

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

TESE DE DOUTORADO

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO E INTERAÇÃO DE GENES  
DOPAMINÉRGICOS NA DEPENDÊNCIA DE CRACK**

Anderson Ravy Stolf

Orientador

Prof. Dr. Flavio Pechansky

Co-orientadora

Dra. Jaqueline Bohrer Schuch

Tese de doutorado a ser 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 Doutor em Psiquiatria.

Porto Alegre, dezembro de 2018

## Ficha Catalográfica

**“I KNOW NOT WHAT TOMORROW WILL BRING”**

**FERNANDO PESSOA**

## AGRADECIMENTOS

À JAQUELINE BOHRER SCHUCH, A QUEM AGRADEÇO POR TODA A PACIÊNCIA, SUPORTE E DEDICAÇÃO COM QUE ME ORIENTOU. FOI UM PRIVILÉGIO TER TIDO A OPORTUNIDADE DE APRENDER CONTIGO. SUA PRESENÇA FOI FUNDAMENTAL PARA MIM.

AO MEU PROF. ORIENTADOR, FLAVIO PECHANSKY, PELO APOIO INCONDICIONAL DESDE MINHA ENTRADA NO CENTRO DE PESQUISA EM ÁLCOOL E DROGAS DO HCPA/UFRGS. MUITO OBRIGADO POR ME APOIAR E INCENTIVAR EM TODOS OS MOMENTOS.

À PROF. DRA. TATIANA ROMAN, PELO AUXÍLIO INESTIMÁVEL NO PROJETO E COORIENTAÇÃO DE MESTRADO.

AO MEU AMIGO FELIX KESSLER, POR TODA A TRAJETÓRIA DE DIÁLOGO E COMPANHEIRISMO QUE NOSSA AMIZADE REPRESENTA.

À MINHA ORIENTADORA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (*IN MEMORIAM*) PROF. DRA. BERENICE LORENZETTI, A BIOMÉDICA QUE ME FEZ ENXERGAR O MUNDO DA CIÊNCIA ATRÁS DOS REMÉDIOS!

AOS PROF. ARNO WORTMEYER, POR FAZER DE CADA AULA UMA AVENTURA NÃO TEDIOSA. AO DR. DIEGO LUIZ ROVARIS, PELO AUXÍLIO E TROCA DE IDEIAS NO DESENVOLVIMENTO DESSE PROJETO. À DIANA MULLER, PELO APRENDIZADO MÚTUO.

À PATRÍCIA E ALESSANDRA, POR TODOS OS CAFÉS E ESTÍMULOS QUE RECEBI, COM PALAVRAS DE CARINHO.

A TODOS OS COLEGAS DE PÓS GRADUAÇÃO E PROFESSORES DO PPG PSIQUIATRIA COM OS QUAIS CONVIVI E APRENDI NESSA JORNADA DE UMA DÉCADA. AOS ÓRGÃOS FINANCIADORES DOS PROJETOS ENVOLVIDOS.

A TODA EQUIPE DO LABORATÓRIO DE GENÉTICA HUMANA DA UFRGS.

A TODAS AS PESSOAS QUE CONHECI NA UNIDADE ÁLVARO ALVIM DO HCPA, COM OS QUAIS CONVIVI MAIS DIRETAMENTE NOS ANOS DE 2014-2017.

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

AOS MEUS PAIS, ASTERIO E BENILDE, POR NUNCA TEREM DESISTIDO DE ME AMAR E ME ENSINADO OS VALORES ÉTICOS FUNDAMENTAIS DE VIDA. AOS MEUS IRMÃOS, MARCELO E AGOSTINHO, PELO APOIO E PELAS RISADAS.

AO AMOR DA MINHA VIDA, DANIELE, POR TUDO QUE APRENDEMOS JUNTOS UM COM O OUTRO.

## SUMÁRIO

Índice de figuras e tabelas .....	7
Lista de abreviaturas e siglas .....	8
Resumo .....	10
Abstract.....	12
Introdução.....	14
Contexto histórico e características clínicas .....	14
O sistema de recompensa cerebral e aspectos biológicos.....	15
Adição e fatores genéticos .....	18
Neurotransmissão dopaminérgica.....	20
Gene do transportador de dopamina (DAT1) .....	21
Gene do receptor de dopamina D2 .....	23
Gene do receptor de dopamina D4 .....	25
Heterodimerização DRD2-DRD4.....	26
Justificativa.....	30
Objetivos.....	30
Objetivo geral: .....	30
Objetivos específicos: .....	30
Fontes Financiadoras .....	31
Considerações Éticas .....	31
Artigos .....	32
Artigo 1 – Association between the Intron 8 VNTR Polymorphism of the DAT1 Gene and Crack Cocaine Addiction .....	32
Artigo 2 – Effects of DRD2 splicing-regulatory polymorphism and DRD4 48bp VNTR on crack cocaine addiction.....	34
Discussão.....	36
Considerações Finais .....	37

Referências .....	39
-------------------	----

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Principais vias do sistema de recompensa cerebral. (Arias-Carrión et al. 2010, modificado) .....	16
Figura 2 – Estrutura do gene DAT1, e identificação dos VNTRs analisados na presente tese, localizados no intron 8 e na região 3’UTR (Guindalini et al. 2016, modificado). .....	22
Figura 3 – Estrutura do gene DRD2 e localização do polimorfismo rs2283265. O exon 6 (representado pela letra E6) está relacionado às isoformas do DRD2, estando presente na isoforma D2L e não presente na isoforma D2S (Moyer et al. 2011, modificado). .....	24
Figura 4 – Estrutura do gene DRD4 e localização do VNTR de 48bp (Paterson, 1999, modificado). .....	25
Figura 5 – Imagem esquemática do perfil de heteromerização do DRD2-DRD4 em neurônios pré e pós-sinápticos (Rovaris et al, 2014) .....	28

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATV	ÁREA TEGMENTAR VENTRAL
CPAD	CENTRO DE PESQUISA EM ÁLCOOL E DROGAS
CPF	CÓRTEX PRÉ-FRONTAL
<i>DAT1</i>	GENE DO TRANSPORTADOR DE DOPAMINA
D2L	FORMA LONGA DO RECEPTOR DE DOPAMINA D2
D2S	FORMA CURTA DO RECEPTOR DE DOPAMINA D2
<i>DRD2</i>	GENE DO RECEPTOR DE DOPAMINA D2
<i>DRD4</i>	GENE DO RECEPTOR DE DOPAMINA D4
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-AMINO BUTÍRICO
GPPG	GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
GWAS	GENOME WIDE ASSOCIATION STUDIES
HCPA	HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
NACC	NÚCLEO ACCUMBENS
OMS	ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE
SENAD	SECRETARIA NACIONAL DE POLÍTICAS SOBRE DROGAS
SNPs	SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS
TDAH	TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE



UFRGS

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

VNTR

NÚMERO DE VARIÁVEL DE REPETIÇÕES EM TANDEM

UTR

REGIÃO NÃO TRADUZIDA

## RESUMO

**Introdução:** O crack é uma droga de abuso que tem sido objeto de preocupação e estudo há pelo menos duas décadas. O artigo 1 tem como objetivo comparar as frequências alélicas e genótípicas do polimorfismo de 30pb do VNTR do gene *DAT1*, localizado no intron 8, entre usuários adultos de crack e indivíduos não dependentes. O artigo 2 enfoca interações gene-gene: há evidências de que polimorfismos nos genes dos receptores de dopamina D2 (*DRD2*) e D4 (*DRD4*) podem influenciar a suscetibilidade aos transtornos de uso de substâncias (SUD), individualmente e na formação dos heterômeros *DRD2-DRD4*. Além disso, o papel dopaminérgico na vulnerabilidade à dependência parece ser influenciado pelo sexo.

**Método:** Artigo 1 - Uma amostra transversal de 239 dependentes de crack, recrutados em clínicas de internação e ambulatório, e 211 indivíduos não dependentes foi utilizada. Eles foram avaliados usando os instrumentos ASRS, ASI-6, WAIS-III e MINI. Amostras de DNA extraídas de sangue total foram genotipadas para o VNTR do intron 8 (*DAT1*). Artigo 2 - Estudo transversal com 307 dependentes de crack e 770 controles. A influência do *DRD2* (rs2283265) e do *DRD4* (VNTR de 48bp), bem como sua interação na suscetibilidade e gravidade da dependência de crack, foram avaliadas em mulheres e homens separadamente.

**Resultados:** Artigo 1 - A análise demonstrou que o genótipo 6R6R do gene *DAT1* está associado à dependência de crack (OR = 1,844; IC = 1,101-3,089; p = 0,020). Artigo 2- Uma associação entre o alelo T do *DRD2* e a dependência de crack foi encontrada em mulheres. Nesse mesmo grupo, a análise de interação demonstrou que a presença do alelo T *DRD2* e a ausência concomitante do alelo 7R *DRD4* estavam associadas ao risco de dependência de crack. Nenhuma influência das variantes de *DRD2* e *DRD4* foi observada em homens.

**Conclusões:** Nossos resultados são consistentes com o papel do *DAT1* na neurobiologia da dependência de drogas. Além disso, esses dados reforçam o papel dos genes dopaminérgicos em comportamentos externalizantes, especialmente a influência da interação *DRD2-DRD4* na dependência química. Esta é a quarta amostra que independentemente associou a interação *DRD2-DRD4* com dependência química ou transtornos relacionados a ela. Além disso, nossos achados apontam para

diferença potencial de neurotransmissão dopaminérgica entre os sexos, que pode influenciar a suscetibilidade à dependência de substâncias.

**Palavras-chave:** Cocaína-crack; Transportador de dopamina; Gene *DAT1*; crack; dependência; receptor de dopamina D2; receptor de dopamina D4; transtorno do uso de substâncias

## Abstract

**Background:** Crack cocaine is a drug of abuse that has been object of concern and study for at least two decades. Paper 1 aims to compare allele and genotype frequencies of a 30-bp VNTR polymorphism of the *DAT1* gene, located at intron 8, between adult crack cocaine users and nonaddicted individuals. Paper 2 focuses on gene-gene interactions: there is evidence that dopamine receptors D2 (*DRD2*) and D4 (*DRD4*) polymorphisms may influence substance use disorders (SUD) susceptibility, both individually and through their influence in the formation of *DRD2-DRD4* heteromers. The dopaminergic role on the vulnerability to addiction appears to be influenced by sex.

**Methods: Paper 1** - A cross-sectional sample of 239 current adult crack abusers or dependents from in- and outpatient clinics and 211 control individuals was collected in Brazil. They were evaluated using ASRS, ASI-6, WAIS-III, and MINI assessments. DNA samples extracted from whole blood were genotyped for the intron 8 VNTR in *DAT1*. **Paper 2** - A cross-sectional study with 307 crack cocaine addicts and 770 controls was conducted. The influence of *DRD2* rs2283265 and *DRD4* 48bp VNTR in exon 3 variants, as well as their interaction on crack cocaine addiction susceptibility and severity were evaluated in women and men separately.

**Results: Paper 1** - The analysis showed that the 6R6R genotype in the *DAT1* gene was associated with crack cocaine addiction (OR = 1.844; CI = 1.101–3.089;  $p = 0.020$ ). **Paper 2**- An association between the *DRD2* T-allele and crack cocaine addiction was found in women. In this same group, interaction analysis demonstrated that presence of *DRD2*-T allele and concomitant absence of *DRD4*-7R allele were associated with risk for crack cocaine addiction. No influence of *DRD2* and *DRD4* variants was observed in men.

**Conclusion:** Our results are consistent with the role of *DAT1* in the neurobiology of drug addiction. Also, these data reinforce the role of dopaminergic genes in externalizing behaviors, especially the influence of *DRD2-DRD4* interaction on SUD. This is the fourth sample that independently associated the *DRD2-DRD4* interaction with SUD itself or related disorders. In addition, our findings point out to a potential difference of dopaminergic neurotransmission across sex influencing addiction susceptibility.

Key words: Crack cocaine ; Dopamine transporter ; *DAT1* gene ; crack; dependence;  
dopamine receptor D2; dopamine receptor D4; substance use disorder

## INTRODUÇÃO

### CONTEXTO HISTÓRICO E CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Os relatos de uso de crack, um subproduto do refino da cocaína, datam da década de 80, onde era possível verificar o uso nas “*crack houses*” nos EUA <sup>1</sup>. O “estalo” decorrente da queima da pedra de crack produzia um som mnemônico que deu origem ao nome da droga, que embora diferente em sua via de consumo e efeitos farmacocinéticos, não difere da substância conhecida como cocaína em seus efeitos farmacodinâmicos a nível celular.

A história de relatos e expansão do uso de crack no Brasil foi análoga ao que ocorreu nos EUA. Os primeiros relatos surgiram em meados da década de 90 em São Paulo <sup>2</sup> e desde então seu consumo se alastrou principalmente para as capitais, abrangendo grande parte das regiões do País, e acompanhando a mudança da epidemia da AIDS, o que resultou em uma migração da forma injetada da cocaína para sua forma fumada <sup>3</sup>. Dois grandes levantamentos recentes do uso de drogas na população brasileira dão uma ideia do número de pessoas afetadas pelo problema <sup>4</sup>. Cerca de 1% da população brasileira utilizou crack no último ano, de acordo com os dados do II Levantamento de Álcool e Drogas <sup>5</sup>. Esse levantamento utilizou amostra domiciliar de indivíduos, mas no cenário de atendimento clínico os relatos eram de consumo em locais concentrados nas grandes capitais, conhecidos como “*cracolândias*”. Este fato suscitou dúvidas a respeito da representatividade do índice de consumo. Dessa maneira, outro estudo epidemiológico com foco exclusivo no consumo de crack, denominado Pesquisa Nacional sobre o Uso de Crack, analisou os cenários de consumo, utilizando dessa vez uma amostra representativa da população usuária de crack, visto que inquéritos domiciliares excluem grande parte dos usuários, que se encontram em situação de rua, com grande vulnerabilidade social <sup>6</sup>; <sup>7</sup>; <sup>8</sup>. Verificou-se que os usuários são predominantemente homens, jovens sendo mais de 80% com idade inferior a 40 anos. Cerca de 78% dos consumidores são não-brancos, com baixa escolaridade – 57% deles completaram no máximo a oitava série, e em situação conjugal de ausência de companheiro – cerca de 62% se declararam solteiros. Após este último levantamento não houve mais estudos epidemiológicos de grande porte no Brasil.

Os usuários de crack que iniciaram o consumo dessa droga mais recentemente foram expostos à maior disponibilidade de crack nos cenários de consumo do que os

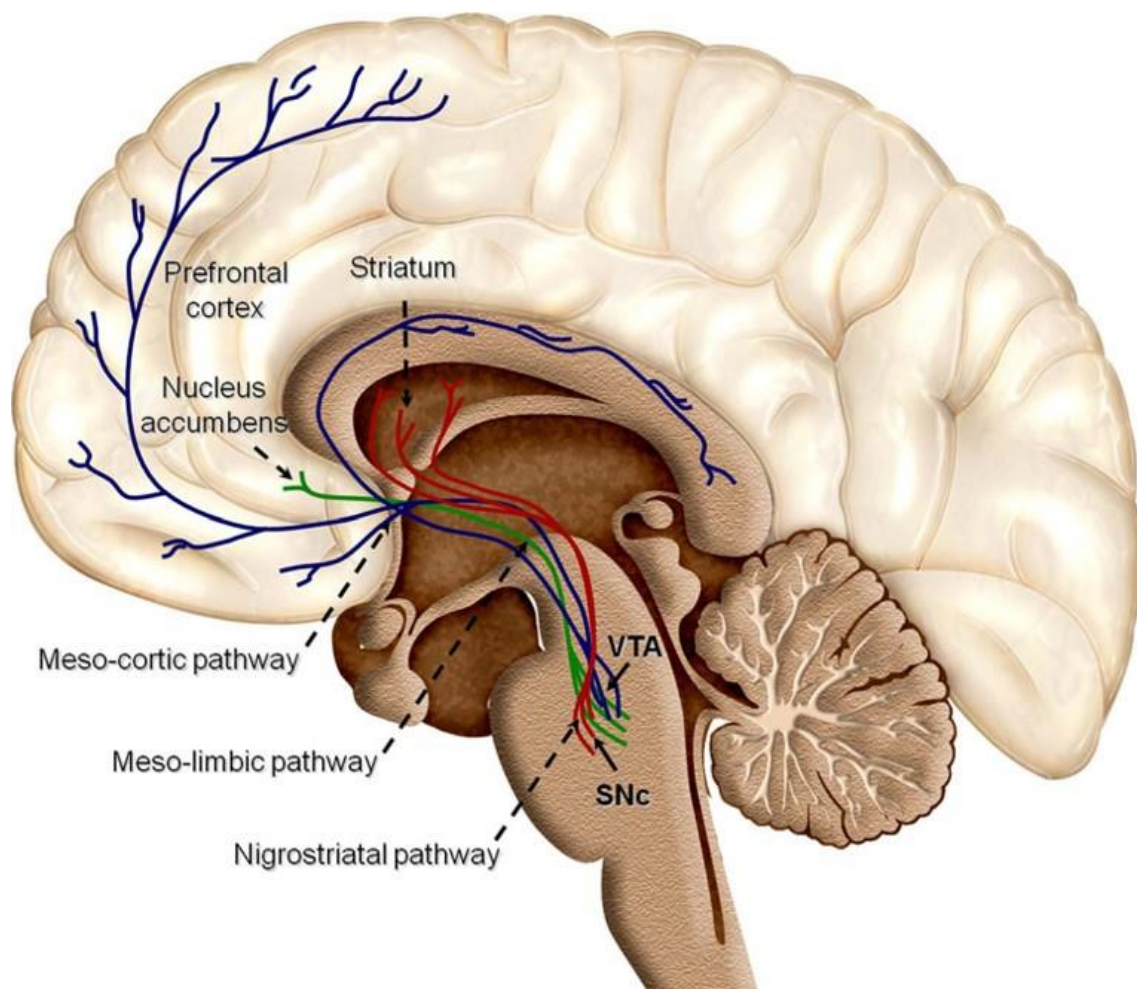
usuários mais antigos. Esse fato refletiu na diminuição do número de drogas diferentes utilizadas antes do estabelecimento da dependência por crack, e num tempo menor de evolução até tal desfecho <sup>9</sup>. Além disso, usuários apresentam maior risco de transtornos psiquiátricos em geral e uso concomitante de outras drogas, como tabaco, álcool, maconha, cocaína aspirada, anfetaminas e inalantes. Geralmente o início do uso de substâncias se dá com drogas lícitas (tabaco e álcool), em idade precoce, em torno de 10 a 13 anos, e de modo pesado, sendo que a maconha costuma ser a primeira droga ilícita <sup>10; 11; 12</sup>. Como exemplo da gravidade da apresentação clínica desse desfecho, existe associação consistente com transtorno de estresse pós traumático, transtorno de personalidade antissocial e risco de suicídio <sup>12; 13</sup>.

Nos estudos epidemiológicos brasileiros, é usual que o crack e a cocaína sejam categorizadas separadamente. Infelizmente, grande parte dos outros dados que utilizamos para entender a droga crack provém das bases de dados de dependentes de cocaína, em muitas das amostras com o componente aspirado e fumado (crack) analisado em conjunto. Dessa forma, alguns dados apresentados na literatura se referem a estudos realizados com cocaína que incluem total ou parcialmente o crack. Estudos publicados nos últimos anos tem concentrado esforços para analisar usuários exclusivamente de crack <sup>12; 14; 15; 16; 17; 18; 19</sup>. Além disso, é de suma importância compreender as bases neurobiológicas, especialmente os fenômenos cerebrais ligados à dependência química. Nesse sentido, os tópicos a seguir elucidam os mecanismos clássicos da adição.

#### O SISTEMA DE RECOMPENSA CEREBRAL E ASPECTOS BIOLÓGICOS

As drogas de abuso atuam especialmente sobre a via mesocorticolímbica da dopamina, que se projeta da área tegmentar ventral (ATV) do mesencéfalo para o núcleo accumbens (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 decisão, sendo responsável pelo controle inibitório, e costuma estar menos funcionante

nos dependentes químicos ou indivíduos com outras comorbidades psiquiátricas, principalmente aqueles com sintomas de impulsividade<sup>20; 21; 22</sup>. As principais áreas do sistema de recompensa podem ser visualizadas na **Figura 1**.



*Figura 1 - Principais vias do sistema de recompensa cerebral. (Arias-Carrión et al. 2010, modificado)*

O papel da dopamina no reforço de comportamentos importantes - como a busca por comida ou sexo, é vital no sentido de fazer com que o indivíduo repita tais atividades. A estimulação das áreas de recompensa cerebral por tais atividades serve, como regra, para que a execução das mesmas seja mantida ao longo do tempo. Nesse sentido há uma liberação dopaminérgica que permite que esse mecanismo fisiológico seja perpetuado. Quando os níveis de dopamina atingem valores altos há interrupção do comportamento, visto que os estímulos fornecidos pelo neurotransmissor encontram os receptores de dopamina em funcionamento fisiológico. Quando os valores de dopamina diminuem, há



uma busca repetida pelo comportamento, com o intuito da sensação de recompensa obtida anteriormente <sup>23</sup>.

O efeito no sistema dopaminérgico ocasiona o bloqueio de receptores pós-sinápticos de dopamina na circuitaria cerebral, estimulando o consumo das substâncias, sem a sinalização de que há neurotransmissor em quantidade adequada na fenda sináptica. Embora se admita o mesmo modelo explicativo para reforçadores como sexo ou comida, por exemplo, esse aumento mais pronunciado pelo bloqueio dos receptores pós-sinápticos seria a explicação pelo grande componente compulsivo nos transtornos aditivos <sup>23; 24</sup>.

A cocaína tem efeito sobre vários sistemas de neurotransmissores, como noradrenalina e serotonina, mas as ações no sistema dopaminérgico são consideradas as mais importantes, em virtude desse sistema ser considerado o grande reforçador biológico no estudo das diversas drogas existentes e seus mecanismos de ação <sup>25</sup>. O reforço do comportamento desejado - seja ele o consumo de comida, atividade sexual ou uso de drogas, depende de fatores ou estímulos que impulsionam o comportamento. Estes estímulos estão relacionados à concentração extracelular de dopamina em regiões do estriado. A resposta condicionada iniciada por gatilhos ambientais - como visualizar a droga ou estar em ambientes cuja memória do indivíduo remete ao uso da substância, é acompanhada por uma diminuição na capacidade de frear a autoadministração da substância ou do comportamento <sup>26</sup>. Nesse sentido, o sistema dopaminérgico continua a ser uma das explicações biológicas mais plausíveis para a continuidade do comportamento aditivo e implicado em potencial terapêutico. Além do aumento da quantidade de dopamina liberada na fenda sináptica pelo uso agudo da substância, há elementos que indicam que o uso crônico de estimulantes produz diminuição na liberação desse neurotransmissor na via dopaminérgica, com *downregulation* de receptores tanto pré- quanto pós-sinápticos, e necessidade de maiores níveis sinápticos de dopamina para manter o impulso sináptico que proporciona o efeito clínico desejado <sup>27; 28; 29</sup>.

Os gatilhos ambientais acionam memórias comportamentais relacionadas a compulsões, e estudos pré-clínicos mostram adaptações neuronais no sistema dopaminérgico, em áreas relacionadas com aprendizado e memória, e no circuito glutamatérgico, nos quais as projeções dos neurônios dopaminérgicos também estão inseridas <sup>30</sup>. Não apenas efeitos condicionantes psíquicos ou comportamentais são ativados pelas drogas - mas uma série de repercussões fisiológicas são acionadas em nível central e periférico, como o aumento do processo de apoptose e a diminuição da

reprodução celular e estresse oxidativo de forma global, causando citotoxicidade cerebral, vascular, hepática e renal <sup>31</sup>. Há consenso clínico sobre o fato de que os usuários de substâncias em geral aparentam idade superior à sua idade cronológica, associada a um processo de envelhecimento com modificações fisiológicas a nível celular, como as citadas anteriormente.

Uma das teorias que podem ser utilizadas para compreender a magnitude do dano cerebral e da progressão da dependência química que envolve o crack, é a teoria da neuroprogressão. O estadiamento clínico de doenças na medicina, como câncer ou diabetes, envolve a categorização em estágios clínicos com a presença ou não de marcadores biológicos, mas que possam definir prognóstico ou evolução da doença <sup>32; 33</sup>. No caso da psiquiatria, a compreensão deste modelo indica que pode haver progressão em estágios, do mais leve comprometimento até consequências potencialmente graves. Isso inclui progressivo declínio ou prejuízo neuronal, com presença de citocinas inflamatórias e componentes de estresse oxidativo, algumas vezes acompanhadas de mudanças cerebrais estruturais <sup>33; 34</sup>. Há evidências de que a dependência de crack pode ser incluída nesse modelo <sup>14</sup>.

O potencial de abuso da cocaína está intimamente relacionado à via de administração, sendo devido, pelo menos em parte, a diferenças farmacocinéticas. Dentre todas as formas de consumo de cocaína, a forma fumada 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 <sup>35; 36</sup>. Inicialmente após o consumo, há a sensação de *rush*, com aumento agudo da sensação de euforia, libido e prazer sexual, porém tais efeitos costumam ser sobrepostos por sintomas persecutórios, irritabilidade, fadiga e depressão. Esse quadro que se segue, denominado de *crash*, costuma durar de horas a dias após a redução ou interrupção do consumo, e não é observado em todos os usuários <sup>37; 38</sup>. Tais dados corroboram o alto potencial de dependência apresentado pela droga.

#### ADIÇÃO E FATORES GENÉTICOS

Há um extenso debate acerca dos fatores associados à susceptibilidade dos comportamentos aditivos. As primeiras experimentações parecem ser dirigidas por atos

voluntários, mas o contínuo acionamento dos mecanismos de recompensa cerebral leva à diminuição do autocontrole tornando o cérebro do indivíduo mais suscetível às recaídas pelo humor negativo e pelo estresse, culminando no comportamento compulsivo em busca da substância<sup>23</sup>. Estresse crônico, presença de comorbidades psiquiátricas e exposição precoce às drogas são fatores de risco importantes.

Além dos gatilhos ambientais que cercam o consumo de cocaína e de crack, há evidências de que os fatores genéticos sejam também importantes para a predisposição para a dependência dessa droga. É particularmente difícil identificar fatores etiológicos relacionados ao consumo de substâncias e demais transtornos psiquiátricos. Dentre os fatores genéticos podemos salientar que existem outros genes envolvidos no processo de recompensa e de adição, em rotas biológicas diversas além da via dopaminérgica<sup>22</sup>. O sistema inibitório GABA (ácido gama-aminobutírico), o sistema opióide e o sistema de transmissão colinérgica e receptores nicotínicos são exemplos citados na literatura<sup>22; 39; 40</sup>.

Estudos de herdabilidade, com gêmeos e famílias, têm demonstrado que a dependência de substâncias tem importante influência genética, com um coeficiente de herdabilidade de 50%<sup>41; 42; 43; 44; 45</sup>. Mais especificamente, estudos de gêmeos têm mostrado que a herdabilidade na adição varia de 39% (alucinógenos) a 70% (cocaína)<sup>44; 45; 46; 47; 48</sup>. Isso é um percentual similar à variação nos níveis séricos de colesterol, que também depende de condições ambientais específicas, como dieta inadequada, por exemplo<sup>49</sup>. Porém, a busca por genes de suscetibilidade à adição é particularmente difícil, podendo variar conforme a substância e a população investigada<sup>50</sup>.

Diferentes abordagens foram utilizadas para identificar os genes associados especificamente ao uso de substâncias. Estudos de varredura genômica (GWAS – *genome wide association studies*) revelaram poucos genes significativamente associados a dependência de cocaína, como o *FAM53B* (*family with sequence similarity 53, member B*), e o *NCOR2* (*nuclear receptor corepressor 2*). Nesse método, há a procura no genoma por pequenas variações, chamadas de SNPs (*single nucleotide polymorphism*), onde a frequência dos alelos é comparada entre casos e controles. Centenas de milhares de SNPs podem ser estudados ao mesmo tempo, identificando genes mais associados à suscetibilidade para transtornos ou doenças específicas. Até o momento, nenhum GWAS foi realizado com usuários específicos de crack, visto que estudos deste tipo requerem grande número amostral (na casa de milhares de indivíduos avaliados). Além disso,

poucos estudos foram desenvolvidos com dependentes de cocaína, sendo que a maioria dos GWAS existentes são com amostras de nicotina e álcool<sup>52; 53; 54; 55</sup>.

Outra maneira de avaliar as diferenças é utilizar a existência de uma hipótese biológica relevante envolvida no transtorno ou desfecho, com consequente estudo das variantes gênicas associadas à hipótese, utilizando estudos de gene-candidatos. O estudo dos mecanismos de ação envolvidos na fisiopatologia da doença é bastante útil na seleção dos genes a serem estudados utilizando essa abordagem.

Diferentes abordagens nestes estudos - como interações gene-gene e gene-ambiente, são importantes e acrescentam elementos essenciais para desvendar a neurobiologia da adição<sup>25</sup>. Estudos genômicos têm salientado importantes diferenças entre a herdabilidade estimada pelos estudos com gêmeos e a herdabilidade molecular. Esta lacuna entre as estimativas de herdabilidade demonstra a necessidade da análise de interações e correlações, em genes de uma mesma rota biológica, por exemplo. A análise de interações gene-gene pode salientar efeitos diferentes daqueles observados quando se analisa genes, ou polimorfismos, isoladamente. De maneira análoga, as interações gene-ambiente são importantes, com a presença de estímulos ou variantes do ambiente que suscitam o desenvolvimento de um dado transtorno levando em conta a influência do *background* genético. A compreensão do fenômeno se torna ainda mais complexa quando se elencam fatores epigenéticos – como por exemplo, mudanças na estrutura da cromatina que podem mediar a habilidade de estímulos ambientais, mesmo em adultos, causando mudanças na expressão gênica<sup>57</sup>.

Apesar de existirem diferentes abordagens em relação a genética da adição, grande parte dos estudos tem como objetivo a avaliação de genes candidatos. Contudo, ainda há poucos resultados replicados de forma consistente<sup>47; 55; 58</sup>. Baseando-se no fato de que há um importante papel do sistema dopaminérgico no processo de estabelecimento da autoadministração de drogas, a maioria destes estudos se concentrou na avaliação das vias dopaminérgicas. A grande heterogeneidade observada na expressão fenotípica do fenômeno pode tornar difícil a detecção de associações mais fortes<sup>47</sup>. Há dados consistentes que associam genes dopaminérgicos a respostas específicas nos transtornos por uso de substâncias, reforçando o papel desse sistema na adição<sup>58</sup>.

A dopamina é o neurotransmissor catecolaminérgico predominante no cérebro de mamíferos, e precursor dos outros neurotransmissores catecolamínicos, como a norepinefrina e a epinefrina. Com a estimulação da célula nervosa a dopamina é liberada na fenda sináptica, onde estimula receptores dopaminérgicos pós-sinápticos e auto-receptores pré-sinápticos. É transportada para fora da fenda sináptica pelo transportador de dopamina (DAT), através da recaptação citoplasmática. Suas funções variam desde o movimento voluntário e envolvimento no sistema de recompensa cerebral até a regulação hormonal e hipertensão. Em virtude de sua grande distribuição cerebral e multiplicidade de vias neuronais envolvidas, vários transtornos e doenças estão implicados com a desregulação nas vias dopaminérgicas - como hiperprolactinemia, Mal de Parkinson, Síndrome de Tourette, dentre outras<sup>59; 60</sup>.

Cinco tipos de receptores de dopamina (D1, D2, D3, D4 e D5, codificados em humanos pelos genes *DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *DRD4* e *DRD5*, respectivamente) são responsáveis por mediar as ações fisiológicas desse neurotransmissor. Já a proteína transportadora de dopamina (DAT) é um regulador primário da função dopaminérgica, tanto em termos de intensidade quanto de duração da transmissão dopaminérgica (Lohoff et al., 2010).

#### GENE DO TRANSPORTADOR DE DOPAMINA (*DAT1*)

O transportador de dopamina é codificado pelo gene *DAT1* (SLC6A3), localizado no cromossomo 5 (5p15.3). Considerando que o DAT é possivelmente o principal alvo cerebral da cocaína<sup>61</sup>, o gene codificador dessa proteína, ou *DAT1*, tem sido bastante investigado. A **Figura 1** mostra alguns dos polimorfismos no gene *DAT1*<sup>62</sup>, dentre eles os VNTRs (número variável de repetições em tandem) localizados no intron 8 e na região 3'UTR.

O polimorfismo mais estudado deste gene é um VNTR de 40pb localizado na região 3' não traduzida (3'UTR) do gene. Alelos 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<sup>63; 64</sup>. Este polimorfismo já foi investigado em relação à dependência de cocaína em alguns estudos. Nosso grupo encontrou associação significativa com o genótipo 10R10R e uso de crack, utilizando amostra exclusiva de usuários de crack e corroborando o papel do *DAT1* na dependência química

dos estimulantes <sup>15</sup>. Por outro lado, há a existência de vários estudos que não encontraram associação entre o VNTR de 40pb e o uso de cocaína, como os descritos por Fernández-Castillo, Lohoff e Ballon <sup>65; 66; 67</sup>. Outros estudos associaram o alelo 9R com maior psicose pós-uso da droga, e concomitantemente menor risco de dependência <sup>68; 69</sup>. O alelo 9R também foi associado a maior risco de dependência de álcool em amostra brasileira <sup>70</sup>, o que corrobora a importância do tema e adiciona dificuldades na interpretação dos achados.

Outro polimorfismo comumente estudado localizado no íntron 8 é um VNTR que ocorre devido à repetição de uma sequência de 30pb, e no qual são possíveis sete alelos, sendo os alelos de 5 (alelo 5R) e 6 (alelo 6R) repetições os mais comuns. Este polimorfismo já foi avaliado em relação à dependência de substâncias em populações brasileiras. Guindalini et al (2006) demonstrou uma associação entre o alelo 6R e o uso de cocaína e crack <sup>71</sup>. Nosso grupo de pesquisa também observou associação entre o genótipo 6R6R e a dependência de crack <sup>18</sup>, corroborando os achados de Guindalini et al. (2006). Entretanto, outros estudos falharam em detectar tal associação. Especificamente, o VNTR do intron 8 não foi associado com o uso de crack, cocaína e heroína <sup>72</sup>. Entre as limitações citadas pelos autores inclui-se o fato de que os controles foram considerados negativos apenas pelo auto-relato de não consumo de drogas, além do baixo número de sujeitos na amostra.

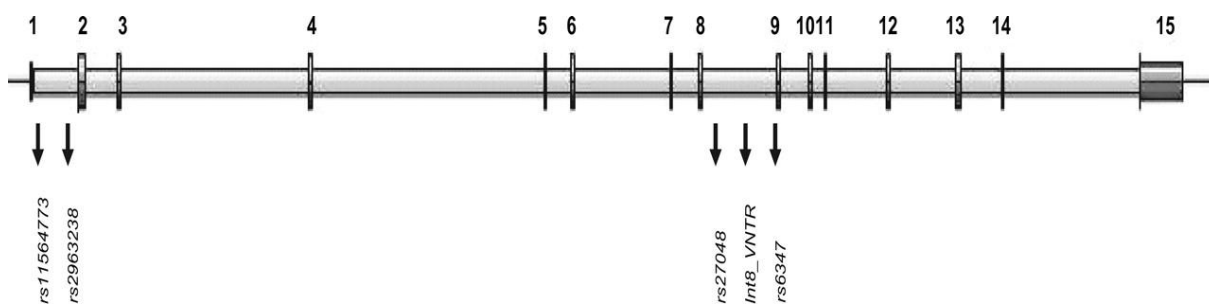


Figura 2 – Estrutura do gene *DAT1*, e identificação dos VNTRs analisados na presente tese, localizados no intron 8 e na região 3'UTR (Guindalini et al. 2016, modificado).

A tabela seguinte faz uma compilação dos principais estudos utilizados na tese, que demonstram associação positiva com o uso de crack/cocaína.

Tabela 1 - Principais artigos com associações de desfecho positivo em relação à dependência de cocaína/crack

Estudo	N	Etnia
Crack cocaine users show differences in genotype frequencies of the 3' UTR variable number of tandem repeats of the dopamine transporter gene (DAT1/SLC6A3)	237 casos 205 controles	Várias
Polymorphisms TaqI A of the DRD2, BclI 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?	97 casos 88 controles	Negros
Association study between the DAT1, DBH and DRD2 genes and cocaine dependence in a Spanish sample	169 casos 169 controles	Caucasianos
Association analysis between polymorphisms in the dopamine D2 receptor (DRD2) and dopamine transporter (DAT1) genes with cocaine dependence	347 casos 257 controles	Negros
A dopamine transporter gene functional variant associated with cocaine abuse in a Brazilian sample	699 casos 866 controles	Várias
Association between the Intron 8 VNTR Polymorphism of the DAT1 Gene and Crack Cocaine Addiction	239 casos 211 controles	Várias
The dopamine receptor D2 (DRD2) SNP rs1076560 is associated with opioid addiction	1400 casos 1324 controles	Várias

#### GENE DO RECEPTOR DE DOPAMINA D2

O receptor de dopamina D2 (DRD2) é expresso em áreas envolvidas com efeitos de reforço primários e processos cognitivos, como o estriado e o córtex pré-frontal<sup>73; 74</sup>.

É encontrado em neurônios GABAérgicos e interneurônios colinérgicos no estriado e no núcleo accumbens <sup>75</sup>, localizados principalmente no terminal pós-sináptico.

O gene *DRD2* localiza-se no cromossomo 11 (11q23) e a presença de um *splicing* alternativo do exon 6 promove duas possíveis isoformas – a forma longa (D2L) e a forma curta (D2S) do receptor. As duas isoformas principais apresentam funções distintas no receptor: a isoforma longa (D2L), que tem funções pós-sinápticas e atua como um receptor pós-sináptico clássico, e a isoforma curta (D2S), que é pré-sináptica e age como auto-receptor, regulando os níveis de dopamina na fenda sináptica. Estudos experimentais com *knockout* de D2L evidenciaram que a isoforma D2S inibe a função do receptor de dopamina (DRD1) <sup>76</sup>. O SNP rs2283265 (G>T) pode, através da presença do alelo T, favorecer a inclusão do exon 6, provocando um aumento da expressão de D2L. O alelo T é associado a prejuízos na memória de trabalho, ao controle de atenção e ao abuso de cocaína <sup>77;78</sup>. Sua localização e estrutura do gene *DRD2* encontram-se na **Figura 2**.

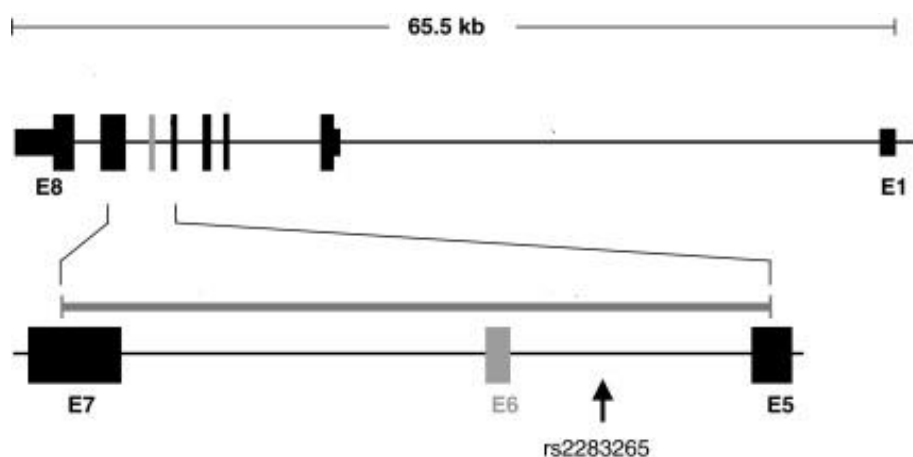


Figura 3 – Estrutura do gene *DRD2* e localização do polimorfismo rs2283265. O exon 6 (representado pela letra E6) está relacionado às isoformas do *DRD2*, estando presente na isoforma D2L e não presente na isoforma D2S (Moyer et al. 2011, modificado).

O *DRD2* vem sendo estudado em vários fenótipos incluindo uso de substâncias psicoativas, funções cognitivas, esquizofrenia e Mal de Parkinson <sup>79; 80; 81; 82</sup>. Esse gene tem associações significativas com fenótipos relacionados ao álcool e à nicotina, e também com *cannabis* e cocaína, mas em menor quantidade de estudos <sup>47</sup>. O polimorfismo rs2283265 foi previamente associado à dependência de opiáceos <sup>83</sup> e à dependência de cocaína <sup>84; 85; 86</sup>. Outros polimorfismos do *DRD2* também estão associados ao uso de drogas, como o rs6277 e o *TaqIA1 ANKK1/DRD2*, especificamente



com aumento nas taxas de dependência de cocaína, opioides e álcool <sup>47; 87; 88</sup>. Há ainda outros dados que reforçam a importância do estudo desse gene como fator relacionado à dependência química, como o recente estudo de vários polimorfismos do *DRD2* associados à dependência de opioides em população chinesa <sup>89</sup>; um estudo de meta-análise em que o alelo *TaqIA DRD2/ANKK1* foi associado à dependência de opioides mas não associado à estimulantes ou maconha <sup>90</sup>; e a associação de polimorfismos ao longo do gene *DRD2* com uso excessivo de álcool <sup>91</sup>.

#### GENE DO RECEPTOR DE DOPAMINA D4

O receptor de dopamina D4 (*DRD4*) também está envolvido com a transmissão dopaminérgica e o efeito de recompensa. O gene *DRD4* que codifica esta proteína está localizado no Chr11p15.5, sendo o polimorfismo mais comumente avaliado um VNTR de 48pb no exon 3, compreendendo de dois (2R) a onze (11R) unidades de repetição (**Figura 3**) <sup>92</sup>. Os alelos mais comuns em população de descendência europeia são os 2R, 4R e 7R.

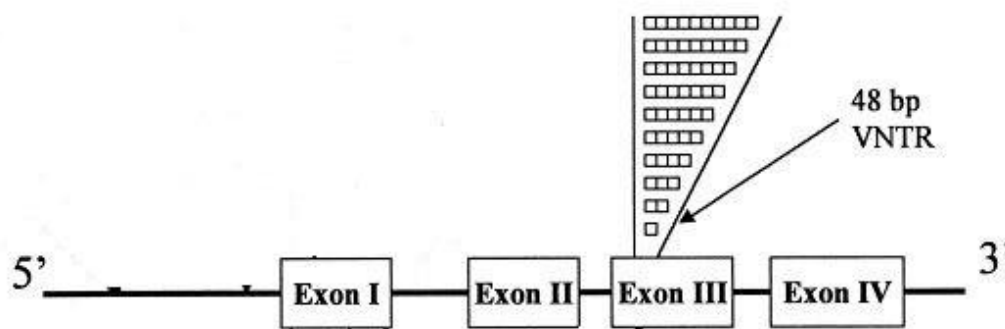


Figura 4 – Estrutura do gene *DRD4* e localização do VNTR de 48bp (Paterson, 1999, modificado).

Evidências sugerem que a variante 7R está relacionada a uma transcrição e tradução menos eficiente <sup>93</sup>, instabilidade de conformação do receptor <sup>94</sup> e uma sinalização intracelular mais fraca <sup>95</sup>. Este VNTR tem sido estudado em muitos transtornos psiquiátricos, tais como dependência de álcool, transtorno de déficit de atenção e hiperatividade, esquizofrenia e personalidade com traços de busca por novidades. O alelo 7R foi associado ao consumo de heroína <sup>96</sup>, abuso de álcool <sup>97</sup>, e

dependência de nicotina e álcool <sup>98</sup>. O alelo 7R também foi associado com busca por novidades e com impulsividade em adolescentes <sup>99</sup>.

Um estudo investigou os genes *DRD2*, *DRD3*, *DRD4* e *DAT1* <sup>65</sup> na dependência de crack, e encontrou associação com o alelo 7R do VNTR localizado no exon 3 do gene *DRD4*. 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 analisados são considerados genes de suscetibilidade ao TDAH, especialmente no caso do *DRD4*, cuja associação com o transtorno foi confirmada por metanálises <sup>100; 101</sup>.

Há dados que correlacionam o gene *DRD4* com o uso de diversas substâncias psicoativas. Por exemplo, é sugerido que o *DRD4L*, relacionado com a presença de alelos com 7 repetições ou mais, possa estar envolvido no desenvolvimento de um fenótipo intermediário para abuso de substâncias, como a presença de fissura após exposição a gatilhos, e no transtorno disruptivo <sup>99</sup>. Estes mesmos alelos estão relacionados ao aumento de depressão entre usuários de maconha <sup>102</sup>. De forma semelhante, o alelo 7R foi associado com maior interação social no uso de álcool, reforçando uma possível relação de risco para alcoolismo <sup>103</sup>. Contudo alguns estudos não têm encontrado associação deste VNTR com os desfechos estudados. Nesse sentido, uma meta-análise avaliando alguns genes dopaminérgicos no alcoolismo <sup>104</sup>, além de uma compilação de estudos longitudinais analisando a influência de uma série de genes em comportamentos externalizantes e uso de drogas não detectaram associação do gene *DRD4* com os respectivos desfechos analisados <sup>105</sup>.

#### HETERODIMERIZAÇÃO DRD2-DRD4

Heterômeros são complexos macromoleculares compostos por duas ou mais moléculas funcionais com propriedades diversas daquelas encontradas quando as moléculas são expressas individualmente <sup>106</sup>. São expressos em diferentes tecidos e em algumas situações específicas, regulando processos fisiológicos. Interações alostéricas entre os receptores são consideradas uma característica comum desse processo de formação de macromoléculas <sup>107; 108</sup>.

Os receptores dopaminérgicos podem formar várias combinações de moléculas denominadas de heterômeros. Podemos citar: DRD1 e DRD2 <sup>109</sup>, DRD2 e DRD3 <sup>110</sup> e DRD2 e DRD4 <sup>111; 112</sup>. Outros receptores também formar macromoléculas, como os receptores opioides  $\mu$  e  $\delta$  ( $\mu$ OR- $\delta$ OR) <sup>113</sup> e o receptor opioide e receptor glutamatérgico metabotrópico 5 (MOR-mGluR5) <sup>114</sup>.

Os receptores D2L são capazes de formar heterômeros com o DRD4 na presença de qualquer uma das três variantes mais comuns (2R, 4R e 7R) <sup>115</sup>, porém o heterômero formado com a variante 7R possui menos eficiência de ligação. A interação entre O D2L e o DRD4 2R e 4R produziu uma afinidade aumentada aos seus agonistas, indicando um reforço alostérico entre os dois receptores. O DRD4 7R, que possui grande número de repetições, produz um tamanho desordenado no loop 3 intracelular comparado as outras variantes, o que favorece a formação de homômeros e reduz a capacidade de heteromerização. Considera-se que o receptor D2 seja uma espécie de conexão principal no sistema nervoso central, ocupando papel fundamental na transmissão dopaminérgica, sendo que as possíveis interações descritas podem modificar sua funcionalidade <sup>115</sup>. A formação de heterômeros entre D2S e as variantes 2R e 4R do DRD4 foi confirmada <sup>112</sup>, mas sem a capacidade de heteromerização com a variante 7R. A **Figura 4** auxilia na compreensão das diferentes possibilidades de interação D2-D4.

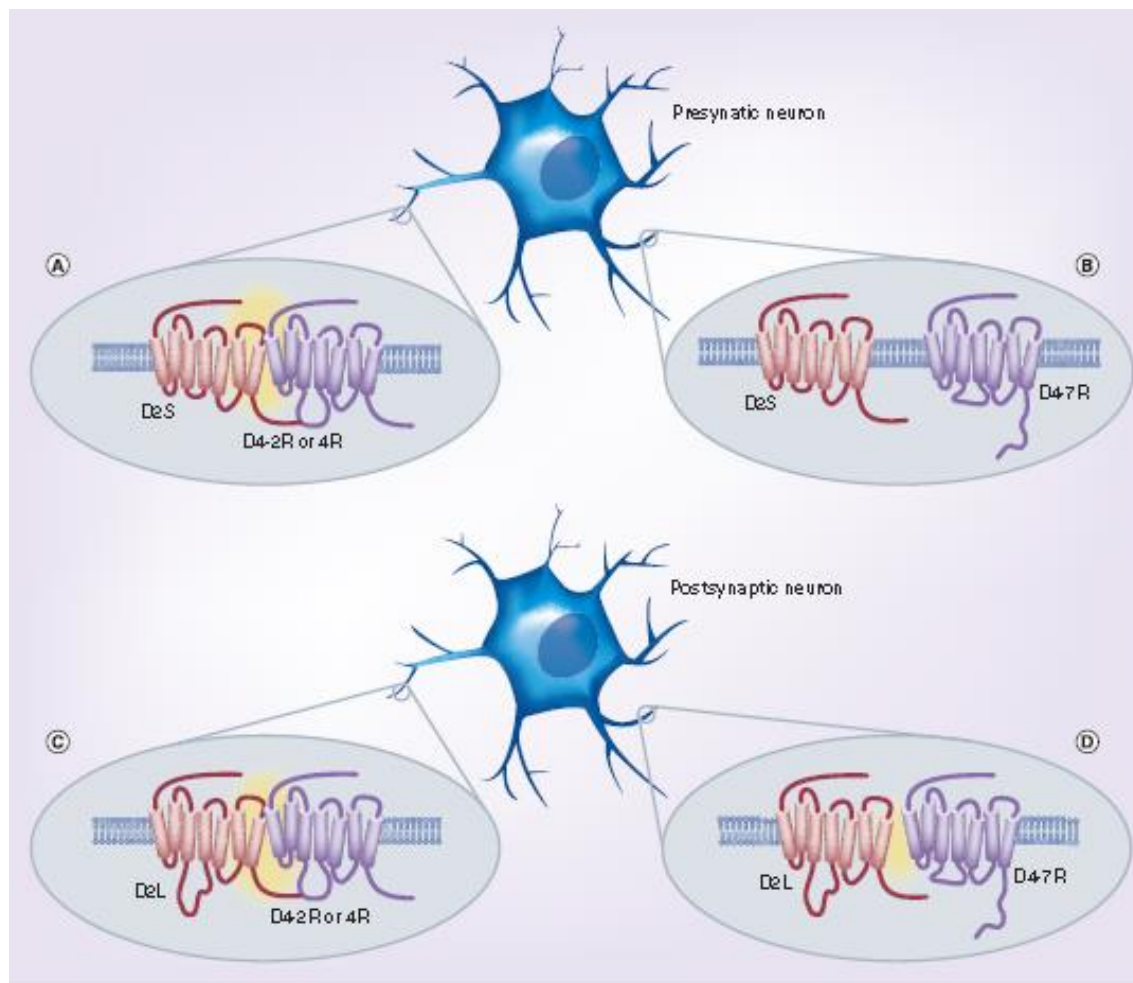


Figura 5 – Imagem esquemática do perfil de heteromerização do DRD2-DRD4 em neurônios pré e pós-sinápticos (Rovaris et al, 2014)

Os efeitos do alelo de risco 7R do *DRD4* foram avaliados na interação com o alelo T do *DRD2* (rs2283265), que intensifica a expressão da isoforma D2L<sup>116; 117</sup>. Os resultados obtidos indicam que a presença de ambos os alelos (*DRD4*-7R e *DRD2*-rs2283265 T) está relacionada com dependência de álcool<sup>117</sup> e com transtorno de conduta<sup>116</sup>.

Os genes *DRD2* e *DRD4* também foram avaliados separadamente, sem avaliação de sua interação, no trabalho de Isaza et al. (2013); contudo, nenhuma associação isolada foi encontrada. Assim, a relação desses genes com a dependência de cocaína e, particularmente, crack, é uma questão que permanece em aberto.

É importante salientar que os efeitos isolados dos genes, ou polimorfismos, costumam ser pequenos quando se trata de dependência química ou de outros desfechos complexos. A análise de interações gene-gene pode inferir efeitos diferentes daqueles

observados quando se analisa genes, ou polimorfismos, isoladamente, e há carência de estudos do tipo na área de adição. Nosso estudo é o primeiro que se propõe a avaliar interações gênicas com *DRD2* e *DRD4*, na dependência de crack.

## JUSTIFICATIVA

Os dados atuais sobre a prevalência e morbidade da dependência química em relação ao consumo de crack demonstram sua grande importância epidemiológica e o impacto da dependência desta substância na saúde pública. Embora o número de estudos na literatura dos últimos anos seja pequeno, se comparado as pesquisas efetuadas com outras substâncias, como álcool ou maconha, os recentes estudos têm demonstrado resultados interessantes e consistentes que evidenciam vias neurobiológicas relacionadas à neurotransmissão dopaminérgica. O alto grau de herdabilidade também apresenta papel relevante no estudo dessa substância.

Os estudos genéticos, dentro desse contexto, são muito importantes para maior entendimento da neurobiologia da dependência do crack e posterior translação de conhecimento para áreas clínicas como prevenção, diagnóstico e tratamento. Desta forma, este estudo se propõe a avaliar polimorfismos dopaminérgicos e sua relação com a dependência de crack.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GERAL:

Investigar diferentes polimorfismos em genes dopaminérgicos em usuários de crack em tratamento e em controles.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Investigar a associação do VNTR localizado no intron 8 do gene *DAT1* com a dependência de crack.

Investigar a influência dos genes *DRD2* (rs2283265) e *DRD4* (VNTR de 48pb no exon 3) na dependência de crack, em amostras de homens e mulheres.

Analisar efeitos epistáticos dos genes *DRD2* (rs2283265) e *DRD4* (VNTR de 48pb no exon 3) na dependência de crack, em amostras de homens e mulheres.

## FONTES FINANCIADORAS

O presente estudo é parte de um projeto nacional intitulado **Projeto Ações Integradas**, 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.

As principais instituições e fontes de financiamento que contribuíram para este estudo são a Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas (SENAD) – [Projeto #82264/2015] e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – [476529/2012-3; 466722/2014-1;466802/2014-5].

## CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Os dados coletados que identificaram os participantes foram de acesso exclusivo aos pesquisadores do estudo, preservadas as identidades dos participantes da pesquisa. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi estruturado em linguagem de fácil compreensão e contendo todas as informações necessárias sobre o estudo bem como os dados do pesquisador para contato do participante sempre que este julgasse necessário. Um termo para participantes do grupo controle e outro para participantes do grupo de casos foram aplicados e existiu a possibilidade do participante retirar-se do estudo em qualquer momento da pesquisa, sem prejuízo do tratamento em curso. Os participantes só foram incluídos no estudo mediante o processo de consentimento livre e esclarecido.

O projeto foi enviado ao Comitê de Ética do HCPA e aprovado sob número 100201, intitulado “Prospecção de marcadores biológicos associados à toxicidade sistêmica e neural desencadeados pelo uso de cocaína tipo crack ao longo do ciclo da vida”. O estudo seguiu os procedimentos éticos obrigatórios determinados pela resolução 196/96 regulamento do Ministério de Saúde, bem como pelo Conselho Federal de Medicina.

## ARTIGOS

ARTIGO 1 – ASSOCIATION BETWEEN THE INTRON 8 VNTR POLYMORPHISM OF THE *DAT1* GENE AND CRACK COCAINE ADDICTION

Publicado na *Neuropsychobiology* (FI=1,421) Vol. 75, No. 3, 2017

*Neuropsychobiology*. 2017;75(3):141-144. doi: 10.1159/000485128. Epub 2018 Jan 12.

Association between the Intron 8 VNTR Polymorphism of the DAT1 Gene and Crack Cocaine Addiction.

Stolf AR<sup>(1)</sup>, Müller D<sup>(2)</sup>, Schuch JB<sup>(1)(2)</sup>, Akutagava-Martins GC<sup>(2)</sup>, Guimaraes LSP<sup>(1)</sup>, Szobot CM<sup>(1)(3)</sup>, Halpern R<sup>(4)</sup>, Kessler FHP<sup>(1)</sup>, Pechansky F<sup>(1)</sup>, Roman T<sup>(2)</sup>.

Author information:

<sup>(1)</sup>Center for Drug and Alcohol Research (CPAD), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Unidade Álvaro Alvim, Porto Alegre, Brazil.

<sup>(2)</sup>Department of Genetics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

<sup>(3)</sup>Child and Adolescent Psychiatric Service (SPIA), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil.

<sup>(4)</sup>Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

**BACKGROUND:** This study aims to compare allele and genotype frequencies of a 30-bp variable number of tandem repeats (VNTR) polymorphism of the *DAT1* gene, located at intron 8, between adult crack cocaine users and nonaddicted individuals. Due to its involvement in drug addiction, this gene is a good candidate for molecular studies.

**METHODS:** A cross-sectional sample of 239 current adult crack abusers or dependents from in- and outpatient clinics and 211 control individuals was collected in Brazil. They were evaluated using ASRS, ASI-6, WAIS-III, and MINI assessments. DNA samples extracted from whole blood were genotyped for the intron 8 VNTR in *DAT1*.



**RESULTS:** Logistic regression analysis was performed and controlled for gender, age, ethnicity, educational level, and comorbidities of clinical interest (generalized anxiety disorder, suicide risk, major depressive episode, and attention deficit/hyperactivity disorder). This analysis showed that the 6R6R genotype was associated with crack cocaine addiction (OR = 1.844; CI = 1.101-3.089;  $p = 0.020$ ).

**CONCLUSIONS:** Our results are consistent with the role of *DAT1* in the neurobiology of drug addiction. Nevertheless, the study of other genes, environmental factors, and their interactions is also important to gain a broader understanding of this condition.

DOI: 10.1159/000485128

PMID: 29332099

Endereço para download do artigo completo na revista:

<https://www.karger.com/Article/Abstract/485128>

ARTIGO 2 – EFFECTS OF *DRD2* SPLICING-REGULATORY POLYMORPHISM AND *DRD4* 48BP VNTR ON CRACK COCAINE ADDICTION

Aceito no Journal of Neural Transmission (FI=2,766) outubro 2018

J Neural Transm (Vienna). 2018 Oct 26. doi: 10.1007/s00702-018-1946-5.

Effects of *DRD2* splicing-regulatory polymorphism and *DRD4* 48 bp VNTR on crack cocaine addiction.

Stolf AR<sup>(1)</sup>, Cupertino RB<sup>(2)</sup>, Müller D<sup>(2)</sup>, Sanvicente-Vieira B<sup>(3)</sup>, Roman T<sup>(2)</sup>, Vitola ES<sup>(4)</sup>, Grevet EH<sup>(4)</sup>, von Diemen L<sup>(1)</sup>, Kessler FHP<sup>(1)</sup>, Grassi-Oliveira R<sup>(3)</sup>, Bau CHD<sup>(1)(4)</sup>, Rovaris DL<sup>(2)</sup>, Pechansky F<sup>(1)</sup>, Schuch JB<sup>(5)(6)</sup>.

Author information:

<sup>(1)</sup>Center for Drug and Alcohol Research, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

<sup>(2)</sup>Department of Genetics, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

<sup>(3)</sup>Developmental Cognitive Neuroscience Lab (DCNL), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

<sup>(4)</sup>ADHD Outpatient Program, Adult Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil.

<sup>(5)</sup>Department of Genetics, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil. jaqbs.bio@gmail.com.

<sup>(6)</sup>Laboratory of Immunosenescence, Graduate Program in Biomedical Gerontology, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga, 6681, prédio 81, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, CEP 90619-900, Brazil. jaqbs.bio@gmail.com.

There is evidence that dopamine receptors D2 (*DRD2*) and D4 (*DRD4*) polymorphisms may influence substance use disorders (SUD) susceptibility both individually and through their influence in the formation of *DRD2-DRD4* heteromers. The dopaminergic role on the vulnerability to addiction appears to be influenced by sex. A cross-sectional study with 307 crack cocaine addicts and 770 controls was conducted. The influence of *DRD2* rs2283265 and *DRD4* 48 bp VNTR in exon 3

variants, as well as their interaction on crack cocaine addiction susceptibility and severity were evaluated in women and men separately. An association between the *DRD2* T allele and crack cocaine addiction was found in women. In this same group, interaction analysis demonstrated that the presence of *DRD2*-T allele and concomitant absence of *DRD4*-7R allele were associated with risk for crack cocaine addiction. No influence of *DRD2* and *DRD4* variants was observed in men regarding addiction severity. This study reinforces the role of dopaminergic genes in externalizing behaviors, especially the influence of *DRD2-DRD4* interaction on SUD. This is the fourth sample that independently associated the *DRD2-DRD4* interaction with SUD itself or related disorders. In addition, our findings point out to a potential difference of dopaminergic neurotransmission across sex influencing addiction susceptibility.

DOI: 10.1007/s00702-018-1946-5

PMID: 30367264

Endereço para download do artigo completo na revista:

<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00702-018-1946-5>

## DISCUSSÃO

O sistema de recompensa cerebral - que é responsável por nos motivar para a execução das tarefas humanas mais básicas e rotineiras, e que possivelmente está bastante desregulado nos dependentes químicos graves, tem como via neurobiológica principal a neurotransmissão dopaminérgica. Os vários estudos realizados com os genes dopaminérgicos corroboraram essa hipótese, e ao estudar uma droga em que havia escassez de publicações específicas e evidências derivadas dos estudos de cocaína, o caminho natural foi iniciar o estudo avaliando os genes do sistema dopaminérgico.

Estudos prévios de nosso grupo sugeriram que o genótipo 10R10R do VNTR de 40 pb da região 3' não traduzida do gene *DAT1* está associado à dependência de crack <sup>15</sup>. Embora com uma localização próxima no mesmo gene, a ideia de testar o VNTR do intron 8 pareceu importante, no sentido de confirmar achados e ampliar o rol de evidências da associação da dependência de crack com o gene *DAT1*. Descrevemos então uma associação entre o genótipo 6R6R do VNTR do intron 8 e a dependência de crack. No único estudo prévio que avaliou este mesmo polimorfismo em amostra exclusiva de usuários de crack, uma associação com o alelo 6R também foi verificada (Isaza et al. 2013). Um estudo brasileiro prévio detectou associação semelhante deste polimorfismo em usuários de cocaína e crack <sup>71</sup>.

Consideramos importante seguir adiante nas análises, incluindo não somente diferentes genes dopaminérgicos, mas também ampliando o número de sujeitos analisados, em um estudo de colaboração com outros grupos de pesquisa. Isso fez com que a representatividade da amostra ficasse composta de um número maior de mulheres, em comparação à amostra predominantemente masculina com a qual vínhamos trabalhando. Além disso o número de sujeitos foi expandido de forma significativa, embora ainda seja considerado fator limitante de nossos resultados em virtude da complexidade dos desfechos em psiquiatria.

Essa é a quarta amostra independente em que se observa uma interação entre os polimorfismos rs2283265 no gene *DRD2* e VNTR de 48pb no exon 3 do gene *DRD4* em fenótipos psiquiátricos. Estes achados demonstram que o fenótipo da dependência química, bem como outros fenótipos externalizantes, pode estar correlacionado do ponto de vista neural.

O *DRD2* está associado a muitos transtornos psiquiátricos, e especificamente o alelo T do rs2283265 foi associado com uma série de desfechos relacionados à dependência química. Considerando a heterodimerização proposta englobando o *DRD2-DRD4*, a ausência do alelo 7R do gene *DRD4* aumentaria a afinidade à isoforma D2L, do *DRD2*, aos agonistas dopaminérgicos. De forma análoga aos achados encontrados para o transtorno de conduta <sup>116</sup>, o risco conferido pelo alelo T é aumentado na ausência do alelo 7R. Em nosso caso, esse fenômeno foi verificado especialmente em mulheres. Mecanismos alostéricos e a própria interação gênica foram elencados na discussão do artigo 2, considerando as diferenças entre homens e mulheres, enfatizando nossa hipótese de que a presença do alelo T e ausência do alelo 7R na interação *DRD2-DRD4*, especialmente em mulheres, aumentariam a afinidade do receptor D2 e modulariam os sistemas dopaminérgico e glutamatérgico.

Também há de se considerar as limitações dos nossos estudos e dos nossos resultados. O tamanho de amostra, como citado anteriormente, é relativamente pequeno, e está relacionado a um baixo poder estatístico, especialmente em se tratando da detecção de pequenos efeitos de variantes genéticas em desfechos complexos. No entanto, a escolha dos polimorfismos levou em conta aspectos de funcionalidade, expressão gênica e associações prévias em desfechos similares. Além disso, os usuários de crack são costumeiramente poliusuários de drogas, sendo difícil isolar uma droga como fator em estudo, o que dificulta a extrapolação direta dos dados encontrados para a droga crack de maneira isolada, reiterando a necessidade de maior investigação complementar.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O esforço em replicar e encontrar novos achados ligados ao sistema dopaminérgico, em se tratando de genética da adição, não deve ignorar o fato de que há uma extensa regulação desse sistema, incluindo o efeito dos sistemas glutamatérgico e gabaérgico nas projeções neuronais dopaminérgicas, em especial na área tegmentar ventral. De maneira análoga, o sistema opioide é essencial na região mesolímbica, ao regular a neurotransmissão dopaminérgica desses neurônios. Este cenário complexo imediatamente nos faz pensar a respeito de passos futuros a serem incorporados nos estudos. Além de incluir a replicação dos achados em amostras independentes, e a

necessidade de ampliação do número de sujeitos, também há a possibilidade de incluir polimorfismos de outros sistemas de neurotransmissão, ressaltando aqui os sistemas glutamatérgico, opioide e gabaérgico. Não é surpreendente retomar o fato de que os fenômenos complexos, como a dependência química, estão relacionados a uma quantidade de genes e polimorfismos bastante diversa. Tais genes, isoladamente, apresentam tamanho de efeito pequeno; porém, quando analisamos o risco genético em conjunto, as associações podem tornar-se significativas, impulsionando descobertas e novas hipóteses neurobiológicas na área da adição.

Além disso, há uma necessidade e certa carência de estudos que foquem em desfechos alternativos na área da adição. Por exemplo, a influência genética corriqueiramente está focada nos desfechos relacionados à vulnerabilidade das adições, e pouco se tem feito em relação à resiliência ao uso de drogas.

Apesar de uma realidade clínica ainda distante na área da psiquiatria, a avaliação de painéis genéticos que nos indiquem algum grau de risco para grupos específicos de indivíduos, poderia estimular programas de prevenção mais direcionados. A maior parte dos fatores modificáveis, no entanto, segue sendo os ambientais, dos quais não devemos diminuir a importância. Ao fugir do rótulo do determinismo genético, especialmente com os estudos de interação gene-gene e gene-ambiente, há que se ter cuidado para não endossar o discurso de uma doença da moralidade, como em outras épocas a humanidade praticou. É esse o sentido que se quer aplicar às evidências expostas aqui: a colaboração em rede, a integração entre sistemas biológicos e a influência de diferentes sistemas neurobiológicos apoiados em diferentes genes, para tentar compreender melhor o fenômeno da adição.

## REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup> INCIARDI, J. A. Crack-cocaine in Miami. **NIDA Res Monogr**, v. 110, p. 263-74, 1991. ISSN 1046-9516. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1944502> >.
- <sup>2</sup> NAPPO, S. A.; GALDURÓZ, J. C.; NOTO, A. R. Crack use in São Paulo. **Subst Use Misuse**, v. 31, n. 5, p. 565-79, Apr 1996. ISSN 1082-6084. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8777739> >.
- <sup>3</sup> 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](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17165373) >.
- <sup>4</sup> 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.
- <sup>5</sup> RONALDO LARANJEIRA, C. S. M., ILANA PINSKY, RAUL CAETANO, SANDRO SENDIN MITSUHIRO. **II LENAD - Levantamento Nacional de Álcool e Drogas**. 2012. Disponível em: < [http://www.inpad.org.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=106](http://www.inpad.org.br/index.php?option=com_content&view=article&id=106) >.
- <sup>6</sup> BASTOS, F.; BERTONI, N. **Pesquisa Nacional sobre o uso de crack: quem são os usuários de crack/ou similares do Brasil? quantos são nas capitais brasileiras?** Rio de Janeiro: Editora ICICT/FIOCRUZ, 2014. 224
- <sup>7</sup> KRAWCZYK, N.; KERRIGAN, D.; BASTOS, F. I. The Quest to Extend Health Services to Vulnerable Substance Users in Rio de Janeiro, Brazil in the Context of an Unfolding Economic Crisis. **Int J Health Serv**, v. 47, n. 3, p. 477-488, 07 2017. ISSN 1541-4469. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27856941> >.
- <sup>8</sup> RIBEIRO, J. M. et al. Access to treatment for those with alcohol, crack or other drug dependency problems--a case study in the municipality of Rio de Janeiro, Brazil. **Cien Saude Colet**, v. 21, n. 1, p. 71-81, Jan 2016. ISSN 1678-4561. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26816165> >.
- <sup>9</sup> VAN DER MEER SANCHEZ, Z.; NAPPO, S. A. From the first drug to crack: the sequence of drugs taken in a group of users in the city of São Paulo. **Subst Use Misuse**, v. 42, n. 1, p. 177-88, 2007. ISSN 1082-6084. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17366132> >.

- 10 \_\_\_\_\_ . [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> >.
- 11 GUINDALINI, C. et al. Concurrent crack and powder cocaine users from Sao Paulo: do they represent a different group? **BMC Public Health**, v. 6, p. 10, 2006. ISSN 1471-2458. Disponível em: < [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=16426451](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt= Citation&list_uids=16426451) >.
- 12 NARVAEZ, J. C. et al. Psychiatric and substance-use comorbidities associated with lifetime crack cocaine use in young adults in the general population. **Compr Psychiatry**, v. 55, n. 6, p. 1369-76, Aug 2014. ISSN 1532-8384. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24933652> >.
- 13 KESSLER, F. et al. Evaluation of psychiatric symptoms in cocaine users in the Brazilian public health system: Need for data and structure. **Public Health**, v. 122, n. 12, p. 1349-55, Dec 2008. ISSN 0033-3506. Disponível em: < [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=19014831](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt= Citation&list_uids=19014831) >.
- 14 SORDI, A. O. et al. Oxidative stress and BDNF as possible markers for the severity of crack cocaine use in early withdrawal. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 231, n. 20, p. 4031-9, Oct 2014. ISSN 1432-2072. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24676990> >.
- 15 STOLF, A. R. et al. Crack Cocaine Users Show Differences in Genotype Frequencies of the 3' UTR Variable Number of Tandem Repeats of the Dopamine Transporter Gene (DAT1/SLC6A3). **Neuropsychobiology**, v. 70, n. 1, p. 44-51, 2014. ISSN 1423-0224. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25247548> >.
- 16 PAIM KESSLER, F. H. et al. Crack users show high rates of antisocial personality disorder, engagement in illegal activities and other psychosocial problems. **Am J Addict**, v. 21, n. 4, p. 370-80, 2012 Jul-Aug 2012. ISSN 1521-0391. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22691017> >.
- 17 HALPERN, S. C. et al. [Clinical and social vulnerabilities in crack users according to housing status: a multicenter study in six Brazilian state capitals]. **Cad Saude Publica**, v. 33, n. 6, p. e00037517, Jul 2017. ISSN 1678-4464. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28678934> >.
- 18 STOLF, A. R. et al. Association between the Intron 8 VNTR Polymorphism of the DAT1 Gene and Crack Cocaine Addiction. **Neuropsychobiology**, v. 75, n. 3, p. 141-144, 2017. ISSN 1423-0224. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29332099> >.



- 19 MARCHI, N. C. et al. Crack-cocaine users have less family cohesion than alcohol users. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 39, n. 4, p. 346-351, 2017 Oct-Dec 2017. ISSN 1809-452X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28876377> >.
- 20 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](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9768834) >.
- 21 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](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11579619) >.
- 22 KOOB, G. F.; VOLKOW, N. D. Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. **Lancet Psychiatry**, v. 3, n. 8, p. 760-73, Aug 2016. ISSN 2215-0374. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27475769> >.
- 23 VOLKOW, N. D.; MORALES, M. The Brain on Drugs: From Reward to Addiction. **Cell**, v. 162, n. 4, p. 712-25, Aug 2015. ISSN 1097-4172. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26276628> >.
- 24 VOLKOW, N. D.; BALER, R. D. Addiction science: Uncovering neurobiological complexity. **Neuropharmacology**, v. 76 Pt B, p. 235-49, Jan 2014. ISSN 1873-7064. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23688927> >.
- 25 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> >.
- 26 VOLKOW, N. D.; WISE, R. A.; BALER, R. The dopamine motive system: implications for drug and food addiction. **Nat Rev Neurosci**, v. 18, n. 12, p. 741-752, 11 2017. ISSN 1471-0048. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29142296> >.
- 27 ASHOK, A. H. et al. Association of Stimulant Use With Dopaminergic Alterations in Users of Cocaine, Amphetamine, or Methamphetamine: A Systematic Review and Meta-analysis. **JAMA Psychiatry**, v. 74, n. 5, p. 511-519, May 2017. ISSN 2168-6238. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28297025> >.
- 28 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](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18164583) >.

- 29 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](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16250850) >.
- 30 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](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18345022) >.
- 31 BACHI, K. et al. Is biological aging accelerated in drug addiction? **Curr Opin Behav Sci**, v. 13, p. 34-39, Feb 2017. ISSN 2352-1546. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27774503> >.
- 32 KAPCZINSKI, F. et al. Clinical implications of a staging model for bipolar disorders. **Expert Rev Neurother**, v. 9, n. 7, p. 957-66, Jul 2009. ISSN 1744-8360. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19589046> >.
- 33 ALDA, M.; KAPCZINSKI, F. Staging model raises fundamental questions about the nature of bipolar disorder. **J Psychiatry Neurosci**, v. 41, n. 5, p. 291-3, 08 2016. ISSN 1488-2434. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27575857> >.
- 34 KAPCZINSKI, F. et al. Allostatic load in bipolar disorder: implications for pathophysiology and treatment. **Neurosci.Biobehav.Rev.**, v. 32, n. 4, p. 675-692, 2008.
- 35 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> >.
- 36 ROMANO, M.; RIBEIRO, M.; MARQUES, A. **Abuso e Dependência da Cocaína (Projeto Diretrizes)**: Associação Brasileira de Psiquiatria 2002.
- 37 KOOB, G. F. Neurobiological substrates for the dark side of compulsivity in addiction. **Neuropharmacology**, v. 56 Suppl 1, p. 18-31, 2009. ISSN 0028-3908. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18725236> >.
- 38 LE MOAL, M.; KOOB, G. F. Drug addiction: pathways to the disease and pathophysiological perspectives. **Eur Neuropsychopharmacol**, v. 17, n. 6-7, p. 377-93, 2007 May-Jun 2007. ISSN 0924-977X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17169534> >.

- 39 PARSONS, L. H.; HURD, Y. L. Endocannabinoid signalling in reward and addiction. **Nat Rev Neurosci**, v. 16, n. 10, p. 579-94, Oct 2015. ISSN 1471-0048. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26373473> >.
- 40 PIERCE, R. C. et al. Environmental, genetic and epigenetic contributions to cocaine addiction. **Neuropsychopharmacology**, v. 43, n. 7, p. 1471-1480, 06 2018. ISSN 1740-634X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29453446> >.
- 41 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](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18494843) >.
- 42 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](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14981881) >.
- 43 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> >.
- 44 KENDLER, K. S.; PRESCOTT, C. A. Cocaine use, abuse and dependence in a population-based sample of female twins. **Br J Psychiatry**, v. 173, p. 345-50, Oct 1998. ISSN 0007-1250. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9926041> >.
- 45 KENDLER, K. S. et al. Illicit psychoactive substance use, heavy use, abuse, and dependence in a US population-based sample of male twins. **Arch Gen Psychiatry**, v. 57, n. 3, p. 261-9, Mar 2000. ISSN 0003-990X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10711912> >.
- 46 DUCCI, F.; GOLDMAN, D. The genetic basis of addictive disorders. **Psychiatr Clin North Am**, v. 35, n. 2, p. 495-519, Jun 2012. ISSN 1558-3147. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22640768> >.
- 47 BÜHLER, K. M. et al. Common single nucleotide variants underlying drug addiction: more than a decade of research. **Addict Biol**, v. 20, n. 5, p. 845-71, Sep 2015. ISSN 1369-1600. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25603899> >.
- 48 VAN DEN BREE, M. B. et al. Genetic and environmental influences on drug use and abuse/dependence in male and female twins. **Drug Alcohol Depend**, v. 52, n. 3, p. 231-41, Nov 1998. ISSN 0376-8716. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9839149> >.

- 49 NESTLER, E. J. Hidden switches in the mind. **Sci Am**, v. 305, n. 6, p. 76-83, Dec 2011. ISSN 0036-8733. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22214133> >.
- 50 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> >.
- 51 NESTLER, E. 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](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18552739) >.
- 52 LEVEY, D. F. et al. Genetic risk prediction and neurobiological understanding of alcoholism. **Transl Psychiatry**, v. 4, p. e391, May 2014. ISSN 2158-3188. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24844177> >.
- 53 GELERNTER, J. et al. Genome-wide association study of cocaine dependence and related traits: FAM53B identified as a risk gene. **Mol Psychiatry**, v. 19, n. 6, p. 717-23, Jun 2014. ISSN 1476-5578. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23958962> >.
- 54 JENSEN, K. P. A Review of Genome-Wide Association Studies of Stimulant and Opioid Use Disorders. **Mol Neuropsychiatry**, v. 2, n. 1, p. 37-45, May 2016. ISSN 2296-9209. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27606319> >.
- 55 HALL, F. S. et al. Implications of genome wide association studies for addiction: are our a priori assumptions all wrong? **Pharmacol Ther**, v. 140, n. 3, p. 267-79, Dec 2013. ISSN 1879-016X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23872493> >.
- 56 SZALAVITZ, M. Genetics: No more addictive personality. **Nature**, v. 522, n. 7557, p. S48-9, Jun 2015. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26107094> >.
- 57 WALKER, D. M.; NESTLER, E. J. Neuroepigenetics and addiction. **Handb Clin Neurol**, v. 148, p. 747-765, 2018. ISSN 0072-9752. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29478612> >.
- 58 PATRIQUIN, M. A. et al. Addiction pharmacogenetics: a systematic review of the genetic variation of the dopaminergic system. **Psychiatr Genet**, v. 25, n. 5, p. 181-93, Oct 2015. ISSN 1473-5873. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26146874> >.
- 59 MISSALE, C. et al. Dopamine receptors: from structure to function. **Physiol Rev**, v. 78, n. 1, p. 189-225, Jan 1998. ISSN 0031-9333. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9457173> >.

- 60 BEAULIEU, J. M.; GAINETDINOV, R. R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. **Pharmacol Rev**, v. 63, n. 1, p. 182-217, Mar 2011. ISSN 1521-0081. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21303898> >.
- 61 GIROS, B.; CARON, M. G. Molecular characterization of the dopamine transporter. **Trends Pharmacol Sci**, v. 14, n. 2, p. 43-9, Feb 1993. ISSN 0165-6147. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8480373> >.
- 62 PINSONNEAULT, J. K. et al. Dopamine transporter gene variant affecting expression in human brain is associated with bipolar disorder. **Neuropsychopharmacology**, v. 36, n. 8, p. 1644-55, Jul 2011. ISSN 1740-634X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21525861> >.
- 63 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> >.
- 64 FUKU, 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> >.
- 65 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> >.
- 66 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: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20505554> >.
- 67 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> >.
- 68 GELERENTER, 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> >.
- 69 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> >.
- 70 VASCONCELOS, A. C. et al. Association study of the SLC6A3 VNTR (DAT) and DRD2/ANKK1 Taq1A polymorphisms with alcohol dependence in a population from northeastern Brazil. **Alcohol Clin Exp Res**, v. 39, n. 2, p. 205-11, Feb 2015. ISSN 1530-0277. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25684044> >.
- 71 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: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16537431> >.
- 72 ISAZA, C. et al. Genetic variants associated with addictive behavior in Colombian addicted and non-addicted to heroin or cocaine. **Colombia Médica**, v. 44, n. 1, p. 19-25, 2013.
- 73 HYMAN, S. E.; LANDIS, S. C.; LESHNER, A. I. Research Into Brain Disorders as an Example of Targeted Science. **JAMA**, v. 316, n. 16, p. 1673-1674, Oct 2016. ISSN 1538-3598. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27668392> >.
- 74 SEAMANS, J. K.; YANG, C. R. The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. **Prog Neurobiol**, v. 74, n. 1, p. 1-58, Sep 2004. ISSN 0301-0082. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15381316> >.
- 75 ALCANTARA, A. A. et al. Localization of dopamine D2 receptors on cholinergic interneurons of the dorsal striatum and nucleus accumbens of the rat. **Brain Res**, v. 986, n. 1-2, p. 22-9, Oct 2003. ISSN 0006-8993. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12965226> >.
- 76 USIELLO, A. et al. Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. **Nature**, v. 408, n. 6809, p. 199-203, Nov 2000. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11089973> >.
- 77 ZHANG, Y. et al. Polymorphisms in human dopamine D2 receptor gene affect gene expression, splicing, and neuronal activity during working memory. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 104, n. 51, p. 20552-7, Dec 2007. ISSN 1091-6490. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18077373> >.
- 78 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> >.

- 79 VILLALBA, K. et al. DRD2 and DRD4 genes related to cognitive deficits in HIV-infected adults who abuse alcohol. **Behav Brain Funct**, v. 11, p. 25, Aug 2015. ISSN 1744-9081. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26307064> >.
- 80 NKAM, I. et al. Impact of DRD2/ANKK1 and COMT Polymorphisms on Attention and Cognitive Functions in Schizophrenia. **PLoS One**, v. 12, n. 1, p. e0170147, 2017. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28085950> >.
- 81 GONZÁLEZ-CASTRO, T. B. et al. The role of C957T, TaqI and Ser311Cys polymorphisms of the DRD2 gene in schizophrenia: systematic review and meta-analysis. **Behav Brain Funct**, v. 12, n. 1, p. 29, Nov 2016. ISSN 1744-9081. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27829443> >.
- 82 GUIN, D. et al. A systematic review and integrative approach to decode the common molecular link between levodopa response and Parkinson's disease. **BMC Med Genomics**, v. 10, n. 1, p. 56, Sep 2017. ISSN 1755-8794. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28927418> >.
- 83 JACOBS, M. M. et al. HIV-related cognitive impairment shows bi-directional association with dopamine receptor DRD1 and DRD2 polymorphisms in substance-dependent and substance-independent populations. **J Neurovirol**, v. 19, n. 5, p. 495-504, Oct 2013. ISSN 1538-2443. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24078558> >.
- 84 CLARKE, T. K. et al. The dopamine receptor D2 (DRD2) SNP rs1076560 is associated with opioid addiction. **Ann Hum Genet**, v. 78, n. 1, p. 33-9, Jan 2014. ISSN 1469-1809. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24359476> >.
- 85 BAWOR, M. et al. Contribution of BDNF and DRD2 genetic polymorphisms to continued opioid use in patients receiving methadone treatment for opioid use disorder: an observational study. **Addict Sci Clin Pract**, v. 10, p. 19, Oct 2015. ISSN 1940-0640. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26437921> >.
- 86 KLEINJAN, M.; ENGELS, R. C.; DIFRANZA, J. R. Parental smoke exposure and the development of nicotine craving in adolescent novice smokers: the roles of DRD2, DRD4, and OPRM1 genotypes. **BMC Pulm Med**, v. 15, p. 115, Oct 2015. ISSN 1471-2466. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26449981> >.
- 87 DOEHRING, A. et al. Genetic variants altering dopamine D2 receptor expression or function modulate the risk of opiate addiction and the dosage requirements of methadone substitution. **Pharmacogenet Genomics**, v. 19, n. 6, p. 407-14, Jun 2009. ISSN 1744-6872. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19373123> >.
- 88 DUAN, J. et al. Synonymous mutations in the human dopamine receptor D2 (DRD2) affect mRNA stability and synthesis of the receptor. **Hum Mol Genet**, v. 12, n. 3, p.

- 205-16, Feb 2003. ISSN 0964-6906. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12554675>>.
- 89 WANG, N. et al. Association between dopamine D2 receptor gene polymorphisms and the risk of heroin dependence. **Genet Mol Res**, v. 15, n. 4, Nov 2016. ISSN 1676-5680. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27819741>>.
- 90 DENG, X. D. et al. Association between DRD2/ANKK1 TaqIA polymorphism and common illicit drug dependence: evidence from a meta-analysis. **Hum Immunol**, v. 76, n. 1, p. 42-51, Jan 2015. ISSN 1879-1166. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25500252>>.
- 91 CELORRIO, D. et al. Influence of Dopaminergic System Genetic Variation and Lifestyle Factors on Excessive Alcohol Consumption. **Alcohol Alcohol**, v. 51, n. 3, p. 258-67, May 2016. ISSN 1464-3502. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26447226>>.
- 92 PATERSON, A. D.; SUNOHARA, G. A.; KENNEDY, J. L. Dopamine D4 receptor gene: novelty or nonsense? **Neuropsychopharmacology**, v. 21, n. 1, p. 3-16, Jul 1999. ISSN 0893-133X. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10379515>>.
- 93 SCHOOTS, O.; VAN TOL, H. H. The human dopamine D4 receptor repeat sequences modulate expression. **Pharmacogenomics J**, v. 3, n. 6, p. 343-8, 2003. ISSN 1470-269X. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14581929>>.
- 94 VAN CRAENENBROECK, K. et al. Folding efficiency is rate-limiting in dopamine D4 receptor biogenesis. **J Biol Chem**, v. 280, n. 19, p. 19350-7, May 2005. ISSN 0021-9258. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15755724>>.
- 95 ASGHARI, V. et al. Modulation of intracellular cyclic AMP levels by different human dopamine D4 receptor variants. **J Neurochem**, v. 65, n. 3, p. 1157-65, Sep 1995. ISSN 0022-3042. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7643093>>.
- 96 SHAO, C. et al. Dopamine D4 receptor polymorphism modulates cue-elicited heroin craving in Chinese. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 186, n. 2, p. 185-90, Jun 2006. ISSN 0033-3158. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16703401>>.
- 97 RAY, L. A. et al. The dopamine D Receptor (DRD4) gene exon III polymorphism, problematic alcohol use and novelty seeking: direct and mediated genetic effects. **Addict Biol**, v. 14, n. 2, p. 238-44, Apr 2009. ISSN 1369-1600. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18715282>>.
- 98 MCGEARY, J. The DRD4 exon 3 VNTR polymorphism and addiction-related phenotypes: a review. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 93, n. 3, p. 222-9, Sep 2009. ISSN 1873-5177. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19336242>>.



- 99 MALLARD, T. T. et al. Dopamine D4 receptor VNTR polymorphism associated with greater risk for substance abuse among adolescents with disruptive behavior disorders: Preliminary results. **Am J Addict**, v. 25, n. 1, p. 56-61, Jan 2016. ISSN 1521-0391. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26688118> >.
- 100 WILENS, T. et al. Characteristics of adults with attention deficit hyperactivity disorder plus substance use disorder: the role of psychiatric comorbidity. **Am J Addict**, v. 14, n. 4, p. 319-27, 2005 Jul-Sep 2005. ISSN 1055-0496. Disponível em: < [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=16188712](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16188712) >.
- 101 GIZER, I. R.; FICKS, C.; WALDMAN, I. D. Candidate gene studies of ADHD: a meta-analytic review. **Hum Genet**, v. 126, n. 1, p. 51-90, Jul 2009. ISSN 1432-1203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19506906> >.
- 102 BOBADILLA, L.; VASKE, J.; ASBERG, K. Dopamine receptor (D4) polymorphism is related to comorbidity between marijuana abuse and depression. **Addict Behav**, v. 38, n. 10, p. 2555-62, Oct 2013. ISSN 1873-6327. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23796967> >.
- 103 CRESWELL, K. G. et al. DRD4 polymorphism moderates the effect of alcohol consumption on social bonding. **PLoS One**, v. 7, n. 2, p. e28914, 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22347363> >.
- 104 FORERO, D. A. et al. Meta-analysis of six genes (BDNF, DRD1, DRD3, DRD4, GRIN2B and MAOA) involved in neuroplasticity and the risk for alcohol dependence. **Drug Alcohol Depend**, v. 149, p. 259-63, Apr 2015. ISSN 1879-0046. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25660313> >.
- 105 SAMEK, D. R. et al. A Test-Replicate Approach to Candidate Gene Research on Addiction and Externalizing Disorders: A Collaboration Across Five Longitudinal Studies. **Behav Genet**, v. 46, n. 5, p. 608-626, Sep 2016. ISSN 1573-3297. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27444553> >.
- 106 FERRÉ, S. et al. Building a new conceptual framework for receptor heteromers. **Nat Chem Biol**, v. 5, n. 3, p. 131-4, Mar 2009. ISSN 1552-4469. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19219011> >.
- 107 AGNATI, L. F. et al. Molecular mechanisms and therapeutical implications of intramembrane receptor/receptor interactions among heptahelical receptors with examples from the striatopallidal GABA neurons. **Pharmacol Rev**, v. 55, n. 3, p. 509-50, Sep 2003. ISSN 0031-6997. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12869660> >.

- 108 MILLIGAN, G.; SMITH, N. J. Allosteric modulation of heterodimeric G-protein-coupled receptors. **Trends Pharmacol Sci**, v. 28, n. 12, p. 615-20, Dec 2007. ISSN 0165-6147. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18022255> >.
- 109 RASHID, A. J. et al. Neuronal Gq/11-coupled dopamine receptors: an uncharted role for dopamine. **Trends Pharmacol Sci**, v. 28, n. 11, p. 551-5, Nov 2007. ISSN 0165-6147. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17950471> >.
- 110 SCARSELLI, M. et al. D2/D3 dopamine receptor heterodimers exhibit unique functional properties. **J Biol Chem**, v. 276, n. 32, p. 30308-14, Aug 2001. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11373283> >.
- 111 BORROTO-ESCUELA, D. O. et al. Dopamine D2 receptor signaling dynamics of dopamine D2-neurotensin 1 receptor heteromers. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 435, n. 1, p. 140-6, May 2013. ISSN 1090-2104. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23624386> >.
- 112 GONZÁLEZ, S. et al. Dopamine D4 receptor, but not the ADHD-associated D4.7 variant, forms functional heteromers with the dopamine D2S receptor in the brain. **Mol Psychiatry**, v. 17, n. 6, p. 650-62, Jun 2012. ISSN 1476-5578. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21844870> >.
- 113 GOMES, I. et al. Identification of a  $\mu$ - $\delta$  opioid receptor heteromer-biased agonist with antinociceptive activity. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 110, n. 29, p. 12072-7, Jul 2013. ISSN 1091-6490. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23818586> >.
- 114 AKGÜN, E. et al. Ligands that interact with putative MOR-mGluR5 heteromer in mice with inflammatory pain produce potent antinociception. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 110, n. 28, p. 11595-9, Jul 2013. ISSN 1091-6490. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23798416> >.
- 115 BORROTO-ESCUELA, D. O. et al. The G protein-coupled receptor heterodimer network (GPCR-HetNet) and its hub components. **Int J Mol Sci**, v. 15, n. 5, p. 8570-90, May 2014. ISSN 1422-0067. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24830558> >.
- 116 MOTA, N. R. et al. Association between DRD2/DRD4 interaction and conduct disorder: a potential developmental pathway to alcohol dependence. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet**, v. 162B, n. 6, p. 546-9, Sep 2013. ISSN 1552-485X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23818181> >.
- 117 \_\_\_\_\_. DRD2/DRD4 heteromerization may influence genetic susceptibility to alcohol dependence. **Mol Psychiatry**, v. 18, n. 4, p. 401-2, Apr 2013. ISSN 1476-5578. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22565782> >.

