-Arriero MA and Hoenicka J (2011) The ANKK1 protein associated with addictions has nuclear and cytoplasmic localization and shows a differential response of Ala239Thr to apomorphine. *Neurotox Res* 20(1):32-39.

Gelb DJ, Oliver E and Gilman S (1999) Diagnostic criteria for Parkinson disease. *Arch Neurol* 56(1):33-39.

Gelernter J, Kranzler H, Cubells JF, Ichinose H and Nagatsu T (1998) DRD2 allele frequencies and linkage disequilibria, including the -141CIns/Del promoter polymorphism, in European-American, African-American, and Japanese subjects. *Genomics* 51(1):21-26.

Gibb WR (1989) Neuropathology in movement disorders. *J Neurol Neurosurg Psychiatry Suppl*:55-67.

Glatt SJ, Faraone SV, Lasky-Su JA, Kanazawa T, Hwu HG and Tsuang MT (2009) Family-based association testing strongly implicates DRD2 as a risk gene for schizophrenia in Han Chinese from Taiwan. *Mol Psychiatry* 14(9):885-893.

Goetz CG, Burke PF, Leurgans S, Berry-Kravis E, Blasucci LM, Raman R and Zhou L (2001) Genetic variation analysis in parkinson disease patients with and without hallucinations: case-control study. *Arch Neurol* 58(2):209-213.

Gorwood P, Le Strat Y, Ramoz N, Dubertret C, Moalic JM and Simonneau M (2012) Genetics of dopamine receptors and drug addiction. *Hum Genet* 131(6):803-822.

Grandas F, Galiano ML and Tabernero C (1999) Risk factors for levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease. *J Neurol* 246(12):1127-1133.

Grandy DK, Litt M, Allen L, Bunzow JR, Marchionni M, Makam H, Reed L, Magenis RE and Civelli O (1989) The human dopamine D2 receptor gene is located on chromosome 11 at q22-q23 and identifies a TaqI RFLP. *Am J Hum Genet* 45(5):778-785.

Guzey C, Allard P, Brannstrom T and Spigset O (2012) Radioligand binding to brain dopamine and serotonin receptors and transporters in Parkinson's disease: relation to gene polymorphisms. *Int J Neurosci* 122(3):124-132.

Halliday GM, Blumbergs PC, Cotton RG, Blessing WW and Geffen LB (1990a) Loss of brainstem serotonin- and substance P-containing neurons in Parkinson's disease. *Brain Res* 510(1):104-107.

Halliday GM, Li YW, Blumbergs PC, Joh TH, Cotton RG, Howe PR, Blessing WW and Geffen LB (1990b) Neuropathology of immunohistochemically identified brainstem neurons in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 27(4):373-385.

Hanninen K, Katila H, Kampman O, Anttila S, Illi A, Rontu R, Mattila KM, Hietala J, Hurme M, Leinonen E, et al. (2006) Association between the C957T polymorphism of the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia. *Neurosci Lett* 407(3):195-198.

Hardman JG e Limbird LE (1996) Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (As Bases Farmacológicas da Terapêutica). 9th edition. McGraw-Hill Interamericana Editores, México, 367-373.

Higuchi S, Muramatsu T, Arai H, Hayashida M, Sasaki H and Trojanowski JQ (1995) Polymorphisms of dopamine receptor and transporter genes and Parkinson's disease. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect* 10(2-3):107-113.

Hill SY, Hoffman EK, Zezza N, Thalamuthu A, Weeks DE, Matthews AG and Mukhopadhyay I (2008) Dopaminergic mutations: within-family association and linkage in multiplex alcohol dependence families. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 147B(4):517-526.

Hirvonen M, Laakso A, Nagren K, Rinne JO, Pohjalainen T and Hietala J (2004) C957T polymorphism of the dopamine D2 receptor (DRD2) gene affects striatal DRD2 availability in vivo. *Mol Psychiatry* 9(12):1060-1061.

Hirvonen M, Laakso A, Nagren K, Rinne JO, Pohjalainen T and Hietala J (2009) C957T polymorphism of dopamine D2 receptor gene affects striatal DRD2 in vivo availability by changing the receptor affinity. *Synapse* 63(10):907-912.

Hoenicke J, Aragues M, Rodriguez-Jimenez R, Ponce G, Martinez I, Rubio G, Jimenez-Arriero MA and Palomo T (2006) C957T DRD2 polymorphism is associated with schizophrenia in Spanish patients. *Acta Psychiatr Scand* 114(6):435-438.

Hoenicke J, Quinones-Lombrana A, Espana-Serrano L, Alvira-Botero X, Kremer L, Perez-Gonzalez R, Rodriguez-Jimenez R, Jimenez-Arriero MA, Ponce G and Palomo T (2010) The ANKK1 gene associated with addictions is expressed in astroglial cells and upregulated by apomorphine. *Biol Psychiatry* 67(1):3-11.

Huang W, Payne TJ, Ma JZ, Beuten J, Dupont RT, Inohara N and Li MD (2009) Significant association of ANKK1 and detection of a functional polymorphism with nicotine dependence in an African-American sample. *Neuropsychopharmacology* 34(2):319-330.

Huertas E, Buhler KM, Echeverry-Alzate V, Gimenez T and Lopez-Moreno JA (2012) C957T polymorphism of the dopamine D2 receptor gene is associated with motor learning and heart rate. *Genes Brain Behav* 11(6):677-683.

Huertas E, Ponce G, Koeneke MA, Poch C, Espana-Serrano L, Palomo T, Jimenez-Arriero MA and Hoenicka J (2010) The D2 dopamine receptor gene variant C957T affects human fear conditioning and aversive priming. *Genes Brain Behav* 9(1):103-109.

Hung SW, Adeli GM, Arenovich T, Fox SH and Lang AE (2010) Patient perception of dyskinesia in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 81(10):1112-1115.

Huot P, Fox SH and Brotchie JM (2011) The serotonergic system in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 95(2):163-212.

Hyman SE, Malenka RC and Nestler EJ (2006) Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annu Rev Neurosci* 29:565-598.

Inada T, Arinami T and Yagi G (1999) Association between a polymorphism in the promoter region of the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia in Japanese subjects: replication and evaluation for antipsychotic-related features. *Int J Neuropsychopharmacol* 2(3):181-186.

Isaacson JS, Solis JM and Nicoll RA (1993) Local and diffuse synaptic actions of GABA in the hippocampus. *Neuron* 10(2):165-175.

Ishiguro H, Arinami T, Saito T, Akazawa S, Enomoto M, Mitushio H, Fujishiro H, Tada K, Akimoto Y, Mifune H, et al. (1998) Association study between the -141C Ins/Del and TaqI A polymorphisms of the dopamine D2 receptor gene and alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 22(4):845-848.

Jomphe C, Tiberi M and Trudeau LE (2006) Expression of D2 receptor isoforms in cultured neurons reveals equipotent autoreceptor function. *Neuropharmacology* 50(5):595-605.

Jonsson EG, Nothen MM, Grunhage F, Farde L, Nakashima Y, Propping P and Sedvall GC (1999) Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their

relationships to striatal dopamine receptor density of healthy volunteers. *Mol Psychiatry* 4(3):290-296.

Joseph JD, Wang YM, Miles PR, Budygin EA, Picetti R, Gainetdinov RR, Caron MG and Wightman RM (2002) Dopamine autoreceptor regulation of release and uptake in mouse brain slices in the absence of D(3) receptors. *Neuroscience* 112(1):39-49.

Kaiser R, Hofer A, Grapengiesser A, Gasser T, Kupsch A, Roots I and Brockmoller J (2003) L -dopa-induced adverse effects in PD and dopamine transporter gene polymorphism. *Neurology* 60(11):1750-1755.

Kaiser R, Tremblay PB, Klufmoller F, Roots I and Brockmoller J (2002) Relationship between adverse effects of antipsychotic treatment and dopamine D(2) receptor polymorphisms in patients with schizophrenia. *Mol Psychiatry* 7(7):695-705.

Kiyohara C, Miyake Y, Koyanagi M, Fujimoto T, Shirasawa S, Tanaka K, Fukushima W, Sasaki S, Tsuboi Y, Yamada T, et al. (2011) Genetic polymorphisms involved in dopaminergic neurotransmission and risk for Parkinson's disease in a Japanese population. *BMC Neurol* 11:89.

Koob GF and Volkow ND (2010) Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology* 35(1):217-238.

Krack P, Pollak P, Limousin P, Benazzouz A, Deuschl G and Benabid AL (1999) From off-period dystonia to peak-dose chorea. The clinical spectrum of varying subthalamic nucleus activity. *Brain* 122 (6):1133-1146.

Kraschewski A, Reese J, Anghelescu I, Winterer G, Schmidt LG, Gallinat J, Finckh U, Rommelspacher H and Wernicke C (2009) Association of the dopamine D2 receptor gene with alcohol dependence: haplotypes and subgroups of alcoholics as key factors for understanding receptor function. *Pharmacogenet Genomics* 19(7):513-527.



Laakso A, Pohjalainen T, Bergman J, Kajander J, Haaparanta M, Solin O, Syvalahti E and Hietala J (2005) The A1 allele of the human D2 dopamine receptor gene is associated with increased activity of striatal L-amino acid decarboxylase in healthy subjects. *Pharmacogenet Genomics* 15(6):387-391.

Lafuente A, Bernardo M, Mas S, Crescenti A, Aparici M, Gasso P, Deulofeu R, Mane A, Catalan R and Carne X (2008a) Polymorphism of dopamine D2 receptor (TaqIA, TaqIB, and -141C Ins/Del) and dopamine degradation enzyme (COMT G158A, A-278G) genes and extrapyramidal symptoms in patients with schizophrenia and bipolar disorders. *Psychiatry Res* 161(2):131-141.

Lafuente A, Bernardo M, Mas S, Crescenti A, Aparici M, Gasso P, Goti J, Sanchez V, Catalan R and Carne X (2008b) -141C Ins/Del polymorphism of the dopamine D2 receptor gene is associated with schizophrenia in a Spanish population. *Psychiatr Genet* 18(3):122-127.

Lai IC, Mo GH, Chen ML, Wang YC, Chen JY, Liao DL, Bai YM, Lin CC, Chen TT and Liou YJ (2011) Analysis of genetic variations in the dopamine D1 receptor (DRD1) gene and antipsychotics-induced tardive dyskinesia in schizophrenia. *Eur J Clin Pharmacol* 67(4):383-388.

Laine TP, Ahonen A, Rasanen P, Pohjalainen T, Tiihonen J and Hietala J (2001) The A1 allele of the D2 dopamine receptor gene is associated with high dopamine transporter density in detoxified alcoholics. *Alcohol Alcohol* 36(3):262-265.

Lawford BR, Young RM, Swagell CD, Barnes M, Burton SC, Ward WK, Heslop KR, Shadforth S, van Daal A and Morris CP (2005) The C/C genotype of the C957T polymorphism of the dopamine D2 receptor is associated with schizophrenia. *Schizophr Res* 73(1):31-37.

Lee J, Zhu WM, Stanic D, Finkelstein DI, Horne MH, Henderson J, Lawrence AJ, O'Connor L, Tomas D, Drago J, et al. (2008) Sprouting of dopamine terminals and altered dopamine release and uptake in Parkinsonian dyskinesia. *Brain* 131(6):1574-1587.

Lee JY, Cho J, Lee EK, Park SS and Jeon BS (2011) Differential genetic susceptibility in diphasic and peak-dose dyskinesias in Parkinson's disease. *Mov Disord* 26(1):73-79.

Lerman C, Jepson C, Wileyto EP, Epstein LH, Rukstalis M, Patterson F, Kaufmann V, Restine S, Hawk L, Niaura R, et al. (2006) Role of functional genetic variation in the dopamine D2 receptor (DRD2) in response to bupropion and nicotine replacement therapy for tobacco dependence: results of two randomized clinical trials. *Neuropsychopharmacology* 31(1):231-242.

Lesser RP, Fahn S, Snider SR, Cote LJ, Isgreen WP and Barrett RE (1979) Analysis of the clinical problems in parkinsonism and the complications of long-term levodopa therapy. *Neurology* 29(9-1):1253-1260.

Lewis SJ, Caldwell MA and Barker RA (2003) Modern therapeutic approaches in Parkinson's disease. *Expert Rev Mol Med* 5(10):1-20.

Liu YZ, Tang BS, Yan XX, Liu J, Ouyang DS, Nie LN, Fan L, Li Z, Ji W, Hu DL, et al. (2009) Association of the DRD2 and DRD3 polymorphisms with response to pramipexole in Parkinson's disease patients. *Eur J Clin Pharmacol* 65(7):679-683.

Lucht M, Samochowiec A, Samochowiec J, Jasiewicz A, Grabe HJ, Geissler I, Rimmbach C, Roskopf D, Grzywacz A, Wysiecka JP, et al. (2010) Influence of DRD2 and ANKK1 genotypes on apomorphine-induced growth hormone (GH) response in alcohol-dependent patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34(1):45-49.

Ma Q and Lu AY (2011) Pharmacogenetics, pharmacogenomics, and individualized medicine. *Pharmacol Rev* 63(2):437-459.

Marsden CD and Parkes JD (1977) Success and problems of long-term levodopa therapy in Parkinson's disease. *Lancet* 1(8007):345-349.

Maude S, Curtin J, Breen G, Collier D, Russell G, Shaw D and Clair DS (2001) The -141C Ins/Del polymorphism of the dopamine D2 receptor gene is not

associated with either migraine or Parkinson's disease. *Psychiatr Genet* 11(1):49-52.

McGuire V, Van Den Eeden SK, Tanner CM, Kamel F, Umbach DM, Marder K, Mayeux R, Ritz B, Ross GW, Petrovitch H, et al. (2011) Association of DRD2 and DRD3 polymorphisms with Parkinson's disease in a multiethnic consortium. *J Neurol Sci* 307(1-2):22-29.

Mihara K, Kondo T, Suzuki A, Yasui N, Ono S, Otani K and Kaneko S (2001) No relationship between--141C Ins/Del polymorphism in the promoter region of dopamine D2 receptor and extrapyramidal adverse effects of selective dopamine D2 antagonists in schizophrenic patients: a preliminary study. *Psychiatry Res* 101(1):33-38.

Mileva-Seitz V, Fleming AS, Meaney MJ, Mastroianni A, Sinnwell JP, Steiner M, Atkinson L, Levitan RD, Matthews SG, Kennedy JL, et al. (2012) Dopamine receptors D1 and D2 are related to observed maternal behavior. *Genes Brain Behav* 11(6):684-694.

Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M and Caron MG (1998) Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 78(1):189-225.

Monakhov M, Golimbet V, Abramova L, Kaleda V and Karpov V (2008) Association study of three polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia in the Russian population. *Schizophr Res* 100(1-3):302-307.

Montag C, Bleek B, Faber J and Reuter M (2012) The role of the DRD2 C957T polymorphism in neuroticism in persons who stutter and healthy controls. *Neuroreport* 23(4):246-250.

Moyer RA, Wang D, Papp AC, Smith RM, Duque L, Mash DC and Sadee W (2011) Intronic polymorphisms affecting alternative splicing of human dopamine D2 receptor are associated with cocaine abuse. *Neuropsychopharmacology* 36(4):753-762.

Nakazono Y, Abe H, Murakami H, Koyabu N, Isaka Y, Nemoto Y, Murata S, Tsutsumi Y, Ohtani H and Sawada Y (2005) Association between neuroleptic drug-induced extrapyramidal symptoms and dopamine D2-receptor polymorphisms in Japanese schizophrenic patients. *Int J Clin Pharmacol Ther* 43(4):163-171.

Nevalainen N, Af Bjerken S, Lundblad M, Gerhardt GA and Stromberg I (2011) Dopamine release from serotonergic nerve fibers is reduced in L-DOPA-induced dyskinesia. *J Neurochem* 118(1):12-23.

Neville MJ, Johnstone EC and Walton RT (2004) Identification and characterization of ANKK1: a novel kinase gene closely linked to DRD2 on chromosome band 11q23.1. *Hum Mutat* 23(6):540-545.

Noble EP, Blum K, Ritchie T, Montgomery A and Sheridan PJ (1991) Allelic association of the D2 dopamine receptor gene with receptor-binding characteristics in alcoholism. *Arch Gen Psychiatry* 48(7):648-654.

Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Goetz CG, Marin C, Kordower JH, Rodriguez M, Hirsch EC, Farrer M, Schapira AH and Halliday G (2010) Missing pieces in the Parkinson's disease puzzle. *Nat Med* 16(6):653-661.

Oliveri RL, Annesi G, Zappia M, Civitelli D, De Marco EV, Pasqua AA, Annesi F, Spadafora P, Gambardella A, Nicoletti G, et al. (2000) The dopamine D2 receptor gene is a susceptibility locus for Parkinson's disease. *Mov Disord* 15(1):127-131.

Oliveri RL, Annesi G, Zappia M, Civitelli D, Montesanti R, Branca D, Nicoletti G, Spadafora P, Pasqua AA, Cittadella R, et al. (1999) Dopamine D2 receptor gene polymorphism and the risk of levodopa-induced dyskinesias in PD. *Neurology* 53(7):1425-1430.

Parkinson J (2002) An essay on the shaking palsy. 1817. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 14(2):223-236; discussion 222.

Parsian A, Cloninger CR and Zhang ZH (2000) Functional variant in the DRD2 receptor promoter region and subtypes of alcoholism. *Am J Med Genet* 96(3):407-411.

Paulus W and Jellinger K (1991) The neuropathologic basis of different clinical subgroups of Parkinson's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 50(6):743-755.

Paus S, Grunewald A, Klein C, Knapp M, Zimprich A, Janetzky B, Moller JC, Klockgether T and Wullner U (2008) The DRD2 TaqIA polymorphism and demand of dopaminergic medication in Parkinson's disease. *Mov Disord* 23(4):599-602.

Perkins KA, Lerman C, Coddington S, Jetton C, Karelitz JL, Wilson A, Jennings JR, Ferrell R, Bergen AW and Benowitz NL (2008a) Gene and gene by sex associations with initial sensitivity to nicotine in nonsmokers. *Behav Pharmacol* 19(5-6):630-640.

Perkins KA, Lerman C, Grottenthaler A, Ciccocioppo MM, Milanak M, Conklin CA, Bergen AW and Benowitz NL (2008b) Dopamine and opioid gene variants are associated with increased smoking reward and reinforcement owing to negative mood. *Behav Pharmacol* 19(5-6):641-649.

Picetti R, Saiardi A, Abdel Samad T, Bozzi Y, Baik JH and Borrelli E (1997) Dopamine D2 receptors in signal transduction and behavior. *Crit Rev Neurobiol* 11(2-3):121-142.

Pohjalainen T, Rinne JO, Nagren K, Lehtikoinen P, Anttila K, Syvalahti EK and Hietala J (1998) The A1 allele of the human D2 dopamine receptor gene predicts low D2 receptor availability in healthy volunteers. *Mol Psychiatry* 3(3):256-260.

Ponce G, Hoenicka J, Jimenez-Arriero MA, Rodriguez-Jimenez R, Aragues M, Martin-Sune N, Huertas E and Palomo T (2008) DRD2 and ANKK1 genotype in alcohol-dependent patients with psychopathic traits: association and interaction study. *Br J Psychiatry* 193(2):121-125.

Ponce G, Perez-Gonzalez R, Aragues M, Palomo T, Rodriguez-Jimenez R, Jimenez-Arriero MA and Hoenicka J (2009) The ANKK1 kinase gene and psychiatric disorders. *Neurotox Res* 16(1):50-59.

Preuss UW, Zill P, Koller G, Bondy B and Sokya M (2007) D2 dopamine receptor gene haplotypes and their influence on alcohol and tobacco consumption magnitude in alcohol-dependent individuals. *Alcohol Alcohol* 42(3):258-266.

Ritchie T and Noble EP (2003) Association of seven polymorphisms of the D2 dopamine receptor gene with brain receptor-binding characteristics. *Neurochem Res* 28(1):73-82.

Rondou P, Haegeman G and Van Craenenbroeck K (2010) The dopamine D4 receptor: biochemical and signalling properties. *Cell Mol Life Sci* 67(12):1971-1986.

Roth BL, Sheffler DJ and Kroeze WK (2004) Magic shotguns versus magic bullets: selectively non-selective drugs for mood disorders and schizophrenia. *Nat Rev Drug Discov* 3(4):353-359.

Saiz PA, Garcia-Portilla MP, Arango C, Morales B, Arias B, Corcoran P, Fernandez JM, Alvarez V, Coto E, Bascaran MT, et al. (2010) Genetic polymorphisms in the dopamine-2 receptor (DRD2), dopamine-3 receptor (DRD3), and dopamine transporter (SLC6A3) genes in schizophrenia: Data from an association study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34(1):26-31.

Sasabe T, Furukawa A, Matsusita S, Higuchi S and Ishiura S (2007) Association analysis of the dopamine receptor D2 (DRD2) SNP rs1076560 in alcoholic patients. *Neurosci Lett* 412(2):139-142.

Schapira AH (2006) Etiology of Parkinson's disease. *Neurology* 66(10 Suppl 4):S10-23.

Schnabel J (2010) Secrets of the shaking palsy. *Nature* 466(7310):S2-5.

Schrag A and Quinn N (2000) Dyskinesias and motor fluctuations in Parkinson's disease. A community-based study. *Brain* 123 (11):2297-2305.

Seeman P, Schwarz J, Chen JF, Szechtman H, Perreault M, McKnight GS, Roder JC, Quirion R, Boksa P, Srivastava LK, et al. (2006) Psychosis pathways converge via D2high dopamine receptors. *Synapse* 60(4):319-346.

Sibley DR (1999) New insights into dopaminergic receptor function using antisense and genetically altered animals. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 39:313-341.

Singh M, Khan AJ, Shah PP, Shukla R, Khanna VK and Parmar D (2008) Polymorphism in environment responsive genes and association with Parkinson disease. *Mol Cell Biochem* 312(1-2):131-138.

Stanic D, Finkelstein DI, Bourke DW, Drago J and Horne MK (2003a) Timecourse of striatal re-innervation following lesions of dopaminergic SNpc neurons of the rat. *Eur J Neurosci* 18(5):1175-1188.

Stanic D, Parish CL, Zhu WM, Krstew EV, Lawrence AJ, Drago J, Finkelstein DI and Horne MK (2003b) Changes in function and ultrastructure of striatal dopaminergic terminals that regenerate following partial lesions of the SNpc. *J Neurochem* 86(2):329-343.

Starke K, Gothert M and Kilbinger H (1989) Modulation of neurotransmitter release by presynaptic autoreceptors. *Physiol Rev* 69(3):864-989.

Swagell CD, Lawford BR, Hughes IP, Voisey J, Feeney GF, van Daal A, Connor JP, Noble EP, Morris CP and Young RM (2012) DRD2 C957T and TaqIA genotyping reveals gender effects and unique low-risk and high-risk genotypes in alcohol dependence. *Alcohol Alcohol* 47(4):397-403.

Tan EK, Tan Y, Chai A, Tan C, Shen H, Lum SY, Fook-Cheong SM, Teoh ML, Yih Y, Wong MC, et al. (2003) Dopamine D2 receptor TaqIA and TaqIB polymorphisms in Parkinson's disease. *Mov Disord* 18(5):593-595.

Tanner CM and Goldman SM (1996) Epidemiology of Parkinson's disease. *Neurol Clin* 14(2):317-335.

Tenback DE, van Harten PN, Slooff CJ and van Os J (2010) Incidence and persistence of tardive dyskinesia and extrapyramidal symptoms in schizophrenia. *J Psychopharmacol* 24(7):1031-1035.

Thompson J, Thomas N, Singleton A, Piggott M, Lloyd S, Perry EK, Morris CM, Perry RH, Ferrier IN and Court JA (1997) D2 dopamine receptor gene (DRD2) Taq1 A polymorphism: reduced dopamine D2 receptor binding in the human striatum associated with the A1 allele. *Pharmacogenetics* 7(6):479-484.

Thompson SM, Capogna M and Scanziani M (1993) Presynaptic inhibition in the hippocampus. *Trends Neurosci* 16(6):222-227.

Ulusoy A, Sahin G and Kirik D (2010) Presynaptic dopaminergic compartment determines the susceptibility to L-DOPA-induced dyskinesia in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 107(29):13159-13164.

Usiello A, Baik JH, Rouge-Pont F, Picetti R, Dierich A, LeMeur M, Piazza PV and Borrelli E (2000) Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. *Nature* 408(6809):199-203.

Valjent E, Bertran-Gonzalez J, Herve D, Fisone G and Girault JA (2009) Looking BAC at striatal signaling: cell-specific analysis in new transgenic mice. *Trends Neurosci* 32(10):538-547.

Van Gerpen JA, Kumar N, Bower JH, Weigand S and Ahlskog JE (2006) Levodopa-associated dyskinesia risk among Parkinson disease patients in Olmsted County, Minnesota, 1976-1990. *Arch Neurol* 63(2):205-209.

Voisey J, Swagell CD, Hughes IP, Morris CP, van Daal A, Noble EP, Kann B, Heslop KA, Young RM and Lawford BR (2009) The DRD2 gene 957C>T polymorphism is associated with posttraumatic stress disorder in war veterans. *Depress Anxiety* 26(1):28-33.



Voisey J, Swagell CD, Hughes IP, van Daal A, Noble EP, Lawford BR, Young RM and Morris CP (2012) A DRD2 and ANKK1 haplotype is associated with nicotine dependence. *Psychiatry Res* 196(2-3):285-289.

Wallman MJ, Gagnon D and Parent M (2011) Serotonin innervation of human basal ganglia. *Eur J Neurosci* 33(8):1519-1532.

Walter NT, Markett SA, Montag C and Reuter M (2011) A genetic contribution to cooperation: dopamine-relevant genes are associated with social facilitation. *Soc Neurosci* 6(3):289-301.

Wang J, Liu ZL and Chen B (2001) Association study of dopamine D2, D3 receptor gene polymorphisms with motor fluctuations in PD. *Neurology* 56(12):1757-1759.

Wernicke C, Reese J, Kraschewski A, Winterer G, Rommelspacher H and Gallinat J (2009) Distinct haplogenotypes of the dopamine D2 receptor gene are associated with non-smoking behaviour and daily cigarette consumption. *Pharmacopsychiatry* 42(2):41-50.

White MJ, Lawford BR, Morris CP and Young RM (2009) Interaction between DRD2 C957T polymorphism and an acute psychosocial stressor on reward-related behavioral impulsivity. *Behav Genet* 39(3):285-295.

Wolf ME and Roth RH (1990) Autoreceptor regulation of dopamine synthesis. *Ann N Y Acad Sci* 604:323-343.

Wu J, Xiao H, Sun H, Zou L and Zhu LQ (2012) Role of dopamine receptors in ADHD: a systematic meta-analysis. *Mol Neurobiol* 45(3):605-620.

Wu LG and Saggau P (1997) Presynaptic inhibition of elicited neurotransmitter release. *Trends Neurosci* 20(5):204-212.

Xu TX, Sotnikova TD, Liang C, Zhang J, Jung JU, Spealman RD, Gainetdinov RR and Yao WD (2009) Hyperdopaminergic tone erodes prefrontal long-term potential via a D2 receptor-operated protein phosphatase gate. *J Neurosci* 29(45):14086-14099.

Yang BZ, Kranzler HR, Zhao H, Gruen JR, Luo X and Gelernter J (2008) Haplotypic variants in DRD2, ANKK1, TTC12, and NCAM1 are associated with comorbid alcohol and drug dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 32(12):2117-2127.

Zappia M, Annesi G, Nicoletti G, Arabia G, Annesi F, Messina D, Pugliese P, Spadafora P, Tarantino P, Carrideo S, et al. (2005) Sex differences in clinical and genetic determinants of levodopa peak-dose dyskinesias in Parkinson disease: an exploratory study. *Arch Neurol* 62(4):601-605.

Zhang Y, Bertolino A, Fazio L, Blasi G, Rampino A, Romano R, Lee ML, Xiao T, Papp A, Wang D, et al. (2007) Polymorphisms in human dopamine D2 receptor gene affect gene expression, splicing, and neuronal activity during working memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 104(51):20552-20557.

Zheng C, Shen Y and Xu Q (2012) Rs1076560, a functional variant of the dopamine D2 receptor gene, confers risk of schizophrenia in Han Chinese. *Neurosci Lett* 518(1):41-44.





**HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE**  
**Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação**  
**COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE**

A Comissão Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB0000921) analisaram o projeto:

**Projeto:** 06-154

**Versão do Projeto:** 02/10/2006

**Versão do TCLE:** 10/10/2006

**Pesquisadores:**


CARLOS ROBERTO DE MELLO RIEDER  
ARTUR FRANCISCO SCHUMACHER SCHUH  
THAIS LAMPERT MONTE  
RAQUEL DA SILVA TOWNSEND  
DANIELE FRICKE  
RAPHAEL MACHADO DE CASTILHOS  
MARA HELENA HUTZ

**Título:** FARMACOGENÉTICA DA DOENÇA DE PARKINSON: ASSOCIAÇÃO ENTRE POLIMORFISMOS NOS GENES DRD1, DRD2, DRD3, DAT1, AADC, COMT E MAO-B COM COMPLICAÇÕES DO USO DE LEVODOPA

- Este projeto foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, inclusive quanto ao seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Os membros do CEP/HCPA não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente ao CEP/HCPA. Somente poderão ser utilizados os Termos de Consentimento onde conste a aprovação do GPPG/HCPA.

- De acordo com a regulamentação da Resolução 340/2004 do CNS/MS o CEP/HCPA foi credenciado, através da Carta Circular Nº 037 CONEP/CNS/MS de 11 de agosto de 2004, para dar aprovação final para este projeto.

Porto Alegre, 11 de outubro de 2006

  
Profª Nadine Clausell  
Coordenadora do GPPG e CEP-HCPA