



## Związek cech psychobiologicznych i polimorfizmów genów DRD2, DAT1, 5HTT, MAO A i COMT w populacji osób obciążonych uzależnieniem od alkoholu\*

*Association study between the DRD2, DAT1, 5HTT, MAO A and COMT gene polymorphisms and the anxiety and depression levels in alcoholics*

JUSTYNA PEŁKA-WYSIECKA, JERZY SAMOCHOWIEC,  
JOLANTA KUCHARSKA-MAZUR, SZYMON SYREK, MICHAŁ PARUS,  
ANNA GRZYWACZ, JAN HORODNICKI

Z Katedry i Kliniki Psychiatrii Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie

**STRESZCZENIE.** *Cel.* U osób z zespołem zależności alkoholowej (ZZA) trzykrotnie częściej niż w zdrowej populacji występują zaburzenia depresyjne i lękowe. Zwiększone nasilenie lęku i depresji obserwowane jest w alkoholowym zespole abstynencyjnym (AZA). Oszacowanie związku nasilenia lęku i depresji u osób z ZZA (ocenianych przy użyciu skal psychometrycznych: Skala Samooceny Lęku Zunga SAS i Skala Samooceny Depresji Zunga SDS) i zbadanych polimorfizmów pięciu genów kandydujących. *Metoda.* 108 osób z ZZA, z wykluczeniem osób z rozpoznaniem psychiatrycznym z osi I wg ICD-10 innymi niż ZZA i uzależnienie od nikotyny. Zbadano polimorfizmy genów: DAT1, 5HTT, MAO A, COMT, DRD2. *Wyniki.* Stwierdzono zależność pomiędzy niektórymi wybranymi polimorfizmami badanych genów i poziomem lęku lub depresji szacowanych skalami SAS i SDS. *Wnioski.* Na podstawie uzyskanych wyników wysunięto wniosek potwierdzający hipotezę biologicznego uwarunkowania indywidualnego obrazu klinicznego ZZA.

**SUMMARY.** *Aim.* Alcoholics suffer from depressive and anxiety disorders three times more often than a healthy population. Elevated levels of anxiety and depression are observed in the alcohol withdrawal syndrome. The aim of this study was to estimate the relationship between anxiety and depression levels in alcoholics (using psychometric scales: Zung's self rating anxiety scale: SAS; Zung's self rating depression scale: SDS) and the 5 candidate genes polymorphisms. *Method.* 108 alcohol dependent patients, without other psychiatric illness than alcohol and/or nicotine dependence according to axis I of ICD-10, were examined. Polymorphisms of DAT1, 5HTT, MAO A, COMT, DRD2 genes were tested. *Results.* We found an association between some polymorphisms of tested genes and anxiety and depression levels estimated by the SAS and SDS scales. *Conclusions.* The results of our study confirm the hypothesis about the biologically determined individual course of alcohol dependence.

---

**Słowa kluczowe:** ZZA / gen DRD2 / gen DAT1 / gen 5HTT / gen MAO A / gen COMT / lęk / depresja / SAS / SDS

**Key words:** alcohol dependence / DAT1 gene / 5HTT gene / MAO A gene / COMT gene / anxiety / depression / SAS / SDS

---

\* Niniejsza praca jest częścią badań realizowanych w ramach projektu badawczego nr 3 PO5D 146 22, finansowanego przez Komitet Badań Naukowych zgodnie z umową nr 0510/PO5/2002/22.

Nasilenie problemów związanych ze spożywaniem alkoholu rosło sukcesywnie w miarę rozwoju cywilizacji [1, 2, 3]. Mówiąc o zespole zależności alkoholowej (ZZA) mamy aktualnie na myśli stan chorobowy uwarunkowany wieloczynnikowo, wskutek oddziaływań zarówno genetycznych, jak i środowiskowych [4, 5]. Opierając się na wynikach badań populacyjnych określono, że na wystąpienie alkoholizmu mają wpływ w 50–70% składowe środowiskowe, a w 30–50% – składowe genetyczne [4, 6, 7]. W badaniach zwraca się uwagę m.in. na kształtujące się pod wpływem genów cechy osobowości i funkcje poznawcze [8]. Wraz z rozwojem nowych technik badawczych i zaawansowanych metod pomiarowych podjęto badania doświadczalne, których celem było wyodrębnienie homogennych grup osób uzależnionych od alkoholu [2, 9]. Przy tworzeniu podziałów brano m.in. pod uwagę: występowanie objawów psychopatologicznych [10], określonych cech osobowości i różnych innych czynników [11, 12].

Od wielu lat zwraca się uwagę na ścisły związek zaburzeń z kręgu depresji i lęku oraz ZZA. W większości przypadków można stwierdzić, czy zaburzenia depresyjne poprzedzają wystąpienie nadmiernego picia alkoholu, czy też są jego następstwem. Również depresje okresu abstynencji są zjawiskiem częstym, trwają najczęściej kilkanaście dni i ustępują bez leczenia przeciwdepresyjnego. Stwierdzono, że alkohol wywiera wpływ na liczne układy neuroprzebieżnikowe w o.u.n. Wiąże się to m.in. z występowaniem zaburzeń z kręgu afektywnego.

Dopaminergiczne szlaki układu nagrody w mózgu są związane z odczuwaniem przyjemności podczas realizowania podstawowych popędów, które nazywa się „naturalnymi nagrodami”. Ich mechanizm działania polega na uwalnianiu dopaminy w *nucleus accumbens* i płatach czołowych. Podobne skutki może też wywołać „sztucznymi nagrodami”, takimi jak np. alkohol. Stymulowana alkoholem transmisja dopaminergiczna może z kolei utrwalać skłon-

ność do spożywania alkoholu [13]. Dlatego też geny syntezy i degradacji amin katecholowych, geny receptorów i transportera dopaminy wydają się dobrymi genami kandydującymi w uzależnieniu od alkoholu [14]. Kluczową rolę w regulacji neurotransmisji dopaminergicznej odgrywa transporter dopaminy (DAT1) poprzez wpływ na synaptyczny wychwyty zwrotny tej aminy [15]. Jednym z najczęściej badanych w kontekście alkoholizmu genów jest gen receptora dopaminy D2 (DRD2). W obrębie tego genu bada się zazwyczaj 3 polimorfizmy: Taq IA, w obrębie egzonu 8 oraz w obrębie promotora ins/del – 141C [16].

Dysfunkcje serotoninerdyczne kojarzy się z impulsywnością, lękiem i stanami obniżonego nastroju, co predysponować może do przyjmowania nadmiernych ilości alkoholu. Geny związane z aktywnością serotoninerdyczną modyfikują przebieżnikowo dopaminergiczne, co stawia je na równi z dopaminą w badaniach genów kandydujących [14].

Monoaminooksydaza A odgrywa znaczącą rolę w degradacji licznych neurotransmiterów w obrębie o.u.n., odpowiadając za deaminację dopaminy, serotoniny, noradrenaliny.

Katechol-O-metylotransferaza (COMT) jest również istotnym enzymem szlaków metabolicznych neurotransmiterów, takich jak: dopamina, adrenalina i noradrenalina.

## CEL PRACY

Oszacowanie związków polimorfizmów genów DRD2, DAT1, 5HTT, MAO A i COMT i z takimi cechami jak depresyjność i lęk.

## BADANE OSOBY I METODY

Protokół badań został zaakceptowany przez Komisję Etyczną Pomorskiej Akademii Medycznej. Wszystkie osoby, które wzięły udział w badaniach, zapoznały się z przedstawioną na piśmie informacją dotyczącą celu i przebiegu badania oraz potwierdziły ten fakt

pisemnie. Wszystkie zakwalifikowane do badań osoby wyraziły na nie pisemnie zgodę.

Rekrutacja probandów odbywała się w Katedrze i Klinice Psychiatrii PAM w Szczecinie oraz w poradniach i ośrodkach odwykowych regionu zachodniopomorskiego.

Do oceny diagnostycznej uzależnienia od alkoholu oraz współwystępujących zaburzeń psychicznych użyto kwestionariusza CIDI (*Composite International Diagnostic Interview – „Ustrukturyzowany międzynarodowy wywiad diagnostyczny”*) [17] oraz stosowano kryteria ICD-10 [18] i DSM-IV [19]. Ponadto zastosowano następujące testy i skale psychometryczne:

- Skala samooceny lęku Zung’a SAS (*Self Rating Anxiety Scores*), która obejmuje 20 pytań dotyczących występowania objawów lękowych, psychologicznych, somatycznych w ciągu ostatniego tygodnia. Wynik w zakresie do 35 pkt. obejmuje zakres normy, wynik 36–60 pkt. – to zakres patologii, obejmujący zaburzenia lękowe [20]. Średnie nasilenie lęku wg SAS w badanej grupie wynosiło  $41,8 \pm 7,7$  pkt.,
- Skala samooceny stanu depresyjnego Zung’a SDS (*Self Rating Depression Scores*), która obejmuje 20 pytań dotyczących występowania objawów afektywnych, psychologicznych i somatycznych w ciągu

Tablica 1. Probandzi, pacjenci z ZZA – dane socjodemograficzne (N=108)

Dane socjodemograficzne	Miara	Wartość
Wiek w latach	(średnia $\pm$ odchylenie standardowe)	36 $\pm$ 9
Wiek w latach mężczyzn (n=95)	(średnia $\pm$ odchylenie standardowe)	37 $\pm$ 9
Wiek w latach kobiet (n=13)	(średnia $\pm$ odchylenie standardowe)	40 $\pm$ 8
Posiada uzależnionego ojca	(% w badanej grupie)	20,4%
Posiada uzależnioną matkę	(% w badanej grupie)	2,8%
Posiada uzależnionych oboje rodziców	(% w badanej grupie)	9,3%

Tablica 2. Dane dotyczące przebiegu okresu dzieciństwa i adolescencji u wszystkich probandów, osób z ZZA, (N = 108)

Okres dzieciństwa i adolescencji	% (N = 108)
Powikłania w czasie ciąży lub okołoporodowe	4,2%
Zaburzenia rozwoju psychomotorycznego	4,2%
Trudności w szkole (nauka, adaptacja)	17,7%
Zaburzenia emocjonalne związane z lękiem przed rozłąką	22,9%
Zaburzenia o typie fobii	10,5%
Zaburzenia procesu socjalizacji	7,4%
Moczenie nocne	10,4%
Konflikty z rówieśnikami	9,4%
Nienawiść do rodziców	9,5%
Wybuchy wściekłości	22,9%
Okrucieństwo	5,2%
Kłamstwa, kradzieże	30,2%
Ucieczki z domu	17,7%

Tablica 3. Dane dotyczące przebiegu ZZA u badanych probandów, (n=108)

Dane (wiek w latach)	Miara	Wartość
Wiek, w którym wystąpił ostatni dłuższy okres abstynencji	średnia ± odchylenie standardowe	33±9
Wiek pierwszego upojenia alkoholowego	średnia ± odchylenie standardowe	17±4
Wiek rozwoju tolerancji alkoholu	średnia ± odchylenie standardowe	29,5±19,6
Wiek obniżenia tolerancji alkoholu	średnia ± odchylenie standardowe	31±9
Ilość wypijanego alkoholu/dobę w szczycie tolerancji (w gramach 100% etanolu)	średnia ± odchylenie standardowe	225±108
Wiek wystąpienia głodu alkoholowego	średnia ± odchylenie standardowe	27±8
Wiek utraty kontroli picia	średnia ± odchylenie standardowe	26±7
Osoby z utratą kontroli picia poniżej 26 r.ż.	% w badanej grupie	56%
Wiek pojawienia się pierwszych objawów abstynencyjnych	średnia ± odchylenie standardowe	25±8
Wiek pojawienia się wyraźnych objawów wegetatywnych zespołu abstynencyjnego	średnia ± odchylenie standardowe	27±8
Pijący regularnie – picie ciągłe	% w badanej grupie	69,1%
Osoby, u których wystąpiły epizody majaczenia drżennego	% w badanej grupie	21,3%
Wiek wystąpienia pierwszego epizodu majaczenia drżennego	średnia ± odchylenie standardowe	27±19
Ilość epizodów majaczenia	średnia ± odchylenie standardowe	2±3
Osoby, u których wystąpiły epizody napadów drgawkowych	% w badanej grupie	19,4%
Ilość epizodów drgawkowych	średnia ± odchylenie standardowe	2±2
Osoby, u których wystąpiły próby samobójcze	% w badanej grupie	38,9%
Obecność poczucia winy z powodu picia	% w badanej grupie	81,5%
Utrzymywanie abstynencji powyżej 6 miesięcy	% w badanej grupie	11,1%
Osoby, u których wystąpiły palimpsesty	% w badanej grupie	82,4%

ostatniego tygodnia. Wynik w zakresie do

35 pkt. obejmuje zakres normy, 36–40 pkt.

– zaburzenia depresyjne, powyżej 55 pkt.

– ciężka depresja [21]. Średnie nasilenie depresji wg SDS w badanej grupie wynosiło 46,9±5,0 pkt.

– CIWA-Ar – skala oceniająca nasilenie objawów abstynencyjnych [22].

Z badań wykluczono osoby z tzw. podwójną diagnozą (tj. z rozpoznaniem uzależnieniem od innej substancji niż alkohol i/lub nikotyna, z rozpoznaną chorobą psychiczną, poważnymi schorzeniami somatycznymi i nowotworowymi, padaczką inną niż alkoholowa). Cechy socjodemograficzne i kliniczne badanych przedstawiono w tabl. 1–4.

## METODY

Od probandów pobierano jednorazowo po 10 ml krwi żyłnej. Opracowanie materiału biologicznego, tj. izolacja DNA z pełnej krwi, PCR, analizy genetyczne (VNTR, RFLP) oraz sporządzenie dokumentacji fotograficznej wykonano w laboratorium Katedry i Kliniki Psychiatrii PAM w Szczecinie. Genomowe DNA izolowane było metodą wysalania wg Millera [23]. W badaniach zastosowano technikę PCR (polimerazowej reakcji łańcuchowej) z ustaloną na podstawie piśmiennictwa sekwencją primerów i szczegółowo określonymi warunkami procesu. Przeprowadzono analizy genetyczne (RFLP, VNTR) [2, 24].

Tablica 4. Podgrupy osób uzależnionych od alkoholu wydzielone na podstawie objawów klinicznych, N = 108

Cecha, na podstawie której wydzielono homogeną podgrupę	n / %
Typ I alkoholizmu wg Cloningera	85 / 79%
Typ II alkoholizmu wg Cloningera	23 / 21%
Ciężko pijący (heavy drinkers)	55 / 51%
Wczesna utrata kontroli picia < 26 r.ż.	60 / 56%
Posiadający uzależnionych od alkoholu rodziców	35 / 33%
Występujące powikłania somatyczne ZZA	40 / 37%
Współistniejące cechy osobowości dysocjalnej	23 / 21%
Próby samobójcze w wywiadzie	42 / 39%
Wczesna utrata kontroli picia u probandów, którzy mieli uzależnionych rodziców	25 / 23%
Majaczenie drżenne w wywiadzie	23 / 21%
Napady drgawkowe w okresie abstynencji	21 / 19%
Wegetatywne objawy abstynencyjne	89 / 82%
Wartość CIWA-Ar wskazująca na konieczność leczenia AZA (powyżej 20 pkt.)	41 / 38%
Pałący papierosy	82 / 76%

Tablica 5. Badane polimorfizmy genów

Gen	Polimorfizm	Chromosom	Lokalizacja
Gen transportera dopaminy <i>DAT1</i> ( <i>SLC6A3</i> )	VNTR	5p15.3	3'-UTR
Receptor dopaminergiczny <i>D<sub>2</sub></i> ( <i>DRD2</i> )	RFLP	11q22-q23	3'-UTR
Taq IA			
Receptor dopaminergiczny <i>D<sub>2</sub></i> ( <i>DRD2</i> )	RFLP	11q22-q23	egzon 8
Receptor dopaminergiczny <i>D<sub>2</sub></i> ( <i>DRD2</i> )	RFLP	11q22-q23	region promotora
Transporter serotoniny ( <i>SLC6A4</i> )	delecja 44pz	17q11.1	region promotora
MAO A	VNTR 30 pz	Xp11.4	region promotora
COMT	RFLP	22q11	egzon 4

Celem wizualizacji otrzymanego produktu PCR i fragmentów DNA po trawieniu enzymami restrykcyjnymi, wykonano elektroforezy na żelu agarozowym z następowym dodaniem bromku etydyny, efekty procesu uwidoczniiono w świetle ultrafioletowym i dokumentowano fotograficznie.

Do obliczeń statystycznych użyto programu komputerowego SPSS 9.0 for Windows [25]. Do oznaczenia związków pomiędzy polimorfizmami poszczególnych genów a cechami psychobiologicznymi pacjentów

z ZZA użyto analizy wariancji (ANOVA) i testu  $\chi^2$  [25].

Warunki do przeprowadzenia PCR dla wybranych polimorfizmów zaczerpnięto z piśmiennictwa [26, 27, 28, 29, 30, 31, 32].

## WYNIKI

### Polimorfizm genu warunkującego syntezę transportera dopaminy *DAT 1*

Nie stwierdzono zależności między genotypem *DAT1* a wartościami SAS i SDS

w całej grupie probandów z ZZA, jak również w wydzielonych w oparciu o cechy kliniczne homogennych podgrupach osób uzależnionych.

### Polimorfizm DRD2 Taq IA

Genotyp T/T (A1/A1) stwierdzono tylko u 1 probanda, u którego wynik samooceny depresji mierzony skalą SDS wynosił 36 pkt. Najwyższe wartości depresyjności w skali SDS uzyskiwali probandzi z genotypem T/C (A1/A2) – 47 pkt., nie osiągając jednak poziomu istotności statystycznej. Stwierdzono nadto niższe wyniki w skali SDS u probandów z genotypem C/C (A2/A2), u których występowały cechy osobowości dysocjalnej – 41 pkt. ( $p=0,008$ ), z typem I alkoholizmu wg Cloningera – 46 pkt. ( $p=0,019$ ) oraz u probandów, u których uzyskano wynik CIWA ( $>20$  pkt.) stanowiący bezwzględne wskazania do leczenia zespołu abstynencyjnego – 45 pkt. ( $p=0,002$ ), w porównaniu do osób z genotypem T/C (A1/A2).

### Polimorfizm DRD2 egzon 8

W podgrupie osób z obciążeniem rodzinnym alkoholizmem probandzi z genotypem A/A zgłaszali wyższe wyniki samooceny depresji – 48 pkt., niż probandzi heterozygotyczni A/G – 44 pkt. ( $p=0,015$ ). U probandów z genotypem A/A, u których stwierdzono wynik CIWA  $>20$  pkt., stanowiący bezwzględne wskazanie do leczenia zespołu abstynencyjnego, pojawił się trend do występowania wyższych wyników samooceny depresji mierzonych skalą SDS – 48 pkt. ( $p=0,074$ ).

### Polimorfizm DRD2 ins/del

Nie stwierdzono zależności między genotypem DRD2 regionu promotora ins/del a wartościami SAS i SDS w całej grupie probandów z ZZA, jak również w wydzielonych w oparciu o cechy kliniczne homogennych podgrupach osób uzależnionych.

### Polimorfizm genu transportera serotoniny 5HTT

Probandzi z genotypem s/s uzyskali w skali SAS  $47\pm 11$  pkt., probandzi z genotypem L/s –  $39\pm 7$  pkt., probandzi z genotypem L/L –  $43\pm 7$  pkt. Wyniki te różnią się od siebie istotnie statystycznie ( $p=0,005$ ). W skali SDS nie obserwowano istotnych statystycznie różnic między grupami probandów z różnymi genotypami.

Stwierdzono wyższe wyniki skali SAS u probandów z genotypem s/s w porównaniu do osób z genotypem L/s i L/L w następujących homogennych podgrupach:

- z wczesną utratą kontroli picia – odpowiednio  $48\pm 11$  pkt. vs.  $39\pm 7$  pkt. vs.  $44\pm 8$  pkt. ( $p=0,015$ );
- z cechami *heavy drinkers* – odpowiednio  $45\pm 12$  pkt. vs.  $39\pm 6$  pkt. vs.  $44\pm 7$  pkt. ( $p=0,039$ );
- z typem II ZZA wg Cloningera – odpowiednio 55 pkt. (1 proband) vs.  $38\pm 5$  pkt. vs.  $41\pm 6$  pkt. ( $p=0,022$ );
- z typem I ZZA wg Cloningera – odpowiednio  $47\pm 11$  pkt. vs.  $40\pm 7$  pkt. vs.  $44\pm 8$  pkt. ( $p=0,042$ );
- z wynikiem CIWA  $>20$  pkt. – odpowiednio  $53\pm 7$  pkt. vs.  $39\pm 6$  pkt. vs.  $45\pm 7$  pkt. ( $p=0,002$ );

### Polimorfizm genu warunkującego syntezę MAO A

Nie stwierdzono zależności między genotypem MAO A u mężczyzn i u kobiet a wartościami SAS i SDS w całej grupie probandów z ZZA, jak również w wydzielonych w oparciu o cechy kliniczne homogennych podgrupach osób uzależnionych.

### Polimorfizm genu warunkującego syntezę COMT

Nie stwierdzono zależności między genotypem COMT a wartościami SAS i SDS w całej grupie probandów z ZZA, jak również w wydzielonych w oparciu o cechy kliniczne homogennych podgrupach osób uzależnionych.

## OMÓWIENIE

Na cechy kliniczne uzależnienia od alkoholu składają się wpływy środowiska oraz wielu różnych genów. Zasadnicze znaczenie dla wykrycia efektu działania pojedynczego genu w chorobie, której związek z odpowiednim genotypem jest nieznanym, ma podejście badawcze zmierzające do uzyskania bardziej homogennych podgrup probandów, charakteryzujących się pojedynczą, ściśle określoną cechą. Wybierając strategię fenotypowo-genotypową, wyodrębniono homogenne grupy osób uzależnionych, zakładając, że efekt działania genu powinien być silniej zaakcentowany w tak dobranych podgrupach osób z ZZA. W badaniu naszym wydzielono homogenne podgrupy probandów z ZZA (tabl. 4).

### Polimorfizm genu transportera dopaminy *DAT1* (*SLC6A3*)

Kluczową rolę w regulacji neurotransmisji dopaminergicznej odgrywa transporter dopaminy (*DAT1*) poprzez wpływ na synaptyczny wychwyt zwrotny tej aminy. Główną czynnością nośnika dopaminy jest usuwanie dopaminy z synapsy, osłabiona czynność dopaminergiczna może być więc spowodowana albo wzmożoną czynnością transportera, albo zwiększoną gęstością transportera w wyniku nadmiernej ekspresji genu *DAT1*. Probandzi homozygotyczni dla allele 10 VNTR wykazują znacząco niższą zdolność wiązania dopaminy niż probandzi posiadający allel 9 VNTR [33]. Wyniki badań Heinza i wsp. sugerują, że polimorfizm VNTR genu *DAT* ma wpływ na translację białka. Efekt ten może wyjaśniać mnogość klinicznych powiązań tego transportera [34]. Wykazano związek pomiędzy polimorfizmem *DAT* a ciężkością alkoholowego zespołu abstynencyjnego i biodostępnością transportera dopaminy [35].

Gomez-Casero i wsp. nie wykazali związku badanego polimorfizmu *DAT* z zaburzeniami afektywnymi dwubiegunowymi [36]. Podobnie Hamilton i wsp. [37] nie znaleźli związku tego polimorfizmu z zaburzeniami lękowymi. W naszych badaniach również nie

wykazano związku tego polimorfizmu z lękowością i depresyjnością.

### Polimorfizmy genu receptora dopaminy *DRD2*

W 1990 r. doniesiono o związku pomiędzy uzależnieniem od alkoholu a polimorfizmem tranzycja T → C (tymina → cytozyna) w niekodującym regionie genu *DRD2* Taq 1A [38]. Potwierdzono tendencję do częstszego występowania allele A1 w grupie uzależnionych od alkoholu w stosunku do grupy kontrolnej [29]. Serretti i wsp. [39] oraz Furlong i wsp. [40] nie wykazali związku wariantów polimorficznych genu *DRD2* z zaburzeniami afektywnymi, podczas gdy Huang i wsp. [41] zaobserwowali związek polimorfizmów genu *DRD2* z zespołem lękowo-depresyjnym w przebiegu ZZA, ale nie z „czystym” alkoholizmem bez zespołu lękowo-depresyjnego, czy z „czystym” zespołem lękowo-depresyjnym u osób bez ZZA. Uzyskane przez nas wyniki są zbliżone do wyników Huang i wsp. – związek badanego polimorfizmu z depresyjnością stwierdzono tylko w homogennych podgrupach osób uzależnionych od alkoholu.

Kolejnym polimorfizmem w obrębie genu receptora dopaminy *DRD2* jest polimorfizm A → G (adenina → guanina) w egzonie 8. Ma on wpływ na ekspresję genu *DRD2* [42]. Średnie wyniki SAS uzyskane w badanej przez nas grupie znajdowały się w przedziale patologii związanej z zaburzeniami lękowymi (średnia w całej grupie – 41,8), średnie wyniki SDS znajdowały się w przedziale zaburzeń depresyjnych (średnia w całej grupie – 46,5).

Finckh stwierdził częstsze próby samobójcze, poważniejsze objawy abstynencyjne i większą nawrotowość picia u homozygot A/A [28], a Lucht – wyższy poziom lęku i depresyjności w czasie detoksykacji u alkoholików z genotypem A/A [43]. W odróżnieniu od badania Samochowca [44], przeprowadzonego na niemieckiej populacji osób z ZZA, w którym stwierdzono trend do wystąpienia związku polimorfizmu genu *DRD2* i jego haplotypów z występowaniem depresji i większej liczby prób samobójczych, w naszym

badaniu zależności takiej nie stwierdzono dla całej populacji osób z ZZA. W podgrupie osób z obciążeniem rodzinnym alkoholizmem probandzi z genotypem A/A zgłaszali wyższe wyniki samooceny depresji. Zaobserwowano również trend do występowania wyższych wyników samooceny depresji u probandów z genotypem A/A i CIWA > 20 pkt., co zgodne jest z wcześniejszymi badaniami [2, 28, 43, 44]. Probandzi z genotypem G/G należący do typu II alkoholizmu wg Cloningera, uzyskiwali wyższe wyniki samooceny lęku mierzone skalą SAS ( $p=0,036$ ) oraz podawali wyższe wyniki samooceny depresji mierzone skalą SDS ( $p=0,002$ ). W dostępnym nam piśmiennictwie nie znaleziono danych do zweryfikowania ww. wyników.

Polimorfizm – 141C ins/del zlokalizowany jest w obrębie promotora genu receptora dopaminy D2 (DRD2). Allel 141C ins ma większą funkcjonalną aktywność niż allel 141C del. Część prac potwierdza związek ww. polimorfizmu z alkoholizmem, np. badanie przeprowadzone na 209 Japończykach uzależnionych od alkoholu wykazało związek tego polimorfizmu z ZZA. Allel ins był znacząco częstszy wśród osób uzależnionych [29]. Wyniki te nie są jednoznaczne [45]. W naszych badaniach nie stwierdzono zależności między genotypem DRD2 regionu promotora ins/del a wartościami SAS i SDS w całej grupie probandów z ZZA, jak również w wydzielonych w oparciu o cechy kliniczne homogennych podgrupach osób uzależnionych, co jest zgodne z wynikami badań przeprowadzonych na populacji niemieckiej [2, 46].

Pojawiły się spekulacje na temat roli przekąźnictwa dopaminergicznego w „dobrostanie”. Dyskusyjnym w świetle danych z piśmiennictwa jest, w jakim stopniu depresyjność i lękowość, mierzone skalami SAS i SDS, odpowiadają za coś takiego, jak „radość” lub „dobrostan”. Z badań porównawczych u bliźniąt jedno- i dwujajowych wiadomo, że stała składowa tzw. „dobrostanu”, czyli dobrego samopoczucia psychofizycznego, definiowanego m.in. brakiem lęku i depresji, dziedziczy się w 80% [11, 47].

Uzyskane wyniki dotyczące genów układu dopaminergicznego pozwalają mniemać, że badane polimorfizmy DRD2 wywierają wpływ na wymienione cechy, aczkolwiek ich nie determinują.

### **Polimorfizm genu transportera serotoniny 5HTT (SLC6A4)**

Transporter serotoniny jest bezpośrednio związany z regulacją aktywności serotoninerгіcznej w o.u.n. poprzez wpływ na wychwyty zwrotny serotoniny [30, 48]. W obrębie promotora genu 5HTT wykryto funkcjonalny polimorfizm polegający na insercji bądź delecji 44 pz w regionie promotora genu, co skutkuje powstaniem allele L (długiego) lub allele s (krótkiego) [49]. Allel s powoduje powstanie transportera o mniejszej aktywności niż allel L, co wpływa na mniejszy wychwyty zwrotny serotoniny [30].

Wykazano, że impulsywne zachowania agresywne oraz skłonności samobójcze związane są z niskim poziomem transmisji serotoninerгіcznej [50]. Allel „s” związany był w badaniach Preussa i wsp. z zachowaniami samobójczymi u osób uzależnionych od alkoholu [51], a w badaniach Hallikainen i wsp. [52] – z zachowaniami agresywnymi u osób z typem II alkoholizmu wg Cloningera. Wykazano także związek tego allele z zaburzeniami afektywnymi [53], lękiem [54] i zachowaniami samobójczymi w populacji osób nieuzależnionych [55]. Dane dotyczące asocjacji polimorfizmu genu 5HTT są jednakże kontrowersyjne. Z metaanalizy wykonanej przez Schinka i wsp. wynika brak związku między allele s a lękowymi cechami osobowości oprócz neurotyzmu mierzonego skalą NEO-FFI [56]. Brak związku zaburzeń lękowych z kręgu fobijnego z polimorfizmem genu 5HTT stwierdzili także Samochowiec i wsp. [57].

W naszym badaniu probandzi z genotypem s/s uzyskiwali wyższe wyniki w skali SAS. Podobne zależności uzyskaliśmy u osobników z genotypem s/s, należących do homogennych podgrup probandów. W dostępnym piśmiennictwie nie ma danych na temat tego



rodzaju badań wykonanych na populacji osób uzależnionych od alkoholu.

### **Polimorfizm genu warunkującego syntezę monoaminooksydazy A (MAO A)**

Monoaminooksydaza A odgrywa znaczącą rolę w degradacji serotoniny, noradrenaliny, dopaminy w obrębie o.u.n. W badaniach na myszach *knock-out* (pozbawionych genu) dla genu MAO A wykazano, że występuje w ich mózgu podwyższony poziom tych amin biogennych. Myszy te ujawniają zachowania agresywne [58]. Geny dla MAO A i MAO B zlokalizowane są na chromosomie X (Xp11.23). Z tego też powodu w aktualnej pracy oceniano związek genotypów z cechami psychobiologicznymi osobno dla każdej płci.

Badany w tej pracy polimorfizm regionu promotora genu kodującego MAO A polega na różnej ilości (2–5) powtórzeń (VNTR) odcinka 30 pz. Allele z 3 i 4 powtórzeniami są najczęstsze. Allel z 3 VNTR ma pięciokrotnie mniejszą zdolność transkrypcyjną niż allele z większą ilością powtórzeń, co skutkuje mniejszą aktywnością enzymatyczną powstającego białka [31, 59]. W pracy naszej dokonaliśmy analiz jedynie dla alleli 3 VNTR oraz 4 VNTR ze względu na bardzo małą liczebność grupy osób z allelami > 4 VNTR.

Kilka badań potwierdziło związek między różnymi polimorfizmami MAO A a uzależnieniem od środków psychoaktywnych [60, 61, 62, 63].

W badaniu Schmidta i wsp. kobiety uzależnione od alkoholu z zaburzeniami lękowymi i depresyjnymi wykazywały trend do mniejszej częstości genotypu 3 VNTR w stosunku do kobiet uzależnionych bez towarzyszących zaburzeń lękowych i depresyjnych (29% vs. 53%) [64]. W naszym badaniu nie zaobserwowano takiej zależności, gdyż osoby przez nas badane miały wprawdzie podwyższony poziom lękowości i depresyjności, ale nie spełniały kryteriów diagnostycznych zaburzeń depresyjnych i lękowych wg ICD-10.

Z badań Samochowca wynika, że poziom depresji u pacjentów z ZZA nie wiąże się z wariantami polimorfizmu MAO A zarówno

w całej grupie probandów, jak i u znajdujących się wśród nich probandów z osobowością typu dysocjalnego, co zgodne jest z uzyskanymi przez nas wynikami [2]. Parsian i Cloninger stwierdzili zaś asocjację między wariantami polimorficznymi MAO A i typem II alkoholizmu wg Cloningera, zaznaczając jednocześnie, że efekt działania tych genów jest niewielki [65].

### **Polimorfizm genu warunkującego syntezę katecholo-tleno-metylotransferazy (COMT)**

Katecholo-O-metylotransferaza jest istotnym enzymem szlaków metabolicznych neurotransmiterów, takich jak dopamina, adrenalina i noradrenalina w szczelinie synaptycznej. Enzym występuje w dwóch formach – o wysokiej i niskiej aktywności. Nawet trzy-czterokrotnie niższa aktywność enzymatyczna warunkowana jest podstawieniem G→A, co skutkuje substytucją Val→Met [66].

Henderson i wsp. przebadali 2327 osobników rasy kaukaskiej i nie stwierdzili związku pomiędzy polimorfizmem genu COMT a zaburzeniami lękowymi, depresją i nadużywaniem alkoholu [67]. Do analogicznych wyników doszli Russ i wsp. [68], co pozostaje w zgodzie z naszymi wynikami.

## **WNIOSEK**

Uzyskane wyniki uzasadniają hipotezę biologicznego uwarunkowania indywidualnego obrazu klinicznego ZZA.

## **PIŚMIENNICTWO**

1. Maisto S, Galizio M, Connors G. Uzależnienia, zazywanie i nadużywanie. Warszawa: Karan; 2000: 185–229.
2. Samochovec J. Molekularno-biologiczne mechanizmy zespołu zależności alkoholowej. Aachen: Shaker Verlag; 1999.
3. [www.stat.gov.pl/publikacje/demogr/stan-zdrowia-lu.htm](http://www.stat.gov.pl/publikacje/demogr/stan-zdrowia-lu.htm).

4. Cloninger C, Begleiter H. Genetics and biology of alcoholism. 33 Banbury Report. Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1990: 105–29.
5. Lander E, Schork N. Genetic dissection of complex traits. *Science* 1994; 203: 47–47.
6. Gorwood P. Contribution of genetics to the concept of risk status for alcohol dependence. *J Soc Biol* 2000; 194 (1): 43–9.
7. Merikangas K. The genetic epidemiology of alcoholism. *Psychol Med* 1990; 20: 11–22.
8. Schuckit M. Clinical model of genetic influences in alcohol dependence. *J Stud Alcohol* 1994; 55: 5–16.
9. Bartosik A, red. Alkohol a zdrowie: Typologia alkoholizmu. *PARPA* 2000; 24: 7–44.
10. Rounsaville B, Dolinsky Z, Babor T, Meyer R. Psychopathology as a predictor of treatment outcome in alcoholics. *Arch Gen Psychiatry* 1987; 44: 505–13.
11. Corbisiero J, Rozenikoff M. The relationship between personality type and style of alcohol use. *J Clin Psychol* 1991; 47 (2): 291–8.
12. Nerviano V. Common personality patterns among alcoholics males: A multivariate study. *J Clin Psychol* 1976; 44: 104–10.
13. Heinz A, Goldman D. Genotype effects on neurodegeneration and neuroadaptation in monoaminergic neurotransmitter systems. *Neurochem Int* 2000; 37 (5–6): 425–32.
14. Comings D, Blum K. Reward deficiency syndrome: genetic aspects of behavioral disorders. *Prog Brain Res* 2000; 126: 325–41.
15. Vandenbergh D, Persico A, Hawkins A, Griffin C, Li X, Jabs E. Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. *Genomics* 1992; 14: 1104–6.
16. Matsumoto I, Wilce P, Buckley T, Dodd P, Puzke J, Spanagel R, Zieglerberger W, Wolf G, Leng S, Rommelspacher H, Finckh U, Schmidt L. Ethanol and gene expression in brain. *Alc Clin Exp Res* 2001; 25: 82S–6S.
17. Robins L, Wing J, Wittchen H, Helzer J, Babor T, Burke J, Farmer A, Jablenski A, Pickens R, Riegl D. The Composite International Diagnostic Interview: an epidemiologic instrument suitable for use in conjunction with different diagnostic systems and in different cultures. *Arch Gen Psychiatry* 1988; 45: 1069–77.
18. Klasyfikacja zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania w ICD-10. Opisy kliniczne i wskazówki diagnostyczne. Kraków–Warszawa: Uniw Wyd Med „Vesalius”, Instytut Psychiatrii i Neurologii; 1997: 69–79.
19. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Fourth edition. Washington DC: American Psychiatric Association; 1994: 176–205.
20. Zung W. SAS Selbstbeurteilungen – Angst – Skala. W: Collegium Internationale Psychiatriae Scalarum. Ed. Internationale Skalen fuer Psychiatrie. Weinheim: Beltz; 1986.
21. Zung W. SDS Selbstbeurteilungen – Depression – Skala. W: Collegium Internationale Psychiatriae Scalarum. Ed. Internationale Skalen fuer Psychiatrie. Weinheim: Beltz; 1986.
22. Sullivan J, Sykora K, Schneiderman J, Naranjo C, Sellers E. Assessment of alcohol withdrawal: the revised clinical institute withdrawal assessment for alcohol scale (CIWA-Ar). *Br J Addic* 1989; 84: 1353–7.
23. Miller S, Dykes D, Plesky H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acids Res* 1988; 16: 1215.
24. Brown T. *Genom*. Warszawa: Wyd Nauk PWN; 2001: 18–44.
25. Statistical package for social sciences. Version 9.0, SSPS for Windows. RzK GMBH Asbach; 1999.
26. Sander T, Harms H, Podschus J, Finckh U, Nickel B, Rolfs A, Rommelspacher H, Schmidt LG. Allelic association of a dopamine transporter gene polymorphism in alcohol dependence with withdrawal seizures or delirium. *Biol Psychiatry* 1997; 41: 299–304.
27. Grandy D, Marchionni M, Makam H, Civelli O. Cloning of the cDNA and gene for a human D<sub>2</sub> dopamine receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 9762–6.
28. Finckh U, Rommelspacher H, Kuhn S, Dufeu P, Otto G, Heinz A, Dettling M, Giraldo-Velasquez M, Pelz J, Graf K, Harms H, Sander T, Schmidt L, Rolfs A. Influence of the dopamine D2 receptor (DRD2) genotype on neuroadaptive effects of alcohol and the clinical outcome of alcoholism. *Pharmacogenetics* 1997; 7: 271–81.
29. Ishiguro H, Arinami T, Saito T, Akazawa S, Enomoto M, Mitushio H, Fujishiro H, Tada K, Akimoto Y, Shibuya H. Association study between the –141C Ins/Del and Taq IA polymorphism of the dopamine D2 receptor gene and alcoholism. *Alc Clin Exp Res* 1998; 4: 845–8.
30. Lesch K, Bengel D, Heils A, Sabol S, Greenberg B, Petri S, Benjamin J, Muller C, Hamer D, Murphy D. Association of anxiety-related traits

- with a polymorphism in the Serotonin Transporter Gene Regulatory Region. *Science* 1996; 274: 1483–7.
31. Sabol S, Hu S, Hamer D. A functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter. *Hum Genet* 1998; 103: 273–9.
  32. Daniels J, Williams N, Williams J, Jones L, Cardno A, Murphy K, Spurlock G, Riley B, Scambler P, Asherson P, McGuffin P, Owen M. No evidence for allelic association between schizophrenia and a polymorphism determining high or low catechol-O-methyltransferase activity. *Am J Psychiatry* 1996; 153: 268–70.
  33. Jacobsen L, Staley J, Zoghbi S, Selbyl J, Kosten T, Innis R, Gelernter J. Prediction of dopamine transporter binding availability by genotype: a preliminary report. *Am J Psychiatry* 2000; 157: 1700–3.
  34. Heinz A, Goldman D, Jones D, Palmour R, Hommer D, Gorey J, Lee K, Linnoila M, Weinberger D. Genotype influences in vivo dopamine transporter availability in human striatum. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22: 133–9.
  35. Heinz A, Goldman D, Gallinat J, Schumann G, Puls I. Pharmacogenetic insights to monoaminergic dysfunction in alcohol dependence. *Psychopharmacology* 2004; 174: 561–70.
  36. Gomez-Casero E, Perez de Castro I, Saiz-Ruiz J, Luneres C, Fernandez-Piqueras J. No association between particular *DRD3* and *DAT1* gene polymorphisms and manic-depressive illness a Spanish sample. *Psychiatr Genet* 1996; 6: 209–12.
  37. Hamilton SP, Haghigi F, Heiman GA, Klein DF, Hodge SE, Fyer AJ, Weissman MM, Knowles JA. Investigation of dopamine receptor (*DRD4*) and dopamine transporter (*DAT*) polymorphisms for genetic linkage or association to panic disorder. *Am J Med Genet* 2000; 96: 324–30.
  38. Blum K, Noble N, Sheridan P, Montgomery A, Richie T, Jagadeeswaran P, Nogami H, Briggs A, Cohn J. Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *JAMA* 1990; 263: 2055–60.
  39. Seretti A, Smeraldi E. Dopamine D2 receptor gene not associated with symptomatology of mood disorders. *Am J Med Genet* 1999; 88: 294–7.
  40. Furlong R, Coleman T, Ho L, Rubinsztein J, Walsh C, Paykel E, Rubinsztein D. No association of a functional polymorphism in the dopamine D2 receptor promoter region with bipolar or unipolar affective disorders. *Am J Med Genet* 1998; 81: 385–7.
  41. Huang S, Lin W, Ko H, Lee J, Wang T, Chou Y, Yin S, Lu R. Possible interaction of alcohol dehydrogenase genes with the dopamine D2 receptor gene in anxiety – depressive alcohol dependence. *Alc Clin Exp Res* 2004; 28: 374–84.
  42. Muramatsu T, Higuchi S. Dopamine transporter gene polymorphism and alcoholism. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 211: 28–32.
  43. Lucht M, Kuehn K, Schroeder W, Armbruster J, Abraham G, Schattenger A, Gaensicke M, Barnow S, Tretzel H, Herrmann F, Freyberger H. Influence of the dopamine D2 receptor (*DRD2*) exon 8 genotype on efficacy of tiapride and clinical outcome of alcohol withdrawal. *Pharmacogenetics* 2002; 11: 647–53.
  44. Samochowiec J, Ladehoff M, Pelz J, Smolka M, Schmidt L, Rommelspacher H, Finckh U. Predominant influence of the 3'-region of dopamine D2 receptor gene (*DRD2*) on the clinical phenotype in German alcoholics. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 471–5.
  45. Parsian A, Cloninger C, Zhang Z. Functional variant in the *DRD2* receptor promoter region and subtypes of alcoholism. *Am J Med Genet* 2000; 96: 407–11.
  46. Sander T, Ladehoff M, Samochowiec J, Finckh U, Rommelspacher H, Schmidt L. Lack of an allelic association between polymorphisms of the dopamine D2 receptor gene and alcohol dependence in the German population. *Alc Clin Exp Res* 1999; 23: 578–81.
  47. Lykken D, Tellegen A. Happiness is a stochastic phenomenon. *Psychol Sci* 1996; 7: 186–9.
  48. Lesch K, Wolozin B, Estler H, Murphy D, Riederer P. Isolation of a cDNA encoding the human brain serotonin transporter. *J Neural Transm* 1993; 91: 67–72.
  49. Heils A, Teufel A, Petri S, Stober G, Riederer P, Bengel D, Lesch KP. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J Neurochem* 1996; 66: 2621–4.
  50. Mann J. The neurobiology of suicide. *Nat Med* 1998; 4: 25–30.
  51. Preuss U, Koller G, Soyka M, Bondy B. Association between suicide attempts and *5HTTLPR-S*-allele in alcohol dependent and control subjects: further evidence from a German alcohol-dependent inpatient sample. *Biol Psychiatry* 2001; 50: 863–9.

52. Hallikainen T, Saito T, Lachman H, Volavka J, Pohjalainen T, Ryyanen OP, Kauhanen J, Syvalahti E, Hietala J, Tiihonen J. Association between low activity serotonin transporter promoter genotype and early onset alcoholism with habitual impulsive violent behavior. *Mol Psychiatry* 1999; 4: 385–8.
53. Collier D, Stoeber G, Li T, Heils A, Catalano M, Di Bella D. A novel functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene: possible role in susceptibility to affective disorders. *Mol Psychiatry* 1996; 1: 453–60.
54. Mazzanti C, Lappalainen J, Long J, Bengel D, Naukarinen H, Eggert M. Role of the serotonin transporter promoter polymorphism in anxiety related traits. *Arch Gen Psychiatry* 1998; 55: 936–40.
55. Courtet P, Baud P, Abbar M, Boulenger J, Castelnau D, Mouthon D, Malafosse A, Buresi C. Association between violent suicidal behavior and the low activity of the serotonin transporter gene. *Mol Psychiatry* 2001; 6: 338–41.
56. Schinka J, Busch R, Robichaux-Keene N. A meta-analysis of the association between the serotonin transporter gene polymorphism (5HTTLPR) and trait anxiety. *Mol Psychiatry* 2004; 9: 197–202.
57. Samochowiec J, Hajduk A, Samochowiec A, Horodnicki J, Stępień G, Grzywacz A, Kucharska-Mazur J. Association studies of MAO-A, COMT, and 5HTT genes polymorphisms in patients with anxiety disorders of the phobic spectrum. *Psychiatry Res* 2004 (w druku).
58. Parsian A. Sequence analysis of exon 8 of MAO-A gene in alcoholics with antisocial personality and normal controls. *Genomics* 1999; 55: 290–5.
59. Deckert J, Syagailo Y, Modlich O, Noethen M, Franke P, Maier W, Beckmann H, Propping P, Lesch K. Evidence for association of an MAO A promoter polymorphism with panic disorder in female patients. *Am J Med Genet* 1998; 81: 514.
60. Gade R, Muhleman D, Blake H, MacMurray J, Johanson P, Verde R, Saucier G, Comings DE. Correlation of length of VNTR alleles at the X-linked MAO A gene and phenotypic effect in Tourette syndrome and drug abuse. *Mol Psychiatry* 1998; 3: 50–60.
61. Hsu Y-P, Loh EW, Chen WJ, Chen C-C, Yu J-M, Cheng ATA. Association of monoamine oxidase A alleles with alcoholism Among male Chinese in Taiwan. *Am J Psychiatry* 1996; 153: 1209–11.
62. Parsian A, Suarez B, Tabakoff B, Cloninger C. Monoamine oxidases and alcoholism I: studies of unrelated alcoholics and normal controls. *Am J Med Genet* 1995; 60: 409–16.
63. Vanyukow M, Moss H, Yu L, Deka R. Preliminary evidence for an association of a dinucleotide repeat polymorphism at the MAO A gene with early onset alcoholism/substance abuse. *Am J Med Genet* 1995; 60: 122–6.
64. Schmidt L, Sander T, Kuhn S, Smolka M, Rommelspacher H, Samochowiec J, Lesch K. Different allele distribution of a regulatory MAO A gene promoter polymorphism in antisocial and anxious-depressive alcoholics. *J Neural Transm* 2000; 107: 681–9.
65. Parsian A, Cloninger R. Serotonergic pathway genes and subtypes of alcoholism: association studies. *Psychiatr Genet* 2001; 11: 89–94.
66. Ishiguro H, Haruo Shibuya T, Toru M, Saito T, Arinami T. Association study between high and low activity polymorphism of catechol-O-methyltransferase gene and alcoholism. *Psychiatr Genet* 1999; 9: 135–8.
67. Henderson A, Korten A, Jorm A, Jacomb P, Christensen H, Rodgers B. COMT and DRD3 polymorphisms, environmental exposures and personality traits related to common mental disorders. *Am J Med Genet* 2000; 96: 102–7.
68. Russ M, Lachman H, Kashdan T, Saito T, Bajmakovic-Kacila S. Analysis of catechol-O-methyltransferase and 5-hydroxytryptamine transporter polymorphisms in patients at risk for suicide. *Psychiatry Res* 2000; 93: 73–8.

*Adres: Dr Justyna Pełka-Wysiecka, Katedra i Klinika Psychiatrii Pomorskiej Akademii Medycznej, ul. Broniewskiego 26, 71-460 Szczecin, e-mail: wysiecki@wp.pl*