



UNIVERSIDADE FEDERAL DO DELTA DO PARNAÍBA
COORDENAÇÃO DE BIOMEDICINA
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO
BACHARELADO EM BIOMEDICINA

JOSÉ HUMBERTO DA CUNHA

**ESTUDO DAS VARIAÇÕES GENÉTICAS RELACIONADAS AO ALCOOLISMO NA
POPULAÇÃO BRASILEIRA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PARNAÍBA
2021

JOSÉ HUMBERTO DA CUNHA

**ESTUDO DAS VARIAÇÕES GENÉTICAS RELACIONADAS AO ALCOOLISMO NA
POPULAÇÃO BRASILEIRA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Biomedicina, da Coordenação em
Biomedicina, da Universidade Federal do Delta do
Parnaíba.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Canalle
Co-orientador: Me. Francisco Carlos da Silva
Junior.

**PARNAÍBA
2021**

JOSÉ HUMBERTO DA CUNHA

**ESTUDO DAS VARIAÇÕES GENÉTICAS RELACIONADAS AO ALCOOLISMO NA
POPULAÇÃO BRASILEIRA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Aprovada em 24/11/2021

BANCA EXAMINADORA:



Profa. Dra. Renata Canalle (Orientadora)
Universidade Federal do Delta do Parnaíba



Prof. Francisco Carlos da Silva Junior (Coorientador)
Universidade Federal do Rio Grande do Norte



Prof. Dr. Aparecido Divino da Cruz
Pontifícia Universidade Católica de Goiás



Profa. Dra. France Keiko Nascimento Yoshioka
Universidade Federal do Delta do Parnaíba

PARNAÍBA
2021

Dedico este trabalho à minha falecida mãe Adriana, pelos momentos de saudades do amor materno e ao meu pai Fernando, pelo apoio e perseverança da realização dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Em primeira instância, agradeço ao meu pai **Fernando** por dar a mim o apoio financeiro e emocional, mantendo a perseverança por todos os anos da minha vida que eu me dediquei nos estudos, principalmente, no ingresso à Universidade Federal do Delta do Parnaíba.

Agradeço o acolhimento recebido pela população acadêmica e parnaibana, pelas amizades que eu fiz e que eu quero sempre manter o contato do nosso grupo BDPL, constituídos por: **Clara, Edmara, Eduarda, Julyanne, Luana, Hélio e Thais**. Da mesma forma, agradeço aos meus amigos: **Hemilly, Nandy, Paloma, Renata, Ruan e Thalita**.

Agradeço aos meus professores pelos serviços e dedicação total à docência pela formação de novas gerações de biomédicos qualificados e competentes, em especial aos meus professores e amigos: **Anna Carolina e Gustavo**.

Aos meus amigos de pós-graduação em genética, **Thomaz e Hoanna** pela amizade que se fortaleceu no período de pandemia, pelos conselhos que foram dados, orações, e ajuda nas dificuldades que eu encontrei para a realização desse trabalho. E que sem a ajuda de vocês eu não conseguiria compreender a dimensão e a importância do estudo desse trabalho.

Aos membros da **Liga Acadêmica de Genética**, por todo o respeito, confiança e elaboração de minhas ideias para contribuir em eventos, atividades virtuais e presenciais, principalmente, a permissão de todos por eu usar a Arte em prol da divulgação científica, explorando a minha criatividade, aprendizado e conquistando os bons momentos de risadas.

Aos meus familiares, por toda a atenção e ajuda pelas minhas viagens interestaduais em rodoviárias e aeroportos nos cursos de genética e a volta para casa, em especial: **Ana, Éverton, Silvana e Vanessa**.

Aos meus queridos primos e primas, **Arielle, Italo e Pedro** da família Canevari pela companhia familiar e o apoio dessa trajetória ao longo da minha graduação o que reforçou o quanto vocês são especiais na minha vida, assim como, eu dedico aos meus primos e primas da família Fernandes da Cunha: **Diego, Evandro, Eliton, Elaisy, Eliezer e Mariana**, pelas boas risadas, conselhos e aprendizados e encontros familiares que fizeram parte nos momentos difíceis que eu enfrentei.

Ademais, um agradecimento exclusivo a Profa. Dra. **Ariana Ferreira**, pela carreira de excelência e méritos como pesquisadora e inspiração da família.

Um agradecimento exclusivo também à minha orientadora Profa. Dra. **Renata Canalle**, por confiar no meu potencial de realizar bons trabalhos, pela sabedoria com que me guiou nesta trajetória da graduação, pela simpatia que me conquistou de uma interiorana do estado de São Paulo. E eu me recordo que desde a primeira aula de genética básica eu

senti que nós poderíamos realizar grandes feitos dentro da pesquisa em genética humana e médica e, depois de anos aqui está a prova desse trabalho que juntos vencemos. Muito obrigado pela parceria e dedicação!

Ao meu coorientador Me. **Francisco Carlos**, pela sua disponibilidade e dedicação exclusiva desde o início desse trabalho e no auxílio de sua sabedoria a compreender a importância da pesquisa, e por apresentar as possibilidades da realização desse trabalho até o último ponto final da escrita.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. **Aparecido Divino da Cruz** e Profa. Dra. **France Keiko Nascimento Yoshioka** pela gentileza e disponibilidade em realizar a leitura desse trabalho com as suas contribuições pertinentes e relevantes.

Ao Centro Espírita Caridade e Fé, pelo conhecimento e conforto emocional.

Enfim, minha falecida mãe **Adriana**, que mesmo em sua ausência eu ainda sinto o seu amor materno e seu legado que deixou para o seu filho.

*“No inferno os lugares mais quentes são reservados
àqueles que escolheram a neutralidade em tempo
de crise”*

Divina Comédia, uma obra de Dante Alighieri

RESUMO

O alcoolismo é uma doença que abrange todas as classes sociais e sem restrições de idades para o início do hábito em ingerir bebidas alcoólicas. O uso do álcool de forma exagerada e ao longo do tempo compromete a saúde por um conjunto de fenômenos comportamentais, cognitivos e fisiológicos. O Brasil tem um aumento do consumo abusivo de bebidas alcoólicas sendo 30% das internações hospitalares de pacientes com dependência alcoólica (DA). A variação individual na DA está relacionada a fatores de risco genéticos, e essa arquitetura genética de susceptibilidade a DA pode ser definida como (1) o número de genes envolvidos, (2) a variação interindividual nesses genes, e (3) a magnitude e natureza dos seus efeitos genéticos específicos. Uma porção de 17 genes estão relacionadas com o metabolismo alcoólico, e esses genes são classificadas por genes do metabolismo, gene de proteína de transmembrana, gene do reparo de DNA, genes dos neurotransmissores sinápticos. O objetivo do trabalho é verificar a susceptibilidade genética de genes do alcoolismo e a prevalência na população brasileira no desenvolvimento da etiologia de DA e responder a questão central desse trabalho “*Existe susceptibilidade genética à dependência do álcool na população brasileira?*”, e com isso também, trazer uma reflexão para estratégias de medidas de políticas públicas de saúde no país e orientar os futuros estudos de variações genéticas de uma população alcoolista. A revisão sistemática (RS) colabora com essa estratégia de estudo em resumir as evidências científicas por meio de bancos de dados, seguindo uma metodologia por meio de protocolo desenhado para limitar o estudo e identificar as pesquisas de genes associados ao alcoolismo na população brasileira. A busca de artigos por meio de bancos de dados resultou em um total de 2.229 artigos, em seguida 158 duplicatas foram removidas e 1.942 artigos excluídos. E 129 artigos foram avaliados por critérios de elegibilidade sendo removidos, em seguida, 114 artigos após essa avaliação. Esse trabalho avaliou criteriosamente 15 artigos e uma dissertação dentro dos critérios elaborados pelo protocolo da RS. Os resultados abrangem quatro estados brasileiros com populações alcoolista, e os genes estudados, são eles: Piauí, Goiás, São Paulo e Rio Grande do Sul. Sendo que cinco genes têm risco aumentado para o alcoolismo quando comparados com o grupo controle, enquanto, três genes têm fator de proteção. A metanálise foi realizada com três trabalhos incluídos na RS do gene de metabolismo *GSTP1* polimorfismo rs1695 e sugere que pelo gráfico de *forest plot* dos modelos de comparação de genótipos não demonstrou significância estatística, o qual, o polimorfismo (Val) não tem o papel significativo na susceptibilidade ao alcoolismo na população brasileira. Esse trabalho conclui na importância de investigar o peso das evidências no que diz respeito as variações genéticas associadas com o uso abusivo do álcool no Brasil.

Palavras-chave: Abuso de álcool. Dependência alcoólica. Susceptibilidade genética. População brasileira. Revisão sistemática.

ABSTRACT

Alcoholism is a disease that encompasses all social classes and has no age restrictions for the onset of the habit of drinking alcoholic beverages. The excessive use of alcohol and over time compromises health through a set of behavioral, cognitive and physiological phenomena. Brazil has an increase in the abusive consumption of alcoholic beverages, with 30% of hospital admissions of patients with alcohol dependence (AD). Individual variation in AD is related to genetic risk factors, and this genetic architecture of AD susceptibility can be defined as (1) the number of genes involved, (2) the inter-individual variation in these genes, and (3) the magnitude and nature of its specific genetic effects. A portion of 17 genes are related to alcohol metabolism, and these genes are classified by metabolism genes, transmembrane protein gene, DNA repair gene, synaptic neurotransmitter genes. The objective of the work is to verify the genetic susceptibility of alcoholism genes and the prevalence in the Brazilian population in the development of the AD etiology and to answer the central question of this work "Is there a genetic susceptibility to alcohol dependence in the Brazilian population?", and with that too, to bring a reflection to measures strategies for public health policies in the country and to guide future studies of genetic variations in an alcoholic population. The systematic review (SR) collaborates with this study strategy by summarizing the scientific evidence through databases, following a methodology through a protocol designed to limit the study and identify research on genes associated with alcoholism in the Brazilian population. Searching articles through databases resulted in a total of 2,229 articles, then 158 duplicates were removed and 1,942 articles excluded. And 129 articles were evaluated by eligibility criteria being removed, then 114 articles after that evaluation. This work carefully evaluated 15 articles and a dissertation within the criteria elaborated by the RS protocol. The results cover four Brazilian states with alcoholic populations, and the genes studied are: Piauí, Goiás, São Paulo and Rio Grande do Sul. Five genes have an increased risk for alcoholism when compared to the control group, while three genes have a protective factor. The meta-analysis was performed with three works included in the RS of the GSTP1 metabolism gene rs1695 polymorphism and suggests that the forest plot graph of the genotype comparison models did not demonstrate statistical significance, which the polymorphism (Val) does not play a significant role in for susceptibility to alcoholism in the Brazilian population. This work concludes on the importance of investigating the weight of evidence regarding the genetic variations associated with the abusive use of alcohol in Brazil.

Keywords: Alcohol abuse. Alcohol addiction. Genetic susceptibility. Brazilian population. Systematic review.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática das vias de metabolização do etanol e formação de acetaldeído.....	22
Figura 2: Anormalidades hepáticas, nutricional e metabólica após o uso abusivo de etanol.....	23
Figura 3: Representação esquemática da influência dos fatores que conferem susceptibilidade no processo de carcinogênese ambiental ou no aparecimento de doenças.....	26
Figura 4: Representação estrutural do locus <i>CYP1A</i>	28
Figura 5: Mapa do citocromo P450 2E1 (<i>CYP2E1</i>) no cromossomo 10 e os marcadores digitados.....	29
Figura 6: Localização estrutural do <i>cluster</i> gênico de 100kb que codifica para a subfamília GST u (cromossomo 1p13.3)	31
Figura 7: Localização estrutural da alteração do sítio de reconhecimento de enzimas de restrição que codifica o SNP para a subfamília GST pi (cromossomo 11q13).....	32
Figura 8: Localização estrutural do <i>cluster</i> gênico que codifica para a subfamília GST teta (cromossomo 22q11.10).....	33
Figura 9: Fluxograma do processo de seleção da revisão sistemática dos estudos brasileiros referentes aos genes associados à dependência alcoólica	477

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Composição de genes associados à dependência alcoólica por estados brasileiros.....	533
Gráfico 2: Número de artigos incluídos para cada estado brasileiro	544
Gráfico 3: Número de artigos incluídos para cada gene associado à dependência alcoólica	55
Gráfico 4: Gráfico de floresta com comparações genotípicas e alélica dos estudos do polimorfismo rs1695 do gene <i>GSTP1</i>	85
Gráfico 5: Gráfico de assimetria em funil com comparações genotípicas e alélica do polimorfismo rs1695 do gene <i>GSTP1</i>	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Visão geral dos estudos.....	500
Tabela 2: Análise dos polimorfismos das características genéticas investigadas dos estudos incluídos.....	522
Tabela 3: Testes estatísticos utilizados nos estudos incluídos	577
Tabela 4: Composição de características clínicas e sociodemográficas relacionadas ao alcoolismo na população brasileira.....	600
Tabela 5: Distribuição geral das frequências alélicas dos estudos incluídos.....	655
Tabela 6: Distribuição geral das frequências genótípicas dos estudos incluídos.....	74
Tabela 7: A interpretação dos resultados de genes associados ao alcoolismo na população brasileira.....	80
Tabela 8: Avaliação da confiabilidade dos estudos caso-controle da revisão sistemática	82

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

- 5-HTTLPR** – Região promotora ligada ao transportador de serotonina
- ADH** – Álcool desidrogenase
- ADH** – Álcool desidrogenase
- ALD** – Doenças hepática alcoólica (*Alcoholic liver disease*)
- ALDH** – Aldeído desidrogenase
- ALDH** – Aldeído desidrogenase
- AUD** – Transtorno do usuário de álcool (*Alcohol user disorder*)
- BER** – Reparo por excisão de bases (*Base excision repair*)
- CFTR** – Regulador de condutância transmembrana de fibrose cística
- CID** – Classificação Internacional de Doença
- CYP** – Citocromo P450
- CYP1A1** – Citocromo P450 1A1
- CYP2E1** – Citocromo P450 2E1
- DA** – Dependência do álcool
- DBH** – Dopamina beta-hidroxilase
- DRD2** – Receptor de dopamina D2
- DRD4** – Receptor de dopamina D4
- GST** – Glutaciona S-transferase
- GSTM1** – Glutaciona S-transferase M1
- GSTP1** – Glutaciona S-transferase P1
- GSTT1** – Glutaciona S-transferase T1
- HTR1B** – Receptor de 5-hidroxitriptamina 1B
- HTR2A** – Receptor de 5-hidroxitriptamina 2A
- HWE** – Equilíbrio de Hardy-Weinberg (*Hardy-Weinberg equilibrium*)
- IC** – Intervalo de confiança
- MAOA** – Monoamina oxidase
- MEOS** – Sistema microsomal de oxidação do álcool
- MeSH** – Títulos de assuntos médicos (*Medical Subject Headings*)
- MI** – Média das idades
- NAD** – Nicotinamida adenina dinucleótido (*Nicotinamide adenine dinucleotide*)
- NATs** – N-acetiltansferases
- NIH** – Instituto Nacional do Coração, Pulmão e Sangue (*National Heart, Lung and Blood Institute*)
- NNK** – 4-metilnitrosamino-1-3 piridil-butanona
- OMS** – Organização Mundial da Saúde
- OR** – Razão de chances (*Odds ratio*)
- PAHs** – Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (*Polycyclic aromatic hydrocarbons*)
- PCR** – Reação em cadeia da polimerase (*Polymerase chain reaction*)
- PCR-Multiplex** – Multiplex da reação em cadeia da polimerase (*Multiplex – polymerase chain reaction*)
- PCR-RFLP** – Reação em cadeia da polimerase - polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição (*Polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism*)

PICO – População, intervenção, comparação e resultado

PRISMA – Item de relatório preferido para revisão sistemática e meta-análise (*Preferred report item for systematic review and meta-analysis*)

PROSPERO – Registro prospecto internacional de revisões sistemáticas (*International prospectus registry of systematic reviews*)

q-PCR –Reação em cadeia da polimerase quantitativa (*Quantitative polymerase chain reaction*)

ROS – Espécies reativas do oxigênio (*Reactive oxygen species*)

RS – Revisão sistemática

SLC6A3 e DAT – Transportador de dopamina

SNP – Polimorfismos de nucleotídeo único (*Single nucleotide polymorphism*)

TDAH – Transtorno de conduta e hiperatividade do déficit de atenção

uVNTR – Repetição tandem de número variável de upstream (*Upstream variable number tandem repeat*)

XRCC1 – Complementação cruzada de reparo de raio-x 1 (*X-Ray Repair Cross Complementing Family*)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS A RESPEITO DO ÁLCOOL	20
2.1.1 O metabolismo do álcool	21
2.1.2 O efeito do álcool no fígado e no pâncreas.....	23
2.2 GENES DO METABOLISMO.....	26
2.2.1 Enzimas metabolizadoras de fase I.....	26
2.2.2 Citocromo P450 1A1 (<i>CYP1A1</i>).....	27
2.2.3 Citocromo P450 2E1 (<i>CYP2E1</i>).....	28
2.2.4 Enzimas metabolizadoras de fase II.....	30
2.2.5 Glutathione S-transferase M1 (<i>GSTM1</i>)	30
2.2.6 Glutathione S-transferase P1 (<i>GSTP1</i>).....	31
2.2.7 Glutathione S-transferase T1 (<i>GSTT1</i>)	32
2.2.8 Álcool desidrogenase (<i>ADH</i>) e aldeído desidrogenase (<i>ALDH</i>).....	34
2.3 GENE DE PROTEÍNA DE TRANSMEMBRANA	34
2.3.1 Regulador de condutância transmembrana de fibrose cística (<i>CFTR</i>).....	34
2.4. GENE DO REPARO DO DNA.....	35
2.4.1 Complementação cruzada de reparo de raio-x 1 (<i>XRCC1</i>).....	35
2.5 GENES DOS NEUROTRANSMISSORES SINÁPTICOS	36
2.6 ESTUDO QUALITATIVO POR REVISÃO SISTEMÁTICA.....	39
2.7 ESTUDO QUANTITATIVO POR METANÁLISE.....	39

2.8 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	40
3 OBJETIVOS.....	41
3.1 OBJETIVO GERAL.....	41
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	41
4 METODOLOGIA	42
4.1 PROTOCOLO.....	42
4.2 ESTRATÉGIA DE PESQUISA E BANCOS DE DADOS	42
4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	43
4.4 EXTRAÇÃO DE DADOS	43
4.5 AVALIAÇÃO DA CONFIABILIDADE DO ESTUDO.....	44
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA (METANÁLISE)	44
4.7 FIGURAS E GRÁFICOS.....	45
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1 PROCESSO DE SELEÇÃO DOS ESTUDOS INCLUÍDOS BASEADO NO FLUXOGRAMA PRISMA	46
5.2 VISÃO GERAL DOS ESTUDOS INCLUÍDOS	48
5.3 OBSERVAÇÃO DE GENES INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA.....	50
5.4 ANÁLISE DEMOGRÁFICA BRASILEIRA DOS GENES INCLUÍDOS	52
5.5 PREVALÊNCIA DOS GENES ESTUDADOS ASSOCIADO AO TRANSTORNO DO ABUSO DE ÁLCOOL.....	54
5.6 TESTES ESTATÍSTICOS UTILIZADOS NOS ESTUDOS INCLUÍDOS	55
5.7 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E SOCIODEMOGRÁFICAS CONSIDERADAS NA REVISÃO SISTEMÁTICA	57
5.8 ANÁLISE DOS DADOS DA FREQUÊNCIA ALÉLICA DOS ESTUDOS INCLUÍDOS	61

5.8.1 Análise e discussão da significância estatística dos alelos	62
5.9 ANÁLISE DOS DADOS DA FREQUÊNCIA GENOTÍPICA DOS ESTUDOS INCLUÍDOS	68
5.9.1 Análise e discussão da significância estatística dos genótipos.....	68
5.10 OS PRINCIPAIS RESULTADOS DOS ESTUDOS DA REVISÃO SISTEMÁTICA	77
5.11 AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS DA REVISÃO SISTEMÁTICA.....	81
5.12 POLIMORFISMO <i>GSTP1</i> ILE > VAL (rs1695) (METANÁLISE).....	83
6 CONCLUSÃO.....	87
REFERÊNCIAS	88

1 INTRODUÇÃO

A dependência do álcool (DA) é definida por um conjunto de fenômenos antropológicos, culturais, comportamentais, cognitivos e fisiológicos que ao longo do tempo afetam o desejo de consumo e dificultam o controle do consumo de álcool (DSM-V, 2014; OMS, 1992), tem como uma de suas causas, fatores como riscos genéticos que envolvem vários genes associados ao metabolismo do álcool (CLARK, 2006; RAMOZ, 2006).

A DA é uma doença que abrange todas as classes sociais e sem restrições de idades para o início do hábito em ingerir bebidas alcoólicas. O uso de forma exagerada compromete a saúde o que pode acarretar uma variedade de patologias associadas à DA, tais como: cirrose hepática, pancreatite aguda e crônica, doenças cardiovasculares e disfunções fisiológicas e neurológicas (MAFFEI, 2002).

O Brasil é uma população multiétnica e intercultural que faz com que o hábito do uso de bebidas alcoólicas seja comum em grande parte do país. Assim como no mundo, o Brasil tem um aumento do consumo abusivo de bebidas alcoólicas, ou seja, cerca de 30% das internações hospitalares são de pacientes com DA e patologias associadas (CLARK, 2006; RAMOZ, 2006).

Uma fração de genes estão relacionadas ao metabolismo alcoólico e que desempenham um papel importante na dependência do álcool, e esses genes são responsáveis por apenas uma pequena proporção da variação genética (HARTZ; BIERUT, 2010; HUANG, 2010; OSBY, 2010). Dessa forma, o estudo da susceptibilidade genética na população brasileira é plausível e deve ser realizado para gerar dados úteis na proposição de medidas e estratégias de saúde pública, que visem o controle do consumo abusivo do álcool.

Os genes associados ao alcoolismo são classificados por (1) genes do metabolismo, o que incluem as enzimas metabolizadoras de fase I (GATTAS, 2005; LEWIS, 1998) e as enzimas metabolizadoras de fase II (HOMRICH, 2006; LANDI, 2000), (2) gene de proteína de transmembrana (LYON, 2003), (3) genes do reparo do DNA (MAFFEI, 2000; BLASIAK et al., 2000), (4) genes dos neurotransmissores sinápticos (SABOL, 1998; CRAIG, 1998; MIGNONE, 2002; NOBLE, 2000; PAREDES, 2013; PARSONS, 2004; SUN, 2002; HEILS, 1996). Sendo assim, permite o estudo da

susceptibilidade genética do alcoolismo e das frequências alélicas e genotípicas na população brasileira sob a ferramenta da revisão sistemática e metanálise.

A revisão sistemática (RS) segue critérios rigorosos em buscas de evidências científicas. No presente estudo, RS foi usada para avaliar a evidência de associação entre as variantes polimórficas e a susceptibilidade humana à DA (LIBERATI, 2009; HIGGINS, 2011; ROEVER; ZOCCAI, 2015; GREEN, 2005). Os resultados dos artigos incluídos na RS foram submetidos à metanálise para estimar o tamanho do efeito de um mesmo polimorfismo no consumo de álcool entre usuários frequentes e seus controles.

Desse modo, destaca-se a necessidade de avaliar os genes associados à DA na população brasileira verificando a susceptibilidade genética. Nesse contexto, o trabalho se propôs a identificar os estudos no Brasil por meio da revisão sistemática, compreender os dados dos resultados dessas pesquisas, produzir estimativas quantitativas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS A RESPEITO DO ÁLCOOL

A dependência do álcool (DA), reconhecida pelo seu consumo crônico geralmente refere como síndrome de dependência do álcool, é definida por um conjunto de fenômenos comportamentais, cognitivos e fisiológicos que se desenvolvem após repetido uso e que normalmente incluem: um forte desejo de consumo, dificuldades em controlar a quantidade ingerida e a frequência de ingestão, persistência em seu uso apesar das consequências nefastas, maior prioridade ao consumo que para outras atividades e obrigações, maior tolerância e a ocorrência de sinais fisiológicos de abstinência. Já o uso abusivo ou uso nocivo para a saúde, compreende um modo de consumo caracterizado pelas complicações físicas e/ou psíquicas (DSM-V, 2014; OMS, 1992).

Os critérios de diagnóstico atuais são baseados na Classificação Internacional de Doenças (CID-10) da Organização Mundial da Saúde (OMS), e no Manual de Diagnóstico e Estatística de Distúrbios Mentais da Associação Norte-Americana de Psiquiatria (DSM-V; Associação Americana de Psiquiatria, 2014; DOTTO-BAU, 2002).

A variação individual na DA está relacionada a fatores de risco genéticos, e essa arquitetura genética de susceptibilidade a DA pode ser definida como (1) o número de genes envolvidos direta ou indiretamente, (2) a variação interindividual nesses genes, e (3) a magnitude e natureza dos seus efeitos genéticos específicos. Vários genes podem influenciar o início do uso do álcool, o seu metabolismo e propriedades de reforço, de formas diferentes, essa variabilidade genética associada a fatores ambientais e sociais podem contribuir para o aumento da suscetibilidade a propriedades tóxicas, psicoativas e a dependência em alguns grupos e indivíduos suscetíveis (OMS, 2014; CLARK, 2006; RAMOZ, 2006).

O uso abusivo de bebidas alcoólicas tem crescido no mundo todo, inclusive no Brasil. Cerca de 30% das internações hospitalares ocorrem devido ao consumo excessivo de álcool. O consumo abusivo de álcool é uma doença que não tem restrições à classe social nem idade de início do hábito de beber. O abuso de álcool leva a uma variedade de problemas de saúde incluindo cirrose hepática, pancreatite

aguda e crônica, doenças cardiovasculares e disfunções fisiológicas e neurológicas (MAFFEI, 2002).

Nesse sentido, o Brasil oferece uma boa oportunidade para estudos de associação entre alcoolistas porque, ao contrário dos homens, a maioria das mulheres brasileiras, principalmente as maiores de 35 anos, não tem o hábito de consumir álcool, exceto socialmente. De fato, um estudo populacional envolvendo 24 cidades brasileiras com mais de 200.000 habitantes revelou que 8% dos homens bebem álcool regularmente (três a quatro vezes por semana) e apenas 1,2% das mulheres têm o mesmo hábito. Além disso, observou-se que cerca de quatro vezes mais homens do que mulheres se tornam dependentes do álcool (BRAZILIAN PSYCHOTROPIC DRUG INFORMATION CENTER, 1999).

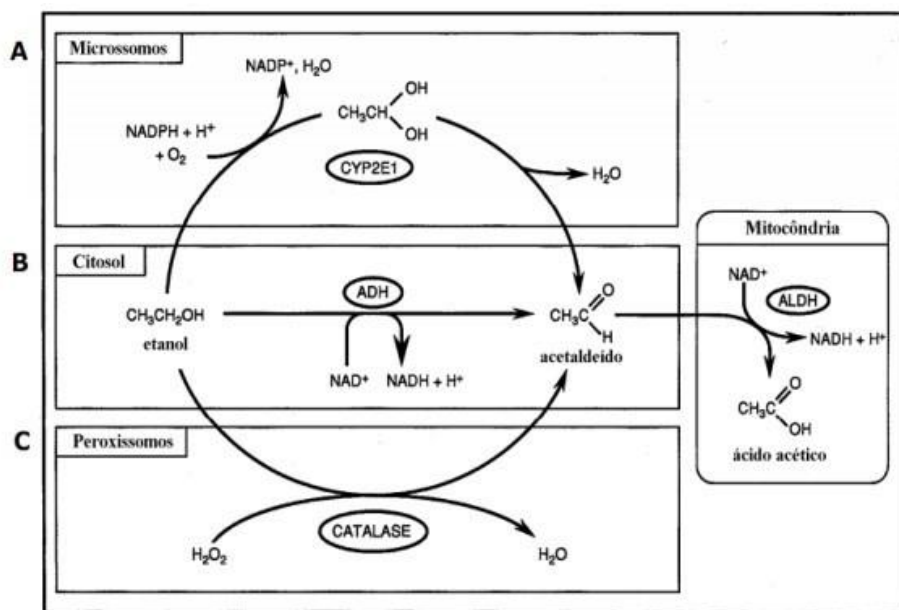
O consumo mundial de álcool em 2010 foi igual a 6,2 litros de álcool puro consumido por pessoa > 15 anos, o mesmo que 13,5 gramas de álcool puro por dia. Em 2012 houve aproximadamente 3,3 milhões de mortes, correspondendo a 5,9% de todas as mortes globais, sendo 7,6% das mortes entre homens e 4% entre mulheres.

Embora haja fortes evidências de que os genes relacionados ao metabolismo do álcool desempenham um papel na dependência do álcool, esses genes são responsáveis por apenas uma pequena proporção da variação genética (HARTZ; BIERUT, 2010; HUANG, 2010; OSBY, 2010). Apesar da falta de resultados robustos em estudos de associação do genoma, a relevância da dependência do álcool na saúde pública exige a consideração individual e analítica de todos os genes candidatos plausíveis. Desta forma, o pequeno tamanho do efeito atribuível aos genes do metabolismo do álcool não significa que eles são irrelevantes na dependência de álcool (CONTINI, 2012).

2.1.1 O metabolismo do álcool

O álcool é metabolizado por várias reações diferentes no fígado, a maioria das quais envolve reações de oxidação/redução (CUNNINGHAN; VAN HORN, 2003). A oxidação do álcool pode ser realizada por meio de três caminhos distintos nos hepatócitos: via desidrogenase alcoólica, que ocorre no citoplasma celular; via sistema microssomal de oxidação do álcool (MEOS) no retículo endoplasmático; ou via catalase nos peroxissomos (ZIMA, 1993) (Figura 1).

Figura 1: Representação esquemática das vias de metabolização do etanol e formação de acetaldeído



Legenda: A: via nos microsossomos (MEOS) mediada pela enzima *CYP2E1*; B: via no citosol mediada pela enzima álcool desidrogenase (*ADH*); C: via catalase nos peroxissomos; D: metabolismo do acetaldeído na mitocôndria mediada pela enzima aldeído desidrogenase (*ALDH*). Fonte: VOGEL, 2007.

Em indivíduos cujo consumo de álcool ocorre em um nível moderado e/ou ocasional, grande parte do álcool ingerido é quebrado principalmente no citoplasma pela enzima álcool desidrogenase (*ADH*). Esta enzima converte o álcool em acetaldeído, altamente tóxico e reativo no tecido hepático, como também pela presença de rubor facial, náuseas, taquicardia entre outros. Durante esta reação, um próton de hidrogênio (H^+) é removido do álcool e transferido para uma molécula chamada NAD , que por sua vez, é reduzida NADH . A NADH participa de várias outras reações metabólicas passando o H para outros compostos e o excesso de NADH na célula tem efeitos danosos em outras células. Subsequentemente, o acetaldeído é convertido em acetato por uma segunda enzima, a aldeído desidrogenase (*ALDH*) (CUNNINGHAM; VAN HORN, 2013).

O MEOS representa um papel importante no metabolismo do álcool, particularmente quando os níveis de consumo são elevados. A principal componente do MEOS é a enzima citocromo P450 2E1 (*CYP2E1*), que, como a *ADH*, converte o álcool em acetaldeído. Esta reação libera um oxigênio e uma molécula reduzida, a NADPH que resulta na formação de NADP e água (LIEBER, 2003). Como bioprodutos destas reações, que são altamente reativas, moléculas contendo oxigênio, chamadas

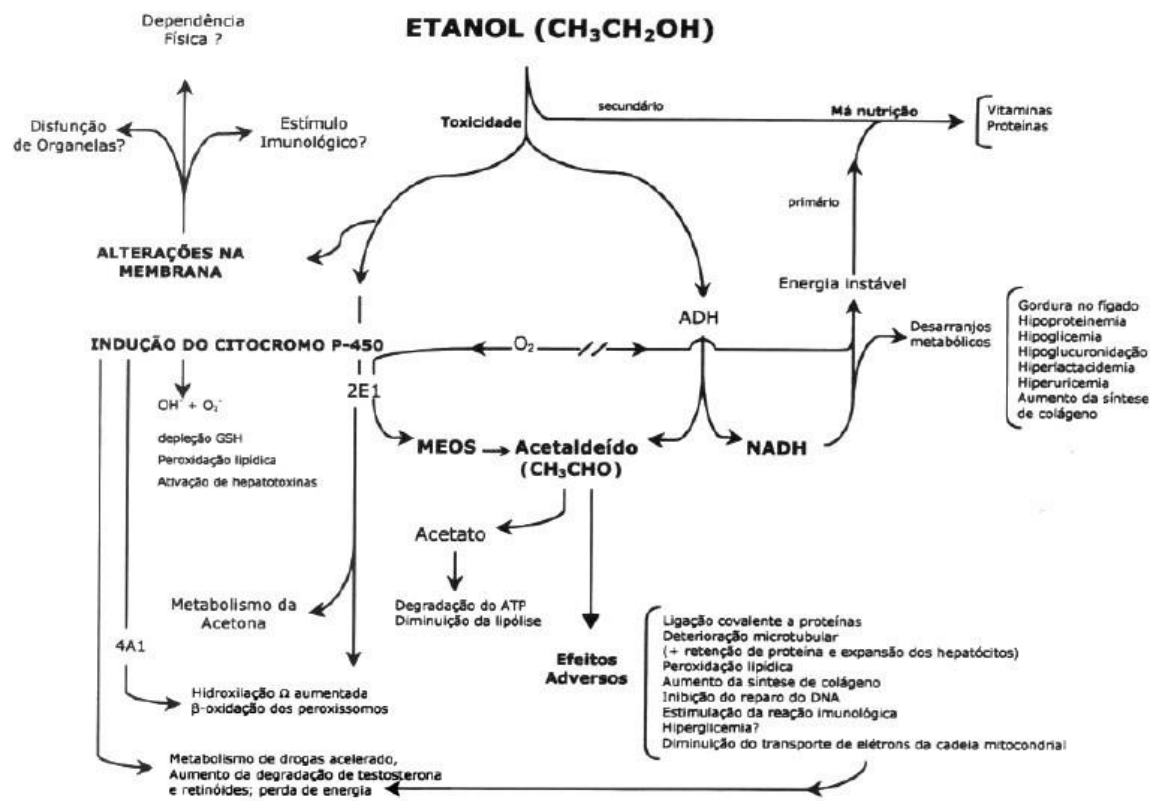
de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio (ROS) são geradas. Estas ROS contribuem para danos no fígado por meio de uma variedade de mecanismos (WU; CEDERBAU, 2003).

Apesar da taxa na qual a ADH quebra o álcool geralmente permanecer a mesma, a atividade do MEOS pode ser aumentada (induzida) pelo consumo de álcool (LIEBER, 2003).

2.1.2 O efeito do álcool no fígado e no pâncreas

Após a ingestão de álcool somente 2 a 10% do total absorvido é eliminado pelos rins, o restante é oxidado, principalmente no fígado (LIEBER, 1997). O etanol é capaz de provocar mudanças notáveis no fígado, e estes efeitos estão relacionados ao metabolismo do etanol (Figura 2).

Figura 2: Anormalidades hepáticas, nutricional e metabólica após o uso abusivo de etanol



Legenda: A má nutrição, primária ou secundária, pode ser diferenciada por mudanças metabólicas ou toxicidade direta, resultando parcialmente de mudanças mediadas pela ADH ou de efeitos secundários por indução microssomal, ou produção de acetaldeído (Trecho retirado de BURIM, 2002). Figura adaptada de VOGEL, 2007.

Os tipos mais comuns de doença alcoólica de fígado (*Alcoholic Liver Disease* – *ALD*) são o aumento de gordura no fígado, a hepatite alcoólica e a cirrose. Frequentemente, as doenças progridem no indivíduo nessa ordem, mas podem ocorrer simultaneamente (MANN et al, 2003; KIRSH et al, 1995). Evidências sugerem que a ALD pode ser desenvolvida devido a alterações que o álcool provoca no ambiente celular do fígado, iniciando interações anormais entre as células hepáticas (CUNNINGHAM; VAN HORN, 2003).

Aproximadamente 20% dos alcoolistas desenvolvem cirrose hepática. Na cirrose ocorre uma interrupção do fluxo sanguíneo normal no fígado devido ao aparecimento de fibrose nos tecidos hepáticos (MANN et al., 2003). A icterícia e a hepatomegalia estão entre os primeiros sintomas físicos da cirrose (LIEBER, 2001). O avanço da doença provoca a diminuição e endurecimento do fígado, deixando-o com consistência nodular. Graus variados de ascite podem ser encontrados em pacientes com cirrose avançada (MARSANO et al., 2003).

A pancreatite é uma doença que envolve fibrose, atrofia e desaparecimento do parênquima do pâncreas. A pancreatite crônica pode ter várias causas, mas a mais comum nos países ocidentais é o consumo pesado de bebidas alcoólicas (LOWENFELS; MAISONNEUVE, 2006). Porém, como no caso da cirrose, nem todos os alcoolistas pesados desenvolvem pancreatite crônica: <1% no Japão e 5% nos Estados Unidos (DRELLING; KOLLER, 1985).

No Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, uma pesquisa realizada em 1997 (CUNHA et al., 1997) concluiu que o alcoolismo é responsável por 93,4% dos casos de pancreatite. As causas restantes foram fatores hereditários (0,7%), deficiências nutricionais (0,5%), alterações metabólicas (0,5%) e obstrução do fluxo pancreático (0,3%).

Outro fator de risco adicional para o desenvolvimento de pancreatite crônica nos alcoolistas é o consumo de tabaco, que pode acelerar o processo inflamatório da pancreatite contribuindo para um futuro desenvolvimento de câncer pancreático (MAISONNEUVE et al., 2006).

2.1.3 Variabilidade interindividual

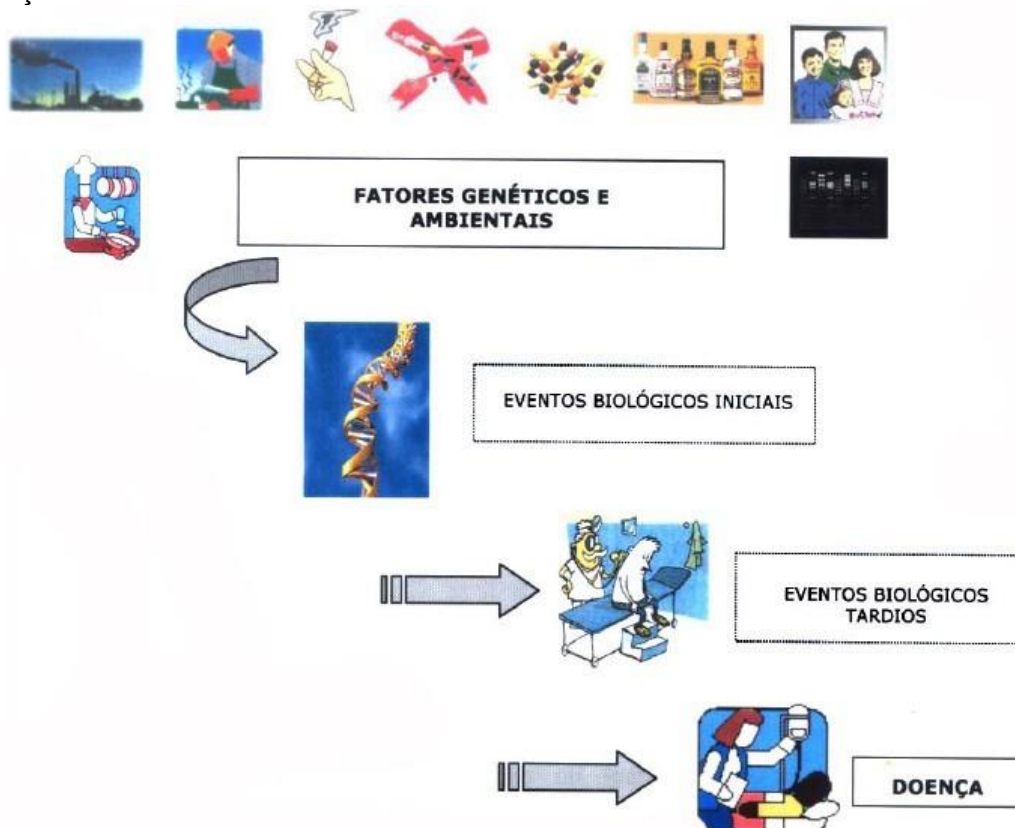
Os polimorfismos genéticos são variações na sequência de DNA. E algumas dessas alterações podem ocorrer em sequências não codificadoras do gene, que na maioria dos casos não terão efeitos em suas funções, enquanto, outras alterações ocorrerão em sequências codificadora, levando à produção de proteínas defeituosas (LODISH, 2002).

A variação de sequência mais comum no genoma humano é a substituição estável de uma única base, o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP, do inglês *single nucleotide polymorphism*). Por definição, um SNP tem uma frequência do alelo menos comum (mutante) $\leq 1\%$ na população (RISCH, 2000). A maioria dos SNPs é "silenciosa" e não altera a função ou expressão de um gene. Faz sentido reservar conceitualmente o termo "mutação" para variantes raras com uma penetrância particularmente alta, geralmente associada a um fenótipo prejudicial, como um distúrbio monogênico clássico (ERICHEN; CHANOCK, 2004).

O objetivo da genômica ambiental é entender como a variabilidade genética influencia nas respostas individuais a estímulos ambientais, baseando-se em que genótipos de alto risco representam chances maiores para o desenvolvimento de doenças (MILLER, 2001).

Contemporaneamente, a população humana está exposta a mais de 70.000 compostos químicos incluindo drogas, aditivos alimentares, herbicidas, pesticidas e agentes industriais (SCHOKET et al., 2001). Estes compostos podem desencadear eventos que são caminhos diretos ou indiretos para o surgimento de várias doenças (BONASSI; AU, 2002) (Figura 3).

Figura 3: Representação esquemática da influência dos fatores que conferem susceptibilidade no processo de carcinogênese ambiental ou no aparecimento de doenças.



Legenda: Iniciando-se com a exposição ambiental, ocupacional, terapêutica ou endógena aliadas ou não ao estilo de vida. Os compostos mutagênicos e carcinogênicos presentes interagem com a molécula de DNA, RNA e proteínas e podem causar lesões que, somadas às possíveis alterações em genes críticos (pré-existent ou não), levam ao desenvolvimento de câncer. Sabe-se que esta via pode ser influenciada por outras condições tais como etnia, sexo, condições socioeconômicas, diferentes áreas geográficas, estado de saúde (doenças crônicas, desnutrição) e ainda por polimorfismos genéticos (Trecho retirado de BURIM, 2002). Figura adaptada de VOGEL, 2007.

Na maior parte desses processos, os estressores ambientais são oxidados para intermediários reativos pelas enzimas metabolizadoras de fase I (ativadoras) enquanto as enzimas metabolizadoras de fase II (detoxificadoras) geralmente mediam a conjugação de moléculas hidrossolúveis a esses intermediários, tornando-os menos reativos (MILLER, 2001).

2.2 GENES DO METABOLISMO

2.2.1 Enzimas metabolizadoras de fase I

As enzimas da superfamília do citocromo P450 (CYP) estão envolvidas na biotransformação de fase I, em que as enzimas microssomais processam a oxidação,

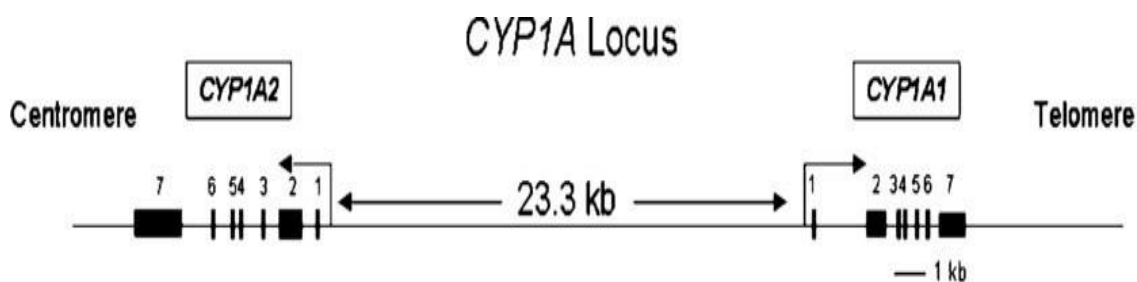
redução ou hidrólise dos compostos, podendo ativar, inativar ou deixar inalteradas suas atividades. Essas enzimas estão envolvidas na metabolização de carcinógenos ambientais como compostos hidrofílicos de baixo peso molecular, benzeno, cloreto de vinila e as nitrosaminas, entre elas NNK (4-metilnitrosamino-1-3 piridil-butanona) encontradas na fumaça do cigarro (GATTÁS, 2005). Em mais de 90% dos casos, os substratos para essa reação são fornecidos pelas isoenzimas do citocromo P450 (CYPs) de metabolização de xenobióticos de fase I. Embora muitos produtos químicos sejam detoxificados por essa rota, alguns compostos, incluindo produtos químicos carcinogênicos, sofrem ativação metabólica para dar origem aos cancerígenos finais (LEWIS, 1998).

A constituição genética parece ter o papel mais importante neste contexto. Um número crescente de genes que codificam enzimas que metabolizam xenobióticos, como as Glutathione S-Transferases (GSTs) e CYPs, tem se mostrado polimórficos (HIRVONEN, 1995). É sabido que a exposição a longo prazo ao etanol induz várias enzimas de metabolização xenobiótica, incluindo CYPs (BUHLER, 1991; TAKASHI, 1993). Como os GSTs e os CYPs são expressos especificamente por zona e são induzidos pela exposição ao etanol, um desequilíbrio entre essas enzimas em determinadas áreas do fígado ou do pâncreas pode ter um efeito tóxico (STANDOP, 2002). Aproximadamente 58 genes codificam para enzimas CYP (INGELMAN-SUNDBERG, 2001), sendo que, cerca de 20 deles estão envolvidos na codificação de enzimas que metabolizam compostos exógenos (KJAERHEIN, 1998).

2.2.2 Citocromo P450 1A1 (CYP1A1)

O polimorfismo *MspI* localizado na região 3' franqueadora do gene *CYP1A1* foi originalmente encontrado associado ao câncer de pulmão em asiáticos (KAWAJIRI, 1990) mas não em caucasianos (TEFRE, 1991). A região do gene foi identificada usando uma modificação de uma abordagem PCR-RFLP (CARTENSEN, 1993). O locus *CYP1A1* que está representada na figura 4, é uma isoenzima que catalisa a bioativação de promutágenos e procarcinógenos (GUENGERICH; SHIMADA, 1991), é um candidato a gene de susceptibilidade para cânceres do trato aerodigestivo superior segundo estudos em doenças associadas ao consumo de álcool e tabaco (MATTHIAS, 1998), indicando a importância da investigação da suscetibilidade hereditária a doenças causadas pela exposição a xenobióticos como o etanol (KAWAJIRI, 1990).

Figura 4: Representação estrutural do locus *CYP1A*



Fonte: figura adaptada de GALIJATOVIC, 2004.

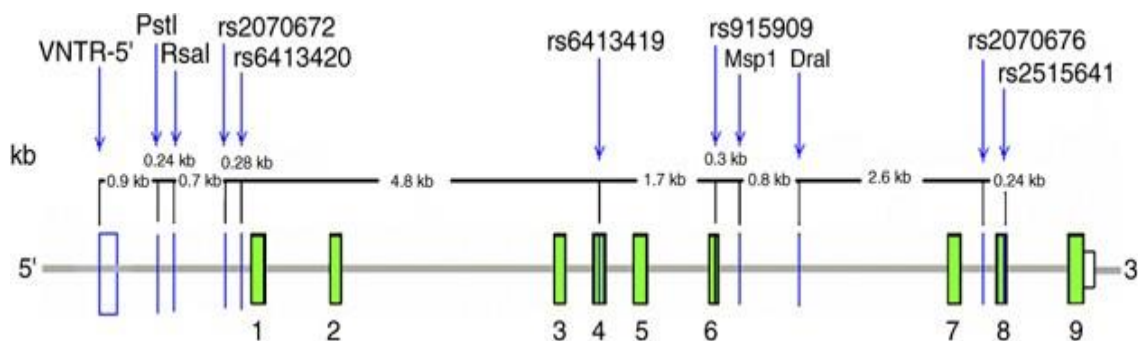
Dois polimorfismos geneticamente ligados de *CYP1A1*, sítio *MspI* (T3801 -> C, alelo *CYP1A1* *2) e Ile462 -> Val (alelo *CYP1A1* *3), são os mais estudados e conferem aumentos de pelo menos 3 vezes em sua atividade catalítica (GARTE, 1998).

2.2.3 Citocromo P450 2E1 (*CYP2E1*)

O gene *CYP2E1* está localizado no cromossomo 10q26.3. O gene humano *CYP2E1* é expresso principalmente no fígado e tecidos extra-hepáticos, mede mais de 11 kb e apresenta nove éxons que codificam uma proteína de 493 resíduos de aminoácidos com peso molecular de ~ 57 kDa. O *CYP2E1* é induzido pelo consumo crônico de álcool e assume um papel importante na metabolização do álcool em acetaldeído em concentrações elevadas de etanol. Estudos anteriores demonstraram que a atividade do *CYP2E1* aumenta até duas vezes após o consumo crônico de álcool ou após a ingestão de etanol por um longo prazo (RAMCHANDANI, 2013; WANG, 2016)

O mapa do citocromo P450 2E1 (*CYP2E1*) no cromossomo 10 apresenta um vasto número de éxons com os seus SNPs, que condiz por um gene altamente polimórfico (Figura 5).

Figura 5: Mapa do citocromo P450 2E1 (*CYP2E1*) no cromossomo 10 e os marcadores digitados.



Legenda: As caixas preenchidas representam os éxons do gene; o número abaixo de cada caixa é o número do éxon. As linhas verticais representam as posições dos marcadores estudados. Figura adaptada de LEE, 2008.

O gene *CYP2E1* codifica a principal enzima (4-nitrofenol, 2-hidrolase) relacionada à oxidação do etanol no sistema microsomal. Essa enzima pode ser responsável por até 10% da oxidação do álcool no fígado (RAMCHANDANI, 2013). Vários estudos baseados em populações japonesas investigaram o polimorfismo *CYP2E1* em pacientes alcoolistas e alguns deles relataram uma forte associação entre o alelo c2 e o desenvolvimento da doença (TSUTSUMI, 1994).

Além do acetaldeído, a oxidação do etanol mediada pelo *CYP2E1* também gera moléculas contendo oxigênio chamadas de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio (ROS). Esses compostos produzidos pela enzima *CYP2E1* também contribuem para o estresse oxidativo após o consumo de álcool (KOOB, 2006; PLEMENITAS, 2015). Tem sido relatado que o acúmulo de acetaldeído e a produção de ROS podem estar relacionados a alguns polimorfismos genéticos do metabolismo do etanol (KHAN, 2009).

O alelo *CYP2E1*2* foi atribuído ao primeiro polimorfismo descoberto em 1987 por McBride et al. (1987). E isso consiste por uma mutação C -> G no íntron 7 que cria um sítio de restrição para a enzima *TaqI*. Dois polimorfismos são reconhecidos pela enzima de restrição *RsaI*, denominada *CYP2E1*3* e *CYP2E1*5*. Ao contrário de *5, *3 resulta da perda de um sítio de restrição para *RsaI* e está em desequilíbrio de ligação completo com outro sítio de restrição reconhecido por *PstI*. Essas mutações gênicas parecem atuar no nível de transcrição da enzima, aumento sua atividade (PAVANELLO; CLONFERO, 2000).

São necessários estudos em várias populações para compreender os mecanismos de regulação da transcrição e pós-tradução do gene *CYP2E1* e os efeitos das variantes do *CYP2E1* no metabolismo do álcool (CEDERBAUM, 2008; RAMCHANDAN, 2013).

2.2.4 Enzimas metabolizadoras de fase II

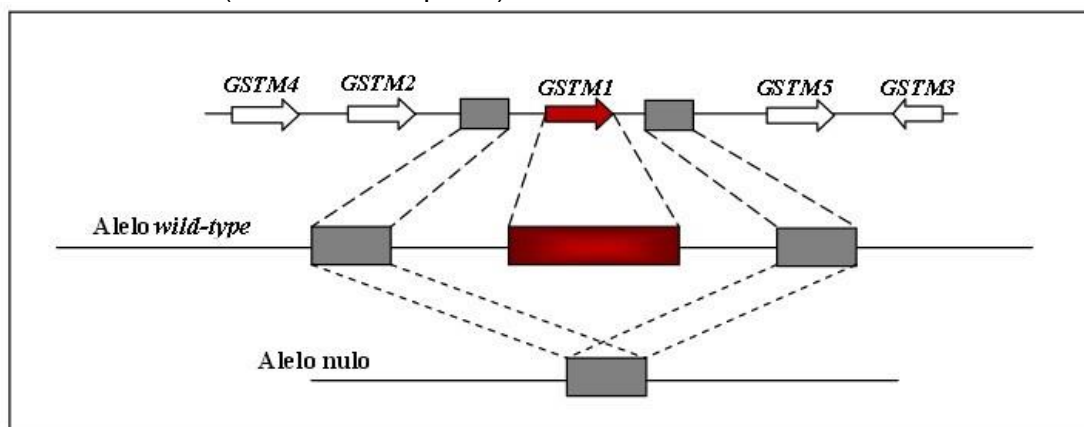
Após passarem pela metabolização de fase I, xenobióticos sofrem reações de fase II que envolvem a conjugação com um substrato endógeno (glutationa, sulfato, glicose, acetato, entre outras) por meio das GSTs, UDP-glucuroniltransferases e N-acetiltransferases (NATs) que agem como enzimas inativadoras dos produtos da fase I, tornando os metabólitos hidrofílicos e passíveis de excreção (HOMRICH, 2006). Os subprodutos intermediários da fase I podem ser eliminados diretamente ou posteriormente metabolizados por meio de reações de fase II. A formação de conjugados com glutationa é a reação inicial para muitos xenobióticos na fase II e uma via vantajosa para reduzir a bioacumulação de agentes tóxicos no corpo (LANDI, 2000).

Desse modo, tais enzimas desempenham uma função protetora contra compostos carcinogênicos/mutagênicos endógenos e exógenos (NEBERT; VASILOU; 2004). Isso faz com que os genes da GST sejam importante candidatos para a exploração nas desordens relacionadas com a via de detoxificação (NAIR, 2013).

2.2.5 Glutationa S-transferase M1 (*GSTM1*)

A *GSTM1*, uma enzima de classe u, com gene localizado na região cromossômica 1p13.3 (representado na figura 6), que em seres humanos são expressos nas células do fígado e nos linfócitos, tem um papel importante na detoxificação de carcinógenos, como o álcool e os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) presentes no cigarro (VOGEL, 2007; FORD, 2000). Entre as classes de GSTs, as duas isoenzimas relevantes são *GSTM1* (mu) e *GSTT1* (teta) (CURIONI, 2013).

Figura 6: Localização estrutural do *cluster* gênico de 100kb que codifica para a subfamília GST u (cromossomo 1p13.3).



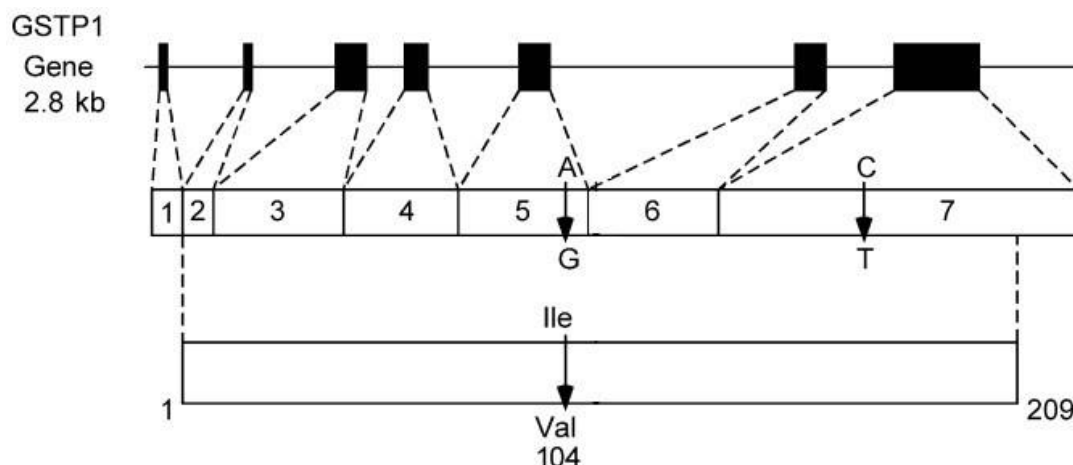
Legenda: regiões repetidas que flanqueiam o gene *GSTM1*, a recombinação homóloga que pode acontecer e originar o alelo nulo (*GSTM1*0* – ausência de *GSTM1*). Figura adaptada de PARL, 2005.

A variante nula de *GSTM1* é decorrente da herança de uma deleção homozigótica de todo o gene (ou seja, genótipo nulo) que resulta na perda de atividade funcional da enzima (Figura 6) (WIENCKE, 1990). Portanto, a aumentos potenciais nos níveis de metabólitos tóxicos resultantes da administração crônica de etanol (SEIDEGARD, 1986).

2.2.6 Glutathione S-transferase P1 (*GSTP1*)

O gene *GSTP1* localiza-se na região cromossômica 11q13 (representado na figura 7), apresentando maior concentração nos pulmões, esôfago e placenta e codifica uma enzima envolvida no metabolismo de compostos halogenados, moléculas de baixo peso molecular e epóxidos reativos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) (AGUIAR, 2009).

Figura 7: Localização estrutural da alteração do sítio de reconhecimento de enzimas de restrição que codifica o SNP para a subfamília GST pi (cromossomo 11q13).



Legenda: a seta indica sítio polimórfico que resulta na substituição de aminoácidos no códon 104 (Ile/Val) no éxon 5. Figura adaptada de PARL, 2005.

Três diferentes alelos *GSTP1*, *GSTP1a*, *GSTP1b* e *GSTP1c* foram descritos para esse gene: o primeiro alelo variante, denominado *GSTP1*B* difere do *GSTP1*A* por apresentar um SNP de uma transição A > G no nucleotídeo +313 do éxon 5, mudando o códon 105 de ATC (Ile) para GTC (Val). O *GSTP1*C* é caracterizado por duas transições de nucleotídeos, A > G no códon +313, a mesma observada no *GSTP1*B*, e C > T no nucleotídeo +341 do éxon 6, resultando na mudança GCG (Ala) > GTG (Val) no códon 114. O códon 105 compreende parte do sítio ativo da enzima *GSTP1* para ligação de eletrofílicos reativos, e a substituição Ile105 > Val1105 nas variantes *GSTP1*B* e *GSTP1*C* afeta a atividade catalítica substrato-específica e a estabilidade térmica da proteína codificada (JOHANSSON, 2001; PANDYA, 2000).

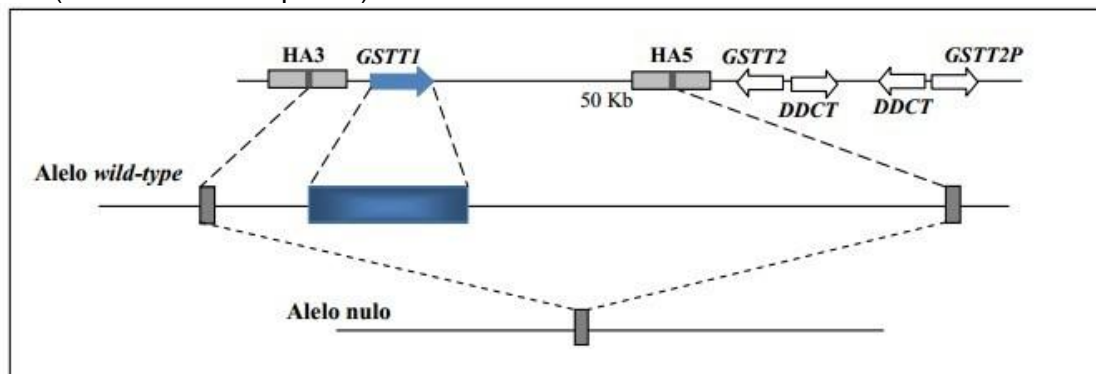
Desse modo, o estudo de Burim et al. (2004) identificou nos seus resultados uma maior frequência do genótipo Val/Val do gene *GSTP1* em pacientes com doença hepática alcoólica ou pancreatite crônica quando comparados aos alcoolistas sem doença ou os controles saudáveis, e que a variante Val prevalecia em pacientes com cirrose alcoólica, quando comparado com os controles.

2.2.7 Glutationa S-transferase T1 (*GSTT1*)

O gene *GSTT1* está localizado no cromossomo 22q11.2 (representado na figura 8) e apresenta o polimorfismo *GSTT1*0* de genótipo nulo de deleção, como consequência da perda completa da atividade enzimática (YE, 2006). Esses genes

são classificados como classe teta e são expressos nas células do fígado, pulmão, rins, cérebro, músculo esquelético, coração, intestino e no baço (JURONEN, 1996).

Figura 8: Localização estrutural do *cluster* gênico que codifica para a subfamília GST teta (cromossomo 22q11.10)



Legenda: regiões repetitivas que flanqueiam o gene *GSTT1* e que, por meio de recombinação homóloga, permitem a sua excisão do cromossomo (alelo *GSTT1*0*). Figura adaptada de PARL, 2005.

A variante nula de *GSTT1*0* é também decorrente da herança de uma deleção estrutural homozigótica de todo o gene (ou seja, genótipo nulo) que resulta na perda da atividade funcional da enzima, podendo estar associada a uma diminuição da capacidade de detoxificação de xenobióticos (STRANGE, 2001; WIENCKE, 1990). As consequências biológicas de genótipo *GSTT1* nulo não estão bem esclarecidas. Sabe-se que a enzima *GSTT1* detoxifica monohalometanos (metil brometo) e epóxidos de etileno alcanos e butadieno, mas ela ativa cloreto de metileno e alguns agentes alquilantes bifuncionais (HAYES; PULFORD, 1995).

Embora um grande número de estudos tenha tentado associar o risco de câncer com o genótipo nulo dos genes *GSTM1* e *GSTT1*, os resultados são inconclusivos, e muitos não mostraram uma associação significativa. Uma possível explicação dos resultados aparentemente incompatíveis é que outros membros da família de GST venham a compensar a ausência das enzimas *GSTM1* e *GSTT1* funcional (SENTHILKUMAR; THIRUMURUGAN, 2014; BHATTACHARJEE, 2013).

Os polimorfismos nesses genes, *GSTM1* e *GSTT1*, são responsáveis pela ausência ou baixa atividade dessas enzimas de metabolização, sendo os exemplos mais conhecidos de genótipos de proteção da DA, devido ao aumento da suscetibilidade a propriedades tóxicas, podendo causar sintomas de aversão que inibem a ingestão de álcool e a dependência (GOLAN, 2009)

2.2.8 Álcool desidrogenase (ADH) e aldeído desidrogenase (ALDH)

A principal via de eliminação do etanol é por meio da oxidação em acetaldeído e subsequente transformação em ácido e água. Essas reações são catalisadas, pelas enzimas *ADH* e aldeído desidrogenase *ALDH*, respectivamente. Os SNPs nesses genes têm sido associados na maioria dos casos a uma possível predisposição ao transtorno do usuário de álcool (TUA) (HIGUCHI et al., 1995). Esses polimorfismos também podem servir como fator de proteção contra TUA. (BORRAS, 2000; CHAMBERS, 2002; CHEN, 1999; NEUMARK; THOMASSON; LI, 1998; WAL et al., 2005).

A maior parte do etanol é oxidada a acetaldeído e acetato, principalmente pela enzima álcool desidrogenase (*ADH* que varia do tipo 1 a 4) (WALL, 2003). O gene para *ADH4* (*ADH*4 / *ADH*) é localizado no cromossomo 4q22 (MCPHERSON; 1989). A enzima *ADH4* é encontrada principalmente no fígado e, em níveis tóxicos de álcool, pode representar até 40% da taxa de oxidação total do etanol (DITLOW, 1984). Edenberg et al. (1994) relatam os três polimorfismos na região promotora de *ADH4*: -192 pb (T / A), -159 pb (G / A) e -75 pb (A / C). Sendo assim, consta que o alelo -75A pode ter um efeito protetor contra a dependência do álcool, como a proteção dos alelos dos genes *ADH1B* e *ADH1C*.

A enzima aldeído desidrogenase (*ALDH*) é a principal responsável pela oxidação do acetaldeído (KUO, 2008). Portanto, os portadores do polimorfismo *ALDH2* * 2 são incapazes de oxidar o acetaldeído, o que causa ressaca severa (LI, 2012). Em momentos de ressaca severa, o indivíduo pode facilmente recusar uma concentração de bebida alcoólica, diminuindo o consumo de álcool e, conseqüentemente, reduzindo o risco de TUA (DICKSON, 2006).

2.3 GENE DE PROTEÍNA DE TRANSMEMBRANA

2.3.1 Regulador de condutância transmembrana de fibrose cística (CFTR)

Desde que foi descoberto em 1989, mais de 1.000 mutações do gene *CFTR* foram relatadas (COHN, 2004). A mutação mais comum é a F508del, responsável por 70% dos casos de fibrose cística, síndrome autossômica recessiva caracterizada por infecções respiratórias frequentes e insuficiência pancreática (LYON, 2003).

O gene *CFTR* codifica uma proteína reguladora que atua como um canal aniônico nas células epiteliais e desempenha um papel fundamental na regulação da alcalinização e diluição do suco pancreático (COHN, 2004). Esse gene foi considerado um possível contribuinte para o desenvolvimento da pancreatite crônica alcoólica a partir da identificação de pacientes com fibrose cística atípica ou monossintomática, manifestada, por exemplo, por doença pancreática isolada (BRUNO, 2001). Na presença de algumas mutações, pacientes heterozigotos com diminuição parcial da atividade proteica podem desenvolver a doença pancreática isolada quando sujeitos a um fator de risco ambiental (WHITCOMB, 2004).

O íntron 8 do gene *CFTR* é mais estudado devido à alta frequência de polimorfismo encontrada na população geral e porque estudos anteriores (MONAGHAN, 2000; KIMURA, 2000; BERNARDINO, 2003; FUKIKI, 2004) relataram que variantes foram encontradas com mais frequência em populações não caucasianas, caracterizadas pela multiplicidade étnica, como no Brasil.

2.4. GENE DO REPARO DO DNA

2.4.1 Complementação cruzada de reparo de raio-x 1 (*XRCC1*)

Acredita-se que os efeitos tóxicos de longo prazo do álcool sejam mediados por danos ao DNA por meio de vários mecanismos (MAFFEI, 2000), incluindo a indução de danos oxidativos, a formação de adutos e ligações cruzadas de DNA e quebras de fita de DNA (BLASIAK et al., 2000). Embora o etanol não seja considerado carcinogênico, é amplamente conhecido como mutagênico, capaz de induzir micronúcleos e aberrações cromossômicas em alcoolistas. As observações anteriores sugerem que o mecanismo pelo qual o álcool causa danos ao DNA é indireto, provavelmente devido à exposição do tecido ao acetaldeído, um carcinógeno primário relacionado ao álcool e um produto da conversão metabólica do etanol em humanos (ISHIKAWA, 2007; MAFFEI, 2002).

Os sistemas antioxidantes de defesa e as múltiplas vias de reparo do DNA estão envolvidos na proteção celular do estresse oxidativo (SOARES, 2014). O mecanismo de reparo por excisão de bases (BER) é o mecanismo de reparo mais comum para resolver danos ao DNA induzidos por alquilação, hidrólise, oxidação,

pareamento incorreto de bases, lesões de base distorcendo-as dupla hélice e sítiosapurínicos/ apirimidínicos (SCHNEIDER, 2008).

Genes como o *XRCC1* são de extrema importância para a via BER. Polimorfismos em genes envolvidos em BER podem prejudicar o gene e o reparo de seu produto. A *XRCC1* é uma proteína de múltiplos domínios que atua como auxiliar no mecanismo de reparo de BER, interagindo e estimulando a maioria das enzimas envolvidas neste processo (GINSBERG, 2011). O gene *XRCC1* está localizado em 19q13.2-13.3 (NISSAR, 2015).

Além disso, as células com *XRCC1* são hipersensíveis a agentes que causam danos ao DNA e apresentam instabilidade genética após o dano. Assim, o *XRCC1* é necessário para a eficiência do reparo de quebras de fita simples e estabilidade genômica em células humanas (HU, 2001). Uma maneira eficiente de investigar esses diferentes polimorfismos é por meio da genotipagem por sequenciamento das regiões usando *XRCC1* como marcadores moleculares úteis para danos ao DNA (MELO, 2019).

Embora o polimorfismo em *XRCC1* não tenha sido informativo no estudo atual de Melo et al. (2019), os grupos de caso e controle apresentaram apenas a variante homozigótica de tipo selvagem. Essa variante também foi identificada por Curioni et al. (2013) em um estudo envolvendo alcoolistas e fumantes. Curioni et al. (2013), observaram em alcoolistas e fumantes de cigarro que polimorfismos em genes envolvidos no reparo do DNA estavam associados ao risco de desenvolver câncer oral.

2.5 GENES DOS NEUROTRANSMISORES SINÁPTICOS

A monoamina oxidase A (*MAOA*) é uma enzima mitocondrial envolvida na degradação de neurotransmissores como a serotonina, norepinefrina e dopamina. As enzimas desempenham um papel crítico na regulação das catecolaminas e da neurotransmissão da indolamina (CHEN, 2004). O gene está localizado no cromossomo X (Xp11.23), apresenta sequência repetitiva polimórfica de 30 bp (*MAOA-uVNTR*) localizada na região promotora aproximadamente 1,2 kb a montante do códon ATG (SABOL, 1998).

A dopamina beta-hidroxilase (*DBH*) catalisa a conversão da dopamina em norepinefrina. Alterações nos níveis de atividade da *DHB* foram relatadas em vários transtornos psiquiátricos, incluindo transtorno de conduta e hiperatividade do déficit de atenção (TDAH) (ROGENESS, 1989). Um estudo verificou que a atividade do *DBH* foi significativamente menor em alcoolistas em comparação com controles saudáveis, independentemente dos genótipos *DBH* -1021 C / T (KOHNE, 2002). O gene está localizado no cromossomo 9q34 (CRAIG, 1988), com os seguintes polimorfismos - 1021 C/T e Taq1 (FREIRE, 2005).

O gene transportador de dopamina (*SLC6A3* ou *DAT*) 40 BP-VNTR e o estudo que aborda o alcoolismo mostraram que genótipos contendo o alelo A9 são significativamente mais prevalentes em alcoolistas do que em controles (KOHNE, 2005; LE STRAT, 2008; SANDER, 1997). Essas alterações polimórficas em *SLC6A3* 3'UTR 40 bp-VNTR podem aumentar sua transcrição, alternando a regulação da expressão do gene *DAT* (MICHELHAUGH, 2001; MILLER; MADRAS, 2002). Embora a estrutura da proteína não seja alterada, acredita-se que ela regule a estabilidade, transporte e síntese de proteínas do mRNA (MIGNONE, 2002).

Outro polimorfismo do sistema dopaminérgico que tem mostrado associação com a DA é a família de receptores de dopamina D2 (*DRD2*), especialmente o locus Taq1A (BLUM, 1990; DU; WAN, 2009; NOBLE, 2003; SMITH, 2008, WANG, 2007) localizado no cromossomo 11q22-q23 (rs1800497) no gene que codifica para a suposta quinase ANKK1 no exon 8, próximo ao códon de terminação do gene *DRD2* (PONCE, 2009). Alguns estudos de associação genética individuais sugerem que as pessoas portadoras do alelo A1 devem se tornar mais suscetíveis à DA porque ela causa uma redução na expressão dos receptores de dopamina D2 (NOBLE, 2000; PRASAD, 2013; SURAJSSINGH, 2013).

A região promotora do gene receptor de dopamina D4 (*DRD4*) está localizada a 1,2-1,4 quilo bases na extremidade 5', a duplicação de 120 bp desempenha um papel importante na transcrição do gene, uma vez que muitos locais de ligação de fatores de transcrição estão posicionados dentro dessa região de duplicação (MYERS, 2007). Estudos anteriores mostraram que o alelo longo L (240 bp) pode diminuir a taxa de transcrição do gene. Junto com a redução dos níveis de mRNA, há uma diminuição nos receptores em áreas associadas ao sistema de recompensa do cérebro. Porém, o alelo curto S (120 bp) preserva consideravelmente as taxas de transcrição (PAREDES, 2013).

O gene do receptor de 5-hidroxitriptamina 2A (*HTR2A*), localizado na região cromossômica 13q14-q21, apresenta dois SNPs de considerável relevância, pois estão associados ao uso abusivo de álcool. Os polimorfismos A-1438G e T102C exercem um efeito sobre a expressão gênica, diminuindo a afinidade dos fatores de transcrição para iniciar eficientemente a polimerização do mRNA (PARSONS, 2004; POLESSKAYA; SOKOLOV, 2002).

A associação entre o gene do receptor de 5-hidroxitriptamina 1B (*HTR1B*) e a dependência de álcool em humanos focados em um SNP rs6296 (G861C), o primeiro estudo de associação relatou uma super-representação do alelo rs6296-C em indivíduos alcoolistas anti-sociais (LAPPALAINEN, 1998). Outros polimorfismos estão associados ao gene, tais como: rs11568817, rs130058 e rs13212041 (CONTINI, 2012). Embora o *HTR1B* humano seja um gene curto (1137 pb) e sem íntron, ele contém vários polimorfismos na sequência codificadora e em torno das regiões 5' - e 3' - não traduzidas (UTRs) (SANDERS, 2002). Sun et al. (2002), encontraram uma associação entre a variante rs130058 (A-161T), localizada no 5'UTR, e a dependência de álcool em taiwaneses Han. Estudos de expressão sugerem que esta variante afeta a atividade do gene receptor (SUN et al., 2002).

O gene da região promotora ligada ao transportador de serotonina (*5-HTTLPR*) está no cromossomo 17a11.1-q12 (RAMAMOORTHY, 1993), compreendendo 14 éxons medindo -35 kb (LESCH, 1994; BENGEL, 1994). Os efeitos da variabilidade do polimorfismo *5-HTTLPR* na expressão do gene funcional foram determinados estudando as relações entre o genótipo *5-HTTLPR*, a transcrição do gene *H-HTT* e a atividade de captação de 5-HT em linhas de células linfoblastóides humanas. Linfoblastos homocigotos para o L do *5-HTTLPR* produziram concentrações de mRNA do *5-HTT* duas vezes maiores do que as produzidas por células contendo uma ou duas cópias da forma S. (COLLIER, 1996; LESCH, 1996). Os estudos de associação entre o polimorfismo *5-HTTLPR* e o alcoolismo resultaram em resultados negativos (HILL, 2002) e positivos com o alelo S (KONISHI, 2004).

Desse modo, os genes e seus polimorfismos relacionados com a susceptibilidade alcoólica e genética são candidatos a uma investigação criteriosa e mais apurada por meio de uma revisão sistemática que tem como objetivo identificar a genética do álcool na população brasileira.

2.6 ESTUDO QUALITATIVO POR REVISÃO SISTEMÁTICA

A revisão sistemática (RS) é uma forma rigorosa de resumir as evidências científicas disponíveis que são derivadas de vários ensaios clínicos, estudos de diagnósticos e prognósticos, ou de um método particular. Para isto, a RS utiliza uma metodologia com questões claramente desenhadas e métodos para identificar e avaliar criticamente as pesquisas de grande relevância (LIBERATI et al., 2009; HIGGINS et al., 2011; ROEVER; ZOCCAI, 2015; GREEN, 2005).

A RS engloba vários estudos de um mesmo tema podendo fornecer informações que sejam relevantes para uma vasta gama de pacientes em diferentes ambientes clínicos. Uma RS limita o viés dos estudos existentes, melhora a confiabilidade e a precisão das recomendações, por meio da combinação de informações de estudos individuais (GUYATT; DRUMMOND, 2002; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012; ABUABARA, 2013).

2.7 ESTUDO QUANTITATIVO POR METANÁLISE

A metanálise é utilizada para combinar resultados provenientes de diferentes estudos e, com isto, produzir estimativas que resumem ao todo, denominadas estimativas metanalíticas. Pare se considerar que o resultado de uma metanálise tenha significado aplicado, os estudos que compõem os seus dados devem ser o resultado de uma revisão sistemática, que consiste de um conjunto de regras para identificar os estudos sobre uma determinada questão, e então selecionar quais deles serão incluídos (BORENSTEIN et al., 2009; BERMAN et al., 2002).

Em metanálise são utilizados dois tipos de modelos: os modelos de efeito fixo e os modelos de efeitos aleatórios. O modelo de efeito fixo pressupõe que o efeito de interesse é o mesmo em todos os estudos e que as diferenças observadas entre eles são devidas à variabilidade interna de casa estudo. O modelo de efeitos aleatórios pressupõe que o efeito de interesse não é o mesmo em todos os estudos, é utilizado quando os efeitos dos estudos não são iguais, mas que são conectados por meio de uma distribuição de probabilidade, geralmente suposta como normal (SUTTON et al., 2000; BERMAN et al., 2002).

Com isso, quando consideramos que a variabilidade entre os estudos não é apenas aleatória, dizemos que os estudos são heterogêneos. A avaliação sobre heterogeneidade tem papel fundamental na escolha do modelo de metanálise, e deve ser realizada antes da escolha do modelo (SUTTON et al., 2000; ZIEGELMANN et al., 2010).

2.8 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

A questão central desse trabalho por meio da ferramenta da revisão sistemática e metanálise é "*Existe susceptibilidade genética à dependência do álcool na população brasileira?*". Devido ao alto índice de consumo por bebidas alcoólicas na população brasileira e a correlação genética de enzimas do etanol que participam do processo metabólico no fígado, se faz necessário a investigação se há uma susceptibilidade genética descritas nos estudos da RS.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a susceptibilidade genética dos genes relacionados à dependência alcoólica na população brasileira pela ferramenta de revisão sistemática e metanálise.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a susceptibilidade dos genes relacionados à dependência alcoólica na população brasileira;
- Determinar quais os genes mais prevalentes na população brasileira e as funções biológicas em estudo genético sobre o transtorno do abuso de álcool;
- Demonstrar os dados de cada artigo apontando os tipos de genotipagem, abordagens das amostras de caso-controle, testes estatísticos e os seus principais resultados;
- Avaliar de forma crítica e sistemática os artigos incluídos e determinar a confiabilidade, evidência do estudo e força de recomendação;
- Realizar uma metanálise dos estudos incluídos do polimorfismo rs1695 (Ile > Val) do gene *GSTP1* e julgar se há uma significância estatística de acordo com os dados.

4 METODOLOGIA

4.1 PROTOCOLO

O protocolo considerado para analisar os artigos de caso-controle foi baseado no protocolo de Preferred Report Item for Systematic Review and Meta-Analysis protocols: the PRISMA Statement (Moher et al., 2015). Além disso, um estudo foi usado como estratégia utilizando as características específicas do Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions para definir a questão central da pesquisa (PICO). Portanto, pretendeu-se responder quem seriam os participantes do estudo, comparações e os resultados.

Para responder às características do PICO, o estudo considera participantes da população brasileira, cujas intervenções estão relacionadas à dependência do álcool, comparando com o caso-controle e definindo se a susceptibilidade genética está ligada ao alcoolismo.

A análise foi listada na plataforma de Registro Prospectivo Internacional de Revisões Sistemáticas (PROSPERO) da Universidade de Nova York da Central Reviews and Dissemination para registrar a revisão sistemática, não havendo possibilidade de duplicação deste estudo com os demais pesquisadores. O número de identificação CRD42021257213 desse trabalho foi registrado no dia 25 de junho de 2021.

4.2 ESTRATÉGIA DE PESQUISA E BANCOS DE DADOS

As palavras-chave foram escolhidas por meio da plataforma Medical Subject Headings (MeSH) para encontrar os artigos apropriados nas bases de dados disponíveis. Portanto, os termos apropriados para a pesquisa de dados foram (em inglês):

- Genetic susceptibility OR Genetic variations OR Mutations;
- Alcoholism OR Alcoholic dependence OR Alcoholic disorder;
- Brazil OR Brazilian people OR Brazilian population;

As bases de dados selecionadas para a revisão sistemática e metanálise foram Scielo, PubMed e ScienceDirect. A coleta de dados ocorreu com todas as

palavras-chave do campo de busca aplicando os conectivos “OR” e “AND” entre as palavras, com buscas filtradas apenas para artigos de pesquisa. Além disso, o período de busca de dados ocorreu no mês de janeiro de 2021 até o mês de maio de 2021. Devido à forte sobreposição que existe entre os bancos de dados escolhidos, todas as duplicatas foram retiradas após o processo de busca.

4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os critérios de inclusão para definir esse estudo foram: 1) trabalhos de pesquisa com enfoque em genética populacional; 2) estudos realizados com a população brasileira; 3) estudos com abordagem caso-controle. O foco da busca por esses artigos teve que incluir estudos randomizados por se tratar de uma revisão clínica e experimental.

Os critérios de exclusão para este estudo foram: 1) artigos que não estão acessíveis em texto completo e 2) artigos com informações insuficientes. Trabalhos que não atenderam aos critérios de inclusão foram excluídos.

4.4 EXTRAÇÃO DE DADOS

No início da extração dos dados, foram elaboradas planilhas no software Microsoft Office Excel (Software Version, 2016; Redmond, WA, USA) para um correto gerenciamento dos artigos. Todos os artigos encontrados foram identificados pelo título do artigo, nome da base de dados em que foi encontrado, ano de publicação, autores, endereço do DOI e se o artigo entrou ou não no escopo de acordo com os critérios de inclusão e exclusão estabelecidos no protocolo.

As seguintes informações foram retiradas dos artigos incluídos: autor-nome et al., cidade, estado, país, ano de publicação, nomes dos genes, tamanho da amostra caso-controle, idade média do grupo caso-controle, sexo do grupo caso-controle, método de genotipagem, testes estatísticos, frequência alélica e genotípica do grupo caso-controle, os principais resultados e características sociodemográficas.

Entretanto, para uma melhor organização da extração de dados, todos os artigos foram identificados por números para serem analisados e verificados quanto aos critérios de elegibilidade. Tanto os processos de busca inicial dos artigos quanto a extração dos dados foram realizados de forma independente por duas pessoas, e

possíveis inconsistências foram solucionadas por meio da consulta com um terceiro revisor.

4.5 AVALIAÇÃO DA CONFIABILIDADE DO ESTUDO

Todos os estudos incluídos foram analisados quanto a qualidade e a confiabilidade de acordo com os critérios da ferramenta disponível da (NIH) National Heart, Lung and Blood Institute (2003), que possuem a orientação adequada de revisões sistemáticas em avaliar o risco de viés e descrever a confiabilidade de estudo caso-controle.

As medidas de avaliação do risco de viés foram baseadas em perguntas sobre: objetividade da pesquisa, população do estudo, justificativa do tamanho da amostra, grupos recrutados na mesma população, critérios de inclusão e exclusão, definições de estudo caso-controle, seleção aleatória dos participantes, controles simultâneos, exposição avaliada antes da medição do resultado, medidas de exposição e avaliação, estudo cego dos avaliadores e análise estatística.

Com a abordagem da ferramenta de avaliação do risco de viés, os estudos foram categorizados de acordo com a presença ou ausência dessas informações e foram estabelecidas quatro categorias: confiável ($\geq 80\%$), confiável com restrições (≥ 50 e $< 80\%$), não confiável ($< 50\%$) (ROEVER, 2021).

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA (METANÁLISE)

Mediante o estudo da revisão sistemática sobre os genes relacionados ao transtorno do abuso de álcool na população brasileira foi detectado a possibilidade do estudo de metanálise para o polimorfismo rs1695 (Ile > Val) do gene *GSTP1*, o qual, cumpre os requisitos mínimos para realizar esse estudo estatístico. Tendo em vista que testes de heterogeneidade de dados dependem do número de estudos, apenas estudos para este gene em particular foram utilizados para aplicar métodos estatísticos de associação genética (HIGGINS; THOMPSON, 2002).

O estudo foi realizado pelo Programa RStudio® (Software Version 4.1.1, 2021; The R Foundation for Statistical Computing) com os seguintes dados extraídos de três trabalhos: autor-nome et al., o valor absoluto (N) da frequência alélica do grupo caso-controle e o valor absoluto (N) da frequência genotípica do grupo caso-controle.

No programa RStudio, foram utilizados os pacotes do *script* “meta” (autor: Guido Schwarzer) e *forest plot* (autor: Max Gordon, Thomaz Lumley), para o comando e o gerenciamento dos dados.

O gerenciamento do polimorfismo *GSTP1* Ile > Val (rs1695) na metanálise, em relação à quantificação da heterogeneidade dos estudos incluídos foi testada pelo teste Q de Cochran e com base na significância estatística do teste da inconsistência (I^2) para verificar a presença da heterogeneidade. Os valores de 25%, 50% e 75% foram considerados os pontos de corte para níveis baixa, moderada e alta da heterogeneidade entre os estudos, respectivamente (HIGGINS et al., 2003).

O modelo de efeitos aleatórios foi usado para calcular as médias com seus respectivos valores de intervalo de confiança (IC), para quando a heterogeneidade sendo significativa ($I^2 > 50\%$, $p < 0.05$). Em contrapartida, o modelo de efeito fixo foi usado para estimar o valor de OR quando não significativo ($I^2 > 50\%$, $p > 0.05$). O viés de publicação foi avaliado por uma análise visual dos gráficos de funil (PETERS et al., 2008) e os testes de Egger e Begg utilizados para determinar a assimetria entre os estudos nos gráficos de funil (STERNE et al., 2001).

A comparação entre os genótipos e alelos foram realizadas para verificar a significância estatística do genótipo (Val/Val) ser associado como um fator de risco na susceptibilidade ao alcoolismo. Cinco modelos genéticos de comparações na metanálise foram abordados:

- Homozigoto mutante (Val/Val) + heterozigoto (Ile/Val) *versus* homozigoto selvagem (Ile/Ile);
- Heterozigoto (Ile/Val) *versus* homozigoto selvagem (Ile/Ile);
- Homozigoto mutante (Val/Val) *versus* homozigoto selvagem (Ile/Ile);
- Homozigoto mutante (Val/Val) *versus* heterozigoto (Ile/Val) + homozigoto selvagem (Ile/Ile);
- Alelo mutante (Val) *versus* alelo selvagem (Ile);

4.7 FIGURAS E GRÁFICOS

Todas as figuras inseridas na análise qualitativa foram preparadas no Microsoft Office Excel® (Software Version, 2016; Redmond, WA, USA), Programa RStudio® (Software Version 4.1.1, 2021; The R Foundation for Statistical Computing).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PROCESSO DE SELEÇÃO DOS ESTUDOS INCLUÍDOS BASEADO NO FLUXOGRAMA PRISMA

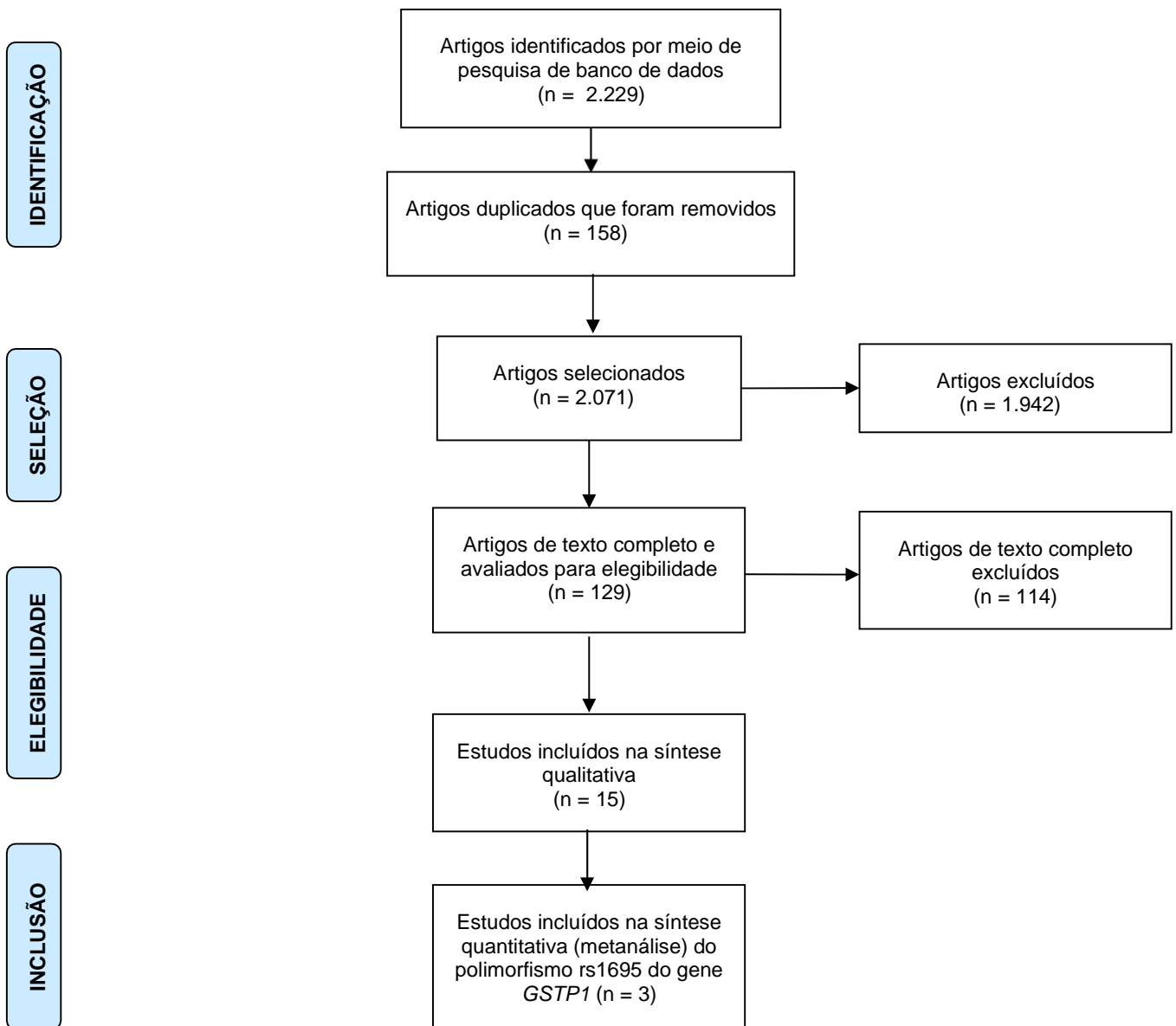
O fluxograma baseado no protocolo Preferred Report Item for Systematic Review and Meta-Analysis protocols: the PRISMA Statement (Moher et al., 2015) foi preparado, o qual contribui para o direcionamento criterioso na busca de artigos para a obtenção dos primeiros resultados desse trabalho (Figura 9).

A busca eletrônica resultou em 2.229 artigos relacionados com os descritores propostos. Dentre os artigos, 1.775 foram encontrados no banco de dados da Science Direct, 435 artigos foram encontrados no PubMed e 19 artigos foram encontrados no Scielo (Figura 9). O ano de publicação desses artigos em todos os bancos de dados consultados variou de 1948 a 2021.

Foram excluídos 158 artigos duplicados. Do mesmo modo, a leitura abrangente por todos os 2.071 artigos apontou a necessidade de excluir 1.942 artigos que não condizem com a proposta do protocolo por estarem associados a doenças secundárias causadas pelo transtorno por abuso de álcool. Os critérios de elegibilidade usados para os 129 artigos foram baseados em: população brasileira, genes, população caso-controle associado a dependência ao álcool.

Seguidamente, 114 artigos foram excluídos por não cumprirem os critérios de elegibilidade e restaram 15 artigos aprovados para uma análise qualitativa (RS), e dentre eles, 2 artigos e 1 dissertação com a possibilidade de verificar os dados quantitativos (metanálise).

Figura 9: Fluxograma do processo de seleção da revisão sistemática dos estudos brasileiros referentes aos genes associados à dependência ao álcool.



Fonte: Preferred Report Item for Systematic Review and Meta-Analysis protocols: the PRISMA Statement (MOHER et al., 2015)

5.2 VISÃO GERAL DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

Ao proceder com a análise criteriosa dos dados dos artigos incluídos da RS, foi gerenciado uma visão geral dos estudos para apontar como foram abordados os tamanhos amostrais das pesquisas de genes investigados em um estudo randômico (Tabela 1).

O artigo de Contini et al. (2012) possui o maior número amostral de indivíduos com 136 indivíduos no grupo alcoolistas e 237 no grupo controle, enquanto, o artigo de Melo et al. (2019) possui o menor número amostral de indivíduos com 39 no grupo alcoolistas e 43 no grupo controle. Apontou que há estudos que utilizaram o mesmo número de indivíduos de forma igualitária para cada grupo de caso e controle, são eles: em um estudo 51 homens e 41 mulheres (GUINDALINI et al., 2005; GUINDALINI et al., 2005) e 150 homens (SILVA JUNIOR et al., 2020). Além disso, a maior amostra do grupo de controle é do estudo de Contini et al. (2012), com 237 indivíduos e o menor grupo de amostra controle é do estudo Melo et al. (2019), com 43 indivíduos. A diferença do número amostral encontrada nos estudos se refere à disponibilidade do local de recrutamento dos participantes, local do estudo, tal como, baixo financiamento e estrutura e falta de campanha de órgãos responsáveis e gerenciamento da saúde pública no controle e combate à DA (Tabela 1).

A média das idades (MI) não foram relatados em alguns trabalhos, que, denota uma falta de informação amostral da pesquisa (CONTINI et al., 2006; FREIRE et al., 2005; MARQUES et al., 2006; RAMOS et al., 2018; TEIXEIRA et al., 2017). No estudo de Ramos et al. (2018) é relatado na metodologia como justificativa da ausência de informação sobre MI que ambos os grupos caso-controle possuem uma idade média similar. É observado que em dois estudos de mesmo grupo de pesquisadores (GUINDALINI et al., 2005; GUINDALINI et al., 2005), possuem o mesmo valor da MI para 47,3 em pacientes e 45,3 em controle, o que permite confirmar que foi utilizado a mesma população em dois estudos para genes diferentes. Mediante a esses dados, conferem que a média de uma população mais jovem (entre 18 e 20 anos) do grupo de alcoolistas gera dúvidas se realmente é de fato um indivíduo dependente ou uma situação de estresse pessoal e estilo de vida, por outro lado, a população mais velha (entre 30 e 50 anos) e homogênea do grupo de alcoolistas não gera dúvidas se considerar pelo histórico dos indivíduos pelo uso abusivo do álcool. No entanto, o estudo de Castroand et al. (2012) relata que quanto

mais jovem consumir álcool, maior é a prevalência no consumo por bebidas alcoólicas (CASTROAND et al., 2012) e é necessário de mais estudos com um maior número amostral para avaliar essa correlação (Tabela 1).

Além disso, a MI dos estudos em geral para pacientes variam do valor mínimo da MI de 39,71 (LEMOS et al., 2016) até o valor máximo da MI de 50,7 em pacientes (COSTA et al., 2009). Com isso, certamente confere que uma população mais velha da fase adulta tem uma maior ocorrência do consumo excessivo de álcool. A MI do grupo controle em geral varia do valor mínimo de 31,5 (BURIM et al., 2004) até o valor máximo MI com 53,59. A MI do grupo controle não foi descrita no estudo de Bau et al. (2000) (Tabela 1).

Entretanto, de acordo com os dados da tabela 1, há investigações dos comportamentos dos genes que apresentam um grupo caso-controle que se limita ao gênero masculino. Isso se deve ao local do estudo em questão, uma maior incidência de homens com estilos de vida que condiz como dependentes alcoólicos (CONTINI et al., 2012; CONTINI et al., 2006; FREIRE et al., 2005; LEMOS et al., 2016; MARQUES et al., 2006; SILVA JUNIOR et al., 2020; VASCONCELOS et al., 2015).

É observado que o grupo controle do estudo de Bau et al. (2000), que utilizou de forma igualitária ambos os sexos, que segundo como consta na sua metodologia a justificativa se dá pelas análises de não haver diferenças significativas entre os sexos nas frequências do gene *DRD2* (Tabela 1).

Ademais, para o entendimento da abordagem do tamanho amostral geral da RS, há presença de trabalhos com informações abrangentes que relatam a investigação dos seus estudos genéticos com uma população controlada e especificada de acordo com o sexo do caso-controle, quantidade de indivíduos por gênero e média das idades (BURIM et al. 2004; CONTINI et al., 2012; COSTA et al., 2009; GUINDALINI et al., 2005; GUINDALINI et al., 2005; MELO et al., 2019; RAMOS, et al., 2016; SILVA JUNIOR et al., 2020; VASCONCELOS et al., 2015).

Tabela 1: Visão geral dos estudos

Autor e Ano	Tamanho da amostra	Sexo do Grupo Alcoolistas (N)	Sexo do Grupo Controle (N)	Média das Idades (em anos)
BAU et al. (2000)	229	Homem (115)	Homem (57) Mulher (57)	Paciente: 41 (entre 20-63) Controle: NR*
BURIM et al. (2004)	341	Homem (103) Mulher (17)	Homem (159) Mulher (62)	Paciente: 48.28 Controle: 31.5
CONTINI et al. (2012)	373	Homem (136)	Homem (237)	Paciente: 41.15 Controle: 34.01
CONTINI et al. (2006)	360	Homem (125)	Homem (235)	NR
COSTA et al. (2009)	172	Homem (59) Mulher (09)	Homem (60) Mulher (44)	Paciente: 50.7 Controle: 32.2
FREIRE et al. (2005)	347	Homem (114)	Homem (233)	NR
GUINDALINI et al. (2005)	184	Homem (51) Mulher (41)	Homem (51) Mulher (41)	Paciente: 47.3 Controle: 45.3
GUINDALINI et al. (2005)	185	Homem (51) Mulher (42)	Homem (51) Mulher (42)	Paciente: 47.3 Controle: 45.3
LEMOS et al. (2016)	283	Homem (138)	Homem (145)	Paciente: 39.71 Controle: 53.59
MARQUES et al. (2006)	332	Homem (114)	Homem (218)	NR
MELO et al. (2019)	82	Homem (29) Mulher (10)	Homem (23) Mulher (20)	Paciente: 40.9 Controle: 37.5
RAMOS et al. (2018)	180	Indivíduos (84)	Indivíduos (96)	NR
RAMOS et al. (2016)	134	Homem (64) Mulher (11)	Homem (43) Mulher (16)	Paciente: 44 (\pm 8.13) Controle: 36 (\pm 9.17)
SILVA JUNIOR et al. (2020)	300	Homem (150)	Homem (150)	Paciente: 49.51 Controle: 42.34
TEIXEIRA et al. (2017)	200	Homem (84) Mulher (16)	Homem (24) Mulher (76)	NR
VASCONCELOS et al. (2015)	227	Homem (113)	Homem (114)	Paciente: 44.8 Controle: 49.5

Fonte: elaboração do autor.

Legenda: NR* = Não Relatado.

5.3 OBSERVAÇÃO DE GENES INCLUÍDOS NA REVISÃO SISTEMÁTICA

A busca de artigos para a RS resultou em um total de 17 genes com funções biológicas diferentes que foram associados ao transtorno abusivo de álcool na população brasileira. As variantes polimórficas desses genes foram determinadas por diferentes processos de genotipagens para a sua associação com a variável estudada. Todos os estudos incluídos, relatam que os genes foram trabalhados pela técnica da biologia molecular conhecida por reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*) de acordo com os seus protocolos laboratoriais (Tabela 2).

Além do método convencional de PCR, foram utilizadas técnicas da biologia molecular mais robustas e abrangentes para determinar uma possível associação genética, tal como, a Reação em Cadeia da Polimerase associado ao Polimorfismo de

Comprimento de Fragmento de Restrição (PCR-RFLP, do inglês “Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism”), mediante a isso, alguns trabalhos utilizaram o método para os seguintes genes: *CYP2E1*, *CYP1A1*, *DRD4*, *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *5HTR2A* e *SLC6A3-uVNTR* (BURIM et al., 2004; LEMOS et al., 2016; SILVA JUNIOR et al., 2020; VASCONCELOS et al., 2015) (Tabela 2). Foram relatados também o uso da técnica de PCR-Multiplex (em inglês, “Multiplex – Polymerase Chain Reaction”) para ambos os genes: *GSTM1* e *GSTT1* (BURIM et al., 2004; LEMOS et al., 2016) (Tabela 2). A técnica de PCR foi a mais utilizada da RS, por se tratar de um procedimento convencional no processo de genotipagem e de fácil acesso que não precisa de estruturas mais robustas em relação a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa (q-PCR, do inglês “Quantitative Polymerase Chain Reaction”). Além disso, o uso da PCR-Multiplex se remete aos estudos de ambos os genes de deleção *GSTM1* e *GSTT1*. E a PCR-RFLP se refere na investigação de genes polimórficos de mais de uma variação do gene, por exemplo, os genes CYPs que são altamente polimórficos.

O método de sequenciamento Sanger foi utilizado em dois trabalhos de mesmo grupo de pesquisadores e local de estudo para apontar o comportamento do gene *CYP2E1* (RAMOS et al., 2018; RAMOS et al., 2016). Dentre esses dois estudos citados, foi aplicado a técnica do ensaio cometa para a compreensão do mesmo gene em questão (RAMOS et al., 2016). Do mesmo modo, somente um único trabalho foi relatado o uso da (q-PCR) para os genes *ADH* e *ALDH* (TEIXEIRA et al., 2017) (Tabela 2).

É observado também que em dois trabalhos encontrados, estudou-se o gene *MAOA* e *SLC6A3* com o tamanho de pares de bases específicos em uma região promotora do gene, do qual, denota um polimorfismo em sequência de repetição (CONTINI et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2015). A sigla “uVNTR” representa em inglês “upstream variable number tandem repeat”, o que condiz pôr o gene *MAOA-uVNTR* ser localizado em uma região promotora específica do polimorfismo de 30-bp de sequência repetida e amplificado por PCR (CONTINI et al., 2006). Sendo assim, também o gene *SLC6A3-uVNTR* possui o polimorfismo de sequência repetida e estudado no tamanho de 40-bp 3’UTR-uVNTR, amplificado por PCR (VASCONCELOS et al., 2015) (Tabela 2).

Tabela 2: Análise dos polimorfismos das características genéticas investigadas dos estudos incluídos

Autor e Ano	Local do Estudo	Genes	Método de Genotipagem
BAU et al. (2000)	Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil	<i>DRD2</i>	PCR*
BURIM et al. (2004)	Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil	<i>CYP2E1, CYP1A1, GSTP1, GSTM1, GSTT1</i>	PCR-RFLP**, PCR-Multiplex***
CONTINI et al. (2012)	Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil	<i>HTR1B</i>	PCR
CONTINI et al. (2006)	Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil	<i>MAOA-uVNTR</i>	PCR
COSTA et al. (2009)	São Paulo, São Paulo, Brasil	<i>CFTR</i>	PCR
FREIRE et al. (2005)	Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil	<i>DBH</i>	PCR
GUINDALINI et al. (2005)	São Paulo, São Paulo, Brasil	<i>ADH</i>	PCR
GUINDALINI et al. (2005)	São Paulo, São Paulo, Brasil	<i>MAOA</i>	PCR
LEMOS et al. (2016)	Parnaíba, Piauí, Brasil	<i>GSTM1, GSTT1, GSTP1</i>	PCR-Multiplex, PCR-RFLP
MARQUES et al. (2006)	Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil	<i>5-HTLLPR</i>	PCR
MELO et al. (2019)	Goiânia, Goiás, Brasil	<i>GSTP1, XRCC1</i>	PCR
RAMOS et al. (2018)	Goiânia, Goiás, Brasil	<i>CYP2E1</i>	PCR e sequenciamento Sanger
RAMOS et al. (2016)	Goiânia, Goiás, Brasil	<i>CYP2E1</i>	Ensaio cometa, PCR e Sanger sequenciamento
SILVA JUNIOR et al. (2020)	Parnaíba, Piauí, Brasil	<i>DRD4, 5HTR2A</i>	PCR-RFLP
TEIXEIRA et al. (2017)	Goiânia, Goiás, Brasil	<i>ADH, ALDH</i>	q-PCR****
VASCONCELOS et al. (2015)	Parnaíba, Piauí, Brasil	<i>DRD2, SLC6A3-uVNTR</i>	PCR e PCR-RFLP

Fonte: Elaboração do autor.

Legenda: PCR* = reação em cadeia da polimerase; PCR-RFLP** = reação em cadeia da polimerase associado ao polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição; PCR-Multiplex*** = reação em cadeia da polimerase associado ao uso de multiplex; q-PCR**** = reação em cadeia da polimerase em tempo real.

5.4 ANÁLISE DEMOGRÁFICA BRASILEIRA DOS GENES INCLUÍDOS

Em questão de aspecto quantitativo, uma boa parte dos estudos incluídos na revisão sistemática foram feitos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil (Gráfico 1 e gráfico 2). Entretanto, apesar do estado possuir uma produção científica maior, seus resultados não refletem em uma boa confiabilidade dos resultados em um único artigo (BAU et al., 2000).

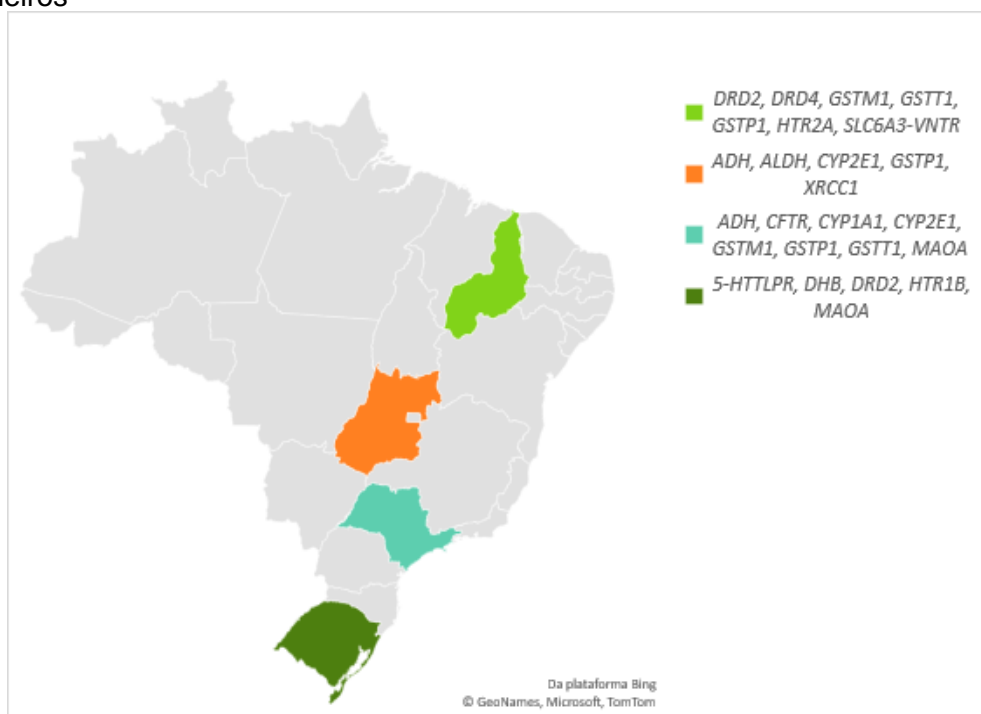
O estado de São Paulo tem como referência nessa RS em questão de estudos com uma população alcóolica e a susceptibilidade genética no contexto de possuírem o maior conjunto de genes (*ADH, CFTR, CYP1A1, CYP2E1, GSTM1, GSTP1, GSTT1* e *MAOA*) estudados em relação aos outros estados brasileiros

(BURIM et al., 2004; COSTA et al., 2009; GUINDALINI et al., 2005; GUINDALINI et al., 2005) (Gráfico 1 e 2).

Por sua vez, o estado do Piauí tem como o menor índice de produção científica referente ao tema com apenas três trabalhos incluídos (LEMOS et al., 2016; SILVA JUNIOR et al., 2020; VASCONCELOS et al., 2015) (Gráfico 1 e 2), mas que garantem uma maior confiabilidade dos seus resultados em comparação com o estado do Rio Grande do Sul que embora tenha uma maior produção científica, o estudo de Bau et al. (2000) tem como os seus resultados e metodologias questionáveis.

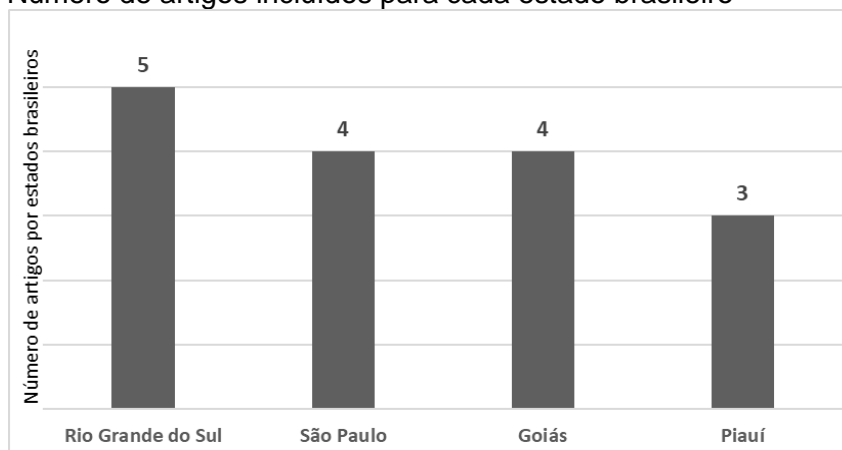
O estado de Goiás tem em sua composição de artigos incluídos na RS os cinco genes estudados (*ADH*, *ALDH*, *CYP2E1*, *GSTP1* e *XRCC1*) relacionados ao alcoolismo, sendo que o gene *XRCC1* é investigado pela primeira vez no Brasil para verificar a associação da genética e o álcool (MELO et al., 2019; RAMOS et al., 2018; RAMOS et al., 2016).

Gráfico 1: Composição de genes associados à dependência alcoólica por estados brasileiros



Fonte: elaboração do autor.

Gráfico 2: Número de artigos incluídos para cada estado brasileiro



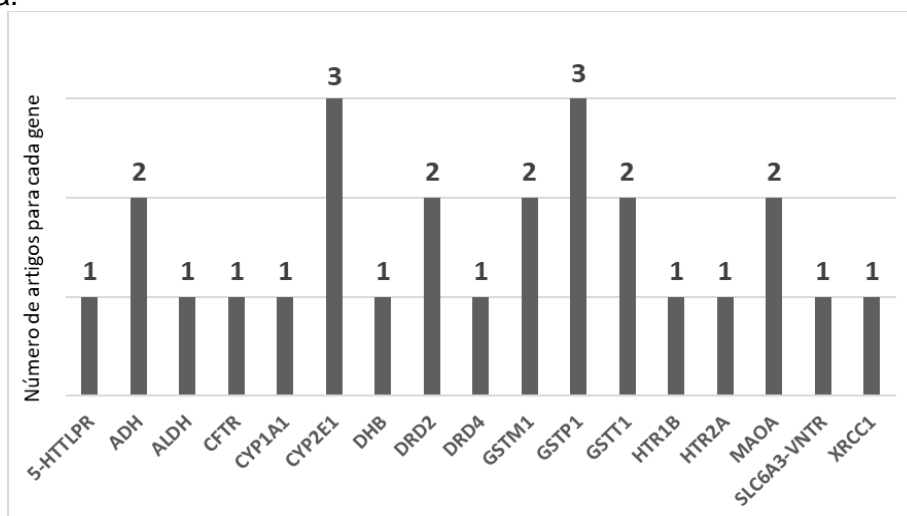
Fonte: elaboração do autor.

5.5 PREVALÊNCIA DOS GENES ESTUDADOS ASSOCIADO AO TRANSTORNO DO ABUSO DE ÁLCOOL

Para o melhor entendimento da importância dos estudos dos genes específicos e associação ao alcoolismo, foi elaborado um gráfico para demonstrar o número de artigos para cada gene (Gráfico 3). A maioria dos genes incluídos tem uma quantidade única de artigos publicados referentes a essas investigações das características genéticas nessas populações. Desse modo, é uma justificativa e impede a elaboração da estratégia do uso da ferramenta de metanálise.

Por outro lado, há cinco genes (*ADH*, *DRD2*, *GSTM1*, *GSTT1* e *MAOA-uVNTR*) com duas publicações científicas cada, o que permite traçar uma possibilidade do estudo da metanálise, no entanto, não é recomendável um estudo de metanálise com dois trabalhos realizados. Além disso, nessa RS foram encontrados dois genes com três trabalhos incluídos: três polimorfismos para o gene *CYP2E1* e um único polimorfismo para o gene *GSTP1*. (BURIM et al., 2004; MELO et al., 2019; LEMOS et al., 2016; RAMOS et al., 2018; RAMOS et al., 2016) (Gráfico 3).

Gráfico 3: Número de artigos incluídos para cada gene associado à dependência alcoólica.



Fonte: elaboração do autor.

5.6 TESTES ESTATÍSTICOS UTILIZADOS NOS ESTUDOS INCLUÍDOS

A análise detalhada de testes estatísticos de cada estudo incluído na RS corrobora para o entendimento do gerenciamento dos dados obtidos no grupo caso-controle. Sendo assim, além de demonstrar o interesse do estudo em efeito da susceptibilidade genética é necessário relatar por meio de cálculos estatísticos se houve alguma associação do polimorfismo e verificar as interferências que não estejam associadas em relação ao material genético dos pacientes e a desordem alcoólica. Portanto, para avaliação crítica e sistemática desse trabalho considera-se apontar quais os testes estatísticos utilizados e de que forma esses dados foram interpretados e levantar hipóteses de confiabilidade desses resultados.

A observação inicial estatística denota que todos os artigos incluídos apresentam os valores de p como o valor referencial da significância estatística de $p < 0.05$ e associado com os dados de razão de chances (OR) e o intervalo de confiança a 95%, é possível estabelecer a estimativa de risco e associação dos genótipos atrelado ao TUA no estudo caso-controle. Entretanto, uma análise mais apurada desses parâmetros estatísticos indicou uma ausência de informações de OR em alguns estudos da revisão sistemática para apontar se houve o risco ou proteção dos genótipos e/ou dos alelos em relação ao consumo abusivo de bebidas alcoólicas (BAU et al., 2000; CONTINI et al., 2012; CONTINI et al., 2006; FREIRE et al., 2005; MARQUES et al., 2016; RAMOS et al., 2018; RAMOS et al., 2016). Além disso, foi

observado como resultado uma ausência do cálculo de intervalo de confiança dos artigos o que compromete o grau de associação desses dados (BAU et al., 2000; CONTINI et al., 2012; CONTINI et al., 2006; FREIRE et al., 2005; MARQUES et al., 2016; RAMOS et al., 2016).

A avaliação da confiabilidade das análises dos dados desta revisão sistemática, seguem os critérios de cálculo estatístico conhecidos por: teste qui-quadrado, teste do ANOVA e/ou ANCOVA, teste T, teste G, teste de Fisher (unilateral ou bilateral), análise de regressão, análise múltipla de regressão, análise logística de regressão, desvio padrão, desequilíbrio de ligação, estatística de Cramer V, Método de Woolf, teste de Kolmogonov Smirnov, teste de Mann-Whitney e o coeficiente de correlação de Sperman. Todos os cálculos estatísticos das amostras caso-controle, relatam que esses estudos tiveram uma análise estatística apurada do grupo dos alcoolistas de que esses genes associados ao alcoolismo não tiveram interferências externas que prejudiquem na estratégica dos estudos em detectar a prevalência nessas populações e garantir a segurança do trabalho científico (Tabela 3).

Tabela 3: Testes estatísticos utilizados nos estudos incluídos

Autor e Ano	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13
BAU et al. (2000)	X		X			X							X
BURIM et al. (2004)				X	X						X	X	X
CONTINI et al. (2012)	X				X								X
CONTINI et al. (2006)	X	X											X
COSTA et al. (2009)	X			X							X	X	X
FREIRE et al. (2005)	X	X					X						X
GUINDALINI et al. (2005)*	X			X						X	X	X	X
GUNDALINI et al. (2005)	X			X	X						X	X	X
LEMONS et al. (2016)	X		X	X	X				X		X	X	X
MARQUES et al. (2006)	X							X					X
MELO et al. (2019)	X							X			X	X	X
RAMOS et al. (2018)										X		X	X
RAMOS et al. (2016)**	X		X						X				X
SILVA JUNIOR et al. (2020)	X		X	X	X				X	X	X	X	X
TEIXEIRA et al. (2017)	X									X	X	X	X
VASCONCELOS et al. (2015)	X		X	X							X	X	X

Fonte: Elaboração do autor.

Legenda: Qui-quadrado (T1) ANOVA e/ou ANCOVA (T2) teste T e/ou G (T3), teste exato de Fisher (T4), one-tailed e/ou two-tailed (bicaudal) (T5), análise de regressão (T6) regressão linear múltipla (T7), regressão linear simples (T8); desvio padrão (T9), desequilíbrio de ligação (T10) razão de chances (T11), intervalo de confiança à 95% (T12), valor de p (T13). O estudo de Guindalini, et al. (2005) utilizou os seguintes testes complementares para compor o estudo: estatística V de Cramer para mensurar a desequilíbrio de ligação e Método de Woolf para mensurar a razão de chances (OR)*; O estudo de Ramos et al. (2016) utilizou os seguintes testes complementares para compor o estudo: Kolmogorov Smirnov, Mann-Whitney e o coeficiente de correlação de Spearman**

5.7 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E SOCIODEMOGRÁFICAS CONSIDERADAS NA REVISÃO SISTEMÁTICA

Com o intuito de identificar o comportamento social e demográfico das populações incluídas no grupo caso-controle, a extração de dados baseados nesse contexto define a abordagem de escolha dos indivíduos por questionários apresentados pelos grupos de pesquisadores e diagnósticos clínicos dos pacientes realizados por profissionais da saúde nos locais da coleta do material de estudo. Sendo assim, além de encontrar um grupo caso-controle como perfil alcoolista foram consideradas outras características sociodemográficas para a compreensão do estilo de vida associado a desordem alcóolica.

Por outro lado, duas pesquisas realizadas consideram os mesmos critérios das características sociodemográficas, são eles: consumo alcoólico por dia, dependência de nicotina, grau de escolaridade, histórico familiar relacionado ao alcoolismo e idade dos grupos de estudos (SILVA JUNIOR et al., 2020; VASCONCELOS et al., 2015). O estudo do comportamento social dos indivíduos do grupo-caso é relevante no âmbito de considerar se essa população é de baixa renda, tem parentescos tanto com a desordem alcoólica e/ou uso de nicotina, se possuem o grau de escolaridade mínima (ensino médio), pois tais variáveis podem significativamente contribuir para a susceptibilidade ter caráter multifatorial (Tabela 4).

Encontrou-se três estudos que associaram as características para o grupo caso-controle por etnia (COSTA et al., 2009; GUINDALINI et al., 2005; RAMOS et al., 2018). Dentre esses estudos, foram considerados sintomas e/ou complicações clínicas dos indivíduos alcoolistas, assim como, exames por imagens e laboratoriais obtidas por prontuários desses pacientes no local da coleta de material do estudo em questão (COSTA et al., 2009) (Tabela 4). A característica social por etnia é importante ser estudada se o grupo caso-controle são compostos por negros, indígenas, caucasianos e de outras nacionalidades, o que colabora com o estudo em avaliar a prevalência da susceptibilidade dos genes, assim como, o estudo epidemiológico dos alcoolistas na investigação da causalidade daquele grupo-caso serem dependentes.

Em questão das características como dependência psicológica e/ou personalidade antissocial foram constatadas em três estudos (BAU et al., 2000; CONTINI et al., 2006; MARQUES et al., 2006). Dentre esses estudos, foram encontradas em um único estudo incluído na revisão, informações sobre tentativas e/ou idealização de suicídio e diagnóstico clínico como transtorno depressivo associado ao alcoolismo (MARQUES et al., 2006). Além disso, foi apontado em outro estudo as características de doenças secundárias relacionadas como transtorno de desordem alcoólico e foi obtido a extração de dados somente da subpopulação diagnosticada como alcóolatrás não corroborando com doenças secundárias, segundo o protocolo estabelecido na revisão sistemática (BURIM et al., 2004) (Tabela 4).

Sobretudo, os dados obtidos na tabela 4 consta que dois estudos correlacionados aos indivíduos alcoolistas com o abuso de drogas (MARQUES et al., 2006; RAMOS et al., 2016). As características dos alcoolistas associadas a

dependência de nicotina foram encontradas em seis estudos incluídos na RS (LE MOS et al., 2016; MARQUES et al., 2006; MELO et al., 2019; RAMOS et al., 2016; SILVA JUNIOR et al., 2020; VASCONCELOS et al., 2015).

Por fim, foi relatado também, o histórico familiar do tabagismo, tempo médio do alcoolismo e tabagismo, quantidade de álcool/dia (RAMOS et al., 2016). Há uma forte relação genética do tabagismo e alcoolismo devido ao cigarro ser composto por substâncias carcinogênicas, tais como, hidrocarbonetos aromáticos (PAH) e N-nitrosaminas, o que pode comprometer com a ativação de alguns genes, especificamente GSTs (*GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1*) (GOLONI-BERTOLLO et al., 2006). Além disso, as regiões cerebrais relacionadas ao comportamento aditivo do álcool estão intimamente relacionadas com o tabagismo, especialmente por ativarem ou levarem a desregulação na região mesocorticolímbica, onde existe a forte atuação das vias dopaminérgicas e serotoninérgicas (Tabela 4).

Tabela 4: Composição de características clínicas e sociodemográficas relacionadas ao alcoolismo na população brasileira

Autor e Ano	Características Sociodemográficas
BAU et al. (2000)	Dependência psicológica Personalidade antissocial
BURIM et al. (2004)	Doenças secundárias associadas ao alcoolismo
CONTINI et al. (2012)	Não foram descritas nesse estudo
CONTINI et al. (2006)	Personalidade antissocial Idade do primeiro uso de álcool
COSTA et al. (2009)	Etnia Sintomas e/ou complicações clínicas Teste de exames por imagens Testes de exames laboratoriais
FREIRE et al. (2005)	Não foram descritas nesse estudo
GUINDALINI et al. (2005)	Etnia
GUINDALINI et al. (2005)	Não foram descritas nesse estudo
LEMOS et al. (2016)	Consumo Alcólico por dia Dependência de nicotina Grau de escolaridade Histórico familiar relacionado ao alcoolismo Idade dos grupos de estudos Idade do primeiro uso de álcool
MARQUES et al. (2006)	Abuso de drogas Dependência de nicotina Personalidade Antissocial Tentativa e/ou idealização de suicídio Transtorno depressivo Idade do primeiro uso de álcool
MELO et al. (2019)	Dependência de nicotina Tempo de uso do álcool
RAMOS et al. (2018)	Etnia Tempo de uso do álcool
RAMOS et al. (2016)	Abuso de drogas Dependência de nicotina Idade dos grupos de estudos Tempo de tabagismo Histórico familiar de tabagismo Tempo de alcoolismo Quantidade de álcool por dia
SILVA JUNIOR et al. (2020)	Consumo alcólico por dia Dependência de nicotina Grau de escolaridade Histórico familiar relacionado ao alcoolismo Idade dos grupos de estudos
TEIXEIRA et al. (2017)	Não foram descritas nesse estudo
VASCONCELOS et al. (2015)	Consumo alcólico por dia Dependência de nicotina Grau de escolaridade Histórico familiar relacionado ao alcoolismo Idade dos grupos de estudos Idade do primeiro uso de álcool

Fonte: elaboração do autor.

5.8 ANÁLISE DOS DADOS DA FREQUÊNCIA ALÉLICA DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

Para a elaboração da estratégia do estudo de metanálise dessa revisão sistemática, foi realizada a extração de dados da frequência alélica de cada estudo incluído. Esses dados foram gerenciados de acordo com os nomes dos genes, nomes dos alelos, o valor absoluto (N) e percentual (%) da amostra do grupo caso-controle referente a frequência alélica, nomes dos polimorfismos, tamanho do alelo, enzimas de restrição e frequência alélica por grupos da população do mesmo estudo (Tabela 5).

Entretanto, três estudos não relataram a frequência alélica dos genes investigados, comprometendo negativamente com a interpretação dos resultados (COSTA et al., 2009; GUINDALINI et al., 2005; MELO et al., 2019). Além disso, outros dois estudos que também não foram calculadas as frequências alélicas dos genes *GSTM1* e *GSTT1* é devido as limitações do protocolo de PCR-Multiplex em separar heterozigotos de homozigotos para esses genes de deleções, como consta na justificativa descrita (BURIM et al., 2004; LEMOS et al., 2016) mas que foram considerados na investigação para verificar se há uma perda da atividade enzimática nos indivíduos alcoolistas (Tabela 5).

A frequência alélica do gene *HTR1B* foi investigado em uma correlação do alcoolismo e susceptibilidade genética no grupo caso-controle pelos polimorfismos específicos do gene: rs11568817, rs130058, rs6296 e rs13212041. Com isso, os resultados das frequências alélicas são heterogêneos (considerando os valores absolutos (N) e percentuais (%)) da amostra dos alelos C, G e T (CONTINI et al., 2012). E para que uma metanálise com polimorfismos seja feita considera-se importante a frequência alélica dos polimorfismos bem definida para uma análise quantitativa. Devido à escassez do trabalho do gene *HTR1B* e de outros genes da revisão sistemática não é possível traçar um estudo metalístico com apenas uma população, sendo assim, no mínimo três trabalhos de um mesmo polimorfismo é considerável (Tabela 5).

As observações complementares referentes aos estudos incluídos na revisão sistemática são de genes específicos que possuem dois artigos publicados, então,

foram identificados os seguintes genes: *ADH*, *DRD2*, *GSTM1*, *GSTT1* e *MAOA*. (GUINDALINI et al., 2005; LEMOS et al., 2016; TEIXEIRA et al., 2017; BAU et al., 2000; VASCONCELOS et al., 2015; BURIM et al., 2004; MELO et al., 2019; CONTINI et al., 2006; GUINDALINI et al., 2005). Sobre esses estudos com duas publicações de um mesmo gene não são recomendadas metanálises com dois artigos, dessa forma, é inviável as discussões da metanálise para os genes específicos devido à ausência de um terceiro trabalho do mesmo polimorfismo da revisão sistemática (GUINDALINI et al., 2005; CONTINI et al., 2006; MELO et al., 2019) (Tabela 5).

Em outros três estudos encontrados na revisão sistemática do gene *CYP2E1*, em dois deles se referem ao mesmo grupo de pesquisadores e local de estudo que avaliaram a susceptibilidade genética associado a desordem alcóolica no grupo caso-controle. Como resultados, foram avaliados três tipos de polimorfismos citados nos artigos científicos: rs3813867, rs20311920 e rs20311921 (RAMOS et al., 2018; RAMOS et al., 2016). Os resultados das frequências alélicas de ambos os estudos são homogêneos, com exceção do grupo controle do polimorfismo rs3813867 do estudo de Ramos et al., 2016 que possuem resultado heterogêneo. Contudo, não é possível correlacionar esses polimorfismos do gene *CYP2E1* para o estudo da metanálise devido aos três trabalhos do gene *CYP2E1* não estarem correlacionados com o mesmo polimorfismo (Tabela 5).

Sob o raciocínio de qual gene é o ideal para a realização do estudo quantitativo da metanálise, foi eleito o gene *GSTP1* com as observações das distribuições das frequências alélicas do polimorfismo rs1695 (Ile > Val) de dois artigos publicados e uma dissertação de mestrado com os seus dados internos que possibilita essa análise em um gráfico de floresta e de funil (BURIM et al., 2004; LEMOS et al., 2016; MELO et al., 2019) (Tabela 5).

5.8.1 Análise e discussão da significância estatística dos alelos

Em um estudo da tabela 5, envolvendo o gene *DRD2*, polimorfismo Taq1A rs1800497-A, não foram detectadas diferenças significativas da frequência alélica entre os grupos alcoolistas e controle, mas a prevalência do alelo mutante A2 foi maior em alcoolistas do que em controles (27% versus 21%, respectivamente) (BAU, et al., 2000). Da mesma forma, no estudo de Vasconcelos et al. (2015), a frequência alélica da variante do gene *DRD2* não difere significativamente entre os alcoolistas e o

controle, também com maior prevalência nos alcoolistas 39,4% do que nos controles 31,6%.

A frequência dos alelos do gene *5-HTTLPR* entre os indivíduos alcoolistas dependentes e controle não diferiram significativamente (alelo L selvagem do grupo alcoolista em 51,8% e do grupo controle em 54,6%; alelo S mutante do grupo alcoolista em 48,2% e do grupo controle 45,4%) (MARQUES et al., 2006).

Entretanto, há uma diferença significativa do polimorfismo rs11568817 do gene *HTR1B* entre caso e controle. A análise do χ^2 mostrou uma alta frequência do alelo mutante rs11568817-G em pacientes com dependência alcoólica. E nenhuma diferença significativa da frequência alélica entre o grupo caso e controle foi encontrada em outros polimorfismos *HTR1B* do estudo (rs130058, rs6296, rs13212041) (CONTINI et al., 2012).

A frequência geral dos alelos do gene *MAOA-uVNTR* entre os alcoolistas e controle não apresentaram diferenças significativas. Entretanto, uma diferença significativa ($p < 0,05$) foi observada para os alelos selvagens com 3,5 e 4 repetições (atividade alta) quando agrupados e comparados com o alelo mutante de 3 repetições (baixa atividade) (CONTINI et al., 2006). Em Guindalini et al. (2005), indivíduos portadores do alelo de 3 repetições demonstraram que a presença do polimorfismo *MAOA-uVNTR* aumenta em duas vezes a probabilidade de dependência alcoólica. A distribuição da frequência do alelo diferiu entre todos os pacientes e controles, principalmente quando apenas as frequências dos alelos mais prevalentes (3 e 4 repetições) foram comparadas, demonstrando um excesso do alelo de 3 repetições em mulheres alcoolistas (GUINDALINI et al., 2005).

O estudo do íntron 8 das politimidinas do gene *CFTR* revelou a presença do alelo selvagem T5 somente em indivíduos heterozigotos de ambos os grupos, sem diferenças significativas (COSTA et al., 2009). Em Costa et al. (2009), não foi descrito o cálculo da frequência alélica para o subgrupo dos alcoolistas.

Não há diferença significativa entre os dois grupos da frequência alélica dos alelos selvagens C e A1 e dos alelos mutantes T e A2 dos polimorfismos do gene *DBH* (FREIRE et al., 2005). Já para o gene *ADH* os alelos mutantes -75C e -159A foram associados com a dependência alcoólica. Não foi demonstrado no estudo os valores da distribuição da frequência alélica (GUINDALINI et al., 2005).

Não foi descrito a significância estatística para a frequência alélica do gene *GSTP1* (LEMOS et al., 2019). Ao comparar as frequências alélicas entre os grupos para o polimorfismo rs1696 *GSTP1*, observou-se a prevalência do alelo selvagem Ile em ambos os grupos, porém sem diferenças significâncias (LEMOS et al., 2016). Não demonstrou uma diferença da significância estatística na distribuição da frequência alélica entre os grupos de caso e controle em nenhuma dessas variantes de polimorfismos (rs1159918, rs1614972, rs1042364 e rs2238151) que foram pesquisados (TEIXEIRA et al., 2017). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na frequência do alelo mutante raro Val do gene *GSTP1* demonstrado entre os grupos (BURIM et al., 2004).

A comparação do polimorfismo da região promotora do gene *CYP2E1* demonstrou que os alelos selvagens (rs3813867-G, rs2031920-C e rs2031921-T) tiveram uma alta frequência no grupo dos alcoolistas em 95,8%, 94,9% e 94,9%, respectivamente, e o grupo controle e, quando comparados com os alelos mutantes (rs3813867-C, rs2031920-T e rs2031921-C) com os seus seguintes valores homogêneos demonstrados: 96%, 96% e 96%, respectivamente (RAMOS et al., 2018). Em um outro estudo do mesmo autor, os alelos mutados (rs3813867-C, rs2031920-T e rs2031921-C) tiveram uma alta frequência em ambos os grupos caso-controle (RAMOS et al., 2016). Para o gene *CYP2E1* não foram encontrados alcoolistas homocigotos para o alelo mutante raro c2. E nenhuma associação foi observada da frequência do alelo mutante raro m2 do gene *CYP1A1* entre os grupos alcoolistas e controle (BURIM et al., 2004) (Tabela 5).

Foi observado que o alelo mutante G do gene *5-HTTR2A* (caso: 64% e controle 58%) e o alelo mutante C (caso: 65% e controle 58,7%) demonstraram uma frequência similar em ambos os grupos. Da mesma forma, a duplicação de 120bp do alelo mutante L do gene *DRD4* não demonstrou influência na susceptibilidade para dependência alcohólica (SILVA JUNIOR et al., 2020).

A frequência alélica para o gene *SLC6A3-uVNTR* (rs28363170) apresentou diferença significativa entre os alcoolistas e o controle. A frequência do alelo mutante rs28363170-A9 para os alcoolistas foi 26.1%, comparado a 15.8% no controle. Foi utilizado o alelo mutante A9 como referência, na análise de OR que demonstrou que o alelo A9 está associado com o aumento de risco de alcoolismo na população estudada (VASCONCELOS et al., 2015).

Tabela 5: Distribuição geral das frequências alélicas dos estudos incluídos

Autor e Ano	Nomes dos Genes	Frequência Alélica do Grupo de Pacientes [N (%)]		Frequência Alélica do Grupo de Controle [N (%)]	
BAU et al. (2000)	<i>DRD2</i>	Alelo 1: [(27)]	Alelo 2: [(73)]	Alelo 1: [(21)]	Alelo 2: [(79)]
BURIM et al. (2004)	<i>CYP2E1</i>	Alelo c1: [(0,954)]	Alelo c2: [(0,046)]	Alelo c1: [(0,943)]	Alelo c2: [(0,057)]
	<i>CYP1A1</i>	Alelo m1: [(0,854)]	Alelo m2: [(0,146)]	Alelo m1: [(0,826)]	Alelo m2: [(0,174)]
	<i>GSTP1</i>	Alelo Ile: [(0,646)]	Alelo Val: [(0,354)]	Alelo Ile: [(0,686)]	Alelo Val: [(0,314)]
	<i>GSTM1</i>	NR*	NR	NR	NR
	<i>GSTT1</i>	NR	NR	NR	NR
CONTINI et al. (2012)	<i>HTR1B</i>	rs11568817: Alelo T: [108 (0,42)]	rs11568817: Alelo G: [148 (0,58)]	rs11568817: Alelo T: [257 (0,56)]	rs11568817: Alelo G: [201 (0,44)]
		rs130058: Alelo A: [187 (0,73)]	rs130058: Alelo T: [69 (0,27)]	rs130058: Alelo A: [336 (0,71)]	rs130058: Alelo T: [138 (0,29)]
		rs6296: Alelo G: [188 (0,7)]	rs6296: Alelo C: [80 (0,3)]	rs6296: Alelo G: [326 (0,69)]	rs6296: Alelo C: [146 (0,31)]
		rs13212041: Alelo A: [205 (0,78)]	rs13212041: Alelo G: [57 (0,22)]	rs13212041: Alelo A: [375 (0,79)]	rs13212041: Alelo G: [99 (0,21)]
CONTINI et al. (2006)	<i>MAOA-uVNTR</i>	Alelos alta atividade	Alelo baixa atividade	Alelos alta atividade	Alelo baixa atividade
COSTA et al. (2009)	<i>CFTR</i>	NR	NR	NR	NR
FREIRE et al. (2005)	<i>DBH</i>	-1021C/T: Alelo T: [(29,8)]	-1021C/T: Alelo C: [(70,2)]	-1021C/T: Alelo T: [(24)]	-1021C/T: Alelo C: [(76)]
		<i>Taq I:</i> Alelo A1: [(38,6)]	<i>Taq I:</i> Alelo A2: [(61,4)]	<i>Taq I:</i> Alelo A1: [(42,7)]	<i>Taq I:</i> Alelo A2: [(57,3)]
GUINDALINI et al. (2005)	<i>ADH</i>	NR	NR	NR	NR
GUINDALINI et al. (2005)	<i>MAOA-uVNTR</i>	Todos os alelos: Alelo 2: [(0,7)] Alelo 4: [(57,1)]	Todos os alelos: Alelo 3: [(41,5)] Alelo 5: [(0,7)]	Todos os alelos: Alelo 2: [(0,2)] Alelo 4: [(71,1)]	Todos os alelos: Alelo 3: [(26)] Alelo 5: [(0,7)]
		Alelo mais frequente: Alelo 3: [(42,1)]	Alelo mais frequente: Alelo 4: [(57,9)]	Alelo mais frequente: Alelo 3: [(26,7)]	Alelo mais frequente: Alelo 4: [(73,3)]
LEMOS et al. (2016)	<i>GSTM1</i>	NR	NR	NR	NR

	<i>GSTT1</i>	NR	NR	NR	NR
	<i>GSTP1</i>	rs1695: Alelo Ile: [170 (61,59)]	rs1695: Alelo Val: [106 (38,41)]	rs1695: Alelo Ile: [188 (64,83)]	rs1695: Alelo Val: [102 (35,17)]
MARQUES et al. (2006)	<i>5-HTTLPR</i>	Alelo S: [(48,2)]	Alelo L: [(51,8)]	Alelo S: [(45,4)]	Alelo L: [(54,6)]
MELO et al. (2019)	<i>GSTP1</i>	NR	NR	NR	NR
	<i>XRCC1</i>	NR	NR	NR	NR
RAMOS et al. (2018)	<i>CYP2E1</i>	rs3813867: Alelo G: [84 (0,964)]	rs3813867: Alelo C: [84 (0,036)]	rs3813867: Alelo G: [96 (0,958)]	rs3813867: Alelo C: [96 (0,042)]
		rs2031920: Alelo C: [84 (0,964)]	rs2031920: Alelo T: [84 (0,036)]	rs2031920: Alelo C: [96 (0,958)]	rs2031920: Alelo T: [96 (0,042)]
		rs2031921: Alelo T: [84 (0,964)]	rs2031921: Alelo C: [84 (0,036)]	rs2031921: Alelo T: [96 (0,953)]	rs2031921: Alelo C: [96 (0,047)]
RAMOS et al. (2016)	<i>CYP2E1</i>	rs3813867: Alelo G: [75 (0,960)]	rs3813867: Alelo C: [75 (0,040)]	rs3813867: Alelo G: [59 (0,958)]	rs3813867: Alelo C: [59 (0,042)]
		rs2031920: Alelo C: [75 (0,960)]	rs2031920: Alelo T: [75 (0,040)]	rs2031920: Alelo C: [59 (0,949)]	rs2031920: Alelo T: [59 (0,051)]
		rs2031921: Alelo T: [75 (0,960)]	rs2031921: Alelo C: [75 (0,40)]	rs2031921: Alelo T: [59 (0,949)]	rs2031921: Alelo C: [59 (0,051)]
SILVA JUNIOR et al. (2020)	<i>DRD4</i>	120bp duplicação: Alelo S: [75 (25)]	120bp duplicação: Alelo L: [225 (75)]	120bp duplicação: Alelo S: [75 (25)]	120bp duplicação: Alelo L: [225 (75)]
	<i>5HTR2A</i>	A-1438G: Alelo A: [108 (36)]	A-1438G: Alelo G: [192 (64)]	A-1438G: Alelo A: [126 (42)]	A-1438G: Alelo G: [174 (58)]
		T102C: Alelo T: [105 (35)]	T102C: Alelo C: [195 (65)]	T102C: Alelo T: [124 (41,3)]	T102C: Alelo C: [176 (58,7)]
TEIXEIRA et al. (2017)	<i>ADH</i>	rs1159918: Alelo 1: [99 (50,51)]	rs1159918: Alelo 2: [99 (49,49)]	rs1159918: Alelo 1: [100 (51,61)]	rs1159918: Alelo 2: [100 (48,39)]
		rs1614972: Alelo 1: [99 (59,90)]	rs1614972: Alelo 2: [99 (40,10)]	rs1614972: Alelo 1: [100 (63,44)]	rs1614972: Alelo 2: [100 (36,56)]

		rs1042364: Alelo 1: [99 [(73,47)]	rs1042364: Alelo 2: [99 [(26,53)]	rs1042364: Alelo 1: [100 [(76,87)]	rs1042364: Alelo 2: [100 [(23,13)]
	<i>ALDH</i>	rs2238151: Alelo 1: [99 [(54,43)]	rs2238151: Alelo 2: [99 [(45,57)]	rs2238151: Alelo 1: [100 [(50,55)]	rs2238151: Alelo 2: [100 [(49,45)]
VASCONCELOS et al. (2015)	<i>DRD2</i>	<i>Taq1A:</i> Alelo A1: [89 [(39,4)]	<i>Taq1A:</i> Alelo A2: [137 [(60,6)]	<i>Taq1A:</i> Alelo A1: [72 [(31,6)]	<i>Taq1A:</i> Alelo A2: [156 [(68,4)]
	<i>SLC6A3-uVNTR</i>	40bp 3' UTR-VNTR: Alelo A9: [59 [(26,1)]	40bp 3' UTR-VNTR: Alelo A10: [167 [(73,9)]	40bp 3' UTR-VNTR: Alelo A9: [36 [(15,8)]	40bp 31 UTR-VNTR: Alelo A10: [192 [(84,2)]

Fonte: elaboração do autor.

Legenda: NR* = Não Relatado, ausência de dados sobre a frequência alélica do grupo de pacientes e do grupo de controle usada no estudo.

5.9 ANÁLISE DOS DADOS DA FREQUÊNCIA GENOTÍPICA DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

A tabela que se refere por distribuição geral das frequências genotípicas dos estudos é constituída por todos os trabalhos incluídos na RS, em nomes dos genes dos estudos, a frequência genotípica do grupo caso-controle organizada por valores absolutos (N) das amostras e valores percentuais das frequências (%), além disso, é organizada conforme descritos nos trabalhos como: homocigoto selvagem, heterocigoto e homocigoto mutante. Todos os estudos incluídos possuem as informações das frequências genotípicas relatadas (Tabela 6).

A nomenclatura dos genótipos é adaptada de acordo com as descrições das frequências genotípicas relatadas nos estudos para cada gene. Sendo assim, alguns estudos não possuem informações sobre como classificação o nome do polimorfismo (SNP), região do éxon, enzimas de restrição utilizadas no método de genotipagem, entretanto, conferem para o entendimento das frequências dos genótipos utilizados nas amostras (Tabela 6).

Sob o contexto das informações, três estudos não foram descritos os valores percentuais das frequências dos genótipos, um para o gene *ADH* (GUINDALINI et al., 2005) e dois para o gene *CYP2E1* (RAMOS et al., 2018; RAMOS et al., 2016) do mesmo grupo de pesquisadores. Essas ausências de informações podem gerar um raciocínio confuso e duvidoso das frequências desses genótipos das amostras. As nomenclaturas dos genótipos descritos, tais como, “PRESENTE” e “NULO” se referem aos polimorfismos de deleção dos genes *GSTM1* e *GSTT1*, dos quais, não é possível calcular a frequência e separar homocigotos de heterocigotos, conforme o protocolo de PCR-Multiplex dos estudos relatados (BURIM et al., 2004; LEMOS et al., 2016).

5.9.1 Análise e discussão da significância estatística dos genótipos

Os dados referentes ao polimorfismo do gene *DRD2*, genótipos selvagens 1/1, heterocigoto 1/2 e homocigoto mutante 2/2, observados em ambos os grupos de alcoolistas e controle, em EHW, não apresentaram diferença significância quando comparado as frequências genotípicas, 4.3%, 45,2% e 50,4%, respectivamente, no grupo alcoolistas e, 5.3%, 31.6% e 63,2% no grupo controle (BAU et al., 2000). No trabalho de Vasconcelos et al. (2015), a frequência dos genótipos homocigoto

selvagem A1/A1, heterozigoto A1/A2 e homozigoto mutante A2/A2 foi de 10,5%, 42,1% e 47,4%, respectivamente, para o grupo controle e, 18,8%, 45,2% e 38,0%, respectivamente, para o grupo alcoolistas. A comparação do genótipo homozigoto selvagem A1/A1 como referência no modelo dominante de herança, temos que a análise de OR demonstrou que os genótipos heterozigoto A1/A2, homozigoto mutante A2/A2 e heterozigoto A1/A2 + homozigoto mutante A2/A2, não estão associados com um aumento de risco de alcoolismo na população estudada.

Os genótipos “nulos” do polimorfismo de deleção *GSTM1* e *GSTT1* não apresentam diferenças significativas nas frequências no total de indivíduos alcoolistas comparado aos controles ($p = 0.91$ e 0.40 , respectivamente, para os loci *GSTM1* e *GSTT1*). Foi observado que, embora não estatisticamente significativo, a frequência do genótipo nulo *GSTT1* em um subgrupo de alcoolistas com pancreatite (35.7%) foi mais alta do que no controle (19.5%) e do que nos alcoolistas sem a doença (BURIM et al., 2004).

Não foi observado uma diferença estatística significativa entre o grupo controle e dos alcoolistas para o genótipo heterozigoto Ile/Val do gene *GSTP1* (BURIM et al., 2004). Entretanto, um outro estudo encontrou uma diferença significativa ($p = 0,025$) quando comparados com os diferentes genótipos entre os casos de pacientes e controles para o SNP rs1695 do gene *GSTP1*. O homozigoto mutante G/G foi significativamente ($p = 0,023$) 3.8 vezes mais frequentes entre aqueles com DA quando comparados com o grupo controle (MELO et al., 2019).

Em caso do polimorfismo *MspI* do gene *CYP1A1*, a frequência do genótipo heterozigoto m1/m2 foi similar para todos os grupos estudados. Entretanto, diferem na frequência do genótipo homozigoto mutante m2/m2 entre os grupos encontrados. Assim, a frequência do genótipo mutante para o *CYP1A1* foi mais alta para os alcoolistas sem doença do que aqueles alcoolistas com doença, pancreatite, embora sem diferença significativa (Tabela 6).

No estudo de Burim et al. (2004), foi realizado uma comparação dos genótipos combinados. Então, o grupo de referência (OR = 1) com os sujeitos tendo os seguintes genótipos considerados de “baixo risco”: presença de *GSTM1* e *GSTT1*, homozigoto selvagem Ile/Ile do gene *GSTP1*, homozigoto selvagem m1/m1 do gene

CYP1A1 e homocigoto selvagem c1/c1 do gene *CYP2E1*. Os genótipos considerados de "alto risco" foram: ausência de *GSTM1* e *GSTT1*, heterocigoto Ile/Ile e homocigoto mutante Val/Val do gene *GSTP1*, heterocigoto m1/m2 e homocigoto mutante m2/m2 do gene *CYP1A1* e heterocigoto c1/c2 do gene *CYP2E1*. Em seguida, a distribuição da frequência dos genótipos combinados de cinco polimorfismos avaliados e a distribuição dos genótipos similares foram encontrados para todos os subgrupos de alcoolistas e controles, não apresentando diferenças significativas com relação aos genótipos combinados e dependência alcoólica (BURIM et al., 2004).

A distribuição genotípica entre as amostras não se desviou com os valores esperados de acordo com HWE em nenhum dos polimorfismos investigados para o gene *HTR1B* (sendo o valor de $p > 0.2$ para todos os polimorfismos). Há uma diferença significativa da frequência genotípica do polimorfismo rs11568817 do gene *HTR1B* (homocigoto selvagem T/T, heterocigoto T/G, homocigoto mutante G/G) entre os pacientes e controles. Nenhuma diferença significativa da frequência genotípica entre paciente e controle foi encontrada em outros polimorfismos do gene *HTR1B* (rs130058, rs6296 e rs13212041) (CONTINI et al., 2012). A discussão sobre os resultados da significância estatística do estudo de Contini et al. (2006) é apresentada na tabela 5.

Em um outro estudo da RS, a distribuição dos genótipos (homocigoto selvagem T5/T5, heterocigoto T5/T7 e homocigoto mutante T7/T7), gene *CFTR*, entre os grupos foi encontrada no genótipo T5/T7 em 2.9% do grupo dos alcoolistas sem a doença correlacionado com o alcoolismo e 5.8% do grupo controle (COSTA et al., 2009). A frequência genotípica de -1021 C/T (homocigoto selvagem T/T, heterocigoto T/C e homocigoto C/C) e uma duplicação de 120 pares de bases (homocigoto selvagem A1/A1, heterocigoto A1/A2, homocigoto mutante A2/A2) em ambos os polimorfismos do gene *DBH* estavam em HWE e não há diferença significativa (FREIRE et al., 2005).

A frequência genotípica para o gene *ADH4* entre os pacientes dependentes alcoólicos e comparações com indivíduos controles diferem significativamente para os polimorfismos -75bp (homocigoto selvagem A/A, heterocigoto A/C e homocigoto mutante C/C) e -159bp (homocigoto selvagem A/A, heterocigoto A/G e homocigoto mutante G/G). Nenhuma associação foi observada para o polimorfismo -192 bp

(homozigoto selvagem A/A, heterozigoto A/T e heterozigoto mutante T/T), sendo o valor de $p > 0.05$ (GUINDALINI et al., 2005).

Entretanto, um outro estudo de mesmo autor, fez uma comparação entre os pacientes e controles do gene *MAOA-uVNTR*, dos quais, somente em dois grupos genotípicos (do grupo com todos os alelos e outro grupo com os alelos mais frequentes) de cada polimorfismo com base na caracterização funcional. O genótipo que continha um alelo de 3 repetições foi significativamente mais frequente entre os alcoolistas do que nos controles. Embora, quando os dois sexos foram analisados separadamente, a diferença foi estatisticamente significativa somente para o sexo feminino. Entre o grupo masculino, embora o genótipo com pelo menos um alelo de 3 repetições a frequência foi maior nos pacientes dependentes alcoólicos, a diferença não foi estatisticamente significativa (GUINDALINI et al., 2005).

Tendo o genótipo homozigoto selvagem Ile/Ile como referência para o gene *GSTP1* (rs1695), observou-se uma maior frequência do genótipo heterozigoto Ile/Val no grupo alcoolista (46,38%) e controle (46,90%), não havendo significância estatística entre os grupos ($p = 0,90$). Ao comparar com o genótipo mutante Val/Val entre alcoolistas (15,22%) e controles (11,72%), esse mostrou frequência semelhante entre os grupos, não diferindo estatisticamente ($p = 0,48$) (LEMOS et al., 2016).

Em uma análise combinada. O genótipo *GSTM1* e *GSTT1* nulos foram considerados como genótipos de “alto risco”, já a presença dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foi considerado como genótipos de “baixo risco”. A análise dos dados mostrou que quando existem apenas um genótipo de alto risco, ou seja, a combinação do genótipo *GSTM1+*/*GSTT-* e/ou *GSTM1-/GSTT1+*, foram encontradas frequências semelhantes entre alcoolistas e controle, não apresentando diferença significativa entre os grupos ($p = 0.43$ e $p = 0.57$, respectivamente). Quando combinados dois genótipos nulos *GSTM1-/GSTT1-* as frequências foram de 13.04% nos alcoolistas e 20.00% nos controles, mesmo estas apresentando diferenças entre os dois grupos não houve significância estatística com $p = 0.09$ e OR = 0.52 (LEMOS et al., 2016).

Ademais, em um outro estudo incluído na RS demonstrou que a frequência genotípica do gene *5-HTTLPR* (homozigoto selvagem S/S, heterozigoto S/L e

homozigoto mutante L/L) entre os indivíduos dependentes alcoólicos e controle não se diferem. (MARQUES et al., 2006).

No caso do gene *XRCC1*, entretanto, somente o genótipo homozigoto selvagem C/C estavam presentes no grupo paciente e no grupo controle, tornando impossível fazer uma análise de comparação entre os genótipos (MELO et al., 2019).

O gene *CYP2E1*, foi encontrada uma frequência do genótipo heterozigoto c1/c2 de 9.2% em alcoolistas e 10% no controle, não apresentando diferença significativa entre os grupos (BURIM et al., 2004). Em ambos os estudos do mesmo gene *CYP2E1*, os indivíduos homozigotos para a mutação não foram identificados e todos os genótipos se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$) (RAMOS et al., 2018; RAMOS et al., 2016).

As primeiras observações das distribuições genotípicas desse estudo, é do genótipo homozigoto mutante G/G (caso: 38.6% e controle: 34.6%), assim como, o genótipo homozigoto mutante C/C (caso: 40.6% e controle: 34.6%), demonstrou uma frequência estatística similar entre os dois grupos. Além disso, os genótipos mutantes G/G e C/C, não difere no aparecimento do comportamento de DA. Em um modelo dominante de herança, os genótipos heterozigoto A/G + homozigoto mutante G/G do gene *5HTR2A* A-1438G e heterozigoto T/C + homozigoto mutante C/C do gene *5HTR2A* T102C não contribuiu significativamente na susceptibilidade de DA (JUNIOR SILVA et al., 2020).

Em relação ao 120 bp de duplicação do gene *DRD4*, somente o grupo controle permaneceu em HWE. A frequência dos genótipos heterozigoto S/L (caso: 28.7% e controle: 35.3%) e homozigoto mutante L/L (caso: 60.7% e controle: 57.3%) não diferem entre os grupos estudados da amostra. A comparação da frequência genotípica S/S versus S/L + L/L, no modelo dominante de herança, não foi observado uma diferença estatística significativa no desenvolvimento de DA (SILVA JUNIOR et al., 2020).

O estudo de Teixeira et al. não foi demonstrado uma diferença estatística significativa na distribuição da frequência genotípica entre os grupos caso e controle em nenhum dos polimorfismos investigados para *ADH* (rs1159918, rs1614972 e

rs1042364) e *ALDH* (rs2238151). Porém foi observada uma diferença estatística significativa para o SNP *ADH4*2* entre os pacientes com DA. (TEIXEIRA et al., 2017).

O genótipo para o gene *SLC6A3-uVNTR* difere significativamente entre os alcoolistas e o controle. A frequência genotípica homocigoto selvagem A9/A9, heterocigoto A9/A10 e homocigoto mutante A10/A10 para os alcoolistas foi de 8.9%, 34.5% e 56.6%, respectivamente, e para o grupo controle, foi de 1.7%, 28.1% e 70.2%, respectivamente, diferindo significativamente ($p = 0.0203$). Comparando a frequência genotípica homocigoto selvagem A9/A9 *versus* homocigoto mutante A10/A10, há uma diferença estatisticamente significativa: o genótipo selvagem A9/A9 pressupõe um alto risco no desenvolvimento do alcoolismo em 6.25 vezes. O genótipo similar A9/A9 *versus* A9/A10 + A10/A10, há também um aumento de risco para o alcoolismo em indivíduos que carregam pelo menos um alelo A9 em 5.44 vezes. Embora, não há diferença estatisticamente significativa somente quando comparado o genótipo A9/A9 com A9/A10 heterocigoto na população estudada (VASCONCELOS et al., 2015).

Tabela 6: Distribuição geral das frequências genótípicas dos estudos incluídos

Autor e Ano	Nomes dos Genes	Frequência Genotípica do Grupo de Pacientes [N (%)]	Frequência Genotípica do Grupo de Controle [N (%)]
BAU et al. (2000)	<i>DRD2</i>	1/1: [5 (4,3)] 1/2: [52 (45,2)] 2/2: [58 (50,4)]	1/1: [6 (5,3)] 1/2: [36 (31,6)] 2/2: [72 (63,2)]
BURIM et al. (2004)	<i>CYP2E1</i>	C1/C1: [37 (90,2)] C1/C2: [4 (9,8)] C2/C2: [0 (0,00)]	C1/C1: [197 (89,3)] C1/C2: [23 (10,4)] C2/C2: [1 (0,5)]
	<i>CYP1A1</i>	M1/M1: [29 (70,7)] M1/M2: [12 (29,3)] M2/M2: [0 (0,00)]	M1/M1: [147 (66,5)] M1/M2: [71 (32,1)] M2/M2: [3 (1,4)]
	<i>GSTP1</i>	Ile/Ile: [15 (36,6)] Ile/Val: [23 (56,1)] Val/Val: [3 (7,3)]	Ile/Ile: [100 (45,3)] Ile/Val: [103 (46,6)] Val/Val: [18 (8,1)]
	<i>GSTM1</i>	PRESENTE: [22 (53,7)] NULO: [19 (46,3)]	PRESENTE: [120 (54,3)] NULO: [101 (45,7)]
	<i>GSTT1</i>	PRESENTE: [32 (78,0)] NULO: [9 (22,0)]	PRESENTE: [178 (80,5)] NULO: [43 (19,5)]
CONTINI et al. (2012)	<i>HTR1B</i>	rs11568817: T/T: [18 (14,1)] T/G: [72 (56,3)] G/G: [38 (29,7)]	rs11568817: T/T: [71 (31,0)] T/G: [115 (50,2)] G/G: [43 (18,8)]
		rs130058: A/A: [67 (52,3)] A/T: [53 (41,4)] T/T: [8 (6,3)]	rs130058: A/A: [120 (50,6)] A/T: [96 (40,5)] T/T: [21 (8,9)]
		rs6296: G/G: [64 (47,8)] G/C: [60 (44,8)] C/C: [10 (7,5)]	rs6296: G/G: [110 (46,6)] G/C: [106 (44,9)] C/C: [20 (8,50)]
		rs13212041: A/A: [80 (61,1)] A/G: [45 (34,4)] G/G: [6 (4,6)]	rs13212041: A/A: [148 (62,4)] A/G: [79 (33,3)] G/G: [10 (4,2)]
CONTINI et al. (2006)	<i>MAOA-uVNTR</i>	2R: [0 (0,00)] 3R: [51 (40,8)] 3aR: [0 (0,00)] 4R: [69 (55,2)] 5R: [5 (4)]	2R: [1 (0,43)] 3R: [73 (31,06)] 3aR: [1 (0,43)] 4R: [156 (66,38)] 5R: [4 (1,7)]
COSTA et al. (2009)	<i>CFTR</i>	T5/T7: [2 (2,9)] T7/T7: [49 (72,0)] T7/T9: [15 (22,0)]	T5/T7: [6 (5,8)] T7/T7: [75 (72,1)] T7/T9: [20 (19,2)]
FREIRE et al. (2005)	<i>DBH</i>	-1021C/T: T/T: [11 (9,6)] T/C: [46 (40,4)] C/C: [57 (50,0)]	-1021C/T: T/T: [17 (7,3)] T/C: [78 (33,5)] C/C: [138 (59,2)]
		Taq I: A1/A1: [20 (17,5)] A1/A2: [48 (42,1)] A2/A2: [46 (40,4)]	Taq I: A1/A1: [45 (19,3)] A1/A2: [109 (46,8)] A2/A2: [79 (33,9)]

GUINDALINI et al. (2005)	ADH	-75bp A/A: [5] A/C: [78] C/C: [9]	-75bp: A/A: [21] A/C: [67] C/C: [4]
		-159bp: A/A: [4] A/G: [80] G/G: [8]	-159bp: A/A: [6] A/G: [43] G/G: [43]
		-192bp: A/A: [2] A/T: [51] T/T: [39]	-192bp: A/A: [5] A/T: [46] T/T: [41]
GUINDALINI et al. (2005)	MAOA-uVNTR	Genótipo 1: [49 (53)]	Genótipo: [32 (34)]
		Genótipo 2: [44 (47)]	Genótipo: [61 (66)]
LEMOS et al. (2016)	GSTM1	PRESENTE: [93 (67,39)] NULO: [45 (32,61)]	PRESENTE: [87 (60,00)] NULO: [58 (40,00)]
	GSTT1	PRESENTE: [94 (68,12)] NULO: [44 (31,88)]	PRESENTE: [86 (59,31)] NULO: [59 (40,69)]
	GSTP1	Ile/Ile: [53 (38,41)] Ile/Val: [64 (46,38)] Val/Val: [21 (15,22)]	Ile/Ile: [60 (41,38)] Ile/Val: [68 (46,90)] Val/Val: [17 (11,72)]
MARQUES et al. (2006)	5-HTTLPR	SS: [28 (24,5)] SL: [54 (47,3)] LL: [32 (28,1)]	SS: [39 (17,9)] SL: [120 (55)] LL: [59 (27,1)]
MELO et al. (2019)	GSTP1	A/A: [5 (15,6)] A/G: [14 (43,8)] G/G: [13 (40,6)]	A/A: [10 (58,8)] A/G: [4 (23,5)] G/G: [3 (17,7)]
	XRCC1	C/C: [25 (100)] C/T: [0 (00,0)] T/T: [0 (00,0)]	C/C: [3 (100)] C/T: [0 (00,0)] T/T: [0 (00,0)]
RAMOS et al. (2018)	CYP2E1	rs3813867: SNP G/C: [84]	rs3813867: SNP G/C: [96]
		rs2031920: SNP C/T: [84]	rs2021920: SNP C/T: [96]
		rs2031921: SNP T/C: [84]	rs2031921: SNP T/C: [96]
RAMOS et al. (2016)	CYP2E1	rs3813867: C/G: [06] C/C: [69]	rs3813867: C/G: [09] C/C: [50]
		rs2031920: C/T: [06] C/C: [69]	rs2021920: C/T: [09] C/C: [50]
		rs2031921: T/C: [06] T/T: [69]	rs2031921: T/C: [09] T/T: [50]
SILVA JUNIOR et al. (2020)	DRD4	S/S: [16 (10,6)] S/L: [43 (28,7)] L/L: [91 (60,7)]	S/S: [11 (7,4)] S/L: [53 (35,3)] L/L: [86 (57,3)]

	<i>5HTR2A</i>	A-1438G: A/A: [16 (10,7)] A/G: [76 (50,7)] G/G: [58 (38,6)]	A-1438G: A/A: [27 (18)] A/G: [72 (48)] G/G: [51 (34)]
		T102C: T/T: [16 (10,6)] T/C: [73 (48,6)] C/C: [61 (40,6)]	T102C: T/T: [26 (17,3)] T/C: [72 (48)] C/C: [52 (34,6)]
TEIXEIRA et al. (2017)	<i>ADH</i>	rs1159918: 1/1: [99 (22)] 1/2: [99 (57)] 2/2: [99 (21)]	rs1159918: 1/1: [100 (21)] 1/2: [100 (54)] 2/2: [100 (18)]
		rs1614972: 1/1: [99 (29)] 1/2: [99 (58)] 2/2: [99 (10)]	rs1614972: 1/1: [100 (34)] 1/2: [100 (50)] 2/2: [100 (09)]
		rs1042364: 1/1: [99 (51)] 1/2: [99 (44)] 2/2: [99 (04)]	rs1042364: 1/1: [100 (37)] 1/2: [100 (29)] 2/2: [100 (01)]
	<i>ALDH</i>	rs2238151: 1/1: [99 (16)] 1/2: [99 (55)] 2/2: [99 (09)]	rs2238151: 1/1: [100 (25)] 1/2: [100 (42)] 2/2: [100 (24)]
VASCONCELOS et al. (2015)	<i>DRD2</i>	A1/A1: [19 (16,8)] A1/A2: [51 (45,2)] A2/A2: [43 (38,0)] A1/A2 + A2/A2: [94 (83,2)]	A1/A1: [12 (10,5)] A1/A2: [48 (42,1)] A2/A2: [54 (47,4)] A1/A2: + A2/A2: [102 (89,5)]
	<i>SLC6A3-uVNTR</i>	A9/A9: [10 (8,9)] A9/A10: [39 (34,5)] A10/A10: [64 (56,6)] A9/A10 + A10/A10: [103 (91,1)]	A9/A9: [02 (1,7)] A9/A10: [32 (28,1)] A10/A10: [80 (70,2)] A9/A10 + A10/A10: [112 (98,3)]

Fonte: elaboração do autor.

5.10 OS PRINCIPAIS RESULTADOS DOS ESTUDOS DA REVISÃO SISTEMÁTICA

Após as análises comparativas sobre as distribuições dos alelos e genótipos de cada estudo da RS, foi elaborada uma tabela para compor os principais resultados de cada estudo incluído e organizado da seguinte maneira (1) significância estatística para o valor de $p < 0,05$ (2) estar relacionado a dependência alcoólica sendo o risco para o valor de $OR > 1$ ou para proteção com o valor de $OR < 1$ (Tabela 7).

Os estudos de Ramos et al. (2018) e Ramos et al. (2016) avaliaram o gene de metabolismo *CYP2E1* no grupo dos alcoolistas e controle, a significância estatística determinaram que os polimorfismos rs3813867, rs2031920 e rs2031921 estão para proteção no desenvolvimento da DA. Foi identificado que os alelos mutados de ambos os estudos (G, C e T respectivamente) estavam mais prevalentes nos indivíduos do grupo controle quando comparados com o grupo dos alcoolistas. A partir desses resultados, demonstra que o alelo mutado pode estar associada a maior taxa do metabolismo do álcool, portanto, mostram níveis aumentados de acetaldeído após o consumo de álcool, que então pode exercer seus efeitos de recusa do álcool, toxicidade e carcinogênico.

Os estudos de Guindalini et al. (2006) e Teixeira et al. (2017) avaliaram o gene de metabolismo de fase I *ADH* e constatou que os polimorfismos de -75 bp ($OR= 1,6$) e -159 bp ($OR= 2,2$) estão para risco aumentado no desenvolvimento da DA (GUINDALINI et al. 2006), enquanto o polimorfismo *ADH4*2* está para proteção (TEIXEIRA et al., 2017). Esses resultados sugerem que o *ADH* pode desempenhar papel na etiologia da DA, essa associação requer mais estudos, mas que, é plausível e demonstra um grande tamanho de efeito.

No gene de metabolismo de fase II, *GSTP1*, o estudo de Melo et al. (2019) verificou que o polimorfismo rs1695 tem uma predisposição a risco ($OR: 4,43$) do homocigoto variante GG do grupo dos alcoolistas quando comparados com o grupo controle. Desse modo, o gene *GSTP1* que desempenha papel de detoxificação xenobiótica entre os viciados em álcool e pessoas saudáveis, e com isso, é relevante a realização de novos estudos de *GSTP1* em populações diferentes, bem como o desenvolvimento de programas de conscientização.

O estudo de Teixeira et al. (2017) também avaliou outro gene de metabolismo *ALDH* e o resultado do estudo demonstrou que o polimorfismo *ALDH2*2* está para proteção frente ao desenvolvimento da DA, sendo esse SNP mais frequentes nos indivíduos do controle quando comparados com os alcoolistas. Então, os portadores do polimorfismo *ALDH2*2* são incapazes de oxidar o acetaldeído, o que causa ressaca severa (LI, 2012). Em momentos de ressaca severa, o indivíduo pode facilmente recusar uma concentração de bebida alcoólica, diminuindo o consumo de álcool e, conseqüentemente, reduzindo o risco de AUD (DICKSON, 2006).

O gene *HTR1B* que produz a enzima responsável pelo neurotransmissor sináptico demonstrou um fator de risco com o polimorfismo rs1168817 (CONTINI et al., 2012). Com isso, é uma associação da variante funcional na região promotora do gene *HTR1B* e dependência do álcool, sendo uma evidência prévia neurobiológica do envolvimento do polimorfismo em fenótipos relacionados ao álcool.

Ainda sobre o gene do neurotransmissor sináptico, o estudo de Guindalini et al. (2005) avaliou o gene *MAOA-uVNTR* e o alelo mais prevalente de 3 repetições determinou como um fator de risco aumentado (OR= 2,1) para o desenvolvimento de indivíduos com DA. Então, os indivíduos portadores do alelo de 3 repetições tinham duas vezes mais chances de serem dependentes do álcool. No estudo, relata que há uma diferença entre os sexos quando analisados separadamente e, a significância estatística foi de apenas para o sexo feminino.

O estudo de Vasconcelos et al. (2015), investigou o gene *SLC6A3* da enzima responsável pelo neurotransmissor sináptico e o resultado do estudo demonstra como um fator de risco e diferem significativamente entre os alcoolistas e os controles quando analisados as frequências alélicas e genotípicas. O alelo mutante A9 tem um risco aumentado para o alcoolismo na população estudada (sendo o OR = 1,88). Essas alterações polimórficas podem aumentar sua transcrição, alternando a regulação da expressão do gene *DAT* (MICHELHAUGH, 2001; MILLER; MADRAS, 2002).

Contudo, não foi encontrada significância estatística (todos os valores de $p > 0,05$), em estudos dos genes de metabolismo: *CYP1A1*, *CYP2E1*, *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* (BURIM et al., 2004; LEMOS et al., 2016). Assim como, não foi encontrada

significância estatística em estudo do gene *XRCC1* de reparo do DNA (MELO et al., 2019) e do gene *CFTR* de proteína de transmembrana (COSTA et al., 2009). E não foi encontrada significância para os genes de neurotransmissões sinápticos: *MAOA-uVNTR*, *DBH*, *DRD2*, *DRD4*, *HTR2B*, *5-HTR2A* e *5-HTTLPR* (BAU et al., 2000; FREIRE et al., 2005; MARQUES et al., 2006; CONTINI et al., 2006; SILVA JUNIOR et al., 2020). Desse modo, é necessário mais estudo para explorar os genes e seus polimorfismos e determinar a sua participação no desenvolvimento da DA.

Tabela 7: A interpretação dos resultados de genes associados ao alcoolismo na população brasileira.

Autor e Ano	Nome dos Genes	Principais Resultados
BAU et al. (2000)	<i>DRD2</i>	Não foi encontrado significância estatística do gene no estudo.
BURIM et al. (2004)	<i>CYP2E1, CYP1A1, GSTP1, GSTM1, GSTT1</i>	Não foi encontrado significância estatística em nenhum dos genes e seus polimorfismos no estudo.
CONTINI et al. (2012)	<i>HTR1B</i>	Foi encontrada significância estatística para risco do polimorfismo rs1168817.
CONTINI et al. (2006)	<i>MAOA-uVNTR</i>	Não foi encontrado significância estatística do gene no estudo.
COSTA et al. (2009)	<i>CFTR</i>	Não foi encontrado significância estatística do gene no estudo.
FREIRE et al. (2005)	<i>DBH</i>	Não foi encontrado significância estatística do gene no estudo.
GUINDALINI et al. (2005)	<i>ADH</i>	Foi encontrado significância estatística para risco do polimorfismo de -75 bp e -159 bp.
GUINDALINI et al. (2005)	<i>MAOA-uVNTR</i>	Foi encontrado significância estatística para risco do polimorfismo de 3 repetições.
LEMOS et al. (2016)	<i>GSTM1, GSTT1, GSTP1</i>	Não foi encontrado significância estatística dos genes e seus polimorfismos no estudo.
MARQUES et al. (2006)	<i>5-HTTLPR</i>	Não foi encontrado significância estatística do gene no estudo.
MELO et al. (2019)	<i>GSTP1, XRCC1</i>	Foi encontrado significância estatística somente para o gene <i>GSTP1</i> para risco do polimorfismo rs1695.
RAMOS et al. (2018)	<i>CYP2E1</i>	Foi encontrado significância estatística do gene para proteção dos polimorfismos: rs3813867, rs2031920 e rs2031921.
RAMOS et al. (2016)	<i>CYP2E1</i>	Foi encontrado significância estatística do gene para proteção dos polimorfismos: rs3813867, rs2031920 e rs2031921.
SILVA JUNIOR et al. (2020)	<i>DRD4, 5HTR2A</i>	Não foi encontrado significância estatística dos genes e seus polimorfismos no estudo.
TEIXEIRA et al. (2017)	<i>ADH, ALDH</i>	Foi encontrado significância estatística para proteção do gene <i>ADH</i> polimorfismo <i>ADH4*2</i> e do gene <i>ALDH</i> polimorfismo <i>ALDH2*2</i> .
VASCONCELOS et al. (2015)	<i>DRD2, SLC6A3-uVNTR</i>	Foi encontrado significância estatística para risco somente para o gene <i>SLC6A3-uVNTR</i> .

Fonte: elaboração do autor.

Legenda: o valor de p é padronizado para a probabilidade do estudo a significância desses genes para 0.05, então, valores maiores do que 0.05 demonstra que os genes não são significativos no estudo, enquanto, os valores de p menores do que 0.05 demonstra que esses genes foram significativos no estudo; Odds ratio (razão de chances), os valores de OR que foram maiores do que 1 demonstra que os genes estão em risco à intervenção, enquanto, os valores de OR que foram menores do que 1 demonstra que os genes estão em proteção à intervenção.

5.11 AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS DA REVISÃO SISTEMÁTICA

A ferramenta de avaliação da qualidade do estudo obteve resultados sobre o risco de viés e quanto a sua confiabilidade do estudo. Não há nenhum estudo constatado como baixa qualidade (< 50%). Portanto, todos os doze estudos incluídos na RS conferem como confiável com restrições (≥ 50 e < 80%) devido à ausência de algumas avaliações críticas e quatro estudos confiáveis (Tabela 8).

As avaliações críticas de um estudo caso-controle foram avaliadas com treze perguntas da seguinte maneira: objetividade da pesquisa, população do estudo, justificativa do tamanho da amostra, grupos recrutados na mesma população, critérios de inclusão e exclusão, definições de estudo caso-controle, seleção aleatória dos participantes, controles simultâneos, exposição avaliada antes da medição do resultado, medidas de exposição e avaliação, estudo cego dos avaliadores e análise estatística (Tabela 8).

E alguns critérios não foram aplicados (NA) na avaliação crítica dos estudos, devido não comportar com o modelo de estudo randomizado, são eles: seleção aleatória dos participantes (C07), medidas de exposição e avaliação (C10), estudo cego dos avaliadores (C11). Além disso, o critério de controle simultâneo (C08) não foi aplicado em nenhum estudo, justificando que os estudos não realizaram uma seleção dos grupos de controles retrospectivamente ao dia do diagnóstico como DA.

O único estudo da RS com maiores resultados de critérios não atendidos é do artigo BAU et al., 2000, devido a sua escassez na metodologia caso-controle dos critérios estabelecidos pela ferramenta. No caso, o segundo critério (C02) não definiu a população de estudo quanto ao período de tempo de seleção da amostra, o qual, determina em qual período que ocorreu a pesquisa e em caso de uma nova pesquisa no mesmo local e população o período de seleção da amostra caso-controle deveria ser declarado na metodologia. Em seguida, a justificativa da amostra não foi descrita (C03), assim como, a amostra não foi selecionada no mesmo local, considerando assim, a amostra controle de indivíduos aleatórios (C04). E as definições do estudo caso-controle não foi bem esclarecida quanto ao período de estudo e não forneceu descrição específica para “caso” e “controle” (Tabela 8).

Tabela 8: Avaliação da confiabilidade dos estudos caso-controle da revisão sistemática.

Autor e Ano	C01	C02	C03	C04	C05	C06	C07	C08	C09	C10	C11	C12	Classificação*
BAU et al. (2000)	Verde	Vermelha	Vermelha	Vermelha	Verde	Vermelha	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável com restrições
BURIM et al. (2004)	Verde	Verde	Vermelha	Verde	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável
CONTINI et al. (2012)	Verde	Vermelha	Vermelha	Vermelha	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável com restrições
CONTINI et al. (2006)	Verde	Vermelha	Vermelha	Vermelha	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável com restrições
COSTA et al. (2009)	Verde	Vermelha	Vermelha	Vermelha	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável com restrições
FREIRE et al. (2005)	Verde	Vermelha	Vermelha	Vermelha	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável com restrições
GUINDALINI et al. (2005)	Verde	Vermelha	Vermelha	Vermelha	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável com restrições
GUINDALINI et al. (2005)	Verde	Vermelha	Vermelha	Vermelha	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável com restrições
LEMOS et al. (2016)	Verde	Verde	Vermelha	Verde	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável
MARQUES et al. (2006)	Verde	Vermelha	Vermelha	Vermelha	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável com restrições
MELO et al. (2019)	Verde	Vermelha	Vermelha	Vermelha	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável com restrições
RAMOS et al. (2018)	Verde	Vermelha	Vermelha	Vermelha	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável com restrições
RAMOS et al. (2016)	Verde	Vermelha	Vermelha	Vermelha	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável com restrições
SILVA JUNIOR et al. (2020)	Verde	Verde	Vermelha	Verde	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável
TEIXEIRA et al. (2017)	Verde	Verde	Vermelha	Verde	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável
VASCONCELOS et al. (2015)	Verde	Vermelha	Vermelha	Vermelha	Verde	Verde	NA	NA	Verde	NA	NA	Verde	Confiável com restrições

Legenda: a avaliação da qualidade dos artigos incluídos são baseados nos seguintes critérios: objetividade da pesquisa (C01), população do estudo (C02), justificativa do tamanho da amostra (C03), grupos recrutados na mesma população (C04), critérios de inclusão e exclusão (05), definições de estudo caso-controle (C06), seleção aleatória dos participantes (C07), controles simultâneos (C08), exposição avaliada antes da medição do resultado (C09), medidas de exposição e avaliação (C10), estudo cego dos avaliadores (C11) e análise estatística (C12). As respostas são demonstradas por cores com a presença dos critérios de avaliação (verde) e ausência dos critérios de avaliação (vermelha) dos estudos incluídos na revisão sistemática. NA = Não Aplicado. Classificação* = a classificação foi estabelecida por quatro categorias: confiável ($\geq 80\%$), confiável com restrições (≥ 50 e $< 80\%$), não confiável ($< 50\%$).

5.12 POLIMORFISMO *GSTP1* ILE > VAL (rs1695) (METANÁLISE):

Genes de metabolização, especialmente aqueles que codificam enzimas de detoxificação do álcool podem estar associados a dependência uma vez que podem alterar a atividade enzimática e conseqüentemente, o metabolismo de compostos exógenos como o álcool, causando sintomas de aversão que inibem o uso continuado e prolongado do álcool. O gene *GSTP1* demonstra diversos polimorfismos que podem alterar a atividade enzimática, dentre esses, destacamos o Ile105Val ocorre em frequências de 14-20% entre negros africanos, 28-32% entre caucasianos e 14-18% entre asiáticos. Indivíduos com genótipo alterado para *GSTP1* podem desenvolver alta resistência ao consumo do álcool devido à baixa taxa de biotransformação e excreção pelo organismo.

O presente trabalho utilizou de abordagens estatísticas para demonstrar possível associação seja para proteção ou para risco do polimorfismo Ile105Val do gene *GSTP1* em alcoolistas na população brasileira. Os gráficos de forest plot foram gerados de acordo com o número de eventos de cada estudo baseados nos tamanhos amostrais e comparações entre genótipos e alelos do polimorfismo rs1695 do gene *GSTP1* e a mensuração dada por Odds ratio (OR).

As comparações dos modelos entre os genótipos (Gráfico 4-A, B, C e D) e uma comparação entre os alelos Ile e Val (Gráfico 4-E) não demonstraram significância estatística (sendo $p > 0.05$), não podendo sugerir nenhuma possível associação com o fenótipo alcoolista. Forte heterogeneidade foi encontrada em todas as comparações realizadas, demonstrando que fatores como o número limitado de trabalhos e/ou tamanho amostral tenha colaborado para o aparecimento desse resultado.

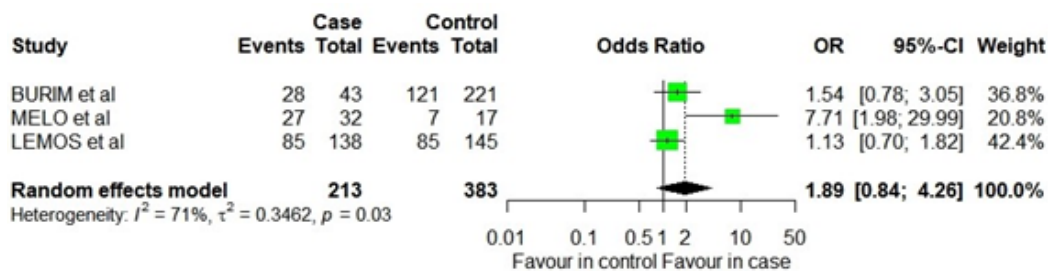
Ademais, o gráfico 5 demonstra uma análise visual por gráfico de funil, sendo que os testes de Egger e Begg detectaram os valores de p não significativos estatisticamente na análise de viés de publicação para cada modelo de comparação dos genótipos. Houve uma forte assimetria entre os estudos de maiores impactos e um único estudo de Melo et al. (2016) sendo a causa da heterogeneidade (Gráfico 5-A).

Na metanálise, algumas limitações devem ser observadas e discutidas. Primeiro, nós tivemos um baixo número de estudos incluídos o que dificulta concluir o

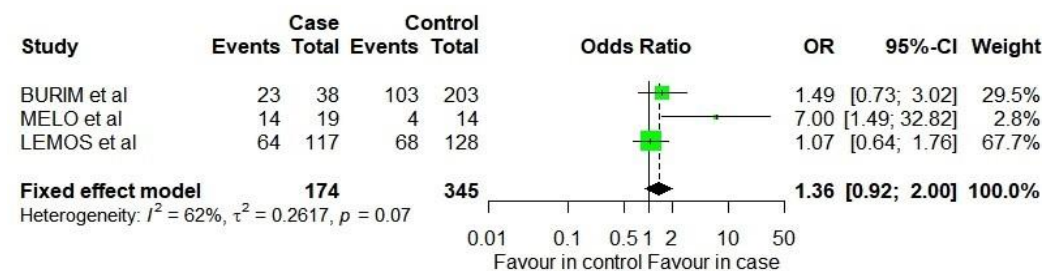
peso das evidências com base nessa abordagem estatística. No entanto, é válido mencionar que a população brasileira carece de estudos que analisem o papel de polimorfismos genéticos com o alcoolismo, isso não só se aplica ao gene *GSTP1* aqui investigado, como também para a gama de genes estudados aqui nesse trabalho. Segundo, a influência da etnia na frequência dos polimorfismos genéticos e seu papel nas doenças complexas são “pré-poluentes” e devem ser considerado em estudos de metanálise. No entanto, os dados limitados disponíveis na literatura não permitiam uma avaliação étnica completa o que pode representar uma fonte potencial de viés. O Brasil constitui de ancestralidade caucasiana europeia, seguido de africanos, ameríndios e por fim, asiáticos. Terceiro, a influência de outras variantes genéticas deve ser considerada, uma vez que o alcoolismo é uma doença multifatorial, e existem outros genes (incluídos nesse trabalho) que podem influenciar no aparecimento do fenótipo alcoolista; portanto, mais estudos são fortemente encorajados avaliando os efeitos combinatórios e haplótipicos de polimorfismos em diferentes genes na suscetibilidade ao alcoolismo.

Gráfico 4: Gráfico de floresta com comparações genotípicas e alélica dos estudos do polimorfismo rs1695 do gene *GSTP1*

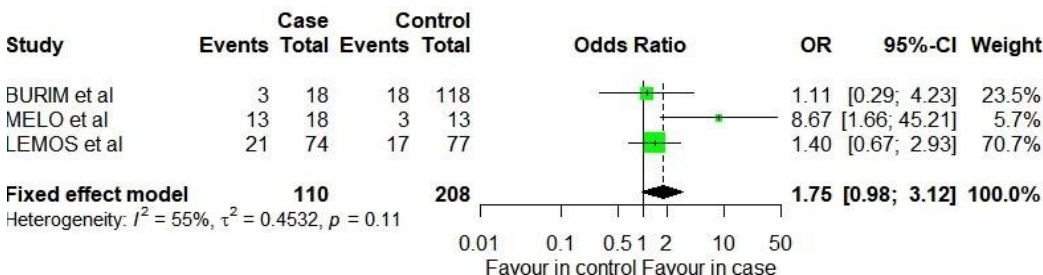
(A)



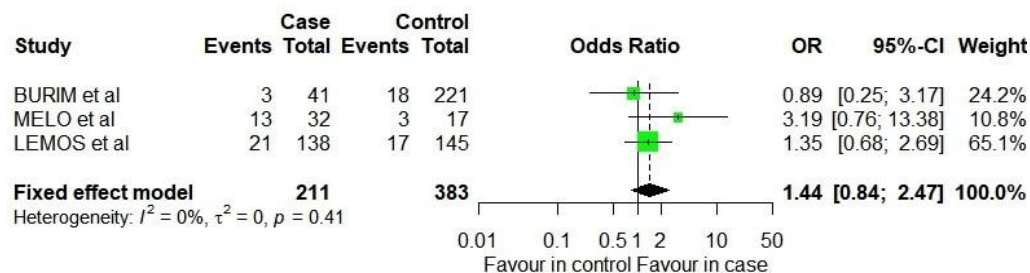
(B)



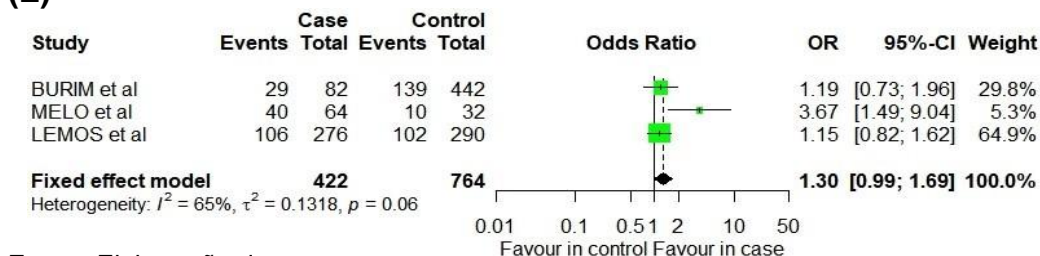
(C)



(D)



(E)

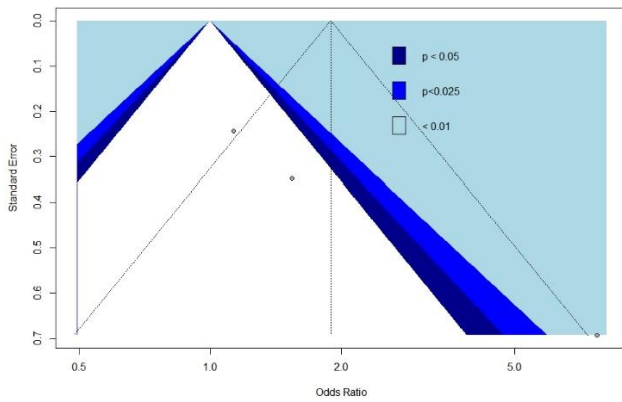


Fonte: Elaboração do autor.

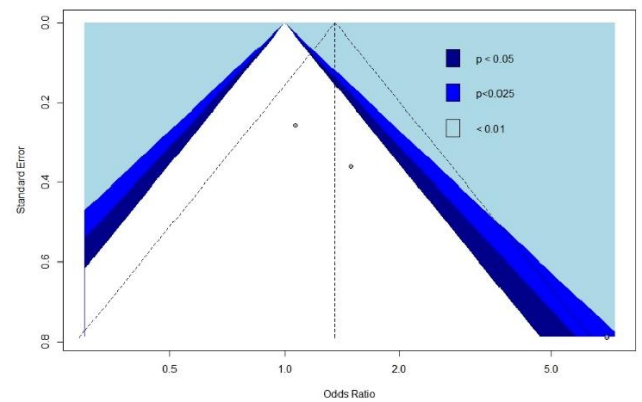
Legenda: Forest plot de comparação entre os grupos alcoolistas versus Controle para o genótipo Val/Val + Ile/Val versus Ile/Ile (A), o genótipo Ile/Val versus genótipo Ile/Ile (B), o genótipo Val/Val versus genótipo Ile/Ile (C) e comparando o genótipo Va/Val versus genótipo Ile/Val mais genótipo Ile/Ile (D), e comparando alelo Val versus alelo Ile (E) no polimorfismo Ile105Val no gene *GSTP1* e alcoolismo na população brasileira.

Gráfico 5: Gráfico de assimetria em funil com comparações genótípicas e alélica do polimorfismo rs1695 do gene *GSTP1*

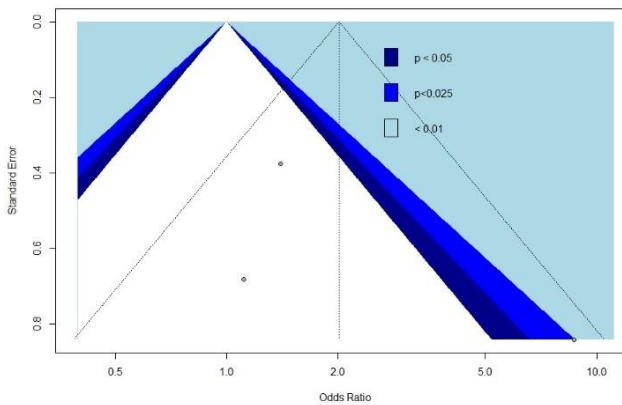
(A)



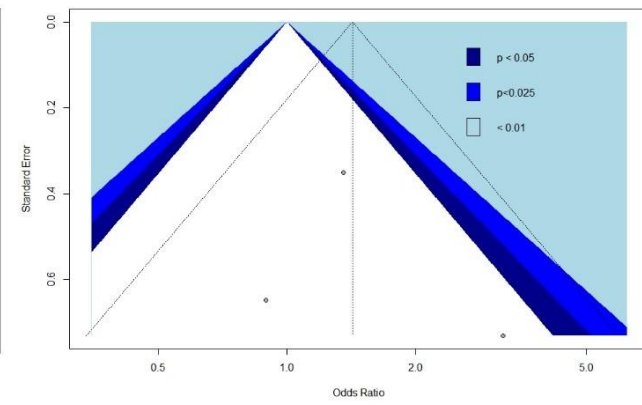
(B)



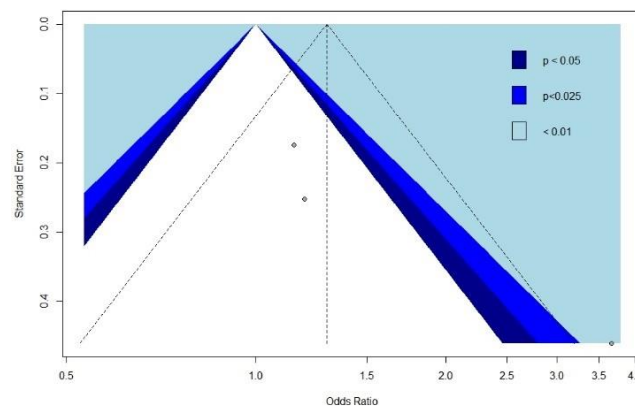
(C)



(D)



(E)



Fonte: Elaboração do autor.

Legenda: Gráficos de funil plot da comparação entre os grupos alcoolistas versus Controle para o genótipo Val/Val + Ile/Val versus Ile/Ile (A), o genótipo Ile/Val versus genótipo Ile/Ile (B), o genótipo Val/Val versus genótipo Ile/Ile (C) e comparando o genótipo Val/Val mais genótipo Ile/Val versus genótipo Ile/Ile (D), e comparando alelo Val versus alelo Ile (E) no polimorfismo Ile105Val no gene *GSTP1* e alcoolismo na população brasileira.

6 CONCLUSÃO

Revisões sistemáticas promovem a elaboração de respostas por meio de protocolos sistemáticos para garantir o peso das evidências. Metodologias qualitativas e quantitativas direcionam linhas de síntese para responder perguntas e resolver problemas. A presente revisão sistemática conclui que, sete genes podem demonstrar forte contribuição para o alcoolismo na população brasileira. O papel desses polimorfismos nas diferentes regiões brasileiras analisadas pode sugerir papéis de proteção ou susceptibilidade ao quadro alcoolista.

Devido ao número de trabalhos incluídos, apenas um polimorfismo Ile > Val (rs1695) foi analisado usando metanálise como estratégia estatística. A metanálise demonstrou que não houve uma associação do polimorfismo *GSTP1* Ile > Val (rs1695) dos modelos de comparações dos genótipos na susceptibilidade ao uso e abuso do álcool na população brasileira.

E quanto as limitações encontradas no estudo da revisão e metanálise foram a heterogeneidade verdadeira e irregularidades nos dados metodológicos sendo que o tamanho do efeito difere de acordo com o tamanho amostral do estudo e desenhos metodológicos pobres de pequenos estudos, respectivamente.

Esse trabalho conclui na importância de investigar o peso das evidências no que diz respeito as variações genéticas associadas com o uso abusivo do álcool no Brasil.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAHMAN, S. Z.; ZEIN, R. A.; ANWAR, W. A.; AU, W. W. A multiplex PCR procedure for polymorphic analysis of *GSTM1* and *GSTT1* genes in population studies. **Cancer Lett**, v. 107, p. 229-233, 1996.
- ABUABARA, K.; FREEMAN, E. E.; DELLAVALLE, R. The Role of Systematic Reviews and Meta-analysis in Dermatology. **J. Invest. Dermatol.**, v. 132, 2012.
- AGUIAR, E. S. **Fatores de risco para câncer de mama e polimorfismos nos genes *GSTM1*, *GSTT1* e *GSTP1* em mulheres participantes de um programa de rastreamento mamográfico em Porto Alegre**. 129 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.
- ASSOCIAÇÃO AMERICANA DE PSIQUIATRIA**. Manual de Diagnóstico e Estatística de Distúrbios Mentais DSM-V. Ed. Artmed: Porto Alegre, 2014.
- BAU, C. H. D.; ALMEIRA, S.; HUTZ, M. H. The TaqI A1 allele of the dopamine D2 receptor gene and alcoholism in Brazil: association and interaction with stress and harm avoidance on severity prediction. **American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)**, v. 96, p. 302-306, 2000.
- BENDEL, D.; HEILS, A.; PETRI, S.; SEEMANN, M.; GLATZ, K.; ANDREWS, A. Gene structure and 5'-flanking regulatory region of the murine serotonin transporter. **Mol. Brain. Res.**, v. 44, p. 286-292, 1997.
- BERMAN, N. G.; PARKER, R. A. Meta-Analysis: neither quick nor easy. **BMC Medical Research Methodology**, v. 2, n. 10, 2002.
- BERNARDINO, A. L.; GUARITA, D. R.; MOTT, C. B.; PEDROSO, M. R. A.; MACHAMO, M. C. C.; LAUDANNA, A. A.; TANI, C. M.; ALMEIDA, F. L.; ZATZ, M. *CFTR*, *PRSS1* and *SPINK1* in the development of pancreatitis in Brazilian patients. **J. Pancreas**. v. 4, p. 169-177, 2003.
- BHATTACHARJEE, P.; PAUL, S.; BANERJEE, M.; PATRA, D.; BANERJEE, P.; GHOSHAL, N.; BANDYOPADHYAY, A.; GIRI, A. K. Functional compensation of glutathione S-transferase M1 (*GSTM1*) null by another GST superfamily member, *GSTM2*. **Scientific Reports**, v. 3, p. 2704, 2013.
- BLASIAK, J.; TRZECIAK, A.; MALECKA-PANAS, E.; DRZEWOSKI, J.; WOJEWODZKA, M. In vitro genotoxicity of ethanol and acetaldehyde in human lymphocytes and the gastrointestinal tract mucosa cells. **Toxicol. In Vitro**, v. 14, p. 287-295, 2000.
- BLUM, K.; NOBLE, E. P.; SHERIDAN, P. J.; JAGADESWARAN, P.; NOGAMI, H.; BRIGGS, A. H.; COHN, J.B. Allelic association of human dopamine DR receptor gene in alcoholism. **JAMA**, v. 263, p. 2055-2060, 1990.
- BONASSI, S.; AU, W. Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. **Mutat. Res.**, v. 511, n. 1, p. 73-86, 2002.
- BORENSTEIN, M.; HEDGES, L. V.; HIGGINS, J. P. T.; ROTHSTEIN, H. R. Introduction to Meta-Analysis. **Chichester: John Wiley & Sons**, 2009.

BORRAS, E.; COUTELLE, C.; ROSELL, A.; FERNANDEZ-MUIXI, F.; BROCH, M.; CROSAS, B., et al. Genetic polymorphism of alcohol dehydrogenase in Europeans: The ADH*2 allele decreases the risk for alcoholism and is associated with ADH3*1. **Hepatology**, v. 31, p. 984-989, 2000.

BRAZILIAN PSYCHOTROPIC DRUG INFORMATION CENTER (CEBRID) (1999). UNIFESP: Boletim CEBRID.

BRUNO, M. J. Current insights into the pathogenesis of acute and chronic pancreatitis. **Scand. J. Gastroenterol.** v. 36, p. 103-108, 2001.

BUHLER, R.; LINDROS, K.; BOUSLAWSKY, K.; KARKKTLINEN, P.; MAKINEN, J.; INGELMAN-SUNDBERG, M. Perivenous expression of ethanol-inducible cytochrome P450 2E1 in livers from alcoholics and chronically ethanol-fed rats. **Alcohol**, v. 1, p. 311-315, 1991.

BURIM, R. V.; CANALLE, R.; MARTINELLI, A. L. C.; TAKAHASHI, C. S. Polymorphisms in glutathione S-transferases *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* and cytochromes P450 *CYP2E1* and *CYP1A1* and susceptibility to cirrhosis or pancreatitis in alcoholics. **Mutagenesis**, v. 19, n. 4, p. 291-298, 2004.

CARSTENSEN, U.; ALEXANDRIE, A., K; HOGSTEDT, B.; RANNUG, A.; BRATT, I.; HAGMAR, L. B- T-lymphocyte micronuclei in chimney sweeps with respect to genetic polymorphism for *CYP1A1* and *GST1* (class Mu). **Mutat. Res.**, v. 289, p. 187-195, 1993.

CASTROAND, D. S. et al. Sociodemographic characteristics associated with binge drinking among Brazilians. **Drug Alcohol Depend.**, v. 126, n. 1-2, p. 272-276, 2012.

CEDERBAUM, A. I. *CYP2E1* – biochemical and toxicological aspects and role in alcohol-induced liver injury. **Advances in Bioactivation Research. Springer, New York**, p. 133-167, 2008.

CHAMBERS, G. K., MARSHALL, S. J., ROBINSON, G. M., MAGUIRE, S.; NEWTON-HOWES, J.; CHONG, N. L. The genetics of alcoholism in Polynesians: Alcohol and aldehyde dehydrogenase genotypes in young men. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 26, p. 949-955, 2002.

CHEN, C. C., LU, R. B., CHEN, Y. C., WANG, M. F., CHANG, Y. C., LI, T. K., et al. Interaction between the functional polymorphisms of the alcohol metabolism genes in protection against alcoholism. **American Journal of Human Genetics**, v. 65, p. 765-807, 1999.

CHEN, K. Organization of MAO A and MAO B promoters and regulation of gene expression. **Neurotoxicology**, v. 25, p. 31-36, 2004.

CHOKET, B.; PAPP, G.; LEVAY, K.; MRACHOVA, G.; KADLUBAR, F. F.; VINCZE, I. Impact of metabolic genotypes on levels of biomarkers of genotoxic exposure. **Mutat. Res.** v. 482, n. 1-2, p. 57-69, 2001.

CLARK, D. B; Children at high risk for underage drinking and alcohol use disorders. Frontlines. Bethesda (MD): **National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism**. 2006.

COHN J. A.; MITCHEL, R. M.; JOWELL, P. S. The role of cystic fibrosis gene mutations in determining susceptibility to chronic pancreatitis. **Gastroenterol. Clin. N. Am.** v. 33, p. 817-821, 2004.

COLLIER, D. A.; STOBBER, G.; LI, T.; HEILS, A.; CATALANO, M.; DI, BELLA, D. A novel functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene: possible role in susceptibility to affective disorders. **Mol. Psychiatry**, v. 1, p. 453-460, 1996.

CONTINI, V.; BERTUZZI, G. P.; POLINA, E. R.; HUNEMEIER, T.; HENDLER, E. M.; HUTZ, M. H.; BAU, C. H. D. A haplotype analysis is consistent with the role of functional *HTR1B* variants in alcohol dependence. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 122, p. 100-104, 2012.

CONTINI, V.; MARQUES, F. Z. C.; GARCIA, C. E. D.; HUTZ, M. H.; BAU, C. H. D. Further support for the association with impulsive behaviors and alcohol dependence. **American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)**, v. 141B, p. 305-308, 2006.

COSTA, M. Z. G.; GUARITA, D. R.; NITA, S. K. O.; NOGUEIRA, J. A.; NITA, M. E.; VEZOZZO, D. C. P.; SOUZA, M. T.; CARMO, E. P.; TEIXEIRA, A. C. S.; CARRILHO, F. J. CFTR polymorphisms in patients with alcoholic chronic pancreatitis. **Pancreatology**, v. 9, p. 173-181, 2009.

CREAIG, S. P.; BUCKLE, V. J.; LAMOUREUX, A.; MALLETT, J.; CRAIG, I. W. Localization of the human dopamine beta hydroxylase (*DHB*) gene to chromosome 9q34. **Cytogenet. Cell Genet.** v. 48, p. 48-50, 1988.

CUNHA, R. M.; MOTT, C. B.; GUARITA, D. R.; PEDROSO, M. R.; JUKEMURA, J.; BACCHELA, T.; CUNHA, J. E.; MACHADO, M. C.; LAUDANNA, A. A. Complications of chronic pancreatitis in São Paulo (Brazil), v. 52, n. 6, p. 306-315, 1997.

CUNNINGHAM, C. C.; VAN HORN, C. G. Energy availability and alcohol-related liver pathology. **Alcohol Res. Health**, v. 27, n. 4, p. 291-299, 2003.

CURIONI, O. A.; CARVALHO, M. B.; DEDIVITIS, R. A.; RAPPORT, A.; GATTAS, G. J. F.; **J. Cancer Ther**, v. 4, p. 978-988, 2014.

CURIONI, O. A; **Polimorfismos genéticos no câncer de cabeça e pescoço: análise de risco e evolução clínica.** 120 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo. 2008.

DICKSON, P. A., JAMES, M. R., HEATH, A. C., MONTGOMERY, G. W., MARTIN, N. G., WHITFIELD, J. B., et al. Effects of variation at the ALDH2 locus on alcohol metabolism, sensitivity, consumption, and dependence in Europeans. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 30, p. 1093-1100, 2006.

DITLOW, C. C.; HOLMQUIST, B.; MORELOCK, M. M.; VALLEE, B. L. Physical and enzymatic properties of a class II alcohol dehydrogenase isozyme of human liver: pi-ADH. **Biochemistry**, v. 23, p. 63-63-6368, 1984.

DOTT-BAU, H. C. Estado atual e perspectivas da genética e epidemiologia do alcoolismo. Current status and perspectives on the genetics and epidemiology of alcoholism. **Pharmacogenetics**, p. 183-190, 2002.

DU, Y.; NIE, Y.; LI, Y.; WAN, Y. J. Y.; The association between the *SLC6A3 VNTR* 9-repeat allele and alcoholism – a meta-analysis. **Alcohol Clin. Exp. Res.** v. 35, p. 1625-1634, 2011.

EDENBERG, H. J.; JEROME, R. E.; LI, M.; Polymorphism of the human alcohol dehydrogenase 4 (ADH4) promoter affects gene expression. **Pharmacogenetics**, v. 9, 25-30, 1994.

ERICHEN, H. C.; CHANOCK, S. J.; SNPs in cancer research and treatment. **British Journal of Cancer**, v. 90, p. 747-751, 2004.

FORD, J. G; Glutathione S-transferase M1 polymorphism and lung cancer risk in African-Americans. **Carcinogenesis**, v. 21, n. 11, p. 1971-1975, 2000.

FREIRE, M. T. M. V.; HUTZ, M. H.; BAU, C. H. D.; The *DBH* -1021 C/T polymorphisms is not associated with alcoholism but possibly with patients' exposure to life events. **Journal of Neural Transmission**, v. 112, p. 1269-1274, 2005.

FUJIKI, K.; ISHIGURO, H.; KO, S, B, H; MIZUNO, N.; SUZUKI, Y.; TAKEMURA, T.; YAMAMOTO, A.; YOSHIKAWA, T.; KITAGAWA, M; HAYAKAWA, T.; SAKAI, Y.; TAKAYAMA, T; SAITO, M.; KONDO, T.; NARUSE, S; Genetic evidence for *CFTR* dysfunction in Japanese: background for chronic pancreatitis. **J. Med. Genet.** v. 41: e55, 2004.

GALIJATOVIC, A; BEATON, D. NGUYEN, N; CHEN, S; BONZO, J; JOHNSON, R; MAEDA, S; KARIN, M; GUENGERICH, F. P; TUKEY, R. H; The Human CYP1A1 Gene Is Regulated in a Development and Tissue-specific Fashion in Transgenic Mice. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 23, p. 23969-23976, 2004.

GARTE, S.; The role of ethnicity in cancer susceptibility gene polymorphisms: the example of *CYP1A1*. **Carcinogenesis**, v. 19, p. 1329-1332, 1998.

GATTÁS, G.J; CARVALHO, M.B; SIRAQUE, M.S; CURIONI, O.A; KOHLER, P; ELUF NETO, J; WUNSCH-FILHO, V; Genetic polymorphisms of *CYP1A1*, *CYP2E1*, *GSTM1*, and *GSTT1* associated with head and neck cancer. **Head Neck**, v. 28, p. 819–826, 2006.

GHOSH, S; BANKURA, B; SAHA, M. L; MAJI, S; GHATAK, S; PATTANAYAK, A. K; SADHUKHAN, S; GUHA, M; NACHIMUTHU, S. K; PANDA, C. K; MAITY, B; DAS, M; **Tumour Biol**, n. 37, p. 9139-9149, 2016.

GINSBERG, G.; ANGLE, K.; GUYTON, K.; SONAWE, B.; **Mutat. Res.** v. 727, p. 1-15, 2011.

GOLAN, D. E. **Princípios da farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia.** 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

GOLONI-BERTOLLO, E. A. et al; Avaliação da influência da nulidade dos genótipos *GSSTT1* e *GSTM1* na carcinogênese em cabeça e pescoço. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 52, n. 5, p. 365-368, 2006.

GREEN, S; Systematic reviews and meta-analysis. **Singapore Med J**, v. 46, p. 270-273, 2005.

GUENGERICH, F. P.; SHIMADA, T.; Oxidation of toxic and carcinogenic chemicals by human cytochrome P-450 enzymes. **Chem. Res. Toxicol.**, v. 4, p. 391-407, 1991.

GUINDALINI, C.; SCIVOLETTO S.; FERREIRA, R. G. M.; NISHIMURA, A.; ZILBERMAN, M. L.; PELUSO, M. A. M.; ZATZ, M.; Association of MAO A polymorphism and alcoholism in Brazilian females. **Psychiatric Genetics**, v. 15, p. 141-144, 2005.

GUINDALINI, C.; SCIVOLETTO, S.; FERREIRA, R. G. M.; BREEN, G.; ZILBERMAN, M.; PELUSO, M. A.; ZATZ M.; Association of genetic variants in alcohol dehydrogenase 4 with alcohol dependence in Brazilian patients. **The American Journal of Psychiatry**, v. 162, p. 1005-1007, 2005.

GUYATT, G; DRUMMOND, R; Parte 1. The basics: using the medical literature. 1A. Introduction: The philosophy of evidence-based medicine. In: Guyatt, G; Rennie, D, eds. *Users Guides to the Medical Literature: A Manual for Evidence-Based Clinical Practice*. **Chicago. AMA Press**, p. 3-22, 2002.

HARRIES, L. W; STUBBINS, M.J; FORMAN, D; HOWARD, G. C; WOLF, C. R; Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. **Carcinogenesis**, v. 18, p. 641-644, 1997.

HARTZ, S. M; BIERUT, L.J; Genetics of addictions. **Psychiatr. Clin. North Am**, v. 33, p. 107-124, 2010.

HAYASHI, S; WATANABE, J; KAWAJIRI, K; Genetic polymorphisms in the 5'-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIIE1 gene. **J. Biochem. (Tokyo)**, v. 110, p. 559-565, 1991a.

HAYASHI, S; WATANABE, J; NAKACHI, K; KAEAJIRI, K; Genetic linkage of lung cancer-associated MspI polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P450IA1 gene. **J. Biochem. (Tokyo)**, v. 110, p. 407-411, 1991b.

HAYES, J. D; PULFORD, D. J. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. **Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol**, v. 30, p. 445-600, 1995.

HEILS, A.; TEUFEL, A.; PETRI, S.; STOBBER, G.; RIEDERER, P.; BENGEL, D.; Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. **J. Neurochem**, v. 66, p. 2621-2624, 1996.

HIGGINS J.; THOMAS, J.; CHANDLER, J.; CUMPSTON, M.; LI, T.; PAGE, M.; WELCH V.; Cochrane Training. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions**. Disponível em <<https://training.cochrane.org/handbook/current>> Acesso em 21 de outubro de 2021.

HIGGINS, J. P. T.; THOMPSON, S. G.; DEEKS, J. J.; ALTMAN D. G.; Cochrane Reviews have recently started including the quantity I^2 to help readers assess the consistency of the results of studies in meta-analyses. What does this new quantity mean, and why is assessment of heterogeneity so important to clinical practice? **Education and debate**, v. 327, p. 557-560, 2003.

HIGGINS, J. P. T.; THOMPSON, S. G.; Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. **Statistics in Medicine**, v. 22, p. 1539-1558, 2002.

HIGGINS, J. P. T.; GREEN, S. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*. **The Cochrane Collaboration**, disponível em <www.cochrane-handbook.org>, 2021.

HIGUCHI, S., MATSUSHITA, S., MURAYAMA, M., TAKAGI, S. & HAYASHIDA, M. Alcohol and aldehyde dehydrogenase polymorphisms and the risk for alcoholism. **The American Journal of Psychiatry**, v. 152, p. 1219-1221, 1995.

HILL, E. M.; STOLTENBERG, S. F.; BULLARD, K. H.; LI, S.; ZUCKER, R. A.; BURMEISTER, M.; Antisocial alcoholism and serotonin-related polymorphisms: association tests. **Psychiatr. Genet.**, v. 12, p. 143-153, 2002.

HIRVONEN, A.; Genetic factor in individual responses to environmental exposures. **J. Occup. Environ. Med.**, v. 37, p. 37-43, 1995.

HOMRICH, L. B. **Genes de enzimas de biotransformação e fissuras lábio palatinas em humanos: um estudo da interação genético-ambiental**. 137 f. Tese (Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

HU, J. J.; SMITH, T.R.; MILLER, M. S.; MOHRENWEISER, H. W.; GOLDEN, A.; CASE, L. D.; **Carcinogenesis**, v. 22, p. 917-922, 2001.

HUANG, C. L; The role of serotonin and possible interaction of serotonin-related genes with alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase genes in alcohol dependence – a review. **Am. J. Transl. Res**, v. 2, p 190-199, 2010.

INGELMAN-SUNDBERG, M; Genetic susceptibility to adverse effects of drugs and environmental toxicants. The role of the CYP family of enzymes. **Mutat. Res.**, v. 482, p. 11-19, 2001.

ISHIKAWA, H.; ISHIKAWA, T.; YAMAMOTO, H.; FUKAO, A.; YOKOYAMA, K.; **Mutat. Res.** v. 615, p. 134-142, 2007.

JOHANSSON, A.S; MANNERVIK, B; Human Glutathione Transferase A3-3, a Highly Efficient Catalyst of Double-bond Isomerization in the Biosynthetic Pathway of Steroid Hormones. **J. Biol. Chem**, v. 276, p. 33061, 2001.

JURONEN, E; TASA, G; UUSKULA, M; POOGA, M; MIKELSAAR, A. V. Purification characterization and tissue distribution of human class theta glutathione S-transferase T1-1. **Biochem. Mol. Bio. Int**, v. 39, p. 21-29, 1996.

KAWAJIRI, K; NAKACHI, K; IMAI, K; YOSHII, A; SHINODA, N; WATANABEM, J; Identification of genetically high-risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P450IA1 gene. **FEBS Lett.**, v. 263, p. 131-133, 1990.

KIMURA, S.; OKABAYASHI, Y.; INUSHIMA, K.; YUTSUDO Y.; KASUGA, M; Polymorphism of cystic fibrosis gene in Japanese patients with chronic pancreatitis. **Dig. Dis. Sci.** v. 45, p. 2007-2012, 2000.

KIRSH, B. M.; LAM, N.; LAYDEN, T.J.; WILEY, T.E. Diagnosis and management of fulminant hepatic failure. **Compr. Ther.** v. 21(4), p. 166-171, 1995.

KJAERHEIM, K; GAAR, M; ANDERSE, A; The role of alcohol, tobacco and dietary factors in upper aerogastric tract cancer: a prospective study of 10,900 Norwegian men. **Cancer Causes Control**, v. 9, p. 99-108, 1998.

KOHNKE, M. D.; BATRA, A.; KOLB, W.; KOHNKE, A. M.; LUTZ, U.; SCHICK S., GAERTNER, I.; Association of the dopamine transporter gene with alcoholism. **Alcohol Alcohol**, v. 40, 339-342, 2005.

KOHNKE, M. D.; ZABETIAN, C. P.; ANDERSON, G. M.; KOLB, W.; GAERTNER, I.; BUCHKREMER, G.; VONTHEIN, R.; SCHICK, S.; LUTZ, U., KOHNKE, A. M.; CUBELLS, J. F.; A genotype-controlled analysis of plasma dopamine B-hydroxylase in health and alcoholic subjects: evidence for alcohol-related differences in noradrenergic function. **Biol Psychiatry**, v. 52, p. 1151-1158, 2002.

KONISH, T.; CALVILLO, M.; LENG, A.; LIN, K.; WAN, Y. Y.; Polymorphisms of the dopamine DR receptor, serotonin transporter, and GABAA receptor B3 subunit genes and alcoholism in Mexican-Americans. **Alcohol**, v. 32, p. 45-52, 2004.

KUO, P., KALSI, G., PRESCOTT, C. A., HODGKINSON, C. A., GOLDMAN, D., van den Oord, E. J., et al. Association of ADH and ALDH genes with alcohol dependence in the Irish Affected Sib Pair Study of alcohol dependence (IASPSAD) sample. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 32, p. 785-795, 2008.

LANDI, S; Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: A review. **Mutation Research – Reviews in Mutation Research**, v. 463, n. 3, p. 247-283, 2000.

LAPPALAINEN, J.; LONG, J. C.; EGGERT, M.; OZAKI, N.; ROBIN, R. W.; BROWN, G. L.; NAUKKARINEN, H.; VIRKKUNEN, M.; LINNOILA, M.; GOLDMAN, D.; Linkage of antisocial alcoholism to the serotonin 5-HT1B receptor gene in 2 populations. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 55, p. 989-994, 1998.

LE STRAT, Y.; RAMOZ, N.; PICKERING, P.; BURGER, V.; BONI, C.; AUBIN, H. J.; ADES, J.; BATEL, P., GORWOOD, P.; The 3' part of the dopamine transporter gene *DAT1/SLC6A3* is associated with withdrawal seizures in patients with alcohol dependence. **Alcohol Clin. Exp. Res**, v. 32, p. 27-35, 2008.

LEE, M, Y; MUKHERJEE, N; PAKSTIS, A. J; KHALIQ, S; MOHYUDDIN, A; MEHDI, S. Q; SPEED, W. C; KIDD, J. R; KIDD, K. K; Global patterns of variation in allele and haplotype frequencies and linkage disequilibrium across the *CYP2E1* gene. **Pharmacogenomics J**, v. 8 (5), p. 349-356, 2008.

LEMOS, S. I. A.; **Estudo de associação de polimorfismos dos genes GSTM1, GSTT1 e GSTP1 com susceptibilidade ao uso abusivo do álcool em uma população do nordeste brasileiro**. 2016. Dissertação de Mestrado (Ciências Biomédicas). Universidade Federal do Piauí.

LESH, K. P.; BAILLING, U.; GROSS, J.; STRAUSS, K.; WOLOZIN, B. L.; MURPHU, D. L.; Organization of the human serotonin transporter gene. **J. Neural Transm. Gen. Sect**, v. 95, p. 157-162, 1994.

LEWIS, D. F; IOANNIDES, C; PARKE, D. V.; Cytochromes P450 and species differences in xenobiotic metabolism and activation of carcinogen. **Environmental Health Perspect**, v. 106, p. 633-641, 1998.

LI, N., CHANG, W. C., WARUI, D. M., BOOKER, S. J., KREBS, C., & BOLLINGER, J. C. Evidence for only oxygenative cleavage of aldehydes to alk(a/e)nes and formate by cyanobacterial aldehyde decarbonylases. **Biochemistry**, v. 51, p. 7908-7916, 2012.

LIBERATI, A; ALTMAN, D. G; TETZLAFF, J; MULROW, C; GOTZSCHE, P. C; IONNIDIS, J.P et al; The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. **BMJ**, 339: b2700, 2009.

LIEBER, C. S. Alcoholic liver injury: pathogenesis and therapy in 2001. **Pathol Biol (Paris)**, v. 49(9), p. 738-752, 2001.

LIEBER, C. S. Gastric ethanol metabolism and gastritis: interactions with other drugs, *Helicobacter pylori*, and antibiotic therapy (1957-1997) – a review. **Alcohol Clin. Exp. Res.** V. 21(8), p. 1360-1366, 1997.

LIEBER, C. S. Relationships between nutrition, alcohol use, and liver disease. **Alcohol Res. Health.** V. 27(3), p. 220-231, 2003.

LODISH, H.; BERK, A.; ZIPURSKY, S. L.; MATSUDAIRA, P.; BALTIMORE, D.; DARNELL, J.; Análise genética em biologia molecular. In: Nader HB, ed. **Biologia celular e molecular**. Rio de Janeiro: Revinter, p. 255-293, 2002.

LOWENFELS, A. B.; MAISONNEUVE, P. Epidemiology and risk factors for pancreatic cancer. **Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.** V. 20(2), p. 191-209, 2006.

LYON, E.; MILLER, C.; Current challenges in cystic fibrosis screening. **Arch. Pathol. Lab. Med.** v. 127, p. 1133-1139, 2003.

MAFFEI, F.; FIMOIGNARI, C.; CASTELLI, E.; STEFANINI, G.F.; FORTI, G. C.; HRELIA, P.; **Mutagenesis**, v. 7, p. 517-23, 2000.

MAFFEI, F; FORTI, G.C; CASTELLI, E; STEFANINI, G. F; MATTIOLI, S; HRELIA, P. Biomarkers to assess the genetic damage induced by alcohol abuse in human lymphocytes. **Mutation Research**, v. 514, p. 49-58, 2002.

MANCA, M.; PESSOA, V.; LOPEZ, A. I.; HARRISON, P. T.; MIYAJIMA, F.; SHARP, H.; PICKLES, A.; HILL, J.; MURGATROYD, C.; BUBB, V. J.; QUINN, J. P.; The regulation of monoamine oxidase A gene expression by distinct variable number tandem repeats. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 64, p. 459-470, 2018.

MANN, R. E; SMART, R. G.; GOVONI, R. The epidemiology of alcoholic liver disease. **Alcohol Res. Health.** v. 27(3), p. 209-219, 2003.

MARQUES, F. Z. C.; HUTZ, M. H.; BAU, C. H. D.; Influence of the serotonin transporter gene on comorbid disorders among alcohol-dependent individuals. **Psychiatric Genetics**, v. 16, p. 125-131, 2006.

MARSANO, L. S.; MENDEZ, C.; HILL, D.; BARVE, S.; MCCLAIN, C.J. Diagnosis and treatment of alcoholic liver disease and its complications. **Alcohol Res. Health.** v. 27(3), p. 247-256, 2003.

McBRIDE, O. W.; UMENO, M.; GELBOIN, H. V.; GONZALEZ, F. J. A TaqI polymorphism in the human P450IIE1 gene on chromosome 10 (*CYP2E1*). **Nucleic Acids Res.**, v. 15, p. 10071, 1987.

McPHERSON, J. D.; SMITH, M.; WAGNER, C.; WASMUTH, J. J.; HOOG, J. O.; Mapping of the class II alcohol dehydrogenase gene locus to 4q22 (abstract). **Cytogenet Cell Genet.**, v. 51, p. 1043, 1989.

MELO, C. O. A.; VIEIRA, T. C.; GIGONZAC, M. A. D.; FORTES, J. S.; DUARTE, S. S. M.; CRUZ, A. D.; SILVA, D. M.; Evaluation of polymorphisms in repair and detoxification genes in alcohol drinkers and non-drinkers using capillary electrophoresis. **Electrophoresis Journal**, v. 41, p. 254-258, 2019.

MICHELHAUGH, S. K.; FISHERSTRAND, C.; LOVEJOY, E.; BANNON, M. J.; QUINN, J. P.; The dopamine transporter gene (*SLC6A3*) variable number of tandem repeats domain enhances transcription in dopamine neurons. **J. Neurochem**, v. 79, p. 1033-1038, 2001.

MIGNONE, F.; GISSI, C.; LIUNI, S.; PESOLE, G.; Untranslated regions of mRNAs. **Genome Biol 3: REVIEWS0004**.

MILLER, G. M.; MADRAS, B. K.; Polymorphisms in the 3' -untranslated region of human and monkey dopamine transporter genes affect reporter gene expression. **Mol. Psychiatry**, v. 7, p.44-55, 2002.

MILLER, M. C.; MOHRENWEISER, H. W.; BELL, D. A. Genetic variability in susceptibility and response to toxicants. **Toxicology Letters**. v. 120, p.269-280, 2001.

Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Ciência e Tecnologia. Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados. **Brasília: Editora do Ministério da Saúde**, 2012.

MOHER, D.; SHAMSEER, L.; CLARKE, M.; GHERSI, D.; LIBERATI, A.; PETTICREW, M.; SHEKELLE, P.; STEWART, L. A.; PRISMA-P GROUP. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. **Systematic Reviews**, v. 4, p. 1-9, 2015.

MONAGHAN K. G.; JACKSON, C. E.; KUKURUGA, D. L.; FELDMAN, G. L.; Mutation analysis of the cystic fibrosis and cationic trypsinogen genes in patients with alcohol related pancreatitis. **Am. J. Med. Genet**, v. 94, p. 120-124, 2000.

MYERS, R. I.; AIREY, D. C.; MANIER, D. H.; SHELTON, R. C.; SANDERS-BUSH, E.; Polymorphisms in the regulatory region of the human serotonin 5HT- 2A receptor gene (*HTR2A*) influence gene expression. **Biol. Psychiatry**, v. 61, p. 167-173, 2007.

NAIR, R. R; KHANNA, A; SINGH, K; Association of GSTT1 and GSTM1 polymorphisms with early pregnancy loss in an Indian population and a meta-analysis. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 26, p. 313-322, 2013.

NERVERT D. W.; VASILIOU, V.; Analysis of the glutathione S-transferase (*GST*) gene family. **Human genomics**, v. 1, n. 6, p. 460-464, 2004.

NEUMARK, Y. D., FRIEDLANDER, Y., THOMASSON, H. R., & LI, T. K. Association of the ADH2*2 allele with reduced ethanol consumption in Jewish men in Israel: A pilot study. **Journal of Studies on Alcohol**, v. 59, p. 133-139, 1998.

NG, K.H; PEH, W.C.G; Writing a systematic review. **Singapore Med J**, v. 51, n° 5, p. 362-366, 2010.

NISSAR, S.; SAMEER, A. S.; RASOOL, R.; CHOWDRI, N. A.; RASHID, F.; **Asian Pac. J. Cancer Prev.** v. 16, p. 6385-6390, 2015.

NOBLE, E. P.; D2 dopamine receptor gene in psychiatric and neurologic disorders and its phenotypes. **Am J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.** v. 116, p. 103-125, 2003.

OMS. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global status report on alcohol and health.** Geneva, 2014.

OMS. WORLD HEALTH ORGANIZATION. The ICD-10. **Classification of Mental and Behavioral Disorders Diagnostic criteria for research.** Geneva, 1992.

OSBY, U; LILJENBERG, J; KOCKRUM, I; GUNNAR, A; TERENIUS, L; Genes and alcohol. **Eur. Psychiatry**, v. 25, p. 281-283, 2010.

PANDYA, U; Activity of allelic variants of Pi class human glutathione S-transferase toward chlorambucil. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 278, n. 1, p. 258-262, 2000.

PAREDES, U. M.; QUINN, J. P.; D'SOUZA, U. M.; Allele-specific transcriptional activity of the variable number of tandem repeats in 5' region of the *DRD4* gene is stimulus specific in human neuronal cells. **Genes Brain Behav**, v. 12, p. 282-287, 2013.

PARL, F. F. Glutathione S-transferase genotypes and cancer risk. **Cancer Lett**, v. 221 (2), p. 123-129, 2005.

PARSONS, M. J.; D1SOUZA, U. M.; ARRANZ, M. -J.; KERWIN, R.W.; MAKOFF, A.J.; The -1438A/G polymorphism in the 5-hydroxytryptamine type 2A receptor gene affects promoter activity. **Biol. Psychiatry**, v. 56, p. 406-410, 2004.

PAVANELLO, S.; CLONFERO, E., Biological indicators of genotoxic risk and metabolic polymorphisms. **Mutat. Res.**, v. 463, p. 285-308.

PETERS, J. L.; SUTTON, A. J.; JONES, D. R.; ABRAMS, K. R.; RUSHTON, L.; Contour-enhanced meta-analysis funnel plots help distinguish publication bias from other causes of asymmetry. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 61, p. 991-996, 2008.

POLESSKAYA, O. O.; SOKOLOV, B. P.; Differential expression of the "C" and "T" alleles of the 5-HTR2A receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. **J. Neurosci. Res**, v. 67, p. 812-822, 2002.

PONCE, G.; PEREZ-GONZALES, R.; ARAGUÉS, M.; PALOMO, T.; RODRIGUEZ-JIMÉNES, R.; JIMENEZ-ARRIERO, M. A.; HOENICKA, J.; The ANKK1 kinase gene and psychiatric disorders. **Neurotox. Res.** v. 16, p. 50-59, 2009.

PÖSCHL, G; SEITZ, H. K.; Alcohol and cancer. **Oxford Journals**, vol. 39, n. 3, p. 155-165, 2004.

PRASAD, P.; AMBEKAR, A.; VASWANI, M.; Case-control association analysis of dopamine receptor polymorphisms in alcohol dependence: a pilot study in Indian males. **BMC Res Notes**. v. 6, p. 1-6, 2013.

RAMAMOORTHY, S.; BAUMAN, A. L.; MOORE, K. R.; HAN, H.; YANG-FENG, T.; CHANG, A. S.; Antidepressant and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization. **Proc. Natl. Acad. Sci USA**, v. 90, p. 2542-2546, 1993.

RAMCHANDANI, V. A., et al; Genetics of alcohol metabolism. In: **WATSON, R. R. (Ed.), Alcohol, Nutrition and Health Consequences. Humana Press, New York**, p. 15-25, 2013.

RAMOS, J. S. A.; ALVES, A. A.; LOPES, M. P.; PEDROSO, T. M. A.; FELÍCIO, L. P.; CARVALHO, W. F.; FRANCO, F. C.; MELO, C. O. A.; GONÇALVES, M. W.; SOARES, T. N.; CRUZ, A. D.; SILVA, D. M.; DNA damage in peripheral blood lymphocytes and association with polymorphisms in the promoter region of the *CYP2E1* gene in alcoholics from Central Brazil. **Alcohol**, 2016.

RAMOS, J. S. A.; FELÍCIO, L. P.; ALVES, A. A.; LOPES, M. P.; SOARES, T. N.; SILVA, D. M.; Unraveling *CYP2E1* haplotypes in alcoholics from Central Brazil: A comparative study with 1000 genomes population. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 62, p. 30-39, 2018.

RAMOZ, N; Genetic and pharmacogenomic aspects of alcohol-dependence. **Current Pharmacogenomics**, v. 4, p. 19-31, 2006.

RISCH, N. J.; Searching for genetic determinants in the new millennium. **NATURE**, v. 405, p. 847-856.

ROCHAMBEAU, H.; FOURNET-HANOCQ, F.; KHANG, J. V. T.; Measuring and managing genetic variability in small populations. **Annales de zootchnie, INRA/EDP Sciences**, v. 49, n. 2, p. 77-93, 2000.

ROEVER, L.; Avaliação Crítica de Artigos na Área da Saúde: Guia Prático / Leonardo Roever. Ed.1. Rio de Janeiro – RJ: **Thieme Revinter Publicações**, 2021.

ROEVER, L.; Guia Prático de Revisão Sistemática e Metanálise / Leonardo Roever. Ed.1. Rio de Janeiro – RJ: **Thieme Revinter Publicações**, 2020.

ROEVER, L; ZOCCAI G. B; Critical Appraisal of Systematic Reviews and Meta-analyses. **Evidence Based Medicine and Practice**, 1 (1): e106, 2015.

ROGENESS, G. A.; MAAS, J. W.; JAVORS, M. A.; MACEDO, C.A.; FISCHER, C.; HARRIS, W. R.; Attention deficit disorder symptoms and urine catecholamines. **Psychiatry Res**, v. 27, p. 241-251, 1989.

RYBERG, D; SKAUG, V; HEWER, A; PHILLIPS, D. H; HARRIES, L. W; WOLF, C. R; OGREID, D; ULVIK, A; VU, P; HAUGEN, A; Genotypes of glutathione transferase M1 and P1 and their significance for lung DNA adduct levels and cancer risk. **Carcinogenesis**, v. 18, p. 1285-1289, 1997.

SABOL, S. Z., HU, S., HAMER, D; A functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter. **Hum. Genet**, v. 103, p. 273-279, 1998.

SANDER, T.; HARMS, H.; PODSCHUS, J.; FINCKH, U.; NICKEL, B.; ROLFS, A.; ROMMLSPACHER, H.; SCHIMIDT, L. G.; Allelic association of a dopamine transporter gene polymorphism in alcohol dependence with seizures or delirium. **Biol. Psychiatry**, v. 42, p. 299-304, 1997.

SANDERS, A. R.; DUAN, J.; GEJMAN, P. V.; DNA variation and psychopharmacology of the human serotonin receptor 1B (HTR1B) gene. **Pharmacogenomics**, v. 3, p. 745-762, 2002.

SCHNEIDER, J.; CLASSEN, V.; HELMING, S.; **Expert Rev. Mol. Diagn.** v. 8, p. 761-780, 2008.

SENTHILKUMAR, K. P; THIRUMURUGAN, R. Risk Modulation of GSTM1 – GSTT1 interactions to Head and Neck Cancer in tobacco users. **Mol. Bio. Rep.**, v. 41, n. 9, p. 5635-5644, 2014.

SILVA JUNIOR, F. C.; ARAUJO, R. M. L.; SARMENTO, A. S. C.; CARVALHO, M. M.; FERNANDES, H. F.; YOSHIOKA, F. K. N.; PINTO, G. R.; MOTTA, F. J. N.; CANALLE, R.; The association of A-1438G and T102C polymorphisms in *5HTR2A* and 120 bp duplication in *DRD4* with alcoholic dependence in a northeastern Brazilian male population. **Gene Reports**, v. 21, 2020.

SMITH, L.; WATSON, M.; GATES, S.; BALL, D.; FOXCROFT, D.; Meta-analysis of the association of the T polymorphism with the risk of alcohol dependency: a Huge gene-disease association review. **Am J. Epidemiol**, v. 167, p. 125-138, 2008.

SOARES, J. P.; CORTINHAS, A.; BENTO, T.; LEITÃO, J. C.; COLLINS, A. R.; GAIVÃ, I.; MOTA, M. P.; **Aging**, v. 6, p. 423-239, 2014.

STANDOP, J; ULRICH, A. B; SCHNEIDER, M. B; BUCHLER, M. V; POUR, P. M.; Differences in the expression of xenobiotic-metabolizing enzymes between islets derived from the ventral and dorsal anlage of the pancreas. **Pancreatology**, v. 2, p. 510-518, 2002.

STERNE, J. A.; EGGER, M.; Funnel plots for detecting bias in meta-analysis: Guidelines on choice of axis. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 54, p. 1046-1055, 2001.

STRANGE, R. C et al; Glutathione S-transferase family of enzymes. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 482, n. 1-2, p. 21-26, 2001.

SUN, H. F.; CHANG, Y. T.; FANN, C. S.; CHANG, C. J.; CHEN, Y. H.; HSU, Y. P.; YU, W. Y.; CHENG, A. T.; Association study of novel human serotonin 5-HT(1B) polymorphisms with alcohol dependence in Taiwanese Han. **Biol. Psychiatry**, v. 51, p. 896-901, 2002.

SURAJ-SINGH, H.; GHOSH, P. K.; SARASWATHY, K. N; *DRD2* and *ANKK1* gene polymorphism and alcohol dependence: a case-control study among a mendelian population of East Asian ancestry. **Alcohol Alcohol**, v. 4, p. 409-414, 2013.

SUTTON, A. J.; ABRAMS, K. R.; JONES, D. R.; SHELDON, T. A.; SONG, F.; Methods for Meta-Analysis in Medical Research. **Chichester: John Wiley & Sons**; 2000.

TAKAHASHI, T.; LASKER, J. M.; ROSMAN, A. S.; LIEBER, C. S.; Induction of cytochrome P-450E1 in the human liver by ethanol is caused by a corresponding increase in encoding messenger RNA. **Hepatology**, v. 17, p. 236-245, 1993.

TEFRE, T.; RYBERG, D.; HAUGEN, A.; NEBERT, D. W.; SKAUG, V.; BROGGER, A.; BORRESEN, A. L.; Human *CYP1A1* (cytochrome P1450 gene: lack of association between the MspI restriction fragment length polymorphism and incidence of lung cancer in a Norwegian population. **Pharmacogenetics**, v. 1, p. 20-25, 1991.

TEIXEIRA, T. M.; SILVA, H. D.; GOVEIA, R. M.; RIBOLLA, P. E. M.; ALONSO, D. P.; ALVES, A. A.; SILVA, D. M.; COLLEVATTI, R. G.; BICUDO, L. A.; BÉRGAMO, N. A.; LACERDA, E. P. S.; First description and evaluation of SNPs in the *ADH* and *ALDH* genes in a population of alcoholics in Central-West Brazil. **Alcohol**, v. 65, p. 37-43, 2017.

TSUTSUMI, M.; TAKADA, A.; WANG, J. S.; Genetic polymorphisms of cytochrome P450E1 related to the development of alcoholic liver disease. **Gastroenterology**, v. 107, p. 1430-1435, 1994.

VASCONCELOS, A. C. C. G.; NETO, E. S. R.; PINTO, G. R.; YOSHIOKA, F. K. N.; MOTTA, F. J. N.; VASCONCELOS, D. F. P.; CANALLE, R.; Association study of the *SLC6A3* VNTR (DAT) and *DRD2 / ANKK1* Taq1A polymorphisms with alcohol dependence in a population from Northeastern Brazil. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, nº 2, v. 39, p. 205-211, 2015.

VOGEL, C. I. G.; **Estudo Citogenético e Molecular em uma População de Alcoolistas**. 74 f. Tese (Doutorado em Genética) Faculdade de Medicina Departamento de Genética, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

WALL, T. L., SHEA, S. H., LUCZAK, S. E., COOK., T. A., & CARR, L. G. Genetic association of alcohol dehydrogenase with alcohol use disorders and endophenotypes in white college students. **Journal of Abnormal Psychology**, v. 114, p. 456-465, 2005.

WALL, T. L.; CARR, L. G.; EHLERS, C. L.; Protective association of genetic variation in alcohol dehydrogenase with alcohol dependence in Native American Mission Indians. **Am. J. Psychiatry**, v. 160, p. 41-46, 2003.

WANG, L. X.; WEN, S.; WANG, C. C.; ZHOU, B.; LI, H.; Molecular adaptation of alcohol metabolism to agriculture in East Asia. **Quant. Int**, p. 1-8, 2016.

WANG, S. M.; ZHU, A. P.; Li, D.; WANG, Z.; ZHANG P.; ZHANG G. L.; Frequencies of genotypes and alleles of the functional SNPs in *CYP2C19* and *CYP2E1* in mainland Chinese Kazakh, Uygur and Han populations. **J Hum Genet**, v. 54, p. 372-375, 2009.

WANG, T. J.; HUANG, S. Y.; LIN, W. W.; LO, H.Y.; WU, P. L.; WANG, Y. S.; WU, Y. S.; KO, H. C.; SHIH, J. C.; LU, R. B.; Possible interaction between *MAOA* and *DRD2* genes associated with antisocial alcoholism among Han Chinese men in Taiwan. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 31, p. 108-114, 2007.

WHITCOMB, D. C.; Value of genetic testing in the management of pancreatitis. **Gut**. v. 53, p. 1710-1717, 2004.

WIENCKE, J. K; Human glutathione S-transferase deficiency as a marker of susceptibility to epoxide-induced cytogenetic damage. **Cancer**, v. 50, p. 1585-1590, 1990.

WU, D.; CEDERBRAUM, A. I. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. **Alcohol Res. Health**. v. 27(4), p. 277-84, 2003.

YE, Z.; SONG, H.; HIGGINS, J. P.; PHAROAH, P.; DONESH, J.; Five glutathione s-transferase gene variant in 23,452 cases of lung cancer and 30,397 controls: meta-analysis of 130 studies. **PloS Med**, v. 3, e91, 2006.

ZAVRAS, A.I; Wu, T; LASKARIS, G; WANG, Y.F; CARTSOS, V; SEGAS, J; LEFANTZIS, D; JOSHIPURA, K; DOUGLAS, C.W; DIEHL, S.R; Interaction between a single nucleotide polymorphism in the alcohol dehydrogenase 3 gene, alcohol consumption and oral cancer risk. **Int J Cancer**, v. 97, p. 526–530, 2002.

ZIEGELMANN, P. K; **Metanálise MTC: O uso combinado de evidência direta e indireta na comparação de múltiplos tratamentos**. In: 19º SINAPE, São Pedro, SP, Brasil, p. 26-30, 2010.

ZIMA, T. Ethanol metabolism and pathobiochemistry of organ damage-1992. I. Metabolism of ethanol by alcohol dehydrogenase, cytochrome P450IIE1 and catalase. **Sb. Lek.**, v. 94, p. 281-287, 1993.