

Addiction science and its genetics

David Ball

Institute of Psychiatry, King's College London, De Crespigny Park, London, UK
Addiction, 103, 360–367

A natureza familiar da dependência vem sendo reconhecida há tempos. Até mesmo o reverendo Robert Burton (1577-1640), em uma sub-seção de sua obra literária *A Anatomia da Melancolia* intitulada “Pais: a causa por propagação”, cita o antigo historiador, ensaísta e biógrafo grego Plutarch (~46 -113) “ebrii gignunt ebrios” (um bêbado torna-se pai de um outro). Enquanto a natureza familiar da dependência é aceita casualmente, a proporção atribuível à genética tem sido mais controversa. Em casos, a contribuição da genética tem sido supervalorizada pela mídia, com manchetes do tipo “genes e tônica: a ciência prova que alcoolistas não podem evitar” ou “nascido na garrafa”. Esta visão de que um único gene pode ser atribuível à dependência é muito diferente da visão atual, mais complexa, compartilhada por muitos estudiosos no assunto. Atualmente acredita-se que genes múltiplos interagem com fatores ambientais em estágios diferentes durante o desenvolvimento da dependência. Essas simplificações da mídia, combinados com a percepção da falta de um achado mais robusto de um gene, fundido com uma crença residual que a dependência é uma condição moral, tem contribuído para um certo descrédito da abordagem genética da dependência. A proposta desta revisão foi a de explorar a evidência de que genes estão envolvidos na dependência, e que após a revisão da evidência, traçar as tentativas de identificação de um gene específico e com isso validar esta abordagem como um meio de identificar com fator contribuinte, porém não causal.

Dependência é uma condição familiar; Quanto disso é relacionado aos genes?

Observações de que a dependência é uma questão familiar foram comprovadas por estudos de famílias, nos quais o risco de desenvolver problemas relacionados ao álcool aumenta tanto com a proximidade e com o número de parentes afetados. Entretanto, essa ‘familiaridade’, apesar de consistente não pode ser considerada prova de um modo de propagação genética. Estudos de adoção têm dado grande apoio ao fato

que a genética seria responsável parcialmente por esta familiaridade. Estes experimentos naturais transportam um indivíduo de alto risco devido à predisposição da influência ambiental dos pais biológicos para um ambiente adotivo novo e potencialmente protetor. Por exemplo, o estudo realizado por Guze et al, Indicou um aumento de quatro vezes no risco de desenvolver alcoolismo naqueles com um dos pais biológicos afetados por esta condição, quando comparado com aqueles sem tal acometimento. A razão de alcoolismo entre adotados é aproximadamente a mesma daquela encontrada em irmãos criados pelos pais biológicos, portanto a adoção não parece prover nenhum efeito protetor.

Estes estudos de adoções contribuem com fortes evidências do papel dos genes na dependência e experimentos naturais adicionais, na forma de estudos comparativos de gêmeos nos dão a oportunidade de quantificar a sua importância relativa. Estudos de gêmeos comparam as proporções da co-ocorrência, a concordância, entre gêmeos idênticos, monozigóticos, e gêmeos dizigóticos. Gêmeos monozigóticos são clones genéticos. Se uma condição é considerada genética, seria esperado que mais indivíduos com problemas de dependência seriam afetados em gêmeos monozigóticos quando comparados com dizigóticos, e realmente este tem sido o achado na maioria dos estudos em gêmeos que estudam a dependência. Além disso, em se comparar as diferenças na concordância entre Gêmeos monozigóticos e dizigóticos é possível fazer uma estimativa aproximada da força relativa à contribuição genética, ou seja, a herdabilidade. Estas estimativas variam muito, porém a dependência de álcool geralmente é dada como 50% para Homens e 25% para Mulheres. Da mesma forma, iniciação ao fumo e sua persistência também apresentam uma influência da herdabilidade, quantificada em aproximadamente 50%. O inventário *Vietnam Era Twin* (VET) foi fonte de estimativas de herdabilidade entre 25% e 44% para abuso de várias substâncias, incluindo: canabis, opióides, psicodélicos, estimulantes e sedativos, enquanto o *Virginia Twin Studies* forneceu estimativas que eram o dobro do estudo VET, com números relativos a mulheres próximos aos números dos homens. Estas discrepâncias devem-se em parte a diferenças entre as duas populações, como por exemplo, exposição à droga.

IDENTIFICANDOS OS GENES ENVOLVIDOS NA DEPENDÊNCIA

Após estabelecermos o papel dos genes na dependência, qual abordagem tem sido empregada para identificar quais genes estão envolvidos, e quanto progresso foi alcançado? Duas abordagens principais na genética molecular têm sido adotadas para procurar tais genes que possam ter alguma contribuição com a dependência: vínculo e associação. Estas abordagens não são mutuamente excludentes, por exemplo, regiões genéticas identificadas por vínculo podem ser refinadas subsequentemente por associação e a diferença genética causal identificada.

Vínculo

Utiliza uma abordagem baseada em *pedigree*. Geralmente, para um estudo de vínculo, são necessárias amostras de DNA de familiares que são afetadas de maneira múltipla pela dependência. Utilizando-se aproximadamente 300 marcadores, ou seja, segmentos de DNA que podem variar de pessoa para pessoa por tamanho ou seqüência, todo o complemento genético pode ser triado para a condição em observação no estudo. Estudos de vínculo podem identificar genes envolvidos em condições que a priori não existiria nenhuma razão para suspeitar alguma contribuição. A análise desta abordagem é extremamente complexa, utilizando-se de programas de computador desenhados para identificar diferenças estatisticamente significativas de co-herdabilidade entre um marcador e a condição entre familiares. Se um vínculo é detectado, isto quer dizer que gene ou genes que contribuem para a dependência estão na proximidade do marcador, portanto esforços para identificar quais das muitas possibilidades se faz importante. Essencialmente, o vínculo é sistemático, cobrindo todo genoma humano, e tem se provado uma abordagem excelente para identificar contribuições genéticas para doenças como a coréia de Huntington, entretanto, e menos útil quando as contribuições genéticas são relativamente pequenas e mascaradas com um ambiente de interações genéticas complexas.

Achados por vínculo e a dependência

Vários estudos por vínculo da dependência de álcool foram feitos nos EUA. O estudo multicêntrico intitulado '*Collaborative Study on the Genetics of Alcoholism*' (COGA) usou amostras de 987 indivíduos de 105 famílias com múltiplas gerações. O estudo achou evidência sugestiva de genes envolvidos com a dependência do álcool nos cromossomos 1 e 7, com evidência modesta para o cromossomo 2 e um locus protetor no cromossomo 4, na região dos genes do cluster da álcool desidrogenase (ADH). Entretanto, estes achados originais não foram consistentes com resultados posteriores de uma amostra de replicação.

Um segundo estudo nos EUA, empregando uma amostragem menor, aumentou as chances de identificar o vínculo utilizando uma população mais homogênea, para ser mais exato a população indígena americana. Esta amostra consistia de 152 sujeitos de 32 núcleos familiares inter-relacionados. A evidência de vínculo foi identificada no cromossomo 4, próximo ao cluster das subunidades genéticas do ácido gama-aminobutírico (GABA), e no cromossomo 11 perto dos genes dos receptores dopaminérgicos e da tirosina Hidroxylase.

Outra abordagem por vínculo emprega pares de irmãos, ambos afetados, e a análise de vínculo subsequente deu grande apoio que o loci genético envolvido no alcoolismo nos cromossomos 1, 2, 6, 7, 10, 12, 14,16 e 17. Um estudo mais recente utilizando-se da mesma estratégia, feito em uma população irlandesa, demonstrou evidência em duas regiões do cromossomo 9 envolvidas com a idade de início de uso. Regiões sugestivas envolvidas na resposta inicial ao álcool foram reportadas nos cromossomos 1 e 11, enquanto tolerância foi vinculada a regiões nos cromossomos 1,6 e 22. A quantidade máxima de bebida foi vinculada a regiões do cromossomo 12 e 18, e sintomas de dependência com o cromossomo 2. Similarmente, um outro estudo utilizando índios americanos não identificou nenhum vínculo com a dependência de álcool, entretanto a gravidade do uso de álcool foi vinculado a regiões dos cromossomos 4 e 12, enquanto sintomas de abstinência foram vinculados a regiões dos cromossomos 6,15 e 16.

Estudos por vínculo são a melhor abordagem para estudar dependência?

Até o momento, estudos por vínculo não têm fornecido a sua promessa inicial de identificar as regiões envolvidas com a dependência. Entretanto, como dito anteriormente, este modelo é melhor utilizado em condições nas quais os genes têm um efeito maior, e provavelmente os genes relacionados com a dependência estão abaixo do limiar de detecção desta técnica.

ASSOCIAÇÃO

Esta abordagem parece ser mais própria para o estudo da dependência, visto que esta pode detectar genes com efeitos relativamente pequenos, que contribuem em cerca de 2% da variância. Estudos por associação dependem da mudança genética que ocorre muitas gerações anteriores ao surgimento de uma condição em um indivíduo. Gradualmente entre as gerações, através de recombinações do material genético, as variantes genéticas que estão mais afastadas da diferença genética que conferem a vulnerabilidade a dependência, ficam dissociadas desta. Aqueles marcadores que estão muito próximos à variação genética raramente são dissociados desta, portanto as versões destes marcadores se mantêm a mesma. Portanto estes, juntamente com a vulnerabilidade causada pela variação genética serão herdados como um bloco, e como resultado pode ocorrer uma diferença na frequência daquela condição, quando comparada com o não afetado. Estas diferenças podem ser testadas para significância estatística pelo uso de um simples teste de chi quadrado.

Amostras de associação consistem em indivíduos aparentemente sem nenhuma relação, apesar de que o método é baseado no fato de que os indivíduos têm algum tipo de parentesco em gerações passadas. A distribuição de variantes dos marcadores genéticos é comparada entre aqueles com e sem a condição estudada. Caso uma diferença estatisticamente significativa é identificada, e estes achados podem ser replicados com robustez, isto sugere que aquele marcador está muito próximo à mudança genética casual que aumenta a vulnerabilidade da condição. Estudos de associação são mais simples e mais baratos para se fazer, apesar de que encontrar o grupo controle ideal nem sempre é fácil (por exemplo, o grupo ideal para controle de fumantes seriam aqueles que nunca fumaram, ou aqueles que são capazes de fumar sem progredir para dependência?).

A variância genética que afeta profundamente o comportamento de beber e o risco de dependência

Provavelmente um dos achados mais fortes, não somente em relação à dependência, mas na genética psiquiátrica é a associação entre uma variante geneticamente inativa do gene da aldeído desidrogenase 2 (ALDH2) e a proteção contra o desenvolvimento da dependência do álcool. Entretanto, neste caso, a lesão bioquímica era observada muito antes que o mecanismo genético fosse estabelecido. EM 1972 Wollf sugeriu a possibilidade de que a maneira na qual o corpo metabolizava o álcool poderia ser um fator importante no desenvolvimento do alcoolismo. Naquele tempo, as taxas mais baixas de alcoolismo em orientais foram atribuídas a fatores sócio-ambientais. Seu estudo relatou diferenças na reação ao álcool, principalmente uma alta frequência de rubor facial, que sugeria de forma acertada que isto poderia ser relacionado à propensão em desenvolver alcoolismo.

Quando o álcool é consumido. Este é rapidamente absorvido pelo estômago e intestino delgado, e metabolizado primariamente no fígado. O primeiro passo deste processo é catalizado pelo álcool desidrogenase (ADH). De fato, ADH representa um conjunto de sete enzimas que são codificadas por um cluster de genes no braço longo do cromossomo 4. Ao menos três destas enzimas estão envolvidas no metabolismo do álcool, em níveis fisiológicos de álcool alcançados enquanto se bebe. Isto produz acetoaldeídos, uma toxina, que normalmente é prontamente quebrada pela ALDH2. Uma grande porção de indivíduos de origem oriental possui uma variante inativa desta última enzima, e o resultado é o acúmulo de acetoaldeído: isto causa disforia, rubor e palpitações. Este também é o sítio de ação do dissulfiram, uma das medicações úteis em manter abstinência em indivíduos com dependência de álcool. O dissulfiram age como um inibidor irreversível da ALDH2, portanto quando álcool é consumido, o resultado é uma reação aversiva, potencialmente fatal. Não surpreendentemente, a variante de baixa atividade protege aqueles portadores de desenvolver problemas relacionados ao álcool e dependência.

A causa genética da variante de baixa atividade foi elucidada e é o resultado de uma troca simples de uma base. Esta mudança altera um dos aminoácidos da proteína, e

esta mudança reduz dramaticamente a atividade da enzima. Portanto, quando álcool é consumido este é metabolizado para acetaldeído e este composto tóxico acumula devido ao metabolismo falho, resultando na reação aversiva e no rubor. Esta troca simples de um par de bases de um gene tem um efeito profundo na redução do consumo e consequentemente no risco de desenvolvimento de uma dependência. Entretanto, apesar de um indivíduo possuir a variante de baixa atividade, é possível que este desenvolva dependência ao álcool, sendo comprovado por relatos de casos de indivíduos com as duas cópias genéticas inativas que desenvolveu dependência com um consumo diário de 50g de álcool, o equivalente a 6 unidades de álcool.

Outros Achados por Associação

Existem muitas outras associações recortadas, tanto em relação ao álcool como outras drogas. Por exemplo, variantes de baixa atividade da ADH foram associados com um alto risco de dependência a álcool, novamente em populações orientais. Além destes achados, outras associações menos robustas, geralmente com replicações positivas e negativas. Devido ao fato de que os marcadores utilizados na associação devam ser muito próximos a variante genética envolvida no aumento da vulnerabilidade, muitos teriam que ser examinados para produzir uma triagem em todo o genoma.

Consequentemente, a abordagem de um gene candidato tem sido muito utilizada, no qual um marcador genético é examinado em sistemas que aparentam estar relacionados com a dependência. Como consequência, estes estudos de associação com genes candidatos implicam os “mesmos suspeitos” porque estes são exatamente os sistemas em estudo.

Portanto, estes estudos da dependência ao álcool tem envolvido genes dos sistemas dopaminérgicos, GABA e serotoninérgicos. De forma similar, a dependência a opiáceos parece envolver genes dos sistemas noradrenérgicos, opiáceos, canabinóides e serotoninérgicos, enquanto o tabagismo está possivelmente associado com genes descritos nos sistemas poaminérgicos, serotoninérgicos, nicotínicos e metabólico. Vale ressaltar que uma das maiores dificuldades encontrados por estudos por associação é o potencial para falsos positivos.

Estudos por Associação estão repletos de falsos positivos

Apesar de ser possível diminuir os riscos através de uma seleção cuidadosa da amostra e sua caracterização, principalmente em relação à população controle, este é um risco inerente ao desenho. Por exemplo, Buckland tentou estimar a probabilidade de que uma determinada associação ocorresse por chance no alcoolismo. Ele reconheceu as suposições enormes e incorretas que fez, incluindo aquela em que dizia que todos os genes têm uma chance igual de estar relacionado com o alcoolismo, de que 20 genes estão associados genuinamente, de que existem 80000 genes (atualmente é sabido que o genoma humano tem aproximadamente 25000) e de que o papel de cada gene poderia ser estudado por um mercador genético. Deste modelo ele estimou que poderia esperar um falso positivo em um de cada 4000 experimentos, ou 0,025% do tempo. Além disso, ele calculou que “qualquer resultado com um valor p de 0,05 tem uma chance de 99.5% de ter ocorrido por acaso”.

Novos desenvolvimentos nas abordagens da genética molecular

Endofenótipos

Dependência é um traço complexo e provavelmente melhor dissecado e estudado em seus componentes individuais de comportamento, ou endofenótipos, que incluem resposta ao álcool, medidas eletrofisiológicas e traços de personalidade tais como a procura impulsiva de sensações.

Abordagens genoma abrangente

Recentemente novas técnicas de genética molecular foram desenvolvidas, fazendo possível um estudo de associação de todo o genoma utilizando-se de pedaços de DNA. Estes fragmentos são colocados em uma superfície de vidro ou plástico, identificando variantes diferentes de um marcador pelo pareamento com o DNA de um indivíduo.

Este é um modelo que pode identificar genes previamente não identificados como envolvidos na dependência, entretanto, o risco de falsos positivos continua, visto o grande número de marcadores tipados, portanto é vital de que todas as associações relatadas sejam tratadas com extrema cautela até que outros estudos consigam replicar robustamente os resultados.

Interações genes-ambientais

Estas interações podem ocultar e dificultar a identificação de genes que predispoem a dependência. Recentemente, estudos longitudinais têm sido utilizados para explorar isto diretamente, e têm sugerido interações como adversidades na infância, variantes da monoamino oxidase e transtornos de conduta, uma variante de carreador de serotonina e depressão. Existem evidências emergindo de uma correlação entre o carreador de serotonina, maus-tratos e uso de álcool precoce. Entretanto, é importante lembrar que um gene pode influenciar a dependência de diversas maneiras. Por exemplo, uma variante do receptor dopaminérgico 4 pode influenciar um comportamento dependente diretamente através dos mecanismos de recompensa, mas também indiretamente por traços de personalidade impulsiva.

Limitações dos modelos atuais

Ambas as abordagens de genética molecular, vínculo e associação, são limitadas. A primeira pode não ser sensível o suficiente para identificar genes envolvidos com a dependência, enquanto a última pode ser assombrada por falsos positivos relatados de forma tão entusiasmada que podem levar a esta abordagem cair em descrença indevidamente. Atualmente nenhuma cumpriu a promessa de identificar os genes.

Benefícios e questões éticas envolvendo a busca genética para a dependência

A identificação de genes envolvidos com a predisposição a dependência pode ter um efeito profundo no modo o qual esta condição é vista. Esta serviria de alicerce para o modelo médico, endossando o status de paciente daqueles acometidos, causando empatia na sociedade e na provável alocação de recursos. Poderiam estes achados serem interpretados como uma absolvição dos indivíduos de responsabilidade pelo seu comportamento? Poderiam estes processar seus pais pela herança genética que os deixaram tão debilitados? Poderia despertar um sentimento falso de segurança naqueles sem a herança genética que aumenta o risco para dependência? Poderia ser desenvolvido um sentimento liilhista em relação aqueles com o risco aumentado, no qual estes seriam considerados por outros ou por eles próprios sem esperança em relação a sua dependência? Além disso, ao identificar os genes, suas proteínas e suas respectivas

funções em relação ao processo de dependência, poderíamos estratificar a dependência em vários subtipos, podendo assim traçar estratégias de tratamento farmacológico, psicoterápico e espiritual quase que individualizado para cada paciente, provavelmente utilizando-se um teste genético.

Concluindo, uma triagem e alteração do risco utilizando-se de testagens genéticas podem ser factíveis. Estas possibilidades despertam cautela no que diz respeito a sua má utilização. Em um passado não muito distante, o argumento da eugenia foi utilizado para justificar atrocidades infinitas, em nome da melhora genética, a tal ponto de ser denominada a ciência assassina. A utopia genética pode representar um inferno discriminatório a outros. Na verdade, a alta taxa de aborto espontâneo em casamentos de primos e primeiro grau sugere que todos nós carregamos genes defeituosos, com uma média de 1.4 segmentos de DNA nocivos. Entretanto, dado ao grande número de genes provavelmente envolvidos na dependência e o efeito relativo pequeno de cada um deles, é improvável que uma triagem genética tenha um potencial de uso prático. Provavelmente o maior medo é de que o tamanho de efeito de cada gene seja tão pequeno que não tenha nenhuma repercussão clínica. Se este for o caso, o custo-benefício destas pesquisas seriam extremamente elevados. Consequentemente, existe a argumentação de que medidas efetivas de saúde pública já são conhecidas, como a redução da disponibilidade do álcool devido ao preço, e de que o dinheiro seria melhor investido na implementação destas medidas, apesar de que isto possa ser politicamente e pessoalmente impopular.