

BIOMARCADORES DA DOENÇA DE PARKINSON: UMA META-ANÁLISE

BIOMARKERS OF PARKINSON'S DISEASE: A META-ANALYSIS

Bárbara Mota Borges de Carvalho¹
Luiza Macedo Mendes Carneiro¹
Michelle Melgarejo da Rosa²
Kláudia Emanuela Ramos Tenório

RESUMO:

A doença de Parkinson (DP) é uma encefalopatia neurodegenerativa com forte influência genética e ambiental. Este estudo propõe relacionar a susceptibilidade da doença com fatores ambientais e diferentes polimorfismos genéticos associados ao gene SNCA, principal gene responsável pela progressão da doença. Trata-se de um estudo *in Silico* com os polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) do gene SNCA (rs356220, rs2583988, rs356219, rs2736990, rs356182, rs356168, rs11931074, rs3822086). Os dados obtidos com análise do software SNPstats mostram um Desequilíbrio de Ligação (DL), $D' > 0,98$, entre o SNP rs11931074 e os outros SNP. Os principais fatores ambientais relacionados aos SNP no desenvolvimento da DP são café, pesticida, falta de exercício cognitivo, álcool e fumo. Este estudo sugere que o SNP rs11931074 pode ser utilizado como TAG SNP após análise *in silico* em uma população hipotética.

Palavras Chaves: Doença de Parkinson; Genética Parkinson; gene SNCA; polimorfismo de nucleotídeo único -SNP

ABSTRACT:

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative encephalopathy with a strong genetic and environmental influence. The present study proposes to relate the susceptibility of the disease to environmental factors and different genetic polymorphisms associated with the SNCA gene, the main gene responsible for the progression of the disease. It is an *in Silico* study with the single nucleotide polymorphisms (SNP) of the SNCA gene (rs356220, rs2583988, rs356219, rs2736990, rs356182, rs356168, rs11931074, rs3822086). The data obtained with analysis of the SNPstats software show a Link Imbalance (DL), $D' > 0.98$, between the SNP rs11931074 and the other SNP. The main environmental factors related to SNPs in the development of PD are coffee, pesticide, lack of cognitive exercise, alcohol and smoking. This study suggests that SNP rs11931074 can be used as TAG SNP after *in silico* analysis in a hypothetical population.

Keywords: Parkinson's disease; Parkinson's genetic; SNCA gene; single nucleotide polymorphism -SNP

¹- Centro Universitário de Boa Viagem – UNIFBV, Recife, Brasil

²- Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, Brasil

1. INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson (DP) é caracterizada por ser neurodegenerativa, progressiva e idiopática, ocorrendo em 1-2% nas pessoas com mais de 65 anos de idade²³. Está ligada principalmente à perda de grande parte dos neurônios dopaminérgicos cerebrais na substância nigra e no estriado. A neurobiologia do Parkinson está embasada no acúmulo da proteína alfa-sinucleína, direcionando à formação de emaranhados proteicos conhecidos como corpúsculos de Lewys¹⁶. Os sintomas da doença podem ser descritos como motores e não motores. O primeiro está relacionado à rigidez muscular em repouso, marcha arrastada, postura encurvada, tremores musculares em repouso. Já o segundo inclui dificuldades para dormir, ansiedade, depressão, entre outros²⁸.

Ainda não são claros os motivos que levam ao desenvolvimento da DP, mas, nos últimos anos a literatura vem mostrando interações gene-ambiente que influenciam o desenvolvimento da doença. Estudos feitos em diferentes populações, porém principalmente em caucasianos, mostram múltiplos *locus* gênicos envolvidos na sinalização do Parkinson e manifestação da doença. No entanto, os achados são de maior consistência para alterações na proteína alfa-sinucleína² e proteína Tau¹². Os polimorfismos de nucleotídeos único (SNPs) representam cerca de 85% dos polimorfismos genéticos e ocorrem com frequência superior a 1% na população⁴.

Estudos de associação genética identificaram SNPs com maior incidência para a DP em genes como SNCA (PARK1), Parkin (PARK2), Leucin rich repeat kinase 2 (LRRK2), MAPT, HLA por exemplo. Naturalmente, apenas polimorfismos nesses genes não necessariamente significam que uma pessoa desenvolverá a doença^{14,22}. Notavelmente SNPs com interação gene-gene e gene-ambiente demonstram uma maior probabilidade de desenvolvimento de Parkinson³⁰. Esses polimorfismos tendem a ocorrer com maior frequência entre certos grupos étnicos, geográficos e sexuais¹⁶.

Alfa-sinucleína (SNCA) está localizada no cromossomo 4q21 e é a principal componente dos corpos de Lewy²⁹. Funcionalmente se relaciona com o tráfico vesicular e liberação de neurotransmissores. O acúmulo indevido da proteína impede a correta sinalização neuronal, o que direciona para a perda de neurônios. A principal e mais conhecida mutação no SNCA é a p.Ala53Thr, acometendo especialmente pessoas com menos de 50 anos (Doença de Parkinson Precoce) e está associada a quadros de demência. Entretanto, quando relacionadas a DP tardia, as mutações mais relevantes são p.Ala30Pro e p.Glu46Lys, que estão relacionadas as alterações neurológicas como demência e alucinações, por exemplo. Todas essas sendo mutações missenses agravantes para a doença²¹.

O gene SNCA encontra-se em uma região de desequilíbrio de ligação relativamente alta com polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs)¹². Vários estudos de caso-controle veem mostrando a interação entre polimorfismos no gene SNCA e associações destes com os fatores ambientais já mencionados, em várias populações^{10,13, 20,25}.

Nesta visão, esta pesquisa tem como objetivo elucidar sobre quais genes/ polimorfismos e fatores ambientais estão associados com a ocorrência de DP, bem como analisar em uma população hipotética o desequilíbrio de ligação entre os SNPs identificados pelo estudo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Pesquisa nas bases de dados:

O estudo foi do tipo observacional analítico em que foram selecionados 38 artigos de estudos genéticos associados ao Parkinson, associação dos polimorfismos e fatores ambientais com o gene SNCA. Sendo 6 artigos de revisão sobre a genética do Parkinson e 32 artigos envolvendo caso-controle, destes 22 sobre polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) no gene SNCA e 10 sobre os principais fatores

ambientais ligados à doença. Nesta busca foram incluídos artigos de 2007-2019, estudos de revisão, caso-controle e estudos em humanos. Os fatores de exclusão foram artigos publicados antes de 2009, pesquisa em animais e os que não citavam fatores genéticos relacionados ao Parkinson. Utilizou-se as plataformas PubMed, Science Direct e Google Scholar, com as seguintes palavras chaves: Parkinson Disease, SNCA, Environmental Factors e PD, Gene Polymorphism e Parkinson, Interaction Gene-environment and Parkinson, Pesticide and PD, Alcohol and Parkinson, Parkinson and Coffee, Parkinson and smoking, Parkinson and tea, Air Pollution and Parkinson.

2.2 Procedimento e coleta dos dados

Após a leitura dos artigos as seguintes informações foram extraídas: nome do autor, ano de publicação, etnia das populações, número de casos e controles, Gene (alelo e genótipo), localização do gene e tipo mutação. Além dos fatores ambientais que poderiam influenciar no desenvolvimento da doença.

Em seguida, os SNPs localizados no gene SNCA foram tabulados em planilha do Excel. Bem como os genótipos encontrados nos 10 SNPs do gene SNCA foram organizados em uma planilha para análise de ligação gênica.

2.3 Processamento e análise dos dados

Para a planilha contendo as informações sobre os polimorfismos achados no gene SNCA foi criada uma tabela de contingência considerando seu *status* (caso 1 presença do Parkinson e controle 0 ausência do Parkinson). Esses dados foram analisados através do software SNPstats (<https://www.snpstats.net/start.htm>) por regressão logística para determinação das odds ratio (OR) e o p-value da associação em relação a cada fator de risco.

Também foram calculadas as frequências alélicas e genotípicas, o princípio de Hardy-Weinberg, teste de Qui Quadrado, desequilíbrio de ligação através do coeficiente de desvio padronizado (D') de Lewontin (1964). Para este estudo foi considerado o nível de significância de 5% ($\alpha < 0,05$).

Com relação a análise de desequilíbrio de ligação foram tabulados todos os genótipos relatados dos 8 SNPs do gene SNCA criando uma população hipotética que em seguida foi analisada pelo SNPStats.

3. RESULTADOS

3.1 Genes Relevantes para a evolução do Parkinson

A literatura mostra 13 genes de maior associação ao desenvolvimento da doença de Parkinson. Dos genes mostrados na **Tabela I**, seis são caracterizados por desencadear o Parkinson Precoce, FBXO7, PINK1, DJ-1, PRKN, ATP13A2 e PLA2G6. O Parkinson Precoce está ligado ao desenvolvimento da doença antes dos 50 anos de idade. Os genes GBA, MAPT, UCHL1 e GIGYF2 são suscetíveis à DP, ou seja, podem tornar o indivíduo mais, ou menos vulnerável à doença. O SNCA, LRRK2 e VPS35 são encontrados na forma dominante da doença, acima de 60 anos. O gene SNCA é o mais comum quando relacionada ao Parkinson, foi nele que se encontrou a primeira mutação associada ao Parkinson em 1997 (p.Ala53Thr), logo depois outras mutações foram surgindo, e hoje oito mutações missenses patogênicas nesse gene são relacionadas a DP (p.Ala30Pro, p.Glu46Lys, p.Gly51Asp, p.Ala53-Glu, e p.Ala53Thr). Esses polimorfismos geram formação dos Corpos de Lewys e perda neuronal na substância nigra.

O gene LRRK2 apresenta nove mutações patogênicas relacionadas a DP (p.Asn1437His, p.Arg1441-Gly, p.Arg1441Cys, p.Arg1441His p.Arg1628Pro, p.Tyr1699Cys, p.Gly2019Ser, p.Ile2020Thr, Gly2385Arg), sendo a principal mutação missense p.Gly2019Ser. Já no gene VPS35 a única mutação encontrada até agora é a p.Asp620Asn presente em várias populações cujo os indivíduos têm doença de Parkinson Precoce.

Tabela 1: Genes descritos na literatura associados ao DP

Genes	Cromossomo	Localização	Tipo de Mutação	Autor
SNCA	4	4q22.1	Missense, Point	Lunati ²¹ et al., 2018
MAPT	17	17q21.31	Point, Missense	Chung ¹⁰ et al., 2013
LRRK2	12	12q12	Missense	Lunati ²¹ et al., 2018
PINK1	1	1p36.12	Missense, Frameshift, splice site, point, Truncating	Lunati ²¹ et al., 2018
DJ-1	1	1p36.23	Point, Missense, frameshift, exon deletion and splice site	Liu et al ²⁰ , 2016
GIGYF2	2	2q37.1	Missense	Selvaraj, 2019
PRKN	6	6q26	Missense, Frameshift, splice site, point, nonsense	Pandey ²⁴ et al., 2019
GBA	1	1q22	Missense	Edwards ¹¹ et al., 2010
VPS35	16	16q11.2	Missense	Lunati ²¹ et al.,2018
ATP13A2	1	1p36	Frameshift	Zangh ³³ et al, 2018
PLA2G6	22	22q13.1	Missense	Zangh ³³ et al, 2018
FBXO 7	22	22q12-q13	Missense, splice site	Zangh ³³ et al, 2018
UCHL1	4	4p14	Missense	Zangh ³³ et al, 2018

3.2 SNPs Relevantes no gene SNCA em Diferentes Populações

Foram encontrados 14 artigos falando da relação dos principais polimorfismos do gene SNCA associado ao Parkinson (**Tabela 2**). Na Tabela 2 mostra a relação entre o Gene SNCA e os SNPs rs356219, rs2736990, rs2583988, rs11931074, rs356168, rs3822086, rs356182, rs356220, seus alelos e a população mais acometida de acordo com os estudos vistos. É possível observar que todos os SNPs tiveram forte associação com a DP nos estudos de caso-controle (Tabela II). Os polimorfismos nos genes SNCA foram mais associadas as populações caucasiana e asiática e não foi relacionada a população Africana.

O estudo de Câmpelo⁵ e colaboradores identificaram três SNPs (rs2583988, rs2736990 e rs356219) os quais foram associadas a maior suscetibilidade. Já o rs356220 foi associado com o aumento do risco da DP em japoneses e Europeus, principalmente na Itália. O rs2583988 foi observado na população Brasileira, Italiana, Russa e Chinesa. O rs356219 teve uma alta relação na população Brasileira, Japonesa, Italiana, Russa e Chinesa. De forma semelhante o polimorfismo rs2736990 também foi encontrado relação

com a população Japonesa, Italiana, Chinesa e Brasileira. Já o rs356185 foi apenas encontrada em artigos referentes a população Chinesa e o rs656168 referente a população Russa. O SNP rs11931074 por sua vez foi encontrado na população Russa, Italiana e Chinesa. Por fim, o rs3822086 foi encontrada na população Chinesa e Europeia.

Tabela 2: Polimorfismos do gene SNCA associado à Doença de Parkinson

Gene	Local	SNP	Alelos	OR (95%CI)	P value	População	Autor
SNCA	4q22.1	rs356220	T > C	1.18 (1.02-1.36)	0.023	Italiana	Trotta ³² et al.
		rs2583988	C > T	12.20 (1.52–97.6)	0.018	Brasileira	Câmpelo ⁵ et al.
		rs356219	G > A	2.94 (1.29–6.67)	0.010	Brasileira	Câmpelo ⁵ et al.
		rs2736990	T > C	2.65 (1.13–6.20)	0.024	Brasileira	Câmpelo ⁵ et al.
		rs356182	G > A	1.162 (1.14–2.27)	0.006	Chinesa	Cheng ⁹ et al.
		rs356168	G > A	1.89 (1.25–2.87)	0.003	Russa	Emelyanov ¹³ et al.
		rs11931074	G > T	1.36 (1.31–1.42)	0.010	Chinesa	Liu ²⁰ et al.
		rs3822086	C > T	2.035 (1.05–3.95)	0.035	Chinesa	Jian ¹⁸ et al.

3.3 Polimorfismos no gene SNCA associado a fatores ambientais na DP

No presente estudo foram relacionados a cinco fatores ambientais associados ao desenvolvimento de DP (cigarro, pesticidas álcool, café, falta de exercícios cognitivos), além de doenças pré-existentes como hiposmia (ausência ou diminuição do olfato), tabela III.

Esses fatores foram correlacionados a 9 SNPs onde se observou o cigarro como sendo um fator protetor quando associado aos genótipos GG no SNP rs356220 e TT no SNP. Com relação à exposição ao pesticida o SNP rs3775423 parece ser um fator de risco para doença.

No estudo de Campelo⁶ et al., foi observado que a maior frequência de práticas de atividades cognitivas no grupo controle pode ter um efeito protetor para DP⁶. Bem como, a ausência de atividades cognitivas associados aos SNPs T-rs2583988, G-rs356219 e T-2736990 podem funcionar como um fator de risco⁶. O estudo de Janeczek e colaboradores¹⁷ indicou que os genótipos A-rs356219 e T-rs356221 estavam aumentados em pacientes com DP que ingeriram álcool de forma exacerbada. Já o genótipo TT-rs11931074 foi encontrado com maior frequência em indivíduos que tinham DP e hiposmia do que em indivíduos só com a DP. Nos grupos estudados o consumo do café teve uma baixa frequência nos pacientes DP, podendo ser associado como um fator de proteção da doença^{10,32}. Essas associações foram elencadas na tabela III.

Tabela 3: SNPs do gene SNCA associados a fatores ambientais na Doença de Parkinson.

SNPs	Fatores Ambientais	Autor
GG-rs356219, TT-rs356220	Cigarro (Protetor)	Miyake ²² et al., 2012
C-rs3775423	Pesticida (Risco)	Chung ¹⁰ et al., 2013. Brighina ³ et al., 2008
T- rs2583988, G-rs356219, T-rs2736990	Comprometimento Cognitivo (Risco)	Câmpelo ⁵ et al., 2017
A-rs356219, T-rs356221	Alcool (Risco)	Janeczek ¹⁷ et al
TT-rs11931074	Hiposmia (Risco)	Chen ⁸ et al. 2015
nenhum SNP associado foi encontrado	Café (Protetor)	Chung ¹⁰ et al., 2013; Trotta ³² et al., 2012

3.4 Análise Estatística do Desequilíbrio de Ligação (DL) dos SNPs

O desequilíbrio de ligação (LD) é a associação não randômica de alelos entre dois ou mais *loci*, o que gera uma diferença entre as proporções haplotípicas observadas e esperadas¹⁵. A análise do coeficiente de desvio padronizado (D') de Lewontin (1964) mostrou que o rs11931074 apresentou forte desequilíbrio de ligação $D' > 0,98$, (Tabela 4).

Tabela 4: Resultado do Coeficiente de desvio padronizado (D') de Lewontin (1964) entre SNPs do gene SNCA que foram associados a Parkinson.

	Rs356219	Rs3822086	Rs356168	Rs356220	Rs356182	Rs2736990	Rs258988	Rs11931074
Rs356219	-	0,7382	0,4388	0,354	0,3934	0,9747	0,9724	0,9995
Rs3822086	-	-	0,4269	0,4152	0,6779	0,8595	0,5981	0,9995
Rs356168	-	-	-	0,5301	0,3628	0,356	0,9993	0,9994
Rs356220	-	-	-	-	0,4576	0,381	0,9994	0,9994
Rs356182	-	-	-	-	-	0,4525	0,3336	0,9994
Rs2736990	-	-	-	-	-	-	0,9414	0,9994
Rs258988	-	-	-	-	-	-	-	0,6926
Rs11931074	-	-	-	-	-	-	-	-

(*) Os valores especificados na cor verde, demonstram um maior desequilíbrio de ligação entre os SNPs, ou seja, quanto mais próximo de 1, maior a probabilidade desses polimorfismos serem herdados juntos.

3.5 Frequência Alélica e Genotípica dos SNPs

As frequências dos alelos e as frequências dos genótipos de risco estão descritos na tabela V. Esta mostra os genótipos GG-rs356219, TT-rs3822086, GG-rs356168, TT e CC-rs356220, GG-rs356182, CC-rs2736990, TT-2583988 e TT-rs11931074 com maior prevalência nos grupos de caso (com Doença de Parkinson).

Já o genótipo AA-rs356219 possui valores de OR e p-value que caracterizam um fator de proteção. O heterozigoto GA-rs356168 e TC-2736990 também estão como genótipo de proteção. O restante não apresentou significância em seus valores, assim não pode ser considerado fator de risco ou susceptibilidade para a doença.

Tabela 5: Frequência dos alelos e Genótipos dos SNPs. DP (n=134) e controle (n=170)

SNCA SNP	Genótipos (n)			Alelos		OR Estimado (IC 95%)	p -Values	
rs356219	A/A	G/A	G/G	A	G	0,34 (0,15-0,77)	0,027	
	Casos	0,15	0,48	0,37	0,39			0,61
	Controles	0,27	0,52	0,21	0,53			0,47
rs3822086	C/C	T/C	T/T	T	C	0,86 (0,46-1,62)	0,16	
	Casos	0,21	0,46	0,33	0,56			0,44
	Controles	0,32	0,42	0,26	0,47			0,48
rs356168	A/A	G/A	G/G	A	G	0,40 (0,22-0,74)	0,0081	
	Casos	0,23	0,25	0,52	0,35			0,65
	Controles	0,29	0,38	0,33	0,48			0,52
rs356220	C/C	T/C	T/T	T	C	2,19 (1,20-4,00)	<0,0001	
	Casos	0,42	0,13	0,45	0,51			0,49
	Controles	0,16	0,47	0,37	0,61			0,39
rs356182	A/A	G/A	G/G	A	G	0,65 (0,36-1,17)	0,14	
	Casos	0,19	0,34	0,47	0,36			0,64
	Controles	0,26	0,39	0,35	0,46			0,54
rs2736990	C/C	C/T	T/T	T	C	0,41 (0,22-0,77)	0,0094	
	Casos	0,45	0,42	0,13	0,34			0,66
	Controles	0,24	0,56	0,19	0,47			0,53
rs2583988	C/C	C/T	T/T	T	C	1,17 (0,65-2,10)	5e-04	
	Casos	0,53	0,37	0,11	0,29			0,71
	Controles	0,63	0,37	0	0,19			0,81
rs11931074	G/G	G/T	T/T	T	G	1,49 (0,82-2,71)	0,0017	
	Casos	0,61	0,31	0,07	0,23			0,77
	Controles	0,74	0,26	0	0,13			0,87

4. DISCUSSÃO

O presente estudo identificou por meio de uma revisão de literatura genes associados ao desenvolvimento da Doença de Parkinson, bem com as possíveis associações entre genes e os fatores ambientais. Entre os genes mais relacionados, encontra-se SNCA, LRRK2 e MAPT, sendo o SNCA o mais ressaltado. Com relação aos fatores ambientais, exposição a pesticidas e consumo de álcool são considerados ações de risco para doença, já consumir café e fumar cigarro tem uma influência protetora à DP^{6,10,17}. Estes resultados reforçam dados de estudos anteriores que afirmam que DP é uma doença multifatorial em que os fatores ambientais, sociais e idade influenciam na ocorrência da doença⁶.

O desequilíbrio de ligação (D') mostra a história de recombinação passados bem como ponto de origem das mutações que surgem na genealogia. Contudo, o D' pode variar a localização específica de acordo com as frequências alélicas em uma população real, já que o algoritmo utilizado para o cálculo de D' é baseado em marcadores informativos para detectar desequilíbrio de ligação (DL)²⁷. No presente estudo foi possível observar que o SNP rs11931074 encontra-se em desequilíbrio de ligação, ou seja, não é herdado na meiose aleatoriamente, mas sim com 7 outros SNPs formando um TAG SNP (bloco de SNPs). Os TAG SNPs tornam-se mais informativos já que sua análise possibilita enxergar todos outros e como se comportam¹⁵. O gene SNCA encontra-se em uma região de desequilíbrio de ligação relativamente alta com polimorfismos de nucleotídeo único em ambas as extremidades 3' e 5' do gene associado à DP¹².

Estudos mostram uma forte associação de desequilíbrio de ligação entre o rs11931074, localizado na extremidade 3' região intrônica e rs2583988, localizado na região promotora do gene; e uma fraca associação com rs356168 (região intrônica 4) e rs356219 (localizado na extremidade 3' região intrônica)¹³. Segundo Al-chalabi¹ et al. (2009) o alto DL entre o mesmo polimorfismo (rs11931074) e o rs3822086, localizado em uma região intrônica na extremidade 5'. Já neste estudo houve uma grande significância de DL entre o rs11931074 e os SNPs rs356219, rs3822086, rs356168, rs356220 (variante intrônica), rs356182 (variante intrônica), rs2736990 (região intrônica), porém teve uma baixa significância de desequilíbrio com o rs2583988.

Na literatura o polimorfismo rs2583988 tem uma significância intermediária de DL com rs356219¹³ e com o rs2736990, e, no entanto, neste estudo foi encontrado um forte desequilíbrio de ligação entre o rs2583988 e rs356219, rs356168, rs356220 e rs2736990. Esse polimorfismo só demonstrou um baixo valor de DL quando comparado com os SNPs rs356182 e rs3822086.

O rs2736990 expressa um forte desequilíbrio de ligação com rs356219⁵. De forma similar esse estudo mostrou que rs2736990 tem uma grande associação com o rs356219, mas também com rs3822086, entretanto teve uma pequena ligação com rs356168, rs356220 e rs356182. O estudo de Zhang³³(2018) comprova uma forte DL entre o SNP rs356182 com rs356219, rs356220 e rs2736990, mas em nosso estudo só foi encontrado uma associação de baixo desequilíbrio de ligação. Os polimorfismos rs356168 e rs356219 aparecem associados³¹. Contudo, o nosso estudo revela uma baixíssima interação de desequilíbrio de ligação entre esses SNPs.

As demais interações de DL neste estudo pode se observar o alto desequilíbrio de ligação entre o rs3822086 e rs356219. O restante dos polimorfismos não mencionados ainda possuem baixos desequilíbrios de ligação, entre eles, temos rs356219 com rs356168, rs356220 e rs356182; rs3822086 com rs356168, rs356220, rs356182 e rs2736990; rs356168 com rs356220, rs356182 e rs2736990; rs356220 com rs2736990; rs356182 com rs2582988. O desequilíbrio de ligação é um importante fator para a escolha de um bom marcador genético, nos microssatélites eles serão mais informativos se não estiverem ligados, contudo quando se fala de SNPs é preferencial que estejam ligados, deste modo possibilita avaliar um número maior de SNPs com um custo menor¹⁵.

Nesta pesquisa o alelo G-rs356219 foi mais frequente nos pacientes com DP, tendo o genótipo AA como uma espécie de proteção. Outro estudo confirma a hipótese de que o alelo G desse polimorfismo é o

mais frequente no grupo¹², contrariando essas ideias, o alelo A-rs356219 é o mais frequente na população, aumentando a chance de se ter a doença em até 1.17 vezes³².

O alelo T-rs3822086 é mais frequente nos pacientes com a doença, sendo assim, o genótipo TT-rs3822086 considerado um fator de risco¹⁸, confirmando o resultado demonstrado nesse estudo. O genótipo GG-rs356168 teve uma maior associação no grupo DP, representando um genótipo de risco para essa população pesquisada¹³, confirmando também o resultado achado neste artigo.

Foi visto neste estudo uma maior frequência do alelo C-rs356220 no grupo caso, porém os dois genótipos CC e TT-rs356220 mostraram uma frequência superior nos pacientes com a doença. Contrariando esse resultado, o genótipo CC-rs356220 aumenta em 1.18 vezes a chance de ter a DP, mas o alelo mais frequente é o C-rs356220³².

De acordo com Cheng⁹ et al (2016), o alelo G-rs356182 foi o mais frequente em grupos que tinham a doença de Parkinson e os genótipos GG/AG-rs356182 aumentaram o risco dessa população apresentar DP, no entanto o GG-rs356182 foi o mais associado à doença. Essa pesquisa está em concordância com os resultados do artigo citado, pois também foi achado o alelo G-rs356182 e o genótipo GG-rs356182 como os mais frequentes no grupo caso.

Nesse artigo o alelo C-rs2736990 é mais comum no grupo caso, o genótipo mais frequente é CC-rs2736990. Câmpelo²⁷ et al.,(2017), considerou o mesmo genótipo para a população doente, com um aumento de 2.65 vezes de contrair a doença para quem possui CC-rs2736990. Esses dados mostram que esse marcador pode ser utilizado como biomarcador para DP.

O alelo C-rs2583988 é mais frequente na população o que tem a doença porém o genótipo CC-rs2583988 não teve um valor significativo de risco^{26,32}. No presente estudo verificou se que o alelo T-rs2583988 e o genótipo TT-rs2583988 é de maior frequência no grupo caso. O polimorfismo rs11931074 é o mais mencionado na literatura, o alelo T-rs11931074 e o genótipo TT-rs11931074 são mais prevalentes entre os indivíduos DP, aumentando a chance de ter a doença em 1.85 vezes²⁶. Outro estudo diz que o alelo G-11931074 e o genótipo GG-11931074 são mais frequentes no grupo caso aumentando a chance de ter a doença em 1.18 vezes²⁵. Já para Emelyanov¹³ et al. (2018), o alelo T e o genótipo TT-rs11931074 teve maior presença no grupo DP do que o controle. Nesse estudo o alelo T e o genótipo TT deste polimorfismo é mais frequente no grupo que manifesta a doença.

Estudos recentes mostram que o envolvimento de fatores genéticos e ambientais faz parte da etiologia da doença de Parkinson (DP)^{5,32}. De acordo com essa revisão, os principais fatores ambientais relacionados ao Parkinson são café, pesticida, falta de exercício cognitivo, álcool e fumo. O estudo de Miyake²² et al., (2012) mostrou que pessoas que possuíam o genótipo TT no SNP rs356220 e GG no rs356219 e que nunca foram fumantes, tinham maiores chances de desenvolver o risco da DP, assim associando a nicotina a um fator de proteção contra a doença. Outros dois artigos fizeram uma análise estatística de pacientes com DP e indivíduos saudáveis, relacionando com a quantidade de cigarros usados por dia. Em seus resultados também verificaram que fumar cigarro não está ligado ao risco da Doença e pode demonstrar um efeito protetor para DP^{7,19}. Existe uma ideia de que esse mecanismo de neuroproteção realizado pela nicotina se deve ao fato de diminuir os níveis da enzima MAO (monoaminas oxidase B) no cérebro, essa tem a função de metabolizar a dopamina, e então isso provocaria o aumento de dopamina na fenda sináptica⁶.

Pesticidas são considerados um dos fatores ambientais mais associados a desenvolver a DP^{3,10}, o estudo¹⁰ mostrou uma grande associação do SNP C-rs3775423 com a DP no SNPstats mas após a correção de Bonferroni não teve uma significativa associação. Câmpelo⁵ et al., (2017), em um estudo na população brasileira, obteve significantes resultados observando que a falta de exercício cognitivo poderia ser um fator de risco para a DP, demonstrando que T-rs2583988, G-rs356219, T-rs2736990 estão associados ao comprometimento cognitivo e a DP, além disso Câmpelo⁵ et al. (2017) tentou relacionar esses SNPs a de-

pressão e ansiedade mas não obteve resultados.

Janeczek¹⁷ et al.(2013) sugeriram que o uso indevido de álcool pode alterar a expressão da alfa-sinucleína de maneira diferente no cérebro humano, mostrando uma possível associação dos SNPs A-rs356219, T-rs356221 com Parkinson, ainda demonstrando um desequilíbrio de ligação entre esses dois SNPs, o SNP rs2736995 também foi estudado mas não obteve um resultado com significância.

O genótipo TT-rs11931074 está relacionada a pessoas que possuem hiposmia, diminuição ou ausência de olfato, estando correlacionada ao Parkinson⁸, esse SNP é um dos mais associados a doença, esse polimorfismo também está associado ao aumento dos corpúsculos de Lewys¹³ et al. Liu²⁰ et al. (2018) concluíram que o rs11931074 contribuiu para susceptibilidade da doença na população caucasiana e chinesa. Nos estudos de Ross²⁶ et al. e Rahimi²⁵ et al., esse SNP também contribuiu para manifestação da doença na população chinesa, caucasiana e taiwanesa respectivamente.

O café é um dos fatores ambientais mais estudados quando relacionados a DP, nesta pesquisa não foram achados nenhum SNP do SNCA associado ao café e DP, mas estudos indicam que a cafeína é um fator de proteção para doença assim como a nicotina^{10,32}. Foram procurados polimorfismos no gene SNCA associados a fatores ambientais como água poluída, vida rural, metais pesados, mas neste estudo não foi encontrado correlação entre SNP induzidos pelos fatores e DP.

5. CONCLUSÕES

Os dados obtidos neste estudo fornecem evidências sobre a associação de fatores genéticos e ambientais com susceptibilidade em pacientes com DP.

Foram descritos 13 genes e 8 SNPS no gene SNCA. Este estudo sugere que o SNP rs11931074 pode ser utilizado como TAG SNP após análise *in silico* em uma população hipotética, contudo esse resultado precisa ser confirmado com uma análise desses marcadores em uma população real.

Portanto, é observado que há necessidade de desenvolver estudos de casos-controles em escala maior e melhor projetados com populações de diferentes etnias para investigar o papel que esses polimorfismos do gene SNCA e fatores ambientais desempenham na patogênese da DP.

REFERÊNCIAS

1. Al-Chalabi A et al. Genetic variants of the α -synuclein gene SNCA are associated with multiple system atrophy. PloS one 2009; 4(9): e7114.
2. Boros FA et al. Assessment of risk factor variants of LRRK2, MAPT, SNCA and TCEANC2 genes in Hungarian sporadic Parkinson's disease patients. Neurosci let 2019; 706: 140-145.
3. Brighina L. et al. α -Synuclein, pesticides, and Parkinson disease: A case-control study. Neurology 2008; 70(16): 1461-1469.
4. Budowle B, Daal AV. Forensically relevant SNP classes. Biotechniques 2008; 44:603-610.
5. Câmpelo CLC et al. Variants in SNCA gene are associated with Parkinson's disease risk and cognitive symptoms in a Brazilian sample. Front Aging Neurosci 2017; 9: 198-201.

6. Campelo CLC et al, Silva RH. Genetic variants in SNCA and the risk of sporadic Parkinson's disease and clinical outcomes: a review. *Parkinson's disease* 2017; 2017.
7. Chen H. et al. Duração do fumo, intensidade e risco de doença de Parkinson. *Neurology* 2010; 74(11): 878-884.
8. Chen W, Kang WY, Chen S, Wang Y, Xiao Q, Wang G, Liu J, Chen SD. Hyposmia correlates with SNCA variant and non-motor symptoms in Chinese patients with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2015; 21(6):610-614. doi: 10.1016/j.parkreldis.2015.03.021.
9. Cheng L, Wang L, Li NN, Yu WJ, Sun XY, Li JY, Zhou D, Peng R. SNCA rs356182 variant increases risk of sporadic Parkinson's disease in ethnic Chinese. *J Neurol Sci*. 2016; 368: 231-234.
10. Chung SJ, Armasu SM, Anderson KJ, Biernacka JM, Lesnick TG, Rider DN, Cunningham JM, Ahlskog JE, Frigerio R, Maraganore DM. Genetic susceptibility loci, environmental exposures, and Parkinson's disease: a case-control study of gene-environment interactions. *Parkinsonism Relat Disord* 2013;19(6):595-599.
11. Edwards TL, Scott WK, Almonte C, Burt A, Powell EH, Beecham GW, Wang L, Züchner S, Konidari I, Wang G, Singer C, Nahab F, Scott B, Stajich JM, Pericak-Vance M, Haines J, Vance JM, Martin ER. Genome-wide association study confirms SNPs in SNCA and the MAPT region as common risk factors for Parkinson disease. *Ann Hum Genet* 2010; 74(2):97-109.
12. Elbaz A, Ross OA, Ioannidis JP, Soto-Ortolaza AI, et al. Independent and joint effects of the MAPT and SNCA genes in Parkinson disease. *Ann Neurol*. 2011; 69(5): 778-792.
13. Emelyanov A, Kulabukhova D, Garaeva L, Senkevich K, Verbitskaya E, Nikolaev M, Andoskin P, Kopytova A, Milyukhina I, Yakimovskii A, Timofeeva A, Prakhova L, Ilves A, Vlasova I, Pchelina S. SNCA variants and alpha-synuclein level in CD45+ blood cells in Parkinson's disease. *J Neurol Sci*. 2018; 395: 135-140.
14. Fang J, Hou B, Liu H, Zhang X, Wang J, Zhou C, Xie A. Association between SNCA rs2736990 polymorphism and Parkinson's disease: a meta-analysis. *Neurosci Lett*. 2017; 658: 102-107
15. Hartl DL, Clark AG. *Princípios de Genética de Populações*. 4ª edição. Artmed, Porto Alegre, 660 pp, 2010.
16. Heilbron K, Noyce AJ, Fontanillas P, Alipanahi B, Nalls MA; 23andMe Research Team, Cannon P. The Parkinson's phenome-traits associated with Parkinson's disease in a broadly phenotyped cohort. *NPJ Parkinsons Dis* 2019; 5: 4. doi: 10.1038/s41531-019-0077-5.
17. Janeczek P, Lewohl JM. O papel da α - sinucleína na fisiopatologia do alcoolismo. *Neurochem Internat* 2013; 63 (3): 154-162.
18. Jian CD, Huang JM, Meng LQ, Li XB, Huang RY, Shi SL, Wu Y, Qin C, Chen J, Zhang YM, Wang S, Feng YL, Zhou SN. SNCA rs3822086 C>T Polymorphism Increases the Susceptibility to Parkinson's Disease in a Chinese Han Population. *Genet Test Mol Biomarkers* 2015; 19(9): 481-487.
19. Liu R, Guo X, Park Y, Huang X, Sinha R, Freedman ND, Hollenbeck AR, Blair A, Chen H. Caffeine intake, smoking, and risk of Parkinson disease in men and women. *Am J Epidemiol*. 2012; 175(11): 1200-1207.
20. Liu X, Zhu R, Xiao T, Li Q, Zhu Y, He Z. An updated analysis with 45,078 subjects confirms the association between SNCA rs11931074 and Parkinson's disease. *Neurol Sci* 2018; 39(12):2061-2069.

21. Lunati, A.; Lesage, S.; Brice, A. The genetic landscape of Parkinson's disease. *Rev Neuro* 2018; 174(9): 628-643.
22. Miyake Y, Tanaka K, Fukushima W, Kiyohara C, Sasaki S, Tsuboi Y, Yamada T, Oeda T, et al. Fukuoka Kinki Parkinson's Disease Study Group. SNCA polymorphisms, smoking, and sporadic Parkinson's disease in Japanese. *Parkinsonism Relat Disord*. 2012; 18(5): 557-561.
23. Moisan F, Kab S, Mohamed F, Canonico M, Le Guern M, Quintin C, Carcaillon L, Nicolau J, Duport N, Singh-Manoux A, Boussac-Zarebska M, Elbaz A. Parkinson disease male-to-female ratios increase with age: French nationwide study and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016; 87(9): 952-957.
24. Pandey S, Tomar LR, Kumar S, Dinesh S, Thelma BK. Expanding the canvas of PRKN mutations in familial and early-onset Parkinson disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2019; 66: 216-219.
25. Rahimi M et al. Genetic analysis of SNCA gene polymorphisms in Parkinson's disease in an Iranian population. *Basal Ganglia* 2017; 10: 4-7.
26. Ross OA, Gosal D, Stone JT, Lincoln SJ, Heckman MG, Irvine GB, Johnston JA, Gibson JM, Farrer MJ, Lynch T. Familial genes in sporadic disease: common variants of alpha-synuclein gene associate with Parkinson's disease. *Mech Ageing Dev*. 2007; 128(5-6): 378-382.
27. Santos LG. Seleção Genômica em Populações. [Tese de Doutorado]. Viçosa, ES. Universidade Federal de Viçosa, 2011.
28. Shihabuddin LS, Brundin P, Greenamyre JT, Stephenson D, Sardi SP. New Frontiers in Parkinson's Disease: From Genetics to the Clinic. *J Neurosci* 2018; 38(44): 9375-9382
29. Siddiqui IJ, Pervaiz N, Abbasi AA. The Parkinson Disease gene SNCA: Evolutionary and structural insights with pathological implication. *Scientific Reports* 2016; 6: 24475- 24479.
30. Simon-Sanchez J et al. Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat Genet* 2009; 41(12): 1308-1312.
31. Tagliaferro L. et al. Genetic analysis of SNCA 3'UTR and its corresponding miRNAs in relation to Parkinson's compared to Dementia with Lewy Bodies. *Alzheimer's & dementia: J Alzheimer's Ass* 2017; 13(11): 1237-1242.
32. Trotta L, Guella I, Soldà G, Sironi F, Tesei S, Canesi M, Pezzoli G, Goldwurm S, Duga S, Asselta R. SNCA and MAPT genes: Independent and joint effects in Parkinson disease in the Italian population. *Parkinsonism Relat Disord*. 2012; 18(3): 257-62.
33. Zhang Y, Shu L, Sun Q, Pan H, Guo J, Tang B. A Comprehensive Analysis of the Association Between SNCA Polymorphisms and the Risk of Parkinson's Disease. *Front Mol Neurosci* 2018; 11:391.