

# **PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO NO GENE DO RECEPTOR DOPAMINÉRGICO (DRD2) EM UMA POPULAÇÃO DE TABAGISTAS DO MUNICÍPIO DE PARNAÍBA (PI)**

*João Janilson da Silva Sousa (bolsista da ICV/UFPI), Antonio Carlos Mendes de Moura (bolsista da ICV/UFPI), John de Oliveira Mágulas (bolsista da ICV/UFPI), Fábio José Nascimento Motta (Orientador, Curso de Biomedicina - UFPI)*

## **INTRODUÇÃO**

O uso do tabaco é a principal causa de morte evitável estimando-se mais de cinco milhões de mortes por ano no mundo, em consequência das doenças provocadas pelo mesmo, o que corresponde a aproximadamente seis mortes a cada segundo. (WHO, 2009)

Dentre as substâncias contidas no tabaco, a nicotina é a responsável pelo desencadeamento da dependência químico-física do tabagista. Entretanto, para o estabelecimento da dependência e seus graus de intensidade, existem fatores associados, características fisiológicas orgânicas, psicológicas, genéticas, comportamentais e outras menos ponderáveis (Rosemberg, 2003). Apesar dos fatores ambientais estarem claramente envolvidos, estudos mais recentes estimaram que os fatores genéticos podem ter uma responsabilidade superior a 50% (que poderá atingir os 84%) na iniciação e dependência tabágica e, ainda maior, entre 70-86%, na manutenção do hábito e na quantidade de cigarros fumados por dia (Hong et al., 2002)

A dopamina, o principal mediador do mecanismo de recompensa relacionado com a dependência a drogas nos humanos incluindo a nicotina, tem seus genes inseridos no sistema dopaminérgico mesolímbico. Dentre as variantes genéticas relacionadas ao funcionamento do sistema mesolímbico, em relação ao abuso de drogas, uma das mais amplamente estudadas é a do gene do receptor de dopamina tipo D2 (DRD2), relativa ao polimorfismo TaqI A que possui duas variantes: A1, o alelo menos freqüente, e A2, o alelo mais comum. Indivíduos com pelo menos um alelo A1 parecem ter até 40% menos receptores DRD2 estriatal em relação aos indivíduos com genótipo A2/A2 (Noble et al., 1991; Ritchie et al., 2003). Com isso, surgiu a hipótese de que pessoas com uma deficiência funcional na via de recompensa da dopamina experimentam um elevado efeito agradável quando exposto a agentes dopaminérgicos, como a nicotina, portanto tornando-se mais vulnerável a adição nicotínica (Noble et al., 1994).

## **METODOLOGIA**

O estudo foi realizado utilizando um questionário estruturado de estudo observacional transversal que foi aplicado a 123 pacientes, para que ocorresse a estratificação em fumantes e não fumantes, e amostras de sangue periférico de indivíduos tabagistas admitidos para tratamento e acompanhamento em Instituições Municipais de referência em atendimento dos usuários de tabaco e Hospitais da região de Parnaíba, no estado do Piauí, nordeste do Brasil. As amostras de sangue periférico foram obtidas por punção venosa e submetidas à extração do DNA com o kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega), de acordo com as especificações do fabricante. A pureza e concentração do DNA foram determinadas por corrida eletroforética em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídio, e em espectrofotômetro, por meio do comprimento de onda de 260 e 280 nm.

A amplificação do fragmento de interesse ocorreu através da técnica reação em cadeia da polimerase (PCR) do gene DRD2 no termociclador PCR Sprint ThermoHybaid para volume de 25µl. Após amplificação da região de interesse do polimorfismo TaqI A os produtos da reação foram submetidos ao procedimento de RFLP, incubados na presença da enzima TaqIα (New England BioLabs), de acordo com as condições listadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Condições para digestão enzimática dos produtos de PCR da região polimórfica TaqI A.

Reagente	Quantidade
Enzima ( <i>TaqIα</i> )	0,04µL
Tampão (NEBuffer4)	1,5µL
BSA	0,15µL
Produto de PCR	5µL
Água	8,31µL
<b>Total</b>	<b>15µL</b>
Temperatura e tempo de incubação	65°C por 16 horas

Após a digestão, os produtos da RFLP foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida a 10%, corado com prata, após uma corrida em cuba vertical utilizando um tampão TBE 1x (Tris, EDTA e ácido bórico) e uma corrente eletroforética de 90V por 3 horas para a distinção dos três genótipos possíveis (A2A2, A2A1 e A1A1).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As frequências genóticas e alélicas obtidas para a população de fumantes e não fumantes não apresentaram diferenças significativas ao nível de 5%, logo se concluiu que essa população encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg, como pode ser observado nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

**Tabela 2.** Distribuição das frequências genóticas e alélicas do polimorfismo TaqI A do gene DRD2 entre os fumantes.

Fumantes	
Genótipo	N = 76
A1A1	9(0.118)
A1A2	29(0.382)
A2A2	38(0.500)
<b>Alelo</b>	<b>N = 152</b>
A1	47(0.309)
A2	105(0.691)
*HWE	0.8644

\*HWE (Equilíbrio de Hardy-Weinberg)

**Tabela 3.** Distribuição das frequências genóticas e alélicas do polimorfismo TaqI A do gene DRD2 entre os não fumantes.

Não Fumantes	
Genótipo	N = 47
A1A1	7(0.149)
A1A2	25(0.532)
A2A2	15(0.319)
<b>Alelo</b>	<b>N = 94</b>
A1	39(0.415)
A2	55(0.585)
*HWE	0.4278

\*HWE (Equilíbrio de Hardy-Weinberg)

Mesmo não sendo possível observar uma diferença significativa dentro da população estudada foi possível perceber que o *locus* investigado se mostrou polimórfico, evidenciando assim a presença do alelo mutante nesta população. A frequência do alelo A1 foi de 30,9% para pacientes fumantes e 41,5 % para não fumantes, resultado diferente do que foi relatado por Erblich et al.(2004) em seus estudos onde a frequência do alelo A1 é maior em fumantes. Já o genótipo mais comum para o polimorfismo TaqI A do gene DRD2 foi o homocigoto selvagem A2A2 dentro do grupo de fumantes com frequência de 50%, enquanto no grupo dos não fumantes o genótipo mais comum foi o heterocigoto A1A2 com frequência de 53,2%. Diferenças significativas também não foram encontradas ao comparar a frequência genotípica ( $\chi^2= 3,907$ ,  $P= 0,1418$  ) e frequência alélica ( $\chi^2= 2,853$ ,  $P= 0,0912$  ) entre ambos os grupos.

## CONCLUSÃO

Apesar da prevalência do polimorfismo no gene do receptor dopaminérgico (DRD2) na população de tabagistas do município de Parnaíba (PI) ter sido determinada, nenhuma associação das frequências alélicas e genotípicas com a condição de fumante foi evidenciada, fato observado por outros autores. Portanto é crucial a ampliação do número amostral, para que se possa ter uma melhor compreensão de como este fator genético contribui para a dependência nicotínica, permitindo a adoção de uma terapia mais eficaz no tratamento de acordo com a resposta individual de cada paciente.

Palavras-chave: Tabagismo. DRD2. Polimorfismo TaqA I.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Batra V, Patkar AA, Berrettini WH, et al. **The genetic determinants of smoking**. Chest, 123: 1730-1739, 2003.
- Erblich J, Lerman C, Self DW, Diaz GA, Bovbjerg DH. **Stress-induced craving: effects of DRD2 TaqI RFLP and SLC6A3 VNTR polymorphisms**. Pharmacogenomics J ,4:102-109, 2004.
- Hong WK, Tyndale R, Spitz M, et al. **Biology of tobacco and smoking**. Educational Book, 38th Annual Meeting, ASCO, pp 4-17, 2002.
- Khurana S, Batra V, Patkar AA, et al. **Twenty-first century tobacco use: It is not just a risk factor anymore**. Respir Med, 97: 295-30, 2003.
- Noble EP, St Jeor ST, Ritchie T, Syndulko K, St Jeor SC, Fitch RJ, Brunner RL, Sparkes RS. **D2 dopamine receptor gene and cigarette smoking: a reward gene?**. Med Hypotheses, 42:257-60, 1994.
- Ritchie T, Noble EP. **Association of seven polymorphisms of the D2 dopamine receptor gene with brain receptor-binding characteristics**. Neurochemical Research, 28: 73–82, 2003.
- Rosemberg J. **Nicotina: droga universal**. INCA/MS,São Paulo, 2003. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/tabagismo/publicacoes/nicotina.pdf>
- Tyndale RF. **Genetics of alcohol and tobacco use in humans**. Ann Med, 35: 94-121, 2003.
- WHO. World Health Organization. **WHO Report on the Global Tobacco Epidemic, 2009: Implementing smoke-free environments**. Geneva, 2009. Disponível em <http://www.who.int/tobacco/mpower/en/index.html>