



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA APLICADA À SAÚDE

**TIAGO FURTADO SAMPAIO**

**“AVALIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS NOS GENES (COMT, MAO-B, DAT1 E DRD2) EM PACIENTES COM A DOENÇA DE PARKINSON, TRATADOS COM LEVODOPA E ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO PRÓ-PARKINSON DO HOSPITAL DAS CLINICAS DE PERNAMBUCO”**

**Recife**

**2018**

**TIAGO FURTADO SAMPAIO**

**“AVALIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS NOS GENES (COMT, MAO-B, DAT1 E DRD2) EM PACIENTES COM A DOENÇA DE PARKINSON, TRATADOS COM LEVODOPA E ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO PRÓ-PARKINSON DO HOSPITAL DAS CLINICAS DE PERNAMBUCO”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia Aplicada à Saúde.

**Orientador:**

**Prof. Dr. Paulo Roberto Eleutério de Souza**

Departamento de Biologia- Área Genética /UFRPE;

Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde

Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami – LIKA/UFPE.

**Recife**

**2018**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD**

Sampaio, Tiago Furtado

Avaliação dos polimorfismos nos genes (COMT, MAOB, DAT1, e DRD2) em pacientes com a doença de Parkinson, tratados com levodopa e atendidos no ambulatório pró-parkinson do Hospital das Clínicas de Pernambuco / Tiago Furtado Sampaio. – 2018.

107 f. : il.

Orientador: Paulo Roberto Eleutério de Souza

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia Aplicada à Saúde, Recife, 2018.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Parkinson, Doença de 2. Cérebro – Doenças 3. Polimorfismo (Genética)l. Souza, Paulo Roberto Eleutério de (orient.) II. Título.

616.833  
UFPE/CB – 2018 – 230

CDD (22.ed.)

**Elaborado por Bruno Márcio Gouveia - CRB-4/178**

**TIAGO FURTADO SAMPAIO**

**“AVALIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS NOS GENES (COMT, MAO-B, DAT1 E DRD2)  
EM PACIENTES COM A DOENÇA DE PARKINSON, TRATADOS COM LEVODOPA E  
ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO PRÓ-PARKINSON DO HOSPITAL DAS CLINICAS  
DE PERNAMBUCO”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Biologia Aplicada à Saúde, da Universidade Federal de  
Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de  
Mestre em Biologia Aplicada à Saúde.

Aprovado em 27/02/2018

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof.º Dr. Paulo Roberto Eleutério de Souza  
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE  
Presidente da Banca Avaliadora

---

Prof. Dr. Rafael Guimaraes  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE  
Membro Interno – Titular

---

Prof. Dra. Nadja Maria Asano  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE  
Membro Externo- Titular

*As pessoas que sofrem com a Doença de Parkinson,*

*Aos meus pais Felipe e Edvane que nunca pouparam esforços para me proporcionar a oportunidade de estudar e sempre me incentivaram a dar o melhor de mim. As minhas avós Leninha e Vanda que sempre me apoiaram e acreditaram em mim. Ao meu Irmão Eduardo que me deu uma sobrinha linda, minha afilhada Alice.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu orientador Dr. Paulo Roberto Eleutério de Souza, por ter me concedido a oportunidade de desenvolver este mestrado, por todos os ensinamentos e exemplos que me foram transmitidos e pela sua dedicação e entusiasmo pela ciência, pois sem sua dedicação irrestrita a pesquisa nada disso seria possível.

Aos integrantes do projeto PRO-PARKINSON, principalmente ao Dr. Andore e Dra. Nadja, que são peças fundamentais para o funcionamento desse programa tão importante para as pessoas acometidas pela Doença de Parkinson no estado de Pernambuco.

Gostaria de agradecer também aos membros do grupo do professor Paulo, pela convivência e apoio para desenvolver esse projeto. Em especial, aos doutorandos e amigos Erinaldo Ubirajara e Géssica Lima por terem me ajudado a confeccionar os artigos e pelos momentos de descontração. A Dra. Rute Gueiros, pelos ensinamentos na bancada e orientação no início do mestrado. A Isaura Gomes, Victor Vasconcelos, Samantha Amorim, Elaine Bandeira e Fernanda Guedes e todos os demais membros do grupo do professor Paulo, pelos inúmeros seminários e discussões científicas que tivemos nesse período, e que foram fundamentais para o meu desenvolvimento acadêmico e científico.

Além disso gostaria de agradecer aos professores, técnicos e amigos que formei no laboratório GENOMA e no LIKA durante o meu mestrado

**Muito obrigado**

## RESUMO

A doença de Parkinson (DP) é a segunda enfermidade neurodegenerativa mais frequente no mundo e acomete cerca de 1 a 3% das pessoas acima de 65 anos. A DP não tem cura e o seu tratamento consiste no uso de medicamentos que propiciam estímulo dopaminérgico, principalmente a Levodopa, possibilitando o controle dos sintomas motores. Entretanto, em aproximadamente cinco anos, 40% a 60% dos pacientes desenvolvem complicações (motoras ou não-motoras) induzidas pelo uso crônico destas medicações. O presente trabalho teve por objetivo investigar fatores genéticos associados com a via de degradação (*MAO-B* e *COMT*), transporte (*DAT1*) e recepção (*DRD2/ANKK1*) da dopamina e o aparecimento de efeitos adversos (flutuação motora, discinesia e alucinações visuais) induzidas pela terapia dopaminérgica. A população de estudo foi composta por 230 pacientes com DP, diagnosticados e atendidos no serviço PRO-PARKINSON do ambulatório de neurologia do Hospital das Clínicas (HC) da UFPE. Todas as genotipagens foram realizadas por meio da técnica de PCR-RFLP. Nossos resultados mostraram que homens hemizigóticos para o gene *MAOB*, portadores do alelo A e mulheres dizigóticas com genótipo AA (rs1799836), assim como, indivíduos portadores do genótipo *COMT* LL (rs4680) apresentaram mais frequentemente discinesia induzida por Levodopa (OR= 2,5; p= 0,01; OR= 5,5; p= 0,0001, respectivamente). Por outro lado, foi observado que indivíduos homozigotos para 9 repetições do gene *DAT1* (rs28363170) tiveram um efeito protetor para o desenvolvimento da discinesia (OR= 0,52; p= 0,50). Além disso, encontramos uma chance de risco 2,84 vezes maior para indivíduos do sexo masculino, hemizigóticos para o alelo G do gene *MAO-B* a serem tratados com doses maiores de Levodopa (p = 0,04). Baseado nesses resultados é possível concluir que, antes de iniciar-se a o tratamento farmacológico da DP, é importante levar em consideração tanto o sexo dos pacientes, como a presença de polimorfismos nos genes *MAO-B*, *COMT* e *DAT1*. Possibilitando desta forma, um tratamento personalizado e mais efetivo para os pacientes acometidos por esta doença.

**Palavras chaves:** Doença de Parkinson. Discinesia. Levodopa. Polimorfismos.

## ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is the second most frequent neurodegenerative disease and affects about 1 to 3% of people over 65 years. With the expectation of population aging, it is expected a proportional increase in the prevalence of this disease, which justifies the concern with the management of these patients. PD has no cure and its treatment consists in the use of drugs that provide dopaminergic stimulation, mainly Levodopa, which allows a control of the motor symptoms in the first years of use. However, in approximately five years, half of the patients will present complications (motor or non-motor) induced by the chronic use of these medications, which causes worse quality of life. The present work aimed to investigate genetic factors that are associated with the degradation pathway (MAO-B and COMT), transport (DAT1) and reception (DRD2 / ANKK1) of dopamine with the appearance of complications induced by dopaminergic therapy (motor fluctuation and dyskinesia) and dopaminergic demand (Levodopa dose). This study was performed with 230 patients with PD, diagnosed and attended at PRO-PARKINSON service of the Neurology clinic of the HC / UFPE. The genotyping was performed using the PCR-RFLP technique. Our results showed that male hemizygous carrying *MAOB* A and woman carrying *MAOB* AA genotype (rs1799836) and LL (rs4680) *COMT* genotypes were more frequently affected by Levodopa-induced dyskinesia (OR: = 2.5; p= 0.01; OR= 5.5; p= 0.0001). On the other hand, it was observed that the carriers of genotype 9/9 (rs28363170) of the DAT gene had a protective effect for the development of dyskinesia (OR= 0.52; p= 0.50.) In addition, we found a 2.84-fold higher risk for male individuals, who had the *MAO-B* G allele treated with higher doses of Levodopa (p = 0.04). Based on these results, it is possible to conclude that, prior to the initiation of the pharmacological treatment of PD, it is important to take into account both the sex of the patients as well as the presence of polymorphism into *MAO-B*, *COMT* and *DAT1* genes. This way, it is possible to set up a personalized and more effective treatment for the patients affected by PD

**Key-words:** Parkinson disease. Dyskinesia. Levodopa. Polymorphisms.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|                 |                                                                                                                                                                    |           |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>FIGURA 1</b> | <b>MODELO DE DOENÇA DE PARKINSON MONOGÊNICA.....</b>                                                                                                               | <b>16</b> |
| <b>FIGURA 2</b> | <b>ESQUEMA DO CIRCUITO DA ALÇA MOTORA EM<br/>PESSOAS NÃO PORTADORAS (A) E PORTADORAS (B)<br/>DA DOENÇA DE PARKINSON QUANDO DA GERAÇÃO DE<br/>UM MOVIMENTO.....</b> | <b>19</b> |
| <b>FIGURA 3</b> | <b>SÍNTESE DE DOPAMINA E SUA METABOLIZAÇÃO PELAS<br/>ENZIMAS MAOB E COMT.....</b>                                                                                  | <b>31</b> |
| <b>FIGURA 4</b> | <b>ESQUEMA FARMACOLÓGICO DO USO DO INIBIDOR DA<br/>MAOB.....</b>                                                                                                   | <b>32</b> |
| <b>FIGURA 5</b> | <b>METABOLISMO DAS CATECOLAMINAS.....</b>                                                                                                                          | <b>36</b> |

## **LISTA DE TABELAS**

|                 |                                                                                                                                        |           |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>TABELA 1</b> | <b>ESCALA DE ESTADIAMENTO HOEHN &amp; YAHR.....</b>                                                                                    | <b>23</b> |
| <b>TABELA 2</b> | <b>CRITÉRIOS NECESSÁRIOS PARA DIAGNOSTICO DA DP....</b>                                                                                | <b>25</b> |
| <b>TABELA 3</b> | <b>CLASSE DE MEDICAMENTOS UTILIZADOS NO<br/>TRATAMENTO DA DP E SEUS RESPECTIVOS FÁRMACOS<br/>DISPONÍVEIS PARA COMERCIALIZAÇÃO.....</b> | <b>26</b> |

## LISTA DE ABREVIACÕES/ SIGLAS

|                    |                                                     |
|--------------------|-----------------------------------------------------|
| 3-OMD:             | 3-O-Methyldopa                                      |
| A2A:               | Receptor de adenosina                               |
| ANKK1:             | Repetições de Domínios Ankyrin Contendo Quinase 1   |
| ATP13A2:           | ATPase tipo 13A2                                    |
| cAMP:              | AMP cíclico                                         |
| CL:                | Corpos de Lewy                                      |
| COMT:              | Catecol-orto-metil-transferase                      |
| DAT:               | Transportador de Dopamina                           |
| <i>DAT1:</i>       | <i>Gene do Transportador de dopamina</i>            |
| DDC:               | Dopa Decarboxilase                                  |
| DOPAC:             | Ácido 3,4-di-hidroxifenilacético                    |
| DP:                | Doença de Parkinson                                 |
| <i>DRD2:</i>       | <i>Gene do Receptor de Dopamina Tipo 2</i>          |
| HY:                | Escala Hoehn e Yahr                                 |
| <i>LRRK2:</i>      | <i>Gene da Leucina Rica em Quinases Repetidas 2</i> |
| MAOB:              | Monoamina Oxidase B                                 |
| MPP +:             | 1-metil-4-Fenilpiridínio                            |
| MPTP:              | 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-Tetraidropiridínio          |
| PARK5:             | Gene da Ubiquitina C-Terminal Hidrolase L1          |
| <i>PINK1:</i>      | <i>Gene da Proteína Quinase Putativa</i>            |
| RM:                | Ressonância Magnética                               |
| RNA <sub>m</sub> : | RNA mensageiro                                      |
| SNC:               | Sistema Nervoso Central                             |
| <i>SNCA:</i>       | <i>Gene da Alfa Sinucleína</i>                      |
| SNP:               | Polimorfismo de Base Única                          |
| TC:                | Tomografia Computadorizada                          |
| TH:                | Tirosina Hidroxilase                                |
| VNTR:              | Variação no Número de Repetições em Tandem          |

## SUMÁRIO

|                                                                   |           |
|-------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO.....</b>                                          | <b>13</b> |
| <b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>                               | <b>15</b> |
| 2.1 DOENÇA DE PARKINSON.....                                      | 15        |
| 2.1.2 Aspectos gerais.....                                        | 15        |
| 2.1.3 Neuropatologia da DP.....                                   | 17        |
| 2.1.4 Fatores de risco.....                                       | 20        |
| 2.1.5 Aspectos neuroprotetores na DP.....                         | 21        |
| 2.1.6 O diagnóstico da DP.....                                    | 22        |
| 2.1.7 Aspectos clínicos da DP.....                                | 24        |
| 2.2 TRATAMENTO DA DP.....                                         | 26        |
| 2.2.1 Levodopa associada a inibidor da dopa-descarboxilase.....   | 27        |
| 2.2.2 Efeitos adversos do uso crônico de Levodopa.....            | 27        |
| 2.2.3 Drogas agonistas de dopamina.....                           | 29        |
| 2.2.4 Esquema farmacológico de drogas inibidoras enzimáticas..... | 29        |
| 2.3 FARMACOGENÉTICA.....                                          | 33        |
| 2.3.1 Farmacogenética na doença de Parkinson.....                 | 33        |
| 2.3.2 Via de degradação da dopamina.....                          | 36        |
| 2.3.3 Monoamino oxidase B.....                                    | 37        |
| 2.3.4 Catecol O-Metiltransferase.....                             | 38        |
| 2.3.5 Receptores de Dopamina.....                                 | 39        |

|                                                                      |            |
|----------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>2.3.6 DRD2/ ANKK1.....</b>                                        | <b>41</b>  |
| <b>2.3.7 Transportador de dopamina.....</b>                          | <b>42</b>  |
| <b>3 OBJETIVOS.....</b>                                              | <b>43</b>  |
| <b>3.1 Objetivo Geral.....</b>                                       | <b>43</b>  |
| <b>3.2 Objetivos específicos.....</b>                                | <b>43</b>  |
| <b>4 ANÁLISE DOS RESULTADOS (ARTIGOS).....</b>                       | <b>44</b>  |
| Artigo I.....                                                        | 44         |
| Artigo II.....                                                       | 75         |
| <b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>                                   | <b>94</b>  |
| REFERENCIAS.....                                                     | 95         |
| <b>ANEXO A- PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA.....</b>                      | <b>101</b> |
| <b>ANEXO B- CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO .....</b>                    | <b>102</b> |
| <b>ANEXO C CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO.....</b>                      | <b>103</b> |
| <b>APENDICE A- QUESTIONÁRIO DOS PACIENTES.....</b>                   | <b>104</b> |
| <b>APENDICE B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)</b> | <b>106</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum no mundo, afetando em média 1% a 2% da população idosa (WIRDEFELDT et al., 2011a). Estima-se que até o ano de 2030 cerca de 8.7 milhões de indivíduos serão acometidos com a DP (DORSEY et al., 2007). A principal característica patológica da DP é uma severa perda de neurônios dopaminérgicos na região da substância negra do cérebro e o consequente acúmulo de material proteico (alfa sinucleína) nas células remanescentes, corpos de Lewy (BHATIA, 2012). Essas alterações levam a uma desregulação das alças de controle do movimento nos núcleos da base, o que provoca maior inibição dessas estruturas sobre o comportamento motor e o aparecimento dos sintomas clássicos da DP, tremor de repouso, rigidez e bradicinesia. (OBESO et al., 2010)

A DP é uma doença complexa e vários fatores contribuem para o seu desenvolvimento, entre eles, as mutações em genes que atuam na via de formação da alfa sinucleína foram relacionados com o aparecimento da DP monogênica que representa 10% dos casos da doença (FARRER, 2006). No entanto, na maioria dos casos (90%), ocorre de forma esporádica, sem causa conhecida (JELLINGER, 2012). Em relação aos fatores ambientais, estudos apontam que a presença de toxinas ambientais como o MPTP, consumo de café e tabaco podem influenciar no desenvolvimento ou proteção a DP (ROSS et al., 2000). Até o presente momento, não existe cura para a DP e a reposição de dopamina é tida como o padrão ouro do tratamento (CONNOLLY; LANG, 2014). A fase inicial do tratamento se dá pelo uso da substância precursora da dopamina L-DOPA (Levodopa), em baixas doses (300-400mg/dia), sendo suficiente para redução dos efeitos motores (OLANOW; STERN; SETHI, 2009). No entanto, apesar da melhora clínica inicial, 40% a 60% dos pacientes em tratamentos prolongados com Levodopa (>5 anos) tendem a desenvolver efeitos adversos, como discinesia e flutuação motora que afetam diretamente a qualidade de vida dos pacientes com DP (NUTT, 2001).

Estudos farmacogenéticos têm demonstrando que alterações em genes relacionados com a produção de proteínas envolvidas nas vias farmacocinética e farmacodinâmica de medicamentos podem estar associados com o aparecimento de

efeitos adversos e/ou efeitos tóxicos (MALIEPAARD et al., 2013;ALMOMANI et al., 2015) Na doença de Parkinson, os genes *COMT* (catecol-orto-metil-transferase) e *MAO-B* (monoamina oxidase B) codificam enzimas envolvidas na rota de degradação da dopamina. O gene *DAT1* codifica a proteína DAT que atua no transporte pré-sináptico de dopamina e o gene *DRD2*, produz a proteína DRD2 que atua como receptor de dopamina (TORKAMAN-BOUTORABI et al., 2012;RIECK et al., 2012; ZHANG et al., 2015). Além disso, atualmente estudos têm demonstrado que diversos eventos celulares e moleculares como: estresse oxidativo, disfunções mitocôndrias e a neuroinflamação têm um papel importante na cascata de eventos que leva a perda de neurônios dopaminérgicos (OBESO et al., 2010). A individualização do tratamento da DP visa maximizar os resultados positivos do tratamento, como o controle das respostas motoras, e reduzir os efeitos colaterais principalmente as flutuações motoras que acometem 40%-60% dos pacientes tratados a mais de 5 anos (NUTT, 2001).

Diante disto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o perfil farmacogenético de pacientes com DP, estudando genes relacionados com a neurotransmissão da dopamina, associando-os com a falha terapêutica do tratamento e com o aparecimento de efeitos adversos.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 DOENÇA DE PARKINSON**

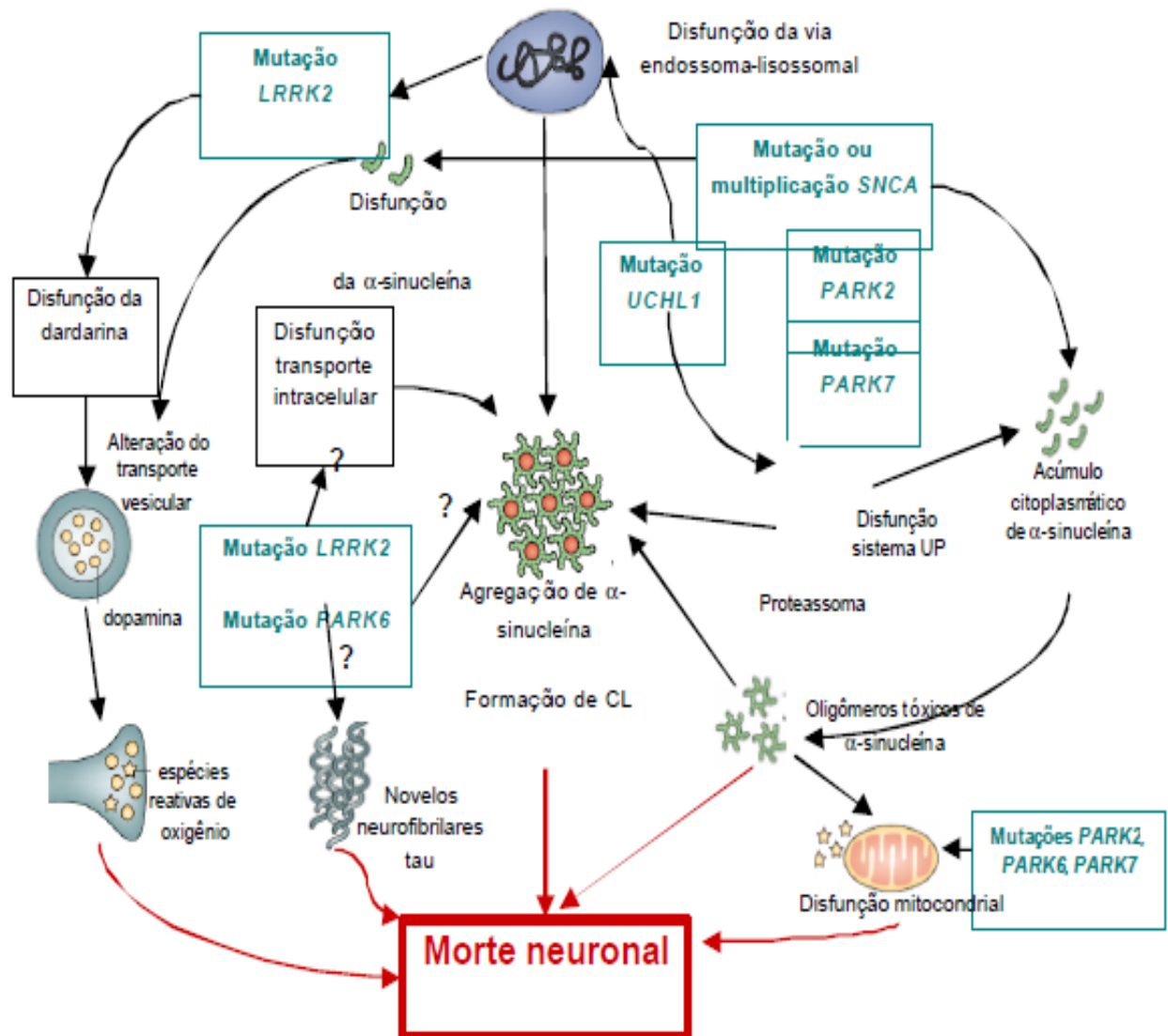
#### **2.1.2 Aspectos gerais**

A Doença de Parkinson (DP) foi primeiramente descrita na literatura na obra “An Essay on the Shaking Palsy” publicada em 1817 pelo médico inglês James Parkinson. Nessa obra, Parkinson que era um clínico geral, relatou em detalhes os sintomas clássicos da DP, assim como acompanhou a progressão da enfermidade para estágios mais avançados em seus pacientes. Entretanto, apenas em 1877, o neurologista francês Jean-Martin Charcot toma conhecimento do trabalho de Parkinson e faz uma descrição clínica mais detalhada sobre a doença, estabelecendo critérios diagnósticos semelhantes aos atualmente utilizados e cunha o nome “doença de Parkinson” (Kempster et al. 2007).

Atualmente a DP é considerada a segunda doença neurodegenerativa mais comum na população idosa, afetando em média 1% a 2% da população acima de 65 anos (WIRDEFELDT et al., 2011a). A DP é mais prevalente na Europa, América do Sul e na América do Norte (DE LAU; BRETELER, 2006). No Brasil, foi constatada uma prevalência de 3,3% para a DP (BARBOSA et al., 2006). A forma esporádica da DP (sem causa conhecida) é a mais comum, representando cerca de 90-95% dos casos da doença e apesar dos avanços das últimas décadas, a causa final dessa condição ainda é desconhecida (ANTONY et al., 2013). A forma monogênica ou familiar, ocorre como uma herança autossômica dominante (HAD) ou recessiva (HAR) e representa os 5- 10% dos casos restantes. Alguns genes que causam a DP monogênica já foram identificados, dentre eles os genes da alfa sinucleína (SNCA), LRRK2 (cinase 2 rica em repetições de leucina), PINK1, DJ-1, ATP13A2 (ATPase tipo 13A2), parkina, PARK5 (ubiquitina C-terminal hidrolase L1) e GBA (LEES; HARDY; REVESZ, 2009;ANTONY et al., 2013) (Figura 1). Os pacientes com mutações nos genes LRRK2 e alfa sinucleína desenvolvem um quadro muito semelhante à DP esporádica (LEES; HARDY; REVESZ, 2009).



Figura 1. Modelo De Doença De Parkinson Monogênica. As mutações sem sentido e as multiplicações gênicas de SNCA (o gene que codifica a alfa sinucleína) levam a uma maior concentração do monômero da alfa sinucleína no citoplasma, promovendo assim a oligomerização da alfa sinucleína, que é tóxica para a célula



Fonte: Adaptado de Farrer (2006)

### 2.1.3 Neuropatologia da DP

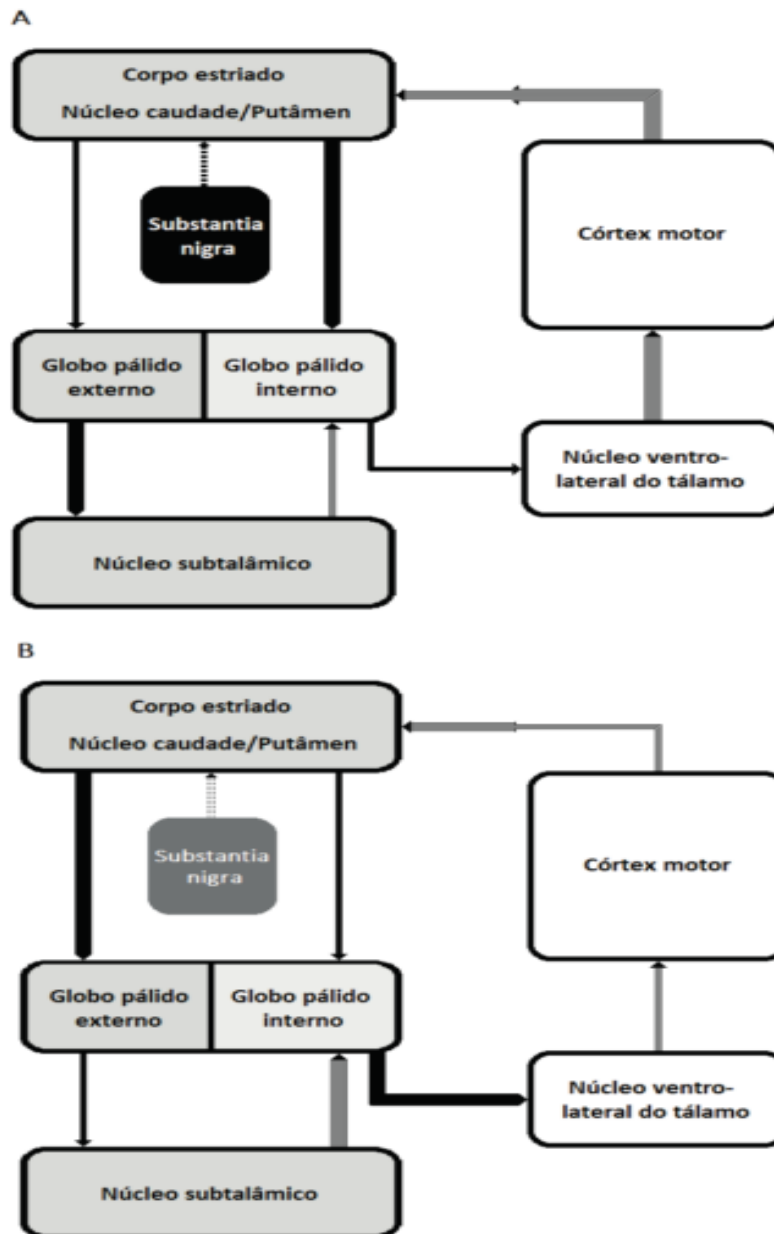
A DP é uma doença neurodegenerativa que está diretamente relacionada com a morte precoce de neurônios dopaminérgicos no âmbito da via nigro-estriatal do Sistema Nervoso Central (SNC), e diversas evidências sugerem que a degeneração da substância negra inicia-se de 6 a 8 anos antes dos sintomas motores (SCHAPIRA; OBESO, 2006). No momento do diagnóstico, a patologia da DP já se encontra estabelecida e os pacientes apresentam 50 a 60% de perda neuronal e 70 a 80% de depleção dopaminérgica (BEZARD; GROSS; BROTHIE, 2003). Os neurônios dopaminérgicos inervam as principais estruturas dos gânglios da base (corpo estriado, os segmentos externo e interno do globo pálido, o núcleo subtalâmico, substância negra), assim como os alvos das suas projeções (tálamo e córtex motor, por exemplo), servindo como moduladores dos circuitos corticoestriatais (OBESO et al., 2000; JANKOVIC, 2008; MAIA; FRANK, 2011;). A perda de dopamina nestas zonas compromete o delicado equilíbrio entre inibição tônica e “desinibição” dos circuitos motores e da seleção consciente de um determinado movimento. Níveis saudáveis de dopamina potenciam a via direta e inibem a via indireta, uma vez que os neurônios da via direta expressam receptores de dopamina D1 (ativadores) e os neurônios da via indireta expressam receptores de dopamina D2 (desativadores) Por outro lado, os baixos níveis de dopamina característicos da DP revertem esse efeito: impedem a via direta e favorecem a via indireta, resultando numa excessiva inibição tálamo-cortical (OBESO et al., 2000; MAIA; FRANK, 2011). Esta disfunção do circuito que os gânglios da base mantêm entre o córtex e o tálamo motor é a base dos sintomas motores clássicos parkinsonianos (JANKOVIC, 2008) (Figura 2).

O diagnóstico definitivo dessa patologia é dado com o exame do cérebro post-mortem, onde será encontrada degeneração da substância negra porção compacta (núcleo mesencefálico responsável pelas aferências dopaminérgicas para o estriado) (NUTT; WOOTEN, 2005). Ademais, são observadas inclusões citoplasmáticas eosinofílicas, denominadas corpos de Lewy, nas células remanescentes das áreas de diversas origens, predominando a alfa sinucleína (KALIA; KALIA, 2015).

Uma vez que o diagnóstico definitivo só é dado na necrópsia, no contexto clínico existe um espectro de graus de certeza entre doença de Parkinson “provável” e doença

de Parkinson “possível”, de acordo com as manifestações clínicas presentes e com a exclusão de outras etiologias (HUGHES et al., 1992). Apesar disso, os critérios clínicos em uso, quando aplicados por neurologistas com experiência em distúrbios do movimento, fornecem uma acurácia de 98,6%, como foi demonstrado em um estudo utilizando a patologia como padrão-ouro (HUGHES et al., 1992).

Figura 2. Esquema Do Circuito Da Alça Motora Em Pessoas Não Portadoras (A) E Portadoras (B) Da Doença De Parkinson Quando Da Geração De Um Movimento. Setas preenchidas: aferências inibitórias (gabaérgicas); Setas com linhas contínuas: aferências excitatórias (glutamatérgicas); Setas com linhas descontinuas: aferências dopaminérgicas. Setas grossas representam a ativação e setas finas a inibição do sinal.



Fonte: Adaptado de Rieck (2012)

### 2.1.4 Fatores de Risco para a DP

A prevalência e incidência da DP aumentam quase de forma exponencial a partir dos 80 anos de idade (PRINGSHEIM ET AL., 2014). Diversos fatores de risco estão associados com a suscetibilidade a DP. Sendo a idade considerada como o principal fator de risco (CAMPDELACREU, 2014). Além disso, estudos apontam que diversos mecanismos etiopatogênicos contribuem para o desenvolvimento da doença (OBESO et al., 2010). Existe também a hipótese de neurotoxinas ambientais que foi alavancada pela descoberta do parkinsonismo induzido pelo 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridínio (MPTP). Em 1982, o MPTP foi descoberto quando usuários de drogas desenvolveram síndrome parkinsoniana após o uso de meperidina sintética, que após investigações confirmou-se estar contaminada com MPTP (CALNE; WILLIAM LANGSTON, 1983). Os sintomas causados foram semelhantes aos da DP, devido aos efeitos tóxicos dos metabólitos do MPTP sobre os neurônios dopaminérgicos. Estudos demonstraram que a indução do quadro de parkinsoniano pelo MPTP em humanos é irreversível e estável (TANNER et al., 1999). A enzima MAO-B é fundamental para o desenvolvimento do parkinsonismo induzido por MPTP, já que é responsável pela conversão deste para um intermediário tóxico, 1-metil-4-fenilpiridinium MPP<sup>+</sup>. Além disso, o MPP<sup>+</sup> é um inibidor do complexo I da mitocôndria, sugerindo um possível envolvimento mitocondrial na patogênese da DP (BLOEM et al., 1990).

A alfa sinucleína é um dos principais componentes estruturais dos corpos de Lewy, inclusões citoplasmáticas sistematicamente encontradas em neurônios de pacientes com DP, e tem-se buscado entender a participação desta proteína nos mecanismos que levam à morte neuronal nesta doença. (SPILLANTINI et al., 1997) Admite-se atualmente que oligômeros ou polímeros da alfa sinucleína, formas não solúveis desta proteína e não degradáveis pelos sistemas proteossoma-ubiquitina e de autofagia, acumulam-se nos neurônios e interferem decisivamente em mecanismos críticos para a função e vitalidade destas células, particularmente na atividade mitocondrial e no fluxo axonal (DAUER; PRZEDBORSKI, 2003). Ainda quanto à participação da alfa sinucleína na etiopatogenia da DP é relevante mencionar a hipótese de que alterações na conformação molecular desta proteína poderiam levar à propagação e ao acúmulo nos tecidos por um mecanismo semelhante ao que ocorre em

doenças priônicas (OLANOW; BRUNDIN, 2013) Essa hipótese foi inicialmente levantada com base em estudos pós morte de pacientes com DP que haviam recebido implantes neurais de material obtido de SN de fetos. No cérebro destes pacientes, surpreendentemente, no tecido transplantado, inicialmente sem qualquer alteração patológica, havia se formado aglomerados de alfa sinucleína e corpos de Lewy (OLANOW et al., 2003). Esta observação levantou a possibilidade de uma propagação de acúmulo de alfa sinucleína do tecido afetado pela DP para o tecido normal por um mecanismo prion- like. (LINDVALL et al., 1994) .

### **2.1.5 Aspectos Neuroprotetores na DP**

Ao longo das últimas décadas, como revisado por KANDINOV; GILADI; KORCZYN, (2007) mais de 50 estudos têm demonstrado, de forma consistente, que o hábito de fumar está associado à prevalência reduzida de DP e alguns estudos relacionam este possível efeito neuroprotetor à nicotina. Entretanto, em pacientes com DP já instalada não altera a progressão da moléstia . Estudos experimentais sugerem que antagonistas de receptores inotrópicos ou metabotrópicos de glutamato possam exercer efeito neuroprotetor na DP, contrapondo-se à excitotoxicidade (AMBROSI; CERRI; BLANDINI, 2014).O consumo regular de café e o hábito de fumar reduzem significativamente o risco de DP. A cafeína é um inibidor de receptores A2A de adenosina que são largamente encontrados no circuito dos gânglios da base, especialmente no striatum. A istradefilina, um bloqueador de receptores A2A de adenosina, tem efeito sintomático em pacientes com DP e possivelmente efeito neuroprotetor (SÄÄKSJÄRVI et al., 2008).

Recentemente foi proposta uma hipótese que concilia o efeito protetor do café e o do fumo com o hipotético início da DP no trato intestinal aventando-se a possibilidade de que esses fatores de redução de risco atuariam no intestino modificando a flora intestinal e criando um meio menos propício (menor atividade inflamatória) para o surgimento de alterações moleculares da alfa sinucleína, possivelmente responsáveis pelo seu acúmulo.

Alguns estudos mostram que indivíduos com níveis séricos mais elevados de urato têm menor probabilidade de desenvolver DP, e naqueles pacientes com DP já instalada, essa característica metabólica se correlaciona com uma melhor evolução. Esse efeito

neuroprotetor é atribuído às propriedades antioxidantes e de formar complexos com metais (CIPRIANI; CHEN; SCHWARZSCHILD, 2011).

### **2.1.6 O Diagnóstico da DP**

O diagnóstico da DP é fundamentado na avaliação clínica do paciente e os exames complementares são realizados com o intuito de descartar diagnósticos diferenciais. Os exames de neuroimagem estrutural (Tomografia Computadorizada [TC] e Ressonância Magnética [RM]) são de grande utilidade na diferenciação entre a DP e as síndromes parkinsonianas de diversas etiologias (BARSOTTINI et al., 2010). A boa resposta às medicações dopaminérgicas, em especial à Levodopa, é um critério obrigatório para confirmação diagnóstica da DP. Entretanto, pacientes com outras doenças que se manifestam com parkinsonismo podem apresentar resposta positiva a essas drogas, ainda que inferior à observada na DP (JOSEPHS et al., 2003).

No que diz respeito a progressão e severidade da DP, ela pode ser avaliada por meio de uma escala que permite classificar o indivíduo quanto ao nível de incapacidade e classifica-los em cinco estágios, a escala Hoehn e Yahr (HY) que se baseia em sinais cardinais e sintomas clínicos (instabilidade postural, rigidez, tremor e bradicinesia) (HOEHN et al., 1967) (Tabela 1). O “teste do empurrão” ou pull test é usado como um instrumento de medida da instabilidade postural na DP e em outros distúrbios do movimento. Durante o teste, o examinador deve realizar uma perturbação externa do equilíbrio (puxão pelas costas) e verificar se há recuperação do equilíbrio. A instabilidade postural identificada pelo pull test é um preditor importante de risco de quedas, perda de independência e institucionalização, além de marcar a transição do estágio 2 para o estágio 3. Os pacientes classificados nos estágios até 2 apresentam incapacidade leve a moderada, enquanto os que estão nos estágios maiores que 3 apresentam incapacidade mais grave (HUNT; SETHI, 2006).

Tabela 1. Escala de estadiamento Hoehn & Yahr

- **Estágio 0** = Nenhum sinal da doença;
- **Estágio 1** = Doença unilateral;
- **Estágio 2** = Doença bilateral sem comprometer o equilíbrio;
- **Estágio 3** = Doença bilateral de leve a moderada; alguma instabilidade postural; fisicamente independente;
- **Estágio 4** = Incapacidade grave; ainda capaz de andar e ficar ereto sem ajuda;
- **Estágio 5** = Preso a cadeira de rodas ou ao leito; necessita de ajuda.

Fonte: Adaptado de Hoehn e Yahr (1967)



### 2.1.7 Aspectos Clínicos da DP

A DP é clinicamente caracterizada-se pela presença de sintomas motores, como o tremor de repouso, que é um sintoma comum e marcante nos pacientes acometidos pela DP (GOETZ, 2011). O tremor acomete as extremidades do corpo, aparece de forma abrupta e tem frequências variadas, além de ser mais frequente quando os pacientes estão concentrados no movimento, tendo sua frequência reduzida quando os pacientes estão distraídos (ZEUNER et al., 2003). Outro sintoma bastante importante na DP é a bradicinesia (diminuição dos movimentos voluntários e automáticos de todo o corpo) o que compromete os movimentos finos das mãos, a expressão facial, o piscar dos olhos e o balançar dos membros superiores ao andar e a marcha (NUTT; WOOTEN, 2005). Além disso, a rigidez muscular (inflexibilidade dos membros ou juntas) e a instabilidade postural formam os 4 sinais cardinais da DP (OLANOW; STERN; SETHI, 2009, BHATIA, 2012;). Essas alterações costumam ser assimétricas e apresentam caráter progressivo, com tempo de evolução de 10 anos ou mais (HUGHES et al., 1992). Esses achados constituem o que se denomina de síndrome parkinsoniana, cuja causa mais frequente é a doença de Parkinson idiopática. Além do conceito original de uma enfermidade com acometimento preferencialmente motor, recentemente, vem sendo dada crescente atenção às manifestações não motoras da doença, uma vez que são reconhecidas como as principais responsáveis pelo grau de incapacidade dos pacientes (MUNHOZ et al., 2015). Este fato se deve, em parte, ao progresso das terapias dopaminérgicas, que visam primariamente restaurar o controle motor, restando os sintomas não motores, ainda sem tratamentos específicos (OBESO et al., 2010). Os pacientes com DP podem apresentar variados sintomas neuropsiquiátricos, disfunção da marcha, distúrbios do sono, disfunção autonômica, alterações gastrointestinais e sintomas sensoriais, que expandem a noção de uma doença exclusivamente motora em direção ao conceito de uma desordem multissistêmica (OBESO et al., 2010) (Tabela 2).

Tabela 2. Critérios Necessários Para Diagnostico da DP

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Bradicinesia (e pelo menos um dos seguintes sintomas abaixo)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Rigidez muscular em roda denteada</li> <li>- Tremor de repouso (4-6 Hz)</li> <li>- Instabilidade postural não causada por distúrbios visuais, vestibulares, cerebelares ou proprioceptivos</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>Critérios excludentes para doença de Parkinson</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- História de AVC por repetição</li> <li>- História de trauma craniano grave nida de encefalite</li> <li>- Crises oculógiras</li> <li>- Tratamento prévio com neurolépticos</li> <li>- Remissão espontânea dos sintomas</li> <li>- Quadro clínico estritamente unilateral após 3 anos</li> <li>- Paralisia supranuclear do olhar</li> <li>- Sinais cerebelares</li> <li>- Sinais autonômicos precoces</li> <li>- Demência precoce</li> <li>- Liberação piramidal com Sinal de Babinski</li> <li>- Presença de tumor cerebral ou hidrocefalia comunicante</li> <li>- Resposta negativa a altas doses de levodopa</li> <li>- Exposição à metil-fenil-tetra-hidropiridina (MPTP)</li> </ul> |
| <b>Critérios de suporte positivo para o diagnóstico de doença de Parkinson</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Início unilateral</li> <li>- Presença do tremor de repouso</li> <li>- Doença progressiva</li> <li>- Persistência da assimetria dos sintomas</li> <li>- Boa resposta a levodopa</li> <li>- Hiposmia</li> <li>- Presença de discinesias induzidas por levodopa</li> <li>- Resposta a levodopa por 5 anos ou mais</li> <li>- Evolução clínica de 10 anos ou mais</li> <li>- Alucinação visual</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

Fonte: Adaptado de Chekani (2016)

## 2.2 TRATAMENTO DA DP

Como não há tratamento curativo para a DP, o tratamento da é eminentemente sintomático e baseado em abordagens farmacológicas, neurocirúrgicas e fisioterapêuticas (HESS et al., 2016). Na abordagem farmacológica, a Levodopa, combinada com inibidores periféricos da dopa descarboxilase, é considerada a terapia mais efetiva. No entanto, ela pode ser utilizada juntamente com outros medicamentos parkinsonianos como por exemplo: agonistas dopaminérgicos e inibidores da enzima COMT e MAOB (Tabela 3). A maioria dos pacientes tem boa resposta a Levodopa nos primeiros anos da doença com a administração da dose diária de 300 mg a 600 mg da droga (NYHOLM et al., 2012).

Tabela 3. Classe de Medicamentos Utilizados no Tratamento da DP e seus Respectivos Fármacos Disponíveis para Comercialização

| <b>Classe de medicamentos parkinsonianos</b> | <b>Nomes comerciais dos medicamentos</b>   |
|----------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Levodopa/ inibidor da dopa-descarboxilase    | Levodopa/Carbidopa<br>Levodopa/Benserazida |
| Agonista dopaminérgicos                      | Pramipexol<br>Bromocriptina                |
| Inibidores da MAO-B                          | Selegilina<br>Rasagilina                   |
| Inibidores da COMT                           | Tolcapona<br>Entacapona                    |

Fonte: Adaptado de Olanow (2009)

### **2.2.1 Levodopa Associada ao Inibidor da Dopa-Descarboxilase**

O aumento do estímulo dopaminérgico através de agentes farmacológicos é a principal forma de tratamento para indivíduos com Parkinson, que usualmente apresentam grande melhora dos sintomas motores com o uso dessas medicações, dentre todas as opções terapêuticas disponíveis (MÜLLER, 2015).

A Levodopa (L-DOPA) permite uma melhor estimulação do estriado, que exerce o controle positivo sobre a geração e a coordenação de movimentos. Esta substância é sintetizada a partir do aminoácido tirosina pela enzima tirosina hidroxilase (TH), no cérebro de mamíferos, atuando como precursora das catecolaminas, a L-DOPA é convertida posteriormente a dopamina pela enzima dopa descarboxilase (DDC), (SAVITT; DAWSON; DAWSON, 2006) (Figura 3).

A Levodopa é administrada juntamente com inibidores da dopa descarboxilase, tais como: Carbidopa e Benzerazida, para que seja convertida em dopamina somente após atravessar a barreira hematoencefálica (CONTIN; MARTINELLI, 2010). A reposição de dopamina por L-DOPA é considerado o tratamento padrão ouro para DP, porque promove um maior controle dos movimentos motores e está associado à diminuição da mortalidade e da morbidade, resultando assim, em uma melhora na qualidade de vida e independência dos pacientes (OLANOW; STERN; SETHI, 2009).

### **2.2.2 Efeitos Adversos do Uso Crônico de Levodopa**

Apesar da melhora clínica inicial, 40% a 60% dos pacientes em tratamentos com Levodopa tendem a desencadear efeitos adversos como a discinesia e flutuação motora depois de 5 a 6 anos de tratamento (NUTT, 2001). Flutuação motora e discinesia possuem um grande impacto nas atividades motoras e socioeconômicas dos pacientes, o que resulta numa redução significativa da qualidade de vida dos mesmos (CHAPUIS et al., 2005).

A Flutuação motora é definida como a alternância da resposta clínica da Levodopa. As flutuações são divididas em três fenômenos: “wearing-off”, “on-off”, e “no-on” (JANKOVIC, 2005). Com o uso prolongado da medicação, o período de eficácia

terapêutica se reduz e os sintomas motores da DP começam a ressurgir. A essa deterioração de final de dose se dá o nome de fenômeno de “wearing-off” (desaparecimento gradual). À medida que a doença vai progredindo, essas flutuações podem deixar de ser somente no final de dose e ocorrer de forma imprevisível. Os pacientes passam do estado móvel (“on” - sem sintomas motores) para o imóvel (“off” - com sintomas motores) de forma súbita e sem ligação com o tratamento farmacológico. A este fenômeno se dá o nome de “on-off” ou flutuações complexas. Nos estágios mais avançados da doença a medicação pode não apresentar mais ação, deixando os pacientes apenas em estado “off”, fenômeno conhecido como “no-on” (BHIDAYASIRI; TRUONG, 2008)

Discinesia são movimentos involuntários, hipercinéticos, que podem ocorrer nos picos plasmáticos de Levodopa, no início e fim do efeito (discinesia bifásica) ou ainda durante o período off. Os pacientes podem apresentar fenomenologia variada, como coréia, distonia, balismo, e estereotipias que podem afetar qualquer parte do corpo, inclusive movimentos respiratórios. A discinesia tende a ser mais evidente no lado do corpo ou membro mais afetado pelo parkinsonismo. Entre as possíveis causas de discinesia está a estimulação intermitente por Levodopa (FOX; LANG, 2008; LOONEN; IVANOVA, 2013).

Alucinação visual é outra complicação frequente que acomete cerca de um terço dos pacientes em uso de terapia dopaminérgica no curso da doença e determinando impacto negativo na qualidade de vida desses pacientes e sobrecarga ao cuidador (GRAHAM et al., 1997). O exato mecanismo neuroquímico responsável pelo surgimento dessa complicação é desconhecido, porém são estabelecidos alguns fatores de risco associados a essa complicação, como comprometimento cognitivo, duração e gravidade da doença. Ademais, a presença de bradicinesia e instabilidade postural e a ausência de tremor exercem um papel secundário para o risco de alucinação (PAPAPETROPOULOS et al., 2005). A presença da Levodopa parece ser determinante para o surgimento dessa complicação, porém, a dose não se relaciona com esse fenômeno, uma vez que mesmo com a infusão endovenosa de grandes concentrações dessa medicação não há indução de alucinação (KEMPSTER et al., 2010).

### **2.2.3 Drogas Agonistas de Dopamina**

Agonistas dopaminérgicos são moléculas semelhantes a dopamina, que estimulam diretamente o receptor dopaminérgico pós-sináptico. Apresentam efeito antiparkinsoniano menor que a Levodopa e podem ser utilizados em monoterapia em casos leves ou em associação com a Levodopa para minimizar as flutuações motoras (OLANOW; STERN; SETHI, 2009).

Pacientes que iniciam o uso de drogas agonistas como monoterapia demoram mais tempo para desenvolver flutuação motora e discinesia (SCHAPIRA, 2002). Porém, uma vez que se torna necessário o uso de Levodopa para melhor controle dos sintomas, aqueles que iniciaram em monoterapia com agonistas apresentaram o mesmo risco de desenvolver as complicações em relação aos pacientes que iniciaram o tratamento com Levodopa (AHLISKOG, 2003).

### **2.2.4 Esquema Farmacológico de Drogas Inibidoras Enzimáticas**

O transporte da dopamina nas vesículas sinápticas é realizado através de duas bombas moleculares separadas: 1- O transportador de monoaminas vesicular (VMAT) que permite o deslocamento de prótons ao longo do gradiente (para fora da vesícula), enquanto efetua o transporte simultâneo de DA para dentro da vesícula, contra o seu gradiente de concentração; 2- E o transportador de dopamina (DAT) que pertence à família de bombas de recaptação de catecolaminas. A recaptação da dopamina envolve o transporte do neurotransmissor contra o seu gradiente de concentração e, por conseguinte, requer uma fonte de energia (Figura. 4).

As drogas Inibidores enzimáticos também possuem um papel fundamental na redução dos sintomas motores da DP e na melhora na resposta ao tratamento com Levodopa (Olanow et al., 2009). O inibidor mais amplamente utilizado na DP é o inibidor da enzima dopa-descarboxilase que converte a Levodopa para dopamina a nível periférico provocando efeitos colaterais como náusea, vômitos e hipotensão postural. Além disso, a conversão de dopamina a nível periférico reduz a disponibilidade de dopamina no SNC (RIEDERER et al., 2007).

Outro Inibidor disponível que pode auxiliar o tratamento da DP é o inibidor da enzima Catecol O-Metiltransferase (COMT) que a nível periférico participa da conversão da Levodopa a 3-O- methyldopa (3-OMD) diminuindo a concentração de Levodopa que compete com o 3-OMD na via de transporte de aminoácidos neutros na barreira hematoencefálica (KISS; SOARES-DA-SILVA, 2014). O inibidor da enzima COMT mais conhecido é a Entacapona que quando administrada juntamente com a Levodopa eleva o tempo de meia-vida da Levodopa de 90 minutos para cerca de 3h (OLANOW; STERN; SETHI, 2009).

O inibidor da monoamino oxidase B (MAOB) também pode ser utilizado para o uso clínico, atualmente existem duas drogas inibidoras da MAOB a selegilina e a rasagilina (Figura 4). Ambas são propargilaminas que atuam como inibidores seletivos e irreversíveis de MAO-B. A selegilina é metabolizada no fígado e os catabólitos resultantes da metabolização da selegilina podem provocar efeitos colaterais, tais como oscilações da pressão arterial, arritmia cardíaca e insônia. O efeito neuroprotetor da selegilina foi avaliado em estudo com pacientes em fase inicial da DP, sem tratamento sintomático, e retardou a introdução de terapia com a Levodopa. A Rasagilina é o inibidor de segunda geração da MAOB, portanto, diferentemente da selegilina, a metabolização hepática da rasagilina não gera a formação de metabólitos ativos o que torna esta droga mais segura quanto ao perfil de efeitos adversos, que geralmente são mínimos (PARKINSON STUDY GROUP, 2002).

Figura 3. Síntese de dopamina e sua metabolização pelas enzimas MAOB e COMT e o uso de inibidores. Síntese de dopamina via catálise de tirosina hidroxilase (TH) para Levodopa (L-DOPA) e posterior descarboxilação por Dopa Decarboxilase (DDC) para dopamina. A dopamina é metabolizada pela monoamina oxidase B nas células da glia e em astrocitos. Inibidores seletivos MAOB (selegilina, rasagilina e benserazida) e carbidopa, aumentam a sua disponibilidade para o cérebro. Inibidores da COMT, como a Entacapona, também aumentam a disponibilidade de L-DOPA e impedem a inativação da dopamina pela COMT. 3-OMD

Fonte: Adaptado de Tipton (2006)

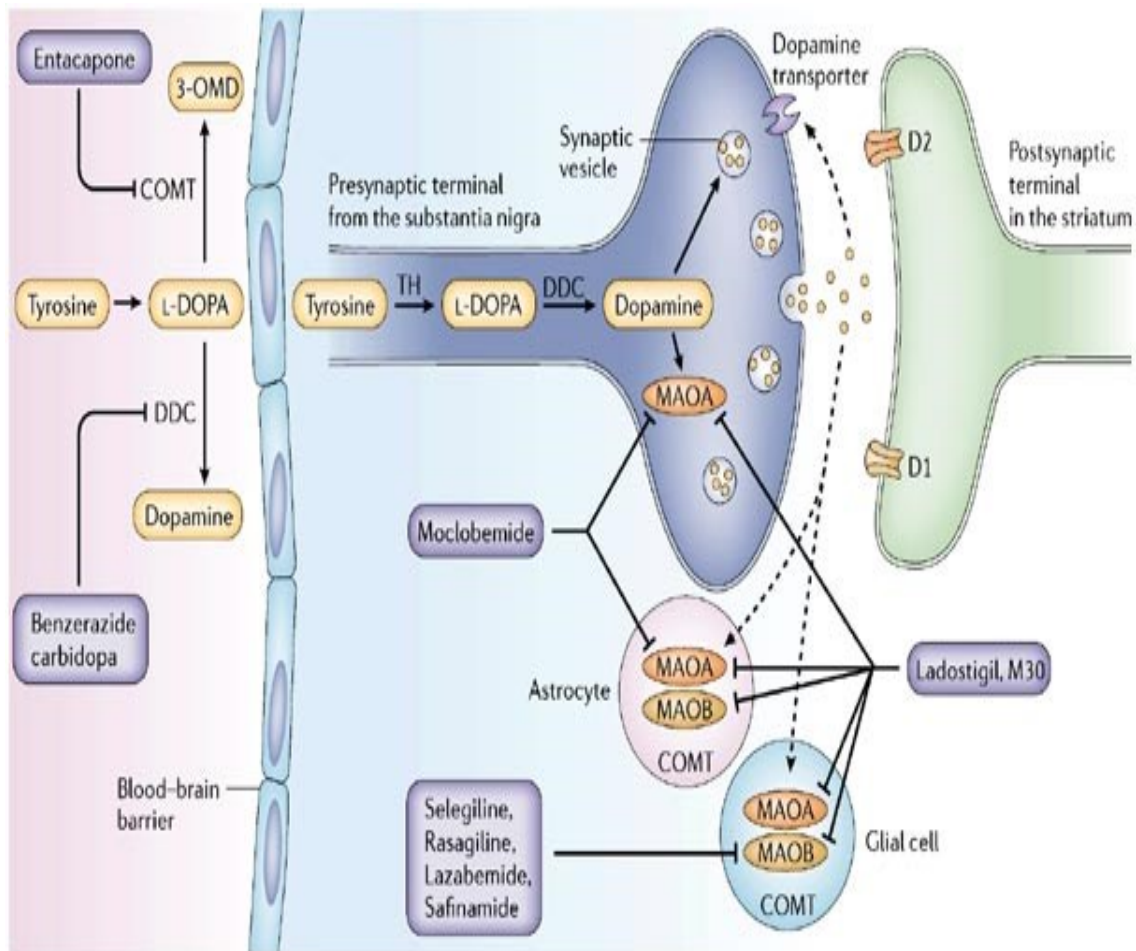
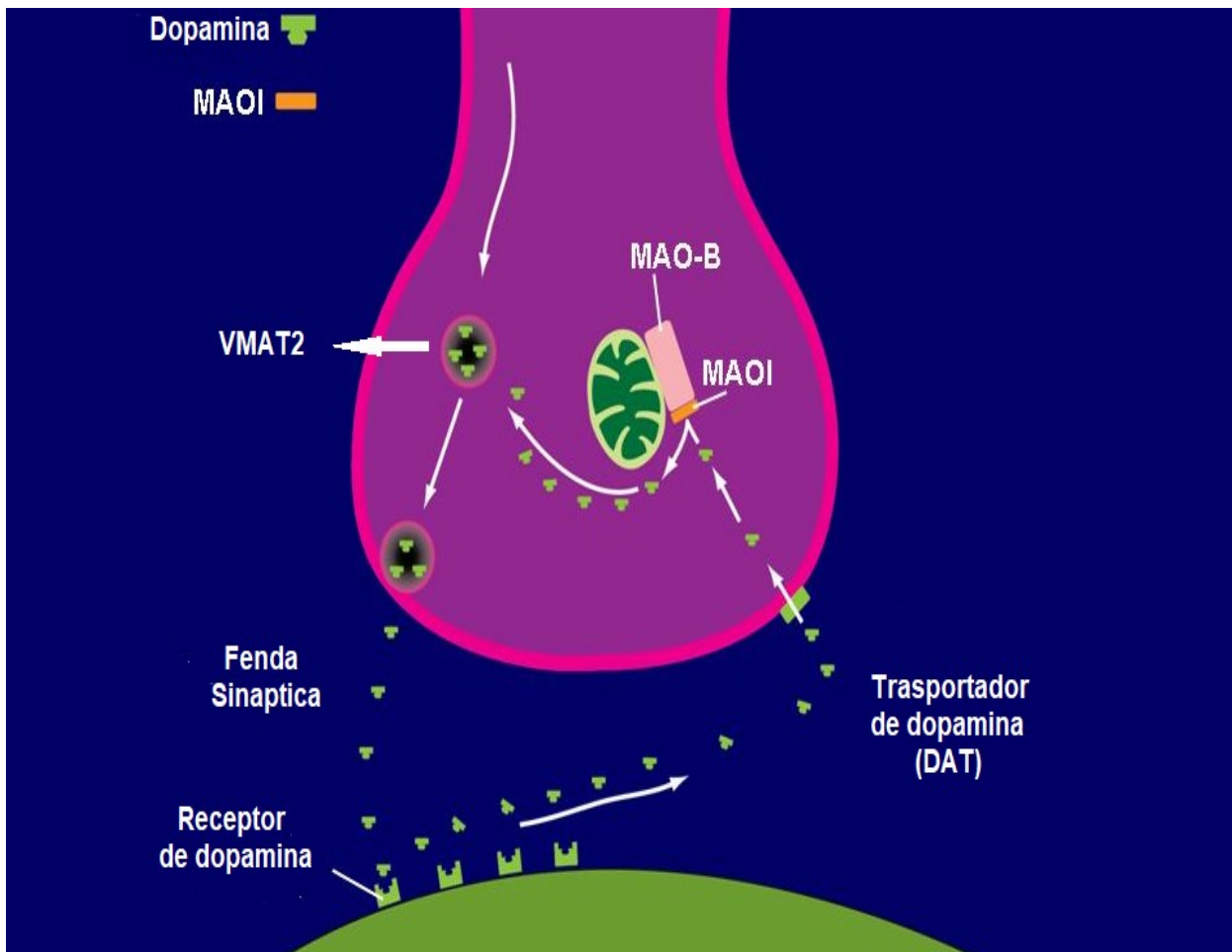




Figura 4. Esquema Farmacológico do Uso do Inibidor da MAOB. MAOB, monoamino oxidase B; MAOI, inibidor da enzima MAOB; VMAT2, transportador vesicular de monoamino; DAT, Transportador de dopamina.



Fonte: Adaptado de Andersen (2009)

## 2.3. FARMACOGENÉTICA

Estudos realizados nas últimas décadas têm demonstrado que as variações na resposta de pacientes a medicamentos, entre outros fatores, podem estar associadas as diferenças genéticas entre os indivíduos (MALIEPAARD et al., 2013). A farmacogenética é o ramo da ciência que estuda as interações entre os fármacos e as características genéticas de uma determinada população. Baseada em análises moleculares, a farmacogenética pode determinar o risco de que determinado fármaco venha a desenvolver efeitos colaterais em alguns indivíduos ou até mesmo que seja ineficaz para um determinado grupo de indivíduos dentro de uma população, sugerindo assim uma modificação na dosagem da droga ou a modificação para uma terapia alternativa (MAREK DRODZIK et al., 2013).

### 2.3.1 Farmacogenética na Doença de Parkinson

Nas últimas décadas os estudos genéticos na DP vêm se intensificando mostrando-se heterogêneos, na busca por polimorfismos em genes que possam levar ao desenvolvimento da DP, ou que tornam as pessoas mais susceptíveis ao aparecimento de efeitos adversos durante o tratamento dopaminérgico (ARBOUW et al., 2009; DROZDZIK; BIAŁECKA; KURZAWSKI, 2013; KURZAWSKI; BIAŁECKA; DROZDZIK, 2015). É necessário investigar os aspectos farmacogenéticos na DP; pois existem muitos pacientes expostos a grandes doses de Levodopa por períodos prolongados de tempo que não chegam a desenvolver discinesia nem flutuação motora, enquanto outros desenvolvem discinesia dentro de alguns dias de exposição, mesmo quando utilizam doses diárias relativamente pequenas (JANKOVIC, 2005).

Os fatores de risco da discinesia induzida por Levodopa incluem idade de início da doença precoce, degeneração severa de neurônios nigroestriatais, maior duração da doença e alta doses de Levodopa diária (FABBRINI et al., 2007; ZAPPIA et al., 2005). No entanto, as variáveis clínicas sozinhas não podem explicar a profunda heterogeneidade interindividual sugerindo que há susceptibilidade genética para o aparecimento de efeitos adversos e propensão para tomar altas doses de Levodopa.

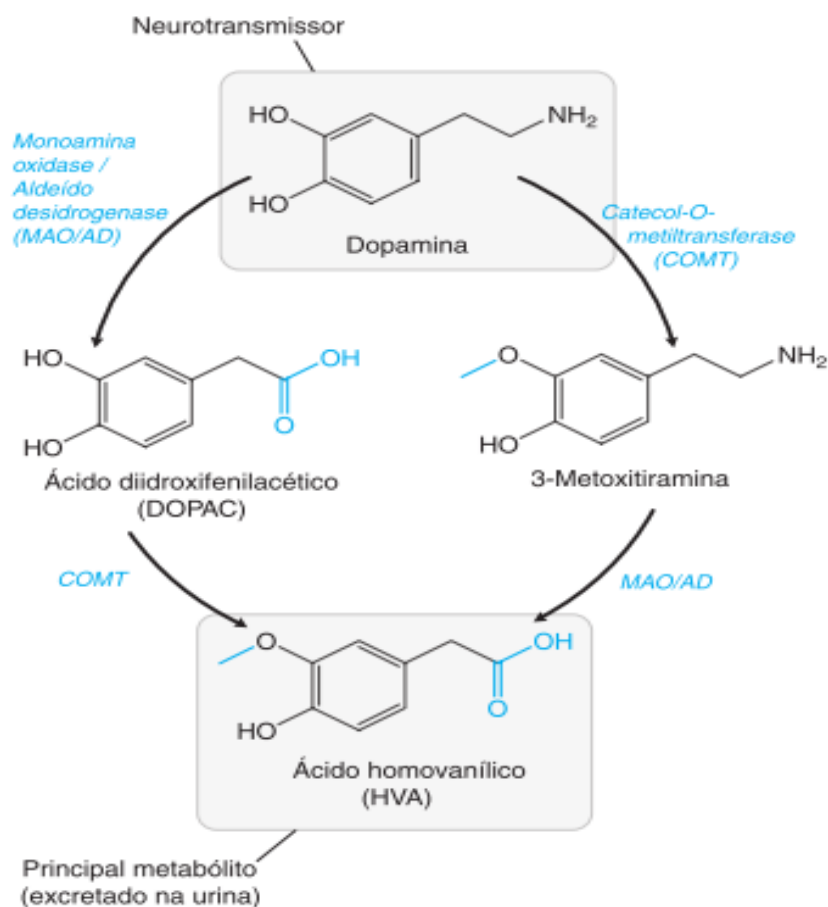
Os genes e polimorfismos de escolha para elaboração dessa pesquisa foram

aqueles relacionados com a metabolização (*COMT* e *MAOB*) e transporte (*DAT1* e *DRD2*) da dopamina, tendo assim maior plausibilidade biológica de interferirem no percurso da transmissão dopaminérgica (Figura 4). Além disso, esses genes já foram estudados em diversas outras doenças neurodegenerativas e desordens neurológicas como doença de Alzheimer, esquizofrenia, esclerose múltipla, vício em drogas e déficit de atenção por causa da sua importância neurofisiológica( SWEET et al., 1998; ZAMMIT et al., 2004; ŠERÝ et al., 2015;).

### **2.3.2 Via de Degradação da Dopamina**

A O-metilação catalizada pela enzima COMT e a desaminação oxidativa pela enzima MAOB resulta em uma das principais vias de degradação dos neurotransmissores e drogas catecolaminérgicas (ZHU.,2002). COMT e MAO-B são as principais enzimas responsáveis nas vias de metabolismo das catecolaminas, interagindo intimamente para a realização desta função (Figura 5). Por exemplo, a principal rota do metabolismo da dopamina é a formação do ácido 3,4-diidroxi-fenilacético (DOPAC), o qual depois é metabolizado em ácido homovanílico (HVA) (Figura 4). Outra rota é a O-metilação da dopamina em 3- metoxi-tiramina (3-MT) pela COMT. A MAO-B então metaboliza o 3-MT em HVA (WOOD; ALTAR, 1988). Apesar de alterações na COMT isoladamente levarem a mudanças drásticas nos níveis de dopamina no córtex frontal elas só levam a mudanças dos níveis de dopamina no estriado quando ocorrem alterações concomitantes na MAO-B (DELGADO-MORALES, 2017)

Figura 5. Metabolismo das catecolaminas. A dopamina é metabolizada a ácido homovanílico (HVA) através de uma série de reações. A dopamina é oxidada ao ácido diidroxifenilacético (DOPAC) pela ação sequencial das enzimas monoamino oxidase (MAO) e aldeído desidrogenase (AD). A seguir, a catecol-O-metiltransferase (COMT) oxida o DOPAC a HVA. Alternativamente, a dopamina é metilada a 3-metoxitiramina pela COMT e, em seguida, oxidada a HVA pela MAO e AD. O HVA, o metabólito mais estável da dopamina, é excretado na urina



Galanter (2012)

Fonte:

### 2.3.3 Monoamino Oxidase B

A MAOB é uma flavoproteína integral formada por 520 aminoácidos que se localiza na membrana externa das mitocôndrias, mais especificamente, nas células glíais da substância negra *porção compacta* (ROBAKIS; FAHN, 2015). O gene que codifica a enzima MAOB está localizado no Cromossomo sexual X (Xp11.4- p11.23) que sugere uma maior incidência de DP em homens, fato esse que é consistente com as observações clínicas (NAROZANSKA et al., 2014).

A MAOB é uma enzima envolvida na via metabólica dos neurotransmissores catecolaminérgicos, principalmente na degradação da dopamina proveniente da fenda sináptica (TEO; HO, 2013). Por meio da desaminação oxidativa, a MAOB oxida a dopamina e como resultado é formado o ácido 3,4-di-hidroxifenilacético (DOPAC). Além da formação desse importante metabólico, essa reação também gera substâncias intermediárias que podem ter um efeito tóxico nos neurônios, como o peróxido de hidrogênio e radicais livres (COHEN; FAROOQUI; KESLER, 1997). Além disso, a MAOB também é responsável pela conversão do 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) em 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP+). O (MPP+) é uma substância que quando introduzida em animais induz um quadro de parkinsonismo pela perda de neurônios dopaminérgicos na região da substância negra. O envelhecimento intensifica a ação enzimática da MAOB no cérebro e o aumento da atividade enzimática da MAOB gera estresse oxidativo nos neurônios dopaminérgicos podendo levar a deterioração da substância negra e a posterior morte celular (COSTA-MALLEN; COSTA; CHECKOWAY, 2005).

No entanto, existem outros fatores que também estão relacionados com um aumento na atividade da enzima MAO B. Como, por exemplo, a presença de um SNP (rs1799836) localizado no cromossomo sexual X no intron 13 do gene *MAOB* que resulta na troca de uma adenina (A) por guanina (G) a 36 pares de base antes da posição 5' do éxon 14. Que está associado a regulação da atividade enzimática, onde indivíduos carreadores do alelo G apresentam uma maior atividade da enzima quando comparado aos carreadores do alelo A (COSTA-MALLEN et al., 2005)

No que diz respeito a suscetibilidade a DP, vários estudos já foram elaborados para tentar elucidar se a presença do polimorfismo rs1799836 no gene *MAOB* tem

relação com uma maior probabilidade para o desenvolvimento da doença. Uma meta-análise realizada por Liu e colaboradores analisou 20 estudos caso controles totalizando uma população de 2846 pacientes e 3508 controles e concluiu que a presença do alelo G está associada com um risco maior para o desenvolvimento da DP tanto na população asiática como na população caucasiana (OR=1.32, 95% CI 1.18-1.47,  $P<.001$ ) (LIU; WANG; ZHANG, 2014).

### 2.3.4 Catecol O-Metiltransferase

A enzima COMT está associada com a via de degradação da dopamina sendo responsável pela inativação metabólica dos neurotransmissores catecolaminérgicos e de substâncias xenobióticas (KISS; SOARES-DA-SILVA, 2014). A enzima apresenta duas formas distintas, uma forma solúvel (S-COMT) mais abundante em tecidos periféricos como o fígado e o rim; e a forma ligada a membrana (MB-COMT) que é encontrada exclusivamente no SNC. Ambas as formas da enzima são codificadas pelo mesmo gene que está localizado no braço longo do cromossomo 22p.11 (MÜLLER, 2015). No entanto, ambas as formas MB-COMT e S-COMT possuem promotores distintos. A associação do COMT com sintomas psiquiátricos foi sugerida a partir da observação de que o gene COMT se localiza na mesma região em que é encontrada uma deleção na Síndrome Velocardiofacial (SVCF), a região 22q11.2. Pacientes com deleção do gene SVCF apresentam um risco aumentado de desenvolver transtornos psiquiátricos tais como esquizofrenia, transtornos de ansiedade, transtornos afetivos, transtorno de déficit de atenção/hiperatividade (TDAH) e transtornos invasivos do desenvolvimento (GOTHELF et al., 2007).

Quanto à atividade da enzima, alguns estudos demonstram que a COMT solúvel tem uma atividade bimodal: 23% da população tem baixa atividade (enzima mais termolábil) em eritrócitos (RUTHERFORD et al., 2006, 2008), o que sugere uma alteração estrutural na enzima. O polimorfismo mais estudado no gene COMT é uma troca de único nucleotídeo (SNP- *single nucleotide polymorphism*) guanina (G) por Adenina (A) que leva a uma substituição do aminoácido valina por metionina no códon 158 da enzima (Val158Met ou rs4680). A mutação em homozigose (Met/Met) ou (A/A) gera uma redução da atividade enzimática de 35% a 50% (Kunugi et al., 1997). Enquanto, o

genótipo homozigoto (Val/Val) ou (G/G) resulta numa alta atividade catalítica da enzima, o que acarreta numa baixa disponibilidade de dopamina e está associada a uma maior suscetibilidade a DP. (KISS et al., 2014). No entanto, um robusto estudo realizado por Klebe e colaboradores com 5886 pacientes com DP e 10723 controles ,sem a doença, não encontraram associação entre o polimorfismo Val158Met com um risco elevado para indivíduos carreadores desse polimorfismo, a desenvolverem a doença, mas encontraram uma associação entre a idade de início precoce da doença e a presença dos genótipos (Val/Val e Met/Met) em homens (KLEBE et al., 2013).

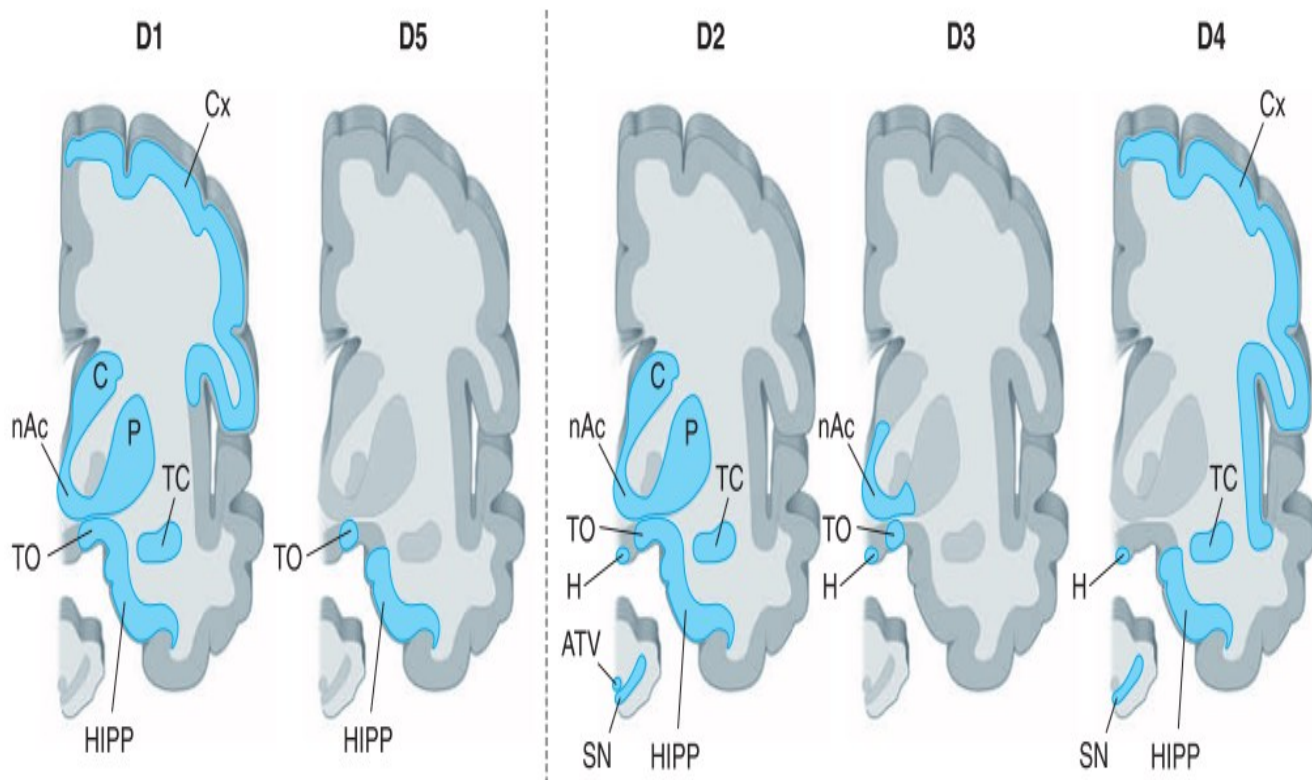
### **2.3.5 Receptores de Dopamina**

Os receptores de dopamina são membros da família de proteínas receptoras acopladas à proteína G. Os receptores de dopamina são classificados de acordo com seu efeito sobre na formação de AMP cíclico (cAMP) Existem duas classes de receptores: A classe D1 contém dois receptores de dopamina (D1 e D5) e a ativação desses receptores leva um aumento no nível do cAMP, enquanto a classe D2 que é formada por três receptores (D2, D3 e D4) inibe a produção de cAMP. Ambas as classes de receptores D1 e D2 são expressos em altos níveis no estriado (núcleo caudado e putâmen), onde desempenham um papel no controle motor dos núcleos basais. Os núcleos basais desempenham um papel fundamental na regulação do movimento voluntário e constituem o local da patologia na doença de Parkinson (STANDAERT; GALANTER, 2012).

Os receptores de dopamina pré-sinápticos, cuja maior parte pertence à classe D2, atuam como auto-receptores. Esses auto-receptores percebem o fluxo excessivo de dopamina a partir da sinapse e reduzem o tônus dopaminérgico, diminuindo a síntese de DA no neurônio pré-sináptico e reduzindo a taxa de descarga neuronal e a liberação de dopamina (STANDAERT; GALANTER, 2012).



Figura 6. Localização dos receptores de dopamina no cérebro. A localização dos cinco subtipos de receptores de dopamina no cérebro humano, determinada pela localização dos mRNA dos receptores em regiões correspondentes do cérebro do rato, é mostrada em azul em corte coronal. Ambos os receptores D1 e D2 localizam-se no núcleo caudado e putâmen (o estriado), no nucleus accumbens, na tonsila do cerebelo, no tubérculo olfatório e no hipocampo. Além disso, os receptores D1 são encontrados no córtex cerebral, enquanto os receptores D2 estão presentes na substância negra, na área tegmental ventral e no hipocampo. Abreviaturas: ATV = área tegmentar ventral, C = núcleo caudado, Cx = córtex cerebral, H = hipotálamo, HIPP = hipocampo, nAc = nucleus accumbens, P = putâmen, SN = substância negra, TC = tonsila do cerebelo, TO = tubérculo olfatório.



Fonte: Galanter (2012)

Os receptores de dopamina (D1, D2, D3, D4 e D5) medeiam todas as funções fisiológicas do neurotransmissor catecolaminérgico dopamina, variando de movimentos voluntários a sensação de recompensa para regulação hormonal e hipertensão. Esses receptores estão envolvidos na ação antagonista da dopamina em neurônios pré-sinápticos e pós-sinápticos. Os receptores são codificados por cinco genes (DRD1, DRD2, DRD3, DRD4 e DRD5) que são os genes mais estudados na farmacogenética da DP (RIECK et al., 2012).

### 2.3.6 DRD2/ ANKK1

O gene que codifica o receptor D2 (DRD2) foi mapeado no cromossomo 11 (posição: 11q22-23), sendo sua seqüência codificadora interrompida por 6 introns, originando uma proteína que apresenta 7 domínios transmembrânicos (Noble, 2000). Um dos polimorfismos do DRD2 mais estudados é o “polimorfismo TaqI A, que está localizado a 10Kb da posição 3’ do gene (rs:1800497)(NOBLE, 2000). O polimorfismo TaqI A do gene do *DRD2* foi um dos primeiros a serem investigados como fator de risco para vários transtornos mentais. No entanto, de maneira interessante, um novo gene foi mapeado na região onde se localiza tal polimorfismo, que codifica a proteína *ankyrin repeat and kinase domain containing 1* (ANKK1). A ANKK1 é uma proteína-quinase, provavelmente exercendo sua ação ligando-se à adenosina 5’-trifosfato (ATP), catalisando a transferência de um grupo fosfato dessa molécula, liberando energia (NEVILLE; JOHNSTONE; WALTON, 2004).

O polimorfismo Taq1A (E713K) causa a substituição de uma glutamina para uma lisina na 11ª repetição ankyrina de ANKK1. Essa troca de aminoácidos dificilmente resulta numa modificação estrutural do peptídeo. Mas, no entanto, ela pode mudar a especificidade do potencial eletrostático da estrutura. A análise por cristalografia do ANKK1 mostra que algumas regiões da superfície da proteína são carregadas negativamente (GRZYWACZ et al., 2012). A alteração da sequência de aminoácidos na posição 713 do ANKK1 resulta na substituição de uma glutamina carregada negativamente por uma lisina carregada positivamente, podendo assim alterar a função da proteína. A presença do alelo A1 (Lisina, Nucleotídeo T) implica numa menor densidade de receptores D2 no estriado (JÖNSSON et al., 1999; LUCHT et al., 2010).

Uma menor concentração de receptores do tipo D2 em neurônios pós-sináptico e pré-sináptico poderia dificultar a transmissão dopaminérgica.

### 2.3.7 Transportador de Dopamina

O transportador de dopamina (DAT) é um dos principais responsáveis pela eliminação da dopamina da fenda sináptica, deslocando esse neurotransmissor para dentro do neurônio pré-sináptico (Figura. 4). O DAT é o principal alvo de psicoestimulantes como anfetaminas e cocaína, que bloqueiam sua ação. Ademais, transporta as neurotoxinas MPP<sup>+</sup> e 6OH-DA, que causam parkinsonismo, explicando a preferência desses agentes por células dopaminérgicas (UHL, 2003). O DAT é uma proteína transmembranar que acopla duas moléculas de sódio, uma de cloro e uma de dopamina. Transporta esta última utilizando a energia do gradiente de sódio, sendo, portanto, dependente da ação da bomba de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>. O grau de degeneração celular das estruturas cerebrais acometidas na doença de Parkinson parece manter relação com a expressão gênica desta molécula, ressaltando sua importância como fator envolvido na fisiopatologia da doença (UHL, 1998). O gene que codifica essa proteína é o *DAT1* que está localizado no cromossoma 5p15, com 64kpb (UHL, 2003), e apresenta muitas variações polimórficas (MAZEI-ROBISON et al., 2005), uma das mais conhecidas é um VNTR (“variable number of tandem repeat”, ou número variável de repetições em tandem) de 40pb, que codifica uma região 3' não traduzida do RNAm. As repetições variam entre 3 a 13 em cada alelo, sendo que as mais frequentes são as com 9 e 10 repetições (VANDENBERGH et al., 1992). Através de estudo de imagem (SPECT) com beta-CIT (ligante do DAT), observou-se que alelos com menos repetições associavam-se a menor ligação ao DAT, sugerindo menor expressão gênica para esses alelos (HEINZ et al., 2000). Essa possível diferença da expressão poderia tornar as pessoas com alelos de maior repetição mais susceptíveis à doença de Parkinson, uma vez que a captação de neurotoxinas se dá através desse transportador (KIM et al., 2000).

Diante disso, a caracterização do perfil genético de pacientes com DP se faz necessária, principalmente dos genes (COMT, MAO-B, DAT1 e DRD2) que estão associados com a farmacogenética da doença e podem sugerir um tratamento mais eficaz e seguro.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

- Investigar a relação dos polimorfismos nos genes *COMT*, *MAO-B*, *DAT1* E *DRD2*, com a resposta ao tratamento farmacológico, em pacientes diagnosticados com a doença de Parkinson.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Verificar a distribuição genotípica e frequência alélica dos polimorfismos nos genes selecionados, em pacientes atendidos e diagnosticados com a doença de Parkinson no ambulatório do serviço PRO-PARKISON do hospital das clínicas de Pernambuco.
- Relacionar os polimorfismos nos genes *COMT* e *MAO-B* com a dosagem diária de Levodopa administrada.
- Relacionar os polimorfismos nos genes *COMT*, *MAO-B*, *DAT1* E *DRD2* com a susceptibilidade ao desenvolvimento de efeitos adversos decorrentes da terapia medicamentosa.

#### 4 ANÁLISE DOS RESULTADOS (ARTIGOS)

##### **Artigo I:**

TÍTULO: *MAOB* AND *COMT* GENETIC VARIATIONS ASSOCIATE WITH LEVODOPA TREATMENT RESPONSE IN PATIENTS WITH PARKINSON DISEASE

Artigo aceito para publicação na revista: *The journal of clinical pharmacology*.

ISSN: 0091-2700 (Print), 1552-4604 (Electronic)

Fator de impacto: 2.812

## MAOB AND COMT GENETIC VARIATIONS ASSOCIATE WITH LEVODOPA TREATMENT RESPONSE IN PATIENTS WITH PARKINSON DISEASE

|                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Journal:                      | <i>The Journal of Clinical Pharmacology</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Manuscript ID                 | JCP-17-Nov-400.R2                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Manuscript Type:              | Brief Report                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Date Submitted by the Author: | n/a                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Complete List of Authors:     | <p>sampaio, tiago; Universidade Federal de Pernambuco, Laboratorio de Imuno patologia Keizo Azami</p> <p>damasceno dos santos, Erinaldo; Universidade de Pernambuco, ICB</p> <p>Cordeiro de Lima, Gessica Dayane; Universidade de Pernambuco, ICB</p> <p>Salgues Gueiros dos Anjos, Rute ; Universidade Federal Rural de Pernambuco</p> <p>Celerino da Silva, Ronaldo ; Universidade Federal de Pernambuco, Laboratory of Immunopathology keizo asami (LIKA)</p> <p>Guescel Asano, Andore ; Universidade Federal de Pernambuco, Pro-Parkinson Program of Clinical Hospital of Federal University of Pernambuco</p> <p>4- Pro-Parkinson Program of Clinical Hospital of Federal University of Pernambuco (HC/PE)</p> <p>Jorge Asano, Nadja Maria ; Universidade Federal de Pernambuco, Department of Clinical Medicine, Faculty of Medicine</p> <p>Crovella, Sergio; Federal University of Pernambuco, Keizo Asami Immunopathology Laboratory; Federal University of Pernambuco, Department of Genetics</p> <p>Souza, Paulo Roberto; Universidade Federal Rural de Pernambuco,</p> |
| Keywords:                     | MAO-B, COMT, dyskinesia, levodopa, polymorphisms                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Generic Drug Names:           | levodopa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Abstract:                     | <p>The most commonly used Parkinson Disease (PD) treatment is the replacement of dopamine by their levodopa precursor (L-DOPA), Monoamine oxidase-B (MAO-B) and catechol-o-methyl transferase (COMT) are enzymes involved in the metabolism and regulation of dopamine availability. In our study we investigated the possible relation among selected single nucleotide polymorphisms (SNPs) at MAO-B (rs1799836) and COMT (rs4680) genes and the therapeutic response to L-DOPA (levodopa). A total of 162 Brazilians patients, from the Pro-Parkinson service of Clinics Hospital of Pernambuco (HC) diagnosed with sporadic PD and treated with levodopa, were enrolled. PD patients were stratified in two groups according with the daily levodopa doses. The MAO-B and COMT SNPs genotyping were conducted by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). After multivariate analysis we</p>                                                                                                                                            |

## **MAOB AND COMT GENETIC VARIATIONS ASSOCIATE WITH LEVODOPA TREATMENT RESPONSE IN PATIENTS WITH PARKINSON DISEASE**

Tiago Furtado Sampaio, Msc <sup>1</sup>, Erinaldo Ubirajara Damasceno dos Santos, Msc <sup>2</sup>, Gessica Dayane Cordeiro de Lima, Msc<sup>2</sup>, Rute Salgues Gueiros dos Anjos, PhD<sup>6</sup>, Ronaldo Celerino da Silva, PhD <sup>1</sup>, Andore Guescel C. Asano, Msc<sup>3</sup>, Nadja Maria Jorge Asano, PhD<sup>4</sup>, Sergio Crovella, PhD<sup>6</sup> \*Paulo Roberto Eleuterio de Souza, PhD<sup>1,2,5</sup>.

- 1- Post-graduate program of Biology Applied to Health, Federal University of Pernambuco (UFPE), Brazil.
- 2- Post-graduate program of Applied Cellular and Molecular Biology, University of Pernambuco (UPE), Brazil.
- 3- Department of Clinical Medicine, Faculty of Medicine, Federal University of Pernambuco (UFPE), Brazil.
- 4- Pro-Parkinson Program of Clinical Hospital of Federal University of Pernambuco e Recife (HC/UFPE), Brazil.
- 5- Department of Biology, Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE), Brazil.
- 6- Department of Genetics, Federal University of Pernambuco (UFPE), Brazil

\*Corresponding author.

Address: Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brazil. E-mail address: prsouza30@gmail.com (P.E. Souza).

## Abstract

The most commonly used Parkinson Disease (PD) treatment is the replacement of dopamine by their levodopa precursor (L-DOPA), Monoamine oxidase-B (MAO-B) and catechol-o-methyl transferase (COMT) are enzymes involved in the metabolism and regulation of dopamine availability. In our study we investigated the possible relation among selected single nucleotide polymorphisms (SNPs) at *MAO-B* (rs1799836) and *COMT* (rs4680) genes and the therapeutic response to L-DOPA (levodopa). A total of 162 Brazilians patients, from the Pro-Parkinson service of Clinics Hospital of Pernambuco (HC) diagnosed with sporadic PD and treated with levodopa, were enrolled. PD patients were stratified in two groups according with the daily levodopa doses. The *MAO-B* and *COMT* SNPs genotyping were conducted by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). After multivariate analysis we observed a significant difference between PD groups for the following variables: sex ( $p=0.02$ ), longer duration of disease ( $p=0.02$ ), longer levodopa therapy duration ( $p=0.01$ ), younger onset of PD ( $p=0.01$ ) and use of COMT inhibitor ( $p=0.02$ ). We observed that patients carrying MAOB (rs1799836) A and, AA genotype and *COMT* (rs4680) LL genotype suffered more frequently from levodopa-induced-dyskinesia. In addition, we found an increased risk of 2.84-fold for male individuals carrying the *MAO-B* G allele to be treated with higher doses of levodopa ( $p=0.04$ ). We concluded that, before beginning PD pharmacological treatment, it is important to consider the genetic variants at *MAO-B* and *COMT* gene, and the sex, reinforcing the evidence that a sexual dimorphism in the genes related to dopamine metabolism might affect PD treatment.

**Key-words:** *MAO-B*, *COMT*, dyskinesia, levodopa, polymorphisms.



## INTRODUCTION

Parkinson Disease (PD) is the second most common neurodegenerative disorder worldwide, affecting 1-2% of the elderly population(WIRDEFELDT et al., 2011b). By 2030, it is expected that around 8.7 million individuals will suffer from PD(DORSEY et al., 2007). PD etiology is complex, involving both genetic and environmental factors (WIRDEFELDT et al., 2011b). The main pathological hallmark is the progressive loss of dopaminergic neurons in the nigra substantia pars compacta that leads to alterations in the cortical-striatal-thalamic circuit and, consequently, cause the PD symptoms (bradykinesia, resting tremor, postural instability and rigidity)(BHATIA, 2012; OLANOW; STERN; SETHI, 2009)

There is no known effective cure for PD and the motor symptoms treatment is based, primarily, on levodopa (L-DOPA) use, a dopamine precursor, considered the gold standard treatment for PD. However, individuals undergoing long-term therapy (4-6 years) show a tendency of developing motor complications, such as Levodopa-induced-dyskinesia (LID), abnormal involuntary movements and motor fluctuation (“on” periods), and periods during which the medication does not satisfactorily control motor disability and the response is suboptimal (“off ” periods)(OLANOW; STERN; SETHI, 2009; PAHWA et al., 2014).

Fahn et al evaluated the adverse effects relative to the daily dose of levodopa and reported that individuals receiving the highest dose of the drug had, significantly, more LID, hypertonia, infection, headache and nausea than those receiving placebo(FAHN et

al., 2004) .

The dopamine bioavailability in the central nervous system is associated with the activity of two enzymes: monoamine oxidase-B (MAO-B) and catechol-O-methyltransferase (COMT), which are involved in the dopamine inactivation pathway (FAHN et al., 2004; OLANOW; STERN; SETHI, 2009; PAHWA et al., 2014) . The enzyme COMT is codified by *COMT* gene localized at 22q11.21-q11.23, while the gene encoding *MAO-B* is located at X chromosome (Xp11.4-p11.23) (GOUDREAU et al., 2002; MAIA; FRANK, 2011). Recent investigations suggest that *COMT* and *MAOB* single nucleotide polymorphisms (SNPs) might influence the PD development risk and pharmacological treatment (BIALECKA et al., 2007, 2008; CHESHIRE et al., 2013). The non-synonym SNP rs4680 in *COMT*, a G→A transition (valine-methionine substitution) at codon 158 (exon 4) of the membrane-bound transcript variant, has been associated to the modulation of enzyme activity (CHESHIRE et al., 2013). The A allele was associated with a reduction of three- to four-fold in the enzyme activity, being designated as L (low activity), while the G allele has been called H since associated with higher enzymatic activity (MUELLNER et al., 2015). Additionally, *MAO-B* gene contains a single-stranded conformational polymorphism within intron 13 (rs1799836), which results in a transitional conversion of adenine (A) to guanine (G) creating a splicing enhancer thus changing the enzymatic activity (LIU; WANG; ZHANG, 2014; TAN et al., 2000; TORKAMAN-BOUTORABI et al., 2012b) .

The impact of genetic variants in the choice of the more adequate PD treatment is still controversial. Thus, it is necessary to search for genetic biomarkers predictive of response to levodopa dose and the development of adverse effects. The present study investigated the possible relationship between the distribution of *MAO-B* and *COMT*

functional SNPs and the levodopa therapy effects in PD individuals of a population from Northeast Brazil.

## **METHODS**

All the procedures used in this study, were evaluated and approved by ethics committee of Health Ministry of Brazil (CAAE: 45614415.0.0000.5208). Informed written consents from all individuals were obtained and relevant clinic-epidemiological variables (sex, age of onset, duration of disease, daily levodopa dose, and severity of the disease based on Hoehn-Yahr [H-Y] score)(HOEHN et al., 1967) were collected according to a structured questionnaire and medical records in a face-to-face interview with the patients and their family members.

### *Study subjects*

A retrospective study was performed aimed at investigating the role of *MAO-B* and *COMT* selected functional genetics polymorphisms in the administration of levodopa in PD patients. A total of 162 PD individuals, from a population of Northeast Brazil (Recife) were investigated during the first 5 years of treatment at the PRO-PARKINSON service from the Clinics Hospital of Pernambuco (HC-PE); the idiopathic PD diagnosis was based on the United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank criteria (HUGHES et al., 1992). Individuals diagnosed with PD, in levodopa treatment were enrolled in this study. However, PD individuals with abnormal symptoms and without

levodopa treatment were excluded of study.

PD patients were classified in two groups, based on the observation that individuals taking more than 600 mg levodopa tended to develop more adverse effects (FAHN et al., 2004). The first group consisted of PD individuals treated with a daily levodopa dose equal or below 600 mg/day (Group 1); the second group consisted of individuals treated with levodopa doses above 600 mg/day (Group 2).

#### *DNA extraction and genotyping*

Genomic DNA was extracted from 3 ml venous peripheral blood of PD individuals using Wizard® Genomic DNA Purification Kit (PROMEGA) and stored in a –20°C freezer. This procedure was performed at the “Laboratório de Genética Bioquímica e Sequenciamento de DNA Prof<sup>a</sup>. Tânia Falcão (GENOMA)” at Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

*MAOB* (rs1799836) and *COMT* (rs4680) variants were genotyped using polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) assay following the protocols of Wu et al (WU et al., 2001). A fragment of 217pb from *COMT* rs4680 SNP was amplified using the following set of primers: 5'-TCGTGGACGCCGTGATTCAGG-3' and 5'-AGGTCTGACAACGGGTCAGGC-3' and digested by the restriction enzyme *Nla*III, which yields three DNA fragments of 40, 81 and 96 bp for *COMT* A allele (Low activity), and two DNA fragments of 81 and 136 bp for *COMT* G allele (High activity). For *MAO-B* an amplicon of 232 bp was amplified using the following primers: forward 5'- GGAACCTCTTATACCACAGG-3' and the reverse 5'-GACTGCCAGATTTTCATCCTC-3'; and digested with the restriction enzyme *Tsp*45I.

*MAO-B* allele 1 (Tsp45I restriction site) was detected when two bands of 146 and 86-bp, whereas allele 2 (no Tsp45I restriction site) was detected when a single 232-bp band was visible [19].

### *Statistical analyses*

Allele and genotype frequencies were estimated using the software package BioEstat 5.0<sup>20</sup> Hardy-Weinberg equilibrium was verified for all SNPs using the Genotype Transposer software. Univariate analysis and logistic regression were performed using the R software version 3.0.2 (<http://www.R-project.org/>). The Student's t-test or the nonparametric Mann–Whitney U-test were used for the assessment of quantitative variables. The Kolmogorov–Smirnov test was used to evaluate normality. Chi-square and odds ratio were used to compare either allelic frequencies or the genotype frequencies of *MAOB* or *COMT* genes. Confounders to be included in the multiple linear regression model were determined conceptually or with an association ( $p \leq 0.20$ ) with levodopa dose and genotypes. The post-hoc statistical power analysis was performed with the “G\*power” software (version 3.0.5). A formal Bonferroni correction for the number of analyzed SNPs would require a significance threshold of  $p = 0.025$ .

## **RESULTS**

Clinical and epidemiological variables for all PD individuals enrolled in this study are presented in table 1. The group 1 consisted of 76 (46.9%) PD individuals, mostly female sex (40/76), with a mean age of  $65.2 \pm 9.5$  years, treated with levodopa doses  $\leq 600$ mg/day. The group 2 consisted of 86 (53.1%) PD individuals, mostly male sex

(56/86), with a mean age of  $63.0 \pm 9.3$  years, treated with levodopa doses  $>600\text{mg/day}$ .

The male sex was more frequent among PD individuals that were taking  $>600\text{mg/day}$  of levodopa ( $p=0.02$ ). On average, the longer duration of disease and a prolonged levodopa therapy were higher in individuals of group 2 ( $8.1 \pm 4.6$  and  $7.9 \pm 4.2$  years, respectively) than group 1 ( $6.6 \pm 4.0$  and  $6.5 \pm 3.8$ , years, respectively), differing significantly ( $p=0.02$  and  $p=0.01$ , years, respectively). On other hand, the mean age (years) at onset was significantly higher in PD individuals of group 1 ( $58.6 \pm 10.3$ (years)) with respect to individuals of group 2 ( $54.9 \pm 10.2$ ,years  $p=0.01$ ). Additionally, when we evaluated the concomitant use of other anti-parkinsonian drugs, we observed that the majority of PD individuals undergoing COMT inhibitor therapy were in the group taking higher doses of levodopa ( $p=0.02$ ) (Table 1). In addition, PD individuals taking higher daily dose of levodopa ( $>600 \text{ mg/day}$ ) showed an association with Levodopa-Induced-Dyskinesia (LID) ( $p=0.04$ ) and motors fluctuation ( $p=0.01$ ) compared to the group treated with low doses (Table 1). The allelic and genotype frequencies distribution of *COMT* and *MAOB* SNPs among PD individuals treated with high (group 2) and low (group 1) daily levodopa doses are shown in Table 2. When considering allelic and genotypic distribution of *COMT* SNP, percentage differences were observed, but without reaching the statistical significance ( $p > 0.05$ ).

Due to the location of *MAO-B* on chromosome X, males and females were analyzed separately in the two groups (Table 2). The *MAOB* GG genotype that is associated with an increased enzyme activity, were more prevalent in the group treated with high daily doses (56.9%) than in the group treated with low daily doses (48.6%). Among PD females, the GG genotype was more frequent in the low dose group (47.5%) than in high dose group (30.0%). On other hand, in males that are hemizygotic for the

MAO-B gene, the G allele was more frequent in the high dose group (71.4%) than in the low dose group (50.0%). However, no significant difference was found between groups for *MAOB* genotypes distribution (Table 2).

The *MAOB* and *COMT* allelic and genotypic distribution were verified for presence or absence of dyskinesia and motor fluctuation (Table 3). After adjustment by Bonferroni correction, it was observed that PD individuals carrying A and AA genotypes of *MAOB* (rs1799836) (OR= 2.59; p-value =0.0139) and *COMT* L/L genotype (rs4680) (OR= 5.53; p-value =0.0009) presented more frequently dyskinesia. The genotype frequencies in both genes were in accordance with the Hardy-Weinberg equilibrium. Minor Allele Frequencies (MAF) for *MAO-B* gene (rs1799836) was 0.39 and for *COMT* gene (rs4680) was 0.33.

Table 4 shows the results of logistic regression related to clinical and genetic variables of patients that could predict high or low doses of levodopa. The model showed that male patients carrying the *MAO-B* G allele (rs1799836) (OR= 2.84; p=0.04) and/or the presenting dyskinesia (OR= 3.87; p-value =0.04) were those treated with higher doses of levodopa.

## DISCUSSION

Motor complications such as LID and motor fluctuation are undesirable consequences of PD treatment and severely affect the quality life of patients (MAIA; FRANK, 2011). In our study we observed that the development of these symptoms correlates with disease duration and levodopa dosage (Figure), as already known in the literature <sup>21</sup>. Since PD is a neurodegenerative and progressive disease, it is inevitable that these parameters have a role on disease progression. For that reason, the

identification of new biomarkers predicting disease progression is a priority in the PD clinical context.

In this study we evaluated whether the functional genetic variability of genes coding for levodopa metabolizing enzymes (*COMT* and *MAO-B*), might influence on the response of levodopa in PD individuals as well as the development of side effects after treatment. The *COMT* L/L genotype (rs4680) and *MAOB* A/A genotype (rs1799836) were associated with dyskinesia development risk after adjusting for gender and age (Table 3), suggesting that variants related to low enzymatic activity of these enzymes could affect the dopamine pathway, resulting in a defective inactivation and a consequential accumulation of dopamine on synaptic cleft, resulting in an increase of levodopa on plasma, thus leading to Peak-dose dyskinesia. Other studies also found the same result related to *COMT* L/L genotype and LID susceptibility, however, they were not able to reach statistical significance after Bonferroni's correction<sup>22,23</sup>.

When we analyzed the group of PD individuals as a whole we observed that individuals with advanced disease time, as well as those who had an earlier onset, were associated with high levodopa daily doses. Similar to our findings, Altmann et al<sup>24</sup> also described an association between major disease progress and high doses of levodopa. Two evidences may support this finding: (1) Levodopa treatment has not a protective effect on PD progression and, so far, nothing can be done to slow down the degenerative process, and the loss of dopaminergic neurons<sup>25</sup>; (2) MAO-B enzyme is responsible for oxidative stress in substantia nigra and its activity increases with age. Thus, it is probable that increased MAOB activity contributes to neurodegeneration and, consequently, a need of more dopamine<sup>26</sup>.



Our data showed that PD individuals carrying the *COMT* H/H genotype have a tendency to need higher doses of levodopa. In a previous study, conducted by Bialecka et al (BIALECKA et al., 2008) an association among high daily doses of levodopa and the haplotype block formed by four *COMT* SNPs related with high enzymatic activity was described. Furthermore, in the present study the *COMT* LL genotype (lower enzymatic activity) was more frequent in the group treated with higher doses compared with lower doses (2.8%), but no significant difference was found suggesting that the *COMT* rs4680 has no relation with the daily dose of L-DOPA.

The other gene participating in dopamine metabolism is the *MAO-B*, which also may be involved in sex related differences in the clinical outcome of PD. Some studies reported a possible association between PD susceptibility and variations in the X chromosome, which may explain the higher incidence of PD among men<sup>27</sup>.

The A644G SNP localized at intron 13 of *MAO-B* gene, creates a splicing enhancer site, which modifies the enzymatic activity, but which allele confers higher or lower activity still remains unclear<sup>28</sup>. Balciuniene et al<sup>29</sup> reported an increased *MAO-B* brain enzyme activity in the presence of *MAOB* A allele. when compared with G allele. In contrast, Garpenstrand et al.<sup>30</sup> and Costa-Mallen et al.<sup>31</sup> observed that the *MAO-B* G allele was associated with increased MAO-B activity in platelet and cultured cells. Boutorabi et al.(TORKAMAN-BOUTORABI et al., 2012b) and Bialecka et al.<sup>32</sup> found an increased tendency of high doses of levodopa need in individuals carrying the *MAO-B* G/G genotype.

In our study, no statistically significant difference was observed between high and low dosage of levodopa when using univariate analysis. For that reason, further studies on *MAO-B* gene expression levels are needed in order to elucidate the role of *MAO-B*

rs1799836 polymorphism in the modulation of enzyme activity. In addition, among the logistic regression and univariate analyses, we found an increased risk of 2.84-fold of PD individuals male carrying the *MAO-B* G allele to be treated with high doses of levodopa ( $p=0.04$ ) suggesting a possible correlation of the genetic variant and gender on levodopa treatment, reinforcing the evidence that a sexual dimorphism on the genes related to dopamine metabolism may exist.

## **CONCLUSION**

Based on our findings, we concluded that before treating PD patients with levodopa it is important to take in consideration the genetic variants at *MAO-B* and *COMT* gene and the sex, emphasizing that sexual dimorphism in the genes related to dopamine metabolism might affect PD treatment.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

We thank the patients and their families, whose collaboration and understanding have made this work possible. This study was supported by the Brazilian funding agency FACEPE (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco).

## **CONFLICT OF INTEREST**

The authors declare that they have no conflicts of interest and no competing financial interests.

## **REFERENCE**

AHLISKOG, J. E. Slowing Parkinson's disease progression: recent dopamine agonist trials. **Neurology**, v. 60, n. 3, p. 381–389, 2003.

ALMOMANI, B. et al. Pharmacogenetics and the print media: what is the public told? **BMC Medical Genetics**, v. 16, n. 1, p. 32, 2015.

AMBROSI, G.; CERRI, S.; BLANDINI, F. A further update on the role of excitotoxicity in the pathogenesis of Parkinson's disease. **Journal of Neural Transmission**, v. 121, n. 8, p. 849–859, 2014.

ANTONY, P. M. A. et al. The hallmarks of Parkinson's disease. **FEBS Journal**, v. 280, n. 23, p. 5981–5993, 2013.

ARBOUW, M. E. L. et al. Clinical and pharmacogenetic determinants for the discontinuation of non-ergoline dopamine agonists in Parkinson's disease. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 65, n. 12, p. 1245–1251, 2009.

BARBOSA, M. T. et al. Parkinsonism and Parkinson's disease in the elderly: A community-based survey in Brazil (the Bambuí study). **Movement Disorders**, v. 21, n. 6, p. 800–808, 2006.

BEZARD, E.; GROSS, C. E.; BROTHIE, J. M. Presymptomatic compensation in Parkinson's disease is not dopamine-mediated. **Trends in Neurosciences**, v. 26, n. 4, p. 215–221, 2003.

BHATIA, K. P. Clinical Approach to Parkinson's Disease: Features, Diagnosis, and Principles of Management. p. 1–15, 2012.

BHIDAYASIRI, R.; TRUONG, D. D. Motor complications in Parkinson disease: Clinical manifestations and management. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 266, n. 1–2, p. 204–215, 2008.

BIALECKA, M. et al. Polymorphisms of catechol-O-methyltransferase (COMT),

monoamine oxidase B (MAOB), N-acetyltransferase 2 (NAT2) and cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) gene in patients with early onset of Parkinson's disease. **Parkinsonism & related disorders**, v. 13, n. 4, p. 224–9, 2007.

BIALECKA, M. et al. The association of functional catechol-O-methyltransferase haplotypes with risk of Parkinson's disease, levodopa treatment response, and complications. **Pharmacogenetics and genomics**, v. 12, p. 815–821, 2008.

BLOEM, B. R. et al. The MPTP model: versatile contributions to the treatment of idiopathic Parkinson's disease. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 97, n. 2–3, p. 273–293, 1990.

CALNE, D.; WILLIAM LANGSTON, J. Aetiology of Parkinson's Disease. **The Lancet**, v. 322, n. 8365–8366, p. 1457–1459, 1983.

CAMPDELACREU, J. Parkinson disease and Alzheimer disease: environmental risk factors. **Neurologia (Barcelona, Spain)**, v. 29, n. 9, p. 541–549, 2014.

CHAPUIS, S. et al. Impact of the motor complications of Parkinson's disease on the quality of life. **Movement Disorders**, v. 20, n. 2, p. 224–230, 2005.

CHESHIRE, P. et al. Influence of single nucleotide polymorphisms in COMT, MAO-A and BDNF genes on dyskinesias and levodopa use in Parkinson's disease. **Neurodegenerative Diseases**, v. 13, n. 1, p. 24–28, 2013.

CIPRIANI, S.; CHEN, X.; SCHWARZSCHILD, M. A. Urate: a novel biomarker of Parkinson's disease risk, diagnosis and prognosis. v. 4, n. 5, p. 701–712, 2011.

COHEN, G.; FAROOQUI, R.; KESLER, N. Parkinson disease: a new link between monoamine oxidase and mitochondrial electron flow. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 94, n. 10, p. 4890–4, 1997.

CONNOLLY, B. S.; LANG, A. E. Pharmacological Treatment of Parkinson Disease.

**Journal of Neurology**, v. 311, n. 4, p. 442–449, 2014.

CONTIN, M.; MARTINELLI, P. Pharmacokinetics of levodopa. **Journal of Neurology**, v. 257, n. SUPPL. 2, 2010.

COSTA-MALLEN, P.; COSTA, L. G.; CHECKOWAY, H. Genotype combinations for monoamine oxidase-B intron 13 polymorphism and dopamine D2 receptor TaqIB polymorphism are associated with ever-smoking status among men. **Neuroscience Letters**, v. 385, n. 2, p. 158–162, 2005.

DAUER, W.; PRZEDBORSKI, S. Parkinson's disease: mechanisms and models. **Neuron**, v. 39, n. 6, p. 889–909, 2003.

DE LAU, L. M. L.; BRETELER, M. M. B. Epidemiology of Parkinson's disease. **The Lancet. Neurology**, v. 5, n. 6, p. 525–35, 2006.

DELGADO-MORALES, R. **Neuroepigenomics in Aging and Disease**. [s.l.: s.n.]. v. 978

DORSEY, E. et al. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. **Neurology**, v. 68, p. 384–386, 2007.

DROZDZIK, M.; BIALECKA, M.; KURZAWSKI, M. Pharmacogenetics of Parkinson's disease - through mechanisms of drug actions. **Curr Genomics**, v. 14, n. 8, p. 568–577, 2013.

FABBRINI, G. et al. Levodopa-induced dyskinesias. **Movement Disorders**, v. 22, n. 10, p. 1379–1389, 2007.

FAHN, S. et al. Levodopa and the Progression of Parkinson's Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 24, p. 2498–2508, 2004.

FARRER, M. J. Genetics of Parkinson disease: paradigm shifts and future prospects. **Nature Reviews Genetics**, v. 7, n. 4, p. 306–318, 2006.

FOX, S. H.; LANG, A. E. Levodopa-related motor complications - Phenomenology.

**Movement Disorders**, v. 23, n. SUPPL. 3, 2008.

GOETZ, C. G. The History of Parkinson's Disease: Early Clinical Descriptions and Neurological Therapies. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 1, n. 1, p. a008862–a008862, 2011.

GOTHELF, D. et al. Association of the low-activity COMT 158Met allele with ADHD and OCD in subjects with velocardiofacial syndrome. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 10, n. 3, p. 301–308, 2007.

GOUDREAU, J. L. et al. Case-control study of dopamine transporter-1, monoamine oxidase-B, and catechol-O-methyl transferase polymorphisms in Parkinson's disease. **Movement Disorders**, v. 17, n. 6, p. 1305–1311, 2002.

GRZYWACZ, A. et al. Influence of DRD2 and ANKK1 polymorphisms on the manifestation of withdrawal syndrome symptoms in alcohol addiction. 2012.

HEINZ, A. et al. Genotype influences in vivo dopamine transporter availability in human striatum. **Neuropsychopharmacology**, v. 22, n. 2, p. 133–139, 2000.

HESS, C. W. et al. Diagnosing Parkinson Disease Treating the Motor Symptoms of Parkinson Disease. v. 22, n. August, p. 1064–1085, 2016.

HOEHN, M. M. et al. Parkinsonism : onset , progression , and mortality. v. 17, n. May, 1967.

HUGHES, A. J. et al. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. **Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry**, v. 55, n. 3, p. 181–4, 1992.

HUNT, A. L.; SETHI, K. D. The pull test: A history. **Movement Disorders**, v. 21, n. 7, p. 894–899, 2006.

JANKOVIC, J. Motor fluctuations and dyskinesias in Parkinson's disease: Clinical

manifestations. **Movement Disorders**, v. 20, n. SUPPL. 11, 2005.

JANKOVIC, J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 79, n. 4, p. 368–376, 2008.

JELLINGER, K. A. Neuropathology of sporadic Parkinson's disease: Evaluation and changes of concepts. **Movement Disorders**, v. 27, n. 1, p. 8–30, 2012.

JÖNSSON, E. G. et al. Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their relationships to striatal dopamine receptor density of healthy volunteers. **Molecular Psychiatry**, v. 4, p. 290–296, 1999.

KALIA, L. V.; KALIA, S. K.  $\alpha$ -Synuclein and Lewy pathology in Parkinson's disease. **Current Opinion in Neurology**, p. 1, 2015.

KANDINOV, B.; GILADI, N.; KORCZYN, A. D. The effect of cigarette smoking, tea, and coffee consumption on the progression of Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 13, n. 4, p. 243–245, 2007.

KEMPSTER, P. A. et al. Relationships between age and late progression of Parkinson's disease: A clinico-pathological study. **Brain**, v. 133, n. 6, p. 1755–1762, 2010.

KIM, J. W. et al. **Association of the dopamine transporter gene with Parkinson's disease in Korean patients** *Korean Medical Sciences*, 2000.

KISS, L. E.; SOARES-DA-SILVA, P. Medicinal Chemistry of Catechol O-Methyltransferase (COMT) Inhibitors and their Therapeutic Utility. **Journal of medicinal chemistry**, v. 57, p. 8692–8717, 2014.

KLEBE, S. et al. The Val158Met COMT polymorphism is a modifier of the age at onset in Parkinson's disease with a sexual dimorphism. **Movement Disord.**, v. 84, n. 6, p. 666–73, 2013.

KURZAWSKI, M.; BIAŁECKA, M.; DROŹDZIK, M. Pharmacogenetic considerations in

the treatment of Parkinson ' s disease. v. 5, p. 27–35, 2015.

LEES, A. J.; HARDY, J.; REVESZ, T. Parkinson's disease. **The Lancet**, v. 373, n. 9680, p. 2055–2066, 2009.

LINDVALL, O. et al. Evidence for Long-Term Survival and Function of Dopaminergic Grafts in Progressive Parkinsons-Disease. **Annals of Neurology**, v. 35, n. 2, p. 172–180, 1994.

LIU, Y.; WANG, Z.; ZHANG, B. The relationship between monoamine oxidase B (MAOB) A644G polymorphism and Parkinson disease risk: a meta-analysis. **Annals of Saudi medicine**, v. 34, n. 1, p. 12, 2014.

LOONEN, A. J. M.; IVANOVA, S. A. New insights into the mechanism of drug-induced dyskinesia. **CNS Spectrums**, v. 18, n. 1, p. 15–20, 2013.

LUCHT, M. et al. Influence of DRD2 and ANKK1 genotypes on apomorphine-induced growth hormone (GH) response in alcohol-dependent patients. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 34, n. 1, p. 45–49, 2010.

MAIA, T. V.; FRANK, M. J. From reinforcement learning models to psychiatric and neurological disorders. **Nature Neuroscience**, v. 14, n. 2, p. 154–162, 2011.

MALIEPAARD, M. et al. Pharmacogenetics in the evaluation of new drugs: a multiregional regulatory perspective. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 12, n. February, p. 103–115, 2013.

MAZEI-ROBISON, M. S. et al. Sequence variation in the human dopamine transporter gene in children with attention deficit hyperactivity disorder. **Neuropharmacology**, v. 49, n. 6, p. 724–736, 2005.

MUELLNER, J. et al. Dopaminergic denervation severity depends on COMT Val158Met polymorphism in Parkinson's disease. **Parkinsonism & Related Disorders**, v. 21, n. 5, p.



471–476, 2015.

MÜLLER, T. Catechol-O-Methyltransferase Inhibitors in Parkinson's Disease. **Drugs**, v. 75, n. 2, p. 157–174, 2015.

MUNHOZ, R. P. et al. Non-motor signs in Parkinson's disease: a review. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 73, n. 5, p. 454–462, 2015.

NAROZANSKA, E. et al. Pharmacokinetics of levodopa in patients with Parkinson disease and motor fluctuations depending on the presence of Helicobacter pylori infection. **Clinical neuropharmacology**, v. 37, n. 4, p. 96–99, 2014.

NEVILLE, M. J.; JOHNSTONE, E. C.; WALTON, R. T. Identification and characterization of ANKK1: A novel kinase gene closely linked to DRD2 on chromosome band 11q23.1. **Human Mutation**, v. 23, n. 6, p. 540–545, 2004.

NOBLE, E. P. The DRD2 gene in psychiatric and neurological disorders and its phenotypes. **Pharmacogenomics**, v. 1, n. 3, p. 309–33, 2000.

NUTT, J. G. Motor fluctuations and dyskinesia in Parkinson's disease. **Parkinsonism.Relat Disord.**, v. 8, n. 1353–8020 (Print), p. 101–108, 2001.

NUTT, J. G.; WOOTEN, G. F. Diagnosis and Initial Management of Parkinson's Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 353, p. 1021–1027, 2005.

NYHOLM, D. et al. Levodopa infusion combined with entacapone or tolcapone in Parkinson disease: A pilot trial. **European Journal of Neurology**, v. 19, n. 6, p. 820–826, 2012.

OBESO, J. A et al. Missing pieces in the Parkinson's disease puzzle. **Nature Medicine**, v. 16, n. 6, p. 653–661, 2010.

OBESO, J. A. et al. Pathophysiology of the basal ganglia in Parkinson's disease. **Trends in Neurosciences**, v. 23, n. Box 1, p. S8–S19, 2000.

OLANOW, C. W. et al. A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. **Annals of Neurology**, v. 54, n. 3, p. 403–414, 2003.

OLANOW, C. W.; BRUNDIN, P. Parkinson's Disease and Alpha Synuclein: Is Parkinson's Disease a Prion-Like Disorder? **Movement Disorders**, v. 28, n. 1, p. 31–40, 2013.

OLANOW, C. W.; STERN, M. B.; SETHI, K. The scientific and clinical basis for the treatment of Parkinson disease (2009). **Neurology**, v. 72, n. 21 SUPPL. 4, p. S1–S136, 2009.

PAHWA, R. et al. Pharmacological Treatment of Parkinson Disease. **Journal of Neurology**, v. 311, n. 4, p. 442–449, 2014.

RIECK, M. et al. DRD2 haplotype is associated with dyskinesia induced by levodopa therapy in Parkinson's disease patients. **Pharmacogenomics**, v. 13, n. 15, p. 1701–10, 2012.

RIEDERER, P. et al. Relating mode of action to clinical practice: Dopaminergic agents in Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 13, n. 8, p. 466–479, 2007.

ROBAKIS, D.; FAHN, S. Defining the Role of the Monoamine Oxidase-B Inhibitors for Parkinson's Disease. **CNS Drugs**, v. 29, n. 6, p. 433–441, 2015.

ROSS, G. W. et al. Association of coffee and caffeine intake with the risk of Parkinson disease. **Jama**, v. 283, n. 20, p. 2674–9, 2000.

RUTHERFORD, K. et al. The 108M polymorph of human catechol O-methyltransferase is prone to deformation at physiological temperatures. **Biochemistry**, v. 45, n. 7, p. 2178–2188, 2006.

RUTHERFORD, K. et al. The V108M mutation decreases the structural stability of catechol O-methyltransferase. **Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and**

**Proteomics**, v. 1784, n. 7–8, p. 1098–1105, 2008.

SÄÄKSJÄRVI, K. et al. Prospective study of coffee consumption and risk of Parkinson's disease. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 7, p. 908–915, 2008.

SAVITT, J.; DAWSON, V.; DAWSON, T. Diagnosis and treatment of Parkinson disease: molecules to medicine. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 7, p. 1744–1754, 2006.

SCHAPIRA, A. H. V; OBESO, J. Timing of treatment initiation in Parkinson's disease: A need for reappraisal? **Annals of Neurology**, v. 59, n. 3, p. 559–562, 2006.

SCHAPIRA, A. H. V. Dopamine agonists and neuroprotection in Parkinson's disease. **European Journal of Neurology**, v. 9, p. 7–14, 2002.

ŠERÝ, O. et al. A 40-bp VNTR polymorphism in the 3'-untranslated region of DAT1/SLC6A3 is associated with ADHD but not with alcoholism. **Behavioral and Brain Functions**, v. 11, n. 1, p. 1–8, 2015.

SPILLANTINI, M. G. et al. Alpha-synuclein in Lewy bodies. **Nature**, v. 388, n. 6645, p. 839–840, 1997.

STANDAERT, D. G.; GALANTER, J. M. Farmacologia da Neurotransmissão Dopaminérgica. In: **Farmacologia da Neurotransmissão Dopaminérgica**. [s.l: s.n.]. p. 167–185.

SWEET, R. A. et al. Dopamine receptor genetic variation, psychosis, and aggression in Alzheimer disease. **Archives of Neurology**, v. 55, n. 10, p. 1335–1340, 1998.

TAN, E. K. et al. Variability and validity of polymorphism association studies in Parkinson's disease. **Neurology**, v. 55, n. 4, p. 533–538, 2000.

TANNER, C. M. et al. Parkinson Disease in Twins. **Jama**, v. 281, n. 4, p. 341–346, 1999.

TEO, K.; HO, S.-L. Monoamine oxidase-B (MAO-B) inhibitors: implications for

disease-modification in Parkinson's disease. **Translational Neurodegeneration**, v. 2, n. 1, p. 19, 2013.

TORKAMAN-BOUTORABI, A. et al. The catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase B polymorphisms and levodopa therapy in the Iranian patients with sporadic Parkinson ' s disease. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, v. 72, n. 3, p. 272–282, 2012a.

TORKAMAN-BOUTORABI, A. et al. The catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase B polymorphisms and levodopa therapy in the Iranian patients with sporadic Parkinson ' s disease. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, v. 72, p. 272–282, 2012b.

UHL, G. R. Hypothesis: The Role of Dopaminergic Transporters in Selective Vulnerability of Cells in Parkinson's Disease. **Annals of Neurology**, v. 43, n. 5, p. 555–560, 1998.

UHL, G. R. Dopamine transporter: Basic science and human variation of a key molecule for dopaminergic function, locomotion, and parkinsonism. **Movement Disorders**, v. 18, n. SUPPL. 7, 2003.

VANDENBERGH, D. J. et al. Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. **Genomics**, v. 14, n. 4, p. 1104–1106, 1992.

WIRDEFELDT, K. et al. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. **European Journal of Epidemiology**, v. 26, n. S1, p. 1–58, 2011a.

WIRDEFELDT, K. et al. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. **European journal of epidemiology**, v. 26 Suppl 1, p. S1–S58, 2011b.

WOOD, P. L.; ALTAR, C. A. Dopamine release in vivo from nigrostriatal; mesolimbic; and mesocortical neurons: Utility of 3-methoxytyramine measurements. **Pharmacological Reviews**, v. 40, p. 163–187, 1988.

WU, R. M. et al. The COMT L allele modifies the association between MAOB

polymorphism and PD in Taiwanese. **Neurology**, v. 56, n. 3, p. 375–82, 2001.

ZAMMIT, S. et al. Polymorphisms in the MAOA, MAOB, and COMT genes and aggressive behavior in schizophrenia. **American Journal of Medical Genetics**, v. 128B, n. 1, p. 19–20, 2004.

ZAPPIA, M. et al. Sex Differences in Clinical and Genetic Determinants of Levodopa Peak-Dose Dyskinesias in Parkinson Disease. **Archives of Neurology**, v. 62, n. 4, p. 601, 2005.

ZEUNER, K. E. et al. Accelerometry to distinguish psychogenic from essential or parkinsonian tremor. **Neurology**, v. 61, n. 4, p. 548–50, 2003.

ZHANG, S. et al. Association study of dopamine transporter gene ( DAT1 ) variable tandem repeat sequence ( VNTR ) with obsessive-compulsive disorder in Chinese Han Population. v. 8, n. 3, p. 4606–4610, 2015.

**Table 1.** Association between demographic and clinical characteristic of individual with Parkinson Disease treated with low and high levodopa doses.

| Characteristics                                   | Overall<br>n=162 | Group 1<br>≤600mg/day<br>n= 76 | Group 2<br>>600mg/day<br>n= 86 | Univariate<br>Test<br>p-value |
|---------------------------------------------------|------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Sex, (male/female)                                | (92 / 70)        | (36/40)                        | (56/30)                        | <b>0.02*§</b>                 |
| Age (years)<br>Mean ±SD                           | 64.0 ± 9.4       | 65.2 ± 9.5                     | 63.04 ± 9.3                    | 0.12#                         |
| Duration of Disease (years)<br>mean ±SD           | 7.4 ± 4.4        | 6.6 ± 4.0                      | 8.1 ± 4.6                      | <b>0.02*#</b>                 |
| Levodopa therapy duration<br>(years)<br>Mean ± SD | 7.2 ± 4.1        | 6.5 ± 3.8                      | 7.9 ± 4.2                      | <b>0.01*#</b>                 |
| Age at onset ±SD (years)                          | 56.6 ± 10.4      | 58.6 ± 10.3                    | 54.9 ± 10.2                    | <b>0.01*#</b>                 |
| HY Stage ± SD (years)                             | 2.3 ± 0.9        | 2.2 ± 0.8                      | 2.4 ± 0.8                      | 0.16 #                        |
| <b>Antiparkinsonian drugs use</b>                 |                  |                                |                                |                               |
| Dopamine agonist use<br>N (%)                     | 100 (100)        | 46 (46.0)                      | 54 (54.0)                      | 0.64 §                        |
| MAO B inhibitor use<br>N (%)                      | 20 (100)         | 9 (45.0)                       | 11 (55.0)                      | 0.85§                         |
| COMT inhibitor use<br>N (%)                       | 23 (100)         | 4 (17.4)                       | 19 (82.6)                      | <b>0.02*§</b>                 |
| Amantadine<br>N (%)                               | 42 (100)         | 17 (40.5)                      | 25 (59.5)                      | 0.42§                         |
| <b>Adverse effects</b>                            |                  |                                |                                |                               |
| Dyskinesia N (%)                                  | 26 (100)         | 5 (19.2)                       | 21(80.8)                       | <b>0.04*§</b>                 |
| Motor fluctuation N<br>(%)                        | 69 (100)         | 21 (30.4)                      | 48 (69.6)                      | <b>0.01*§</b>                 |
| Hallucination N (%)                               | 21 (100)         | 9 (42.9)                       | 12 (57.1)                      | 0.92 §                        |

§ Chi square; # Mann-Whitney Test; \* Significant p-value (<0.05), OR= Odds ratio, OR just was calculated for qui square test. SD = standard deviation

**Table 2.** Distribution of allele and genotype frequencies of *COMT* and *MAO-B* polymorphisms within individuals with Parkinson disease treated with high and low levodopa dosage/daily

| Alleles<br>Genotypes | Group 01<br>≤600mg/day<br><i>n</i> (%) | Group 02<br>>600mg/day<br><i>n</i> (%) | OR (95%CI), p-value |
|----------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|---------------------|
| <b><i>COMT</i></b>   | <b><i>n</i>=76</b>                     | <b><i>n</i>=86</b>                     |                     |
| <i>H</i>             | 99 (65.0)                              | 118 (68.6)                             | <i>Reference</i>    |
| <i>L</i>             | 53(34.0)                               | 54 (31.4)                              | 0.8 (0.5-1.3), 0.58 |
| <i>H/H</i>           | 30 (39.4)                              | 40 (46.50)                             | <i>Reference</i>    |
| <i>H/L</i>           | 39 (51.3)                              | 38 (44.18)                             | 0.7 (0.4-1.4), 0.43 |
| <i>L/L</i>           | 7 (9.3)                                | 8( 9.32)                               | 0.8 (0.2-2.6), 0.98 |
| <b><i>MAO-B</i></b>  |                                        |                                        |                     |
| <b><i>All</i></b>    | <b><i>n</i>=76</b>                     | <b><i>n</i> =86</b>                    |                     |
| <i>G, G/G</i>        | 37(48.6)                               | 49(56.9)                               | <i>Reference</i>    |
| <i>G/A</i>           | 14(18.4)                               | 16(18.6)                               | 0.8 (0.3-1.9), 0.89 |
| <i>A, A/A</i>        | 25(32.8)                               | 21(24.4)                               | 0.6 (0.3-1.3), 0.28 |
| <b><i>Female</i></b> | <b><i>n</i>=40</b>                     | <b><i>n</i>=30</b>                     |                     |
| <i>G</i>             | 52( 65.0)                              | 34 (56.6)                              | <i>Reference</i>    |
| <i>A</i>             | 28(35.0)                               | 26 (43.3)                              | 1.4 (0.7-2.8), 0.40 |
| <i>G/G</i>           | 19(47.5)                               | 9 (30.0)                               | <i>Reference</i>    |
| <i>G/A</i>           | 14(35.0)                               | 16(53.3)                               | 2.4 (0.8-7.0), 0.17 |
| <i>A/A</i>           | 7(17.5)                                | 5(16.6)                                | 1.5 (0.3-6.0), 0.82 |
| <b><i>Male</i></b>   | <b><i>n</i>=36</b>                     | <b><i>n</i>=56</b>                     |                     |
| <i>G</i>             | 18 (50.0)                              | 40(71.4)                               | <i>Reference</i>    |
| <i>A</i>             | 18(50.0)                               | 16(28.5)                               | 1.5 (0.3-6.0), 0.63 |

*n*= number of Parkinson's disease patients; OR: odds ratio; 95% CI: 95% confidence interval; p-value <0.05 was considered statistically significant;

Table 3. Genotypic distribution of MAOB and COMT polymorphism in individuals with Parkinson's disease in the presence or absence of adverse effects, dyskinesia and motor fluctuation

| Gene/<br>Variations      | Dysknesia<br>n=150         |                     | P-value<br>adjusted | OR<br>(95%CI)               | Motor fluctuation<br>n=150 |                   | P-valu<br>e<br>adjuste<br>d | OR<br>(95%CI)               |
|--------------------------|----------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                          | Presen<br>t<br>%<br>(n=26) | Absent<br>% (n=124) |                     |                             | Present<br>%(n= 69)        | Absen<br>%(n= 81) |                             |                             |
|                          |                            |                     |                     |                             |                            |                   |                             |                             |
| <b>MAO-B (rs1799836)</b> |                            |                     |                     |                             |                            |                   |                             |                             |
| G/G,G                    | 34.6%<br>(9)               | 57.2%<br>(71)       | 0.01*               | Referenc<br>e<br>(1.5-52.8) | 55.1%<br>(38)              | 51.8%<br>(42)     | 0.58                        | Reference<br><br>(0.5- 4.3) |
| G/A                      | 30.8%<br>(8)               | 15.3%<br>(19)       |                     | 9.0                         | 18.8%<br>(13)              | 17.3%<br>(14)     |                             | 1.5                         |
| A/A,A                    | 34.6%<br>(9)               | 27.5%<br>(34)       |                     | 2.5<br>(0.8 -7.6)           | 26.1%<br>(18)              | 30.9%<br>(25)     |                             | 0.8<br>(0.3- 1.7)           |
| <b>COMT(rs4680)</b>      |                            |                     |                     |                             |                            |                   |                             |                             |
| H/H                      | 50%<br>(13)                | 40.6%<br>(50)       | 0.0001*             | Reference                   | 43.4%<br>(30)              | 40.7%<br>(33)     | 0.91                        | Reference                   |
| H/L                      | 19.3%<br>(5)               | 53.6%<br>(67)       |                     | 0.2<br>(0.09-0.8)           | 46.4%<br>(32)              | 49.3%<br>(40)     |                             | 0.8<br>(0.4-1.7)            |
| L/L                      | 30.7%<br>(8)               | 5.8%<br>(7)         |                     | 5.5<br>(1.5-20.1)           | 10.2%<br>(7)               | 9.9% (8)          |                             | 0.9<br>(0.3-2.9)            |

n= number of Parkinson's disease individuals; OR= odds ratio; 95% CI= 95% confidence interval;\*=p-value <0.05 statistically significant



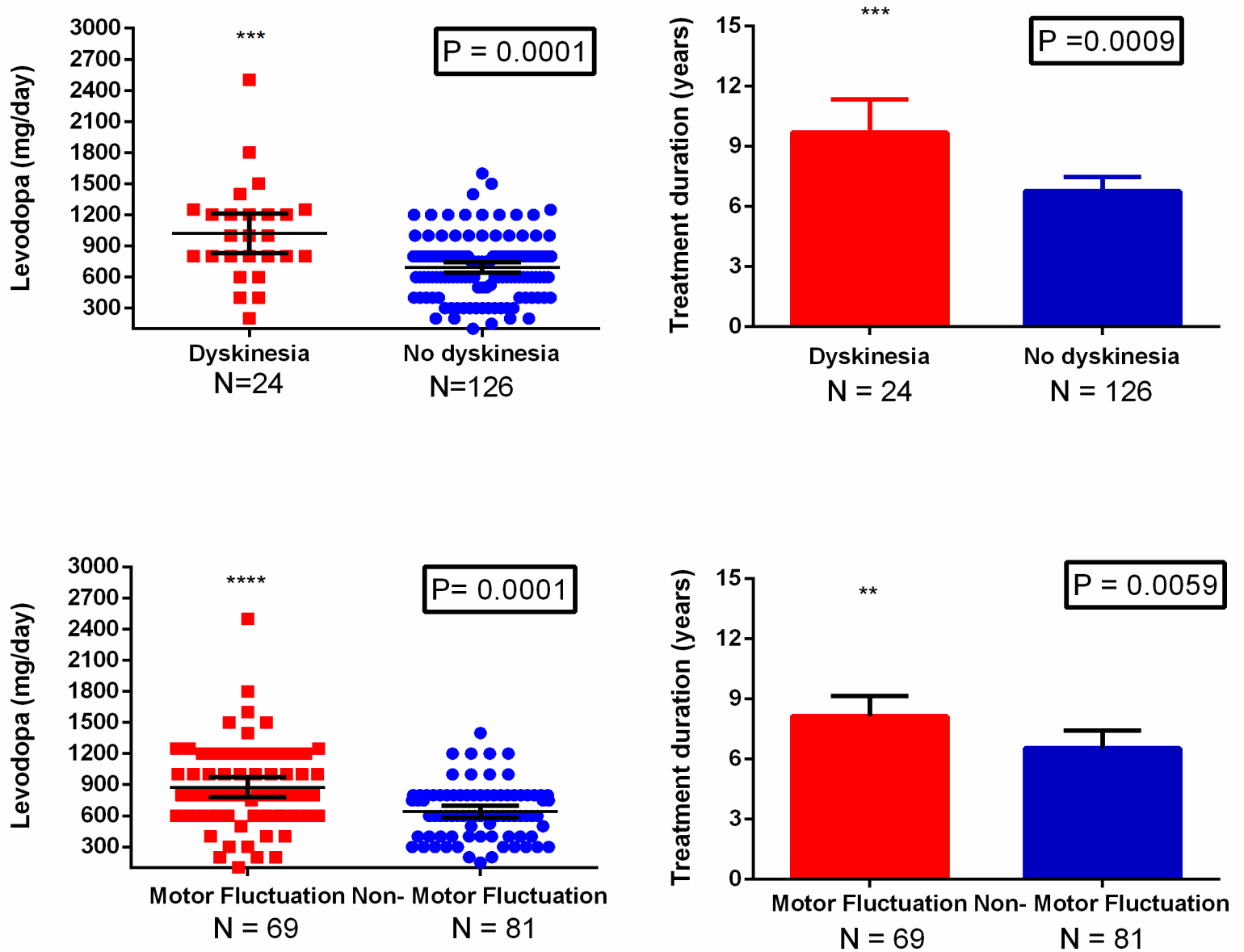
**Table 4.** Logistic regression model of *COMT* and *MAOB* genotypes influence over Parkinson's Diseases patients treated with high or low levodopa dosages, adjusted for clinical variables

| Variables                | $\beta$ -value | S.E. | Wald  | df | p-value      | Odds ratio | 95% Confidence interval |       |
|--------------------------|----------------|------|-------|----|--------------|------------|-------------------------|-------|
|                          |                |      |       |    |              |            | Lower                   | Upper |
| Age                      | 0.01           | 0.03 | 0.284 | 1  | 0.59         | 1.01       | 0.95                    | 1.08  |
| Duration of treatment    | 0.02           | 0.05 | 0.276 | 1  | 0.59         | 1.02       | 0.92                    | 1.13  |
| Age at onset (>59 years) | -0.42          | 0.64 | 0.431 | 1  | 0.51         | 0.65       | 0.18                    | 2.30  |
| Sex woman                | -0.11          | 0.64 | 0.030 | 1  | 0.86         | 0.89       | 0.25                    | 3.13  |
| COMT H/L                 | -0.27          | 0.40 | 0.449 | 1  | 0.50         | 0.76       | 0.34                    | 1.69  |
| COMT L/L                 | -0.98          | 0.72 | 1.834 | 1  | 0.17         | 0.37       | 0.09                    | 1.55  |
| COMT inhibitor use       | 0.89           | 0.68 | 1.695 | 1  | 0.19         | 2.45       | 0.63                    | 9.45  |
| Alcohol use              | 0.72           | 0.55 | 1.684 | 1  | 0.19         | 2.06       | 0.69                    | 6.15  |
| Dyskinesia               | 1.35           | 0.67 | 4.066 | 1  | <b>0.04*</b> | 3.87       | 1.03                    | 14.44 |
| Motor fluctuation        | 0.74           | 0.41 | 3.182 | 1  | 0.07         | 2.10       | 0.92                    | 4.76  |

|               |       |      |       |   |              |      |      |      |
|---------------|-------|------|-------|---|--------------|------|------|------|
| MAOB G/A      | 0.29  | 0.65 | 0.193 | 1 | 0.66         | 1.33 | 0.36 | 4.86 |
| MAOB A/A      | 0.13  | 0.83 | 0.024 | 1 | 0.87         | 1.13 | 0.22 | 5.84 |
| MAOB G (Male) | 1.04  | 0.51 | 4.120 | 1 | <b>0.04*</b> | 2.84 | 1.03 | 7.78 |
| Constant      | -1.88 | 1.99 | 0.89  | 1 | 0.34         | 0.15 |      |      |

COMT=catechol-O-methyl transferase; MAOB= monoamine oxidase-B; S.E.= standard error; df= Degree of Freedom

**Figure.** Correlation of motor complications and levodopa treatment parameters in PD patients. N= number of patients. Red bars and plots represent patients with adverse effects and the blues, without adverse effects. Data median and 95% confidence intervals. P-value of unpaired t test with Welch's correction



**Artigo II:** PROTECTIVE EFFECT OF VNTR (RS28363170) DAT1 9/9  
POLYMORPHISM ON THE DEVELOPMENT OF DYSKINESIA IN PATIENTS WITH  
PARKINSON'S DISEASE

Artigo submetido para a revista Neuromolecular Medicine

Journal ISSN: 1535-1084 (Print), 1559-1174 (Electronic)

Fator de impacto: 3.287

## NeuroMolecular Medicine

# Protective effect of VNTR (rs28363170) DAT1 9/9 polymorphism on the development of dyskinesia in patients with Parkinson's disease

|                                               |                                                                                                                                    |                          |
|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Manuscript Number:                            |                                                                                                                                    |                          |
| Full Title:                                   | Protective effect of VNTR (rs28363170) DAT1 9/9 polymorphism on the development of dyskinesia in patients with Parkinson's disease |                          |
| Article Type:                                 | Original Article                                                                                                                   |                          |
| Keywords:                                     | Parkinson's disease; Genetic polymorphism; Adverse effects; Dopamine transporter (DAT); Pharmacogenetics.                          |                          |
| Corresponding Author:                         | Paulo Eleutério Souza, Ph.D<br>Universidade Federal Rural de Pernambuco<br>Recife, PE BRAZIL                                       |                          |
| Corresponding Author Secondary Information:   |                                                                                                                                    |                          |
| Corresponding Author's Institution:           | Universidade Federal Rural de Pernambuco                                                                                           |                          |
| Corresponding Author's Secondary Institution: |                                                                                                                                    |                          |
| First Author:                                 | Erinaldo Ubirajara Damasceno Santos, MSc                                                                                           |                          |
| First Author Secondary Information:           |                                                                                                                                    |                          |
| Order of Authors:                             | Erinaldo Ubirajara Damasceno Santos, MSc                                                                                           |                          |
|                                               | Tiago Furtado Sampaio, MSc                                                                                                         |                          |
|                                               | Alexia Danyelle Tenório dos Santos, BSc of science                                                                                 |                          |
|                                               | Fernanda Cristina Bezerra Leite, Ph.D                                                                                              |                          |
|                                               | Ronaldo Celerino da Silva, Ph.D                                                                                                    |                          |
|                                               | Sergio Crovella, Ph.D                                                                                                              |                          |
|                                               | Amdore Guescel C. Asano, Ph.D                                                                                                      |                          |
|                                               | Nadja Maria Jorge Asano, Ph.D                                                                                                      |                          |
|                                               | Paulo Eleutério Souza, Ph.D                                                                                                        |                          |
| Order of Authors Secondary Information:       |                                                                                                                                    |                          |
| Funding Information:                          | Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (BR) (APQ_00906-2-15)                                            | Dr Paulo Eleutério Souza |

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Abstract:</b> | <p>The chronic administration of levodopa (L-DOPA) and other antiparkinsonian drugs in the treatment of Parkinson's disease (PD) can result in the appearance of adverse side effects such as dyskinesia and motor fluctuation. However, the onset of these side effects, being multifactorial, depends on the type of drug (or a combination of drugs) used, the treatment regime, and the psychophysical-genetic constitution of each individual. The aim of this study was to evaluate a possible relationship between DRD2/ANKK1 (rs1800497) and SLC6A3/DAT1 (rs28363170) gene polymorphisms with development of dyskinesia and motor fluctuations in a Brazilian population with PD. A total of 195 patients with idiopathic PD were investigated. Patients were genotyped for rs1800497 and rs28363170 polymorphisms using PCR-RFLP. Logistic regression was performed to assess the association of polymorphisms with motor fluctuation and dyskinesia. Our results showed that carriers of the DAT1 9/9 genotype had a protective effect for the development of dyskinesia (OR: 0.091; 95% CI, 0.008 - 1.109; p = 0.050). There was an increased risk of dyskinesia among patients with greater disease severity (OR = 2.774; p = 0.007), higher daily L-DOPA dose (OR = 1.003; 95% CI,</p> |
|                  | <p>1.328- 5.795; p = 0.007) and users of dopaminergic, agonist drugs (OR = 4.397; 95% CI, 1.267- 15.257; p = 0.002). Our data suggest an influence of DAT1 9/9 polymorphism on levodopa-induced dyskinesia.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

--Manuscript Draft--

## **Protective effect of VNTR (rs28363170) DAT1 9/9 polymorphism on the development of dyskinesia in patients with Parkinson's disease**

Erinaldo Ubirajara Damasceno dos Santos<sup>1</sup>, Tiago Furtado Sampaio<sup>2</sup>, Aléxia Danyelle Tenório dos Santos<sup>3</sup>, Fernanda Cristina Bezerra Leite<sup>3</sup>, Ronaldo Celerino da Silva<sup>6</sup>, Sergio Crovella<sup>6</sup>, Andore Guescel C. Asano<sup>5</sup>, Nadja Maria Jorge Asano<sup>4</sup>, Paulo Roberto Eleutério de Souza<sup>1, 2,3</sup>

1 Graduate Program in Applied Cellular and Molecular Biology, University of Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brazil.

2 Graduate Program in Applied Biology for Health, Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil.

3 Department of Biology, Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brazil.

4 Graduate Program in Clinical Medicine, Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil.

5 Department of Clinical Medicine, Faculty of Medicine, Federal University of Pernambuco, (UFPE), Recife, PE, Brazil.

6 Keizo Asami Immunopathology Laboratory - LIKA, Federal University of Pernambuco, (UFPE), Recife, PE, Brazil.

Corresponding author: Paulo Roberto Eleutério de Souza, Rua Dom Manuel de Medeiros, S/N –Dois Irmãos- CEP: 52171-900 – Recife-PE BRAZIL. Telephone: +55

(81) 3320-6095, e-mail: prsouza30@gmail.com

### **ABSTRACT**

The chronic administration of levodopa (L-DOPA) and other antiparkinsonian drugs in the treatment of Parkinson's disease (PD) can result in the appearance of adverse side effects such as dyskinesia and motor fluctuation. However, the onset of these side effects, being multifactorial, depends on the type of drug (or a combination of drugs) used, the treatment regime, and the psychophysical-genetic constitution of each individual. The aim of this study was to evaluate a possible relationship between DRD2/ANKK1 (rs1800497) and SLC6A3/DAT1 (rs28363170) gene polymorphisms with development of dyskinesia and motor fluctuations in a Brazilian population with PD. A total of 195 patients with idiopathic PD were investigated. Patients were genotyped for rs1800497 and rs28363170 polymorphisms using PCR-RFLP. Logistic regression was performed to

assess the association of polymorphisms with motor fluctuation and dyskinesia. Our results showed that carriers of the DAT1 9/9 genotype had a protective effect for the development of dyskinesia (OR: 0.091; 95% CI, 0.008 - 1.109;  $p = 0.050$ ). There was an increased risk of dyskinesia among patients with greater disease severity (OR = 2.774;  $p = 0.007$ ), higher daily L-DOPA dose (OR = 1.003; 95% CI, 1.328- 5.795;  $p = 0.007$ ) and users of dopaminergic, agonist drugs (OR = 4.397; 95% CI, 1.267- 15-257;  $p = 0.002$ ). Our data suggest an influence of DAT1 9/9 polymorphism on levodopa-induced dyskinesia.

**Keywords:** Parkinson's disease; Genetic polymorphism; Adverse effects; Dopamine transporter (DAT); Pharmacogenetics

## INTRODUCTION

Parkinson's disease (PD) is the second-most common neurodegenerative disorder seen in the elderly, affecting approximately 1–3% of subjects above 65 years of age; it is mainly characterized by bradykinesia, muscular rigidity, rest tremor, and loss of postural reflexes (Gibb and Lees 1998; Lee and Gilbert 2016). The motor symptoms result from an ongoing prominent degeneration of dopaminergic neurons of the nigrostriatal pathway leading to depletion of dopamine and loss of control over motor functions (Kalia and Lang 2015). Thus, aimed at restoring dopamine, levodopa (L- DOPA), a dopamine precursor, is used as a major pharmacological strategy (Fénelon and Alves 2010), as much in monotherapy as in combination with other antiparkinsonian drugs.

The development of PD has been related to an interaction between genetic and environmental factors (Kalia and Lang 2015). Regarding environmental factors, significant associations have been found for tobacco use, coffee consumption, previous exposure to environmental toxins and oxidative stress (Wirdefeldt et al. 2011; Olanow and Tatton 1999). However, some studies have reported that PD patients treated with levodopa and/or other antiparkinsonian drugs over a long period of time may experience side effects, such as dyskinesia and motor fluctuation, which are present in 40% of all patients with PD (Van Gerpen et al. 2006; Fox and Lang 2008; Ku and Glass 2010; Sharma et al. 2010). In the occurrence and severity of these adverse effects there is



considerable inter-individual heterogeneity in the response to the pharmacological treatment adopted over the course of PD.

These different responses to treatment may, at least in part, be explained by genetic factors (Schumacher-Schuh et al. 2014). Thus, some genes related with the therapeutic response to treatment with levodopa have been investigated in PD, focusing on the dopamine D2 receptor and dopamine DAT transporter encoded by the genes DRD2 and DAT1, respectively (Schumacher-Schuh et al. 2014).

The DRD2 gene is located on chromosome 11q23 and involved in dopamine action in presynaptic and postsynaptic neurons. The single nucleotide polymorphism (SNP) TaqIA (rs1800497) is the main genetic variant of the DRD2 gene and has been associated with motor effects such as motor fluctuations (Wang et al. 2001) and dyskinesia (Rieck et al. 2012; Kaplan et al. 2014). The TaqIA polymorphism was originally assigned to the DRD2, only later was it demonstrated to be in the Kinase Domain Containing 1 (ANKK1) gene (Neville et al. 2004). The ANKK1 gene was mapped downstream from the DRD2 gene and in this portion an overlaid segment of this gene was closely related to DRD2 (Neville et al. 2004; Hoenicka et al. 2010). Kaiser et al. (2003) did not find any association between DRD2/ANKK1 polymorphisms and clinical features of PD in patients treated with levodopa. However, Wang et al. (2011) reported that patients carrying the A1 allele of the DRD2/ANKK1 TaqIA polymorphism had low striatal DRD2 receptor density and presence of the allele is associated with an increased risk for developing motor fluctuations in response to PD treatment.

The dopamine transporter SLC6A3 gene (formerly named DAT1), mapped at chromosome 5p15, and encodes the protein DAT, which is involved in the reuptake of released dopamine by presynaptic neurons (Fuke et al. 2001; Kaiser et al. 2003).

The most studied polymorphism of this locus is a 40 bp variable number tandem repeat (DAT1 VNTR rs28363170) (Vandenbergh et al. 1992). This polymorphism has been associated with susceptibility for PD in different populations, but the results are controversial (Le Couteur et al. 1997; Planté-Bordeneuve et al. 1997; Leighton et al. 1997; Mercier et al. 1999; Kim et al. 2000). In addition, Kaiser et al. (2003) associated the DAT1 VNTR polymorphism with dyskinesia, motor fluctuation and psychosis in a German population, however these associations need to be clarified through studying other

populations.

In this context, this study aimed to verify a possible association between the rs1800497 and rs28363170 polymorphisms on the DRD2/ANKK1 and SLC6A3/DAT1 genes, respectively, with motor fluctuation and dyskinesia caused by therapy with levodopa in Brazilian patients diagnosed with PD.

## **SUBJECTS AND METHODS**

### ***Subjects***

A total of 195 PD patients were recruited at the PRO-PARKINSON service of the Hospital das Clínicas de Pernambuco (HC), in northeastern Brazil, between January 2015 and December 2016. The inclusion criteria were: diagnosis of idiopathic PD according to the diagnosis criteria of the British Association of PD (UK) (Hughes et al. 1992), revised by an experienced neurologist; PD patients undergoing L-DOPA treatment in monotherapy or combined with other antiparkinsonian drugs for at least one year. Patients with atypical manifestations or secondary parkinsonism were excluded. The study protocol was approved by the local independent ethics committee of The Ministry of Health (Brazil) (CAAE: 45614415.0.0000.5208). All participants provided written, informed consent of participation before the initiation of any study procedures.

Information about gender, age, age at onset, disease duration, daily dosage of levodopa, duration of levodopa therapy, presence of dyskinesia, motor fluctuations and severity of the disease based on the Hoehn-Yahr (HY) (Hoehn and Yahr 1967) score were assessed by clinical evaluation, medical records and interviews with subjects and their family members. The presence of dyskinesia was defined as drug-induced hyperkinetic or dystonic movements or postures or both (Hagell and Windner 1999) and/or if patients had a score of one or more on question 32 of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) part 4 (Martínez-Martín et al. 1994). Motor fluctuations were determined based on a score of one or more on question 39 of the UPDRS part 4 and/or ingestion of levodopa five or more times a day (Schumacher-Schuh et al. 2014).

### ***DNA extraction***

Genomic DNA extraction was performed from 300 µl of peripheral blood from each study

subject, following the manufacturer's instructions of the Wizard® Genomic DNA Purification kit (Promega, madison WI, USA). Sample analyses were executed at the Laboratory of Genetics, Biochemistry and DNA Sequencing of the Federal Rural University of Pernambuco (Recife, Brazil).

### ***Genotyping***

The polymorphism TaqIA (rs1800497) in DRD2/ANKK1 was analyzed through PCR followed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) (Grzywacz et al., 2012). DNA was amplified using primers sense 5'-ACCTTCCTGAGTGT- CATCAACC- 3' and antisense 5'-CTTGCCCTCTAGGAAGGACAT- 3'. The PCR products were digested with TaqI restriction enzyme. The digestion products were separated on a 3% agarose gel and visualized by gel red (UNISCIENCE). The polymorphism of the 40 bp variable number tandem repeat (VNTR rs28363170) in SLC6A3/DAT1 was identified by conventional polymerase chain reaction (PCR) (Lin et al., 2003). DNA was amplified using primers sense 5'- TGTGGTGTAGGGAACGGCCTGAG-3' and antisense 5'-CTTCCTGGAGGTCAC-GGCTCAAGG-3'. The PCR products were determined by electrophoresis on a 2% agarose gel, stained with gel red (UNISCIENCE) and compared with molecular weight standards.

### ***Statistical analyses***

The genotype distribution and allele frequencies of the polymorphisms were obtained by direct counting. The Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) test was applied to datasets using the Bioestat 5.0 program. Univariate and multivariate statistical analyses were performed using the R software, version 3.0.2 (<http://www.R-project.org/>). The association for categorical variables was verified with the qui-square test, for continuous data with normal distribution by the Student's t-test and for data without a normal distribution the Wilcoxon–Mann–Whitney test was performed. Multivariate analysis was realized by logistic regression while potential confounders to be entered in models were defined based on conceptual analyses of the literature and/or by means of a statistical definition (association with the study factor and with the outcome at  $p \leq 0.20$ ).

## RESULTS

Demographic and clinical characteristics of patients stratified according to the presence of motor fluctuation and dyskinesia are shown in Table 1. Motor fluctuation and dyskinesia were present in 34% and 15% of the patients, respectively. With regards to motor fluctuation, there were significant differences for younger age at onset of motor symptoms ( $p = 0.010$ ), longer disease duration ( $p = 0.004$ ) and high L-DOPA doses ( $p \leq 0.001$ ). Furthermore, there were significant associations for combined therapy with catechol-o-methyl transferase (COMT) and monoamine oxidase (MAOB) inhibitors ( $p < 0.05$ ). The genotype distribution and univariate analyses for DRD2/ANKK1 rs1800497 and DAT1 rs28363170 polymorphisms are shown in Table 2. No associations were observed between DRD2/ANKK1 and DAT1 gene polymorphisms and motor fluctuation as well as dyskinesia ( $p > 0.05$ ) in PD patients. The logistic regression analysis revealed increased risks for the development of dyskinesia with greater disease severity (OR = 2.774; 95% CI, 1.328- 5.795;  $p = 0.007$ ), higher L-DOPA dose (OR = 1.003; 95% CI, 1.001-1.005;  $p = 0.007$ ) and use of dopamine agonist (OR = 4.397; 95% CI, 1.267-15.257;  $p = 0.020$ ). Moreover, there were significant protective effects for age (OR = 0.907, 95% CI, 0.848- 0.970;  $p = 0.004$ ), male subjects (OR = 0.190; 95% CI, 0.058- 0.622;  $p = 0.006$ ) and carriers of the DAT1 9/9 genotype on the development of dyskinesia (OR = 0.091, 95% CI; 0.008- 1.109;  $p = 0.050$ ) (Table 3). Table 4 shows an association between the risk of development of motor fluctuation and levodopa dosage (OR = 1.004; 95% CI, 1.001- 1.007;  $p = 0.008$ ). No other association was found between motor fluctuation and the other potential confounders investigated ( $p > 0.05$ ).

## DISCUSSION

Since the duration and amplitude of dopamine action is determined by a rapid release of extracellular dopamine into presynaptic terminals (Gilgun-Sherki et al. 2004), previous studies have suggested that polymorphisms in genes related to degradation and reuptake of dopamine could be involved in the risk of adverse outcomes after long-term administration of levodopa or other dopaminergic drugs (Ahlskog and Muenter 2001; Fénelon 2010). Although side effects such as dyskinesia and motor fluctuations may severely impair the daily life of patients with PD (Gilgun-Sherki et al. 2004; Fénelon

2010; Ahlskog 2001), some of these patients will never develop these effects.

The phenomenon of motor fluctuations appears as a predictable (wearing off) or an unpredictable (on–off) loss of levodopa effects (Marsden and Parkes 1976; Jankovic 2005) and hyperkinetic involuntary movements triggered by the drug are called dyskinesia (Ahlskog and Muentner 2001; Nutt 2001). Reports have estimated a 30% rate of dyskinesia during the first 5 years and 59% at 10 years of treatment (Sharma et al. 2010; Ku and Glass 2010). However, our findings showed only a 15% rate of dyskinesia in the patients investigated, after  $9.46 \pm 4.47$  years of treatment. Our results showed motor fluctuation in 34% of the investigated patients after  $8.59 \pm 4.14$  years of L-DOPA therapy. Differently, Ahlskog and Muentner (2001) found motor fluctuation in approximately 40% of patients by 4–6 years of treatment. Discrepancies between reported data could be explained considering that dyskinesia and motor fluctuations were assessed only as a categorical variable (presence/absence).

In the present study, as previously suggested by Sharma et al. (2010), the risk of dyskinesia was a consequence of an interaction among intrinsic factors, such as age, gender and genetics (patient-related) and extrinsic factors such as the use of dopamine agonists and L-DOPA dose (medication-related). Furthermore, in this study, an additional association was observed with degree of disease severity.

Regarding the DRD2/ANKK1 rs1800497 no significant difference was verified in relation to the development of motor fluctuation or dyskinesia in both univariate and multivariate analyses, similar to the results observed by Rieck et al. (2014). On the other hand, Wang et al. (2001) found an association of the TaqIA A1/A1 genotype with the development of motor fluctuation in a Chinese population of 140 PD patients. A possible explanation of these contradictory results could be population heterogeneity.

The protector effect against developing dyskinesia observed among individuals carrying the genotype DAT1 9/9 of VNTR (rs28363170) (OR= 0.091, CI 95% 0.008- 1.109 P= 0.050) could be explained by the low expression of DAT protein in patients carrying the DAT1 9/9 genotype compared to 10-repeat alleles in SLC6A3/DAT1 gene (Fuke et al. 2001). In addition, Kabak et al. (2014) compared the 9-repeat (9R) with 10-repeat (10R) allele on the SLC6A3/DAT1 gene and found that patients carrying a 9R allele exhibited less activation in region frontal-striatal when compared with 10R homozygous in the

performance of Parkinson's disease. Furthermore, an increased DAT expression has been reported as related to cellular damage of striatal neurons over time by increasing the presynaptic uptake of dopamine, attracting toxic substances to neurons (Horn 1990; Hiroi et al. 1997). Kaiser et al. (2003) found similar results in a study with 183 PD patients in German population. However, to our knowledge this is the first study that verified this association in a Brazilian population.

No significant association was observed between motor fluctuation and the TaqIA polymorphism in a multivariate analysis, although there was increased risk for the development of motor fluctuations related to the daily dose of levodopa ( $p = 0.008$ , CI 95% 1.001-1.007, OR = 1.004). Thus, our results strengthen the data reported by Freitas et al. (2017), highlighting risk factors for developing motor fluctuations, such as higher daily doses of levodopa.

We are aware that the overall findings presented in our have some limitations. The sample is of moderate size; thus these data require additional confirmation in a study with a larger sample. In addition, this study is cross-sectional; it was not possible to trace the exact time that each patient takes to develop motor fluctuation or dyskinesia.

## **CONCLUSION**

Our data suggest the influence of DAT1 9/9 of VNTR (rs28363170) genetic variation on levodopa-induced dyskinesia. Therefore, given the importance of the adverse effects in PD and the apparent influence of genetic factors in this condition, further prospective studies are clearly needed to elucidate the role of genetic factors in producing adverse side effects, especially dyskinesia in PD.

## **Acknowledgements**

The authors wish to express their gratitude to the patients and their families, whose collaboration and understanding have made this work possible, and to the Brazilian agency FACEPE for its financial support.

## REFERENCES

- Ahlskog, J. E., Muenter, M. D. (2001) Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature. *Movement Disorders*, 16, 448–458.
- Fénelon, G., Alves, G. (2010) Epidemiology of psychosis in Parkinson's disease. *J Neurological Sciences*, 289, 12–17.
- Fénelon, G., Alves, G. (2010) Epidemiology of psychosis in Parkinson's disease. *J Neurological Sciences*, 289, 12–17.
- Fox, S. H., Lang, A. E. (2008) Levodopa-related motor complications phenomenology. *Movement Disorders*, 23, 509–514.
- Freitas, M. E., Hess, C. W., Fox, S. H. (2017) Motor Complications of Dopaminergic Medications in Parkinson's Disease. *Seminars in Neurology*, 37(2), 147-157.
- Fuke, S., Suo, S., Takahashi, N., Koike, H., Sasagawa, N., Ishiura, S. (2001) The VNTR polymorphism of the human dopamine transporter (DAT1) gene affects gene expression. *The Pharmacogenomics Journal*, 1, 152–156.
- Gibb, W. R., Lees, A. J. (1988) The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 51, 745–52.
- Gilgun-Sherki, Y., Djaldetti, R., Melamed, E., Offen, D. (2004) Polymorphism in candidate genes: implications for the risk and treatment of idiopathic Parkinson's disease. *The Pharmacogenomics Journal*, 4(5), 291-306.
- Habak, C., Noreau, A., Nagano-Saito, A., et al. (2014) Dopamine transporter SLC6A3 genotype affects cortico-striatal activity of set-shifts in Parkinson's disease. *Brain*, 137, 3025-3035.
- Hiroi, T., Imaoka, S., Chow, T., Yabusaki, Y., Funae, Y. (1997) Specific binding of 1-[2-(diphenylmethoxy)ethyl]-4-(3-phenylpropyl) piperazine (GBR--12935), an inhibitor of the dopamine transporter, to human CYP2D6. *Biochemical Pharmacology*, 53,

1937–1939.

Hoehn, M. M., Yahr, M. D. (1967) Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology*, 17, 427–442.

Hoenicke, J., Quiñones-Lombraña, A., España-Serrano, L., et al. (2010) The ANKK1 gene associated with addictions is expressed in astroglial cells and upregulated by apomorphine. *Biological Psychiatry*, 67, 3–11.

Horn, A. S. (1990) Dopamine uptake: a review of progress in the last decade. *Progress in Neurobiology*, 34, 387–400.

Hughes, A. J., Ben-Shlomo, Y., Daniel, S. E., Lees, A. J. (1992) What features improve the accuracy of clinical diagnosis in Parkinson's disease: a clinicopathologic study. *Neurology*, 42, 1142–1146.

Jankovic, J. (2005) Motor fluctuations and dyskinesias in Parkinson's disease: clinical manifestations. *Movement Disorders*, 20, 11–16.

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

Kalia, L. V., Lang, A. E. (2015) Parkinson's disease. *Lancet*, 29, 896-912.

Kaplan, N., Vituri, A., Korczyn, A. D., et al. (2014) Sequence variants in SLC6A3, DRD2, and BDNF genes and time to levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease. *Journal of Molecular Neuroscience*, 53, 183-188.

Kim, J. W., Kim, D. H., Kim, S. H., Cha, J. K. (2000) Association of the dopamine transporter gene with Parkinson's disease in Korean patients. *Journal of Korean Medical Science*, 15, 449–51.

Ku, S., Glass, G. A. (2010) Age of Parkinson's disease onset as a predictor for the development of dyskinesia. *Movement Disorders*, 25, 1177–1182.

Le Couteur, D. G., Leighton, P. W., McCann, S. I., Pond, S. M. (1997) Association of a polymorphism in dopamine-transporter gene with Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 12, 760–763.

Leighton, P. W., Lucotte, G., Pang, C. C. P., McCann, S. J., Chan, D., Law, L. K., et al. (1997) The dopamine transporter gene and Parkinson's disease in a Chinese population.



Neurology, 49, 1577–1579.

Marsden, C. D., Parkes, J. D. (1976) “On-off” effects in patients with Parkinson’s disease on chronic levodopa therapy. *Lancet*, 1, 292–296.

Mercier, G., Turpin, J. C., Lucotte, G. (1999) Variable number tandem repeat dopamine transporter gene polymorphism and Parkinson’s disease: no association found. *Journal of Neurology*, 246, 45–47.

Neville, M. J., Johnstone, E. C., Walton, R. T. (2004) Identification and characterization of ANKK1: a novel kinase gene closely linked to DRD2 on chromosome band 11q23.1. *Human Mutation*, 23, 540–545.

Nutt, J. G. (2001) Motor fluctuations and dyskinesia in Parkinson’s disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 8, 101–108.

Olanow, C. W., Tatton, W. G. (1999) Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Annual Review of Neuroscience*, 22, 123– 144.

Planté-Bordeneuve, V., Taussig, D., Thomas, F., Sad, G., Marsden, C. D., Harding, A. E. (1997) Evaluation of four candidate genes encoding proteins of the dopamine pathway in familial and sporadic Parkinson’s disease: evidence for association of a DRD2 allele. *Neurology*, 48, 1589–1593.

Rieck, M., Schumacher-Schuh, A. F., Altmann, V. et al. (2012) DRD2 haplotype is associated with dyskinesia induced by levodopa therapy in Parkinson’s disease patients. *Pharmacogenomics*, 13, 1701–1710.

Schumacher-Schuh, A. F., Altmann, V., Rieck, M., Tovo-Rodrigues, L., Monte, T. L., Callegari-Jacques, S. M., et al. (2014) Association of common genetic variants of HOMER1 gene with levodopa adverse effects in Parkinson's disease patients. *The Pharmacogenomics Journal*, 14(3), 289-294.

Schumacher-Schuh, A. F., Rieder, C. R., Hutz, M. H. (2014) Parkinson's disease pharmacogenomics: new findings and perspectives. *Pharmacogenomics*, 15, 1253-1271.

Sharma, J. C., Bachmann, C. G., Linazasoro, G. (2010) Classifying risk factors for dyskinesia in Parkinson’s disease. *Parkinsonism and Related Disorders*, 16, 490–497.

Vandenbergh, D. J., Pesico, A. M., Hawkins, A. L. et al. (1992) Human dopamine

transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p 15.3 and displays a VNTR. *Genomics*, 14, 1104–1106.

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

Wirdefeldt, K., Adami, H. O., Cole, P., et al. (2011) Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *European Journal of Epidemiology*, 26,

**Table 1:** Clinical and demographic characteristics of PD patients: all and stratified for motor fluctuation and dyskinesia.

|               | All        | Motor fluctuation |           | P (value)         | Dyskinesia |          | P (value)         |
|---------------|------------|-------------------|-----------|-------------------|------------|----------|-------------------|
|               |            | No                | Yes       |                   | No         | Yes      |                   |
| Patients (%)  | 195        | 129 (66)          | 66 (34)   |                   | 165 (85)   | 30 (15)  |                   |
| Men (%)       | 114 (58.5) | 74 (57.4)         | 40 (60.6) | 0.819             | 99 (60)    | 15 (50)  | 0.306             |
| Ag at onset   | 55.81 ±    | 57.30 ±           | 53.33 ±   | <b>0.010</b>      | 57.26 ±    | 47.86 ±  | <b>&lt;0.001*</b> |
| mean ±s.d.    | 10.93      | 10.95             | 10.44     |                   | 10.36      | 10.75    |                   |
| Disease       | 7.16 ±     | 6.39 ±            | 8.68 ±    | <b>0.004</b>      | 6.62 ±     | 9.63 ±   | <b>0.008*</b>     |
| duration,     | 4.52       | 4.46              | 4.27      |                   | 4.26       | 4.74     |                   |
| mean ±s.d.    |            |                   |           |                   |            |          |                   |
| Levodopa      | 7.11 ±     | 6.34 ±            | 8.59 ±    | <b>&lt;0.001*</b> | 6.57 ±     | 9.46 ±   | <b>0.007*</b>     |
| therapy       | 4.40       | 4.35              | 4.14      |                   | 4.14       | 4.47     |                   |
| duration,     |            |                   |           |                   |            |          |                   |
| mean ±s.d.    |            |                   |           |                   |            |          |                   |
| Levodopa      | 699.87 ±   | 629.95 ±          | 846.53 ±  | <b>&lt;0.001</b>  | 647.61 ±   | 935.03 ± | <b>&lt;0.001*</b> |
| dosage, mean  | 321.02     | 269.72            | 366.03    |                   | 279.76     | 442.35   |                   |
| ±s.d.         |            |                   |           |                   |            |          |                   |
| Dopamine      | 114        | 77                | 37        | 0.626             | 92         | 22       | 0.072             |
| agonist use   | (58.5)     | (59.7)            | (56.1)    |                   | (55.7)     | (73.3)   |                   |
| (%)           |            |                   |           |                   |            |          |                   |
| COMT          | 26         | 0                 | 26        | <b>&lt;0.001</b>  | 17         | 9        | <b>0.003</b>      |
| inhibitor use | (13.3)     | (0)               | (39.4)    |                   | (10.3)     | (30)     |                   |
| (%)           |            |                   |           |                   |            |          |                   |
| MAOB          | 24         | 0                 | 24        | <b>&lt;0.001</b>  | 18         | 6        | 0.163             |
| inhibitor use | (12.3)     | (0)               | (36.4)    |                   | (10.9)     | (20)     |                   |
| (%)           |            |                   |           |                   |            |          |                   |
| HY stage      |            |                   |           |                   |            |          |                   |
| (%)           |            |                   |           |                   |            |          |                   |
| 1 (%)         | 31 (15.9)  | 25 (19.4)         | 6 (9.1)   | 0.063             | 29 (17.6)  | 2 (6.6)  | 0.132             |
| 2 (%)         | 10 (52.8)  | 75 (58.1)         | 28 (42.4) | 0.305             | 91 (55.1)  | 12 (40)  | 0.126             |
| 3 (%)         | 36 (18.5)  | 17 (13.2)         | 19 (28.8) | <b>0.007</b>      | 28 (17)    | 8 (26.7) | 0.207             |
| 4 (%)         | 24 (12.3)  | 12 (9.3)          | 12 (18.2) | 0.074             | 16 (9.7)   | 8 (26.7) | <b>0.009</b>      |
| 5 (%)         | 1 (0.5)    | 0 (0)             | 1 (1.5)   | <b>&lt;0.001</b>  | 1 (0.6)    | 0 (0)    | 0.669             |

Abbreviations: COMT, catechol-O-methyl transferase; MAOB Monoamine oxidase inhibitor; ±s.d., Standard derivation. P (values) calculated by t test or by \*Wilcoxon–Mann–Whitney U-test (quantitative variables with or without normal distribution, respectively), and X<sup>2</sup> test (categorical variables).

**Table 2.** Univariate analyses showing the relation between *DRD2/ANKK1* rs1800497, *DAT1* rs28363170 and the occurrence of motor fluctuation and dyskinesia in PD patients.

|            | All | Motor fluctuation |        | X <sup>2</sup><br>(P*) | OR<br>(CI 95%) | P*    | Dyskinesia |        | X <sup>2</sup><br>(P*) | OR<br>(CI 95%) | P*    |
|------------|-----|-------------------|--------|------------------------|----------------|-------|------------|--------|------------------------|----------------|-------|
| rs1800497  | 195 | No                | Yes    |                        |                |       | No         | Yes    |                        |                |       |
| A2/A2      | 92  | 58                | 34     | 0.753                  | 1.300          | 0.474 | 80         | 12     | 0.733                  | 0.708          | 0.510 |
| (%)        |     | (63)              | (37)   | (0.385)                | (0.31- 2.35)   |       | (87)       | (13)   | (0.391)                | (0.32- 1.56)   |       |
| A2/A1      | 89  | 61                | 28     | 0.416                  | 0.821          | 0.621 | 73         | 16     | 0.846                  | 1.440          | 0.471 |
| (%)        |     | (68.5)            | (31.5) | (0.518)                | (0.54- 1.49)   |       | (82)       | (18)   | (0.357)                | (0.66- 3.14)   |       |
| A1/A1      | 14  | 10                | 4      | 0.187                  | 0.767          | 0.888 | 12         | 2      | 0.261                  | 0.671          | 0.871 |
| (%)        |     | (71.4)            | (28.6) | (0.665)                | (0.23- 2.54)   |       | (85.7)     | (14.3) | (0.609)                | (0.19- 4.29)   |       |
| rs28363170 |     |                   |        |                        |                |       |            |        |                        |                |       |
| 10/10      | 89  | 58                | 31     | 0.098                  | 1.084          | 0.908 | 75         | 14     | 0.983                  | 0.991          | 0.858 |
| (%)        |     | (65.2)            | (34.8) | (0.754)                | (0.59- 1.96)   |       | (84.3)     | (15.7) | (0.000)                | (0.45- 2.46)   |       |
| 10/11      | 6   | 4                 | 2      | 0.001                  | 0.898          | 0.755 | 5          | 1      | 0.929                  | 1.103          | 0.626 |
| (%)        |     | (66.7)            | (33.3) | (0.978)                | (0.16- 5.04)   |       | (83.3)     | (16.7) | (0.008)                | (0.12- 9.79)   |       |
| 10/9       | 62  | 42                | 20     | 0.012                  | 0.900          | 0.874 | 51         | 11     | 0.533                  | 1.294          | 0.681 |
| (%)        |     | (67.7)            | (32.2) | (0.749)                | (0.47- 1.71)   |       | (82.2)     | (17.8) | (0.388)                | (0.57- 2.91)   |       |
| 9/9        | 23  | 15                | 8      | 0.010                  | 1.048          | 0.893 | 21         | 2      | 0.343                  | 0.489          | 0.522 |
| (%)        |     | (65.2)            | (34.8) | (0.919)                | (0.42- 2.61)   |       | (91.3)     | (8.7)  | (0.896)                | (0.10- 2.20)   |       |
| 9/8        | 9   | 8                 | 1      | 2.178                  | 0.232          | 0.264 | 8          | 1      | 0.716                  | 0.676          | 0.913 |
| (%)        |     | (88.9)            | (11.1) | (0.140)                | (0.02- 1.90)   |       | (88.9)     | (11.1) | (0.132)                | (0.08- 5.61)   |       |
| 10/7       | 2   | 1                 | 1      | 0.236                  | 1.969          | 0.790 | 1          | 1      | 1.860                  | 5.689          | 0.701 |
| (%)        |     | (50)              | (50)   | (0.627)                | (NC)           |       | (50)       | (50)   | (0.172)                | (0.34- 93.54)  |       |
| 10/8       | 3   | 0                 | 3      | 5.959                  | NC             | NC    | 3          | 0      | 0.554                  | NC             | NC    |
| (%)        |     | (0)               | (100)  | (0.014)                |                |       | (100)      | (0)    | (0.456)                |                |       |
| 11/9       | 1   | 1                 | 0      | 0.514                  | NC             | NC    | 1          | 0      | 0.183                  | NC             | NC    |
| (%)        |     | (100)             | (0)    | (0.473)                |                |       | (100)      | (0)    | (0.669)                |                |       |

Abbreviations: P\*: P values; X<sup>2</sup>: Chi- square; NC: Not calculate.

**Table 3.** Logistic regression model adjusted for clinical variables and *DAT1* and *DRD2* genotypes used to investigate the influence over dyskinesia in Parkinson individuals in levodopa therapy.

| Variable                  | $\beta$ | SE    | Wald  | DF | OR    | 95% CI        | P- value |
|---------------------------|---------|-------|-------|----|-------|---------------|----------|
| Constant                  | -0.915  | 2.193 | 0.174 | 1  | 0.401 | 0.005- 0.401  | 0.677    |
| Age                       | - 0.097 | 0.034 | 8.113 | 1  | 0.907 | 0.848- 0.970  | 0.004*   |
| Disease duration          | - 1.506 | 0.915 | 2.710 | 1  | 0.222 | 0.037- 1.332  | 0.100    |
| Gender (Male)             | - 1.661 | 0.605 | 7.532 | 1  | 0.190 | 0.058- 0.622  | 0.006*   |
| Levodopa therapy duration | 1.678   | 0.985 | 2.903 | 1  | 5.536 | 0.777-36.917  | 0.088    |
| HY                        | 1.020   | 0.376 | 7.731 | 1  | 2.774 | 1.328- 5.795  | 0.007*   |
| Levodopa dose             | 0.003   | 0.001 | 7.169 | 1  | 1.003 | 1.001- 1.005  | 0.007*   |
| Dopamine agonist use      | 1.481   | 0.635 | 5.444 | 1  | 4.397 | 1.267- 15-257 | 0.020*   |
| <i>DAT1</i> 10/9          | 0.150   | 0.597 | 0.063 | 1  | 1.162 | 0.360- 3.747  | 0.080    |
| <i>DAT1</i> 9/9           | - 2.396 | 1.232 | 3.781 | 1  | 0.091 | 0.008- 1.109  | 0.050*   |
| <i>DAT1</i> 9/8           | 0.399   | 1.309 | 0.093 | 1  | 1.491 | 0.115- 19.395 | 0.760    |
| <i>DRD2</i> A1/A2         | - 0.088 | 0.977 | 0.818 | 1  | 0.413 | 0.061- 2.806  | 0.366    |
| <i>DRD2</i> A2/A2         | - 1.426 | 1.025 | 1.936 | 1  | 0.240 | 0.032- 1.791  | 0.164    |

\* Significant p-value; OR: Odds Ratio; 95% CI: Confidence Interval;  $\beta$ : Estimated coefficient; DF: Degrees of freedom; PR: Prevalence ratio; SE: Standard error; Wald: Test the statistical significance of each coefficient ( $\beta$ ) in the model statistic.

**Table 4.** Logistic regression model, adjusted for clinical variables, showing *DAT1* and *DRD2* genotypes influence over motor fluctuation in Parkinson individuals in levodopa therapy.

| Variable                  | $\beta$ | SE    | Wald   | DF | OR    | 95% CI        | P- value |
|---------------------------|---------|-------|--------|----|-------|---------------|----------|
| Constant                  | -9.256  | 3.143 | 8.671  | 1  | 0.001 | 0.005- 0.001  | 0.003    |
| Age                       | 0.035   | 0.036 | 0.939  | 1  | 1.036 | 0.965- 1.111  | 0.333    |
| Disease duration          | - 1.199 | 1.145 | 1.1097 | 1  | 0.302 | 0.032- 2.842  | 0.295    |
| Gender (Male)             | 0.274   | 0.671 | 0.167  | 1  | 1.316 | 0.353- 4.898  | 0.683    |
| Levodopa therapy duration | 1.306   | 1.197 | 1.190  | 1  | 3.693 | 0.353- 38.595 | 0.275    |
| HY                        | 0.750   | 0.406 | 3.419  | 1  | 2.118 | 0.956- 4.691  | 0.064    |
| Levodopa dose             | 0.004   | 0.001 | 6.947  | 1  | 1.004 | 1.001- 1.007  | 0.008*   |
| Dopamine agonist use      | 0.305   | 0.686 | 0.198  | 1  | 1.357 | 0.354- 5.208  | 0.656    |
| <i>DAT1</i> 10/9          | - 0.119 | 0.655 | 0.033  | 1  | 0.888 | 0.246- 3.206  | 0.856    |
| <i>DAT1</i> 9/9           | - 0.640 | 0.964 | 0.441  | 1  | 0.527 | 0.080- 3.485  | 0.506    |
| <i>DRD2</i> A1/A2         | - 0.477 | 1.263 | 0.143  | 1  | 0.621 | 0.052- 7.377  | 0.706    |
| <i>DRD2</i> A2/A2         | - 0.257 | 1.233 | 0.044  | 1  | 0.773 | 0.069- 8.666  | 0.835    |

\* Significant p-value; OR: Odds Ratio; 95% CI: Confidence Interval;  $\beta$ : Estimated coefficient; DF: Degrees of freedom; PR: Prevalence ratio; SE: Standard error; Wald: Test the statistical significance of each coefficient ( $\beta$ ) in the model statistic.

## 5.0 Considerações Finais

No presente estudo foi possível verificar que:

- A duração da doença, tempo de tratamento e idade de início da doença foram relacionados com administração de doses elevadas de Levodopa;
- O aparecimento de efeitos motores, tais como: discinesia e flutuações motoras foram associados com uma maior dose de Levodopa;
- O aparecimento de discinesia induzida pelo uso de Levodopa foi mais frequente em pacientes portadores dos genótipos A e AA para o gene *MAO-B* e LL para o gene *COMT*;
- Análise de regressão logística mostrou que homens hemizigóticos portadores do alelo G do gene *MAO-B* e indivíduos com discinesia foram associados com doses de Levodopa acima de 600mg/dia;
- Pacientes portadores do genótipo *DAT1* 9/9 apresentaram um efeito protetor para o aparecimento de discinesia.

## REFERENCIAS

- AHLISKOG, J. E. Slowing Parkinson's disease progression: recent dopamine agonist trials. **Neurology**, v. 60, n. 3, p. 381–389, 2003.
- ALMOMANI, B. et al. Pharmacogenetics and the print media: what is the public told? **BMC Medical Genetics**, v. 16, n. 1, p. 32, 2015.
- AMBROSI, G.; CERRI, S.; BLANDINI, F. A further update on the role of excitotoxicity in the pathogenesis of Parkinson's disease. **Journal of Neural Transmission**, v. 121, n. 8, p. 849–859, 2014.
- ANTONY, P. M. A. et al. The hallmarks of Parkinson's disease. **FEBS Journal**, v. 280, n. 23, p. 5981–5993, 2013.
- ARBOUW, M. E. L. et al. Clinical and pharmacogenetic determinants for the discontinuation of non-ergoline dopamine agonists in Parkinson's disease. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 65, n. 12, p. 1245–1251, 2009.
- BARBOSA, M. T. et al. Parkinsonism and Parkinson's disease in the elderly: A community-based survey in Brazil (the Bambuí study). **Movement Disorders**, v. 21, n. 6, p. 800–808, 2006.
- BEZARD, E.; GROSS, C. E.; BROTHIE, J. M. Presymptomatic compensation in Parkinson's disease is not dopamine-mediated. **Trends in Neurosciences**, v. 26, n. 4, p. 215–221, 2003.
- BHATIA, K. P. Clinical Approach to Parkinson's Disease: Features, Diagnosis, and Principles of Management. p. 1–15, 2012.
- BHIDAYASIRI, R.; TRUONG, D. D. Motor complications in Parkinson disease: Clinical manifestations and management. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 266, n. 1–2, p. 204–215, 2008.
- BIALECKA, M. et al. Polymorphisms of catechol-O-methyltransferase (COMT), monoamine oxidase B (MAOB), N-acetyltransferase 2 (NAT2) and cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) gene in patients with early onset of Parkinson's disease. **Parkinsonism & related disorders**, v. 13, n. 4, p. 224–9, 2007.
- BIALECKA, M. et al. The association of functional catechol-O-methyltransferase haplotypes with risk of Parkinson ' s disease , levodopa treatment response , and complications. **Pharmacogenetics and genomics**, v. 12, p. 815–821, 2008.
- BLOEM, B. R. et al. The MPTP model: versatile contributions to the treatment of idiopathic Parkinson's disease. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 97, n. 2–3, p. 273–293, 1990.
- CALNE, D.; WILLIAM LANGSTON, J. Aetiology of Parkinson'S Disease. **The Lancet**, v. 322, n. 8365–8366, p. 1457–1459, 1983.
- CAMPDELACREU, J. Parkinson disease and Alzheimer disease: environmental risk factors. **Neurologia (Barcelona, Spain)**, v. 29, n. 9, p. 541–549, 2014.
- CHAPUIS, S. et al. Impact of the motor complications of Parkinson's disease on the quality of life. **Movement Disorders**, v. 20, n. 2, p. 224–230, 2005.
- CHESHIRE, P. et al. Influence of single nucleotide polymorphisms in COMT, MAO-A and BDNF genes on dyskinesias and levodopa use in Parkinson's disease. **Neurodegenerative Diseases**, v. 13, n. 1, p. 24–28, 2013.
- CIPRIANI, S.; CHEN, X.; SCHWARZSCHILD, M. A. Urate: a novel biomarker of Parkinson's disease risk, diagnosis and prognosis. v. 4, n. 5, p. 701–712, 2011.



- COHEN, G.; FAROOQUI, R.; KESLER, N. Parkinson disease: a new link between monoamine oxidase and mitochondrial electron flow. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 94, n. 10, p. 4890–4, 1997.
- CONNOLLY, B. S.; LANG, A. E. Pharmacological Treatment of Parkinson Disease. **Journal of Neurology**, v. 311, n. 4, p. 442–449, 2014.
- CONTIN, M.; MARTINELLI, P. Pharmacokinetics of levodopa. **Journal of Neurology**, v. 257, n. SUPPL. 2, 2010.
- COSTA-MALLEN, P.; COSTA, L. G.; CHECKOWAY, H. Genotype combinations for monoamine oxidase-B intron 13 polymorphism and dopamine D2 receptor Taq1B polymorphism are associated with ever-smoking status among men. **Neuroscience Letters**, v. 385, n. 2, p. 158–162, 2005.
- DAUER, W.; PRZEDBORSKI, S. Parkinson's disease: mechanisms and models. **Neuron**, v. 39, n. 6, p. 889–909, 2003.
- DE LAU, L. M. L.; BRETELER, M. M. B. Epidemiology of Parkinson's disease. **The Lancet. Neurology**, v. 5, n. 6, p. 525–35, 2006.
- DELGADO-MORALES, R. **Neuroepigenomics in Aging and Disease**. [s.l.: s.n.]. v. 978
- DORSEY, E. et al. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. **Neurology**, v. 68, p. 384–386, 2007.
- DROZDZIK, M.; BIALECKA, M.; KURZAWSKI, M. Pharmacogenetics of Parkinson's disease - through mechanisms of drug actions. **Curr Genomics**, v. 14, n. 8, p. 568–577, 2013.
- FABBRINI, G. et al. Levodopa-induced dyskinesias. **Movement Disorders**, v. 22, n. 10, p. 1379–1389, 2007.
- FAHN, S. et al. Levodopa and the Progression of Parkinson's Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 24, p. 2498–2508, 2004.
- FARRER, M. J. Genetics of Parkinson disease: paradigm shifts and future prospects. **Nature Reviews Genetics**, v. 7, n. 4, p. 306–318, 2006.
- FOX, S. H.; LANG, A. E. Levodopa-related motor complications - Phenomenology. **Movement Disorders**, v. 23, n. SUPPL. 3, 2008.
- GOETZ, C. G. The History of Parkinson's Disease: Early Clinical Descriptions and Neurological Therapies. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 1, n. 1, p. a008862–a008862, 2011.
- GOTHELF, D. et al. Association of the low-activity COMT 158Met allele with ADHD and OCD in subjects with velocardiofacial syndrome. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 10, n. 3, p. 301–308, 2007.
- GOUDREAU, J. L. et al. Case-control study of dopamine transporter-1, monoamine oxidase-B, and catechol-O-methyl transferase polymorphisms in Parkinson's disease. **Movement Disorders**, v. 17, n. 6, p. 1305–1311, 2002.
- GRZYWACZ, A. et al. Influence of DRD2 and ANKK1 polymorphisms on the manifestation of withdrawal syndrome symptoms in alcohol addiction. 2012.
- HEINZ, A. et al. Genotype influences in vivo dopamine transporter availability in human striatum. **Neuropsychopharmacology**, v. 22, n. 2, p. 133–139, 2000.
- HESS, C. W. et al. Diagnosing Parkinson Disease Treating the Motor Symptoms of Parkinson Disease. v. 22, n. August, p. 1064–1085, 2016.
- HOEHN, M. M. et al. Parkinsonism : onset , progression , and mortality. v. 17, n. May, 1967.
- HUGHES, A. J. et al. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a

- clinico-pathological study of 100 cases. **Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry**, v. 55, n. 3, p. 181–4, 1992.
- HUNT, A. L.; SETHI, K. D. The pull test: A history. **Movement Disorders**, v. 21, n. 7, p. 894–899, 2006.
- JANKOVIC, J. Motor fluctuations and dyskinesias in Parkinson's disease: Clinical manifestations. **Movement Disorders**, v. 20, n. SUPPL. 11, 2005.
- JANKOVIC, J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 79, n. 4, p. 368–376, 2008.
- JELLINGER, K. A. Neuropathology of sporadic Parkinson's disease: Evaluation and changes of concepts. **Movement Disorders**, v. 27, n. 1, p. 8–30, 2012.
- JÖNSSON, E. G. et al. Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their relationships to striatal dopamine receptor density of healthy volunteers. **Molecular Psychiatry**, v. 4, p. 290–296, 1999.
- KALIA, L. V.; KALIA, S. K.  $\alpha$ -Synuclein and Lewy pathology in Parkinson's disease. **Current Opinion in Neurology**, p. 1, 2015.
- KANDINOV, B.; GILADI, N.; KORCZYN, A. D. The effect of cigarette smoking, tea, and coffee consumption on the progression of Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 13, n. 4, p. 243–245, 2007.
- KEMPSTER, P. A. et al. Relationships between age and late progression of Parkinson's disease: A clinico-pathological study. **Brain**, v. 133, n. 6, p. 1755–1762, 2010.
- KIM, J. W. et al. **Association of the dopamine transporter gene with Parkinson's disease in Korean patients** **Korean Medical Sciences**, 2000.
- KISS, L. E.; SOARES-DA-SILVA, P. Medicinal Chemistry of Catechol O-Methyltransferase (COMT) Inhibitors and their Therapeutic Utility. **Journal of medicinal chemistry**, v. 57, p. 8692–8717, 2014.
- KLEBE, S. et al. The Val158Met COMT polymorphism is a modifier of the age at onset in Parkinson's disease with a sexual dimorphism. **Movement Disord.**, v. 84, n. 6, p. 666–73, 2013.
- KURZAWSKI, M.; BIAŁECKA, M.; DROŹDZIK, M. Pharmacogenetic considerations in the treatment of Parkinson's disease. v. 5, p. 27–35, 2015.
- LEES, A. J.; HARDY, J.; REVESZ, T. Parkinson's disease. **The Lancet**, v. 373, n. 9680, p. 2055–2066, 2009.
- LINDVALL, O. et al. Evidence for Long-Term Survival and Function of Dopaminergic Grafts in Progressive Parkinsons-Disease. **Annals of Neurology**, v. 35, n. 2, p. 172–180, 1994.
- LIU, Y.; WANG, Z.; ZHANG, B. The relationship between monoamine oxidase B (MAOB) A644G polymorphism and Parkinson disease risk: a meta-analysis. **Annals of Saudi medicine**, v. 34, n. 1, p. 12, 2014.
- LOONEN, A. J. M.; IVANOVA, S. A. New insights into the mechanism of drug-induced dyskinesia. **CNS Spectrums**, v. 18, n. 1, p. 15–20, 2013.
- LUCHT, M. et al. Influence of DRD2 and ANKK1 genotypes on apomorphine-induced growth hormone (GH) response in alcohol-dependent patients. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 34, n. 1, p. 45–49, 2010.
- MAIA, T. V.; FRANK, M. J. From reinforcement learning models to psychiatric and neurological disorders. **Nature Neuroscience**, v. 14, n. 2, p. 154–162, 2011.
- MALIEPAARD, M. et al. Pharmacogenetics in the evaluation of new drugs: a multiregional regulatory perspective. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 12, n.

February, p. 103–15, 2013.

MAZEI-ROBISON, M. S. et al. Sequence variation in the human dopamine transporter gene in children with attention deficit hyperactivity disorder. **Neuropharmacology**, v. 49, n. 6, p. 724–736, 2005.

MUELLNER, J. et al. Dopaminergic denervation severity depends on COMT Val158Met polymorphism in Parkinson's disease. **Parkinsonism & Related Disorders**, v. 21, n. 5, p. 471–476, 2015.

MÜLLER, T. Catechol-O-Methyltransferase Inhibitors in Parkinson's Disease. **Drugs**, v. 75, n. 2, p. 157–174, 2015.

MUNHOZ, R. P. et al. Non-motor signs in Parkinson's disease: a review. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 73, n. 5, p. 454–462, 2015.

NAROZANSKA, E. et al. Pharmacokinetics of levodopa in patients with Parkinson disease and motor fluctuations depending on the presence of *Helicobacter pylori* infection. **Clinical neuropharmacology**, v. 37, n. 4, p. 96–99, 2014.

NEVILLE, M. J.; JOHNSTONE, E. C.; WALTON, R. T. Identification and characterization of ANKK1: A novel kinase gene closely linked to DRD2 on chromosome band 11q23.1. **Human Mutation**, v. 23, n. 6, p. 540–545, 2004.

NOBLE, E. P. The DRD2 gene in psychiatric and neurological disorders and its phenotypes. **Pharmacogenomics**, v. 1, n. 3, p. 309–33, 2000.

NUTT, J. G. Motor fluctuations and dyskinesia in Parkinson's disease. **Parkinsonism.Relat Disord.**, v. 8, n. 1353–8020 (Print), p. 101–108, 2001.

NUTT, J. G.; WOOTEN, G. F. Diagnosis and Initial Management of Parkinson's Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 353, p. 1021–1027, 2005.

NYHOLM, D. et al. Levodopa infusion combined with entacapone or tolcapone in Parkinson disease: A pilot trial. **European Journal of Neurology**, v. 19, n. 6, p. 820–826, 2012.

OBESO, J. A et al. Missing pieces in the Parkinson's disease puzzle. **Nature Medicine**, v. 16, n. 6, p. 653–661, 2010.

OBESO, J. A. et al. Pathophysiology of the basal ganglia in Parkinson's disease. **Trends in Neurosciences**, v. 23, n. Box 1, p. S8–S19, 2000.

OLANOW, C. W. et al. A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. **Annals of Neurology**, v. 54, n. 3, p. 403–414, 2003.

OLANOW, C. W.; BRUNDIN, P. Parkinson's Disease and Alpha Synuclein: Is Parkinson's Disease a Prion-Like Disorder? **Movement Disorders**, v. 28, n. 1, p. 31–40, 2013.

OLANOW, C. W.; STERN, M. B.; SETHI, K. The scientific and clinical basis for the treatment of Parkinson disease (2009). **Neurology**, v. 72, n. 21 SUPPL. 4, p. S1–S136, 2009.

PAHWA, R. et al. Pharmacological Treatment of Parkinson Disease. **Journal of Neurology**, v. 311, n. 4, p. 442–449, 2014.

RIECK, M. et al. DRD2 haplotype is associated with dyskinesia induced by levodopa therapy in Parkinson's disease patients. **Pharmacogenomics**, v. 13, n. 15, p. 1701–10, 2012.

RIEDERER, P. et al. Relating mode of action to clinical practice: Dopaminergic agents in Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 13, n. 8, p. 466–479, 2007.

ROBAKIS, D.; FAHN, S. Defining the Role of the Monoamine Oxidase-B Inhibitors for Parkinson's Disease. **CNS Drugs**, v. 29, n. 6, p. 433–441, 2015.

- ROSS, G. W. et al. Association of coffee and caffeine intake with the risk of Parkinson disease. **Jama**, v. 283, n. 20, p. 2674–9, 2000.
- RUTHERFORD, K. et al. The 108M polymorph of human catechol O-methyltransferase is prone to deformation at physiological temperatures. **Biochemistry**, v. 45, n. 7, p. 2178–2188, 2006.
- RUTHERFORD, K. et al. The V108M mutation decreases the structural stability of catechol O-methyltransferase. **Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics**, v. 1784, n. 7–8, p. 1098–1105, 2008.
- SÄÄKSJÄRVI, K. et al. Prospective study of coffee consumption and risk of Parkinson's disease. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 7, p. 908–915, 2008.
- SAVITT, J.; DAWSON, V.; DAWSON, T. Diagnosis and treatment of Parkinson disease: molecules to medicine. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 7, p. 1744–1754, 2006.
- SCHAPIRA, A. H. V; OBESO, J. Timing of treatment initiation in Parkinson's disease: A need for reappraisal? **Annals of Neurology**, v. 59, n. 3, p. 559–562, 2006.
- SCHAPIRA, A. H. V. Dopamine agonists and neuroprotection in Parkinson's disease. **European Journal of Neurology**, v. 9, p. 7–14, 2002.
- ŠERÝ, O. et al. A 40-bp VNTR polymorphism in the 3'-untranslated region of DAT1/SLC6A3 is associated with ADHD but not with alcoholism. **Behavioral and Brain Functions**, v. 11, n. 1, p. 1–8, 2015.
- SPILLANTINI, M. G. et al. Alpha-synuclein in Lewy bodies. **Nature**, v. 388, n. 6645, p. 839–840, 1997.
- STANDAERT, D. G.; GALANTER, J. M. Farmacologia da Neurotransmissão Dopaminérgica. In: **Farmacologia da Neurotransmissão Dopaminérgica**. [s.l: s.n.]. p. 167–185.
- SWEET, R. A. et al. Dopamine receptor genetic variation, psychosis, and aggression in Alzheimer disease. **Archives of Neurology**, v. 55, n. 10, p. 1335–1340, 1998.
- TAN, E. K. et al. Variability and validity of polymorphism association studies in Parkinson's disease. **Neurology**, v. 55, n. 4, p. 533–538, 2000.
- TANNER, C. M. et al. Parkinson Disease in Twins. **Jama**, v. 281, n. 4, p. 341–346, 1999.
- TEO, K.; HO, S.-L. Monoamine oxidase-B (MAO-B) inhibitors: implications for disease-modification in Parkinson's disease. **Translational Neurodegeneration**, v. 2, n. 1, p. 19, 2013.
- TORKAMAN-BOUTORABI, A. et al. The catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase B polymorphisms and levodopa therapy in the Iranian patients with sporadic Parkinson's disease. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, v. 72, n. 3, p. 272–282, 2012a.
- TORKAMAN-BOUTORABI, A. et al. The catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase B polymorphisms and levodopa therapy in the Iranian patients with sporadic Parkinson's disease. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, v. 72, p. 272–282, 2012b.
- UHL, G. R. Hypothesis: The Role of Dopaminergic Transporters in Selective Vulnerability of Cells in Parkinson's Disease. **Annals of Neurology**, v. 43, n. 5, p. 555–560, 1998.
- UHL, G. R. Dopamine transporter: Basic science and human variation of a key molecule for dopaminergic function, locomotion, and parkinsonism. **Movement Disorders**, v. 18, n. SUPPL. 7, 2003.
- VANDENBERGH, D. J. et al. Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. **Genomics**, v. 14, n. 4, p. 1104–1106, 1992.

- WIRDEFELDT, K. et al. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. **European Journal of Epidemiology**, v. 26, n. S1, p. 1–58, 2011a.
- WIRDEFELDT, K. et al. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. **European journal of epidemiology**, v. 26 Suppl 1, p. S1–S58, 2011b.
- WOOD, P. L.; ALTAR, C. A. Dopamine release in vivo from nigrostriatal; mesolimbic; and mesocortical neurons: Utility of 3-methoxytyramine measurements. **Pharmacological. Reviews**, v. 40, p. 163–187, 1988.
- WU, R. M. et al. The COMT L allele modifies the association between MAOB polymorphism and PD in Taiwanese. **Neurology**, v. 56, n. 3, p. 375–82, 2001.
- ZAMMIT, S. et al. Polymorphisms in the MAOA, MAOB, and COMT genes and aggressive behavior in schizophrenia. **American Journal of Medical Genetics**, v. 128B, n. 1, p. 19–20, 2004.
- ZAPPIA, M. et al. Sex Differences in Clinical and Genetic Determinants of Levodopa Peak-Dose Dyskinesias in Parkinson Disease. **Archives of Neurology**, v. 62, n. 4, p. 601, 2005.
- ZEUNER, K. E. et al. Accelerometry to distinguish psychogenic from essential or parkinsonian tremor. **Neurology**, v. 61, n. 4, p. 548–50, 2003.
- ZHANG, S. et al. Association study of dopamine transporter gene ( DAT1 ) variable tandem repeat sequence ( VNTR ) with obsessive-compulsive disorder in Chinese Han Population. v. 8, n. 3, p. 4606–4610, 2015.

## ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

Está em: Público > Confirmar Aprovação pelo CAAE ou Parecer

### CONFIRMAR APROVAÇÃO PELO CAAE OU PARECER

Informe o número do CAAE ou do Parecer:

Número do CAAE:

45614415.0.0000.5208

Número do Parecer:

1384942

Pesquisar

*Esta consulta retorna somente pareceres aprovados. Caso não apresente nenhum resultado, o número do parecer informado não é válido ou não corresponde a um parecer aprovado.*

### DETALHAMENTO

Título do Projeto de Pesquisa:

FARMACOGENÔMICA NA DOENÇA DE PARKINSON

Número do CAAE:

45614415.0.0000.5208

Número do Parecer:

1384942

Quem Assinou o Parecer:

LUCIANO TAVARES MONTENEGRO

Pesquisador Responsável:

NADJA MARIA JORGE ASANO

Data Início do Cronograma: Data Fim do Cronograma: Contato Público:

01/10/2017

30/10/2017

Erinaldo Ubirajara Damasceno dos Santos



## ANEXO B- CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO



**PPGG**

Programa de Pós-Graduação  
em Genética

### CERTIFICADO

Certificamos que **Tiago F. Sampaio** participou da **V JORNADA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA**, realizada no período de 24 a 26 de novembro de 2015, na UFPE em Recife-PE, com carga horária equivalente a 30h de atividades, e apresentou o trabalho em forma de pôster intitulado "**Perfil do polimorfismo genético COMT e DAT de pacientes tratados com entacapona na Doença de Parkinson - um estudo de casos**", de autoria Sampaio, TF; Santos, EUD; Asano, NM; Anjos, RSG; Souza, PRE.

*Neide Santos*

**Profa Neide Santos**  
**Coordenadora PPGG**

Apoio



UNIVERSIDADE  
FEDERAL  
DE PERNAMBUCO

**PROPESQ**  
PRO-REITORIA PARA ASSUNTOS  
DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

**FACEPE**  
FUNDAÇÃO DE Amparo à pesquisa e à cultura  
(FUNDAÇÃO DE Amparo à pesquisa e à cultura)



**CNPq**  
CONSELHO NACIONAL DE Desenvolvimento Científico e Tecnológico



**Bioqene**

## ANEXO C CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO

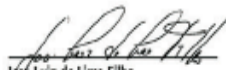
# CERTIFICATE



# SINATER

19 - 21 September 2017

We certify that the work, titled **Association of MAO-B gene polymorphism with variation of levodopa dosage in patients with Parkinson disease.** authored by **Tiago Furtado Sampaio, Erinaldo Ubirajara Damasceno dos Santos, Gessica Dayane Cordeiro de Lima, Rute Salgues Gueiros dos Anjos, Ronaldo Celerino da Silva, Andore Guescel C. Asano, Nadja Maria Jorge Asano, Paulo Roberto Eleuterio de Souza.** was presented in the POSTER category during the event "VIII International Symposium on Diagnostics and Therapeutics (SINATER), III International Symposium on Rare Diseases (RDis) and XI LIKA Scientific Journey" (SigProj No. 270372.1384.121666.02052017), promoted by Laboratory of Immunopathology Keizo Asami (LIKA), Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil, on 19th – 21th September 2017 (20 hours).

  
 José Luiz de Lima Filho  
 Director of LIKA - UFPE  
 Coordinator of SINATER, RDis and  
 LIKA Scientific Journey - Recife, Brazil

  
 James Owen  
 Professor of University College London  
 Coordinator of SINATER, RDis and  
 LIKA Scientific Journey - London, England

#### Organization:



#### Support:





## APENDICE A - QUESTIONÁRIO DOS PACIENTES

### FARMACOGENÔMICA NA DOENÇA DE PARKINSON

#### IDENTIFICAÇÃO

Nome: \_\_\_\_\_

Prontuário: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_

Idade atual: \_\_\_\_\_

Naturalidade: \_\_\_\_\_ Procedência: \_\_\_\_\_

Idade de início da doença: \_\_\_\_\_

Tempo de doença: \_\_\_\_\_

#### DIAGNOSTICO DO PACIENTE:

( ) DOENÇA DE PARKINSON ( ) PARKINSONISMO ( ) SEM DOENÇA

#### CARACTERISTICAS CLINICAS:

( ) Dor ( ) Bradicinesia ( ) Rigidez ( ) Tremor de repouso ( ) Discinesia ( ) Flutuações Motoras  
( ) Alucinações visuais ( )

Outro: \_\_\_\_\_

—

ESTÁGIO HY: ( ) 1 ( ) 2 ( ) 3 ( ) 4 ( ) 5

#### ANTECEDENTES PESSOAIS:

HÁBITOS: ( ) TABAGISMO ( ) ETILISMO ( )

OUTROS : \_\_\_\_\_

#### PATOLÓGICOS:

( ) HAS ( ) DM ( ) OUTROS

#### CONTATO COM AGENTE EXTERNO:

( ) SIM QUAL: \_\_\_\_\_ ( )

NÃO

#### ANTECEDENTES FAMILIARES:

( ) DOENÇA DE PARKINSON ( ) OUTRAS DOENÇAS DEGENERATIVAS

GRAU DE PARENTESCO: ( ) PAI ( ) MÃE ( ) IRMÃO ( ) PRIMO ( ) OUTRO \_\_\_\_\_

#### MEDICAÇÕES ANTI-PARKINSONIANAS EM USO:

| Medicação | Dosagem | Intervalo entre doses | Dosagem total<br>(DIA) |
|-----------|---------|-----------------------|------------------------|
|           |         |                       |                        |

|                   |  |  |  |
|-------------------|--|--|--|
| (LEV+BENSERAZIDA) |  |  |  |
| LevodopaCARBIPODA |  |  |  |
| PRAMIPEXOL        |  |  |  |
| SELEGILINA        |  |  |  |
| ENTACAPONA        |  |  |  |
| AMANTADINA        |  |  |  |
| BIPERIDENO        |  |  |  |

OUTROS MEDICAMENTOS:

TEM INTOLERÂNCIA À LEVODOPA? ( ) SIM ( ) NÃO DEPENDE DA DOSE? ( ) SIM  
( ) NÃO

## APENDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: **FARMACOGENÔMICA NA DOENÇA DE PARKINSON**

Pesquisador Responsável: Profa. Dra. Nadja Maria Jorge Asano

Telefones: (81) 2126-8523

Local do Estudo: Ambulatório de Neurologia – SERVIÇO PRÓ-PARKINSON do  
Hospital das Clínicas - UFPE

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n Cidade Universitária  
Universidade Federal de Pernambuco - Hospital das Clínicas  
2º andar - CEP 50.670-901 - Recife-PE

Prezado (a) Senhor (a),

Gostaríamos de convidá-lo (a) a participar como voluntário (a) desta pesquisa realizada no ambulatório de neurologia- Serviço Pró-Parkinson do Hospital das Clínicas, através de fichas para estudo genético da Doença de Parkinson.

Diversas causas estão envolvidas nesta doença, desde fatores genéticos e ambientais tais como: residir em zona rural, contato com pesticidas, beber água de poço. Apesar da levodopa representar a principal droga usada no tratamento da DP, existem grupos de indivíduos que são: bons respondedores a esta terapêutica, indivíduos que respondem de forma insatisfatória, indivíduos que não respondem e indivíduos que apresentam efeitos tóxicos, mesmo usando a mesma dose do medicamento, ou ainda aqueles que desenvolvem tolerância ao medicamento. Outras drogas estão associadas no tratamento. Esta variabilidade de resposta ao medicamento pode ser justificada pelo perfil genético do indivíduo ou de grupos de indivíduos. Desta forma, o presente estudo se propõe a pesquisar variações do DNA na resposta ao uso do medicamento. Essas variações estão relacionadas com mudanças no DNA de cada indivíduo favorecendo ou não o uso do medicamento prescrito. Para tal iremos utilizar genes tais como: DAT 1, COMT, MAO, D1 a D5, OCT 1 a 3, os quais estão envolvidos na melhoria da qualidade de vida dos pacientes com Doença de Parkinson.

*Descrição do estudo:* Neste estudo, nós vamos preencher uma ficha para cada paciente contendo identificação, perguntas sobre início e duração da doença, história familiar ou não de Doença de Parkinson, quais são as medicações usadas e se há outras doenças associadas. Serão coletados cerca de 3,0 ml (01 colher de sobremesa) de sangue ou 01 gota de saliva que será encaminhado ao Laboratório de Genética (Universidade Federal Rural de Pernambuco) para armazenamento e utilização deste material neste estudo, podendo o mesmo material servir para estudos futuros. Neste caso haverá um novo projeto de pesquisa que será analisado e aprovado pelo Comitê de Ética com novo consentimento do (a) paciente.

De acordo com o diagnóstico do DNA o paciente será aconselhado pelo neurologista a um tratamento individual, podendo ser o tratamento anterior modificado, visualizando a diminuição dos efeitos colaterais da medicação. Tais como: movimentos involuntários, tremores, dificuldade de movimentos.

*Riscos:* Os possíveis riscos que este tipo de estudo pode trazer são: constrangimento durante as respostas das questões da entrevista e desconforto (dor/mancha roxa) durante a coleta do material de sangue. Para minimizar os riscos de constrangimento, a pesquisadora explicará cuidadosamente a importância da coleta, os possíveis desconfortos durante a mesma, considerados leves e temporários e caso persistam, a coleta será interrompida.

*Benefícios:* Este estudo proporcionará grandes benefícios aos seus participantes, pois através das fichas de avaliação e resultados do estudo genético, o (a) paciente poderá ser beneficiado (a) com um diagnóstico mais detalhado da Doença de Parkinson e o esclarecimento da existência ou não do envolvimento genético da Doença de Parkinson, o que permite aconselhamento genético.

*Sigilo:* Esclarecemos que será garantido o sigilo do nome do participante. Apenas os pesquisadores terão acesso aos termos de consentimento e resultados.

*Participação Voluntária:* A participação é voluntária, ou seja, o (a) senhor(a) não receberá nenhum tipo de pagamento para participar desta pesquisa. Contudo fica garantida eventual indenização em decorrência de danos decorrentes da pesquisa, não sendo aceitável sob qualquer argumento, renúncia ao direito a indenização por dano.

O (a) Sr (a). tem o direito de ser mantido(a) atualizado(a) sobre os resultados parciais da pesquisa, e caso seja solicitado, daremos todas as informações que solicitar.

Nós nos comprometemos a utilizar os dados coletados somente para pesquisa e os resultados serão veiculados através de artigos científicos em revistas especializadas e/ou em encontros científicos e congressos, sem nunca tornar possível sua identificação.

Se o(a) senhor(a) concordar em colaborar voluntariamente com a pesquisa e se não tiver nenhuma dúvida, gostaríamos que assinasse este termo. Mesmo assinando, o (a) senhor (a) poderá recusar e/ou retirar o consentimento de participar da pesquisa a qualquer momento sem prejuízo para ambas as partes.

#### PARA OBTER INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Você receberá uma via deste termo, assinada e rubricada pelo investigador responsável e pelo Sr (a), podendo tirar suas dúvidas a respeito do projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento. Pesquisador responsável: **Nadja Maria Jorge Asano**, Telefone: (81) 21268523 (INCLUSIVE PARA LIGAÇÕES A COBRAR).

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE que é o local responsável para permissão e acompanhamento de pesquisas em seres humanos, no horário de 08:00 às 12:00hs, no endereço: (**Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br**).