

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:
PSIQUIATRIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO DO GENE DO TRANSPORTADOR DE
DOPAMINA COM ABUSO E DEPENDÊNCIA DE CRACK**

Anderson Ravy Stolf

Orientador

Prof. Dr. Flavio Pechansky

Co-Orientadora

Prof. Dra. Tatiana Roman

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, abril de 2013

CIP - Catalogação na Publicação

Ravy Stolf, Anderson
ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO DO GENE DO TRANSPORTADOR DE
DOPAMINA COM ABUSO E DEPENDÊNCIA DE CRACK /
Anderson Ravy Stolf. -- 2013.
38 f.

Orientador: Flávio Pechansky.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria,
Porto Alegre, BR-RS, 2013.

1. crack. 2. DAT1. 3. genética. 4. associação. I.
Pechansky, Flávio , orient. II. Título.

"É melhor escrever errado a coisa certa do que escrever certo a coisa errada"

Antônio Gonçalves da Silva, o Patativa do Assaré, 1909-2002

AGRADECIMENTOS

AO MEU PROF. ORIENTADOR, PROF. DR. FLAVIO PECHANSKY, PELO SUPORTE E APOIO INCONDICIONAL NO MUNDO DA CIÊNCIA DESDE MINHA ENTRADA NO CENTRO DE PESQUISA EM ÁLCOOL E DROGAS DO HCPA/UFRGS. MINHA ADMIRAÇÃO PELO EXEMPLO DE VIDA COMO PROFESSOR, MÉDICO, PESQUISADOR E SER HUMANO. MUITO OBRIGADO.

À MINHA PROFA. CO-ORIENTADORA, PROF. DRA. TATIANA ROMAN, PELA DEDICAÇÃO E PACIÊNCIA COM QUE ME ORIENTOU EM TODAS AS ETAPAS DA CONSECUÇÃO DESTE PROJETO, PELO ENTUSIASMO COM A CIÊNCIA E A GENÉTICA NA BUSCA DE ENTENDER O COMPORTAMENTO HUMANO.

MEU AGRADECIMENTO ESPECIAL A UM MÉDICO E PESQUISADOR QUE FOI GRANDE RESPONSÁVEL PELA MEU TRAJETO ATÉ AQUI. PESSOAS QUE ABREM AS PORTAS NA NOSSA VIDA E AS MANTÊM ABERTAS A DESPEITO DE TODAS AS DIFICULDADES MERECEM MEU MUITO OBRIGADO MAIS SONORO. DR. FELIX KESSLER, NÃO ESQUECEREI DA AMIZADE E DO APOIO DURANTE TODO O PROJETO.

À MINHA ORIENTADORA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (*IN MEMORIAM*) PROF. DRA. BERENICE LORENZETTI, A BIOMÉDICA MAIS CURIOSA QUE CONHECI EM TODA A MINHA VIDA – SAUDADES ETERNAS!

AOS MEUS PROFESSORES DO ENSINO MÉDIO, EM ESPECIAL AO PROF. ARNO WORTMEYER, POR FAZEREM DE CADA AULA UMA AVENTURA NÃO TEDIOSA EM BUSCA DE ALGUMA DIFERENTE INTERPRETAÇÃO.

À SENAD PELO FINANCIAMENTO DO PROJETO.

AOS MEUS COMANDANTES MILITARES DA BASE AÉREA DE CANOAS, EM ESPECIAL AO CAPITÃO MÉDICO RUARO, AO SR. CORONEL AVIADOR AIRTON MIGUEL YASBECK JUNIOR E AO SR. CORONEL AVIADOR JOSÉ ANTONIO MORAES DE OLIVEIRA FILHO, POR TODO O ESTÍMULO E ORIENTAÇÃO RECEBIDOS, POR TODA A COMPREENSÃO DA IMPORTÂNCIA DA PESQUISA PARA A PÁTRIA BRASILEIRA. AO MEU COMANDANTE ATUAL SR. CORONEL MÉDICO HUGO LEITTE TEIXEIRA, PELO AUXÍLIO E MOTIVAÇÃO NA CONTINUIDADE DA FORMAÇÃO NA PÓS-GRADUAÇÃO.

À CLEIDE E ANDREIA, POR ME FAZEREM RIR QUANDO EU ME ENCONTRAVA MAIS TENSO DO QUE DEVERIA ESTAR E POR ME FAZEREM MAIS CONCENTRADO QUANDO A TENACIDADE ME FALTAVA.

A TODOS OS COLEGAS DE PÓS GRADUAÇÃO DO PPG PSIQUIATRIA COM OS QUAIS TROQUEI IDEIAS E TIVE FÉRTEIS DISCUSSÕES, EM ESPECIAL AO DR. VITOR, LÍSIA VON DIEMEN THIAGO PIANCA, ANNE SORDI, AURINEZ SCHMITZ, JULIANA ANDRADE, MICHELE OLIVEIRA, THAÍS MARTINI, GRACIELA PASA, LYSA REMY, VERALICE GONÇALVES, TANARA SOUSA, MÁRCIA PETTENON E ROSEMERI PEDROSO.

À PROFA. CLAUDIA SZOBOT PELA REVISÃO DOS PROTOCOLOS, PELO AUXÍLIO NA ESTRATÉGIA DE OBTENÇÃO DE CONTROLES E PELO SUPORTE NAS DIVERSAS FASES DE COLETA.

A TODA EQUIPE DO LABORATÓRIO DE GENÉTICA HUMANA DA UFRGS, EM ESPECIAL PARA A GLÁUCIA CHIYOKO AKUTAGAVA MARTINS, JAQUELINE SCHUCH E DIANA MULLER. AO ESTATÍSTICO LUCIANO GUIMARÃES PELA PACIÊNCIA E EMPENHO EM AUXILIAR A INTERPRETAÇÃO DA REALIDADE SOB O PRISMA DA LINGUAGEM MATEMÁTICA.

A TODA A EQUIPE DE COLETA DO PROJETO, EM ESPECIAL AO GRUPO DIRETAMENTE SUPERVISIONADO POR MIM, GERSON, KELLI, DANIELA, FABRÍCIA, SARAH, LUCAS E THAÍSE. VOCÊS SÃO EXEMPLOS DE PROFISSIONAIS, OBRIGADO PELO APRENDIZADO.

A TODAS AS PESSOAS QUE NÃO FORAM CITADAS NOMINALMENTE NESTE AGRADECIMENTO, MAS ESTIVERAM COMIGO EM MOMENTOS CRUCIAIS PARA A EXECUÇÃO DESTE PROJETO. AOS MEUS SOGROS E CUNHADOS: PAULO, NINA, ELISA (EDUARDO) E LEONARDO, POR TEREM SEMPRE ADICIONADO DOSES EXTRAS DE ALEGRIA À VIDA.

AO MEU PRIMO RALF SCHIMDT JUNIOR (*IN MEMORIAM*), PELA CORAGEM QUE SEMPRE DEMONSTROU DIANTE DE ADVERSIDADES.

À MINHA QUERIDA ESPOSA SIBELE FALLER, POR TODO O AMOR E CARINHO DESSA VIDA COMO NUNCA IMAGINEI QUE PUDESSE EXISTIR.

À MINHA FAMÍLIA: PAI E MÃE POR NUNCA TEREM DESISTIDO DE ME AMAR E DE ME CUIDAR, SOU GRATO POR TODA A INTEGRIDADE, ITALIANIDADE E VALORES ÉTICOS; AOS IRMÃOS MARCELO E AGOSTINHO (BRUNA) POR ESTAREM DO MEU LADO, SEMPREG. SEM VOCÊS MINHA VIDA TERIA MUITO MENOS SABOR. COMEMOREM JUNTO COMIGO!

AO POVO BRASILEIRO, PELA QUALIDADE DA INSTRUÇÃO NO ENSINO PÚBLICO RECEBIDA DESDE O EGRESSO DO ENSINO MÉDIO.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	7
APRESENTAÇÃO	9
RESUMO.....	10
ABSTRACT	12
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1. Crack como droga de abuso	16
2.2. Sistema de recompensa cerebral e crack	18
2.3. Genética das Adições	20
2.4. Gene <i>DAT1</i>	22
3. JUSTIFICATIVA PARA A EXECUÇÃO DO ESTUDO	25
4. OBJETIVO.....	26
5. MANUSCRITO PARA SUBMISSÃO (REVISTA ALVO: ADDICTION BIOLOGY).....	27
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
7. CONCLUSÕES	33
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADHD/TDAH	<i>ATTENTION-DEFICIT/HYPERACTIVITY DISORDER</i> / TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE
ASSIST	ALCOHOL, SMOKING AND SUBSTANCE INVOLVEMENT SCREENING TEST
ATV	ÁREA TEGMENTAR VENTRAL
CPAD	CENTRO DE PESQUISA EM ÁLCOOL E DROGAS
CPF	CÓRTEX PRÉ-FRONTAL
DAT/ <i>DAT1</i>	TRANSPORTADOR DE DOPAMINA/ GENE DO TRANSPORTADOR DE DOPAMINA
DSM-IV-TR	<i>DIAGNOSTIC AND STATISTICAL MANUAL OF MENTAL DISORDERS, TEXT REVISION</i> – MANUAL DIAGNÓSTICO E ESTATÍSTICO DE TRANSTORNOS MENTAIS – TEXTO REVISADO
GABA	ÁCIDO GAMA-AMINOBUTÍRICO
GPPG	GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
HCPA	HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
MINI	MINI INTERNATIONAL NEUROPSYCHIATRIC INTERVIEW
NACC	NÚCLEO ACUMBENTE
OMS	ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE
SENAD	SECRETARIA NACIONAL DE POLÍTICAS SOBRE DROGAS
TEPT	TRANSTORNO DE ESTRESSE PÓS-TRAUMÁTICO

UFRGS	UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
WAIS	WECHSLER ADULT INTELLIGENCE SCALE
VNTR	NÚMERO DE VARIÁVEL DE REPETIÇÕES EM TANDEM
UTR	REGIÃO NÃO TRADUZIDA

APRESENTAÇÃO

O presente estudo é parte de um projeto nacional intitulado *Projeto Ações Integradas* e está cadastrado no Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG) sob número 100201. Foi aprovado em 02 de julho de 2010 e vem sendo desenvolvido pelo Centro de Pesquisa em Álcool e Drogas (CPAD) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e pela Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas (SENAD), em colaboração com diferentes setores da Universidade e instituições externas. Seu objetivo é avaliar diversos aspectos das consequências do uso de crack na população brasileira, tema ainda não documentado de forma sistemática no Brasil. Além dessa dissertação, o projeto maior engloba ações de pesquisa em múltiplas perspectivas, como o estudo das famílias dos probandos, tratamento por gerenciamento de casos, trajetória de usuários de crack dentro da rede de atendimento, e avaliação de características clínicas específicas, como impulsividade e resiliência. A fase de genotipagem de outros polimorfismos presentes em genes do sistema dopaminérgico e de outros sistemas de neurotransmissão continua em andamento, no laboratório de Genética Humana Molecular do Departamento de Genética da UFRGS, para dar sequência acadêmica a este projeto visando a construção e apresentação de resultados em nível de doutorado. Considera-se que o estímulo ao desenvolvimento de protocolos que envolvam fatores biológicos na área da adição seja um fator importante na motivação de todo o trabalho exposto.

RESUMO

Introdução: O crack é uma droga de abuso derivada do refino da cocaína, sendo objeto de preocupação e de estudo há pelo menos duas décadas. A via de administração dessa droga aumenta a chance de um indivíduo se tornar dependente, em comparação com o uso de cocaína. No Brasil, o consumo de crack nos últimos anos se tornou um importante problema de saúde pública, e vem atingindo grupos etários cada vez mais jovens. Apesar de sua importância epidemiológica, há escassez de estudos na literatura sobre a etiologia da dependência dessa droga. O objetivo do presente estudo foi investigar a possibilidade de associação entre o abuso/dependência de crack e o gene do transportador de dopamina (*DAT1*). Devido ao seu mecanismo de ação da dependência química, esse gene pode ser considerado um bom candidato para estudos moleculares com fenótipos de adição.

Método: Uma amostra de 237 abusadores ou dependentes de crack (critérios do DSM-IV TR) internados ou em tratamento ambulatorial e 205 controles comunitários foi coletada no sul do Brasil. A amostra incluiu indivíduos de ambos os sexos, diferentes etnias e idade maior que 18 anos. Os sujeitos foram avaliados com ASRS, ASI6, BIS e MINI-Short. O QI foi estimado utilizando-se o WAIS. As amostras de DNA extraídas do sangue total foram genotipadas para o VNTR de 40 pb da região 3' UTR do gene *DAT1*. A hipótese de associação foi investigada utilizando testes de qui-quadrado e regressão logística.

Resultados: Uma análise pareada mostrou uma maior prevalência, embora não significativa, da homozigose do alelo 10R (considerada como de risco) em relação a outros genótipos, em casos versus controles (59,9% versus 49,2%; McNemar $p=0,059$; 187 pares considerando sexo, idade e grupo étnico). A comparação não pareada incluindo todos os sujeitos e realizada com as covariáveis sexo, idade e

grupo étnico mostrou uma diferença significativa ($p=0,032$ - correção de continuidade), evidenciando frequência aumentada do genótipo 10.10 nos casos (59,9%) comparados aos controles (49,3%). O modelo de regressão logística que incluiu sexo, idade, grupo étnico, nível educacional, transtorno de déficit de atenção e hiperatividade, episódio depressivo maior atual, transtorno de ansiedade generalizada e risco de suicídio como covariáveis também mostrou associação com o genótipo 10.10 ($p=0,04$, $RC=1,758$, $IC= 1,026 - 3,012$).

Conclusões: Este é um dos primeiros estudos genéticos de associação com usuários de crack na literatura, sugerindo uma influência do gene *DAT1*, especialmente o genótipo 10.10, na dependência dessa droga. Esse resultado corrobora o papel da proteína DAT na neurobiologia da dependência química e mais especificamente do crack. Embora a maioria dos achados aqui apresentados leve a esta direção, existem vários confundidores que devem ser considerados, o que nos sugere ampliação do número de sujeitos da amostra e a realização de mais análises com esse e outros polimorfismos do *DAT1* para confirmar e compreender sua contribuição como possível fator de risco para a dependência de crack. A continuidade da genotipagem de outros genes do sistema dopaminérgico e outras rotas neurobiológicas que possam estar relacionados ao desfecho, para futuras análises de associação que contemplem também interações gene-gene e gene-ambiente também é fundamental.

Palavras-chave: crack, *DAT1*, genética, associação

ABSTRACT

Background: Crack-cocaine is a drug of abuse which results from cocaine refine that has been object of concern and study for at least two decades. The administration route of this drug enhances the chance for the individual achieving dependence, comparing to snorted cocaine. In Brazil, crack consumption in the last years has become an important health problem, especially in younger people. Despite its epidemiological importance, there is scarcity of studies about the etiology of this addiction. The aim of this study was to investigate the possibility of association between crack-cocaine abuse or dependence and dopamine transporter gene (*DAT1*). Due to the involvement of dopamine transporter on drug addiction mechanisms, this gene can be a good candidate for molecular studies regarding addiction phenotypes.

Methods: A cross-sectional sample of 237 adults, current crack abusers or dependents (DSM-IV TR criteria) from in- and outpatient clinics and 205 community controls were collected in southern Brazil. Subjects were evaluated with ASRS, ASI6 and MINI-Short. IQ was estimated using WAIS. DNA samples extracted from whole blood were genotyped for the 40 bp VNTR of 3'UTR region at *DAT1*. The hypothesis of association was investigated using Chi-square and Logistic regression tests.

Results: A paired analysis showed a higher prevalence in cases than in controls, although not significant, of 10R allele homozygosis (putatively the risk genotype) versus other genotypes (59.9% versus 49.2%; Mcnemar $p=0.059$; 187 pairs regarding sex, age and ethnic group). The non-paired comparison including all the subjects and considering sex, age and ethnic group as co-variates showed a significative difference ($p=0.032$ continuity correction), evidencing an increased frequency of 10.10 genotype in cases (59.9%) compared to controls (49.3%). The logistic

regression model including sex, age, ethnic group, educational level attention-deficit/hyperactivity disorder, current major depressive disorder, generalized anxiety disorder and suicide risk as co-variables also identified a significant effect of 10.10 genotype in crack-cocaine addiction ($p=0.04$, $OR=1.758$, $CI= 1.026 - 3.012$).

Conclusion: This is one of the first genetic association studies with crack-cocaine users in the literature, suggesting an influence of the *DAT1* gene, namely the 10.10 genotype, in crack-cocaine abuse or dependence. This result corroborates the role of DAT protein in neurobiology of drug addiction and specifically of this drug of abuse. However, even though most of the results presented leads to this direction, there are several confounders that should be considered, which suggests increasing the number of sample subjects and performing more analyses with this and other *DAT1* polymorphisms, to confirm and clarify its contribution as a possible risk factor for crack-cocaine abuse or dependence. The genotyping of other genes from dopaminergic system and other neurobiological routes related to the outcome, for future association analyzes that include gene-gene and gene-environment interactions, is also warranted.

Key Words: crack-cocaine, *DAT1*, genetics, association

1. INTRODUÇÃO

O crack é uma droga de abuso derivada do refino da cocaína, sendo objeto de preocupação e de estudo há pelo menos duas décadas (Mcbride, Inciardi *et al.*, 1992). A pasta base é aquecida e combinada com bicarbonato de sódio e, durante o processo, ouve-se o estalo que deu origem ao nome da droga (Inciardi, 2002; Kessler e Pechansky, 2008). Há evidências de que seu uso nesta forma gera um incremento na chance de um indivíduo ficar dependente, e a via de administração da droga é uma das explicações para o fato (O'brien e Anthony, 2005; Reboussin e Anthony, 2006). A maioria dos países europeus tem demonstrado padrões semelhantes de aumento de consumo nos últimos anos, com um platô representado pelo consumo de 5,5% de cocaína e crack na Inglaterra. O processo pode ser considerado análogo à expansão da cocaína nos Estados Unidos na década de 1980 (Haasen, Prinzleve *et al.*, 2004).

No Brasil, o consumo de crack tem sido alvo de grande preocupação em vista de seu aumento considerável em várias regiões, o que vem sendo documentado nos últimos anos. Em 1999, o Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID) realizou um levantamento domiciliar abrangendo as 24 maiores cidades paulistas, onde foi constatado que o uso de cocaína ao longo da vida foi de 2,1%, sendo maior na faixa etária entre 26–34 anos (4,0%), e que o uso de *crack* foi de 0,4% (Galduróz, Noto *et al.*, 2000). Dois anos depois, no I Levantamento Domiciliar sobre o uso de Drogas Psicotrópicas no Brasil (2001) foram entrevistadas pessoas de 107 cidades de todo país com mais de 200.000 habitantes (Carlini, Galduróz *et al.*, 2001), constatando-se que o uso na vida de cocaína foi de 2,3%, sendo mais prevalente nas regiões Sul (3,6%) e Sudeste (2,6%). A faixa etária de maior uso encontrava-se nos 25

aos 34 anos (4,4%). O uso na vida de crack foi de 0,7% para o sexo masculino, subindo para 1,2% naquela faixa etária. No II Levantamento Domiciliar sobre o uso de Drogas Psicotrópicas no Brasil, realizado em 2005 nas 108 maiores cidades do país, foi constatado que o uso geral de drogas, exceto álcool e tabaco, havia aumentado de 19,4% para 22,8%. Neste estudo, a prevalência para o uso de cocaína durante a vida foi de 2,9% e a prevalência para o uso de crack foi de 1,5%, ambas em homens (Carlini, Galduróz *et al.*, 2007). O dado mais atual pode ser obtido no Levantamento Nacional de Álcool e Outras Drogas publicado no site <http://inpad.org.br/lenad/cocaina-e-crack/resultados-preliminares/>, mostrando prevalência de uso de 1,4% para adultos (cocaína fumada) e 1% de uso de crack no último ano.

Apesar do mecanismo biológico não ser completamente entendido, em especial para drogas ilícitas os estudos enfatizam o possível papel de vias comuns (por exemplo, da neurotransmissão dopaminérgica) que conectam o problema de uso de múltiplas drogas, exatamente o perfil clínico encontrado no usuário de crack. O processo de dependência começa com estágios de iniciação do uso, com consequente escalonamento para uso mais regular e crônico, que pode se tornar problemático e aditivo. Os estágios precoces são mais influenciados por fatores familiares e de ambiente social, enquanto os estágios tardios são mais influenciados por fatores herdáveis (Agrawal, Verweij *et al.*, 2012).

Os usuários mais jovens de drogas experimentam um número menor de drogas até chegar ao uso do crack (Van Der Meer Sanchez e Nappo, 2002). Por si só isso representa um reflexo de como esses usuários, que constituem grande parte da amostra estudada no presente trabalho, são gravemente afetados pela substância. Explicações adicionais para rapidez da dependência incluem o breve início de ação e

biodisponibilidade do crack, comparado a outras formas de uso da cocaína. O potencial de abuso da cocaína está intimamente relacionado à via de administração, sendo devida, pelo menos em parte, a diferenças farmacocinéticas. Assim, o crack, dentre todas as formas de consumo de cocaína, parece ser a que apresenta maior potencial de dependência, uma vez que atinge rapidamente o cérebro e apresenta um curto período de tempo entre o consumo e percepção de efeito. Quanto menor for esse intervalo, maior será a magnitude do efeito percebido e maior a chance do indivíduo se tornar dependente (Volkow, Wang *et al.*, 2000).

Entender o fenômeno sob o ponto de vista acadêmico inclui a busca por modelos biológicos que possam incrementar a compreensão em relação ao aumento do uso de crack pela população. Embora hoje não exista a possibilidade de associar um único gene a um comportamento complexo como a dependência química (Volkow e Muenke, 2012), sabemos que 50% do risco para o uso de substâncias pode ser atribuído a fatores genéticos (Volkow e Li, 2005). Os prejuízos amplos associados ao uso de drogas incluem áreas como perda de produtividade laboral, crime, transtornos psiquiátricos e acidentes, o que enfatiza a importância do estudo dos genes nessa área.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Crack como droga de abuso

O uso de cocaína pode ser datado de aproximadamente 5000 a.C, através da descoberta de remanescentes de folhas de coca em tumbas da Bolívia e do Peru. A palavra utilizada para se referir à planta era *Kuka*, daí o nome atual, que significa árvore (Ferreira Filho, Turch *et al.*, 2003). Durante séculos, os nativos do Peru mascaram folhas de coca enquanto trabalhavam nas plantações, pois os efeitos

vasoconstrictor e broncodilatador ajudavam a suportar a hipóxia causada pela elevada altitude (Das, 1993). A coca teve um papel fundamental no império Inca, onde era considerada uma planta sagrada. Os Incas não distinguiam os poderes curativos da coca de seus poderes “mágicos”, o que levou a planta a ser usada na América do Sul, durante longo período, também como medicação (Grinspoon e Bakalar, 1981).

A popularidade na Europa aconteceu somente a partir de 1860, depois que Albert Niemann isolou a cocaína a partir das folhas de coca. Desde então, proliferaram ensaios sobre os poderes curativos da droga, como, por exemplo, o do neurologista Paolo Mantegazza, em 1859, que recomendava cocaína para dor de dente, problemas digestivos, histeria, melancolia e, inclusive, como afrodisíaco (Grinspoon e Bakalar, 1981).

Muitos anos depois, no início da década de 80, socioetnógrafos americanos descreveram na literatura científica uma nova e potente forma de uso de cocaína – a inalação do vapor expelido da queima de pedras, manufaturadas a partir do “cozimento” da pasta básica combinada com bicarbonato de sódio. Quando queimada em um cachimbo de vidro ou outro recipiente, produzia um ruído típico de estalo, tendo sido, por isto, chamada de “CRACK”. O início de ação da droga também era rápido, porém mais fugaz, e os usuários descreviam uma “fissura”¹ quase incontrolável quando a estavam utilizando. Os relatos iniciais descreviam os usuários como “escravos” dos seus efeitos, mais estimulantes e muito prazerosos. (Inciardi, 2002; Kessler e Pechansky, 2008).

¹ *Craving*, em inglês. O termo pode ser entendido como desejo intenso pelo uso da substância e será utilizado outras vezes no mesmo sentido.

No Brasil o crack foi introduzido de maneira semelhante ao que ocorreu nos Estados Unidos. Notou-se, por exemplo, que muitos dos antigos usuários de cocaína decidiram substituir o formato injetável pela via fumada (Inciardi, Surratt *et al.*, 2006). Em função do maior custo e da dificuldade de portabilidade dos cachimbos, os usuários brasileiros desenvolveram uma maneira de fumar através do uso de latas de alumínio furadas, e com o auxílio de cinzas de cigarro que aumentam a combustão. Além do risco continuado de queimaduras labiais, recentemente aventou-se a possibilidade de elevação dos níveis de alumínio no sangue desses usuários, o que poderia trazer mais danos ao sistema nervoso central.

A recente preocupação da sociedade brasileira com os efeitos da substância na vida dos usuários, muitos deles marginalizados em ruas e avenidas de grandes cidades, foi estímulo adicional para o estudo do tema, além da literatura científica ter diminuído a produção concernente a esta droga específica nas últimas décadas.

2.2. Sistema de recompensa cerebral e crack

Em virtude da escassez de estudos específicos para o crack utilizamos na revisão de literatura informações referentes à cocaína, dadas as semelhanças entre as duas drogas. Está bastante claro que a cocaína tem efeito também sobre sistemas de outros neurotransmissores, como noradrenalina e serotonina, mas suas ações no sistema dopaminérgico são consideradas as mais importantes. A hipótese biológica mais aceita na atualidade pressupõe neuroadaptações no sistema de aprendizado e memória no sistema dopaminérgico e no circuito glutamatérgico, nos quais as projeções dos neurônios dopaminérgicos estão inseridas (Thomas, Kalivas *et al.*, 2008). Estruturas relacionadas aos processos de estabelecimento de memória

incluem o hipocampo e a amígdala, e a via dopaminérgica é um sistema cerebral de importância fundamental para a sobrevivência, garantindo a repetição de experiências vitais como a fome e a sede.

As drogas de abuso atuam mais especificamente sobre a via mesocorticolímbica da dopamina, que se projeta da área tegmentar ventral (ATV) do mesencéfalo para o núcleo acumbente (NAcc) e o córtex pré-frontal (CPF), regiões que compõem o chamado sistema de recompensa cerebral. Esta ação pode ocorrer de forma direta, sobre os neurônios dopaminérgicos, ou indireta, sobre neurônios de outros sistemas que modulam a atividade dopaminérgica (glutamato, GABA, noradrenalina, serotonina, opióides). O NAcc tem um papel primordial no reforço dos comportamentos de busca de recompensa e sua estimulação a partir da ativação da via mesolímbica é responsável pela sensação de prazer obtida com o uso da droga. O CPF está envolvido nos processos de tomada de decisões, sendo responsável pelo controle inibitório, e costuma estar hipofuncionante nos dependentes químicos ou indivíduos com outras comorbidades psiquiátricas, principalmente aqueles com sintomas de impulsividade (Koob, Sanna *et al.*, 1998; Nestler, 2001; Kelley e Berridge, 2002).

O uso de cocaína aumenta a quantidade de dopamina numa dimensão muito maior do que a recompensa proporcionada por atividades naturais, como comida e sexo. Este incremento na disponibilidade de dopamina cerebral ocorre através do bloqueio do transportador pré-sináptico de dopamina (DAT) pelo uso agudo de cocaína. Isto causa aumento significativo da dopamina na fenda sináptica, levando à repetição do uso da droga. Já o uso continuado de cocaína associa-se a uma *down-regulation*, qual seja, a depleção de receptores pós-sinápticos de dopamina, de forma que haverá necessidade de maiores níveis sinápticos de dopamina para manter o

impulso sináptico que proporciona o efeito clínico desejado (Gatley, Volkow *et al.*, 2005; Lambert, Karila *et al.*, 2008). A recompensa gerada por esses mecanismos é comprovada em modelos animais com a preferência do consumo de cocaína em detrimento de água ou comida (Feltenstein e See, 2008). O consumo de cocaína não apenas está associado ao aumento das quantidades de dopamina, e sim a tudo que circunda sua utilização: pessoas, locais e objetos associados ao cenário envolvido. Estes estímulos externos costumam ser memorizados e desencadeiam posteriormente o desejo pelo consumo (fissura), através de *imprinting* neuronal. Fazendo uma analogia com o modelo de produção de sede, tais memórias são úteis para localizar água para consumo quando a sede estiver instalada (Nestler, 2005).

2.3. Genética das Adições

A dependência de substâncias é considerada um transtorno complexo, cuja manifestação resulta da interação entre fatores ambientais e genéticos. O principal fator ambiental é a exposição à substância e outros fatores incluem baixo nível sócio – econômico e situação familiar instável (Agrawal e Lynskey, 2008). A comorbidade clínica com outras doenças psiquiátricas é fator importante em ambos os sexos, com forte associação ao abuso de drogas, sendo fator de risco associado ao surgimento e manutenção da dependência (Goldstein, Dawson *et al.*, 2012). Quanto aos fatores genéticos, é bastante provável que sejam representados por diversos genes de pequeno efeito. A suscetibilidade à dependência, então, seria resultado da interação entre esses genes entre si e com o ambiente (Gelernter e Kranzler, 2010).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que cerca de 50% do risco para consumo de cocaína ou outra droga tem influência genética (Nestler e Malenka,

2004; Agrawal e Lynskey, 2008). Isso é maior do que o encontrado em condições médicas consideradas de alto grau de herdabilidade, como diabetes tipo 2, câncer de mama e hipertensão. Porém, os genes específicos que possam conferir tal herdabilidade permanecem desconhecidos no caso de várias substâncias de abuso, tais como a cocaína e o crack (Nestler, 2005). A busca por genes de suscetibilidade à adição é particularmente difícil, pois, aparentemente, estes podem variar conforme a substância investigada e a população (Gelernter e Kranzler, 2010). Grande parte dos estudos se baseia na abordagem de genes candidatos, definidos com base nos efeitos biológicos causados pela exposição às diferentes drogas; ou seja, na investigação de genes cujos produtos estejam possivelmente envolvidos na patofisiologia da dependência (Nestler, 2005). A identificação de polimorfismos genéticos que podem alterar o metabolismo dopaminérgico é um dos principais alvos dos estudos nessa área. Acredita-se que a variabilidade genética modifique a resposta dos indivíduos aos psicoestimulantes, incluindo o crack, e possivelmente à farmacoterapia (Haile, Kosten *et al.*, 2007).

O gene do receptor D2 de dopamina (*DRD2*) foi o primeiro a ser investigado na dependência de substâncias, especificamente em alcoolistas (Blum e cols., 1990). Este estudo observou uma frequência aumentada do alelo A1 do polimorfismo *TaqIA* (rs1800497) nos casos em comparação a controles, uma associação que foi confirmada posteriormente por diferentes metanálises (Ponce, Pérez-González *et al.*, 2009). Além do alcoolismo, esse gene também foi investigado na dependência de outras substâncias, como nicotina, opióides e metanfetaminas. O primeiro estudo de associação com dependência de cocaína também investigou o gene *DRD2*, detectando uma frequência maior do alelo A1 nos casos (Noble, Blum *et al.*, 1993).

Esta associação foi corroborada por alguns relatos, embora os dados que correlacionem as diferentes variações genéticas do gene *DRD2* à dependência sejam contraditórios (Moyer, Wang *et al.*, 2011). Vários outros genes já foram investigados na dependência de cocaína, incluindo genes codificadores de outros receptores dopaminérgicos, tais como D3 e D4 (genes *DRD3* e *DRD4*, respectivamente) e o gene da enzima catecol-metil transferase (COMT), além de genes relacionados ao ritmo circadiano e ao sistema opióide. Apesar de haver resultados positivos, nenhum achado é ainda inequívoco, o que sugere a necessidade de se continuar as pesquisas nessa área (Agrawal, Verweij *et al.*, 2012).

2.4. Gene *DAT1*

Outro gene bastante investigado na dependência de cocaína, assim como de outras drogas, é o gene codificador do transportador de dopamina, *DAT1* ou *SLC6A3*. Considerando a importância do DAT nos efeitos de recompensa do uso de cocaína, e possivelmente o crack, principalmente no que tange ao aumento direto de dopamina na fenda sináptica, com maior estímulo dos receptores dopaminérgicos pós-sinápticos, este gene é um excelente candidato para estudos moleculares com estes desfechos.

O polimorfismo mais estudado do gene *DAT1* é um número variável de repetições em tandem (VNTR) de 40 pb localizado na região 3' não traduzida (3' UTR) do gene. Onze alelos diferentes, contendo de 3 a 11 repetições, podem ocorrer, sendo os alelos com 9 e 10 repetições (9R e 10R, respectivamente) os mais comuns na maioria das populações estudadas (Vandenbergh, Persico *et al.*, 1992; Fuke, Suo *et al.*, 2001). A funcionalidade deste polimorfismo ainda não é bem

compreendida. Porém, embora haja resultados conflitantes, as variantes parecem alterar os níveis de DAT nas regiões subcorticais, estando o alelo 9R possivelmente associado a níveis maiores desta proteína (Van Dyck, Malison *et al.*, 2005; Shumay, Chen *et al.*, 2011).

O VNTR de 40 pb do gene *DAT1* já foi investigado em relação à dependência de cocaína aspirada em alguns estudos. Fernández-Castillo, Lohoff e Ballon não encontraram associação (Ballon, Leroy *et al.*, 2007; Fernández-Castillo, Ribasés *et al.*, 2010; Lohoff, Bloch *et al.*, 2010). Já o alelo 9R foi associado a maior psicose pós-uso da droga e menor risco de dependência (Gelernter, Kranzler *et al.*, 1994; Brousse, Vorspan *et al.*, 2010). Este resultado é de certa forma controverso, pois existem dados que associam a maior gravidade da dependência para crack à maior frequência de sintomas psicóticos (Smith, Thirithalli *et al.*, 2009). Além disso, as consequências relativas à saúde mental são associadas mais à intensidade da dependência do que à forma de uso da cocaína (Haasen, Prinzleve *et al.*, 2005).

Na população brasileira, há um único estudo realizado com o gene *DAT1*, em que outro polimorfismo, o VNTR do íntron 8, foi associado ao uso de cocaína (Guindalini, Howard *et al.*, 2006). Este VNTR ocorre devido à repetição de uma sequência de 30 pb; são possíveis sete alelos, sendo os alelos de 5 (alelo 5R) e 6 (alelo 6R) repetições os mais comuns. No trabalho de Guindalini *et al.* (2006) foi observada associação do alelo 3R com abuso de cocaína, sugerindo a possibilidade de um efeito de variantes do gene *DAT1* também na dependência de crack.

O único estudo de suscetibilidade genética à dependência de crack publicado até o momento também investigou o gene *DAT1*, além dos genes *DRD2*, *DRD3* e *DRD4* (Ballon e cols. 2007). Ao analisar uma pequena amostra composta por 97

dependentes caribenhos, esses autores detectaram os alelos A1 do polimorfismo *TaqIA* do gene *DRD2* e o alelo 7R gerado pelo polimorfismo de VNTR localizado no exon 3 do gene *DRD4* em uma frequência significativamente maior em casos do que em controles. Contudo, esse resultado deve ser interpretado com cautela, uma vez que essas associações foram detectadas com maior intensidade no grupo de pacientes que apresentavam transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) comórbido. Ambos genes são considerados genes de suscetibilidade ao TDAH, com vários relatos positivos, especialmente no caso do *DRD4*, cuja associação foi confirmada por diversas metanálises (Biederman e Faraone, 2005; Gizer e cols., 2009; Nikolaidis e Gray, 2010). Assim, a relação desses genes com a dependência de cocaína e, particularmente, crack, são questões que permanecem em aberto.

3. JUSTIFICATIVA PARA A EXECUÇÃO DO ESTUDO

- ✓ Grande importância epidemiológica e de saúde pública da dependência do crack;
- ✓ Falta de estudos na literatura científica recente
- ✓ Importância dos estudos genéticos para maior entendimento do fenômeno de dependência do crack e posterior translação de conhecimento para áreas clínicas como prevenção, diagnóstico e tratamento.

4. OBJETIVO

Investigar a hipótese de associação do polimorfismo de VNTR de 40 pb da região 3' UTR do gene codificador da enzima transportadora de dopamina, ou *DAT1*, com abuso e dependência de crack.

**5. MANUSCRITO PARA SUBMISSÃO (REVISTA ALVO: DRUG AND ALCOHOL
DEPENDENCE – FATOR DE IMPACTO 4,08)**

Usuários de crack mostram diferenças nas frequências genotípicas do polimorfismo de número variável de repetições em tandem (VNTR) da região 3'UTR do gene do transportador de dopamina (*DAT1/SLC6A3*)

AR Stolf¹, CM Szobot¹, R Halpern¹, GC Akutagava-Martins², D Müller², LSP
Guimaraes¹, FHP Kessler¹, F Pechansky¹, T Roman²

¹Centro de Pesquisas em Álcool e Drogas, Hospital de Clínicas de Porto Alegre e
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

²Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

Financiamento: SENAD, FAPERGS, CNPq, CAPES, PRODAH

Objetivo: O objetivo do presente estudo foi investigar a possibilidade de associação entre o abuso/dependência de crack e o gene do transportador de dopamina (*DAT1*).

Devido ao seu mecanismo de ação na dependência química, esse gene pode ser considerado um bom candidato para estudos moleculares com fenótipos de adição.

Método: Uma amostra de 237 abusadores ou dependentes de crack (critérios do DSM-IV TR) internados ou em tratamento ambulatorial e 205 controles comunitários foi coletada no sul do Brasil. Os sujeitos foram avaliados com ASRS, ASI6, e MINI-Short. O QI foi estimado utilizando-se o WAIS. As amostras de DNA extraídas a partir de sangue total foram genotipadas para o VNTR de 40 pb da região 3' UTR do

gene *DATI*. A hipótese de associação foi investigada utilizando testes de qui-quadrado e regressão logística.

Resultados: Uma análise pareada mostrou uma maior prevalência, embora não significativa, da homozigose do alelo 10R (considerada como de risco) em relação a outros genótipos, em casos versus controles (59,9% versus 49,2%; McNemar $p=0,059$; 187 pares considerando sexo, idade e grupo étnico). A comparação não pareada incluindo todos os sujeitos e realizada com as covariáveis sexo, idade e grupo étnico mostrou uma diferença significativa ($p=0,032$ - correção de continuidade), também evidenciando uma frequência aumentada do genótipo 10.10 nos casos (59,9%) comparados aos controles (49,3%). O modelo de regressão logística que incluiu sexo, idade, grupo étnico, nível educacional, transtorno de déficit de atenção e hiperatividade, episódio depressivo maior atual, transtorno de ansiedade generalizada e risco de suicídio como covariáveis também mostrou associação com o genótipo 10.10 ($p=0,04$, $RC=1,758$, $IC= 1,026 - 3,012$).

Conclusões: Este é um dos primeiros estudos genéticos com usuários de crack na literatura, sugerindo uma influência do gene *DATI*, especialmente o genótipo 10.10, na dependência dessa droga. Esse resultado corrobora o papel da proteína DAT na neurobiologia da dependência química e mais especificamente do crack. A continuidade da genotipagem de outros genes tanto do sistema dopaminérgico como de outras rotas neurobiológicas que possam estar relacionados ao desfecho, para futuras análises de associação que contemplem também interações gene-gene e gene-ambiente também é fundamental.

Palavras Chave: crack, gene *DATI*, genética

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta seção optamos por discutir pontos relacionados à metodologia empregada e alguns aspectos dos resultados que não estão contemplados na discussão do artigo proposto.

O esforço inicial da obtenção da amostra pretendia parear todos os sujeitos por sexo, idade (numa faixa de amplitude de 5 anos) e grupo étnico, seguindo o critério vigente no Brasil de autodeterminação de etnia pelo indivíduo e os grupos étnicos propostos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Nosso esforço conseguiu parear cerca de 78% da amostra de casos obtidos, o que foi satisfatório mas não suficiente para a obtenção de n necessário para distinguir diferenças entre casos e controles, considerando o polimorfismo estudado. Fazendo um cálculo de tamanho amostral com 200 casos e 200 controles esperaríamos detectar uma diferença entre 13 e 14 pontos percentuais na frequência do polimorfismo entre casos e controles, considerando $\alpha=0,05$ e um poder estatístico de 80%.

Como já citado na Introdução da presente dissertação, esperava-se que existissem perfis genéticos diferentes entre usuários de drogas e controles, mas, possivelmente, uma diferença de pequena magnitude. De fato nossas análises conseguiram detectar diferença mas bastante pequena, uma vez que os valores de p foram próximos ao limite aceitável para estudos científicos da área biológica.

Essa dificuldade, relacionada ao pequeno tamanho de efeito, pode ser evidenciada quando comparamos as análises pareadas e não-pareadas. Nosso p resultante da análise de qui-quadrado pareada ficou levemente acima do nível de significância, o que nos levou a considerar a amostra obtida em sua totalidade, incluindo em todas

as análises de regressão logística apresentadas o controle dos fatores inicialmente propostos no pareamento. Os resultados encontrados na análise não pareada mantiveram-se na mesma tendência estatística da análise pareada, objetivo inicial do estudo.

Os estudos que incluíram usuários de crack em suas amostras, citados ao longo da tese (Guindalini, Howard *et al.*, 2006; Ballon, Leroy *et al.*, 2007) também realizaram análises com amostras não pareadas, o que facilita as comparações com nossos resultados e reflete a dificuldade clínico-epidemiológica em trabalhar com estudos envolvendo usuários de drogas, em especial o crack.

Seguindo essa linha de argumentação, uma das necessidades ao longo do projeto foi adaptar a coleta de controles comunitários a um regramento sistemático que pudesse maximizá-la após algumas semanas de coleta. Inicialmente pretendia-se partir das fichas de mapeamento da população existentes nas Unidades de Saúde, mas elas estavam desatualizadas. Nas primeiras semanas, seguindo o método originalmente proposto, a média de obtenção de controles seria suficiente para contemplar menos da metade do número de casos obtidos, considerando apenas a busca de possíveis controles pareados. Após discussões sobre estratégias para ampliar a captação de controles voluntários da comunidade, optou-se pela busca geográfica das regiões abrangidas por cada Unidade de Saúde, procurando possíveis controles sucessivos a cada residência em que houvesse alguém em casa e visitando cada domicílio ao menos por três vezes. Essa estratégia foi combinada com a coleta de controles não pareados nas residências em que controles pareados eram entrevistados, a fim de ampliar o banco de controles.

Outra estratégia importante foi compor as equipes de coleta de instrumentos por profissionais psicólogos e estudantes de psicologia, com supervisão semanal por

parte de psiquiatras do grupo de pesquisa. Adicionalmente houve um treinamento para aplicação dos principais questionários (ASI e MINI Short) com obtenção de kappa superior a 0,80. De qualquer maneira é importante salientar que os diagnósticos apresentados no manuscrito não são dados epidemiológicos confirmados, devendo ser reavaliados por mais estudos.

No instrumento de rastreamento utilizado para o TDAH, optou-se por um critério mais rígido de corte em relação ao proposto pela OMS, considerando positivos apenas os itens “frequentemente” e “muito frequentemente” em todas as respostas, porque a análise padrão, que considera alguns itens também como positivos quando a resposta é “algumas vezes”, obtinha prevalências de comunidade superiores a 24% para TDAH, o que não encontra respaldo na expectativa de prevalência epidemiológica para este grupo. Com o critério de corte mais próximo da realidade epidemiológica, conforme discutido pelo próprio autor que validou o instrumento no Brasil (Mattos, Segenreich *et al.*, 2006), nosso índice de rastreamento de TDAH da comunidade ficou em 12%. Além disso, a maioria dos diagnósticos rastreados pela ASRS não é confirmada clinicamente (Chiasson, Stavro *et al.*, 2012), o que reforça nosso argumento de utilizar critérios mais rígidos na análise dessa condição em uma amostra com diagnóstico clínico não confirmado.

A amostra considerada neste estudo é composta majoritariamente por homens, fator que deve ser sempre lembrado na discussão dos resultados e reflete a expectativa epidemiológica aliada ao maior preparo da rede de saúde para atendimento do sexo masculino. Sabemos que nos últimos anos o percentual de mulheres dependentes tem aumentado e esforços futuros podem incluir a tentativa de ampliar este subgrupo na amostra, a fim de elucidar de forma mais elaborada o efeito da genética na dependência do crack.

Outro aspecto demográfico que chama atenção na nossa amostra é o fato de que os sujeitos negros entre os casos (N=50) foram em número superior ao dos controles (N=26). Uma das explicações possíveis é que, embora a população comunitária avaliada para a obtenção dos controles fosse similar aos casos em termos de nível sócio-econômico e origem populacional, os usuários de crack parecem representar estratos mais desfavorecidos sob ponto de vista econômico, condição que no Brasil é normalmente associada a uma alta proporção de indivíduos negros, ou descendentes de africanos.

A análise de fatores que pudessem ser incluídos como co-variáveis e compusessem um modelo “final” foi bastante elucidativa, e os vários modelos resultantes estão descritos nos resultados do manuscrito. Um dos principais pontos que fortalece a hipótese de associação do genótipo 10.10 com o desfecho é que, apesar de em alguns modelos considerados o p ser um pouco superior a 0,05, em todos eles a tendência da proximidade a este nível de significância é mantida, com poucas oscilações do intervalo de confiança, o qual variou de 0,9 a 3,2. A expansão do N da amostra, que poderá ocorrer com a chegada de alguns casos provenientes de outros centros de pesquisa brasileiros participantes do Projeto Ações Integradas, e com a continuidade da linha de pesquisa, pode auxiliar na elucidação dessa questão. Nossos modelos de regressão logística focados na presença do genótipo de homozigose do alelo 10R em relação a todos os outros, leva nosso raciocínio para a argumentação de que o genótipo de risco seria o 10.10, apoiado pelo papel biológico da proteína DAT no sistema dopaminérgico e estudos em modelos animais apresentados no início da tese.

Ainda assim, trabalhar com amostras de caso-controle em que existem confundidores importantes, incluindo comorbidades psiquiátricas como o TDAH,

claramente associado ao gene *DAT1*, deve ser motivo de cautela na apresentação dos resultados. Embora a associação do genótipo 10.10 com o desfecho aqui analisado seja possível e existam argumentos que nos levam a esta direção, ela não é a única conclusão possível a partir dos achados e deve ser motivo de persistência na investigação do tema, suscitando mais estudos na área. É nessa linha que caminha esse projeto, com a ideia de continuidade na captação e análise de dados, buscando a integração entre pesquisa clínica e pesquisa básica.

7. CONCLUSÕES

O genótipo de homozigose do alelo de 10 repetições gerado pelo VNTR de 40 pb da região 3' não traduzida do gene *DAT1* parece estar associado ao desfecho medido no estudo: abuso e dependência de crack, nos modelos estudados e apresentados aqui.

Embora a maioria dos achados do presente estudo leve a esta direção, é preciso considerar a magnitude limítrofe da associação encontrada e a possível existência de vários confundidores. Estas condições nos sugerem ampliação do número de sujeitos da amostra e a continuidade da genotipagem de outros genes, tanto do sistema dopaminérgico como de outras rotas neurobiológicas, que possam estar relacionados ao desfecho, para futuras análises de associação que contemplem também interações gene-gene e gene-ambiente.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRAWAL, A.; LYNSKEY, M. Are there genetic influences on addiction: evidence from family, adoption and twin studies. **Addiction**, v. 103, n. 7, p. 1069-81, Jul 2008. ISSN 0965-2140. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18494843 >.
- AGRAWAL, A. et al. The genetics of addiction-a translational perspective. **Transl Psychiatry**, v. 2, p. e140, 2012. ISSN 2158-3188. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22806211> >.
- BALLON, N. et al. Polymorphisms TaqI A of the DRD2, Ball of the DRD3, exon III repeat of the DRD4, and 3' UTR VNTR of the DAT: association with childhood ADHD in male African-Caribbean cocaine dependents? **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet**, v. 144B, n. 8, p. 1034-41, Dec 2007. ISSN 1552-485X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17671965> >.
- BROUSSE, G. et al. Could the inter-individual variability in cocaine-induced psychotic effects influence the development of cocaine addiction? Towards a new pharmacogenetic approach to addictions. **Med Hypotheses**, v. 75, n. 6, p. 600-4, Dec 2010. ISSN 1532-2777. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20801583> >.
- CARLINI, E. et al. **I Levantamento Domiciliar sobre o uso de drogas Psicotrópicas no Brasil.** São Paulo: [CEBRID] Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas, Universidade Federal de São Paulo, 2001.
- CARLINI, E. A. et al. **II levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil: estudo envolvendo as 108 maiores cidades do país: 2005.** CEBRID – Centro Brasileiro de Informações Sobre Drogas Psicotrópicas : UNIFESP – Universidade Federal de São Paulo. São Paulo: Páginas & Letras: 1-472 p. 2007.
- CHIASSON, J. P. et al. Questioning the specificity of ASRS-v1.1 to accurately detect ADHD in substance abusing populations. **J Atten Disord**, v. 16, n. 8, p. 661-3, Nov 2012. ISSN 1557-1246. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22049481> >.
- DAS, G. Cocaine abuse in North America: a milestone in history. **J Clin Pharmacol**, v. 33, n. 4, p. 296-310, Apr 1993. ISSN 0091-2700. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8473543 >.
- FELTENSTEIN, M.; SEE, R. The neurocircuitry of addiction: an overview. **Br J Pharmacol**, v. 154, n. 2, p. 261-74, May 2008. ISSN 0007-1188. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18311189 >.

FERNÁNDEZ-CASTILLO, N. et al. Association study between the DAT1, DBH and DRD2 genes and cocaine dependence in a Spanish sample. **Psychiatr Genet**, v. 20, n. 6, p. 317-20, Dec 2010. ISSN 1473-5873. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20505554> >.

FERREIRA FILHO, O. et al. Perfil sociodemográfico e de padrões de uso entre dependentes de cocaína hospitalizados. **Rev Saúde Pública**, v. 37(6), p. 751-9, 2003.

FUKE, S. et al. The VNTR polymorphism of the human dopamine transporter (DAT1) gene affects gene expression. **Pharmacogenomics J**, v. 1, n. 2, p. 152-6, 2001. ISSN 1470-269X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11911442> >.

GALDURÓZ, J. et al. **I Levantamento domiciliar nacional sobre uso de drogas psicotrópicas – parte A: estudo envolvendo as 24 maiores cidades do estado de São Paulo(1999)**. São Paulo: FAPESP/CEBRID, 2000.

GATLEY, S. et al. PET imaging in clinical drug abuse research. **Curr Pharm Des**, v. 11, n. 25, p. 3203-19, 2005. ISSN 1381-6128. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16250850 >.

GELERNTER, J.; KRANZLER, H. R. Genetics of drug dependence. **Dialogues Clin Neurosci**, v. 12, n. 1, p. 77-84, 2010. ISSN 1294-8322. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20373669> >.

GELERNTER, J. et al. Genetic association between dopamine transporter protein alleles and cocaine-induced paranoia. **Neuropsychopharmacology**, v. 11, n. 3, p. 195-200, Nov 1994. ISSN 0893-133X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7865100> >.

GOLDSTEIN, R. B. et al. Sex differences in prevalence and comorbidity of alcohol and drug use disorders: results from wave 2 of the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. **J Stud Alcohol Drugs**, v. 73, n. 6, p. 938-50, Nov 2012. ISSN 1938-4114. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23036212> >.

GRINSPOON, L.; BAKALAR, J. Coca and cocaine as medicines: an historical review. **J Ethnopharmacol**, v. 3, n. 2-3, p. 149-59, 1981 Mar-May 1981. ISSN 0378-8741. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7017287 >.

GUINDALINI, C. et al. A dopamine transporter gene functional variant associated with cocaine abuse in a Brazilian sample. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 103, n. 12, p. 4552-7, Mar 2006. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16537431> >.

HAASEN, C. et al. Relationship between cocaine use and mental health problems in a sample of European cocaine powder or crack users. **World Psychiatry**, v. 4, n. 3, p. 173-6, Oct 2005. ISSN 1723-8617. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16633544> >.

_____. Cocaine use in Europe - a multi-centre study. Methodology and prevalence estimates. **Eur Addict Res**, v. 10, n. 4, p. 139-46, 2004. ISSN 1022-6877. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15367814 >.

HAILE, C.; KOSTEN, T.; KOSTEN, T. Genetics of dopamine and its contribution to cocaine addiction. **Behav Genet**, v. 37, n. 1, p. 119-45, Jan 2007. ISSN 0001-8244. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17063402 >.

INCIARDI, J. Cocaine, Crack and Other Masquerados for Mama Coca. In: INCIARDI, J. (Ed.). **The War on Drugs III – the continuing saga of the mysteries and miseries of intoxication, addiction, crime, and public policy**. Boston: Allyn and Bacon, 2002. p.129-166.

INCIARDI, J. et al. Changing patterns of cocaine use and hiv risks in the south of Brazil. **J Psychoactive Drugs**, v. 38, n. 3, p. 305-10, Sep 2006. ISSN 0279-1072. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17165373 >.

KELLEY, A.; BERRIDGE, K. The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. **J Neurosci**, v. 22, n. 9, p. 3306-11, May 2002. ISSN 1529-2401. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11978804 >.

KESSLER, F.; PECHANSKY, F. A contemporary psychiatric view on the crack phenomenon. **Rev Psiquiatr Rio Gd Sul**, v. 30, n. 2, p. 1-3, 2008.

KOOB, G.; SANNA, P.; BLOOM, F. Neuroscience of addiction. **Neuron**, v. 21, n. 3, p. 467-76, Sep 1998. ISSN 0896-6273. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9768834 >.

LAMBERT, G.; KARILA, L.; LOWENSTEIN, W. Neuroimaging and cocaine: mapping dependence? **Presse Med**, v. 37, n. 4 Pt 2, p. 679-88, Apr 2008. ISSN 0755-4982. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18164583 >.

LOHOFF, F. W. et al. Association analysis between polymorphisms in the dopamine D2 receptor (DRD2) and dopamine transporter (DAT1) genes with cocaine dependence. **Neurosci**

Lett, v. 473, n. 2, p. 87-91, Apr 2010. ISSN 1872-7972. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20170711> >.

MATTOS, P. et al. Transcultural adaptation of the Adult Self-Report Scale into portuguese for evaluation of adult attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). **Rev. psiquiatr. clín.**, v. 33, n. 4, p. 188-194, 2006.

MCBRIDE, D. C. et al. Crack use and correlates of use in a national population of street heroin users. The National AIDS Research Consortium. **J Psychoactive Drugs**, v. 24, n. 4, p. 411-6, 1992 Oct-Dec 1992. ISSN 0279-1072. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1491290> >.

MOYER, R. A. et al. Intronic polymorphisms affecting alternative splicing of human dopamine D2 receptor are associated with cocaine abuse. **Neuropsychopharmacology**, v. 36, n. 4, p. 753-62, Mar 2011. ISSN 1740-634X. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21150907> >.

NESTLER, E. Molecular neurobiology of addiction. **Am J Addict**, v. 10, n. 3, p. 201-17, 2001. ISSN 1055-0496. Disponível em: <
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11579619 >.

_____. The neurobiology of cocaine addiction. **Sci Pract Perspect**, v. 3, n. 1, p. 4-10, Dec 2005. ISSN 1930-4307. Disponível em: <
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18552739 >.

NESTLER, E.; MALENKA, R. The addicted brain. **Sci Am**, v. 290, n. 3, p. 78-85, Mar 2004. ISSN 0036-8733. Disponível em: <
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14981881 >.

NOBLE, E. P. et al. Allelic association of the D2 dopamine receptor gene with cocaine dependence. **Drug Alcohol Depend**, v. 33, n. 3, p. 271-85, Oct 1993. ISSN 0376-8716. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8261891> >.

O'BRIEN, M. S.; ANTHONY, J. C. Risk of becoming cocaine dependent: epidemiological estimates for the United States, 2000-2001. **Neuropsychopharmacology**, v. 30, n. 5, p. 1006-18, May 2005. ISSN 0893-133X. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15785780> >.

PONCE, G. et al. The ANKK1 kinase gene and psychiatric disorders. **Neurotox Res**, v. 16, n. 1, p. 50-9, Jul 2009. ISSN 1476-3524. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19526298> >.

REBOUSSIN, B. A.; ANTHONY, J. C. Is there epidemiological evidence to support the idea that a cocaine dependence syndrome emerges soon after onset of cocaine use?

Neuropsychopharmacology, v. 31, n. 9, p. 2055-64, Sep 2006. ISSN 0893-133X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16482089> >.

SHUMAY, E. et al. Genotype and ancestry modulate brain's DAT availability in healthy humans.

PLoS One, v. 6, n. 8, p. e22754, 2011. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21826203> >.

SMITH, M. et al. Prevalence of psychotic symptoms in substance users: a comparison across substances. **Compr Psychiatry**, v. 50, n. 3, p. 245-50, 2009. ISSN 1532-8384. Disponível em: <

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=19374969 >.

THOMAS, M.; KALIVAS, P.; SHAHAM, Y. Neuroplasticity in the mesolimbic dopamine system and cocaine addiction. **Br J Pharmacol**, v. 154, n. 2, p. 327-42, May 2008. ISSN 0007-1188.

Disponível em: <

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18345022 >.

VAN DER MEER SANCHEZ, Z.; NAPPO, S. A. [Progression on drug use and its intervening factors among crack users]. **Rev Saude Publica**, v. 36, n. 4, p. 420-30, Aug 2002. ISSN 0034-8910.

Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12364915> >.

VAN DYCK, C. et al. Increased dopamine transporter availability associated with the 9-repeat allele of the SLC6A3 gene. **J Nucl Med**, v. 46, n. 5, p. 745-51, May 2005. ISSN 0161-5505.

Disponível em: <

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15872345 >.

VANDENBERGH, D. J. et al. Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. **Genomics**, v. 14, n. 4, p. 1104-6, Dec 1992. ISSN 0888-7543.

Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1478653> >.

VOLKOW, N.; LI, T. K. The neuroscience of addiction. **Nat Neurosci**, v. 8, n. 11, p. 1429-30, Nov 2005. ISSN 1097-6256. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16251981> >.

VOLKOW, N. D.; MUENKE, M. The genetics of addiction. **Hum Genet**, v. 131, n. 6, p. 773-7, Jun 2012. ISSN 1432-1203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22562404> >.

VOLKOW, N. D. et al. Effects of route of administration on cocaine induced dopamine transporter blockade in the human brain. **Life Sci**, v. 67, n. 12, p. 1507-15, Aug 2000. ISSN 0024-3205. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10983846> >.