

# DISCIPLINA DE GENÉTICA HUMANA

## Herança Complexa

Monitora: Renata Rocha F. Gonçalves

Novembro 2005

### Introdução

O avanço da biologia molecular ao longo das últimas décadas proporcionou um avanço significativo no conhecimento das bases genéticas de doenças complexas – como diabetes, hipertensão e esquizofrenia, entre tantas outras. Mais recentemente, o seqüenciamento do genoma humano trouxe aos pesquisadores e à comunidade científica em geral a expectativa de ampliar ainda mais, e com maior rapidez, o entendimento das bases moleculares que subjazem a tais fenótipos complexos.

No entanto, o quadro que emergiu a partir de 2001 não confirmou essa expectativa. Embora amplo financiamento tenha sido colocado à disposição de diversos centros de pesquisa voltados para a investigação de doenças complexas, poucos resultados conclusivos foram alcançados nesse campo. Nos Estados Unidos, dos mais de 1300 projetos financiados pelo NIH para o estudo de pouco mais de 170 genes supostamente envolvidos em heranças complexas, foram identificados menos de 50 polimorfismos causais. Além disso, apenas 16% a 30% dos resultados desses estudos foram replicados consistentemente por trabalhos posteriores (Page et al., 2003).

Frente a esse quadro, é importante analisar alguns dos motivos que tornam tão árdua a tarefa de identificar genes associados a heranças complexas. A principal justificativa é, sem dúvida, a própria **interação gênica**. Diferentemente do cenário encontrado numa herança monogênica, em que um único gene determina amplamente a definição do fenótipo, nas heranças complexas o fenótipo é determinado por uma interação entre dezenas, por vezes até centenas, de diferentes genes. Além de identificar quais são esses genes, é preciso ainda saber como interagem entre si. Mais do que isso, há que se identificar a presença de **componentes ambientais** agindo na determinação do fenótipo e considerar ainda o modo de ação desses sobre o genótipo, uma vez que podem estar agindo, por exemplo, como moduladores, como “gatilhos”, etc.

Um segundo ponto importante diz respeito à definição dos alelos envolvidos na manifestação do fenótipo. Como as heranças complexas obedecem ao modelo do limiar, não é raro encontrar determinados alelos envolvidos na etiologia de uma doença em indivíduos que claramente não a

manifestam. Isso porque, em se tratando de herança complexa, muitos alelos podem ser necessários para a expressão do fenótipo, mas não suficientes. Assim, por exemplo, para uma dada doença na qual estejam envolvidos 20 alelos (não havendo discrepância entre a contribuição de cada um para a determinação do fenótipo), pode-se esperar que cada alelo contribua com apenas 5% do fenótipo; deste modo, a herança de um único alelo de susceptibilidade pode ser necessária, mas provavelmente não será suficiente para que o indivíduo manifeste a doença.

Um terceiro elemento complicador dos estudos para identificação de genes associados a heranças complexas é a própria dificuldade na **definição do fenótipo**. Novamente, em oposição ao que se observa nas heranças monogênicas, nas quais o fenótipo é tipicamente bem definido, nas heranças complexas há uma ampla variação fenotípica, resultante da distribuição normal na população das diversas variáveis que entram na composição desse fenótipo. Metodologicamente, muitos estudos nesta área esbarram na dificuldade de (a) definir grupos de casos e de controles e (b) controlar todas as possíveis variáveis associadas ao fenótipo sob investigação.

## **Alcoolismo**

O alcoolismo é um exemplo bastante ilustrativo de herança complexa. Droga de abuso mais freqüente na sociedade, o álcool está entre as mais importantes formas de dependência química. De acordo com o DSM-IV, a **dependência de substância** caracteriza-se por um padrão mal-adaptativo de uso de substância, levando a comprometimento ou sofrimento clinicamente significativos, manifestado por três (ou mais) dos seguintes critérios, ocorrendo a qualquer momento no mesmo período de 12 meses:

- (1) tolerância, definida como a necessidade de crescentes quantidades da substância para atingir a intoxicação (ou o efeito desejado) ou um efeito acentuadamente diminuído com o uso continuado da mesma quantidade da substância.
- (2) abstinência, ou seja, uma alteração comportamental mal-adaptativa, com elementos fisiológicos e cognitivos, que ocorre quando as concentrações de uma substância no sangue e tecidos declinam em um indivíduo que manteve um uso pesado e prolongado da substância.
- (3) a substância é freqüentemente consumida em maiores quantidades ou por um período mais longo do que o pretendido
- (4) existe um desejo persistente ou esforços mal-sucedidos no sentido de reduzir ou controlar o uso da substância

(5) muito tempo é gasto em atividades necessárias para a obtenção da substância, na utilização da substância ou na recuperação de seus efeitos

(6) importantes atividades sociais, ocupacionais ou recreativas são abandonadas ou reduzidas em virtude do uso da substância

(7) o uso da substância continua, apesar da consciência de ter um problema físico ou psicológico persistente ou recorrente que tende a ser causado ou exacerbado pela substância

É importante observar que os critérios para diagnóstico de dependência de substâncias aplicam-se a qualquer tipo de substância de abuso. Assim, caracterizando-se uma dependência ao álcool, tem-se um diagnóstico de alcoolismo.

Desde a década de 1970, estudos epidemiológicos indicavam que o alcoolismo poderia apresentar em sua etiologia um componente genético. As evidências iniciais sugeriam uma **agregação familiar** para o transtorno, mostrando que, freqüentemente, indivíduos alcoolistas tinham, no mínimo, um outro parente em primeiro grau também dependente do álcool. Estimativas iniciais indicaram um risco aumentado de 3 a 5 vezes para alcoolismo entre parentes em 1º grau (Prescott, 2003). É evidente que tais achados não comprovavam, em definitivo, o papel da genética no alcoolismo, uma vez que a agregação familiar poderia estar apenas indicando um componente ambiental importante (i.e., consumo de álcool por outros membros da família; exposição ao álcool em casa; disponibilidade da bebida; aceitação do hábito de beber; etc).

Uma segunda fonte de evidência veio dos estudos com **pares de gêmeos**. Essa estratégia compara a concordância para a doença entre gêmeos monozigóticos (MZ) à concordância observada entre gêmeos dizigóticos (DZ). Esse tipo de estudo parte da premissa de que gêmeos MZ e DZ sofrem influência ambiental semelhante; no entanto, os MZ são geneticamente idênticos, enquanto os DZ compartilham apenas a metade de sua informação genética (ou 50% dos genes em comum). Desse modo, em enfermidades determinadas por fatores ambientais, a concordância entre MZ e DZ seria próxima, ao passo que em doenças de base fortemente genética a concordância entre MZ seria significativamente maior que entre DZ. Os resultados desse tipo de estudo genético-epidemiológico permitem, além de demonstrar a existência do componente genético no transtorno estudado, estimar a herdabilidade ( $h^2$ ), ou seja, o quanto da variância de um traço ou transtorno é devido a fatores genéticos. A herdabilidade estimada para o alcoolismo oscila entre 40% e 60%.

Por fim, uma terceira evidência importante em relação à existência de fatores genéticos na predisposição ao alcoolismo veio de **estudos de adoção**. Essa metodologia é útil para estimar a

contribuição de fatores genéticos e ambientais em um traço, mas exige acesso a duas famílias – biológica e adotiva – e também que essas difiram quanto ao traço investigado. Desse modo, em famílias nas quais os pais biológicos têm a doença e os adotivos não têm, o número de crianças com a doença será uma medida indicativa dos fatores genéticos; por outro lado, quando os pais biológicos não manifestam a doença, mas os adotivos o fazem, o número de crianças com a doença servirá como uma medida do componente ambiental. Estudos de adoção no alcoolismo indicam que indivíduos com história familiar (biológica) positiva têm maior risco de desenvolvimento de alcoolismo (1,6 a 3,6 vezes). No entanto, tais resultados só mostraram-se significativos e consistentes em amostras de indivíduos adotados do sexo masculino; alguns autores acreditam que o fator ambiental seja mais importante para o desenvolvimento do alcoolismo entre mulheres (ver Prescott, 2002).

### **Bases neurobiológicas**

Apesar do acúmulo de evidências sugestivas de um papel importante da genética no alcoolismo, desde cedo, esses estudos revelaram também significativas dificuldades metodológicas. Além da própria heterogeneidade entre os alcoolistas (idade de início, padrão de consumo, história familiar, etc.), um dos principais elementos de dificuldade na seleção de pacientes para a realização de estudos foi a freqüente ocorrência de **comorbidades** (ou seja, presença de outras doenças psiquiátricas além do alcoolismo). Dentre essas, destaca-se a associação do alcoolismo com transtorno depressivo e personalidade antisocial (Gorwood et al, 2001), entre outros, os quais poderiam estar atuando como fatores de confusão nas amostras. Além disso, observou-se que muitos alcoolistas eram também dependentes de outras substâncias químicas. Com base nesse dado, ganhou força entre os pesquisadores a hipótese de que o mecanismo neurobiológico envolvido no alcoolismo não fosse propriamente de adição ao álcool, mas sim um mecanismo mais geral, favorecendo o aparecimento de um quadro de dependência química, sem especificidade de substância.

A partir daí desenvolveu-se um modelo em que um processo de exposição repetida à droga, seja ela qual for, aliado à presença de fatores genéticos e ambientais atuando sinergicamente, geraria como resultado final observável a dependência química. Assim, frente à exposição ao álcool, indivíduos com uma determinada variação genética que lhes conferisse maior susceptibilidade à drogadição, expostos a um determinado tipo de ambiente (estresse, violência, pressão social, etc.), apresentariam uma alteração estrutural e/ou funcional de sinapses nervosas e, através do uso repetido, essas mudanças

iniciais estabeleceriam uma alteração estável nos circuitos cerebrais, determinando uma resposta modificada à droga e, conseqüentemente, a dependência.

Uma experiência relativamente simples, realizada ainda em 1950, pode ser considerada como ponto de partida para a investigação de genes associados à drogadição, segundo o modelo discutido acima. Olds e Milner implantaram um eletrodo no encéfalo de um camundongo e o colocaram em uma caixa de 1m<sup>2</sup>; numa extremidade da caixa, havia uma barra metálica conectada ao eletrodo que, quando pressionada, disparava um estímulo elétrico. Inicialmente, o camundongo só pressionava a barra por acidente; em seguida, no entanto, observou-se que o camundongo passava a buscar a reestimulação de forma constante, pressionando repetidamente a barra. Não muito tempo depois, o camundongo recusava alimento e água ofertados e mantinha-se permanentemente junto à barra, pressionando-a à exaustão (2000 vezes por hora durante as 24h do dia). Os pesquisadores deram a esse fenômeno o nome de auto-estimulação cerebral.

Hoje, esse experimento é analisado à luz das teorias de reforço e recompensa. Acredita-se que a estimulação encefálica provocava uma sensação positiva (recompensa), que fazia com que o camundongo voltasse, repetidamente, a buscar o estímulo (reforço) – dando início assim a um processo de adição.

Posteriormente, Olds e Milner mapearam sistematicamente os pontos do sistema nervoso que geravam o fenômeno de auto-estimulação no camundongo; descobriram que havia diferentes pontos com capacidade de estimular esse comportamento, mas que a maioria estava localizado junto à linha média, numa área caracterizada pela presença marcante de corpos celulares de neurônios dopaminérgicos. Embora existam neurônios dopaminérgicos espalhados por todo o SNC, existem dois grupos bem delimitados de células dopaminérgicas, situados justamente nessa região: um na substância negra do mesencéfalo, com axônios se projetando em direção ao estriado, e o outro na área tegmental ventral, projetando-se para o córtex pré-frontal e partes do sistema límbico.

## **DRD2**

Esse achado impulsionou estudos buscando uma associação entre drogadição (incluindo o alcoolismo) e liberação de dopamina a partir desses sítios. Do ponto de vista genético, os genes codificadores dos diferentes receptores da dopamina surgiram como importantes genes candidatos para a dependência de substâncias, incluindo o álcool. Foi assim que, em 1990, foi publicada a primeira associação entre receptor de dopamina e alcoolismo. Blum et al. mostraram uma associação bastante

significativa entre a presença do alelo A1 do gene para o receptor D2 da dopamina (DRD2) e o alcoolismo. A partir de uma análise de 70 amostras de tecido encefálico (58 alcoolistas e 22 controles), os pesquisadores identificaram o alelo A1 em 64% dos alcoolistas e em apenas 17% dos controles ( $p < 0.003$ ).

Os achados de Blum et al. foram recebidos com entusiasmo e motivaram novas pesquisas na área. Comings (1991) também encontrou maior prevalência do alelo A1 entre alcoolistas e demonstrou ainda um aumento significativo da sua prevalência em associação a um conjunto de comportamentos impulsivos, incluindo o transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH), síndrome de Tourette e autismo ( $p < 0.0005$ ). No entanto, ainda naquele ano e também nos anos que se seguiram, estudos conduzidos por outros grupos de pesquisadores não confirmaram a associação entre o alelo A1 e o alcoolismo (Bolos et al., 1990; Gelernter et al., 1991). A associação segue sendo investigado, com resultados controversos. Mais recentemente, uma metanálise de 15 estudos, incluindo um total de 1050 alcoolistas, voltou a reforçar a associação A1-alcoolismo, mais fortemente em subgrupos de pacientes com fenótipo mais grave (Noble, 1998).

### **Enzimas metabolizadoras do etanol**

A procura por genes candidatos para o alcoolismo levou também os pesquisadores a buscar nas enzimas metabolizadoras do etanol uma possível relação com o desenvolvimento da doença. Foram identificados diversos polimorfismos funcionais para diferentes genes codificadores de enzimas que modificam o ritmo de síntese do metabólito tóxico do etanol, o acetaldeído, e também de enzimas que diminuem sua posterior taxa de oxidação.

Sabe-se que, em seres humanos, mais de 90% do etanol ingerido é degradado no fígado, principalmente através da ação de duas enzimas: a álcool desidrogenase (ADH), que converte etanol em acetaldeído e, subseqüentemente, a aldeído desidrogenase (ALDH), que converte o acetaldeído em acetato. Além da identificação de polimorfismos funcionais para ambas as enzimas, observou-se que estes estavam sujeitos a uma distribuição étnica específica, que se correlacionava com a epidemiologia mundial do alcoolismo.

A família de genes da ADH metaboliza não apenas o etanol, mas também retinol, outros álcoois alifáticos e hidroxiesteróides. Trata-se de uma proteína dimérica, com pelo menos 7 diferentes genes envolvidos na codificação das subunidades (todos situados entre 4q21 e 4q25). Existem mais de 20

isoenzimas da ADH conhecidas, as quais são agrupadas em famílias, conforme suas propriedades farmacocinéticas (substrato,  $K_m$ ,  $V_{max}$ , etc.).

Uma dessas isoenzimas, a **ADH2**, apresenta dois alelos que codificam enzimas catalisadoras da oxidação do etanol com diferentes velocidades:

- ADH2\*2:  $V_{max}$  (340  $\mu\text{M}/\text{min}$ )
- ADH2\*1:  $V_{max}$  (9  $\mu\text{M}/\text{min}$ )

Logicamente, uma forma de ADH com maior  $V_{max}$  aumenta a taxa de conversão do etanol para seu metabólito tóxico, o acetaldeído. Assim, indivíduos portadores do alelo ADH2\*2 (a isoenzima com maior  $V_{max}$ ) estão mais sujeitos a apresentar reações adversas ao consumo de etanol, o que, em última análise, reduziria a chance desses indivíduos tornarem-se alcoolistas.

Corroborando essa hipótese, investigações sobre a frequência alélica das duas isoformas de ADH2 mostraram uma diferença significativa entre controles e alcoolistas. Na população asiática, onde a prevalência do alcoolismo é baixa, a frequência alélica do genótipo ADH2\*2 é  $>0,59$ , enquanto nas demais populações ocidentais é  $<0,25$ . É importante observar, no entanto, que este polimorfismo é comum apenas entre os asiáticos; a baixa frequência do mesmo nas populações ocidentais impede tal correlação entre o gene e a doença nestas populações.

Um quadro semelhante foi observado no caso da segunda enzima metabolizadora do etanol, a ALDH, que catalisa a oxidação do acetaldeído a acetato. Várias isoenzimas da ALDH, codificadas por diferentes genes, foram identificadas em uma série de órgãos e tecidos humanos, sendo divididas em 9 famílias, de acordo com suas propriedades cinéticas e distribuição tecidual.

A isoenzima **ALDH2**, de localização mitocondrial, revelou um polimorfismo (troca Glu  $\rightarrow$  Lys na posição 487 da cadeia polipeptídica) que gera uma variante associada com perda de função da enzima, tanto em homo (*ALDH2\*2*) quanto em heterozigotos (*ALDH2\*1*). A inatividade da enzima provoca acúmulo do acetaldeído no sangue, o que explicaria o padrão de aversão ao álcool observado entre os indivíduos portadores desse polimorfismo. Novamente aqui foi identificada uma distribuição étnica significativa: essa variante da ALDH2, conhecida como E487K, é encontrada em aproximadamente 50% da população asiática, não sendo observada em populações negróides ou caucasóides.

## **Conclusão**

Diversos outros genes, além daqueles relacionados aos receptores de dopamina e às enzimas do metabolismo do etanol, foram e vêm sendo investigados em sua relação com o alcoolismo (5-HTT, GABA, MAO, entre outros). Além disso, também os fatores ambientais que participam da definição do fenótipo seguem sendo estudados, sem resultados inteiramente conclusivos. Acredita-se que, além da disponibilidade da droga, uso/abuso do álcool por familiares, pressão social, aceitação do comportamento, mau relacionamento familiar, estresse e violência possam contribuir de alguma forma para o desenvolvimento do alcoolismo.

Em síntese, o alcoolismo é, claramente, uma doença multifatorial; estudos com seres humanos e modelos animais demonstraram que os fatores genéticos contribuem com até 60% do risco total. Não existe um gene do alcoolismo, mas sim uma constelação de genes de predisposição genética, que colocam o indivíduo numa categoria de risco para o abuso de álcool (e de outras substâncias) ou, ao contrário, o protegem desse risco, sobre a qual atuam ainda os fatores ambientais.

## Referências

- Blum, K.; Noble, E. P.; Sheridan, P. J.; Montgomery, A.; Ritchie, T.; Jagadeeswaran, P.; Nogami, H.; Briggs, A. H.; Cohn, J. B.: Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *JAMA* 263:2055–2060; 1990.
- Bolos, A. M.; Dean, M.; Lucase-Derse, S.; Ramsburg, M.; Brown, G. L.; Goldman, D.: Population and pedigree studies reveal a lack of association between the dopamine D2 receptor gene and alcoholism. *JAMA* 264:3156–3160; 1990.
- Comings, D. E.; Comings, B. G.; Muhleman, D.; Dietz, G.; Shahbahrani, B.; Tast, D.; Knell, E.; Kocsis, P.; Baumgarten, R.; Kovacs, B. W.; Levy, D. L.; Smith, M.; Borison, R. L.; Evans, D. D.; Klein, D. N.; MacMurray, J.; Tosk, J. F.; Sverd, J.; Gysin, R.; Flanagan, S. D.: The dopamine D2 receptor locus as a modifying gene in neuropsychiatric disorders. *JAMA* 266:1793–1800; 1991.
- Gelernter, J.; O'Malley, S.; Risch, N.; Kranzler, H.R.; Krystal, J.; Merikangas, K.; Kennedy, J. F.; Kidd, K. K.: No association between an allele of the D2 dopamine receptor gene (*DRD2*) and alcoholism. *JAMA* 266:1801–1807; 1991.
- Gorwood P, Limosin F, Batel P, et al. The genetics of addiction: alcohol-dependence and D3 dopamine receptor gene. *Pathol Biol (Paris)*. 2001 Nov;49(9):710-7.
- Noble, Ernest. The D2 Dopamine Receptor Gene: A Review of Association Studies in Alcoholism and Phenotypes. *Alcohol*, Vol. 16, No. 1, pp. 33–45, 1998
- Prescott, Carol. Sex Differences in the Genetic Risk for Alcoholism. *Alcohol Research & Health* Vol. 26, No. 4, 2002. 264-273.