

# CÍLE MOLEKULÁRNĚGENETICKÉ ANALÝZY ZÁVISLOSTI NA ALKOHOLU

souborný článek

Michal Dreisig  
Richard Barteček  
Tomáš Kašpárek

Psychiatrická klinika LF MU Brno

**Kontaktní adresa:**

doc. MUDr. Tomáš Kašpárek, Ph.D.  
Psychiatrická klinika  
Jihlavská 20  
625 00 Brno  
e-mail: tkasparek@fnbrno.cz

## SOUHRN

**Michal Dreisig M, Barteček R, Kašpárek T. Cíle molekulárněgenetické analýzy závislosti na alkoholu**

Závislost na alkoholu je multifaktoriální chronické recidivující onemocnění, u kterého nenacházíme jasné, dominantní etiologické faktory, spíše velké množství faktorů genetických i psychosociálních, které zvyšují riziko závislosti. Molekulární genetika závislosti na alkoholu je tedy velmi komplexní a suma znalostí se stále dynamicky rozvíjí. Závislost na alkoholu je spojena se změnami genů pro glutamatergní, GABAergní, dopaminové, serotoninové, cholinergní, adrenergní, opioidní, kanabinoidní mechanismy, genů proteinů regulujících stresovou odpověď organismu, genů enzymů metabolizujících alkohol. Tyto změny se na klinické úrovni manifestují poruchami systému odměny, motivačních, hédonických a emočních systémů, inhibičních a excitačních procesů. Ukazuje se též, že specifická genetická náchylnost je v pozadí i odvykacího stavu a jeho závažných komplikací.

**Klíčová slova:** závislost na alkoholu, odvykací stav, genetika, patofyziologie, rizikové faktory.

## SUMMARY

**Michal Dreisig M, Barteček R, Kašpárek T. Targets of molecular-genetic analysis of alcohol dependence**

Alcohol dependence is a multifactorial chronic relapsing disorder with no clear dominant etiological factors; rather, there is a large number of both genetic and psychosocial issues that increase the risk of dependence. Molecular genetics of alcohol dependence is, therefore, a very complex and the body of evidence is still dynamically evolving. It is linked with changes of glutamatergic, GABA-ergic, dopamine, serotonin, cholinergic, adrenergic, opioid, cannabinoid genes, genes that regulate stress response, and alcohol metabolism. These changes are manifested as abnormalities of reward system, motivational, hedonic and emotional processes, and inhibition and excitation mechanisms. Specific genetic susceptibility exists for withdrawal syndrome and its complications.

**Key words:** alcohol dependency, withdrawal, genetics, pathophysiology, risk factors.

## ÚVOD

Závislost na alkoholu je etiopatogeneticky **heterogenní onemocnění**. Na jeho vzniku se podílí velké množství faktorů biologických i psychosociálních. Studie rodin alkoholiků i asociační studie potvrdily významný podíl genetických mechanismů, především ve zprostředkování vulnerability, psychosociální faktory pak modifikují tyto dispozice.<sup>1,2</sup> Podíl **genetických faktorů** se odhaduje většinou kolem **40–60 %**. Léčba závislosti na alkoholu i komplikací vyplývajících z poškození somatického je velmi nákladná a zatěžuje zdravotnický rozpočet. Z tohoto důvodu je studium etiopatogeneze klíčem k lepšímu pochopení tohoto fenoménu, časnější a účinnější léčbě a předcházení somatickým komplikacím. Recentní rozsáhlá studie ukázala, že jednotlivé rysy závislosti na alkoholu mohou být pod odlišnou genetickou kontrolou: 3 skupiny příznaků byly spojeny se specifickým vzorcem variability genetické výbavy: 1) tolerance a vysoké množství konzumovaného alkoholu, 2) ztráta kontroly nad alkoholem asociovaná se sociální dysfunkcí a 3) odvykací syndrom.<sup>3</sup>

Molekulárněgenetické metody umožňují hodnocení individuální biologické dispozice. Studie, které se v poslední době zaměřily na analýzu celého genomu, aby odhalily asociaci polymorfismů jednotlivých genů se závislostí na alkoholu bez vlivu apriorní selekce („selection bias“), nejsou často schopné nalézt signifikantní asociace i přesto, že studují data od několika tisíc jedinců.<sup>4</sup> Je proto stále namístě volit cíle molekulární analýzy na základě znalostí mechanismu účinku alkoholu, jeho metabolismu a patofyziologie nemoci. Naše práce přináší přehled těchto mechanismů a dosavadních nálezů genetických podkladů jejich variability spojené se závislostí na alkoholu a závažností odvykacího syndromu.

## MECHANISMUS ÚČINKU ALKOHOLU

Alkohol ovlivňuje organismus na mnoha úrovních. Zasaňuje do rovnováhy excitačních a inhibičních mechanismů v mozku, ovlivňuje tzv. systém odměny, jehož chronické změny vedou k fixaci návykového jednání. Při chronickém abúzu alkoholu je míra postižení dána dávkou alkoholu, délkou expozice a individuální odolností, respektive vulnerabilitou.

### Farmakologie akutního účinku

Alkohol vykazuje afinitu k mnoha receptorovým systémům mozku. Inhibuje aktivitu **N-metyl-D-aspartátového glutamátového receptoru (NMDA-R)**, jehož cestou je mediován excitační efekt glutamátu.<sup>5</sup> Alkohol také potencuje funkci **gamaaminobutyrateových receptorů typu A (GABA-A)**. Gamaaminomáselná kyselina je hlavní inhibiční neurotransmitter v CNS. Alkohol dále zvyšuje aktivitu **dopaminergních neuronů** v oblasti ventrální tegmentální arey (VTA),<sup>6</sup> zvyšuje se výdej dopaminu v nucleus accumbens, který je součástí systému odměny.<sup>7</sup> Toto je základní mechanismus, který je podkladem rozvoje závislosti na alkoholu. Alkohol působí i na **opioidní systém**:

nižší hladiny alkoholu zvyšují afinitu  $\mu$ -receptorů, vyšší hladiny ji snižují<sup>8</sup> a endokanabionoidní systém<sup>9</sup> – aktivace obou systémů může být podkladem hedonického prožitku při akutní intoxikaci. Alkohol zvyšuje funkci **serotoninových 5HT1B, 5HT2 a 5HT 3 receptorů**.<sup>10</sup> Blokuje **dihydropiridinové napětově řízené kalciové kanály**, upregulace těchto kanálů může potencovat hyperaktivitu NMDA receptorů.<sup>11</sup> Alkohol taktéž interaguje s **adenosinovými receptory A1, A2** – s projevy inhibice, sedace, modulace opioidního systému.<sup>12</sup>

Podstatné jsou i interakce mezi jednotlivými transmitterovými systémy. Vedle vztahu glutamát/GABA, resp. rovnováhy excitace/inhibice dochází k vzájemnému ovlivňování mezi dalšími systémy, které se tak mohou podílet na individuální vulnerabilitě vůči účinku alkoholu. Glutamátaregenní systém je úzce spjat s okruhem NO syntetázy, stimulace NMDA receptorů vede k influxu kalcia a aktivaci kalmodulin dependentní kinázy, která nakonec aktivuje neuronální NO-syntázu. Alkoholem indukované uvolnění dopaminu v oblasti nc. accumbens je mediováno nikotinovým acetylcholinovým receptorem ve VTA. Antagonizace mekamylaminem vede k redukci volního příjmu alkoholu.<sup>13</sup> Endogenní opiátový systém moduluje uvolnění dopaminu v reward systému, antagonist opiatových receptorů nalterxon snižuje odměnu.<sup>14</sup>

Oblasti mozku, které hrají důležitou roli ve zprostředkování účinku alkoholu i v rozvoji závislosti, jsou **amygdala, mezolimbická dopaminergní dráha, zahrnující ventrální tegmentální areu, nc. accumbens a prefrontální kortex**. Mezolimbická dopaminergní dráha je pod částečnou kontrolou glutamátaregenní transmise. Serotonergní dráha z nc. raphae moduluje dopaminergní aktivitu ve VTA. VTA je také modulována gabaergní projekcí z předního pallida a enkafalinerenní transmisí s nc. accumbens, cholinergní transmisí z pedunkulopontinního jádra, glutamátaregenní transmisí z prefrontálního kortexu. Zvýšená zpětnovazebná gabaergní signalizace zvyšuje výdej DA z VTA, stejně působí serotoninerenní transmise, zejména cestou 5HT3 receptorů, cholinergní transmise, zejména cestou nikotinových receptorů, sekrece ghrelinu stimuluje cholinergní transmisí a potažmo opět zvyšuje dopaminergní transmisí v systému odměny.

### Chronické užívání a závislost na alkoholu

Chronické užívání vede k up-regulaci NMDA receptorů, zejména v kortexu a hipokampu,<sup>15</sup> zvláště NR2A a NR2B podjednotek receptorů.<sup>16</sup> Při chronickém užívání dochází k downregulaci alfa podjednotky GABA-A,<sup>17</sup> tím pádem k poklesu GABAergní aktivity při působení alkoholu, což je podkladem tolerance.<sup>18</sup> Dysfunkce 5HT3 receptorů může být rizikovým faktorem pro rozvoj užívání alkoholu na počátku. Snižování volního příjmu alkoholu cestou antagonismu na 5HT3 receptorech poukazuje na možný vliv této cesty.<sup>19</sup> Chronické užívání alkoholu snižuje funkci opioidních  $\mu$ -receptorů ve striátu a nucleus accumbens.<sup>20</sup> Antagonista opioidních receptorů nalterxon snižuje vliv alkoholu na systém odměny a snižuje tak požitek z konzumace alkoholu,<sup>21,22</sup> což může být podkladem jeho klinického účinku v udržovací léčbě závislosti na alkoholu.

## Odvykací stav, odvykací stav s deliriem, odvykací křeče

Během chronického příjmu alkoholu dochází k neuroadaptaci na jeho přítomnost. Při jeho odnětí jsou příznaky odvykacího syndromu projevem narušení vytvořené rovnováhy za opakované přítomnosti alkoholu v organismu. Závažnost odvykacího stavu je značně variabilní. Možnost odhadu rizikových jedinců pro rozvoj klinicky významného odvykacího syndromu, resp. jeho komplikací, by tak byla zjevným benefitem.

### Změny excitačních a inhibičních mechanismů

Po vysazení alkoholu se rozvine excitovaný stav mozku, který se projevuje např. třesem, nebo odvykacími křečemi. Tento stav je výsledkem kombinace zvýšené glutamatergní transmise a alterované gabaergní transmise. Po vysazení či snížení dávek alkoholu vede hyperaktivita NMDA systému k tremoru, anxietě a křečím,<sup>15</sup> během odvykacího stavu vede k neurotoxickému poškození mozku.<sup>23</sup> MR spektroskopie opravdu prokázala zvýšení glutamátu v prefrontálním kortexu v průběhu odvykacího syndromu.<sup>24</sup> Změny v podjednotkách GABA-A receptoru vedou k **redukci inhibiční aktivity**.<sup>25</sup> Během odvykacího stavu jsou pak anxieta, křeče a tremor odrazem gabaergní hypofunkce.<sup>26,27</sup> Intermittentní odvykání vede k redukci asparátů, modifikaci alfa4 podjednotky GABA receptoru, což může vést cestou **kindlingu** k hyperexcitaci.<sup>28</sup>

### Hédonická homeostáza

Odvykání od alkoholu vede k **hypodopaminergnímu stavu**,<sup>29</sup> který se projevuje dysforií, úzkostí, negativním emočním nastavením. Tyto symptomy mohou být potlačeny dávkou alkoholu. Některé studie však naznačují, že je naopak během odvykacího stavu **hyperdopaminergní stav**, který může mít souvislost se sníženou GABAergní transmisí.<sup>30</sup> Tento názor je podpořen nálezem zvýšené koncentrace **kyseliny homovanilové**, což je metabolit dopaminu u pacientů s delirium tremens.<sup>31</sup> Dále byla pozorována po vysazení alkoholu **vyšší aktivita acetylcholinu** ve stejném časovém úseku jako deficit dopaminu.<sup>32</sup> **Opioidní transmise** může ovlivňovat dopaminergní deficit během odvykání.

### Noradrenergí systém a vegetativní hyperaktivita

Během odvykacího stavu nacházíme hyperexcitaci noradrenergických neuronů zvýšenou glutamatergní transmisí a ztrátou noradrenergí autoinhibice vlivem redukováných alfa2 adrenoreceptorů.<sup>33</sup> Noradrenergí hyperfunkce je zodpovědná za tachykardii, hypertenzní reakci, tremor a pocení. Tíže symptomatologie odvykacího stavu souvisí s hladinou uvolněného noradrenalinu.<sup>34</sup> Noradrenergí hyperaktivita je periferně i centrálně, což potvrzuje zvýšená hladina **noradrenalinu** a jeho metabolitu v likvoru. Hladiny **3-metoxy-4-hydroxyphenylglykolu (MOPEG)** v úvodu odvykacího stavu korelují s intenzitou příznaků, jako je insomnie, třes, slabost, zrakové halucinace a zvýšená tenze svalů.<sup>35</sup> Vliv na tyto projevy má i deplece magnesia.<sup>36</sup>

## Alkoholový odvykací stav jako stresor

Odvykací stav reprezentuje stres, na který odpovídá organismus **sekrecí CRF**.<sup>37</sup> CRF R1 receptory jsou aktivovány v průběhu odvykacího stavu a vedou k nastartování anxiogenní odpovědi. Uvolnění CRF trvá cca 12 hodin, na rozdíl od zdravých kontrol, u kterých trvá cca 1 h. Nízká dopověď na CRF trvá cca **15 týdnů po ukončení odvykacího stavu**.<sup>38</sup> Během takovéto hypoaktivity mohou vést zevní faktory principem kindlingu k neurochemické exacerbaci stavu. Akutní odvykací stav je asociován s **hyperkortisolémií a zvýšenou hladinou kortisolu ve slinách**.<sup>39</sup>

### Komplikace odvykacího stavu: delirium, křeče

Opakování odvykacích stavů zvyšuje riziko křečí.<sup>40</sup> Generalizované tonicko-klonické křeče v rámci odvykacího stavu jsou **spouštěny z mozkového kmene**.<sup>41</sup> Zábava upregulací NMDA receptorů při chronickém užívání alkoholu zabraňuje v animálním modelu rozvoji odvykacích křečí.<sup>42</sup> Akamprosát, který redukuje funkci NMDA, pozitivně ovlivňuje příznaky odvykacího stavu;<sup>43</sup> mechanismus jeho účinku je však mnohem komplexnější a ne zcela známý. Dalším důsledkem hyperexcitability via NMDA je **hyperhomocysteinémie**, která může indukovat neuronální poškození.<sup>44</sup> Hladiny homocysteinu by mohly být dobrým prediktorem křečí a odvykacího stavu jako celku. **Kyselina listová** snižuje hladinu homocysteinu a mohla by být potenciálním terapeutickým nástrojem.<sup>45</sup> Hyperhomocysteinémie indikuje **neuronální poškození, mozkovou atrofii, ztrátu neuronů cestou toxicity i apoptózy**. Odvykací křeče jsou dále spojovány s rychlým zvýšením **alfa4 podjednotky GABA-A receptoru**, jež výrazně snižuje inhibiční působení.<sup>46</sup> Hladina prolaktinu také koreluje s rizikem odvykacích křečí.<sup>47</sup>

## METABOLISMUS ALKOHOLU V LIDSKÉM TĚLE

Etylalkohol je malá polární molekula rozpustná ve vodě i v tucích. Ke vstřebávání dochází v žaludku, tenkém střevě a tračniku. Po absorpci je ethanol rovnoměrně distribuován do všech tkání, koncentrace ve tkáni odpovídá koncentraci v krvi; 90–98 % se metabolizuje čtyřmi základními metabolickými cestami. Je to přeměna cestou **alkoholdehydrogenázy (ADH)** na acetaldehyd, není inducibilní, rychlost je limitována vlastním nasycením a nedostatkem kofaktorů. Je 6 tříd izoenzymů v různých tkáních, aktivita ADH je ovlivněna aktivitou androgenů. **Mikrosomální etanol oxidující systém (MEOS)** mění alkohol za přítomnosti kyslíku na acetaldehyd, vznikají volné kyslíkové radikály, je inducibilní, součástí enzymů cytochromu P450, je v endoplazmatickém retikulu, na nasycení ADH se aktivuje. **Kataláza (CAT)** mění alkohol za přítomnosti peroxidu vodíku na acetaldehyd, aktivita tohoto enzymu je omezena. **Aldehyddehydrogenáza (ALDH)** oxiduje acetaldehyd na kyselinu octovou. Opět je několik izoenzymů. Disulfiram blokuje tento enzym.

## GENETICKÉ PODKLADY INDIVIDUÁLNÍHO RIZIKA

### Individuální dispozice k prvním dávkám alkoholu

Reakce na kontakt s alkoholem je individuální, je dána geneticky ovlivněnými biologickými charakteristikami jedince. Alely některých genů kódujících enzymy, receptory atd. vytvářejí u některých jedinců **alkohol senzitivní fenotyp**. Důležitým faktorem v rozvoji závislosti na alkoholu je například **individuální odpověď jedince na alkohol (tzv. level of response)**. Ta může být jedním z faktorů, které se podílejí na udržení konzumace alkoholu. Byla spojena s krátkou alelou genu pro serotoninový transportér SL-C6A4,<sup>48</sup> jednonukleotidovým polymorfismem (SNP) alfa1 podjednotky GABA-A receptoru,<sup>49</sup> Ser385 alelou genu pro alfa-6 podjednotku GABA-A receptoru,<sup>50</sup> 600G alelou genu pro alfa-2 GABA-A receptoru,<sup>51</sup> gama 1 podjednotkou GABA-A,<sup>52</sup> či s několika SNP OPRM1 genu pro mu opioidní receptor.<sup>53</sup> Gen pro NO-syntázu se rovněž podílí na zprostředkování akutního efektu alkoholu.<sup>54</sup> Homozygotní jedinci pro rizikovou alelu (AA) SNP polymorfismu rs279871 pro GABRA2 gen vykazují též větší odpověď na stimuly spojené s alkoholem než heterozygotní jedinci.<sup>55</sup>

Vedle biologických faktorů jsou k nastartování konzumace alkoholu nutné i psychosociální faktory prostředí. Více rizikovi jsou jedinci s osobnostními charakteristikami, jako je vyšší úroveň **vyhledávání nového (novelty seeking), extroverze, impulzivita, neuroticismus, nízké vyhýbání se zranění (harm avoidance)**. Tyto charakteristiky jsou spojeny s polymorfismy serotoninového transportéru.<sup>56</sup> Polymorfismus 5HT transportéru vedoucí k jeho vyšší funkci a následně snížené serotoninové aktivitě je opravdu spojen s impulzivitou a sníženou kontrolou u závislých na alkoholu.<sup>57</sup>

### Genetika alkoholismu

Genetické podklady závislosti na alkoholu studovalo množství vazebných i asociačních studií. Jejich výsledky ukazují na změny genů zapojených do mechanismů účinku alkoholu na organismus.

#### Změny metabolismu

Variabilita ADH hraje významnou roli v rozvoji závislosti na alkoholu – variabilita genů ADH1B (alely ADH1B\*2, ADH1B\*3), ADH1C (alela ADH1C\*1) vede k produkci vysoce aktivních enzymů, které tak velmi rychle odbourávají alkohol. Nedochozí tedy k akumulaci vysokých koncentrací alkoholu, naopak může docházet ke kumulaci acetaldehydu (viz dále) a tak mají tyto alely protektivní vliv na riziko rozvoje závislosti na alkoholu. Analýza ADH polymorfismů v kódujících i nekódujících oblastech genů ukázala asociaci mezi těmito variantami a rizikem rozvoje závislosti na alkoholu v euroamerických populacích.<sup>58,59</sup> Frekvence těchto alel se liší geograficky, respektive etnicky. V populaci východní Asie je u alkoholiků ve srovnání se zdravými kontrolami nižší zastoupení vysoce aktivních alel ADH1\*B2 a ADH1C\*2.<sup>60</sup> ADH1B\*2 je asociována u evropské populace s nízkým pří-

jmem alkoholu za den.<sup>61</sup> SNP polymorfismy ADH4 jsou také asociovány se závislostí na alkoholu, míra efektu je však výrazně menší než u ADH1B\*2 či ALDH2\*2 – viz dále,<sup>62</sup> v holandské populaci hraje roli variabilita ADH5.<sup>63</sup>

ALDH odbourává produkt ADH, tj. acetaldehyd, jehož vysoké hladiny jsou subjektivně nepříjemné. Existuje neaktivní varianta (ALDH2\*2), která je vysoce zastoupena zejména v asijských populacích.<sup>64</sup> Vede k hromadění acetaldehydu s rozvojem subjektivně nepříjemných příznaků a tak má tato alela též protektivní efekt. Význam CYP 2E1 roste u chronické expozice alkoholu, kdy může dojít až k 10násobnému zvýšení jeho katalytické aktivity. CYP 2E1 odbourává jak alkohol, tak acetaldehyd. Jeho varianta (CYP 2E1\*1D) byla spojena se zvýšeným rizikem závislosti.<sup>65</sup>

SNP ACN9 genu, kódujícího protein zapojený do glukoneogeneze a asimilace alkoholu v sacharidy, byl také asociován s rizikem alkoholismu. Gen leží na 7. chromosomu, který je ve vazebných studiích konzistentně spojován se závislostí.<sup>66</sup>

#### Dopaminový systém

Vzhledem k tomu, že dopaminergní systém hraje ústřední roli ve zprostředkování účinků alkoholu i v rozvoji závislosti, byl věnován jeho genetice značný zájem.

##### Dopaminové receptory

Se závislostí na alkohol byla asociována T alela SNP rs686 genu pro D1 receptor (DRD1).<sup>67</sup> Polymorfismus DRD2 genu – **TaqI-A1** – kódujícího D2 receptor je asociován s alkoholismem<sup>42</sup> a s rizikem relapsu.<sup>68</sup> Taq-1 polymorfismus pro DRD2 je lokalizován v blízkosti genu ANKK1 (Ankyrin Repeat and Kinase Domain Containign 1) pro kinázu, zasahující do transdukce signálu intracelulárně. Vazebná studie ukázala spojitost s lokusem v oblasti tohoto genu a alkoholismem.<sup>69</sup> Změna v aktivitě ANKK1 je potom důvodem asociace mezi DRD2 Taq-1 RFLP a neuropsychiatrickými chorobami, jako je závislost.<sup>70</sup>

##### Dopaminový transportér

Dopaminergní neurotransmise je ovlivněna dopaminovým transportérem (DAT). Redukce denzity DAT v mozku hodnocené pomocí SPECT byla nalezena u alkoholiků během periody pití.<sup>71</sup> Gen pro DAT 1 je lokalizován na **chromosomu 5q15.3** a obsahuje variabilní počty tandemových repetíci ve 3. intronu.<sup>72</sup> V německé populaci byla signifikantně zvýšena alela A9 pro DAT1 u pacientů alkoholiků s odvykacím stavem.<sup>73</sup> Systematické review 18 studií variability počtu tandemových repetíci SLC6A3 ukázalo, že není spojena přímo se závislostí na alkoholu, spíše s komplikacemi odvykacího stavu.<sup>74</sup>

##### Dopamin metabolizující enzymy

**Dopamin-beta-hydroxyláza** – katalyzuje přeměnu dopaminu na noradrenalin, je specificky exprimována v periferních i centrálních buňkách syntetizujících noradrenalin. Snížená činnost tohoto enzymu vede k redukci preference alkoholu. V Německé studii byla nalezena korelace mezi nízkou plazmatickou aktivitou tohoto enzymu a alkoholismem, nicméně alely, jejichž projevem je snížení aktivity enzymu, s tímto nekorelovaly.<sup>75</sup> Překvapivě A alela polymorfismu DbetaH\*444G/A lokalizovaná v exonu 2 byla

asociována s nízkou plazmatickou aktivitou a alkoholismem.<sup>76</sup> **Katechol-O-metyltransferáza (COMT)** – dopamin je metabolizován na homovanilovou kyselinu pomocí COMT a MAO. Gen pro COMT je lokalizován na **chromosomu 22q11.2**. Polymorfismus mění aktivitu enzymu. LL alela byla asociována s vyšším týdenním příjmem alkoholu.<sup>77</sup> **Monoaminoxidáza – A (MAO-A)** – lokalizována na **chromosomu Xp11**. Polymorfismus VNTR ovlivňuje transkripční aktivitu genu.<sup>78</sup> Výsledky asociačních studií jsou nekonzistentní, ty pozitivní jsou spojeny s osobností alkoholiků a s antisociálním chováním.

#### *Další mechanismy spojené s DA transmisí*

SNP polymorfismus (rs2836016) v promotorové oblasti genu KCNJ6 pro GIRK2 (G-protein-coupled inwardly rectifying potassium channel 2), draslíkový kanál spojený s G-proteinem s inhibičním efektem na dopaminergní tonus byl signifikantně asociován se závislostí na alkoholu,<sup>79</sup> interakce tohoto SNP s mírou psychosociálního stresu byla spojena se závažností rizikového pití u adolescentů.<sup>79</sup>

#### **Gabaergní transmise**

Asociace genu pro alfa 2 podjednotku GABA-A receptoru (GABRA2) se závislostí na alkoholu byla opakovaně prokázána.<sup>46</sup> Nositelé G alely SNP GABRA2 genu (rs279858, rs279826) mají častěji vyjádřené příznaky závislosti, impulzivitu, navíc i zvýšenou aktivitu inzuly v souvislosti s očekáváním odměny a ztráty.<sup>80</sup> I polymorfismy genů pro rho1 a rho2 podjednotky GABA-A receptoru (GABRR1, GABRR2 rs282219) byly asociovány se závislostí na alkoholu.<sup>81</sup> Vazebná studie dále upozornila na p raménko 4. chromosomu blízko genu pro beta1 podjednotku GABA receptoru.<sup>82</sup> Byla prokázána asociace mezi tímto genem a alkoholismem.<sup>83</sup>

#### **Glutamatergní systém**

U zdravých jedinců s historií alkoholismu v rodině je odpověď na ketamin (inhibitor NMDA) alterována ve srovnání se zdravými kontrolami.<sup>84</sup> Variabilní počet sekvencí v regulační oblasti genu GRIN2A pro 2A podjednotku NMDA receptoru byl asociován se závislostí na alkoholu.<sup>85</sup> Se závislostí na alkoholu a vegetativním typem odvykacího syndromu byly asociovány též varianty dalších genů pro NMDA receptor, **G2108A** polymorfismus genu NMDAR1 (podjednotka 1) a **C2664T** polymorfismus NMDAR2B (podjednotka 2B).<sup>86</sup>

**NMDA receptory** jsou regulovány fosforylací tyrosinkinázou. Asociace závislosti na alkoholu a **SNP T137346C** v pátém netranslatovaném úseku genu pro tyrosinkinázu byla prokázána.<sup>87</sup>

Homocystein účinkuje jako agonista na NMDA receptoru a zprostředkovává takto neurotoxický efekt na dopaminergní neurony.<sup>88</sup> Enzym **MTHFR** hraje důležitou roli v metabolismu homocysteinu. Gen pro tento enzym se nachází na chromosomu 1. **SNP polymorfismus C677T** tohoto genu má vliv na metabolismus homocysteinu.<sup>89</sup> T alela tohoto genu byla asociována jak s alkoholismem, tak s odvykacími křečemi.<sup>90</sup>

#### **Opioidní systém**

Byl studován gen pro mu **opioidní receptor (OPRM1)** a jeho asociace s alkoholismem. Pozornost se zaměřila na **SNP polymorfismus A118G** (rs1799971) a alkoholismus, vliv na zvýšení rizika nebyl v jedné studii prokázán,<sup>91</sup>

v novější studii byla G alela častěji přítomná u adolescentů s rizikovým pitím, kteří také alkohol častěji pili z důvodu zvýšení pozitivních emocí.<sup>92</sup> **SNP polymorfismus OPRK1** kappa opioidního receptoru byl asociován s alkoholismem.<sup>93</sup>

#### **Cholinergní systém**

S alkoholismem bylo spojeno i q raménko 7. chromosomu, na kterém se nachází CHRM 2 gen kódující muskarinový acetylcholinový receptor typu 2. **SNP polymorfismus v intronu 4 a 5** byl signifikantně asociován s alkoholismem.<sup>94</sup> Novější studie (u korejské populace) nenalezla spojení se závislostí na alkoholu, spíše s jeho závažností.<sup>95</sup>

#### **Serotoninergní systém**

Polymorfismus genu pro **serotoninový transportér** je lokalizován na chromosomu **17q11.2**. Specifické alely tohoto genu zvyšují riziko alkoholismu hlavně u podskupin pacientů s psychiatrickou komorbiditou a těžkým odvykacím stavem.<sup>96</sup> Nicméně v obecné populaci závislých je úloha těchto polymorfismů nejasná.

#### **Neuropeptid Y (NPY)**

Hypoaktivita NPY systému může napomoci k nastartování konzumace alkoholu. Existuje nepřímá úměrnost mezi příjmem alkoholu a hladinami NPY. Polymorfismy NPY genu jsou asociovány s odvykacími křečemi a závislostí na alkoholu.<sup>97,98</sup>

#### **Další mechanismy**

Vrozená hyperaktivita CRF systému může být také v pozadí zvýšeného rizika rozvoje závislosti. Polymorfismy genu pro CRF1 receptor jsou asociovány s konzumací alkoholu.<sup>99</sup> CB1 kanabinoidní receptor kódovaný CNR1 genem může hrát důležitou roli v rozvoji alkoholismu.<sup>100</sup> Další látkou, která patří ke stresové odpovědi organismu, je substance P a její neurokininové receptory. Polymorfismy genu pro neurokininový-1 receptor jsou častěji přítomny u závislých na alkoholu.<sup>101</sup>

Noradrenergní mechanismy jsou také spojené se zvýšeným rizikem závislosti na alkoholu: polymorfismy genu pro transportér noradrenalinu (rs36020, rs36029 SLC6A2 gen) byly signifikantně asociovány se závislostí na alkoholu, polymorfismy genu pro alfa2A adrenergní receptor (rs521674, rs602618 ADRA2A) s rodinnou anamnézou pro závislost na alkoholu.<sup>102</sup>

Recentní metaanalýza tří celogenomových studií (genom-wide scans) verifikovala asociaci alkoholismu s PKNOX2 genem pro transkripční faktor homeobox protein PREP-2 a našla další nové lokusy v NRD1 genu pro nardilysin, zapojený v regulaci proliferace a migrace buněk a v genech zatím neznámé funkce KIAA0040 a THSD7B.<sup>103</sup>

#### **Genetika komplikací odvykacího stavu**

Celogenomová vazebná studie genetických variant, které mají vliv na expresi příznaků odvykacího syndromu, našla signifikantní asociaci s 51 SNP, nejvýraznější efekt byl nalezen pro polymorfismus v oblasti blízké genu pro efrin A5 (EFNA5), který je zapojený do pozdních fází vývoje nervového systému, dále pro lysin (K)-specifické demethylázu 4C (KDM4C), která je zapojená do demethylace

histonů, a tedy do regulace exprese genetické informace, pro fibrous sheath interagující protein (FSIP2) a několik polymorfismů v oblasti alfa 1 podjednotky GABA-A (GABRA1), gama 1 podjednotku GABA-A (GABRG1), gama 3 podjednotku GABA-A receptoru (GABRG3).<sup>104</sup> TTTAn polymorfismus genu pro aromatázu (CYP19A1) byl asociován s vysokou mírou cravingu v průběhu odvykacího syndromu,<sup>105</sup> podobný vztah byl nalezen pro počet CAG opakování v genu pro androgenní receptor<sup>106</sup> a 5HTTLPR polymorfismus.<sup>107</sup> Polymorfismus genu pro 5HT1A receptor byl asociován s tíží odvykacího syndromu, zejména s tíží anxiety, nauzey a bolesti hlavy.<sup>108</sup>

Eyer et al.<sup>109</sup> se pokusili vytvořit prediktivní model rozvoje křečí nebo deliria v průběhu středně závažného až závažného odvykacího stavu: nejvýznamnějším prediktorem byla anamnéza morfologické léze mozku (odds ratio 6,5 pro křeče a 5,8 pro delirium). Další práce se zaměřily na detekci geneticky mediované vulnerability vůči komplikacím odvykacího stavu.

### Alkoholový odvykací stav s křečemi

S rozvojem křečí byly spojeny polymorfismy genu dopaminového transportéru (SLC6A3),<sup>110,111</sup> serotoninového transportéru,<sup>112</sup> NR1 podjednotky NMDA receptoru,<sup>86,113</sup> ENT1 genu kódujícího nukleotidový transportér a regulujícího hladiny adenosinu,<sup>114</sup> NPY5R genu kódujícího receptor pro neuropeptid Y,<sup>115</sup> genu pro apolipoprotein 3,<sup>116</sup> a jak již bylo zmíněno, polymorfismus C677T genu pro MTHFR.<sup>90</sup>

### Delirium při odvykacím syndromu

S deliriem byly spojeny polymorfismy genu dopaminového D2 a D3 receptoru,<sup>117</sup> dopaminového transportéru SLC6A3,<sup>74</sup> GRIK3 genu pro kainátový glutamatergní receptor, genu pro BDNF a CN1 kanabinoidního receptory.<sup>118</sup> Ojedinelá studie ukázala význam interakcí mezi jednotlivými geny pro riziko komplikací odvykacího stavu: interakce polymorfismů genu pro serotoninový transportér (SLC6A4) a D2 receptor (DRD2) byla signifikantně spojená s deliriem, efekt samotných genu nebyl významný.<sup>119</sup> Byly nalezeny i protektivní faktory: -141C Del varianta genu D2 receptoru byla spojena s protektivním vlivem na odvykací syndrom.<sup>120</sup>

### ZÁVĚR

Molekulární genetika závislosti na alkoholu je velmi komplexní a suma znalostí se stále dynamicky rozvíjí. Závislost na alkoholu je spojena se změnami genu pro glutamatergní, GABAergní, dopaminové, serotoninové, cholinergní, adrenergní, opioidní, kanabinoidní mechanismy, genu proteinů regulujících stresovou odpověď organismu, genu enzymů metabolizujících alkohol. Tyto změny se na klinické úrovni manifestují poruchami systému odměny, motivačních, hédonických a emočních systémů, inhibičních a excitačních procesů. Ukazuje se, že specifická genetická náchylnost je též v pozadí odvykacího stavu a jeho závažných komplikací.

### LITERATURA

- Goldman D, Oroszi G, Ducci F. The genetics of addictions: uncovering the genes. *Nat Rev Genet* 2005; 6 (7): 521–532.
- Schuckit MA, Goodwin DA, Winokur G. A study of alcoholism in half siblings. *Am J Psychiatry* 1972; 128 (9): 1132–1136.
- Kendler KS, Aggen SH, Prescott CA, Crabbe J, Neale MC. Evidence for multiple genetic factors underlying the DSM-IV criteria for alcohol dependence. *Mol Psychiatry* 2012; 17 (12): 1306–1315.
- Bierut LJ, Agrawal A, Bucholz KK, Doheny KF, Laurie C et al. A genome-wide association study of alcohol dependence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107 (11): 5082–5087.
- Grant KA, Lovinger DM. Cellular and behavioral neurobiology of alcohol: receptor-mediated neuronal processes. *Clin Neurosci* 1995; 3 (3): 155–164.
- Brodie MS, Shefner SA, Dunwiddie TV. Ethanol increases the firing rate of dopamine neurons of the rat ventral tegmental area in vitro. *Brain Res* 1990; 508 (1): 65–69.
- Imperato A, Di Chiara G. Preferential stimulation of dopamine release in the nucleus accumbens of freely moving rats by ethanol. *J Pharmacol Exp Ther* 1986; 239 (1): 219–228.
- Tabakoff B, Hoffman PL. Alcohol interactions with brain opiate receptors. *Life Sci* 1983; 32 (3): 197–204.
- Pava MJ, Woodward JJ. A review of the interactions between alcohol and the endocannabinoid system: implications for alcohol dependence and future directions for research. *Alcohol* 2012; 46 (3): 185–204.
- Grant KA, Colombo G, Gatto GJ. Characterization of the ethanol-like discriminative stimulus effects of 5-HT receptor agonists as a function of ethanol training dose. *Psychopharmacology (Berl)* 1997; 133 (2): 133–141.
- Brennan CH, Crabbe J, Littleton JM. Genetic regulation of dihydropyridine-sensitive calcium channels in brain may determine susceptibility to physical dependence on alcohol. *Neuropharmacology* 1990; 29 (5): 429–432.
- Ruby CL, Adams CA, Knight EJ, Nam HW, Choi DS. An essential role for adenosine signaling in alcohol abuse. *Curr Drug Abuse Rev* 2010; 3 (3): 163–174.
- Ericson M, Molander A, Lof E, Engel JA, Soderpalm B. Ethanol elevates accumbal dopamine levels via indirect activation of ventral tegmental nicotinic acetylcholine receptors. *Eur J Pharmacol* 2003; 467 (1–3): 85–93.
- Phillips TJ, Wenger CD, Dorow JD. Naltrexone effects on ethanol drinking acquisition and on established ethanol consumption in C57BL/6J mice. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21 (4): 691–702.
- Gulya K, Grant KA, Valverius P, Hoffman PL, Tabakoff B. Brain regional specificity and time-course of changes in the NMDA receptor-ionophore complex during ethanol withdrawal. *Brain Res* 1991; 547 (1): 129–134.
- Snell LD, Nunley KR, Lickteig RL, Browning MD, Tabakoff B et al. Regional and subunit specific changes in NMDA receptor mRNA and immunoreactivity in mouse brain following chronic ethanol ingestion. *Brain Res Mol Brain Res* 1996; 40 (1): 71–78.
- Montpied P, Morrow AL, Karanian JW, Ginns EI, Martin BM et al. Prolonged ethanol inhalation decreases gamma-aminobutyric acidA receptor alpha subunit mRNAs in the rat cerebral cortex. *Mol Pharmacol* 1991; 39 (2): 157–163.
- Allan AM, Harris RA. Acute and chronic ethanol treatments alter GABA receptor-operated chloride channels. *Pharmacol Biochem Behav* 1987; 27 (4): 665–670.
- Rodd-Henricks ZA, McKinzie DL, Edmundson VE, Dagon CL, Murphy JM

- et al. Effects of 5-HT(3) receptor antagonists on daily alcohol intake under acquisition, maintenance, and relapse conditions in alcohol-preferring (P) rats. *Alcohol* 2000; 21 (1): 73–85.
20. Tabakoff B, Urwyler S, Hoffman PL. Ethanol alters kinetic characteristics and function of striatal morphine receptors. *J Neurochem* 1981; 37 (2): 518–521.
  21. O'Malley SS, Jaffe AJ, Rode S, Rounsaville BJ. Experience of a „slip“ among alcoholics treated with naltrexone or placebo. *Am J Psychiatry* 1996; 153 (2): 281–283.
  22. Volpicelli JR, Watson NT, King AC, Sherman CE, O'Brien CP. Effect of naltrexone on alcohol „high“ in alcoholics. *Am J Psychiatry* 1995; 152 (4): 613–615.
  23. Tsai G, Gastfriend DR, Coyle JT. The glutamatergic basis of human alcoholism. *Am J Psychiatry* 1995; 152 (3): 332–340.
  24. Hermann D, Weber-Fahr W, Sartorius A, Hoerst M, Frischknecht U et al. Translational magnetic resonance spectroscopy reveals excessive central glutamate levels during alcohol withdrawal in humans and rats. *Biol Psychiatry* 2012; 71 (11): 1015–1021.
  25. Devaud LL, Fritschy JM, Sieghart W, Morrow AL. Bidirectional alterations of GABA(A) receptor subunit peptide levels in rat cortex during chronic ethanol consumption and withdrawal. *J Neurochem* 1997; 69 (1): 126–130.
  26. Hemmingsen R, Braestrup C, Nielsen M, Barry DI. The benzodiazepine/GABA receptor complex during severe ethanol intoxication and withdrawal in the rat. *Acta Psychiatr Scand* 1982; 65 (2): 120–126.
  27. Grobin AC, Matthews DB, Devaud LL, Morrow AL. The role of GABA(A) receptors in the acute and chronic effects of ethanol. *Psychopharmacology (Berl)* 1998; 139 (1–2): 2–19.
  28. Mahmoudi M, Kang MH, Tillakaratne N, Tobin AJ, Olsen RW. Chronic intermittent ethanol treatment in rats increases GABA(A) receptor alpha4-subunit expression: possible relevance to alcohol dependence. *J Neurochem* 1997; 68 (6): 2485–2492.
  29. Weiss F, Parsons LH, Schulteis G, Hyttia P, Lorang MT et al. Ethanol self-administration restores withdrawal-associated deficiencies in accumbal dopamine and 5-hydroxytryptamine release in dependent rats. *J Neurosci* 1996; 16 (10): 3474–3485.
  30. Glue P, Nutt D. Overexcitement and disinhibition. Dynamic neurotransmitter interactions in alcohol withdrawal. *Br J Psychiatry* 1990; 157: 491–499.
  31. Sano H, Suzuki Y, Ohara K, Yazaki R, Ishigaki T et al. Circadian variation in plasma homovanillic acid level during and after alcohol withdrawal in alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res* 1992; 16 (6): 1047–1051.
  32. Imperato A, Dazzi L, Carta G, Colombo G, Biggio G. Rapid increase in basal acetylcholine release in the hippocampus of freely moving rats induced by withdrawal from long-term ethanol intoxication. *Brain Res* 1998; 784 (1–2): 347–350.
  33. Nutt D, Glue P, Molyneux S, Clark E. Alpha-2-adrenoceptor function in alcohol withdrawal: a pilot study of the effects of iv. clonidine in alcoholics and normals. *Alcohol Clin Exp Res* 1988; 12 (1): 14–18.
  34. Linnola M, Mefford I, Nutt D, Adinoff B. NIH conference. Alcohol withdrawal and noradrenergic function. *Ann Intern Med* 1987; 107 (6): 875–889.
  35. Borg S, Czarnecka A, Kvande H, Mossberg D, Sedvall G. Clinical conditions and concentrations of MOPEG in the cerebrospinal fluid and urine of male alcoholic patients during withdrawal. *Alcohol Clin Exp Res* 1983; 7 (4): 411–415.
  36. Flink EB. Magnesium deficiency in alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 1986; 10 (6): 590–594.
  37. Merlo Pich E, Lorang M, Yeganeh M, Rodriguez de Fonseca F, Raber J et al. Increase of extracellular corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity levels in the amygdala of awake rats during restraint stress and ethanol withdrawal as measured by microdialysis. *J Neurosci* 1995; 15 (8): 5439–5447.
  38. Slaweki CJ, Simes C, Ehlers CL. Effects of chronic ethanol exposure on neurophysiological responses to corticotropin-releasing factor and neuropeptide Y. *Alcohol Alcohol* 1999; 34 (3): 289–299.
  39. Esel E, Sofuoglu S, Aslan SS, Kula M, Yabanoglu I et al. Plasma levels of beta-endorphin, adrenocorticotrophic hormone and cortisol during early and late alcohol withdrawal. *Alcohol Alcohol* 2001; 36 (6): 572–576.
  40. Brown ME, Anton RF, Malcolm R, Ballenger JC. Alcohol detoxification and withdrawal seizures: clinical support for a kindling hypothesis. *Biol Psychiatry* 1988; 23 (5): 507–514.
  41. Hendricson AW, Maldve RE, Salinas AG, Theile JW, Zhang TA et al. Aberrant synaptic activation of N-methyl-D-aspartate receptors underlies ethanol withdrawal hyperexcitability. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 321 (1): 60–72.
  42. Snell LD, Szabo G, Tabakoff B, Hofman PL. Gangliosides reduce the development of ethanol dependence without affecting ethanol tolerance. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 279 (1): 128–136.
  43. Zeise ML, Kasparov S, Capogna M, Zieglansberger W. Acamprostate (calciumacetylhomotaurinate) decreases postsynaptic potentials in the rat neocortex: possible involvement of excitatory amino acid receptors. *Eur J Pharmacol* 1993; 231 (1): 47–52.
  44. Bleich S, Degner D, Sperling W, Bonisch D, Thurauf N et al. Homocysteine as a neurotoxin in chronic alcoholism. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2004; 28 (3): 453–464.
  45. Heese P, Linnebank M, Semmler A, Muschler MA, Heberlein A et al. Alterations of homocysteine serum levels during alcohol withdrawal are influenced by folate and riboflavin: results from the German Investigation on Neurobiology in Alcoholism (GINA). *Alcohol Alcohol* 2012; 47 (5): 497–500.
  46. Soyka M, Preuss UW, Hesselbrock V, Zill P, Koller G et al. GABA-A2 receptor subunit gene (GABRA2) polymorphisms and risk for alcohol dependence. *J Psychiatr Res* 2008; 42 (3): 184–191.
  47. Wilhelm J, Heberlein A, Karagulle D, Groschl M, Kornhuber J et al. Prolactin serum levels during alcohol withdrawal are associated with the severity of alcohol dependence and withdrawal symptoms. *Alcohol Clin Exp Res* 2011; 35 (2): 235–239.
  48. Hinckers AS, Laucht M, Schmidt MH, Mann KF, Schumann G et al. Low level of response to alcohol as associated with serotonin transporter genotype and high alcohol intake in adolescents. *Biol Psychiatry* 2006; 60 (3): 282–287.
  49. Dick DM, Plunkett J, Wetherill LF, Xuei X, Goate A et al. Association between GABRA1 and drinking behaviors in the collaborative study on the genetics of alcoholism sample. *Alcohol Clin Exp Res* 2006; 30 (7): 1101–1110.
  50. Schuckit MA, Mazzanti C, Smith TL, Ahmed U, Radel M et al. Selective genotyping for the role of 5-HT2A, 5-HT2C, and GABA alpha 6 receptors and the serotonin transporter in the level of response to alcohol: a pilot study. *Biol Psychiatry* 1999; 45 (5): 647–651.
  51. Pierucci-Lagha A, Covault J, Feinn R, Nellissery M, Hernandez-Avila C et al. GABRA2 alleles moderate the subjective effects of alcohol, which are attenuated by finasteride. *Neuropsychopharmacology* 2005; 30 (6): 1193–1203.
  52. Ray LA, Hutchison KE. Associations among GABRG1, level of response to alcohol, and drinking behaviors. *Alcohol Clin Exp Res* 2009; 33 (8): 1382–1390.
  53. Ehlers CL, Lind PA, Wilhelmson KC. Association between single nucleotide polymorphisms in the mu opioid receptor gene (OPRM1) and self-reported responses to alcohol in American Indians. *BMC Med Genet* 2008; 9 35.

54. Spanagel R, Siegmund S, Cowen M, Schroff KC, Schumann G et al. The neuronal nitric oxide synthase gene is critically involved in neurobehavioral effects of alcohol. *J Neurosci* 2002; 22 (19): 8676–8683.
55. Kareken DA, Liang T, Wetherill L, Dziedzic M, Bragulat V et al. A polymorphism in GABRA2 is associated with the medial frontal response to alcohol cues in an fMRI study. *Alcohol Clin Exp Res* 2010; 34 (12): 2169–2178.
56. Sander T, Harms H, Dufeu P, Kuhn S, Hoehe M et al. Serotonin transporter gene variants in alcohol-dependent subjects with dissociative personality disorder. *Biol Psychiatry* 1998; 43 (12): 908–912.
57. Sander T, Harms H, Podschus J, Finkh U, Nickel B et al. Dopamine D1, D2 and D3 receptor genes in alcohol dependence. *Psychiatr Genet* 1995; 5 (4): 171–176.
58. Kuo PH, Kalsi G, Prescott CA, Hodgkinson CA, Goldman D et al. Association of ADH and ALDH genes with alcohol dependence in the Irish Affected Sib Pair Study of alcohol dependence (IASPSAD) sample. *Alcohol Clin Exp Res* 2008; 32 (5): 785–795.
59. Edenberg HJ, Xuei X, Chen HJ, Tian H, Wetherill LF et al. Association of alcohol dehydrogenase genes with alcohol dependence: a comprehensive analysis. *Hum Mol Genet* 2006; 15 (9): 1539–1549.
60. Shen YC, Fan JH, Edenberg HJ, Li TK, Cui YH et al. Polymorphism of ADH and ALDH genes among four ethnic groups in China and effects upon the risk for alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21 (7): 1272–1277.
61. Whitfield JB, Nightingale BN, Bucholz KK, Madden PA, Heath AC et al. ADH genotypes and alcohol use and dependence in Europeans. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 22 (7): 1463–1469.
62. Preuss UW, Ridinger M, Rujescu D, Samochovec J, Fehr C et al. Association of ADH4 genetic variants with alcohol dependence risk and related phenotypes: results from a larger multicenter association study. *Addict Biol* 2011; 16 (2): 323–333.
63. van Beek JH, Willemsen G, de Moor MH, Hottenga JJ, Boomsma DI. Associations between ADH gene variants and alcohol phenotypes in Dutch adults. *Twin Res Hum Genet* 2010; 13 (1): 30–42.
64. Goedde HW, Agarwal DP, Fritze G, Meier-Tackmann D, Singh S et al. Distribution of ADH2 and ALDH2 genotypes in different populations. *Hum Genet* 1992; 88 (3): 344–346.
65. Howard LA, Ahluwalia JS, Lin SK, Sellers EM, Tyndale RF. CYP2E1\*1D regulatory polymorphism: association with alcohol and nicotine dependence. *Pharmacogenetics* 2003; 13 (6): 321–328.
66. Dick DM, Aliev F, Wang JC, Saccone S, Hinrichs A et al. A Systematic single nucleotide polymorphism screen to fine-map alcohol dependence genes on chromosome 7 identifies association with a novel susceptibility gene ACN9. *Biol Psychiatry* 2008; 63 (11): 1047–1053.
67. Batel P, Houchi H, Daoust M, Ramoz N, Naassila M et al. A haplotype of the DRD1 gene is associated with alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 2008; 32 (4): 567–572.
68. Dahlgren A, Wargelius HL, Berglund KJ, Fahlke C, Blennow K et al. Do alcohol-dependent individuals with DRD2 A1 allele have an increased risk of relapse? A pilot study. *Alcohol Alcohol* 2011; 46 (5): 509–513.
69. Dick DM, Wang JC, Plunkett J, Aliev F, Hinrichs A et al. Family-based association analyses of alcohol dependence phenotypes across DRD2 and neighboring gene ANKK1. *Alcohol Clin Exp Res* 2007; 31 (10): 1645–1653.
70. Neville MJ, Johnstone EC, Walton RT. Identification and characterization of ANKK1: a novel kinase gene closely linked to DRD2 on chromosome band 11q23.1. *Hum Mutat* 2004; 23 (6): 540–545.
71. Laine TP, Ahonen A, Torniaainen P, Heikkila J, Pyhtinen J et al. Dopamine transporters increase in human brain after alcohol withdrawal. *Mol Psychiatry* 1999; 4 (2): 189–191, 104–185.
72. Vandenberg DJ, Persico AM, Hawkins AL, Griffin CA, Li X et al. Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. *Genomics* 1992; 14 (4): 1104–1106.
73. Sander T, Harms H, Podschus J, Finkh U, Nickel B et al. Allelic association of a dopamine transporter gene polymorphism in alcohol dependence with withdrawal seizures or delirium. *Biol Psychiatry* 1997; 41 (3): 299–304.
74. van der Zwaluw CS, Engels RC, Buitelaar J, Verkes RJ, Franke B et al. Polymorphisms in the dopamine transporter gene (SLC6A3/DAT1) and alcohol dependence in humans: a systematic review. *Pharmacogenomics* 2009; 10 (5): 853–866.
75. Kohnke MD, Zabetian CP, Anderson GM, Kolb W, Gaertner I et al. A genotype-controlled analysis of plasma dopamine beta-hydroxylase in healthy and alcoholic subjects: evidence for alcohol-related differences in noradrenergic function. *Biol Psychiatry* 2002; 52 (12): 1151–1158.
76. Kohnke MD, Kolb W, Kohnke AM, Lutz U, Schick S et al. DBH\*444G/A polymorphism of the dopamine-beta-hydroxylase gene is associated with alcoholism but not with severe alcohol withdrawal symptoms. *J Neural Transm* 2006; 113 (7): 869–876.
77. Kauhainen J, Hallikainen T, Tuomainen TP, Koulu M, Karvonen MK et al. Association between the functional polymorphism of catechol-O-methyltransferase gene and alcohol consumption among social drinkers. *Alcohol Clin Exp Res* 2000; 24 (2): 135–139.
78. Sabol SZ, Hu S, Hamer D. A functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter. *Hum Genet* 1998; 103 (3): 273–279.
79. Clarke TK, Laucht M, Ridinger M, Wodarz N, Rietschel M et al. KCNJ6 is associated with adult alcohol dependence and involved in gene x early life stress interactions in adolescent alcohol drinking. *Neuropsychopharmacology* 2011; 36 (6): 1142–1148.
80. Villafuerte S, Heitzeg MM, Foley S, Yau WY, Majcenko K et al. Impulsiveness and insula activation during reward anticipation are associated with genetic variants in GABRA2 in a family sample enriched for alcoholism. *Mol Psychiatry* 2012; 17 (5): 511–519.
81. Xuei X, Flury-Wetherill L, Dick D, Goate A, Tischfield J et al. GABRR1 and GABRR2, encoding the GABA-A receptor subunits rho1 and rho2, are associated with alcohol dependence. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2010; 153B (2): 418–427.
82. Long JC, Knowler WC, Hanson RL, Robin RW, Urbanek M et al. Evidence for genetic linkage to alcohol dependence on chromosomes 4 and 11 from an autosomal-wide scan in an American Indian population. *Am J Med Genet* 1998; 81 (3): 216–221.
83. Song J, Koller DL, Foroud T, Carr K, Zhao J et al. Association of GABA(A) receptors and alcohol dependence and the effects of genetic imprinting. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2003; 117B (1): 39–45.
84. Petrakis IL, Limoncelli D, Gueorguieva R, Jatlow P, Boutros NN et al. Altered NMDA glutamate receptor antagonist response in individuals with a family vulnerability to alcoholism. *Am J Psychiatry* 2004; 161 (10): 1776–1782.
85. Domart MC, Benyamina A, Lemoine A, Bourgain C, Blecha L et al. Association between a polymorphism in the promoter of a glutamate receptor subunit gene (GRIN2A) and alcoholism. *Addict Biol* 2012; 17 (4): 783–785.
86. Wernicke C, Samochovec J, Schmidt LG, Winterer G, Smolka M et al. Polymorphisms in the N-methyl-D-aspartate receptor 1 and 2B subunits are associated with alcoholism-related traits. *Biol Psychiatry* 2003; 54 (9): 922–928.



87. Schumann G, Rujescu D, Kissling C, Soyka M, Dahmen N et al. Analysis of genetic variations of protein tyrosine kinase *fyn* and their association with alcohol dependence in two independent cohorts. *Biol Psychiatry* 2003; 54 (12): 1422–1426.
88. Lee ES, Chen H, Soliman KF, Charlton CG. Effects of homocysteine on the dopaminergic system and behavior in rodents. *Neurotoxicology* 2005; 26 (3): 361–371.
89. Lim PS, Hung WR, Wei YH. Polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase gene: its impact on plasma homocysteine levels and carotid atherosclerosis in ESRD patients receiving hemodialysis. *Nephron* 2001; 87 (3): 249–256.
90. Lutz UC, Batra A, Kolb W, Machicao F, Maurer S et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T-polymorphism and its association with alcohol withdrawal seizure. *Alcohol Clin Exp Res* 2006; 30 (12): 1966–1971.
91. Arias A, Feinn R, Kranzler HR. Association of an Asn40Asp (A118G) polymorphism in the mu-opioid receptor gene with substance dependence: a meta-analysis. *Drug Alcohol Depend* 2006; 83 (3): 262–268.
92. Miranda R, Ray L, Justus A, Meyerson LA, Knopik VS et al. Initial evidence of an association between OPRM1 and adolescent alcohol misuse. *Alcohol Clin Exp Res* 2010; 34 (1): 112–122.
93. Xuei X, Dick D, Flury-Wetherill L, Tian HJ, Agrawal A et al. Association of the kappa-opioid system with alcohol dependence. *Mol Psychiatry* 2006; 11 (11): 1016–1024.
94. Wang JC, Hinrichs AL, Stock H, Budde J, Allen R et al. Evidence of common and specific genetic effects: association of the muscarinic acetylcholine receptor M2 (CHRM2) gene with alcohol dependence and major depressive syndrome. *Hum Mol Genet* 2004; 13 (17): 1903–1911.
95. Jung MH, Park BL, Lee BC, Ro Y, Park R et al. Association of CHRM2 polymorphisms with severity of alcohol dependence. *Genes Brain Behav* 2011; 10 (2): 253–256.
96. Feinn R, Nellissery M, Kranzler HR. Meta-analysis of the association of a functional serotonin transporter promoter polymorphism with alcohol dependence. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005; 133B (1): 79–84.
97. Kauhanen J, Karvonen MK, Pesonen U, Koulu M, Tuomainen TP et al. Neuropeptide Y polymorphism and alcohol consumption in middle-aged men. *Am J Med Genet* 2000; 93 (2): 117–121.
98. Koehnke MD, Schick S, Lutz U, Willecke M, Koehnke AM et al. Severity of alcohol withdrawal symptoms and the T1128C polymorphism of the neuropeptide Y gene. *J Neural Transm* 2002; 109 (11): 1423–1429.
99. Treutlein J, Kissling C, Frank J, Wiemann S, Dong L et al. Genetic association of the human corticotropin releasing hormone receptor 1 (CRHR1) with binge drinking and alcohol intake patterns in two independent samples. *Mol Psychiatry* 2006; 11 (6): 594–602.
100. Zuo L, Kranzler HR, Luo X, Covault J, Gelernter J. CNR1 variation modulates risk for drug and alcohol dependence. *Biol Psychiatry* 2007; 62 (6): 616–626.
101. Seneviratne C, Ait-Daoud N, Ma JZ, Chen G, Johnson BA et al. Susceptibility locus in neurokinin-1 receptor gene associated with alcohol dependence. *Neuropsychopharmacology* 2009; 34 (11): 2442–2449.
102. Clarke TK, Dempster E, Docherty SJ, Desrivieres S, Lourdsamy A et al. Multiple polymorphisms in genes of the adrenergic stress system confer vulnerability to alcohol abuse. *Addict Biol* 2012; 17 (1): 202–208.
103. Wang KS, Liu X, Zhang Q, Pan Y, Aragam N et al. A meta-analysis of two genome-wide association studies identifies 3 new loci for alcohol dependence. *J Psychiatr Res* 2011; 45 (11): 1419–1425.
104. Wang KS, Liu X, Zhang Q, Wu LY, Zeng M. Genome-wide association study identifies 5q21 and 9p24.1 (KDM4C) loci associated with alcohol withdrawal symptoms. *J Neural Transm* 2012; 119 (4): 425–433.
105. Lenz B, Heberlein A, Bayerlein K, Frieling H, Kornhuber J et al. The TTTAn aromatase (CYP19A1) polymorphism is associated with compulsive craving of male patients during alcohol withdrawal. *Psychoneuroendocrinology* 2011; 36 (8): 1261–1264.
106. Lenz B, Jacob C, Frieling H, Jacobi A, Hillemecher T et al. Polymorphism of the long polyglutamine tract in the human androgen receptor influences craving of men in alcohol withdrawal. *Psychoneuroendocrinology* 2009; 34 (7): 968–971.
107. Bleich S, Bonsch D, Rauh J, Bayerlein K, Fiszler R et al. Association of the long allele of the 5-HTTLPR polymorphism with compulsive craving in alcohol dependence. *Alcohol Alcohol* 2007; 42 (6): 509–512.
108. Lee YS, Choi SW, Han DH, Kim DJ, Joe KH. Clinical manifestation of alcohol withdrawal symptoms related to genetic polymorphisms of two serotonin receptors and serotonin transporter. *Eur Addict Res* 2009; 15 (1): 39–46.
109. Eyer F, Schuster T, Felgenhauer N, Pfab R, Strubel T et al. Risk assessment of moderate to severe alcohol withdrawal-predictors for seizures and delirium tremens in the course of withdrawal. *Alcohol Alcohol* 2011; 46 (4): 427–433.
110. Le Strat Y, Ramoz N, Pickering P, Burger V, Boni C et al. The 3' part of the dopamine transporter gene DAT1/SLC6A3 is associated with withdrawal seizures in patients with alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 2008; 32 (1): 27–35.
111. Du Y, Nie Y, Li Y, Wan YJ. The association between the SLC6A3 VNTR 9-repeat allele and alcoholism—a meta-analysis. *Alcohol Clin Exp Res* 2011; 35 (9): 1625–1634.
112. Hammoumi S, Payen A, Favre JD, Balmes JL, Benard JY et al. Does the short variant of the serotonin transporter linked polymorphic region constitute a marker of alcohol dependence? *Alcohol* 1999; 17 (2): 107–112.
113. Rujescu D, Soyka M, Dahmen N, Preuss U, Hartmann AM et al. GRIN1 locus may modify the susceptibility to seizures during alcohol withdrawal. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005; 133B (1): 85–87.
114. Kim JH, Karpyak VM, Biernacka JM, Nam HW, Lee MR et al. Functional role of the polymorphic 647 T/C variant of ENT1 (SLC29A1) and its association with alcohol withdrawal seizures. *PLoS ONE* 2011; 6 (1): e16331.
115. Wetherill L, Schuckit MA, Hesselbrock V, Xuei X, Liang T et al. Neuropeptide Y receptor genes are associated with alcohol dependence, alcohol withdrawal phenotypes, and cocaine dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 2008; 32 (12): 2031–2040.
116. Wilhelm J, von Ahsen N, Hillemecher T, Bayerlein K, Frieling H et al. Apolipoprotein E gene polymorphism and previous alcohol withdrawal seizures. *J Psychiatr Res* 2007; 41 (10): 871–875.
117. Adamis D, Van Munster BC, Macdonald AJ. The genetics of delirium. *Int Rev Psychiatry* 2009; 21 (1): 20–29.
118. van Munster BC, Korevaar JC, de Rooij SE, Levi M, Zwinderman AH. Genetic polymorphisms related to delirium tremens: a systematic review. *Alcohol Clin Exp Res* 2007; 31 (2): 177–184.
119. Karpyak VM, Biernacka JM, Weg MW, Stevens SR, Cunningham JM et al. Interaction of SLC6A4 and DRD2 polymorphisms is associated with a history of delirium tremens. *Addict Biol* 2010; 15 (1): 23–34.
120. Johann M, Putzhammer A, Eichhammer P, Wodarz N. Association of the -141C Del variant of the dopamine D2 receptor (DRD2) with positive family history and suicidality in German alcoholics. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005; 132B (1): 46–49.