

Genetyczne aspekty uzależnienia od narkotyków. Część I. Struktura genotypu a podatność na uzależnienie

Wstęp

Uzależnienie od narkotyków jest ciężką, przewlekłą nawracającą chorobą mózgu charakteryzującą się przymusem poszukiwania i przyjmowania narkotyków mimo pełnej świadomości tego konsekwencji. Według szacunków WHO 2 miliardy ludzi na świecie nadużywa alkoholu, 1,3 miliarda stosuje tytoń, a 185 milionów nadużywa innych substancji psychoaktywnych. Wydanie IV „Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders” (DSM-IV) za uzależnioną od narkotyków uznaje osobę, u której w okresie 12 miesięcy występują trzy lub więcej z sześciu następujących objawów klinicznych:

- konieczność przyjmowania wzrastających dawek narkotyków w celu osiągnięcia pożądanego efektu (euforia, pobudzenie itp.) lub wyraźne stopniowe zmniejszanie się efektu narkotyku przyjmowanego w niezmiennionej dawce (tolerancja);
- charakterystyczne, ciężkie objawy występujące po odstawieniu narkotyku (objawy odstawienne albo abstynencyjne);
- wielokrotnie podejmowane nieudane próby przerwania przyjmowania narkotyku, zmniejszenia jego dawki lub kontrolowanego przyjmowania (nieudana kontrola);
- niemożność kontynuowania ważnych działań społecznych i zawodowych (zaniedbanie obowiązków);
- poświęcanie większości czasu na zdobywanie i przyjmowanie narkotyków oraz usuwanie skutków ich stosowania (uwaga skupiona wyłącznie na narkotykach);
- przyjmowanie narkotyków mimo poważnych somatycznych i psychologicznych problemów, jakie narkotyk wywołuje lub powoduje ich zaostrzenie.

Według tego samego źródła za osobę nadużywającą narkotyków uznawana jest osoba, u której w ciągu 12 miesięcy występuje jeden z czterech poniższych objawów:

- systematyczne przyjmowanie narkotyku wywołujące stan niezdolności do wypełniania ważnych obowiązków w pracy, szkole i rodzinie;

- stałe przyjmowanie narkotyku w sytuacjach niebezpiecznych i ryzykownych;
- powtarzające się problemy prawne związane z przyjmowaniem narkotyku;
- nieprzerwane przyjmowanie narkotyku mimo uporczywych lub nawracających społecznych lub interpersonalnych problemów wywołanych lub ulegających nasileniu pod wpływem narkotyku [1].

Nadużywanie narkotyków i uzależnienie od nich stanowi bardzo poważny problem społeczny i zdrowotny. Poznanie mechanizmu działania narkotyków na organizm ludzki oraz powstawania uzależnienia są od dawna przedmiotem intensywnych badań, które wykazały, że istotną rolę w procesie uzależnienia odgrywają neuroprzekaźniki i ich receptory oraz tzw. układ nagrody (*reward system*), jednakże dokładny przebieg tego procesu nadal pozostaje nieznany. Układ nagrody, zwany również mezolimbicznym układem dopaminowym, ukształtował się w procesie ewolucji po to, by człowiek po zaspokojeniu głodu, pragnienia lub po akcie seksualnym – czynnościach biologicznie niezbędnych do przetrwania i przekazania genów potomstwu – odczuwał satysfakcję i chciał te czynności powtarzać [2].

Układ nagrody jest rozległą siecią neuronalną obejmującą szereg ośrodków nerwowych i łączące je drogi nerwowe. W jego skład wchodzi:

- grupa neuronów dopaminowych w nakrywce brzusznej śródmózgowia (*ventral tegmental area* – VTA). Są one wrażliwe na stymulujący neuroprzekaźnik ośrodkowego układu nerwowego (OUN) – glutaminian;
- jądro półleżące (*nucleus accumbens* – NAc) zlokalizowane poniżej kory czołowej i zawierające neurony GABA-ergiczne, które wydzielają kwas γ -aminomastłowy, neuroprzekaźnik hamujący czynność OUN. Kontroluje on aktywność układu dopaminergicznego;
- brzuszno-przednia część jądra ogoniastego;
- ciało migdałowe (*corpus amygdaloideum*, amygdala) leżące w biegunie płata skroniowego i stykające się z jądrem ogoniastym. Odgrywa ważną rolę w kojarzeniu bodźców oraz w rozwoju pamięci emocji;

- kora przedczołowa (*prefrontal cortex*) odpowiedzialna za pamięć operacyjną i rozpoznawczą oraz wyższe funkcje poznawcze włączające procesy przewidywania, planowania i samokontroli [3];
- hipokamp (*hippocampus*, róg Ammona) – część kory wpuklona do światła komory bocznej w obrębie jej rogu skroniowego. Uczestniczy w rozwoju pamięci deklaratywnej i przestrzennej oraz w procesach uczenia;
- prążkowie (*striatum*), którego funkcja polega na retransmisji do kory sygnałów napływających z innych ośrodków.

W funkcjonowaniu układu nagrody uczestniczą cztery szlaki neuroprzekaznikowe: serotonergiczny, którego neurony wydzielają serotoninę (5HT), opioidowy wytwarzający endogenne opioidy (enkefaliny, β -endorfiny i dynorfiny), dopaminergiczny z neuroprzekaznikiem dopaminą i GABA-ergiczny z kwasem γ -aminomasłowym (GABA). Tworzą one tzw. kaskadę nagradzającą (*reward cascade*), w której serotonina aktywuje neurony opioidowe, a wydzielane przez nie endogenne opioidy hamują uwalnianie kwasu γ -aminomasłowego. Rola GABA w układzie nagrody polega na kontrolowaniu aktywności neuronów dopaminergicznych i uwalniania przez nie „cząsteczek przyjemności” jak niektórzy określają dopaminę. Zmniejszenie skuteczności tej kontroli przez hamujące działanie endogennych opioidów skutkuje zwiększoną sekrecją dopaminy i poprawą nastroju (euforią). Szczególną rolę w funkcjonowaniu układu nagrody odgrywa odcinek drogi dopaminergicznej z pola brzuszno nakrywki do jądra półleżącego zwany szlakiem mezolimbicznym.

Naturalne, fizjologiczne pobudzenie układu nagrody polega na umiarkowanym, krótkotrwałym uwalnianiu dopaminy z neuronów VTA do szczelin synaptycznych (synaps) oddzielających te neurony od neuronów jądra półleżącego. Narkotyki zakłócają prawidłowy rytm funkcjonowania układu nagrody, przejmują nad nim kontrolę i wywołują stymulację sekrecji dopaminy z siłą wielokrotnie większą niż jakiegokolwiek bodźce naturalne, doprowadzając do gwałtownego wzrostu stężenia neuroprzekaznika w synapsach. Hipoteza o „zespołe deficytu nagrody” zakłada, że osobnicy, u których występuje dysfunkcja jednego lub więcej elementów składających się na układ nagrody doświadczają mniejszej (niedostatecznej) satysfakcji z naturalnych bodźców nagradzających i mają skłonność do nadużywania nie-naturalnych czynników stymulujących układ nagrody, takich jak alkohol i narkotyki. Końcowym efektem syndromu deficytu nagrody może być uzależnienie.

Ostatnio jednak badacze zajmujący się problematyką uzależnień coraz częściej zwracają uwagę na rolę,

jaką w patogenezie tych schorzeń odgrywają czynniki genetyczne, które są przyczyną zindywidualizowanych różnic zarówno w podatności na inicjację przyjmowania narkotyków, jak i w przechodzeniu z nadużywania w stan uzależnienia [4].

Podstawowe pojęcia i terminy genetyczne

Somatyczne komórki ludzkie zawierają 46 chromosomów (23 pary): 22 pary, jednakowe u mężczyzn i kobiet, noszą nazwę autosomów, a pozostała para to chromosomy płciowe (XX u kobiet i XY u mężczyzn). Redukcyjny podział komórki, w wyniku którego powstają komórki płciowe mające haploidalny (zmniejszony o połowę) zestaw chromosomów, nosi nazwę mejozy.

Chromosomy różnią się wielkością i zawartością DNA. Ludzki chromosom oznaczony numerem 1 jest największy i najbogatszy w DNA, zawiera 250×10^6 bp (*base pairs* – par zasad), a chromosom 23 – najmniejszy, zawiera najmniej DNA (50×10^6 bp).

Zasady purynowe i pirymidynowe, tworzące pary w łańcuchu polinukleotydowym (DNA), to adenina (A) i tymina (T) oraz guanina (G) i cytozyna (C). Miara wielkości genów (długości fragmentów DNA) jest kb (*kilobase* – tysiąc par zasad). Jednostką 1000 razy większą jest Mb (*megabase* – milion par zasad), w przybliżeniu równa 1 centymorganowi (cM).

Centymorgan – miara odległości między genami. Odległość genetyczną między miejscami genowymi leżącymi na tym samym chromosomie mierzy się częstością zachodzenia rekombinacji między nimi. 1 centymorgan odpowiada 1% częstości rekombinacji. Maksymalny odsetek rekombinacji między dwoma loci wynosi 50, co oznacza całkowity brak sprzężenia. Orientacyjnie centymorgan bywa przeliczany na fizyczną odległość jednego miliona nukleotydów, jednak relacja ta jest zachowana tylko dla małych odległości genetycznych.

Gen – odcinek łańcucha DNA, w którym kolejność ułożenia nukleotydów stanowi informację genetyczną o zdolności organizmu do syntezy określonych białek.

Ekson – odcinek cząsteczki DNA (sekwencji nukleotydów) kodujący aminokwasy wchodzące w skład cząsteczki białka.

Intron – sekwencja nukleotydów niezawierająca istotnych informacji; niekodujący odcinek genu.

Locus genu – pozycja zajmowana przez gen w chromosomie.

Allel – jedna z wersji genu w określonym miejscu (locus) na danym chromosomie homologicznym. Allele tego samego genu różnią się jednym lub kilkoma nukleotydami i wywołują odmienne ukształtowanie tej samej cechy. Występowanie więcej niż jednej wersji danego genu określa się jako polimorfizm [5]. W danym organizmie mogą występować tylko 2 allele, natomiast w puli genowej populacji może być ich wiele.

Marker – sekwencja DNA, której chromosomalna lokalizacja została dokładnie określona i która dzięki temu może być użyta w analizie sprzężeń do identyfikacji genu.

Cecha autosomalna recesywna – ujawnia się, gdy jej nośnikami są oba geny.

Cecha autosomalna dominująca – do jej ujawnienia wystarczy jeden gen (allel) noszący tę cechę.

Genotyp – zespół genów danego osobnika różny od genotypów innych osobników tego gatunku, warunkujący jego właściwości dziedziczenia. Identyczne genotypy mogą mieć jedynie bliźnięta jednojajowe.

Fenotyp – zespół cech organizmu, których pojawienie się i sposób ekspresji określony jest przez działanie czynników genetycznych i środowiskowych.

Genom – haploidalny zespół chromosomów jądra komórkowego, obejmujący charakterystyczny dla danego gatunku zespół genów.

Genom każdej komórki ludzkiej składa się z ok. 3 miliardów par zasad (3×10^9 bp). Jeden gen składa się z około 3 000 par zasad (3×10^3 bp), a więc z par zasad występujących w ludzkim genomie może powstać około 1 miliona genów ($3 \times 10^9 : 3 \times 10^3 = 10^6$). W rzeczywistości genów tych jest około 100 000 (10^5), a z tego tylko ok. 30 000 koduje białka.

We wszystkich tkankach ulega ekspresji tylko ok. 20% genów. Są to tzw. geny metabolizmu podstawowego (*housekeeping genes*), a 80% genów ulega ekspresji tylko w niektórych tkankach. Szczególną pozycję zajmuje wśród nich tkanka mózgu, w której ulega ekspresji ok. 50% wszystkich genów, ale na razie nie udało się ich zidentyfikować ani poznać ich funkcji.

Polimorfizm pojedynczych nukleotydów (*single nucleotide polymorphism* – SNP) to zastąpienie pojedynczego nukleotydu w sekwencji łańcucha nukleotydów składających się na cząsteczkę DNA. Zmiany polegające na zastąpieniu jakiegoś nukleotydu w łańcuchu polinukleotydowym mogą nie wpływać na funkcję genów, ale służą badaczom do wykrywania (sąsiadują-

cych z nimi) ważnych właściwości, jak np. podatność na uzależnienie.

W przyjętym ogólnie sposobie oznaczania chromosomalnej lokalizacji genów podaje się numer chromosomu (pierwsza cyfra oznaczenia), ramię chromosomu: krótkie (p) lub długie (q), a następnie liczby charakteryzujące region, prążek i subprążek na ramieniu chromosomu. Subprążki są widoczne tylko w długich chromosomach przy zastosowaniu techniki wysokiej rozdzielczości prążkowej. Numer subprążka oddziela się od numeracji prążkowej za pomocą kropki. Na przykład zapis lokalizacji genu kodującego lipazę monoglicerydów (MGLL) wygląda tak: 3q21.3 i oznacza chromosom trzeci, długie ramię, region drugi, prążek pierwszy, subprążek trzeci [1].

Metody badania relacji genotyp – fenotyp

Istnieje zasadnicza różnica między chorobami jednogennymi będącymi wynikiem mutacji w pojedynczym genie (np. mukowiscydoza, fenyloketonuria) i chorobami wielogennymi, których patologia określona jest przez wiele loci genowych, a także przez interakcje między poszczególnymi genami i środowiskiem biologicznym. Nadużywanie narkotyków i będące jego konsekwencją uzależnienie należy do tej drugiej grupy. Nie ma więc jednego genu, którego wpływ byłby na tyle mocny, by wywołać uzależnienie. Podatność na uzależnienie powstaje w wyniku działania całego szeregu genów [6]. Brak prostej zależności fenotypu od genotypu bardzo utrudnia identyfikację genów warunkujących te choroby. Poznanie etiologii chorób wielogennych wymaga ustalenia, jakie geny uczestniczą w powstawaniu fenotypu, wykrycia potencjalnie szkodliwych mutacji, a także określenia wzajemnych interakcji między poszczególnymi genami oraz między genami i środowiskiem.

Pierwszych dowodów na genetyczne uwarunkowanie zjawiska nadużywania narkotyków i procesu uzależnienia od nich dostarczyły badania nad bliźniętami. Obserwacja bliźniąt jednojajowych wychowywanych oddzielnie pomogła rozstrzygnąć, czy za daną cechę odpowiadają geny czy wychowanie. Badania adopcyjne opierają się na porównywaniu potomstwa rodziców biologicznych z dziećmi adoptowanymi. Podobieństwa między dziećmi i ich biologicznymi rodzicami mogą wskazywać na ich genetyczną przyczynę, natomiast podobieństwa między dziećmi i rodzicami, którzy je adoptowali wskazują na wpływ czynników środowiskowych, przy czym środowisko jest tu pojęciem szerokim, obejmującym wszystkie zdarzenia i procesy zachodzące w ciągu życia, przebyte infekcje, wychowanie itp.

Jednymi z pierwszych badaczy tych zależności byli Goodwin i in. [7]. Poddali oni badaniu 55 chłopców, któ-

rych jedno z rodziców było uzależnione od alkoholu, adoptowanych 6 tygodni po urodzeniu i niemających potem żadnego kontaktu ze swymi biologicznymi rodzicami oraz 78 dzieci adoptowanych, stanowiących grupę kontrolną. Rodzice adoptowanych dzieci z obu grup reprezentowali podobne warunki socjoekonomiczne. Osobnicy z grupy pierwszej kilkakrotnie częściej niż z grupy kontrolnej (18% do 5%) ulegali uzależnieniu od alkoholu, byli leczeni z powodu nadużywania alkoholu (95% do 1%), przebywali na leczeniu psychiatrycznym (15% do 3%). Wskazuje to, że czynniki genetyczne mogą odgrywać ważną rolę w rozwoju uzależnienia od alkoholu lub zaburzeń psychicznych.

Cadoret i in. [8] badali adoptowane dzieci (242 chłopców i 201 dziewczynek), których biologiczni rodzice wykazywali postawy aspołeczne i mieli problemy alkoholowe. Obciążenia rodziców zwiększają znacznie ryzyko postaw aspołecznych u dzieci, a to z kolei zwiększa prawdopodobieństwo stosowania i nadużywania narkotyków.

Porównanie wyników uzyskanych dla chłopców i dziewczynek wskazuje, że zarówno czynniki genetyczne, jak i środowiskowe wywierają podobny wpływ na obie płcie. W rodzinach z dziećmi adoptowanymi takie czynniki środowiskowe jak rozwód rodziców lub ich zaburzenia psychiczne sprzyjają sięganiu przez dzieci po narkotyki i predysponują do ich nadużywania.

Bierut i in. [9] stwierdzili, że rodzeństwo osób uzależnionych od alkoholu wykazuje podwyższony wskaźnik podatności na uzależnienie od alkoholu (49,3–50,1% dla mężczyzn i 22,4–25% dla kobiet). Podobnie w badaniu 1267 dorosłych krewnych pierwszego stopnia 231 probantów* uzależnionych od opiatów, kokainy, kannabis i/lub alkoholu Merikangas i in. [10] stwierdzili ośmiokrotnie większe ryzyko nadużywania narkotyków. U dzieci, których jedno z rodziców było uzależnione od alkoholu, występuje pięciokrotny wzrost ryzyka alkoholizmu.

Badania bliźniąt i dzieci adoptowanych były pierwszym etapem poznawania etiologii zaburzeń wywołanych przez narkotyki, wykazując w tym rolę podłoża genetycznego. Nie wyjaśniły jednak, które składniki genomu uczestniczą w tych procesach i są za nie odpowiedzialne. Odpowiedź na to pytanie wymaga objęcia badaniami wielu genów, których poszukiwanie i identyfikacja są trudne ze względu na złożony u ludzi

uzależnionych charakter relacji genotyp – środowisko oraz patologiczne modele ich zachowań.

Najczęściej stosowaną techniką poszukiwania genów odpowiedzialnych za jakąś chorobę lub nieprawidłowość jest ustalenie asocjacji genetycznych, czyli statystycznie istotnego współwystępowania analizowanej cechy fenotypowej z dobrze znaną cechą nazywaną markerem genetycznym [11].

Badania asocjacyjne polegają na ustaleniu, czy w dużej populacji określona cecha i allel występują rzeczywiście częściej niż w populacji traktowanej jako kontrolna. Na przykład porównuje się w grupie osób uzależnionych i nieuzależnionych od jakiegoś narkotyku (lub zachowania) częstość wariantów polimorficznych, których funkcja wiąże się potencjalnie z patogeną uzależnienia.

Badania asocjacyjne dotyczyły do niedawna niewielkiej liczby SNP-ów w genach kandydujących. Obecnie, dzięki opracowaniu nowych metod genotypowania, prowadzi się badania asocjacyjne całego genomu (*genome-wide association studies* – GWAS). Ich celem jest wyszukiwanie zależności między genem i fenotypem przez jednoczesne porównanie setek tysięcy wariantów genu w próbkach DNA pobranych od bardzo licznych grup osobników.

Sprzężenie genetyczne (*genetic linkage*) to wspólne dziedziczenie poszukiwanego genu z określonym markerem [12]. Analiza sprzężeń (*linkage analysis*) ocenia prawdopodobieństwo, że marker genetyczny usytuowany w sąsiedztwie wariantu genu wywołującego zmiany funkcjonalne, występuje częściej u dotkniętych zmianą krewnych. Jednym ze wskaźników określających sprzężenie między dwoma markerami jest parametr znany jako LOD (*logarithm of the odds*), czyli logarytm dziesiętny ze stosunku prawdopodobieństwa sprzężenia dwóch loci do prawdopodobieństwa, że loci te nie są sprzężone. Wartość $LOD > 3$, a więc stosunek prawdopodobieństwa 1000 : 1 na korzyść sprzężenia dwóch loci wskazuje na istnienie sprzężenia markera i poszukiwanego genu. Analiza sprzężeń rzadko doprowadza do izolacji pojedynczego genu, zawęża jedynie pole poszukiwań do niewielkiego regionu genomu.

W chorobach wielogenowych, takich jak nadużywanie narkotyków i uzależnienie od nich, strategia opiera się na badaniach asocjacyjnych genów kandydujących, które obejmują badanie markerów polimorficznych w obrębie poszczególnych genów wytypowanych w związku z tym, że defekt ich funkcji przejawia się w postaci choroby. Przykładem genu kandydującego może być, np. gen receptora DRD2 dla dopaminy, ze względu na rolę, jaką w uzależnieniu od nikotyny odgrywa pobudzenie przez tę substancję dopaminergicznego układu nagrody, albo gen CYP2A6 wpływający na szybkość metabolizmu nikotyny.

* Proband – osobnik, u którego wystąpiła dana cecha, np. choroba genetyczna, od którego rozpoczyna się analiza rodowodowa w celu ustalenia sposobu dziedziczenia tej cechy. Analiza obejmuje zarówno pokolenie rodzicielskie jak i potomstwo w stosunku do probanta [6].

Analiza genów kandydujących pomaga w identyfikacji genetycznego podłoża choroby kompleksowej za pomocą badania genów, co do których istnieje uzasadnione domniemanie, że biorą udział w etiologii tej choroby.

Metody stosowane we współczesnej genetyce pozwalają na identyfikację, izolację i określenie poziomu ekspresji wielu genów równocześnie. Metoda macierzy DNA (*DNA microarray, biochip DNA*) może w doświadczeniu wykonanym na jednej macierzy dostarczyć w bardzo krótkim czasie informacji o tysiącach różnych genów. Technika ta ma zastosowanie do identyfikacji sekwencji, polimorfizmów i określania poziomu ekspresji genów. Pozwala ona wykonać błyskawiczną analizę sekwencji wielkiej liczby cząsteczek DNA i komputerowe przetworzenie uzyskanych wyników. Daje to możliwość monitorowania na pojedynczej płytce znacznej części genomu, obserwowania aktywności tysięcy genów i wnioskowania o interakcjach między nimi [5].

Technika pokazu różnicującego (*mRNA differential display*) służy do identyfikacji i analizy zmian ekspresji mRNA w komórkach eukariotycznych. Pozwala analizować różnice w ekspresji genów, może więc pomóc zarówno w identyfikacji nowych genów, jak i w badaniu ich funkcji.

Metody te opierają się na podstawowej własności DNA, tzn. komplementarności zasad (A-T, G-C) oraz trzech standardowych metodach biologii molekularnej: hybrydyzacji, klonowaniu i łańcuchowej reakcji polimerazy (*polymerase chain reaction – PCR*).

Jednoniciowe kwasy nukleinowe o komplementarnych sekwencjach mogą łączyć się, tworząc dwuniciowe hybrydy w procesie nazywanym hybrydyzacją. Istnieje możliwość powstawania następujących hybryd: DNA/DNA, DNA/RNA i RNA/RNA. Tę właściwość kwasów nukleinowych wykorzystuje się w technikach analitycznych stosowanych do wykrywania specjalnych sekwencji DNA w złożonych mieszaninach.

Klonowanie służy do wyizolowania jednego fragmentu DNA (fragmentu genu) spośród wielu milionów innych i skopiowaniu go w komórkach bakteryjnych w ilościach wystarczających do szczegółowej analizy umożliwiającej badanie i charakterystykę.

Łańcuchowa reakcja polimeryzacji (*PCR*) służy do replikacji dużych ilości wybranych sekwencji DNA. Namnożonego DNA można użyć do sekwencjonowania jako sondy w hybrydyzacji albo wykorzystać do klonowania.

Procesy kontrolujące ekspresję genów w komórkach mózgowych (neuronach) są bardzo złożone. Szczególną rolę w tych procesach odgrywa duża grupa białek związanych z DNA – tzw. czynników transkrypcyjnych, które wiążą się ze specyficznymi sekwencjami (odcinkami) DNA w regulacyjnych regionach

pewnych genów i w ten sposób zwiększają lub zmniejszają szybkość, z jaką geny te ulegają transkrypcji. Zdolność czynników transkrypcyjnych do regulacji ekspresji genów może zmieniać się w wyniku fosforylacji zachodzących pod działaniem różnych typów kinaz białkowych. Przykładem może być CREB (*c-AMP response element binding protein*), którego zdolność regulowania transkrypcji kontrolowana jest przez kinazę białkową zależną od c-AMP lub jonów wapniowych. Poznanie czynników transkrypcyjnych jest ważnym krokiem w wyjaśnianiu molekularnych mechanizmów, za pośrednictwem których narkotyki zmieniają ekspresję specyficznych genów w poszczególnych typach komórek (struktur) nerwowych i w ten sposób wywołują fizyczne i psychiczne uzależnienie. Poznanie struktury ludzkiego genomu umożliwiło identyfikację genów, które wykazują zmienny poziom ekspresji u osób przyjmujących narkotyki.

Ważnym uzupełnieniem badań prowadzonych na osobach nadużywających narkotyków lub od nich uzależnionych są eksperymenty z użyciem zwierząt laboratoryjnych, które dostarczają informacji trudnych lub niemożliwych do uzyskania w inny sposób.

Systematyczna hodowla myszy dostarcza wielu szczepów, co ułatwia dokładną genetyczną charakterystykę zwierząt, poznanie nie tylko mysiego genomu, ale również różnic między poszczególnymi szczepami. Myszy tego samego szczepu mają identyczny genotyp i bardzo podobne fenotypy, podczas gdy różne szczepy mają różne genotypy, wykazują więc także różne fenotypy. Różnice występujące między szczepami dostarczają modeli do badania analogicznych różnic u ludzi, gdzie małżeństwa między krewniakami są bardzo rzadkie. Porównawcze badania różnych szczepów mysich, które ujawniają genetyczne różnice tłumaczące zmiany w fenotypach poszczególnych szczepów, dostarczają więc informacji na temat możliwych genetycznych mechanizmów leżących u podstaw różnic wrażliwości na substancje psychoaktywne u ludzi. Badania na zwierzętach pozwalają ponadto na eliminację lub inaktywację pojedynczych genów i obserwację na żyjących zwierzętach jaki wpływ ma brak ekspresji genu na genotyp zachowań wobec substancji uzależniających. Trzeba jednak pamiętać, że inne geny mogą kompensować utratę funkcji genu wyłącznie [4].

Geny a podatność na uzależnienie

Warianty genetyczne warunkujące podatność na nadużywanie różnych grup narkotyków i uzależnienie od nich są związane przede wszystkim z genami kodującymi aktywne białka enzymatyczne, receptorowe i transportujące:

- enzymy metabolizujące narkotyki (CYP 2A6);
- enzymy metabolizujące neuroprzekaźniki (β -hydroksylaza dopaminy, D β H, monoaminooksydaza MAO);
- receptory neuroprzekaźników (receptor dopaminowy D2);
- receptory, za pośrednictwem których narkotyki wywierają działanie na organizm (kannabinoidowe CB1 i CB2, opioidowe OPRM1, kwasu gammaaminomasłowego i benzodiazepin GABA A, nikotynowo-acetylocholinowe nACh);
- transportery neuroprzekaźników (serotoniny 5HTT, dopamin DAT1).

Uhl i in. [13] z Molecular Neurobiology Research Branch NIDA w Baltimore, Maryland badali próbki DNA pobrane od 420 Euroamerykanów i 560 Afroamerykanów oraz od 680 etnicznie dobranych osób, które nie miały kontaktu z narkotykami. Osoby objęte badaniem przyjmowały różne substancje psychoaktywne, ale każda z nich była uzależniona przynajmniej od jednego narkotyku.

Stwierdzono, że polimorfizmy pojedynczego nukleotydu w DNA osób uzależnionych od narkotyków występują wielokrotnie częściej niż u osób z grupy kontrolnej. Różnice te dotyczą kilkudziesięciu genów, wywołując prawdopodobnie zmiany ich funkcji związane z syntezą specyficznych białek i predysponując ich nosicieli do nadużywania różnych grup narkotyków i do uzależnienia od nich. Nie stwierdzono natomiast wyraźnych różnic między grupą Euroamerykanów i Afroamerykanów.

Zidentyfikowano 89 genów mających wpływ na to, czy dany osobnik będzie wykazywał predyspozycję do nadużywania narkotyków i w dalszej perspektywie do uzależnienia się od nich czy też nie. Główny cel dalszych badań to określenie roli i znaczenia produktów ekspresji tych genów. Szybkość, z jaką ulegają zmianie poziomy niektórych produktów ich ekspresji, jest zgodna z przebiegiem uzależnienia, ale konieczne jest ustalenie ścisłej zależności między ekspresją genów (przyczyna) a nadużywaniem narkotyków (efekt).

Spośród tych 89 genów 21 uczestniczy w regulacji procesów adhezji komórkowej odgrywających ważną rolę w rozwoju mózgu i utrzymaniu prawidłowej komunikacji między neuronami. Większość z nich wykazuje zwiększoną aktywność w regionach mózgu odpowiedzialnych za pamięć [14]. Procesy adhezji komórkowej, zachodzące z udziałem specjalnych molekuł białkowych z grupy immunoglobulin (*cell adhesion molecule* – CAM) przyczyniają się do utworzenia, utrzymania i stabilizacji połączeń neuronalnych o szczególnym znaczeniu dla zapamiętywania i stanowiących podłoże pamięci. Występowanie wariantów tych genów u osób uzależnionych od narkotyków lub wykazujących pre-

dyspozycje do ich nadużywania może świadczyć o ważnej roli pamięci w procesie uzależniania i tłumaczyć dlaczego u osób uzależnionych dochodzi do nawrotów choroby nawet po bardzo długich okresach abstynencji.

Uważa się, że geny kodujące cząsteczki wywołujące adhezję komórkową mogą wpływać na ryzyko nadużywania narkotyków i uzależnienie od nich, oddziałując zarazem na układ nagrody i układ pamięci, a szczególnie układ pamięci ukrytej, bezwarunkowej.

Kiedy osobnik podatny na uzależnienie doświadcza ekspozycji na narkotyk, jego mózg może gromadzić doświadczenia w głębokiej pamięci ukrytej, gdzie wywierają one silniejszy niż zwykle wpływ na jego zachowanie. Ta głęboka pamięć w dłuższej perspektywie czasowej może działać silniej niż euforia. Chociaż *high* wywołany przez narkotyk działający na układ nagrody jest silną motywacją do powtórnego przyjęcia narkotyku, wielu pacjentów w późniejszych okresach uzależnienia rzadko doświadcza takich silnych stanów emocjonalnych i o przyjmowaniu narkotyku decyduje u nich trudne do przezwyciężenia uczucie przymusu. Odczuwają oni silną potrzebę brania narkotyków nawet po bardzo długim okresie abstynencji w sytuacjach i okolicznościach przypominających okresy przyjmowania.

Wpływ czynników genetycznych na patogenezę uzależnień charakteryzuje tzw. wskaźnik albo współczynnik odziedziczalności (h^2), którego wartość liczbową zamyka się w przedziale od 0, gdy zmienność fenotypu zależy wyłącznie od środowiska (a nie od podłoża genetycznego) do 1, gdy zmienność ta jest całkowicie uwarunkowana przez czynniki genetyczne (niektórzy autorzy wyrażają wartości h^2 w procentach) [15, 16]. Na przykład wskaźnik odziedziczalności zmian i efektów wywołanych przez kannabinoidy wynosi od 0,30–0,80, w tym dla Australijczyków ok. 0,45, dla mieszkańców amerykańskiego stanu Wirginia 0,58–0,76, a dla bliźniaków w Norwegii 0,77 [17]. Wartości h^2 dla 10 najbardziej znanych i groźnych narkotyków ustawionych według wzrastających potencjałów uzależniających przedstawiają się następująco:

• Halucynogeny	0,39
• Stymulanty	0,40
• Kannabinoidy	0,44
• Depresanty	0,51
• Hazard	0,53
• Palenie tytoniu	0,54
• Alkohol	0,55
• Kofeina	0,58
• Opiaty	0,66
• Kokaina	0,72

Kokaina i opiaty należą więc do narkotyków najsilniej uzależniających, a jednocześnie wywołane przez nie zmiany i efekty najłatwiej ulegają dziedziczeniu (h^2

odpowiednio 0,72 i 0,66). Natomiast zmiany i efekty halucynogenów, wykazujących najsłabsze działanie uzależniające, ulegają dziedziczeniu najsłabiej ($h^2 = 0,39$).

BIBLIOGRAFIA

1. Agrawal A., Lynskey M.T.: Candidate genes for cannabis use disorders: findings, challenges and directions, „Addiction” 2009, 104, 518–532.
2. Weiss F.: Neurobiology of craving, conditioned reward and relapse, „Curr. Opin. Pharmacol.” 2005, 5, 9–19.
3. Schoenbaum G., Roesch M.R., Stalnaker T.A.: Orbitofrontal cortex, decision-making and drug addiction, „Trends Neurosci.” 2006, 29, 116–124.
4. Ho M.K., Goldman D., Heintz A., Kaprio J., Kreek M.J., Li M.D., Munafo M.R., Tyndale R.F.: Breaking barriers in the genomics and pharmacogenetics of drug addiction, „Clin. Pharmacol. Therap.” 2010, 88, 779–791.
5. Brown T.A.: Genomes, Third Edition, Garland Science Textbooks, N.York, 2006.
6. Samochowiec A., Mordasewicz A., Arentowicz G., Samochowiec J.: Wpływ badań genetycznych na poznanie patologii uzależnień, „Psychiatria” 2005, 2, 9–18.
7. Goodwin D.W., Schlusinger F., Hermansen L., Guze S.B., Winokur G.: Alcohol problems in adoptees raised apart from alcoholic biological parents, „Arch. Gen. Psychiatry” 1973, 28, 238–243.
8. Cadoret R.J., Troughton E., O’Gorman T.W., Heywood E.: An adoption study of genetic and environmental factors in drug abuse, „Arch. Gen. Psychiatry” 1986, 43, 1131–1136.
9. Bierut L.J., Dinwiddie S., Begleiter H., Crowe R., Hesselbrock V., Nurnberger J., Poriesz B., Schuckit M.A., Reich T.: Familial transmission of substance dependence: alcohol, marijuana, cocaine and habitual smoking: a report from the Collaborative Study on the Genetics of Alcoholism, „Arch. Gen. Psychiatry” 1998, 55, 982–988.
10. Merikangas K.R., Stolar M., Stevens D.E., Goulet J., Preisig M., Fenton B., Zhang H., O’Malley S., Rounsaville B.J.: Familial transmission of substance use disorders, „Arch. Gen. Psychiatry” 1998, 55, 973–979.
11. Almasy L., Blangero J.: Contemporary model-free methods for linkage analysis, „Adv. Genet.” 2008, 60, 175–193.
12. Thomson G., Barcellos L.F., Valdes A.M.: Searching for additional disease loci in a genomic region, „Adv. Genet.” 2008, 60, 253–292.
13. Uhl G.R., Drgon T., Johnson C., Fatusin O., Liu Q.R., Contoreggi C., Chuan-Yun Li, Buck K., Crabbe J.: „Higher order” addiction molecular genetics: Convergent data from genome-wide association in humans and mice, „Biochem. Pharmacol.” 2008, 75, 98–111.
14. Liu Q.R., Drgon T., Johnson C., Walther D., Hess J.: Addiction molecular genetics: 639,401 SNP whole genome association identifies many „cell adhesion” genes, „Am. J. Med. Genet.” 2006, Part B 141B, 918–925.
15. Agrawal A., Linskey M.T.: Does gender contribute to heterogeneity in criteria for cannabis abuse and dependence? Results from the National Epidemiological Survey on Alcohol and Related Conditions, „Drug Alcohol Depend.” 2007, 88, 300–307.
16. Visscher P.M., Hill W.G., Wray N.R.: Heritability in the genomic era-concepts and misconception, „Nature Reviews Genetics” 2008, 9, 255–266.
17. Kendler K.S., Aggen S., Tambs K., Reichborn-Kjennerud T.: Illicit psychoactive substance use, abuse and dependence in a population-based sample of Norwegian twins, „Psychol. Med.” 2006, 36, 955–962.

Streszczenie

Geny w znacznym stopniu decydują o tym, czy osoba sięgająca po narkotyk będzie go stale przyjmować i uzależni się od niego czy nie. Liczne wyniki badań rodzin, dzieci adoptowanych i bliźniąt wskazują na istotny udział genów w osobniczych różnicach podatności na rozwój uzależnienia od jednego czy kilku narkotyków. W ciągu minionej dekady zidentyfikowano 89 genów, które są prawdopodobnie odpowiedzialne za to działanie. Wśród nich 21 genów uczestniczy w regulacji procesów adhezji komórkowej.

Słowa kluczowe: badania bliźniąt, dziedziczność, genetyka, geny kandydujące, uzależnienie.

Summary

After a person’s first exposure to drug, genes exert a major influence on whether he or she will go on to become dependent. Abundant evidence from family, adoption and twin studies points to large genetic contributions to individual differences in vulnerability to develop dependence on one or more addictive substances. Over the past decade researchers painstakingly identified at least 89 genes that appear to contribute to this influence. Among them 21 genes regulate cell adhesion processes.

Keywords: twin studies, heritability, genetics, candidate genes, addiction.