

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

« Γενετική προδιάθεση και εθισμός στο αλκοόλ. »

NANOY ΚΡΙΣΤΙ
ΧΗΜΙΚΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Παπαθανασίου Ιωάννα, Επικ. Καθηγ. Ιατρικής Βιολογίας.....(Επιβλέπουσα)
Τσέζου Ασπασία, Καθηγήτρια Ιατρ. Γενετικής.....(Μέλος Τριμελούς
Επιτροπής)
Τραχανά Βαρβάρα, Επικ. Καθηγ. Κυτταρικής Βιολογίας.....(Μέλος Τριμελούς
Επιτροπής)

ΛΑΡΙΣΑ, 2024

CELLGENETICS AND MOLECULAR GENETICS LAB

**MASTER OF SCIENCE PROGRAM
«HUMAN GENETICS»**

THESIS

« Genetic predisposition in alcohol addiction. »

NANOOU KRISTI

CHEMIST

THREE MEMBER COMMITTEE

Papathanasiou Ioanna, Assistant Professor of Medical Biology..... (Supervisor)

Tsezou Aspasia, Professor of Medicine. Genetics..... (Member of a
Three-Member Committee)

Trahana Varvara, Assistant Professor of Cell Biology.....(Member of the
Three-Member Committee)

LARISA, 2024

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στην επιβλέπουσα καθηγήτρια, Ιωάννα Παπαθανασίου για την άμεση ανάληψη του ρόλου και την καθοδήγηση που μου παρείχε, παρά το γεγονός ότι δεν είχαμε την ευκαιρία να συνεργαστούμε. Η κατανόηση και η υποστήριξή της κατά τη διάρκεια των τελευταίων σταδίων της εργασίας υπήρξαν πολύτιμες και εκτιμώ βαθύτατα τη συνεισφορά της στην επιτυχή ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης. Δεδομένων των στενών χρονικών περιθωρίων κατά τα οποία την προσέγγισα, η αμεσότητα που υπέδειξε στην επικοινωνία και ανταπόκριση στην αξιολόγηση του κειμένου είναι άξια αναφοράς και εκτίμησης.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, Τσέζου Ασπασία και Τραχανά Βαρβάρα, για τη συμμετοχή τους στη διαδικασία αξιολόγησης της εργασίας μου. Ιδιαίτέρως την κα Τσέζου που είχα την τιμή να συναναστραφώ εκτενέστερα, κατά τη διάρκεια του προγράμματος όπου η ευγένεια της και η καθοδήγηση λειτούργησαν με καταλυτικό τρόπο στην διεκπαιρέωση αυτής της εργασίας.

Ευχαριστώ θερμά την κα Φωτεινή Παπουτσόγλου για τη συνεχή ανατροφοδότηση και την έγκαιρη ενημέρωση που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες απευθύνω στην οικογένεια μου, τους φίλους και συναδέλφους μου οι οποίοι στάθηκαν δίπλα μου σε όλη τη διάρκεια αυτής της προσπάθειας, προσφέροντάς μου υποστήριξη και ενθάρρυνση. Η συμβολή τους όχι μόνο με βοήθησε να συνεχίσω, αλλά και να αντιληφθώ πόσο σημαντικό είναι να ολοκληρώσω αυτή την προσπάθεια. Η στήριξη συγκεκριμένων ανθρώπων ήταν συγκινητική και καθοριστική για την ολοκλήρωση της εργασίας μου.

1. Πίνακας περιεχομένων	
1.1. Πίνακας περιεχομένων	2
1. Περίληψη	5
2. Εισαγωγή	7
2.1. Επιδημιολογία της Διαταραχής Χρήσης Αλκοόλ (AUD)	7
2.2. Διαφοροποιήσεις στην κατανάλωση αλκοόλ και τις επιπτώσεις της: Ρόλος του Φύλου, της Εθνικότητας και της Κοινωνικοοικονομικής Κατάστασης	8
2.3. Αντιμετώπιση του προβλήματος της κατάχρησης αλκοόλ και κοινωνικές συνέπειες	10
3. Γενετική της Διαταραχής χρήσης αλκοόλ	12
3.1. Γονίδια <i>ADH1B</i> και <i>ALDH2</i>	13
3.2. Γονίδια που σχετίζονται με τη νευροδιαβίβαση	14
3.3. Γονίδια που σχετίζονται με τον έλεγχο της κατανάλωσης αλκοόλ	16
3.4. Εισαγωγή στη μεθοδολογία GWAS	18
3.4.1. Ο εντοπισμός γονιδίων μέσω GWAS, καθιστά τη γενετική βάση του αλκοολισμού πολυπαραγοντική	20
3.4.2. Εφαρμογή των GWAS στην κατανόηση των Μοριακών Μηχανισμών της διαταραχής χρήσης αλκοόλ	25
3.4.2.1. CREB: Ένας κρίσιμος Μεταγραφικός Παράγοντας στην εξάρτηση από το αλκοόλ και την ανάπτυξη νευροπλαστικών μηχανισμών	26
3.4.2.2. Ο ρόλος των Μη Κωδικοποιημένων RNA στην προδιάθεση του αλκοολισμού	27
3.4.2.3. Ρύθμιση Γονιδιακής Έκφρασης μέσω microRNA	28
3.4.2.4. Η χρήση Γενετικής Τροποποίησης για τη λειτουργική ανάλυση Γενετικών Παραλλαγών GWAS	29
3.5. Ρύθμιση Μεταβολισμού μέσω των Υποδοχέων PPAR	30
3.6. Νευροβιολογικοί μηχανισμοί που επηρεάζουν την παρορμητικότητα και την αλκοολική συμπεριφορά	31

3.7. Χρησιμότητα ανάλυσης του βιοδείκτη CDT στη διάγνωση της κατάχρησης αλκοόλ.....	32
3.7.1. Επίδραση των γενετικών παραλλαγών στην αξιοπιστία του βιοδείκτη CDT και εξατομικευμένη ανάλυση.....	36
4. Ο ρόλος της επιγενετικής στην διαταραχή χρήσης αλκοόλ.	38
4.1. Μεθυλίωση του DNA.....	38
4.2. Κατανόηση των τροποποιήσεων στη μεθυλίωση του DNA, και πώς αυτές σχετίζονται με την κατάχρηση ουσιών όπως το αλκοόλ.....	39
4.3. Τροποποιήσεις Ιστονών	41
4.4. Μη Κωδικά RNAs (ncRNAs)	42
4.5. Μελέτες συσχέτισης επιγενετικών τροποποιήσεων και διαταραχής χρήσης αλκοόλ.....	43
5. Θεραπευτικές προσεγγίσεις για την διαταραχή χρήσης αλκοόλ.	48
5.1. Θεραπευτικές εφαρμογές για την διαταραχή χρήσης αλκοόλ.	48
5.2. Σύνδεση Μοριακών Ευρημάτων με Θεραπευτικούς Στόχους	50
5.2.1. Νευροανοσολογία και φλεγμονώδεις αποκρίσεις στην διαταραχή χρήσης αλκοόλ.....	50
5.2.2. Φαρμακευτική επανάχρησιμοποίηση και ανακάλυψη νέων θεραπειών	51
5.3. Ανάλυση Μονοκυττάρων (Single-Cell Sequencing) και Προσεγγίσεις Φαρμακευτικής Επανάχρησης (Drug Repurposing)	52
5.3.1. Γονιδιακή Θεραπεία με AAV για την διαταραχή χρήσης αλκοόλ.....	53
5.3. Εφαρμογές της CRISPR/Cas στη στοχευμένη παρέμβαση Μοριακών Μηχανισμών για την αντιμετώπιση της Διαταραχής Χρήσης Αλκοόλ	54
5.4. Φαρμακογονιδιωματική θεραπευτική προσέγγιση της διαταραχής χρήσης αλκοόλ.....	56
5.5. Η ρύθμιση της κατανάλωσης αλκοόλ μέσω του κυκλώματος FGF21-KLB υποδεικνύει νέα θεραπευτικά πεδία.	58
5.6. Ο ρόλος της Φαρμακογονιδιωματικής όσον αφορά τη θεραπεία με SSRIs..	60

6. Συμπεράσματα.....	64
7. Βιβλιογραφία	65

1. Περίληψη

Η Διαταραχή Χρήσης Αλκοόλ (AUD) είναι μια περίπλοκη και πολυπαραγοντική διαταραχή, η οποία συνεχίζει να αποτελεί παγκόσμια πρόκληση για τη δημόσια υγεία, συνδεδεμένη με σημαντικές κοινωνικοοικονομικές και κλινικές συνέπειες. Η παρούσα μελέτη συνθέτει και αναλύει τα πλέον πρόσφατα επιστημονικά ευρήματα που αφορούν τη γενετική και επιγενετική προδιάθεση στην AUD, εστιάζοντας στην εξέλιξη της έρευνας σε αυτόν τον τομέα. Οι Μελέτες Συσχέτισης Ολόκληρου του Γονιδιώματος (GWAS) έχουν αναδείξει κρίσιμες παραλλαγές σε γονίδια όπως τα ADH1B, ALDH2 και GABRA2, που εμπλέκονται στη ρύθμιση του μεταβολισμού της αιθανόλης και στη νευροδιαβίβαση, υπογραμμίζοντας τη γενετική βάση της προδιάθεσης στην εξάρτηση από το αλκοόλ. Η ανασκόπηση εξετάζει στους επιγενετικούς μηχανισμούς που τροποποιούν τη γονιδιακή έκφραση μέσω διεργασιών, καταδεικνύοντας πώς οι περιβαλλοντικοί παράγοντες αλληλεπιδρούν με το γονιδίωμα και ενισχύουν την ευαλωτότητα στην εξάρτηση. Η ενσωμάτωση των επιγενετικών δεδομένων στην ανάλυση της AUD είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση της πολυπλοκότητας της διαταραχής και των δυνατοτήτων θεραπευτικής παρέμβασης. Επιπλέον, η νευροβιολογική ανάλυση επικεντρώνεται στη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που επηρεάζουν τη συμπεριφορά κατανάλωσης αλκοόλ, την παρορμητικότητα και την εξάρτηση. Ειδικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι νευροανοσολογικές πτυχές της διαταραχής, παρέχοντας νέες προοπτικές για την ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών. Τέλος, αναλύονται διεξοδικά οι τρέχουσες θεραπευτικές προσεγγίσεις, εστιάζοντας στη φαρμακογονιδιωματική και φαρμακευτική επαναχρησιμοποίηση, οι οποίες προάγουν την εξατομίκευση της θεραπείας βάσει γενετικών δεδομένων. Η συνδυαστική ανάλυση των γενετικών, επιγενετικών και νευροβιολογικών παραγόντων καθιστά αυτή την έρευνα ιδιαίτερα επίκαιρη το 2024, καθώς προσφέρει ολοκληρωμένες γνώσεις για την ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπειών που ανταποκρίνονται στις ανάγκες των ασθενών με AUD. Η ενσωμάτωση των σύγχρονων τεχνολογιών, όπως η CRISPR/Cas9, ανοίγει νέες προοπτικές για την ανάπτυξη στοχευμένων παρεμβάσεων, μετατρέποντας τις προκλήσεις της AUD σε θεραπευτικά επιτεύγματα.

Abstract

Alcohol Use Disorder (AUD) is a multifaceted condition with significant genetic and environmental influences. This thesis provides an in-depth analysis of the genetic predisposition to (AUD), synthesizing findings from a broad range of scientific studies. Key genetic variants identified in Genome-Wide Association Studies (GWAS), such as *ADH1B*, *ALDH2*, and *GABRA2*, are explored for their roles in alcohol metabolism and neurotransmission. Additionally, epigenetic mechanisms, including DNA methylation and histone modifications, are examined in relation to their influence on gene expression linked to AUD. Environmental factors, such as socioeconomic conditions, interact with these genetic elements, contributing to the complexity of AUD's etiology. The thesis also delves into the functional implications of these genetic variants by reviewing experimental models and molecular approaches. While CRISPR/Cas9 technology is one of the tools discussed for its role in validating gene-function relationships, the scope of the analysis extends far beyond this method. This review encompasses a comprehensive examination of the biological pathways implicated in AUD. Notably, studies on *Neuropeptide Y* (NPY) and GABAA receptor subunits are highlighted for their critical roles in modulating alcohol consumption and tolerance, revealing potential targets for therapeutic intervention. Further, the analysis addresses neuroimmunological responses, particularly how immune system dysregulation may intersect with genetic predispositions to exacerbate AUD symptoms. Bioinformatics approaches are utilized to map these interactions, offering new insights into the molecular networks involved in the disorder. Moreover, the thesis considers the role of pharmacogenomics and drug repurposing in developing personalized treatment strategies for AUD, with a focus on identifying biomarkers that can guide targeted therapies.

In summary, this thesis presents a thorough exploration of the genetic and molecular underpinnings of AUD, drawing from a wide array of scientific evidence. The findings emphasize the importance of integrating genetic, epigenetic, and environmental data to better understand the mechanisms driving AUD, while also providing a foundation for future personalized medical approaches.

2. Εισαγωγή

Η κατάχρηση αλκοόλ και ο αλκοολισμός αποτελούν σημαντικά προβλήματα δημόσιας υγείας σε παγκόσμιο επίπεδο. Ο Magnus Huss, πρώτος επινόησε τον όρο «αλκοολισμός» για να περιγράψει τον εθισμό στο αλκοόλ, ορίζοντας τον ως την επίμονη και υπερβολική χρήση αλκοόλ παρά τις δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία και την κοινωνική ζωή (Morozova, Mackay and Anholt, 2014). Στη σύγχρονη ορολογία, ο όρος που χρησιμοποιείται πλέον είναι Alcohol Use Disorder (AUD), ο οποίος αναφέρεται σε ένα ευρύτερο φάσμα συμπεριφορών και συμπτωμάτων, που περιλαμβάνουν τη χρόνια χρήση αλκοόλ, την εξάρτηση και τις σωματικές ή ψυχολογικές επιπτώσεις της. Η ανάπτυξη της διαταραχής αυτής εξαρτάται από μια σειρά παραγόντων, όπως οι κοινωνικές και περιβαλλοντικές επιδράσεις, αλλά και γενετικούς παράγοντες.

2.1. Επιδημιολογία της Διαταραχής Χρήσης Αλκοόλ (AUD)

Η διαταραχή χρήσης αλκοόλ (Alcohol Use Disorder-AUD) αποτελεί μια πολυπαραγοντική, χρόνια και εκφυλιστική ψυχική διαταραχή, η οποία συνδέεται με υψηλή νοσηρότητα και θνησιμότητα. Η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ οδηγεί σε σημαντικές βλάβες σε βασικά όργανα όπως ο εγκέφαλος, το ήπαρ και το ανοσοποιητικό σύστημα, προκαλώντας καταστάσεις όπως λιπώδης διήθηση του ήπατος, αλκοολική ηπατίτιδα και κίρρωση (Morozova *et al.*, 2012). Η τοξικότητα του αλκοόλ αυξάνει τον κίνδυνο για διάφορους τύπους καρκίνου και καρδιαγγειακές παθήσεις, ενώ η υπερβολική κατανάλωση οδηγεί σε μειωμένη αντίληψη και αυξημένο κίνδυνο τραυματισμών ή θανάτου από ατυχήματα. Το 2013, η AUD κατατάχθηκε ως η 3η κύρια αιτία θανάτου στις ΗΠΑ, ενώ παγκοσμίως αποδίδονται στην κατάχρηση αλκοόλ περίπου 3 εκατομμύρια θάνατοι ετησίως, δηλαδή το 5,3% των συνολικών θανάτων (Iyer-Eimerbrink and Nurnberger, 2014; Edenberg, Gelernter and Agrawal, 2019). Η θνησιμότητα που σχετίζεται με τη διαταραχή χρήσης αλκοόλ (AUD) αποτελεί παγκόσμιο πρόβλημα, με σοβαρές επιπτώσεις τόσο εντός όσο και εκτός της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Στην Ευρώπη, η οποία έχει τη μεγαλύτερη κατά κεφαλήν κατανάλωση αλκοόλ παγκοσμίως, οι θάνατοι που αποδίδονται στο αλκοόλ φτάνουν περίπου τους 800.000 ετησίως, περιλαμβάνοντας θανάτους από τραυματισμούς,

αυτοκτονίες και χρόνιες ασθένειες όπως κίρρωση του ήπατος και καρκίνο (World Health Organization, WHO). Επιπλέον, το αλκοόλ είναι υπεύθυνο για το 25% των θανάτων στις ηλικίες 20-24, αναδεικνύοντας την επιβάρυνση στις νέες ηλικιακές ομάδες. Εκτός ΕΕ, σε χώρες όπως η Ρωσία και άλλες στην Κεντρική Ασία, η θνησιμότητα που σχετίζεται με το αλκοόλ παραμένει ιδιαίτερα υψηλή. Η Ρωσία, ειδικά, παρουσιάζει σημαντικό αριθμό θανάτων που αποδίδονται στην υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ, παρά τις πρόσφατες προσπάθειες μείωσης. Σύμφωνα με την έκθεση Global Burden of Disease του 2018, παρά τη μείωση της κατανάλωσης αλκοόλ σε ορισμένες περιοχές, η παγκόσμια κατά κεφαλήν κατανάλωση αναμένεται να αυξηθεί τα επόμενα 10 χρόνια, γεγονός που πιθανότατα θα αυξήσει την επιβάρυνση της υγείας.

2.2. Διαφοροποιήσεις στην κατανάλωση αλκοόλ και τις επιπτώσεις της: Ρόλος του Φύλου, της Εθνικότητας και της Κοινωνικοοικονομικής Κατάστασης.

Εκτενείς έρευνες έχουν δείξει σημαντικές φυλετικές και εθνικές ανισότητες στις καταναλωτικές συνήθειες αλκοόλ, στα προβλήματα υγείας και στις κοινωνικές βλάβες που σχετίζονται με τη χρήση αλκοόλ. Ορισμένες εθνικές ομάδες αντιμετωπίζουν δυσανάλογες αρνητικές συνέπειες από την κατανάλωση αλκοόλ, παρά τα διαφορετικά επίπεδα κατανάλωσης. Αυτή η διακύμανση αναδεικνύει τη σημασία της ταυτόχρονης εξέτασης τόσο των γενετικών όσο και των περιβαλλοντικών παραγόντων στην κατανόηση της προδιάθεσης στον αλκοολισμό.

Η AUD παρουσιάζει επίσης σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα φύλα. Οι άνδρες καταναλώνουν μεγαλύτερες ποσότητες αλκοόλ, ωστόσο οι γυναίκες αναπτύσσουν πιο γρήγορα σοβαρές σωματικές επιπλοκές από την κατανάλωση αλκοόλ, όπως κίρρωση του ήπατος και καρδιαγγειακές παθήσεις, ακόμα και με χαμηλότερες δόσεις αλκοόλ (Erol and Karpyak, 2015). Οι ψυχολογικές συνέπειες, όπως η κατάθλιψη και το άγχος, είναι επίσης πιο έντονες στις γυναίκες, ενώ αντιμετωπίζουν συχνότερα κοινωνικό στιγματισμό, γεγονός που καθυστερεί την αναζήτηση θεραπείας (Erol and Karpyak, 2015).

Ένας βασικός βιολογικός παράγοντας που συμβάλλει στις ανισότητες στην υγεία που σχετίζονται με το αλκοόλ είναι η γενετική διακύμανση στον μεταβολισμό του αλκοόλ.

Οι παραλλαγές των γονιδίων αλκοολικής αφυδρογονάσης (*ADH*) και αλδεϋδοαφυδρογονάσης (*ALDH*), τα οποία συμμετέχουν στη διάσπαση του αλκοόλ, κατανέμονται άνισα στις εθνικές ομάδες και ενδέχεται να συμβάλλουν σε διαφορετική ευαισθησία στην εξάρτηση από το αλκοόλ και σε παθήσεις όπως η κίρρωση του ήπατος και ορισμένους τύπους καρκίνου (Chartier, Vaeth and Caetano, 2021). Για παράδειγμα, οι Ιθαγενείς Αμερικανοί και οι Ισπανόφωνοι εμφανίζουν υψηλότερα ποσοστά ασθενειών που σχετίζονται με το αλκοόλ, όπως ηπατικές παθήσεις και κίρρωση, που ενδέχεται να σχετίζονται με γενετική προδιάθεση (Chartier, Vaeth and Caetano, 2021). Αυτά τα δεδομένα ευθυγραμμίζονται με ευρήματα άλλων μελετών που προτείνουν ότι η γενετική προδιάθεση παίζει ρόλο στην ανάπτυξη της διαταραχής χρήσης αλκοόλ (*AUD*), με κοινές γενετικές παραλλαγές να εξηγούν έως και το 36% της διακύμανσης στα φαινοτυπικά μέτρα εξάρτησης (Harris *et al.*, 2022).

Εκτός από τη γενετική, οι κοινωνικοοικονομικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως η φτώχεια, η διαθεσιμότητα αλκοόλ στις γειτονιές και οι εμπειρίες διάκρισης, επιδεινώνουν τις βλάβες που σχετίζονται με το αλκοόλ, ιδιαίτερα στις εθνικές μειονοτικές κοινότητες (Harris *et al.*, 2022). Αυτοί οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, σε συνδυασμό με τη γενετική προδιάθεση, δημιουργούν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης προβλημάτων που σχετίζονται με το αλκοόλ σε ομάδες όπως οι Αφροαμερικανοί, οι Ισπανόφωνοι και οι Ιθαγενείς Αμερικανοί (Harris *et al.*, 2022).

Η έρευνα δείχνει επίσης τις διαφορές στα κοινωνικά πλαίσια κατανάλωσης αλκοόλ. Παρόλο που οι λευκοί παρουσιάζουν υψηλότερα συνολικά ποσοστά κατανάλωσης αλκοόλ, οι Αφροαμερικανοί και οι Ισπανόφωνοι αναφέρουν υψηλότερα επίπεδα εξάρτησης από το αλκοόλ και συναφών κοινωνικών προβλημάτων, ακόμη και με χαμηλότερα επίπεδα κατανάλωσης (Harris *et al.*, 2022). Αυτή η διαφορά υποδηλώνει ότι οι κοινωνικοί, πολιτισμικοί και βιολογικοί παράγοντες αλληλοεπιδρούν με πολύπλοκους τρόπους για να επηρεάσουν την ανάπτυξη και τις συνέπειες των διαταραχών χρήσης αλκοόλ.

Το κοινωνικό και οικονομικό κόστος της Διαταραχής Χρήσης Αλκοόλ (*AUD*) είναι εξαιρετικά υψηλό. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, το κόστος της υγειονομικής περίθαλψης που σχετίζεται με την *AUD* ανέρχεται στα 184 δισεκατομμύρια δολάρια ετησίως. Σε παγκόσμιο επίπεδο, το συνολικό κόστος της κατανάλωσης αλκοόλ εκτιμάται ότι ξεπερνά το 1 τρισεκατομμύριο δολάρια (περίπου 890 δισεκατομμύρια ευρώ) (OECD, 2023). Το οικονομικό αυτό βάρος περιλαμβάνει τόσο άμεσες δαπάνες, όπως οι

νοσηλείες και η υγειονομική περίθαλψη, όσο και έμμεσες δαπάνες, όπως η απώλεια παραγωγικότητας και οι δαπάνες για τη δικαιοσύνη (OECD, 2023). Σε χώρες μεσαίου και υψηλού εισοδήματος, η οικονομική επιβάρυνση από την κατανάλωση αλκοόλ κυμαίνεται από 1,02% έως 2,6% του Ακαθάριστου Εγχώριου Προϊόντος (ΑΕΠ), σύμφωνα με νεότερες εκτιμήσεις, οι οποίες υποδεικνύουν σημαντική αύξηση σε σχέση με προηγούμενα χρόνια (OECD, 2023). Αυτές οι δαπάνες αφορούν τόσο τις ασθένειες που σχετίζονται με το αλκοόλ όσο και τα τροχαία ατυχήματα, καθώς και τις κοινωνικές παρεμβάσεις για την αντιμετώπιση της κατανάλωσης.

Η AUD, επομένως, αποτελεί ένα πολύπλευρο πρόβλημα δημόσιας υγείας, με σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα φύλα και σοβαρές κοινωνικές και οικονομικές επιπτώσεις. Η πλήρης κατανόηση των παραγόντων που συνεισφέρουν στην ανάπτυξη της, τόσο γενετικών όσο και περιβαλλοντικών, είναι κρίσιμη για την πρόληψη και την αποτελεσματική αντιμετώπισή της.

2.3. Αντιμετώπιση του προβλήματος της κατάχρησης αλκοόλ και κοινωνικές συνέπειες

Παρά την κλίμακα του προβλήματος και την αυξανόμενη επιβάρυνση από την AUD, η θεραπευτική προσέγγιση παραμένει ανεπαρκής. Η περιορισμένη αποτελεσματικότητα της διαχείρισης της AUD οφείλεται, σε μεγάλο βαθμό, στο στιγματισμό που συνοδεύει τους πάσχοντες, καθώς και στις ελλείψεις στην πρωτοβάθμια φροντίδα υγείας (Carvalho *et al.*, 2019). Σημαντικός παράγοντας για την πρόληψη, τον εντοπισμό και την αντιμετώπιση των αλκοολικών διαταραχών θα πρέπει να είναι η πρωτοβάθμια υγειονομική περίθαλψη, μέσω τακτικών ελέγχων, συμβουλευτικής υποστήριξης και φαρμακολογικών παρεμβάσεων (Carvalho *et al.*, 2019). Ενώ η AUD επηρεάζει πάνω από 100 εκατομμύρια άτομα παγκοσμίως (WHO, 2022), παρατηρούνται σοβαρές ελλείψεις σε αποτελεσματικές θεραπευτικές προσεγγίσεις, γεγονός που εν μέρει οφείλεται στο πολυδιάστατο φάσμα φαινοτύπων που σχετίζονται με την ασθένεια (Tawa, Hall and Lohoff, 2016). Η AUD μπορεί να εκφράζεται μέσω διαφόρων συνδυασμών συμπτωμάτων, διαφοροποιημένων βαθμών σοβαρότητας, κατανάλωσης και εξάρτησης από το αλκοόλ, καθιστώντας τη θεραπεία ακόμη πιο δύσκολη (Volkow, Koob and McLellan, 2016).

Η συννοσηρότητα με άλλες ψυχικές διαταραχές, όπως η κατάθλιψη και οι αγχώδεις διαταραχές, αποτελεί συνήθη κατάσταση σε ασθενείς με AUD, επιδεινώνοντας την πολυπλοκότητα της θεραπείας και επηρεάζοντας αρνητικά την πρόγνωση (Grant *et al.*, 2015). Επιπλέον, η κοινωνικοοικονομική κατάσταση παίζει σημαντικό ρόλο, καθώς τα άτομα με χαμηλό εισόδημα παρουσιάζουν υψηλότερα ποσοστά χρόνιας κατάχρησης αλκοόλ, γεγονός που αυξάνει τους κινδύνους θνησιμότητας από ατυχήματα, βία ή τοξική δηλητηρίαση (Sacks *et al.*, 2015). Ιδιαίτερη σημασία έχει η σύνδεση της πρώιμης και μεταγενέστερης έκθεσης σε βία με την ανάπτυξη αλκοολικών διαταραχών, στοιχείο που έχει τεκμηριωθεί σε διάφορες μελέτες (Carvalho *et al.*, 2019).

Οι κοινωνικές επιπτώσεις της AUD είναι εκτεταμένες, επηρεάζοντας τις διαπροσωπικές σχέσεις, την οικογένεια και την κοινωνία στο σύνολό της. Οι πάσχοντες συχνά αδυνατούν να ελέγξουν την κατανάλωση αλκοόλ, οδηγούμενοι σε παρατεταμένες περιόδους υπερβολικής χρήσης, οι οποίες έχουν αρνητικές συνέπειες όχι μόνο για τη δική τους υγεία, αλλά και για την ευημερία των οικογενειών τους και το ευρύτερο κοινωνικό σύνολο (Carvalho *et al.*, 2019). Η αλόγιστη χρήση αλκοόλ συνδέεται συχνά με επιθετική συμπεριφορά, έλλειψη αυτοσυγκέντρωσης και μειωμένη ικανότητα εκπλήρωσης καθημερινών δραστηριοτήτων, επηρεάζοντας την επαγγελματική και κοινωνική ζωή (Sacks *et al.*, 2015).

Τέλος, η ευρεία διαθεσιμότητα αλκοολούχων ποτών, το χαμηλό κόστος τους και η προώθηση μέσω διαφημίσεων που τονίζουν τις δήθεν ευεργετικές επιδράσεις του αλκοόλ στην ψυχολογία, συμβάλλουν στην υπερκατανάλωση, ιδιαίτερα μεταξύ των νέων (WHO, 2022). Η χρήση αλκοόλ στην εφηβεία, σε συνδυασμό με την ανεπαρκή γονική επίβλεψη, έχει διαπιστωθεί ότι αποτελεί κρίσιμο παράγοντα για την ανάπτυξη αλκοολικών διαταραχών σε νεαρή ηλικία (Sacks *et al.*, 2015).

3. Γενετική της Διαταραχής χρήσης αλκοόλ.

Η γενετική βάση της εξάρτησης από το αλκοόλ έχει μελετηθεί εκτενώς την τελευταία πενταετία, αποκαλύπτοντας κρίσιμα γονίδια και μοριακούς μηχανισμούς που επηρεάζουν την προδιάθεση των ατόμων στην υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ. Οι πρόσφατες μελέτες της γενετικής της AUD έχουν αποκαλύψει ότι η κληρονομικότητα της διαταραχής αγγίζει το 50%, γεγονός που ενισχύεται από τις αναλύσεις οικογενειακών και δίδυμων μελετών (Zhou and Gelernter, 2024). Τα τελευταία χρόνια, η χρήση Μελετών Συσχέτισης σε Ολόκληρο το Γονιδίωμα (GWAS) σε μεγάλους πληθυσμούς έχει εντοπίσει περισσότερες από 100 γενετικές παραλλαγές που συνδέονται με τον κίνδυνο ανάπτυξης AUD. Οι παραλλαγές αυτές αφορούν κυρίως γονίδια που εμπλέκονται στο μεταβολισμό της αιθανόλης, όπως το ADH1B και το ALDH2, τα οποία μειώνουν τον κίνδυνο εξάρτησης από το αλκοόλ σε συγκεκριμένους πληθυσμούς (Zhou and Gelernter, 2024). Ωστόσο οι κοινές παραλλαγές SNP εξηγούν μόνο το 9% της διακύμανσης, και αυτό οφείλεται στην πολυπλοκότητα της διαταραχής και στη συμμετοχή πολλών γονιδιακών παραλλαγών με μικρές επιδράσεις (Edenberg, Gelernter and Agrawal, 2019). Τα μέχρι στιγμής ευρήματα δείχνουν ότι διαφορετικοί πληθυσμοί έχουν διαφορετικές παραλλαγές που επηρεάζουν τον κίνδυνο, καθιστώντας απαραίτητες τις πολυεθνικές μελέτες για την κατανόηση της γενετικής βάσης της εξάρτησης από το αλκοόλ. Παρόλο που έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος, οι περισσότερες μελέτες εστιάζουν σε πληθυσμούς ευρωπαϊκής καταγωγής, αφήνοντας περιθώρια για περαιτέρω έρευνα σε πιο ποικίλες ομάδες πληθυσμών.

Όσον αφορά τις επιγενετικές μελέτες, αν και σε πρώιμα στάδια, αρχίζουν να αποκαλύπτουν πώς αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA και σε άλλα επιγενετικά μονοπάτια μπορεί να επηρεάσουν την ανάπτυξη της AUD. Οι μελέτες αυτές υποδεικνύουν ότι η κατανάλωση αλκοόλ μπορεί να προκαλέσει αναστρέψιμες επιγενετικές αλλαγές σε συγκεκριμένα γονίδια που σχετίζονται με τη νευροδιαβίβαση και την ανοσολογική απόκριση (Zhou and Gelernter, 2024). Οι επιγενετικές τροποποιήσεις έχουν αναδειχθεί ως κρίσιμες για την κατανόηση του πώς οι περιβαλλοντικοί παράγοντες επηρεάζουν τη γενετική προδιάθεση. Η μεθυλίωση του DNA σε περιοχές όπως η προμετωπιαία έλικα (PFC) επηρεάζει τη ρύθμιση νευρωνικών κυκλωμάτων που συνδέονται με τη διαχείριση της ανταμοιβής και της αντοχής στο αλκοόλ (Zhou and Gelernter, 2024) (Wedemeyer et al., 2020). Οι τροποποιήσεις στη

χρωματίνη και στη μεθυλίωση του DNA έχουν παρατηρηθεί σε άτομα με AUD, πριν και μετά από προγράμματα απεξάρτησης, υποδεικνύοντας τη δυνατότητα αναστρεψιμότητας των επιγενετικών αλλαγών (Wedemeyer et al., 2020). Η ανάλυση ιστών από τον εγκέφαλο ασθενών με AUD αποκάλυψε διαφορές στο πρότυπομεθυλίωσης περιοχών που σχετίζονται με την ανάπτυξη και τη διατήρηση της εξάρτησης, ενώ έχουν παρατηρηθεί αλλαγές σε μονοπάτια που σχετίζονται με τον κυτταρικό μεταβολισμό και την ανάπτυξη των νευρώνων (Zhou and Gelernter, 2024).

Οι μελέτες δείχνουν ότι οι γενετικοί παράγοντες δεν δρουν ανεξάρτητα από το περιβάλλον. Η έκθεση σε αλκοόλ κατά την παιδική ηλικία, η παρουσία γονέων με διαταραχή χρήσης αλκοόλ (AUD) και η κοινωνική αποδοχή της κατανάλωσης αλκοόλ αποτελούν σημαντικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες που αλληλεπιδρούν με τη γενετική προδιάθεση (Wedemeyer et al., 2020).

3.1. Γονίδια *ADH1B* και *ALDH2*

Τα γονίδια *ADH1B* και *ALDH2* παίζουν κρίσιμο ρόλο στον μεταβολισμό του αλκοόλ, επηρεάζοντας άμεσα την ικανότητα του οργανισμού να διασπάσει και να αποβάλει το αλκοόλ από το σώμα (Egervari et al., 2021). Το γονίδιο *ADH1B* κωδικοποιεί την αλκοολική αφυδρογονάση, ένα ένζυμο που καταλύει την οξείδωση της αιθανόλης (αλκοόλ) σε ακεταλδεΐδη, μια τοξική ενδιάμεση ουσία (Edenberg and McClintick, 2018). Το γονίδιο *ALDH2* κωδικοποιεί την αλδεϋδική αφυδρογονάση, η οποία μετατρέπει την ακεταλδεΐδη σε μη τοξικό οξικό οξύ (Jin et al., 2021). Η ταχύτητα και η αποτελεσματικότητα αυτών των ενζυμικών αντιδράσεων καθορίζουν την έκθεση του οργανισμού στην ακεταλδεΐδη και, κατά συνέπεια, την ευαισθησία στις αρνητικές επιδράσεις του αλκοόλ (Edenberg and McClintick, 2018).

Συγκεκριμένες παραλλαγές αυτών των γονιδίων έχουν βρεθεί να σχετίζονται με την προδιάθεση για αλκοολισμό. Η παραλλαγή *ADH1B*2* (rs1229984) οδηγεί σε αυξημένη δραστηριότητα του ενζύμου, με αποτέλεσμα την ταχύτερη μετατροπή της αιθανόλης σε ακεταλδεΐδη (Liu et al., 2019). Η αυξημένη συγκέντρωση ακεταλδεΐδης προκαλεί δυσάρεστα φυσιολογικά συμπτώματα, όπως το κοκκίνισμα του προσώπου, ναυτία και ταχυκαρδία, τα οποία αποτρέπουν την υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ (Egervari et al., 2021). Αυτή η παραλλαγή είναι ιδιαίτερα συχνή στους Ασιατικούς πληθυσμούς και

έχει βρεθεί να παρέχει προστασία έναντι της ανάπτυξης AUD (Edenberg and McClintick, 2018).

Αντίστοιχα, η παραλλαγή *ALDH2*2* (rs671) μειώνει σημαντικά τη δραστηριότητα του ενζύμου αλδεϋδης αφυδρογονάσης, με αποτέλεσμα την αυξημένη συσσώρευση ακεταλδεϋδης μετά την κατανάλωση αλκοόλ (Jin *et al.*, 2021). Αυτή η συσσώρευση οδηγεί σε έντονα συμπτώματα δυσανεξίας, τα οποία επίσης λειτουργούν αποτρεπτικά για την υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ και, συνεπώς, μειώνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης αλκοολισμού (Egervari *et al.*, 2021). Όπως αναφέρθηκε για την παραλλαγή *ADH1B*2*, έτσι και η παραλλαγή *ALDH2*2* είναι συχνή στους Ασιατικούς πληθυσμούς, ενώ σπανίζει στους Ευρωπαϊκούς και Αφρικανικούς πληθυσμούς (Edenberg and McClintick, 2018). Οι παραλλαγές αυτές στα γονίδια *ADH1B* και *ALDH2* υπογραμμίζουν τη σημασία της γενετικής προδιάθεσης στην ανάπτυξη του αλκοολισμού και εξηγούν τις διαφορές στην ευαισθησία στο αλκοόλ μεταξύ διαφορετικών εθνότητων (Egervari *et al.*, 2021), (Jin *et al.*, 2021).

3.2. Γονίδια που σχετίζονται με τη νευροδιαβίβαση

Αυτά τα γονίδια επηρεάζουν τη λειτουργία του νευρικού συστήματος και τη ρύθμιση της νευρωνικής δραστηριότητας, ειδικά όσον αφορά τη μετάδοση σημάτων που σχετίζονται με την ευχαρίστηση και τον εθισμό.

Το γονίδιο *GABRA2* κωδικοποιεί την υπομονάδα α2 του υποδοχέα *GABA-A*, ο οποίος είναι ο κύριος ανασταλτικός νευροδιαβιβαστής στον εγκέφαλο. Ο υποδοχέας *GABA-A* διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της νευρωνικής δραστηριότητας και η δυσλειτουργία του έχει συνδεθεί με διαταραχές χρήσης αλκοόλ. Οι παραλλαγές στο *GABRA2* έχουν βρεθεί να σχετίζονται ισχυρά με αυξημένο κίνδυνο αλκοολισμού, κυρίως μέσω των επιδράσεών τους στη λειτουργία του νευρικού συστήματος (Edenberg and Foroud, 2006).

Μελέτες δείχνουν ότι τα πολυμορφικά στοιχεία εντός και γύρω από το γονίδιο *GABRA2* σχετίζονται με τον αλκοολισμό και την ηλεκτροεγκεφαλογραφική (EEG) δραστηριότητα, συγκεκριμένα στην περιοχή του εγκεφάλου που εμπλέκεται στις συχνότητες του β-κύματος, οι οποίες έχουν συνδεθεί με την εξάρτηση από το αλκοόλ. Αυτές οι β-συχνότητες είναι αυξημένες στα άτομα με προδιάθεση για αλκοολισμό, γεγονός που ενισχύει την υπόθεση ότι το *GABRA2* συμβάλλει στη ρύθμιση των

εγκεφαλικών κυμάτων που συνδέονται με τον κίνδυνο υποτροπής σε ασθενείς με εξάρτηση από ουσίες (Edenberg and Foroud, 2006). Η σχέση του *GABRA2* με τον αλκοολισμό έχει επίσης επιβεβαιωθεί σε αρκετές πληθυσμιακές μελέτες, όπως η μελέτη της COGA (Collaborative Study on the Genetics of Alcoholism), η οποία ανέδειξε σημαντική σύνδεση αυτού του γονιδίου με την εξάρτηση από το αλκοόλ σε διάφορες ομάδες. Οι παραλλαγές στον υποδοχέα *GABA-A*, όπως αυτές στο *GABRA2*, φαίνεται να έχουν ένα ρυθμιστικό ρόλο στην ανθεκτικότητα του ατόμου στην ανάπτυξη εξάρτησης από το αλκοόλ, κυρίως λόγω της επιρροής τους στη δραστηριότητα των ανασταλτικών νευρώνων στον εγκέφαλο (Edenberg and Foroud, 2006).

Επιπλέον, μελέτες έχουν δείξει ότι οι παραλλαγές του *GABRA2* μπορεί να έχουν διαφορετικές επιδράσεις ανάλογα με τη φάση της ζωής, συνδέοντας το γονίδιο αυτό με διαταραχές συμπεριφοράς στην παιδική ηλικία και με αυξημένο κίνδυνο για αλκοολισμό και εξάρτηση από ουσίες στη νεαρή ενήλικη ζωή. Αυτές οι διαφορές υποδεικνύουν ότι το *GABRA2* παίζει ένα πολυδιάστατο ρόλο στην ανάπτυξη διαφόρων ειδών συμπεριφορών που σχετίζονται με την εξάρτηση, καθιστώντας το ένα κρίσιμο γονίδιο στη μελέτη του αλκοολισμού (Edenberg and Foroud, 2006).

Το γονίδιο *OPRM1* κωδικοποιεί τον μ-υποδοχέα των οπιοειδών (MOR), ο οποίος διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στις διαδικασίες ανταμοιβής και ευχαρίστησης που προκύπτουν από τη χρήση ουσιών όπως το αλκοόλ. Ο μ-υποδοχέας των οπιοειδών εμπλέκεται στη μετάδοση των σημάτων που σχετίζονται με την απόλαυση και την ανακούφιση από τον πόνο, και ως εκ τούτου, έχει ιδιαίτερη σημασία για την κατανόηση του μηχανισμού ανάπτυξης εθισμού. Η παραλλαγή *A118G* αλλάζει τη δομή του υποδοχέα, καθώς η αλλαγή από ασπαραγίνη σε ασπαρτικό οξύ (N40D) έχει συνέπειες στη δέσμευση των ενδορφινών και πιθανώς στη σηματοδότηση του υποδοχέα, γεγονός που επηρεάζει την ανταπόκριση του οργανισμού στην κατανάλωση αλκοόλ (Gameiro-Ros *et al.*, 2023). Αυτή η αλλαγή μπορεί να αυξήσει την ευαισθησία του ατόμου στις ευφορικές επιδράσεις του αλκοόλ, οδηγώντας σε υψηλότερο κίνδυνο για την ανάπτυξη αλκοολισμού, όπως έχει αποδειχθεί σε αρκετές μελέτες οικογενειών και πληθυσμών (Gameiro-Ros *et al.*, 2023). Μελέτες έχουν δείξει ότι οι φορείς του αλληλόμορφου G του SNP rs1799971 (*A118G*) παρουσιάζουν διαφοροποιημένη ανταπόκριση στην κατανάλωση αλκοόλ σε σύγκριση με τα άτομα που φέρουν το αλληλόμορφο A. Συγκεκριμένα, οι φορείς του G αλληλόμορφου φαίνεται να έχουν αυξημένη ευαισθησία στην ευχαρίστηση που προκαλείται από το αλκοόλ, γεγονός που μπορεί να

οδηγήσει σε αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης αλκοολισμού (Gameiro-Ros *et al.*, 2023). Επιπλέον, μελέτες σε οικογένειες και πληθυσμούς δείχνουν ότι η συγκεκριμένη παραλλαγή συνδέεται επίσης με άλλες μορφές εθισμού και ψυχιατρικές διαταραχές, γεγονός που υποδηλώνει την ευρύτερη επίδραση της στην ψυχολογία και στη συμπεριφορά του ατόμου (Gameiro-Ros *et al.*, 2023), (Edenberg and Foroud, 2006).

Το γονίδιο *DRD2* κωδικοποιεί τον υποδοχέα D2 της ντοπαμίνης, ο οποίος είναι ένας από τους πέντε υποδοχείς της ντοπαμίνης στον εγκέφαλο. Ο υποδοχέας D2 παίζει κρίσιμο ρόλο για την ανάπτυξη συμπεριφορών εθισμού, συμπεριλαμβανομένου του αλκοολισμού (Edenberg and Foroud, 2006). Ο πολυμορφισμός *Taq1A* του γονιδίου *DRD2* είναι ένας από τους πιο μελετημένους σε σχέση με τον αλκοολισμό. Η παραλλαγή αυτή επηρεάζει την έκφραση του υποδοχέα D2, με τα άτομα που φέρουν το αλληλόμορφο A1 να έχουν μειωμένη πυκνότητα των υποδοχέων D2 στον εγκέφαλο (Jin *et al.*, 2021). Η μειωμένη πυκνότητα των υποδοχέων D2 έχει συνδεθεί με αυξημένη ευαισθησία στον αλκοολισμό, καθώς τα άτομα με αυτήν την παραλλαγή μπορεί να αναζητούν εξωτερικά ερεθίσματα, όπως το αλκοόλ, για να ενεργοποιήσουν το σύστημα ανταμοιβής τους (Gupta *et al.*, 2020).

Μελέτες έχουν δείξει ότι τα άτομα που φέρουν το αλληλόμορφο A1 έχουν υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης αλκοολισμού, με αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης συμπεριφορών όπως η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ και η απώλεια ελέγχου. (Edenberg and Foroud, 2006).

3.3. Γονίδια που σχετίζονται με τον έλεγχο της κατανάλωσης αλκοόλ

Αυτά τα γονίδια επηρεάζουν τη συμπεριφορά που σχετίζεται με την κατανάλωση αλκοόλ, καθώς και τη μεταβολική ρύθμιση ή την απόκριση του οργανισμού στο στρες και την κατανάλωση αλκοόλ.

Το γονίδιο *CRHRI* κωδικοποιεί τον υποδοχέα 1 της κορτικοτροπίνης, γνωστό και ως υποδοχέα *CRF1*, ο οποίος είναι κεντρικός στην αντίδραση του οργανισμού στο στρες. Ο υποδοχέας αυτός συμμετέχει στη ρύθμιση της λειτουργίας του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (HPA), επηρεάζοντας έτσι την απελευθέρωση κορτικοστεροειδών ορμονών που είναι υπεύθυνες για την αντίδραση στο στρες (Edenberg and Foroud, 2006). Οι παραλλαγές στο γονίδιο *CRHRI* έχουν συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο κατανάλωσης αλκοόλ, ιδιαίτερα σε άτομα που αντιμετωπίζουν

ψυχολογικό στρες. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι ο αλκοολισμός μπορεί να λειτουργήσει ως μηχανισμός αντιμετώπισης του άγχους, με τον υποδοχέα *CRF1* να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία αυτή (Gupta *et al.*, 2020).

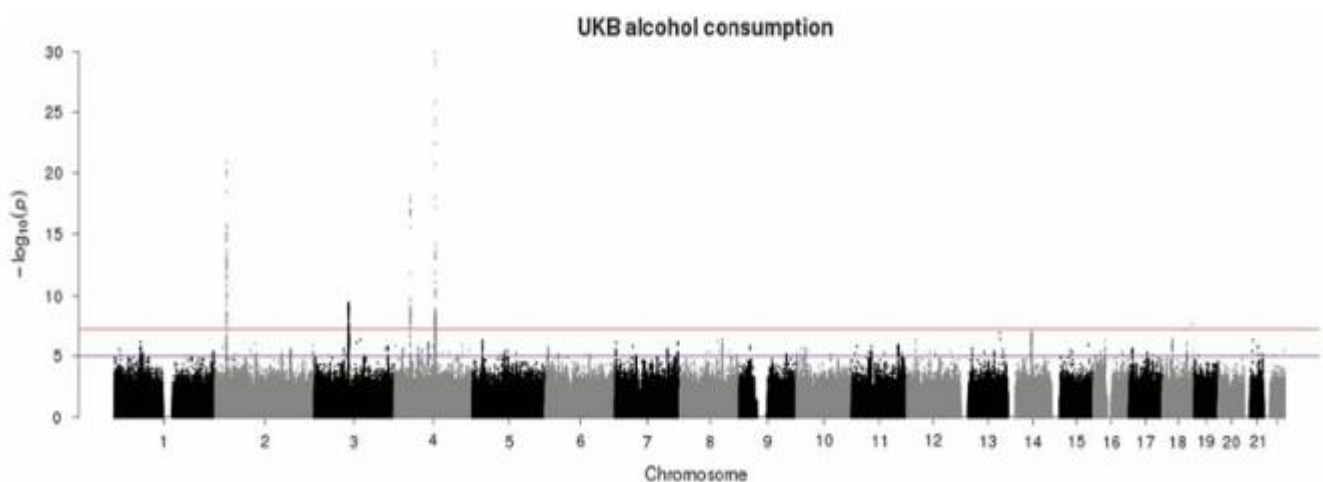
Μελέτες σε ζώα έχουν δείξει ότι η αύξηση της έκφρασης του *CRHR1* σε περιοχές του εγκεφάλου που σχετίζονται με την ανταμοιβή, όπως το μεταίχμιακό σύστημα, περιοχές του εγκεφάλου που είναι υπεύθυνες για τη διαχείριση των συναισθηματικών αντιδράσεων και της συμπεριφοράς συνδέεται με αυξημένη προτίμηση για αλκοόλ. Αυτές οι μελέτες έχουν επίσης αναδείξει τη σημασία του γονιδίου *CRHR1* στη διαδικασία αντιμετώπισης του αλκοολισμού. Δηλαδή όπως έχει μελετηθεί σε πειραματικά μοντέλα, με την αναστολή του υποδοχέα *CRF1* μειώνεται η αυθόρμητη δράση της αλκοόλης στον εγκέφαλο, με αποτέλεσμα να μπλοκάρεται η επιθυμία για κατανάλωση αλκοόλ μετά από καταστάσεις στρες (Edenberg and Foroud, 2006).

Όσον αφορά ωστόσο τις μελέτες σε ανθρώπινους οργανισμούς, οι πολυμορφισμοί του *CRHR1* έχουν συσχετιστεί με διαφοροποιημένες αντιδράσεις στο στρες και αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ. Συγκεκριμένα, οι πολυμορφισμοί όπως το SNP rs110402 έχουν μελετηθεί σε σχέση με την αντίδραση στο άγχος και τη χρήση αλκοόλ. Έρευνες έχουν δείξει ότι οι φορείς των συγκεκριμένων παραλλαγών παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα άγχους και μεγαλύτερη προδιάθεση για την κατανάλωση αλκοόλ σε περιόδους στρες. Οι πολυμορφισμοί rs110402, rs242924, και rs242938, φαίνεται να επηρεάζουν την ευαισθησία ενός ατόμου στο στρες, κάτι που μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένο κίνδυνο αλκοολισμού, καθώς το άτομο χρησιμοποιεί το αλκοόλ ως μέσο αντιμετώπισης του άγχους (Gupta *et al.*, 2020), (Jin *et al.*, 2021).

Το γονίδιο *KLB* κωδικοποιεί την πρωτεΐνη β-κλωθό (β-klotho), η οποία αποτελεί μέρος του υποδοχέα για την ορμόνη *FGF21* (Fibroblast Growth Factor 21) (Jin *et al.*, 2021). Η *FGF21* εμπλέκεται στη ρύθμιση του τρόπου με τον οποίο το σώμα μας χρησιμοποιεί την ενέργεια, συμπεριλαμβανομένης της καύσης λιπών και της παραγωγής γλυκόζης. Εκτός από τον ρόλο της στη μεταβολική ρύθμιση, η *FGF21* έχει βρεθεί ότι επηρεάζει την κατανάλωση αλκοόλ και την ευαισθησία στο αλκοόλ. Η αλληλεπίδρασή της με τον υποδοχέα που περιλαμβάνει το γονίδιο *KLB* φαίνεται να επηρεάζει την επιθυμία για αλκοόλ, μειώνοντας την κατανάλωσή του (Gupta *et al.*, 2020). Συγκεκριμένα, η έκφραση του *KLB* φαίνεται να ρυθμίζει την απόκριση του εγκεφάλου στις επιδράσεις του αλκοόλ, με υψηλότερη έκφραση να σχετίζεται με μειωμένη κατανάλωση αλκοόλ (Edenberg and Foroud, 2006).

3.4. Εισαγωγή στη μεθοδολογία GWAS

Οι Μελέτες Σύνδεσης Ολόκληρου του Γονιδιώματος (GWAS) αποτελούν ένα από τα πιο ισχυρά εργαλεία στη γενετική έρευνα, επιτρέποντας την ταυτοποίηση νέων γονιδίων και γενετικών παραλλαγών που σχετίζονται με την κατανάλωση αλκοόλ και τον κίνδυνο ανάπτυξης αλκοολισμού. Μέσα από αυτές τις μελέτες, οι ερευνητές έχουν αποκαλύψει πολυάριθμα γονίδια που συνδέονται με την κατανάλωση αλκοόλ, προσφέροντας πολύτιμες γνώσεις για τους γενετικούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στη διαταραχή αυτή (Clarke *et al.*, 2017) (Εικόνα 1).



Εικόνα 1. Manhattan Plot (Διάγραμμα Μανχάταν) για τη μελέτη GWAS της κατανάλωσης αλκοόλ. Αυτό το διάγραμμα είναι ένας από τους πιο κοινούς τρόπους παρουσίασης δεδομένων σε μελέτες GWAS (Μελέτες Συσχέτισης σε Ολόκληρο το Γονιδίωμα). Δείχνει τη στατιστική σημασία των SNPs (μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών) σε σχέση με την κατανάλωση αλκοόλ. Όσο υψηλότερο είναι ένα σημείο στο διάγραμμα, τόσο πιο πιθανό είναι ότι το SNP είναι σημαντικό για το χαρακτηριστικό που μελετάται (στην προκειμένη περίπτωση, την κατανάλωση αλκοόλ).

Η μελέτη των Palmer *et al.* (2015) είχε ως στόχο να διερευνήσει τη συμβολή των κοινών γενετικών παραλλαγών, γνωστών ως μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs), στην εξάρτηση από το αλκοόλ και άλλες ουσίες, καθώς και τη σχέση τους με διάφορους δείκτες εξάρτησης που συχνά συνυπάρχουν με άλλες. Η έρευνα αυτή πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο της μελέτης "Study of Addiction: Genetics and

Environment" (SAGE), μια μεγάλης κλίμακας επιστημονική προσπάθεια που εξετάζει τους γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες που σχετίζονται με την εξάρτηση από διάφορες ουσίες, όπως το αλκοόλ, ο καπνός, η κοκαΐνη, η κάνναβη και άλλες παράνομες ουσίες. Το SAGE συγκεντρώνει γενετικές πληροφορίες και δεδομένα συμπεριφοράς από χιλιάδες άτομα, επιτρέποντας στους ερευνητές να μελετήσουν την αλληλεπίδραση μεταξύ γονιδίων και περιβάλλοντος στην ανάπτυξη εξαρτητικών συμπεριφορών.

Συγκεκριμένα, στη μελέτη των Palmer et al., συμμετείχαν 2.596 μη συγγενή άτομα από το SAGE, τα οποία παρείχαν πληροφορίες σχετικά με την εξάρτηση από τις παραπάνω ουσίες. Οι ερευνητές αξιολόγησαν τα φαινοτυπικά μέτρα χρησιμοποιώντας δύο κύριες βαθμολογίες:

- Βαθμολογία Διάγνωσης Εξάρτησης από Ουσίες DSM-IV: Αυτή η βαθμολογία βασίστηκε στα διαγνωστικά κριτήρια του DSM-IV για την εξάρτηση από ουσίες, τα οποία περιλαμβάνουν την παρουσία συμπτωμάτων όπως ανοχή, στερητικά συμπτώματα, και ανεπιτυχή προσπάθεια μείωσης της χρήσης. Αυτή η βαθμολογία αντικατοπτρίζει την σοβαρότητα και την παρουσία της εξάρτησης σύμφωνα με τα κριτήρια του DSM-IV.
- Βαθμολογία Ευπάθειας στην Εξάρτηση: Η ευπάθεια αυτή υπολογίστηκε ως ο λόγος των συμπτωμάτων του DSM-IV προς τον αριθμό των ουσιών που χρησιμοποιούνται. Αυτή η βαθμολογία μετρά την ευαισθησία ενός ατόμου στην ανάπτυξη εξάρτησης από διάφορες ουσίες, λαμβάνοντας υπόψη την ποικιλία των ουσιών που καταναλώνονται και τον βαθμό στον οποίο τα συμπτώματα εξάρτησης εμφανίζονται για αυτές τις ουσίες.

Το DSM (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) αποτελεί ένα εργαλείο που χρησιμοποιείται ευρέως για τη διάγνωση ψυχικών διαταραχών, συμπεριλαμβανομένων των διαταραχών χρήσης ουσιών. Η σοβαρότητα της διαταραχής καθορίζεται από τον αριθμό των κριτηρίων που πληρούνται εντός μιας περιόδου 12 μηνών. Η διαταραχή κατηγοριοποιείται ως ήπια(2-3 κριτήρια), μέτρια(4-5 κριτηρια), ή σοβαρή(6 ή περισσότερα κριτήρια), ανάλογα με τον αριθμό των συμπτωμάτων, με το DSM-5 να προσφέρει μεγαλύτερη ακρίβεια και ευελιξία στην εκτίμηση της σοβαρότητας της κατάστασης (Hasin Deborah S., 2013).

Οι αναλύσεις έδειξαν ότι οι κοινές γενετικές παραλλαγές (SNPs) εξηγούσαν το 25-36% της διακύμανσης σε αυτά τα φαινοτυπικά μέτρα. Συγκεκριμένα, οι βαθμολογίες που βασίζονται στις διαγνώσεις εξάρτησης από ουσίες DSM-IV παρουσίασαν την υψηλότερη κληρονομικότητα που αποδίδεται σε SNPs, με εκτίμηση $h^2\text{SNP} = 0.36$ (CI: 0,11-0,62). Παρομοίως, η ευπάθεια στην εξάρτηση εμφάνισε εκτίμηση κληρονομικότητας $h^2\text{SNP} = 0.33$ (CI: 0,07-0,58). Αυτό σημαίνει ότι το 33-36% της διακύμανσης σε αυτά τα μέτρα μπορεί να εξηγηθεί από κοινές γενετικές παραλλαγές, με τα διαστήματα εμπιστοσύνης να υποδεικνύουν την αβεβαιότητα της εκτίμησης. Τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι τουλάχιστον το 20% της διακύμανσης στην γενικευμένη ευπάθεια στην εξάρτηση από ουσίες αποδίδεται σε κοινές γενετικές παραλλαγές, ενώ παρατηρήθηκε επίσης προσθετική επίδραση των SNPs σε σημαντικούς δείκτες συννοσηρών προβλημάτων εξάρτησης από ουσίες.

3.5. Ο εντοπισμός γονιδίων μέσω GWAS, καθιστά τη γενετική βάση του αλκοολισμού πολυπαραγοντική.

Η ανάλυση GWAS πραγματοποιείται εξετάζοντας τις συσχετίσεις μεταξύ χιλιάδων γενετικών παραλλαγών (SNPs - Single Nucleotide Polymorphisms) σε μεγάλα δείγματα πληθυσμού. Στη συγκεκριμένη μελέτη (Clarke *et al.*, 2017), χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από τη Βρετανική Βιοτράπεζα. Το συνολικό δείγμα της UK Biobank αποτελείται από 502.629 άτομα ηλικίας 40-69 ετών, τα οποία ζούσαν στο Ηνωμένο Βασίλειο κατά την περίοδο συλλογής δεδομένων (2006-2010) και προέρχονταν από 22 κέντρα σε όλη τη χώρα (Clarke *et al.*, 2017). Ωστόσο, για τη συγκεκριμένη ανάλυση της κατανάλωσης αλκοόλ, οι Clarke *et al.*, χρησιμοποίησαν ένα υποσύνολο 112.117 ατόμων. Αυτό το υποσύνολο περιελάμβανε μόνο τους τρέχοντες πότες, εξαιρώντας άτομα που είχαν διακόψει την κατανάλωση αλκοόλ ή είχαν ελλιπή γενετικά δεδομένα. Όσον αφορά την ανάλυση των γενετικών δεδομένων, χρησιμοποιήθηκαν παρτίδες γονοτύπων, οι οποίες αναφέρονται στη διαφορετική τεχνική διαδικασία και εξοπλισμό που χρησιμοποιήθηκε για τη γονοτύπηση των δειγμάτων. Συγκεκριμένα, τα δείγματα της UK Biobank γονοτυπήθηκαν με δύο διαφορετικές πλατφόρμες, την Affymetrix UK Biobank Axiom array και την Affymetrix UK BiLEVE Axiom array, δημιουργώντας έτσι διαφορετικές "παρτίδες". Οι πλατφόρμες αυτές είναι τεχνολογικά εργαλεία που αναλύουν το DNA ενός ατόμου για να προσδιορίσουν τις αλληλουχίες των βάσεων σε συγκεκριμένες θέσεις (SNPs)

του γονιδιώματος. Με τη χρήση αυτών των πλατφορμών, οι ερευνητές κατάφεραν να συλλέξουν δεδομένα για εκατομμύρια γενετικά σημεία σε κάθε άτομο, τα οποία στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή της μελέτης GWAS (Genome-Wide Association Study).

Για την ανάλυση της συσχέτισης των γενετικών παραλλαγών (SNPs) με την κατανάλωση αλκοόλ, οι Clarke et al. χρησιμοποίησαν το λογισμικό PLINK. Το PLINK είναι ένα δημοφιλές εργαλείο γενετικής ανάλυσης, σχεδιασμένο για να αναλύει μεγάλες ποσότητες δεδομένων γονοτύπων. Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκε για να εντοπιστούν οι συσχετίσεις μεταξύ των SNPs και της κατανάλωσης αλκοόλ, λαμβάνοντας υπόψη και άλλους συνδιαμορφωτικούς παράγοντες, όπως η θέση του κέντρου αξιολόγησης, η παρτίδα γονοτύπων και 15 κύρια γενετικά συστατικά για τον έλεγχο της πληθυσμιακής δομής.

Μέσω αυτών των μεθόδων, οι μελέτες εντόπισαν σημαντικές γενετικές περιοχές που σχετίζονται με την κατανάλωση αλκοόλ, όπως τα γονίδια *ADH1B/ADH1C*, *KLB* γνωστά για το ρόλο τους στον μεταβολισμό του αλκοόλ, καθώς και νέα γονίδια όπως το *GCKR*, *FAM69C* και το *CADM2* (Clarke et al., 2017).

Η παραλλαγή *ADH1B*47His* (rs1229984) προκαλεί ταχύτερη διάσπαση της αιθανόλης σε ακεταλδεΐδη. Αυτό οδηγεί σε ταχύτερη συσσώρευση ακεταλδεΐδης σε αντίθεση με το γονίδιο *ADH1C* που έχει πιο αργές παραλλαγές, όπως η *ADH1C*349Val* (rs698), οι οποίες επιτρέπουν την αργή διάσπαση του αλκοόλ, γεγονός που συνδέεται με αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ και μεγαλύτερο κίνδυνο εξάρτησης (Lawlor et al., 2014). Η έρευνα των Lawlor et al. βασίστηκε σε πληθυσμό 58.313 ενήλικων ατόμων ευρωπαϊκής καταγωγής που διέμεναν στην Κοπεγχάγη. Τα δεδομένα συλλέχθηκαν μέσω της "Copenhagen General Population Study" και περιλάμβαναν τόσο πολυμεταβλητές αναλύσεις όσο και γενετικές-εργαλειακές μεταβλητές (Instrumental Variables - IV), μια στατιστική τεχνική που χρησιμοποιείται για να εκτιμήσει την αιτιώδη σχέση μεταξύ μιας έκθεσης (όπως η κατανάλωση αλκοόλ) και ενός αποτελέσματος (όπως η λειτουργία του ήπατος). Η μελέτη χρησιμοποίησε μια προσέγγιση Μενδελιανής Τυχαιοποίησης, χρησιμοποιώντας γενετικές παραλλαγές στα γονίδια *ADH1B* και *ADH1C* ως εργαλεία (IV). Οι αναλύσεις εξέτασαν επίσης την επίδραση παραγόντων σύγχυσης (Πίνακας 2.), όπως η ηλικία και το φύλο, και έλεγξαν τη σχέση μεταξύ των δύο γονιδίων και της κατανάλωσης αλκοόλ. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια γραμμική αιτιώδη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και της

επιδείνωσης των ενζυμικών δεικτών λειτουργίας του ήπατος, όπως το ALT και το c-GT. Αυτή η μελέτη (Lawlor *et al.*, 2014) επιβεβαιώνει ότι τα άτομα με γονίδια ταχείας αποδόμησης αλκοόλ καταναλώνουν λιγότερο αλκοόλ, γεγονός που μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης αλκοολικών ασθενειών του ήπατος.

Πίνακας 2. (Lawlor *et al.*, 2014) Παρουσιάζεται η σχέση παρατηρούμενων συγχυτικών παραγόντων με τα γονιδιακά μοτίβα *ADH1B* και *ADH1C*. Οι συγχυτικοί παράγοντες που εξετάζονται είναι η ηλικία, το φύλο, το κάπνισμα, η φυσική δραστηριότητα, το εισόδημα και η

	<i>ADH1B</i>			<i>ADH1C</i>			
	Mean (SD) or N (%) by genotype			Mean (SD) or N (%) by genotype			
	1/1 (slow) N=55,880	1/2 or 2/2 (fast) N=2433	p-value ^a	2/2 (slow) N=10,155	1/2 (intermediate) N=28,415	1/1 (fast) N=19,743	p-value ^a
Age (years)	56.6 (13.4)	57.1 (13.3)	0.13	56.6 (13.3)	56.7 (13.3)	56.6 (13.4)	0.55
Women (n, %)	31,144 (56)	1,324 (54)	0.20	5,741 (56)	15,818 (56)	10,909 (55)	0.11
Current smoker (n, %)	11,813 (21)	514 (21)	0.99	2,221 (22)	5,957 (21)	4,149 (21)	0.14
>4 hours per week MVPA	26,871 (48)	1,194 (49)	0.34	4,898 (48)	13,662(48)	9,505 (48)	0.96
Income >600,000Kr	10,767 (19)	499 (20)	0.13	1,946 (19)	5,535 (19)	3,785 (19)	0.64
Education >13 years	9,425(17)	416 (17)	0.76	1,776 (17)	4,738 (17)	3,327 (17)	0.17

N=58,313.

^aF-statistic for continuous variables and chi-square for categorical variables testing the null hypothesis that distributions of the confounders do not differ by genotype (1 degree of freedom for *ADH1B* and 2 degrees of freedom for *ADH1C*).

MVPA=Moderate or vigorous physical activity. Kr=Danish kroner.

doi:10.1371/journal.pone.0114294.t001

εκπαίδευση, και η ανάλυση γίνεται ανάμεσα σε άτομα με διαφορετικούς γονότυπους για τα γονίδια *ADH1B* και *ADH1C*. Τιμή p μικρότερη από 0,05 θεωρείται στατιστικά σημαντική, υποδηλώνοντας ότι οι διαφορές μεταξύ των ομάδων είναι πιθανόν πραγματικές και όχι τυχαίες. Αντίθετα, μια τιμή p μεγαλύτερη από 0,05 σημαίνει ότι δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία για να αποδεχθούμε ότι υπάρχει διαφορά ανάμεσα στις ομάδες. Συνολικά, ο πίνακας δείχνει ότι κανένας από τους βασικούς συγχυτικούς παράγοντες δεν συνδέεται στατιστικά σημαντικά με τα γονιδιακά μοτίβα *ADH1B* και *ADH1C*. Αυτό είναι σημαντικό γιατί ενισχύει την υπόθεση ότι τα γονίδια αυτά δεν σχετίζονται με άλλους παράγοντες που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την κατανάλωση αλκοόλ και τα αποτελέσματα στην υγεία, γεγονός που ενισχύει την εγκυρότητα των Mendelian randomization αναλύσεων.

Το γονίδιο *CADM2* (Cell Adhesion Molecule 2) βρέθηκε να σχετίζεται με τη ρύθμιση της συμπεριφοράς και του κινδύνου. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι αυτό το γονίδιο παίζει ρόλο στη νευρολογική λειτουργία και στη ρύθμιση της συμπεριφοράς, ειδικά όσον αφορά τη λήψη αποφάσεων και τη ροπή προς ριψοκίνδυνες συμπεριφορές (Sanchez-Roige, Palmer and Clarke, 2020). Η σύνδεσή του με την κατανάλωση αλκοόλ

υποδηλώνει ότι οι παραλλαγές σε αυτό το γονίδιο ενδέχεται να επηρεάζουν την προδιάθεση για πιο υψηλού κινδύνου κατανάλωση αλκοόλ ή ακόμα και για ανάπτυξη εθιστικών συμπεριφορών, όπως ο αλκοολισμός.

Από την άλλη πλευρά, το γονίδιο GCKR (Glucokinase Regulatory Protein) εμπλέκεται στη ρύθμιση του μεταβολισμού της γλυκόζης και της ινσουλίνης (Sanchez-Roige, Palmer and Clarke, 2020). Οι παραλλαγές στο *GCKR* έχουν συσχετιστεί με διαταραχές του μεταβολισμού, όπως ο διαβήτης, αλλά και με τη μεταβολική ανταπόκριση στην κατανάλωση αλκοόλ. Επομένως, το γονίδιο αυτό μπορεί να παίζει ρόλο στη φυσιολογική βάση της κατανάλωσης αλκοόλ, καθώς επηρεάζει τη μεταβολική ευαισθησία του ατόμου στο αλκοόλ, ενισχύοντας τον κίνδυνο ανάπτυξης εξάρτησης.

Η ανάλυση LD Score Regression χρησιμοποιήθηκε από τους Clarke et al, για τον υπολογισμό των γενετικών συσχετίσεων μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και άλλων χαρακτηριστικών ή ασθενειών. Η μέθοδος αυτή αξιοποιεί τη δομή συσχέτισης των SNPs σε όλο το γονιδίωμα, λαμβάνοντας υπόψη τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ SNPs που βρίσκονται κοντά μεταξύ τους (linkage disequilibrium, LD). Επιπλέον, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν τη μέθοδο clumping βάσει LD για να απομονώσουν ανεξάρτητα γενετικά σήματα, διασφαλίζοντας ότι οι συσχετίσεις που παρατηρήθηκαν δεν οφείλονταν απλώς σε τοπικές επιδράσεις κοντινών SNPs, αλλά σε πραγματικά ανεξάρτητες γενετικές παραλλαγές. Μέσω αυτής της προσέγγισης, εξετάστηκαν γενετικές συσχετίσεις της κατανάλωσης αλκοόλ με το κάπνισμα, την σχολική επίδοση, την παχυσαρκία και τις μεταβολικές διαταραχές, παρέχοντας μια πιο ακριβή εκτίμηση της γενετικής αλληλεπίδρασης. Στο πλαίσιο αυτής της ανάλυσης (Clarke et al., 2017), το γονίδιο *FAM69C* αναδείχθηκε ως ένα από τα νεοανακαλυφθέντα γονίδια που συσχετίζονται με την κατανάλωση αλκοόλ. Παρόλο που η βιολογική του λειτουργία δεν έχει κατανοηθεί πλήρως, η ανίχνευσή του μέσω της LD Score Regression και της μεθόδου clumping υποδηλώνει ότι μπορεί να παίζει ρόλο στη νευροβιολογία της κατανάλωσης αλκοόλ και του εθισμού. Το γεγονός αυτό αναδεικνύει την ανάγκη για περαιτέρω διερεύνηση του *FAM69C*, προκειμένου να αποσαφηνιστεί ο ρόλος του στη ρύθμιση της συμπεριφοράς και των φυσιολογικών διεργασιών που εμπλέκονται στον αλκοολισμό.

Table 1. Fourteen loci reaching genome-wide significance for association with alcohol consumption in UKB after performing clump-based LD pruning							
SNP	CHR	POS	A1/A2	Freq	β (s.e.)	P	Genes
rs145452708	4	100248642	C/G	0.01	-0.034 (0.003)	1.15×10^{-30}	ADH1B/ADH1C
rs193099203	4	99630017	T/C	0.007	-0.031 (0.003)	3.79×10^{-25}	—
rs1260326	2	27730940	T/C	0.39	-0.028 (0.003)	1.34×10^{-21}	GCKR
rs11940694	4	39414993	A/G	0.39	-0.027 (0.003)	8.4×10^{-19}	KLK
rs29001570	4	99994405	C/T	0.006	-0.026 (0.003)	9.58×10^{-19}	ADH5
rs3114045	4	100252560	T/C	0.13	-0.020 (0.003)	7.98×10^{-12}	ADH1B/ADH1C
rs140280172	4	100832564	A/C	0.005	-0.020 (0.003)	2.89×10^{-11}	DNAJB14
rs9841829	3	85569361	G/T	0.23	0.019 (0.003)	3.36×10^{-10}	CADM2
rs35081954	4	100270818	CTG/C	0.42	0.018 (0.003)	2.14×10^{-9}	ADH1C
rs375507729	3	85062293	T/TAA	0.44	0.018 (0.003)	3.19×10^{-9}	CADM2
rs9991733	4	39420994	G/A	0.28	0.018 (0.003)	3.80×10^{-9}	KLK
rs149127347	4	99101007	G/T	0.003	-0.018 (0.003)	4.42×10^{-9}	—
rs145329623	4	98528709	G/A	0.003	-0.017 (0.003)	5.68×10^{-9}	STPG2
18:72124965	18	72124965	CCTCCCG/C	0.05	0.017 (0.003)	2.18×10^{-8}	FAM69C

Abbreviations: CHR, chromosome; Freq, A1 frequency; GWAS, genome-wide association study; LD, linkage disequilibrium; POS, base pair position; SNP, single-nucleotide polymorphism; UKB, UK Biobank. Genes are reported if SNPs located ± 10 kb of the locus. SNPs highlighted as bold represent completely independent associations identified by conditional SNP analyses.

Πίνακας 3. Δεκατέσσερις γενετικές θέσεις που παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την κατανάλωση αλκοόλ στο UK Biobank, μετά από επεξεργασία με clumping βάσει συνδέσμου ανισορροπίας (LD)(Clarke et al., 2017). Επεξήγηση συντομογραφιών πίνακα: *POS (Θέση): Η ακριβής θέση του SNP στο αντίστοιχο χρωμόσωμα/ *A1/A2: Τα αλληλόμορφα των γονιδίων που σχετίζονται με το SNP / *Freq (Συχνότητα): Η συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου A1 στον πληθυσμό που μελετήθηκε/ *β (βήτα): Η εκτίμηση της επίδρασης του SNP στην κατανάλωση αλκοόλ. Η θετική ή αρνητική τιμή του βήτα δείχνει εάν το SNP αυξάνει ή μειώνει την κατανάλωση αλκοόλ.(s.e. τυπικό σφάλμα: Το τυπικό σφάλμα της εκτίμησης του βήτα.)/ *P (P-τιμή): Η στατιστική σημασία του SNP στην ανάλυση. Όσο μικρότερη είναι η P-τιμή (συνήθως $< 5 \times 10^{-8}$ θεωρείται στατιστικά σημαντική), τόσο πιο πιθανό είναι ότι το SNP σχετίζεται σημαντικά με την κατανάλωση αλκοόλ.

Στον Πίνακα 3. , επιπλέον από τα γονίδια που αναλύθηκαν εκτενώς μέσω της μελέτης των Clarke et al, παρουσιάζονται και ορισμένα γονίδια που αναφέρονται στη μελέτη. Αυτά είναι τα *STPG2*, *DNAJB14*, και *ADH5*, τα οποία παρουσιάζουν συσχετίσεις με την κατανάλωση αλκοόλ, αλλά η λειτουργία τους παραμένει ασαφής. Το γονίδιο *STPG2* σχετίστηκε με μειωμένη κατανάλωση αλκοόλ, χωρίς όμως να είναι γνωστή η ακριβής βιολογική του λειτουργία. Παρόμοια, το *DNAJB14*, το οποίο ανήκει στην οικογένεια των γονιδίων DnaJ που εμπλέκονται στη σωστή αναδίπλωση πρωτεϊνών υπό συνθήκες στρες, παρουσιάζει συσχέτιση με την κατανάλωση αλκοόλ, αλλά δεν έχει διευκρινιστεί ο ρόλος του στον εθισμό ή τον μεταβολισμό του αλκοόλ. Τέλος, το *ADH5*, παρότι γνωστό για τη δράση του ως αφυδρογονάση φορμαλδεϋδης, δεν έχει

άμεση συγγένεια με το αλκοόλ, και ο ακριβής του ρόλος στη ρύθμιση της κατανάλωσης παραμένει άγνωστος. Η μελέτη των Clarke et al, είναι η πρώτη μελέτη GWAS που ανιχνεύει σημαντική συσχέτιση του *ADH5* με την κατανάλωση αλκοόλ. Αυτά τα γονίδια αναδεικνύουν την ανάγκη για περαιτέρω έρευνα, ώστε να κατανοηθεί η πιθανή συμμετοχή τους στις βιολογικές διεργασίες που σχετίζονται με την κατανάλωση αλκοόλ και τον εθισμό.

Η ανάλυση των Clarke et al, περιλάμβανε τη χρήση πολυγονιδιακών σκορ κινδύνου (Polygenic Risk Scores, PRS), τα οποία υπολογίζουν τη συνολική γενετική επιβάρυνση ενός ατόμου για την ανάπτυξη αλκοολισμού. Τα PRS δημιουργούνται με το συνδυασμό πολλαπλών γενετικών παραλλαγών (SNPs) που έχουν προκύψει από μελέτες συσχέτισης σε όλο το γονιδίωμα (GWAS) και συνδέονται με την κατανάλωση αλκοόλ. Κάθε παραλλαγή έχει μικρή επίδραση, αλλά όταν συνδυάζονται, οι παραλλαγές αυτές παράγουν ένα συνολικό σκορ, το οποίο αντιπροσωπεύει τον κίνδυνο ανάπτυξης της συγκεκριμένης συμπεριφοράς ή της ασθένειας. Στην προκειμένη περίπτωση, τα PRS χρησιμοποιήθηκαν για να εκτιμηθεί η γενετική συμβολή στην προδιάθεση για αλκοολισμό σε ανεξάρτητα δείγματα, επιβεβαιώνοντας τη γενετική σύνδεση της κατανάλωσης αλκοόλ.

3.6. Εφαρμογή των GWAS στην κατανόηση των Μοριακών Μηχανισμών της διαταραχής χρήσης αλκοόλ.

Η μελέτη της AUD έχει επωφεληθεί σημαντικά από τις μεθόδους GWAS, οι οποίες παρέχουν έναν ολοκληρωμένο τρόπο για την ανίχνευση πολυγονιδιακών παραλλαγών που σχετίζονται με την κατανάλωση αλκοόλ και την εξάρτηση. Τα αποτελέσματα από GWAS μελέτες έχουν ήδη αναδείξει σημαντικούς γενετικούς στόχους που σχετίζονται με το AUD. Αυτά περιλαμβάνουν γονίδια που ρυθμίζουν τη νευροδιαβίβαση, τη νευροπλαστικότητα και τις απαντήσεις στο στρες. Οι μοριακές αναλύσεις που επικεντρώνονται σε συγκεκριμένους νευροδιαβιβαστές και νευρωνικά κυκλώματα παρέχουν έναν κρίσιμο σύνδεσμο ανάμεσα στα γενετικά δεδομένα και στις λειτουργικές αλλαγές που προκύπτουν από την κατανάλωση αλκοόλ (Logrip, 2019).

3.7. CREB: Ένας κρίσιμος Μεταγραφικός Παράγοντας στην εξάρτηση από το αλκοόλ και την ανάπτυξη νευροπλαστικών μηχανισμών.

Το CREB (cAMP response element-binding protein) είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που παίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης ως απόκριση σε ενδοκυτταρικά σήματα (Grantham and Farris, 2019). Στον εγκέφαλο, ο CREB είναι υπεύθυνος για τη ρύθμιση γονιδίων που εμπλέκονται στη νευροπλαστικότητα, την επιβίωση των νευρώνων, καθώς και στη μνήμη και μάθηση. Σχετίζεται άμεσα με την ανάπτυξη της εξαρτητικής συμπεριφοράς, καθώς επηρεάζει την προσαρμογή των εγκεφαλικών κυκλωμάτων που οδηγεί στην ανταπόκριση σε εθιστικές ουσίες, συμπεριλαμβανομένου του αλκοόλ (Grantham and Farris, 2019).

Η μελέτη των (Chen *et al.*, 2015) διερεύνησε τη γενετική βάση των εγκεφαλικών λειτουργιών που σχετίζονται με τη χρήση αλκοόλ, χρησιμοποιώντας μια καινοτόμο ημι-τυφλή πολυμεταβλητή προσέγγιση, γνωστή ως παράλληλη ανάλυση ανεξαρτήτων συνιστωσών με πολλαπλές αναφορές (pICA-MR). Η μεθοδολογία αυτή συνδύαζε δεδομένα λειτουργικής μαγνητικής τομογραφίας (fMRI) και δεδομένα μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs) από το σύνολο του γονιδιώματος για να αναλύσει τις σχέσεις μεταξύ γενετικών παραλλαγών και εγκεφαλικών ενεργοποιήσεων που προκαλούνται από την έκθεση σε αλκοολικά ερεθίσματα.

Το δείγμα της μελέτης περιλάμβανε 315 άτομα με υψηλή κατανάλωση αλκοόλ, οι οποίοι στρατολογήθηκαν από την περιοχή του Albuquerque. Για να συμπεριληφθούν στη μελέτη, οι συμμετέχοντες έπρεπε να έχουν καταναλώσει αλκοόλ τουλάχιστον πέντε φορές τον τελευταίο μήνα, με τουλάχιστον πέντε ποτά ανά περίπτωση για τους άντρες και τέσσερα για τις γυναίκες. Από αυτούς τους συμμετέχοντες, το 61% και το 80% πληρούσαν τα κριτήρια του DSM-IV για εξάρτηση και κατάχρηση αλκοόλ αντίστοιχα. Οι συμμετέχοντες έδωσαν δείγματα σάλιου για γενετική ανάλυση και υποβλήθηκαν σε μαγνητική τομογραφία κατά τη διάρκεια πειραμάτων που εξέταζαν την επιθυμία για αλκοόλ. Στα αποτελέσματα της μελέτης (Chen *et al.*, 2015), η γενετική συνιστώσα που προέρχεται από την οδό *CREB-BDNF* βρέθηκε να σχετίζεται σημαντικά με υπερδραστηριότητα στον εγκέφαλο, συγκεκριμένα στον προσφηνοειδή λοβό, τον ανώτερο βρεγματικό λοβό και τον οπίσθιο προσαγωγό. Η οδός *CREB-BDNF* αναφέρεται σε μια βιολογική αλληλεπίδραση μεταξύ του cAMP-response element-binding protein (CREB) και του brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Η συσχέτιση μεταξύ της γενετικής συνιστώσας και της εγκεφαλικής ενεργοποίησης ήταν

αρνητική ($r = -0.38$, $P = 3.98 \times 10^{-12}$), δείχνοντας ότι οι συμμετέχοντες με υψηλότερο γενετικό φορτίο παρουσίασαν μικρότερη ενεργοποίηση στις εγκεφαλικές περιοχές. Επιπλέον, βρέθηκε ότι η γενετική συνιστώσα περιλάμβανε και άλλα γονίδια, όπως τα *GRM5*, *GRM7*, *GRID1*, *GRIN2A*, *PRKCA* και *PRKCB*, τα οποία σχετίζονται με τη σηματοδότηση του γλουταμινικού και τη ρύθμιση της συναπτικής πλαστικότητας. Αυτά τα γονίδια διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη μνήμη, τη μάθηση και τη νευρική προσαρμογή, όλα τα οποία μπορεί να επηρεάσουν την ανάπτυξη της εξάρτησης από το αλκοόλ (Chen *et al.*, 2015).

Η χρόνια κατανάλωση αλκοόλ έχει βρεθεί ότι επηρεάζει τη δραστηριότητα του *CREB* σε περιοχές του εγκεφάλου όπως ο ιππόκαμπος και το μεταιχμιακό σύστημα, που εμπλέκονται στη συναισθηματική ρύθμιση και την ανταμοιβή. Η ενεργοποίηση του *CREB* αυξάνει την έκφραση νευροτροφικών παραγόντων, όπως το BDNF, το οποίο είναι απαραίτητο για τη συντήρηση και την πλαστικότητα των νευρώνων (Grantham and Farris, 2019).

Η μείωση της δραστηριότητας του *CREB* που προκαλείται από τη χρόνια έκθεση σε αλκοόλ οδηγεί σε μειωμένη σύνθεση *BDNF*, το οποίο με τη σειρά του επηρεάζει αρνητικά τη νευροπλαστικότητα και τη μακροπρόθεσμη συναπτική ενίσχυση (LTP) (Grantham and Farris, 2019). Η μείωση αυτής της συναπτικής ενίσχυσης έχει συνδεθεί με την εξασθένηση της μνήμης και της μάθησης σε αλκοολικούς ασθενείς. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι η δυσλειτουργία του *CREB* αυξάνει την ευαισθησία σε συμπεριφορές εξάρτησης, επιδεινώνοντας την εξάρτηση από το αλκοόλ.

3.8. Ο ρόλος των Μη Κωδικοποιημένων RNA στην προδιάθεση του αλκοολισμού.

Οι σύγχρονες έρευνες στον τομέα της γενετικής προδιάθεσης για τον αλκοολισμό έχουν αναδείξει τη σημασία των μη κωδικοποιημένων RNA (ncRNAs), όπως τα microRNAs (miRNAs) και τα long non-coding RNAs (lncRNAs), ως σημαντικούς ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης (Mayfield, 2017). Τα miRNAs δρουν καταστέλλοντας τη μετάφραση των mRNAs, οδηγώντας στη μείωση της παραγωγής πρωτεϊνών που εμπλέκονται σε κρίσιμες βιολογικές διεργασίες, όπως η νευροπλαστικότητα και η νευρωνική ανάπτυξη. Στην περίπτωση του αλκοολισμού, έχουν αναγνωριστεί

συγκεκριμένα miRNAs που σχετίζονται με την προδιάθεση για εξάρτηση (Mayfield, 2017).

Συγκεκριμένα, το miR-206 έχει αναγνωριστεί ως κρίσιμος ρυθμιστής της έκφρασης του γονιδίου *BDNF* (Brain-Derived Neurotrophic Factor). Το *BDNF* είναι μια πρωτεΐνη που διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στη νευροπλαστικότητα, την ανάπτυξη των νευρώνων και τη διατήρηση της συναπτικής λειτουργίας. Η αυξημένη έκφραση του miR-206 στον εγκέφαλο ατόμων με αλκοολισμό έχει ως αποτέλεσμα την καταστολή της παραγωγής του *BDNF*, οδηγώντας σε μειωμένη νευροπλαστικότητα και αλλαγές στη νευρωνική συνδεσιμότητα. Αυτές οι μεταβολές στη δομή και λειτουργία του εγκεφάλου θεωρούνται θεμελιώδεις για την ανάπτυξη και διατήρηση της εξαρτησιογόνου συμπεριφοράς (Mayfield, 2017). Η αναγνώριση συγκεκριμένων SNPs που επηρεάζουν την έκφραση του miRNA124a, το οποίο ρυθμίζει το *BDNF*, παρέχει έναν άμεσο σύνδεσμο μεταξύ των γενετικών παραλλαγών που ανιχνεύονται μέσω GWAS και των μοριακών μηχανισμών που επηρεάζουν την κατανάλωση αλκοόλ (Logrip, 2019).

Επιπλέον, τα lncRNAs, όπως το *NEAT2* (MALAT1), παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της συναπτογένεσης και της συναπτικής πυκνότητας. Το *NEAT2* έχει βρεθεί να εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στον εγκέφαλο ατόμων με αλκοολισμό, γεγονός που υποδηλώνει ότι συμβάλλει στην αναδιάρθρωση των νευρωνικών συνδέσεων, επηρεάζοντας τη λειτουργία των εγκεφαλικών κυκλωμάτων που σχετίζονται με την εξάρτηση από το αλκοόλ (Mayfield, 2017).

Η γενετική προδιάθεση για τον αλκοολισμό δεν περιορίζεται μόνο στα ncRNAs, καθώς οι γενετικές μελέτες συσχέτισης σε όλο το γονιδίωμα (GWAS) έχουν αποκαλύψει γονίδια όπως το *ADH1B*, που ανήκει στην οικογένεια των γονιδίων της αλκοολικής αφυδρογονάσης (ADH). Οι πολυμορφισμοί στο γονίδιο αυτό έχουν συνδεθεί με αυξημένη ή μειωμένη ευαισθησία στην κατανάλωση αλκοόλ, και οι αλληλεπιδράσεις τους με τα ncRNAs υποδεικνύουν πιθανούς νέους μοριακούς μηχανισμούς που ρυθμίζουν την εξάρτηση. Τα miRNAs μπορούν να επηρεάσουν την έκφραση των ενζύμων που παράγονται από αυτά τα γονίδια, μεταβάλλοντας τη μεταβολική απόκριση στο αλκοόλ και, κατ' επέκταση, την ευαισθησία ενός ατόμου στην εξάρτηση.

3.9. Ρύθμιση Γονιδιακής Έκφρασης μέσω microRNA

Η τεχνολογία GWAS έχει εντοπίσει παραλλαγές στα γονίδια που σχετίζονται με τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, συμπεριλαμβανομένων γονιδίων όπως το *CRF1*, το οποίο εμπλέκεται στο σύστημα της κορτικοτροπίνης, ένα σύστημα που ρυθμίζει τις αντιδράσεις του οργανισμού στο στρες και συνδέεται με την αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ. Επιπλέον, η οδός mTOR (mammalian target of rapamycin), που είναι ζωτικής σημασίας για τη ρύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης και της σύνθεσης πρωτεϊνών, έχει αναγνωριστεί ως κεντρική οδός μέσω GWAS σε συνδυασμό με μοριακές αναλύσεις. Οι πρωτεΐνες όπως η Cmp2 και η Prosarip1, οι οποίες συνδέονται με τη λειτουργία της mTOR και τη δενδριτική ανάπτυξη, έχουν βρεθεί να επηρεάζονται από την υπερκατανάλωση αλκοόλ. Αυτές οι μοριακές αλλαγές, που αναδεικνύονται μέσω μοριακών τεχνικών όπως η TRAP, αποκαλύπτουν πώς το αλκοόλ μπορεί να επηρεάσει την πλαστικότητα των συνάψεων, οδηγώντας σε νευροπροσαρμογές που συμβάλλουν στην εξάρτηση (Logrip, 2019).

3.10. Η χρήση Γενετικής Τροποποίησης για τη λειτουργική ανάλυση Γενετικών Παραλλαγών GWAS

Σύμφωνα με τους (Logrip, 2019), τα ευρήματα από GWAS δεν περιορίζονται απλώς στον εντοπισμό γενετικών παραλλαγών. Η τεχνολογία της γενετικής τροποποίησης, όπως η CRISPR/Cas9, οι TALENs και οι ZNFs, παρέχει τα εργαλεία για τη λειτουργική ανάλυση αυτών των παραλλαγών. Τα εργαλεία αυτά επιτρέπουν την ακριβή επεξεργασία του γονιδιώματος σε ζωντανά μοντέλα, αποκαλύπτοντας τον λειτουργικό ρόλο των γονιδίων που έχουν συνδεθεί με το AUD. Για παράδειγμα, η χρήση CRISPR για την επεξεργασία των SNPs που έχουν εντοπιστεί μέσω GWAS σε γονίδια όπως το *CRF1* μπορεί να αποκαλύψει τον άμεσο ρόλο αυτών των γονιδίων στη ρύθμιση της κατανάλωσης αλκοόλ και της αντίδρασης στο στρες. Παράλληλα, η συνδυαστική χρήση τεχνολογιών όπως οι TALENs και οι ZNFs προσφέρει ακόμη περισσότερες δυνατότητες για στοχευμένες επεμβάσεις, επιτρέποντας πιο λεπτομερή μελέτη των μοριακών μηχανισμών που συμβάλλουν στην εξάρτηση από το αλκοόλ.

Η ενσωμάτωση των ευρημάτων από GWAS με τις μοριακές τεχνικές που αναλύουν την έκφραση και τη ρύθμιση των γονιδίων προσφέρει ένα ολοκληρωμένο πλαίσιο για την κατανόηση της γενετικής προδιάθεσης και των μοριακών μηχανισμών που διέπουν τη Διαταραχή Χρήσης Αλκοόλ. Μέσω της χρήσης προηγμένων τεχνολογιών, όπως η

CRISPR και η TRAP, καθίσταται εφικτή η λεπτομερής μελέτη των λειτουργικών επιπτώσεων των SNPs που εντοπίζονται σε GWAS, ανοίγοντας νέους ορίζοντες για την ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών που θα στοχεύουν συγκεκριμένες γενετικές και μοριακές οδούς που εμπλέκονται στον αλκοολισμό.

3.11. Ρύθμιση Μεταβολισμού μέσω των Υποδοχέων PPAR

Οι υποδοχείς PPAR (Peroxisome Proliferator-Activated Receptors) έχουν αναδειχθεί επίσης ως σημαντικοί ρυθμιστές της κατανάλωσης αλκοόλ μέσω της ρύθμισης του μεταβολισμού, όπως δείχνουν διάφορες μελέτες σε πειραματόζωα.

Στη μελέτη των Blednov *et al.* (2015), χρησιμοποιήθηκαν ποντίκια με γενετική προδιάθεση για υψηλή κατανάλωση αλκοόλ, τα οποία εκτέθηκαν σε αγωνιστές των PPAR-α και PPAR-γ υποδοχέων. Οι ερευνητές προχώρησαν σε πειράματα μακροχρόνιας πρόσληψης αιθανόλης, καταγράφοντας μείωση στην εκούσια κατανάλωση αιθανόλης στα ποντίκια που υποβλήθηκαν στη θεραπεία με τους αγωνιστές αυτούς. Συγκεκριμένα, η μελέτη (Blednov *et al.*, 2015) αξιοποίησε το πειραματικό πρωτόκολλο δύο φιαλών (two-bottle choice), όπου τα ποντίκια είχαν πρόσβαση σε αιθανόλη και νερό και η κατανάλωση αιθανόλης καταγράφηκε σε διαρκείς χρονικές περιόδους. Το δείγμα αποτελείτο από γενετικά τροποποιημένα ποντίκια, στα οποία ενεργοποιήθηκαν διαφορετικοί τύποι υποδοχέων PPAR με τη χορήγηση αγωνιστών όπως η φενοφιμπράτη (για τον PPAR-α) και η ροσιγλιταζόνη (για τον PPAR-γ). Οι μετρήσεις έγιναν με τη χρήση τεχνικών παρακολούθησης κατανάλωσης αιθανόλης και παρατήρησης της συμπεριφοράς, ώστε να αξιολογηθεί η επίδραση των αγωνιστών στην επιθυμία των ποντικών για αλκοόλ.

Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική μείωση στην κατανάλωση αλκοόλ, γεγονός που υποδεικνύει ότι οι υποδοχείς PPAR μπορεί να αποτελέσουν πολλά υποσχόμενους θεραπευτικούς στόχους για την αντιμετώπιση της εξάρτησης από το αλκοόλ. Αυτή η μελέτη τονίζει τη δυνατότητα παρέμβασης στα μονοπάτια μεταβολισμού που ρυθμίζουν την κατανάλωση αλκοόλ μέσω φαρμακευτικής αγωγής (Blednov *et al.*, 2015)

Ταυτόχρονα, πραγματοποιήθηκε μια ανεξάρτητη ανάλυση με τη χρήση δεδομένων από την έρευνα Collaborative Study on the Genetics of Alcoholism (COGA), η οποία επικεντρώθηκε σε μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (SNPs) γονιδίων που

σχετίζονται με τους υποδοχείς PPAR. Σε αυτήν την ανάλυση GWAS, εξετάστηκαν τα δεδομένα χιλιάδων ατόμων με ή χωρίς διαταραχές χρήσης αλκοόλ, βάσει των διαγνωστικών κριτηρίων του DSM-IV.

Οι στατιστικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν προηγμένες τεχνικές γενετικής συσχέτισης, οι οποίες συνέκριναν την παρουσία SNPs στα γονίδια PPAR-α και PPAR-γ με φαινότυπους όπως η εξάρτηση από το αλκοόλ και τα συμπτώματα απόσυρσης. Τα ευρήματα της ανάλυσης GWAS έδειξαν ότι οι SNPs στο γονίδιο PPAR-GC1A σχετίζονται με την εξάρτηση, ενώ SNPs στα PPAR-α και PPAR-γ συνδέθηκαν με τα συμπτώματα απόσυρσης (Blednov *et al.*, 2015)

Η πειραματική μελέτη σε ποντίκια προσφέρει μια μοριακή βάση για την κατανόηση των μηχανισμών που ρυθμίζουν την κατανάλωση αλκοόλ, ενώ η ανάλυση GWAS επιβεβαιώνει τη σημασία των συγκεκριμένων γενετικών παραλλαγών σε ανθρώπους, προσφέροντας πληροφορίες για τον γενετικό κίνδυνο εξάρτησης από το αλκοόλ. Η συνδυαστική προσέγγιση της πειραματικής μεθοδολογίας και της ανάλυσης GWAS παρέχει μια ολοκληρωμένη κατανόηση της γενετικής και μοριακής βάσης της εξάρτησης από το αλκοόλ, υποδεικνύοντας τόσο τη σημασία των υποδοχέων PPAR όσο και τη δυνητική χρήση τους ως θεραπευτικούς στόχους.

3.12. Νευροβιολογικοί μηχανισμοί που επηρεάζουν την παρορμητικότητα και την αλκοολική συμπεριφορά.

Οι μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων και περιβάλλοντος εξετάζουν πώς εξωτερικοί παράγοντες, όπως το ψυχολογικό στρες, επηρεάζουν την έκφραση των γονιδίων, οδηγώντας σε διαφορετικές εκβάσεις συμπεριφοράς ή ψυχολογίας. Παρά την επιτυχία των GWAS στον εντοπισμό πολυμορφισμών που σχετίζονται με το αλκοόλ, έχουν ορισμένους περιορισμούς. Οι GWAS αναζητούν στατιστικές συσχετίσεις μεταξύ εκατομμυρίων SNPs και του φαινοτύπου, ωστόσο οι συμπεριφορικές επιδράσεις που εντοπίζονται είναι συχνά μικρής ισχύος. Ενώ έχουν βρεθεί γονίδια όπως το ADH1B και το GABRA2 μέσω GWAS, οι επιπτώσεις αυτών των γονιδίων στη συμπεριφορά είναι περιορισμένες χωρίς ταυτόχρονα δεδομένα από μελέτες διδύμων (Nayak, Roth and McGavern, 2014) (Gupta *et al.*, 2020).

Οι μελέτες διδύμων είναι κρίσιμες για την κατανόηση του συνολικού γενετικού και περιβαλλοντικού αντίκτυπου, επειδή μπορούν να απομονώσουν με μεγαλύτερη

ακρίβεια τις επιπτώσεις των γονιδίων που σχετίζονται με τη συμπεριφορά, κάτι που είναι πιο δύσκολο να επιτευχθεί μέσω GWAS.

Η μελέτη των (Bevilacqua *et al.*, 2010) αναγνώρισε την παραλλαγή Q20*, ένα κωδικόνιο λήξης στο γονίδιο του υποδοχέα της σεροτονίνης 2B (HTR2B), και τη συσχέτισε με αυξημένη παρορμητικότητα στον φινλανδικό πληθυσμό. Οι (Tikkanen *et al.*, 2015) διερεύνησαν περαιτέρω τη συμπεριφορική επίδραση αυτής της μετάλλαξης, αναλύοντας τα χαρακτηριστικά 14 ετερόζυγων φορέων της HTR2B Q20* σε σύγκριση με 156 υγιή άτομα που δεν έφεραν τη μετάλλαξη. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν εργαλεία όπως το Τρισδιάστατο Ερωτηματολόγιο Προσωπικότητας (TPQ), την Κλίμακα Επιθετικότητας Brown-Goodwin, το Τεστ Ελέγχου Αλκοολισμού του Μίσιγκαν (MAST) και συνεντεύξεις για το ιστορικό κατανάλωσης αλκοόλ. Οι συμμετέχοντες αξιολογήθηκαν σε συνθήκες νηφαλιότητας, υπό την άμεση επήρεια αλκοόλ και κατά την κατανάλωση αλκοόλ σε ελεγχόμενο περιβάλλον. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι φορείς της μετάλλαξης παρουσίασαν αυξημένη παρορμητικότητα και επιθετικότητα, ιδιαίτερα υπό την επήρεια αλκοόλ, καθώς και χαρακτηριστικά εξάρτησης από ανταμοιβή. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι η παραλλαγή HTR2B Q20* επηρεάζει σημαντικά την αλκοολική συμπεριφορά και την προδιάθεση σε αλκοολισμό, αποδεικνύοντας την επίδραση συγκεκριμένων γενετικών παραλλαγών στην εκδήλωση παρορμητικών και επιθετικών συμπεριφορών.

3.13. Χρησιμότητα ανάλυσης του βιοδείκτη CDT στη διάγνωση της κατάχρησης αλκοόλ.

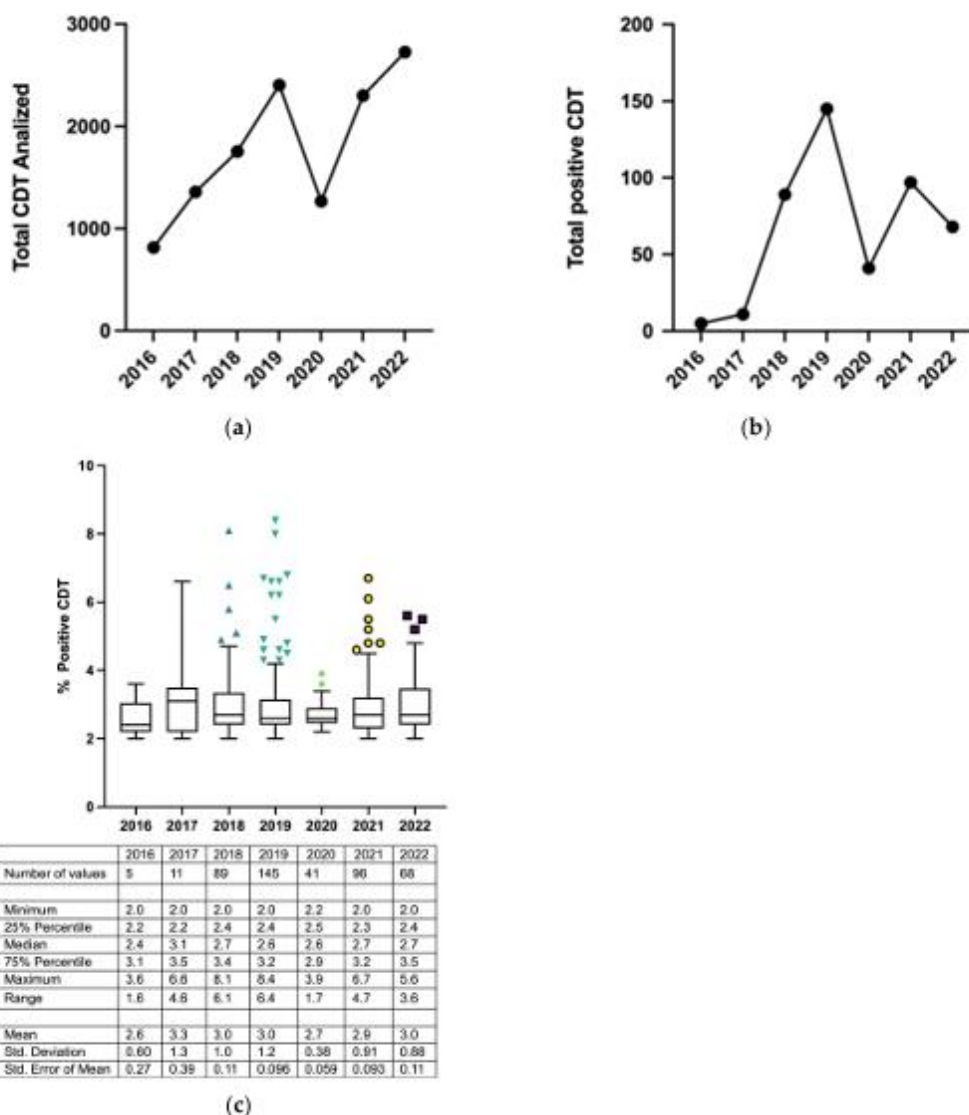
Στη συγκεκριμένη μελέτη (Fiorelli *et al.*, 2023), η ανάλυση του βιοδείκτη *Carbohydrate-Deficient Transferrin (CDT)* πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της τεχνικής υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC). Το δείγμα της μελέτης επιλέχθηκε βάσει συγκεκριμένων κριτηρίων, καθώς περιελάμβανε 12.624 άτομα που είχαν καταδικαστεί για οδήγηση υπό την επήρεια αλκοόλ ή ναρκωτικών, με την ανάλυση να αφορά όσους είχαν ανακληθεί οι άδειες οδήγησής τους από τις αρμόδιες τοπικές ιατρικές επιτροπές (Local Medical Committees). Το δείγμα αποτελούνταν κατά 88% από άνδρες, με ηλικίες από 15 έως 88 ετών, ενώ τα δεδομένα συλλέχθηκαν ανώνυμα. Για να εξεταστεί η κατανομή των θετικών αποτελεσμάτων του CDT σε διάφορες ηλικιακές ομάδες και να αναλυθούν οι τάσεις της κατανάλωσης αλκοόλ με την πάροδο του χρόνου, καταγράφηκαν τα ποσοστά των θετικών αποτελεσμάτων από το 2016 έως το 2022. Η κατανομή ανά ηλικία παρέχει σημαντικά δεδομένα για την κατανόηση των ομάδων που παρουσιάζουν μεγαλύτερη επιρρέπεια στην χρόνια κατανάλωση αλκοόλ, όπως επίσης και τις διαφοροποιήσεις που μπορεί να υπάρχουν μεταξύ των ετών. Ο παρακάτω πίνακας καταγράφει τα ποσοστά θετικών αποτελεσμάτων CDT για τις βασικές ηλικιακές ομάδες.

Age Group	%Positive CDT						
	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
<18	0 (0/0)	0 (0/0)	0 (0/3)	50.0 (1/2)	0 (0/0)	0 (0/2)	0 (0/1)
18-30	0.73 (2/274)	0.25 (1/405)	3.98 (19/477)	3.9 (23/589)	3.22 (10/311)	2.78 (13/467)	2.28 (11/483)
31-40	0.71 (2/283)	1.12 (5/445)	4.08 (22/539)	5.32 (42/789)	3.05 (12/394)	3.61 (28/775)	2.74 (25/911)
41-50	0 (0/182)	1.24 (4/322)	6.91 (32/463)	6.3 (39/619)	3.41 (12/352)	4.97 (30/604)	2.91 (22/757)
51-60	0 (0/59)	0.74 (1/135)	4.69 (10/213)	9.21 (28/304)	2.01 (3/149)	5.98 (21/351)	1.19 (5/421)
61-70	7.14 (1/14)	0 (0/43)	9.8 (5/51)	9.46 (7/74)	6.82 (3/44)	4.6 (4/87)	3.03 (4/132)
>70	0 (0/3)	0 (0/8)	12.5 (1/8)	18.52 (5/27)	5.88 (1/17)	6.67 (1/15)	5 (1/20)

Πίνακας 4. Κατανομή θετικών αποτελεσμάτων CDT ανά ηλικία και έτος (Fiorelli *et al.*, 2023).

Ο πίνακας δείχνει ότι οι ηλικιακές ομάδες 41-50 και 51-60 ετών είχαν το υψηλότερο ποσοστό θετικών αποτελεσμάτων CDT, υποδεικνύοντας ότι οι μεσήλικες άνδρες είναι πιο επιρρεπείς στη χρόνια κατανάλωση αλκοόλ.

Τα δείγματα αίματος συλλέχθηκαν με το σύστημα Vacutainer και φυγοκεντρήθηκαν, πριν αποθηκευτούν σε συνθήκες κατάψυξης (-20°C) μέχρι την ανάλυση. Ο διαχωρισμός των γλυκομορφών της τρανσφερίνης πραγματοποιήθηκε με ανιοντική ανταλλακτική χρωματογραφία σε στήλη, με τη χρήση ενός συστήματος HPLC Agilent 1260 Infinity II. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως ποσοστό CDT (%CDT), δηλαδή η αναλογία των ασιαλο-, μονοσιαλο- και δισιαλο-τρανσφερίνης σε σχέση με τη συνολική τρανσφερίνη. Η ασιαλο-τρανσφερίνη είναι η μορφή της τρανσφερίνης χωρίς κανένα συνδεδεμένο μόριο σιαλικού οξέος, ενώ η μονοσιαλο-τρανσφερίνη έχει μόνο ένα μόριο σιαλικού οξέος. Αυτές οι μορφές προκύπτουν λόγω της υπερβολικής κατανάλωσης αλκοόλ, καθώς η κανονική τρανσφερίνη συνήθως έχει περισσότερα μόρια σιαλικού οξέος (εξασιαλο- και πεντασιαλο-τρανσφερίνη). Όταν η κατανάλωση αλκοόλ ξεπερνά τα 50 g την ημέρα για περισσότερο από μία εβδομάδα, αυξάνεται το ποσοστό των χαμηλά γλυκοσυλιωμένων μορφών της τρανσφερίνης, με την αύξηση της δισιαλο-τρανσφερίνης να είναι ο κύριος δείκτης της κατάχρησης. Συγκεντρώσεις CDT ίσες ή μεγαλύτερες από 2% θεωρήθηκαν θετικές. Η ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό GraphPad Prism 9.1.1, όπου τα δεδομένα παρουσιάστηκαν σε μορφή ποσοστών και συνεχών τιμών, με υπολογισμό μέσων τιμών και εύρους. Ως εκ τούτου, το CDT είναι ένας αποτελεσματικός βιοδείκτης μακροχρόνιας υπερκατανάλωσης αλκοόλ, αλλά δεν είναι ευαίσθητος σε περιστασιακή ή εκρηκτική κατανάλωση αλκοόλ (binge drinking).



Εικόνα 2. Εξέλιξη Συνολικών Τεστ CDT, Θετικών Αποτελεσμάτων και Ποσοστών Θετικών Αποτελεσμάτων (2016-2022).

Η 1.α παρουσιάζει τον συνολικό αριθμό τεστ CDT που πραγματοποιήθηκαν από το 2016 έως το 2022, με σταδιακή αύξηση μέχρι το 2019 και μείωση το 2020 λόγω της πανδημίας. Το 2022 καταγράφηκε το μέγιστο αριθμητικό μέγεθος με 2725 τεστ. Στην 1.β, φαίνεται ο συνολικός αριθμός θετικών τεστ CDT, με το 2019 να καταγράφει την κορύφωση με 145 θετικά αποτελέσματα, ενώ το 2020 σημειώθηκε σημαντική πτώση με 41 θετικά αποτελέσματα. Η 1.γ απεικονίζει τα μέσα ετήσια ποσοστά θετικών αποτελεσμάτων CDT, με το 2019 να εμφανίζει το υψηλότερο ποσοστό, ενώ τα επόμενα χρόνια παρατηρείται μείωση (Fiorelli *et al.*, 2023).

3.14. Επίδραση των γενετικών παραλλαγών στην αξιοπιστία του βιοδείκτη CDT και εξατομικευμένη ανάλυση.

Οι επιστήμονες (Fiorelli et al., 2023) επέλεξαν τον CDT ως βασικό βιοδείκτη επειδή προηγούμενες μελέτες είχαν ήδη δείξει ότι προσφέρει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα στην ανίχνευση της μακροχρόνιας κατανάλωσης αλκοόλ, σε σύγκριση με άλλους βιοδείκτες, όπως τα ηπατικά ένζυμα (GGT, ALT, AST) και ο μέσος όγκος των ερυθρών αιμοσφαιρίων (MCV). Αυτές οι προηγούμενες μελέτες είχαν καθιερώσει τον CDT ως τον πλέον αξιόπιστο δείκτη για τη διάγνωση της χρόνιας κατάχρησης αλκοόλ, καθώς παρέχει πιο σταθερά αποτελέσματα σε σχέση με άλλους δείκτες που μπορεί να επηρεάζονται από δευτερεύουσες παθήσεις του ήπατος ή άλλους παράγοντες. Επίσης, λόγω της μεγάλης διάρκειας ημιζωής του CDT (περίπου 14-17 ημέρες), είναι κατάλληλος για την παρακολούθηση της κατανάλωσης αλκοόλ σε μακροχρόνιο πλαίσιο, σε αντίθεση με άλλους βιοδείκτες που δεν έχουν τόσο μεγάλη διάρκεια ανίχνευσης. Σε αντίθεση με δείκτες όπως το GGT, που επηρεάζονται από ηπατικές παθήσεις όπως η λιπώδης ηπατοπάθεια, το CDT ανταποκρίνεται πιο άμεσα στις αλλαγές στην κατανάλωση αλκοόλ και είναι αποτελεσματικό στη διάκριση ανάμεσα σε αλκοολική και μη αλκοολική λιπώδη ηπατοπάθεια.

Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας που ενσωματώθηκε στη μελέτη ήταν η εξέταση των γενετικών παραλλαγών (genetic variants) της τρανσφερίνης, οι οποίες μπορούν να επηρεάσουν τα αποτελέσματα της ανάλυσης του CDT. Κατά την περίοδο από το 2016 έως το 2022, εντοπίστηκαν 132 περιπτώσεις γενετικών παραλλαγών στη δομή της τρανσφερίνης. Οι παραλλαγές αυτές μπορεί να οδηγήσουν σε μη μετρήσιμα ή εσφαλμένα αποτελέσματα, καθώς αλλοιώνουν τη δομή της τρανσφερίνης, καθιστώντας δύσκολη την αξιόπιστη μέτρηση του CDT. Παραλλαγές όπως οι μονοκλωνικές και σπάνιες παραλλαγές επηρεάζουν τη φυσιοχημική συμπεριφορά της τρανσφερίνης και έχουν περιγραφεί σε διάφορες μελέτες ως παράγοντες που προκαλούν μη ερμηνεύσιμα ή μη μετρήσιμα αποτελέσματα. Η πλειοψηφία των παραλλαγών εντοπίστηκε στους άνδρες, γεγονός που δείχνει ότι αυτές οι παραλλαγές είναι πιο συχνές στο ανδρικό φύλο. Οι επιστήμονες της μελέτης έδωσαν ιδιαίτερη προσοχή σε αυτές τις παραλλαγές κατά την ανάλυση των δεδομένων, καθώς η σωστή διάγνωση απαιτεί τη συνεκτίμηση των γενετικών διαφορών. Αυτές οι παραλλαγές ενισχύουν την ανάγκη για εξατομικευμένη προσέγγιση στην ανάλυση του CDT, καθιστώντας τη διαδικασία πιο ακριβή και αξιόπιστη. Η σημασία της κατανόησης των γενετικών διαφορών στην

τρανσφερίνη είναι κρίσιμη για την αποφυγή ψευδών θετικών ή αρνητικών αποτελεσμάτων.

% of Genetic Variants Split by Gender							
	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
Males	0.7% (5/712)	0.4% (5/1226)	1% (16/1576)	1.2% (26/2093)	0.9% (10/1113)	1.3% (27/2018)	1.4% (32/2375)
Females	0% (0/103)	0.8% (1/132)	1.1% (2/178)	0.6% (2/311)	2.6% (4/154)	0.4% (1/283)	0.3% (1/350)

Πίνακας 5. Συχνότητα και Κατανομή Γενετικών Παραλλαγών της Τρανσφερίνης ανά Φύλο (2016-2022).

Τα δεδομένα δείχνουν ότι οι περισσότερες παραλλαγές εντοπίστηκαν στους άνδρες (123 περιπτώσεις), ενώ μόλις 9 περιπτώσεις καταγράφηκαν στις γυναίκες. Αυτό υποδεικνύει ότι οι γενετικές παραλλαγές της τρανσφερίνης εμφανίζονται πιο συχνά στους άνδρες, με μια αναλογία 1.25:1 μεταξύ ανδρών και γυναικών. Η ανάλυση ανά έτος αποκαλύπτει μια αύξηση στον αριθμό των γενετικών παραλλαγών με αποκορύφωμα το 2019 και το 2022, κατά τα οποία καταγράφηκαν 28 και 33 παραλλαγές αντίστοιχα (Fiorelli *et al.*, 2023).

4. Ο ρόλος της επιγενετικής στην διαταραχή χρήσης αλκοόλ.

Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι τόσο οι γενετικοί όσο και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη του εθισμού στο αλκοόλ. Γενετικές μελέτες σε μοντέλα ανθρώπων και ζώων που προσπαθούν να δώσουν απαντήσεις σε ερευνητικά ερωτήματα που άπτονται του εθισμού στο αλκοόλ έχουν εντοπίσει αρκετά γονίδια που μπορεί να είναι κρίσιμα και να εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία της ανάπτυξης του αλκοολισμού (Crabbe et al., 2006; Spanagel et al., 2010). Παρά τη φαινοτυπική μεταβλητότητα της AUD, οι μελέτες έχουν βρει σταθερά γενετικούς παράγοντες που επηρεάζουν τον κίνδυνο ενός ατόμου να αναπτύξει τη διαταραχή αυτή. Αν και μέχρι σήμερα μελέτες συσχέτισης σε γενετικό επίπεδο έχουν καταφέρει να εντοπίσουν ορισμένες παραλλαγές που σχετίζονται με την AUD, δεν είναι σε θέση να εξηγήσουν πλήρως τη σύνθετη αιτιολογία του AUD. Πρόσφατα, ερευνητές έχουν εστιάσει στη διαλεύκανση επιγενετικών μηχανισμών που οδηγούν σε κληρονομικές αλλαγές στην γονιδιακή έκφραση χωρίς να προκαλούν αλλαγές στην υποκείμενη αλληλουχία του DNA, ως ένα αξιόλογο πεδίο έρευνας για περαιτέρω κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται σε πολυάριθμες ασθένειες του ανθρώπου, συμπεριλαμβανομένων των ψυχιατρικών διαταραχών και της εθιστικής χρήσης του αλκοόλ.

4.1. Μεθυλίωση του DNA

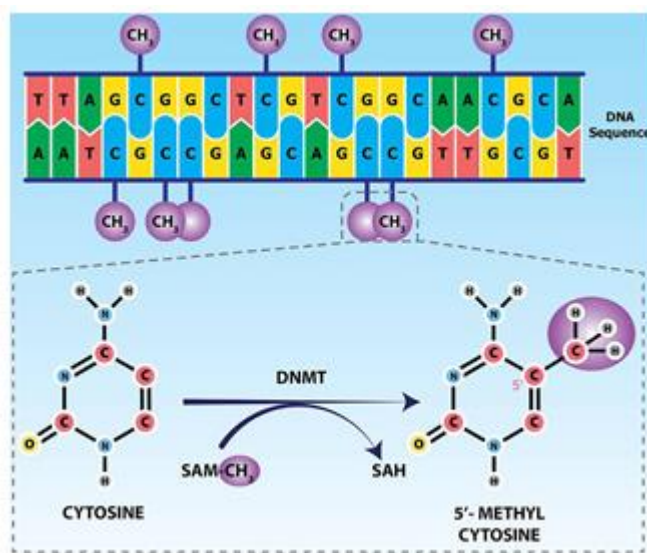
Η μεθυλίωση του DNA είναι ένας από τους πιο ευρέως μελετημένους επιγενετικούς μηχανισμούς στη διαταραχή χρήσης αλκοόλ. Πρόκειται για την προσθήκη ομάδων μεθυλίου στο 5-άνθρακα των κυτοσίνων στις θέσεις CpG του DNA, μια διαδικασία που τείνει να καταστέλλει την έκφραση γονιδίων. Σε καταστάσεις χρόνιου αλκοολισμού, παρατηρούνται αλλαγές στα επίπεδα μεθυλίωσης του DNA σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου που εμπλέκονται στη συμπεριφορά της εξάρτησης, όπως ο ιππόκαμπος, η αμυγδαλή και η έλικα του προσαγωγίου. Οι αλλαγές στη μεθυλίωση επηρεάζουν γονίδια που ρυθμίζουν νευροτροφικούς παράγοντες και κυτταρικούς μηχανισμούς προσαρμογής (Grantham and Farris, 2019).

Για παράδειγμα, η υπερμεθυλίωση γονιδίων που εμπλέκονται στη νευροπλαστικότητα μπορεί να μειώσει τη γονιδιακή έκφραση και να οδηγήσει σε εξασθένηση της μνήμης και της μάθησης, κάτι που παρατηρείται σε χρόνιους χρήστες αλκοόλ. Παράλληλα, η

υπομεθυλίωση άλλων γονιδίων μπορεί να προάγει τη μη φυσιολογική ενεργοποίηση οδών σηματοδότησης, που συνδέονται με τη φλεγμονή και την ανοσολογική απόκριση (Grantham and Farris, 2019).

4.2. Κατανόηση των τροποποιήσεων στη μεθυλίωση του DNA, και πώς αυτές σχετίζονται με την κατάχρηση ουσιών όπως το αλκοόλ.

Η μεθυλίωση του DNA αποτελεί μια επιγενετική τροποποίηση κατά την οποία προστίθεται μια μεθυλομάδα στη βάση κυτοσίνης, που βρίσκεται δίπλα σε γουανίνη (στις θέσεις CpG). Αυτή η διαδικασία επηρεάζει την έκφραση των γονιδίων, είτε καταστέλλοντας είτε ενεργοποιώντας τα. Η επίδραση της μεθυλίωσης στην εξάρτηση από ουσίες όπως το αλκοόλ αποτελεί αντικείμενο έρευνας, καθώς οι αλλαγές στη μεθυλίωση μπορούν να συμβάλουν στην εμφάνιση και την εξέλιξη της εξάρτησης, επιδρώντας στη γονιδιακή έκφραση και τις νευρολογικές λειτουργίες. Η παρούσα μελέτη (Mahna, Puri and Sharma, 2018) διερευνά τη σχέση ανάμεσα στη μεθυλίωση του DNA και την εξάρτηση από το αλκοόλ, εστιάζοντας τόσο σε ανθρώπινα δείγματα όσο και σε ζωικά μοντέλα.



Εικόνα 3. Η διαδικασία της μεθυλίωσης του DNA όπου μια μεθυλομάδα προστίθεται στη βάση κυτοσίνης σε θέσεις CpG, μετατρέποντας την κυτοσίνη σε 5'-μεθυλοκυτοσίνη μέσω της δράσης της DNA μεθυλτρανσφεράσης (DNMT). Αυτή η επιγενετική τροποποίηση μπορεί να επηρεάσει την έκφραση γονιδίων, συνδέοντας τη μεθυλίωση του DNA με τη ρύθμιση νευρολογικών λειτουργιών και την προδιάθεση για εξάρτηση από το αλκοόλ (Mahna, Puri and Sharma, 2018).

Η ανάλυση ξεκίνησε με τη συλλογή δειγμάτων DNA από άτομα με ιστορικό εξάρτησης από αλκοόλ, χρησιμοποιώντας ιστούς όπως αίμα και εγκεφαλικά κύτταρα. Για την αρχική σάρωση των διαφορών στη μεθυλίωση, χρησιμοποιήθηκαν μικροσυστοιχίες μεθυλίωσης DNA μέσω της πλατφόρμας Illumina HumanMethylation450 BeadChip, η οποία επιτρέπει την ανάλυση χιλιάδων περιοχών CpG σε όλο το γονιδίωμα. Αυτή η προσέγγιση ανέδειξε 1812 περιοχές CpG, οι οποίες παρουσίασαν διαφοροποιήσεις στη μεθυλίωση. Το 66,3% αυτών των περιοχών εμφάνισε υπερμεθυλίωση στα δείγματα των αλκοολικών ασθενών, γεγονός που υποδηλώνει ότι η υπερμεθυλίωση ενδέχεται να συμβάλλει στην καταστολή της έκφρασης των γονιδίων που εμπλέκονται στην εξάρτηση από το αλκοόλ.

Αφού εντοπίστηκαν οι διαφοροποιήσεις μέσω των μικροσυστοιχιών, ακολούθησε η μετατροπή με θειώδες νάτριο. Αυτή η τεχνική είναι απαραίτητη για την ανίχνευση της μεθυλίωσης, καθώς μετατρέπει τις μη μεθυλιωμένες κυτοσίνες σε ουρακίλη, αφήνοντας αμετάβλητες τις μεθυλιωμένες κυτοσίνες. Με αυτόν τον τρόπο, οι περιοχές με διαφοροποιημένη μεθυλίωση επιβεβαιώθηκαν, επιτρέποντας πιο στοχευμένη ανάλυση σε συγκεκριμένα γονίδια που επηρεάζονται από την εξάρτηση.

Η τελική ποσοτικοποίηση των αλλαγών στη μεθυλίωση έγινε με τη χρήση της πυροαλληλούχισης (Pyrosequencing). Αυτή η τεχνική παρέχει ακριβείς μετρήσεις των επιπέδων μεθυλίωσης στις περιοχές CpG που είχαν εντοπιστεί προηγουμένως. Ένα από τα βασικά γονίδια που αναλύθηκαν ήταν το OPRM1, το οποίο κωδικοποιεί τον μ-οπιοειδικό υποδοχέα. Το γονίδιο αυτό παρουσίασε υπερμεθυλίωση στον προαγωγέα του, γεγονός που πιθανόν επηρεάζει την έκφρασή του και σχετίζεται με αυξημένη ευαισθησία στην εξάρτηση από οπιούχα και αλκοόλ. Παρομοίως, το BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor), ένα γονίδιο που εμπλέκεται στη νευροπλαστικότητα, έδειξε επίσης υπερμεθυλίωση, οδηγώντας σε μειωμένη έκφραση και επηρεάζοντας τις νευρολογικές λειτουργίες.

Πέρα από αυτά, αναλύθηκαν επίσης τα γονίδια MAOA και PDYN. Το MAOA ρυθμίζει τη διάθεση και την επιθετικότητα μέσω της μεταβολής των νευροδιαβιβαστών, και παρουσίασε διαφοροποιήσεις στη μεθυλίωση, οι οποίες συνδέονται με τη χρήση αλκοόλ και άλλων ουσιών. Το PDYN (prodynorphin), το οποίο εμπλέκεται στις διαδικασίες ανταμοιβής και τη ρύθμιση της συμπεριφοράς, έδειξε σημαντικές αλλαγές

στη μεθυλίωση, κάτι που μπορεί να εξηγήσει τις παρατηρούμενες αλλαγές στη συμπεριφορά και τη μνήμη των εξαρτημένων ατόμων. Ένα από τα γονίδια που φάνηκε να επηρεάζεται σημαντικά είναι το PHOX2A, το οποίο παίζει ρόλο στην ανάπτυξη των νευρώνων. Παρατηρήθηκε ότι το PHOX2A παρουσιάζει υπερμεθυλίωση σε χρόνια αλκοολικούς ασθενείς, γεγονός που συνδέεται με τη σοβαρότητα της εξάρτησης. Η υπερμεθυλίωση στο γονίδιο αυτό μπορεί να καταστείλει την έκφρασή του, οδηγώντας σε διαταραχές στην ανάπτυξη και λειτουργία των νευρώνων, κάτι που μπορεί να εξηγήσει τις νευρολογικές επιπτώσεις που συνδέονται με τον αλκοολισμό.

Εκτός από τις αλλαγές στη μεθυλίωση μεμονωμένων γονιδίων, σε χρόνιους αλκοολικούς ασθενείς παρατηρήθηκε γενικευμένη μειωμένη συνολική μεθυλίωση του DNA, ειδικά στα T-λεμφοκύτταρα. Αυτή η μειωμένη μεθυλίωση έχει συνδεθεί με αλλαγές στην ανοσολογική λειτουργία και μπορεί να επηρεάζει την ανοσολογική απάντηση των ατόμων που είναι εξαρτημένα από το αλκοόλ.

Τα ευρήματα από αυτές τις αναλύσεις ολοκληρώθηκαν με τη χρήση εργαλείων βιοπληροφορικής, που συνέβαλαν στην αναγνώριση των διαφορών στη μεθυλίωση που παρατηρήθηκαν στα γονίδια αυτά. Η μελέτη (Mahna, Puri and Sharma, 2018) κατέδειξε ότι η μεθυλίωση του DNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για τη διάγνωση και την πρόγνωση της εξάρτησης από ουσίες, προσφέροντας μια εις βάθος κατανόηση των επιγενετικών τροποποιήσεων που συνδέονται με τη χρήση αλκοόλ και ναρκωτικών.

4.3. Τροποποιήσεις Ιστονών

Η επιγενετική τροποποίηση των ιστονών, και κυρίως η ακετυλίωση και μεθυλίωση, διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης κατά τη διάρκεια της χρόνιας χρήσης αλκοόλ. Οι ιστόνες είναι πρωτεΐνες γύρω από τις οποίες τυλίγεται το DNA, και η χημική τους τροποποίηση επηρεάζει την προσβασιμότητα του DNA και την πιθανότητα να μεταγραφούν συγκεκριμένα γονίδια (Grantham and Farris, 2019). Η ακετυλίωση των ιστονών (ιδιαίτερα των ιστονών H3 και H4) προάγει την αποσυμπίεση του χρωματίνης, διευκολύνοντας την πρόσβαση των μεταγραφικών παραγόντων στο DNA και ενισχύοντας τη γονιδιακή έκφραση. Σε περιπτώσεις χρόνιας χρήσης αλκοόλ, έχουν παρατηρηθεί αλλαγές στην ακετυλίωση των ιστονών, που

επηρεάζουν γονίδια που ρυθμίζουν τη νευροπλαστικότητα και τη νευρωνική επιβίωση. Η τριμεθυλίωση της ιστόνης H3K4 (H3K4me3) σχετίζεται με περιοχές προαγωγών ενεργών γονιδίων και έχει βρεθεί ότι τροποποιείται σε συνθήκες χρήσης αλκοόλ. Οι επιγενετικές τροποποιήσεις όπως η H3K4me3 έχουν σημαντική επίδραση στην ενεργοποίηση γονιδίων που εμπλέκονται στη νευρωνική προσαρμογή και τη ρύθμιση της μνήμης, κάτι που είναι κρίσιμο για την εξάρτηση (Grantham and Farris, 2019).

4.4. Μη Κωδικά RNAs (ncRNAs)

Ένα κρίσιμο στοιχείο της επιγενετικής προσέγγισης στη μελέτη του αλκοολισμού είναι η συμμετοχή των μη κωδικών RNA (ncRNAs), όπως τα microRNAs (miRNAs) και τα long non-coding RNAs (lncRNAs). Αυτά τα μικρά RNA μόρια ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση σε μεταγραφικό και μετα-μεταγραφικό επίπεδο. Τα miRNAs λειτουργούν καταστέλλοντας τη μετάφραση ή προκαλώντας την αποδόμηση των mRNAs στόχων τους. Στο πλαίσιο της χρόνιας χρήσης αλκοόλ, η δυσλειτουργία ορισμένων miRNAs έχει συνδεθεί με την απορρύθμιση γονιδίων που σχετίζονται με τη νευροπλαστικότητα και τη φλεγμονή. Για παράδειγμα, συγκεκριμένα miRNAs που εμπλέκονται στη ρύθμιση των νευροτροφικών παραγόντων εμφανίζουν διαφοροποιημένη έκφραση σε αλκοολικούς ασθενείς, επηρεάζοντας τη σύνθεση και τη συντήρηση νευρικών κυκλωμάτων.

Τα lncRNAs, που ήταν παραδοσιακά γνωστά ως "γενετικός θόρυβος", παίζουν τώρα καθοριστικό ρόλο στην επιγενετική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Συμμετέχουν στην αποσιώπηση γονιδίων, στη μετατροπή της χρωματίνης και στη μεταφορά μεταγραφικών παραγόντων σε συγκεκριμένες περιοχές του γονιδιώματος. Η αλκοολική εξάρτηση έχει συσχετιστεί με μεταβολές στην έκφραση συγκεκριμένων lncRNAs που επηρεάζουν γονίδια που εμπλέκονται στην ανοσολογική απόκριση και στη νευροπροστασία.

Η χρόνια κατανάλωση αλκοόλ έχει βρεθεί ότι προκαλεί επιγενετικές αλλαγές, όπως η υπομεθυλίωση του DNA, η οποία επηρεάζει τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η υπομεθυλίωση του γονιδίου H19, ενός lncRNA που εμπλέκεται στη ρύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης και αποτύπωσης. Η υπομεθυλίωση του H19 έχει συνδεθεί με αυξημένη κυτταρική διαίρεση και μείωση της

διαφοροποίησης των κυττάρων, γεγονός που οδηγεί σε δομικές αλλαγές στον εγκέφαλο που επηρεάζουν τη συμπεριφορά και τις νευρολογικές λειτουργίες. Η συνεχής κατανάλωση αλκοόλ ενισχύει αυτές τις αλλαγές, δημιουργώντας ένα περιβάλλον στο οποίο οι επιγενετικές τροποποιήσεις καθιστούν μόνιμες τις μεταβολές στη γονιδιακή έκφραση (Mayfield, 2017).

Επιπλέον, τα miRNAs συμμετέχουν σε διαδικασίες επιγενετικής ρύθμισης μέσω της αλληλεπίδρασής τους με τις ιστόνες και την τροποποίηση της χρωματίνης. Για παράδειγμα, το miR-29 έχει βρεθεί ότι επηρεάζει την ακετυλίωση των ιστονών, μια διαδικασία που διευκολύνει την πρόσβαση των μεταγραφικών παραγόντων στο DNA και αυξάνει την γονιδιακή έκφραση. Η διαταραχή αυτών των διαδικασιών σε άτομα με αλκοολισμό οδηγεί σε αλλαγές στις συναπτικές συνδέσεις και στη νευροπλαστικότητα, οι οποίες είναι κρίσιμες για την ανάπτυξη εξαρτησιογόνων συμπεριφορών (Mayfield, 2017).

Η επιγενετική ρύθμιση των ncRNAs διαφέρει επίσης ανάμεσα σε ανθρώπους και ζωικά μοντέλα, λόγω των διαφορετικών χρονικών κλιμάκων της έκθεσης στο αλκοόλ. Σε ζωικά μοντέλα, η έκθεση στο αλκοόλ είναι περιορισμένη σε σχέση με την ανθρώπινη κατανάλωση, η οποία μπορεί να διαρκέσει δεκαετίες. Ωστόσο, τα ζωικά μοντέλα παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες για την αρχική φάση της εξάρτησης, όπου οι επιγενετικές αλλαγές είναι αναστρέψιμες και μπορεί να επηρεάσουν την έκβαση της εξάρτησης από το αλκοόλ. Η παρατεταμένη έκθεση στο αλκοόλ σε ανθρώπους οδηγεί σε πιο μόνιμες επιγενετικές τροποποιήσεις, με αποτέλεσμα αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση που παραμένουν ακόμα και μετά τη διακοπή της κατανάλωσης (Mayfield, 2017).

4.5. Μελέτες συσχέτισης επιγενετικών τροποποιήσεων και διαταραχής χρήσης αλκοόλ.

Η πιο κοινή προσέγγιση για τον εντοπισμό των επιγενετικών μηχανισμών που εμπλέκονται στο AUD είναι η σύγκριση των προφίλ μεθυλίωσης υγιών ατόμων με το προφίλ μεθυλίωσης ατόμων με εθισμό στο αλκοόλ εξετάζοντας δείγματα προερχόμενα από περιφερικό αίμα. Η αλλαγή στο προφίλ μεθυλίωσης σε γονίδια που σχετίζονται με τον εθισμό μπορεί να τροποποιήσει την ευαισθησία ενός ατόμου στην εξάρτηση από

το αλκοόλ ή ναρκωτικές ουσίες (alcohol or drug dependence, AD ή ND). Οι Hongqin Xu et al. το 2017, μελέτησαν τα επίπεδα μεθυλίωσης DNA περιφερικού αίματος σε 384 CpGs σε περιοχές 82 υποκινητών γονιδίων που σχετίζονται με τον εθισμό σε 256 Αφροαμερικανούς (AA) (117 περιπτώσεις με αλληλεξάρτηση AD-ND και 139 υγιείς εθελοντές) και σε 196 Ευρωπαίους Αμερικανούς-Ευρωπαίους (103 περιπτώσεις ασθενών με αλληλεξάρτηση AD-ND και 93 υγιείς εθελοντές). Η μελέτη έδειξε ότι οι αλλαγές στο προφίλ μεθυλίωσης του DNA στα γονίδια που σχετίζονται με τον εθισμό θα μπορούσαν να αποτελέσουν πιθανούς βιοδείκτες για τη εξάρτηση ενός ατόμου ταυτόχρονα από αλκοολ και ναρκωτικές ουσίες (Hu et al., 2017).

Το 2020 οι Lohoff et al. πραγματοποίησαν μία μελέτη EWAS σε ασθενείς με AUD (συνολικό N = 625) με στόχο προσδιορισμό νέων επιγενετικών στόχων που σχετίζονται με την AUD. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι διαφορετικά μεθυλιωμένες περιοχές που εμπλέκονται σε σηματοδοτικά μονοπάτια γλυκοκορτικοειδών και γονίδια που σχετίζονται με φλεγμονή συνδέθηκαν με διαταραχή της χρήσης αλκοόλ (Lohoff et al., 2020).

Σε μελέτη του 2016 των Sarah Hagerty et al., αξιολογήθηκαν δείγματα μεταθανάτιου εγκεφαλικού ιστού από 49 περιπτώσεις υποκειμένων εξαρτώμενων από το αλκοόλ και 47 υγιών ατόμων. Τα επίπεδα μεθυλίωσης αναλύθηκαν σε πάνω από 450.000 θέσεις CpG και στις δύο ομάδες. Στην πρωτογενή ανάλυση, 244 υπομεθυλιωμένα και 188 υπερμεθυλιωμένα CpG έδωσαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεθυλίωσης. Αρκετά εκ των CpG εντοπίζονταν εντός γονιδίων που σχετίζονται με τον μεταβολισμό των λιπιδίων, την ανοσοαπόκριση, τη φλεγμονώδη και γαστρεντερική νόσο που είχαν προηγουμένως συνδεθεί με την AUD (Hagerty et al., 2016).

Μία από τις μεγαλύτερες μελέτες συσχέτισης σε επίπεδο επιγονιδιώματος EWAS της κατανάλωσης του αλκοόλ διεξήχθη σε πάνω από 13.000 άτομα από διαφορετικές ομάδες και εντοπίστηκαν 328 διαφορεικά μεθυλιωμένες θέσεις CpG σε πληθυσμούς της Ευρώπης και 165 σε δείγματα προερχόμενα από πληθυσμούς αφρικανικής καταγωγής. Τα επίπεδα μεθυλίωσης 144 διαφορετικά μεθυλιωμένων θέσεων CpG παρείχαν σημαντική διάκριση μεταξύ ατόμων που καταναλώνουν συχνά μεγάλες ποσότητες αλκοολ και μη πότεων ευρωπαϊκής καταγωγής (Liu et al., 2018). Επιπλέον, σε ένα υποσύνολο του δείγματος ευρωπαϊκής καταγωγής, η ποσότητα έκθεσης σε αλκοόλ συσχετίστηκε με τα πρότυπα μεθυλίωσης των γονιδίων A και B του υποδοχέα γ-αμινοβουτυρικού οξέος-A (GABA) που σχετίζονται με τον εθισμό (Krystal et al., 2006;

Liu et al., 2018). Οι διαφορετικά μεθυλιωμένες θέσεις CpG εντοπίστηκαν επίσης σε περιοχές υποκινητών των γονιδίων που σχετίζονται με την ανοσολογική λειτουργία (Liu et al., 2018). Σε μία EWAS σε 1.135 άτομα που ανέλυναν τη σχέση μεταξύ των επιπέδων μεθυλίωσης και της ποσότητας αλκοόλ που καταναλώθηκε, βρέθηκαν 64 θέσεις CpG που σχετίζονται με την πρόσληψη αλκοόλ (Xu et al., 2019). Για τις 6 από τις 64 θέσεις CpG έχει αναφερθεί και σε η συσχέτισή τους με εκδήλωση AUD, την ηπατική λειτουργία, τον δείκτη μάζας σώματος και το μεταβολισμό λιπιδίων (Nano et al., 2017; Wahl et al., 2017; Liu et al., 2018).

Σε μία EWAS 18 διδύμων εκ των οποίων κάποιοι εμφάνιζαν AUD και κάποιοι όχι φάνηκε η συσχέτιση μεταξύ AUD και επιπέδων μεθυλίωσης στην περιοχή του υποκινητή του γονιδίου 3'-πρωτεΐνης-φωσφατάσης-1G (PPM1G), ενός γονιδίου που σχετίζεται με την κυτταρική απόκριση στο στρες (B et al., 2015). Αυτό το εύρημα επικυρώθηκε σε επιγενετικά δεδομένα συσχέτισης επιγενετικής με την υπερβολική κατανάλωση του αλκοόλ σε μια ομάδα 499 εφήβων. Σε μελέτη fMRI, οι συγγραφείς εξέτασαν 383 βαριά πότες και βρήκαν συσχέτιση του επιπέδου μεθυλίωσης του υποκινητή του γονιδίου ντοπαμίνης D2 (DRD2) με την αλλαγή σήματος στο ραβδωτό σώμα κατά την παρουσίαση αλκοολ καθώς και τη σοβαρότητα του AUD (Bidwell et al., 2019). Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν την επίδραση των προτύπων μεθυλίωσης με την εθιστική συμπεριφορά επηρεάζοντας περιοχές του εγκεφάλου που είναι λειτουργικά συναφείς με την ανάπτυξη και τη διατήρηση εθιστικής συμπεριφοράς. Σε μια μελέτη 165 γυναικών διαπιστώθηκε ότι ο διαφορετικός βαθμός κατανάλωσης αλκοόλ τους τελευταίους 6 μήνες σχετίζεται με δύο τύπους που με μεγάλη επιγονιδιωματική ρυθμιστική λειτουργία (Philibert et al., 2012). Μια άλλη μελέτη EWAS συνέκρινε τα πρότυπα μεθυλίωσης σε 24 ασθενείς πριν και μετά από ένα πρόγραμμα αποτοξίνωσης 3 εβδομάδων τόσο μεταξύ των ασθενών όσο και με υγιή εθελοντές. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι 59 θέσεις CpG μεθυλιώθηκαν διαφορετικά μεταξύ ασθενών και υγιών ατόμων πριν από την είσοδο στο πρόγραμμα θεραπείας και 48 θέσεις CpG διαφοροποιήθηκαν σε σύγκριση των ασθενών πριν και μετά τη θεραπεία (Brückmann et al., 2017).

Μαζικές αλλαγές στα πρότυπα μεθυλίωσης βρέθηκαν μεταξύ 99 αρσενικών ασθενών με AUD και 95 μαρτύρων κατά τη στιγμή της οξείας απόσυρσης καθώς και μετά από 14 ημέρες απόσυρσης (Witt et al., 2020). Συγκεκριμένα, εμπλέκονται μονοπάτια που σχετίζονται με τη λειτουργία του ανοσοποιητικού, κάτι που είναι σύμφωνο με

προηγούμενες μελέτες που συνδέουν την ανοσολογική λειτουργία με την κατανάλωση και την απόσυρση αλκοόλ (Coleman and Crews, 2018). Είναι ενδιαφέρον ότι σε αυτή τη μελέτη, οι διαφορές μεταξύ ασθενών και μαρτύρων ήταν λιγότερο έντονες μετά την απόσυρση, υποδηλώνοντας ότι τα επίπεδα μεθυλίωσης μπορούν να επανέλθουν στα φυσιολογικά επίπεδα κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Αυτές οι διαφορές που παρέμειναν μεταξύ των ασθενών και των μαρτύρων μετά την απόσυρση μπορεί να υποδεικνύουν γονίδια και οδούς που εμπλέκονται στον ίδιο τον εθισμό στο αλκοόλ ή την ευπάθεια των ατόμων να εθιστούν. Σε δείγμα 69 αποτοξινωμένων ασθενών που παρακολούθηθηκαν για 12 μήνες, δεν διαπιστώθηκε διαφορά στα επίπεδα μεθυλίωσης μεταξύ ασθενών που υποτροπιάζανε και εκείνων που απείχαν (Friedel et al., 2020). Επιπλέον, δεν βρέθηκε καμία αλλαγή με την πάροδο του χρόνου.

Σε μελέτες σε ανθρώπους, οι αλλαγές μεθυλίωσης του DNA στο περιφερικό αίμα διερευνώνται συχνότερα. Δείγματα από άλλους ιστούς, τα οποία είναι πιθανό να μεταβληθούν από τη μακροχρόνια κατανάλωση αλκοόλ (π.χ. εγκέφαλος, συκώτι) είναι σπάνια. Ένα από τα πρώτα EWAS σε ανθρώπινο ιστό του εγκεφάλου διερεύνησε τις διαφορές μεθυλίωσης του DNA στον προμετωπιαίο φλοιό (PFC, Brodmann Area 9) 23 ατόμων με AUD (7 γυναίκες) και 23 ελέγχους που ταιριάζουν ηλικίας και φύλου (Wang et al., 2016). Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν χωριστά για άνδρες και γυναίκες.

Μια πιο πρόσφατη έρευνα για τα επίπεδα μεθυλίωσης του DNA στον ιστό από την περιοχή Brodmann 9 βρήκε δύο διαφορετικά μεθυλιωμένες περιοχές στο γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη DLGAP2 (Meng et al., 2019). Το DLGAP2 κωδικοποιεί γουανυλικές κινάσες που εμπλέκονται στη σηματοδότηση των νευρωνικών κυττάρων. Σε άλλη μελέτη, περισσότερες από 400 διαφορετικές μεθυλιωμένες θέσεις CpG εντοπίστηκαν σε δείγματα εγκεφάλου 49 ατόμων (11 γυναίκες) και 47 υγιών (12 θηλυκά) (Hagerty et al., 2020).

Σε μια πρόσφατη EWAS, η μεθυλίωση του DNA διερευνήθηκε και οι συγγραφείς εντόπισαν μεγάλο αριθμό σημαντικά διαφοροποιημένων μεθυλιωμένων θέσεων και επικεντρώθηκαν σε γονίδια που σχετίζονται με το κυτταρικό στρες, συμπεριλαμβανομένου γονιδίου μέλους της υποοικογένειας πυρηνικών υποδοχέων (NR3C1). Διαπίστωσαν ότι η χρόνια κατανάλωση αλκοόλ σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα μεθυλίωσης του NR3C1 και μειωμένη έκφραση της σχετικής πρωτεΐνης, καθώς και μεταβολές στην έκφραση πολλών άλλων γονιδίων που ανταποκρίνονται στο στρες στην περίπτωση της AUD. Αυτά τα ευρήματα συνάδουν με τα ευρήματα από την

ανάλυση γενετικών παραγόντων υπογραμμίζουν την αντίληψη ότι οι περιβαλλοντικοί παράγοντες συμπεριλαμβανομένου και του στρες είναι ένας από τους βασικούς παράγοντες που εξηγούν την ανάπτυξη της διαταραχής της χρήσης αλκοόλ (Gatta et al., 2021).

Η επιγενετική ανάλυση στη μελέτη του αλκοολισμού αναδεικνύει τη σημασία της μεθυλίωσης του DNA, των τροποποιήσεων των ιστονών και της ρύθμισης από μη κωδικά RNA στη διαμόρφωση της γονιδιακής έκφρασης. Αυτές οι αλλαγές διαμορφώνουν τη νευροβιολογική βάση της εξάρτησης από το αλκοόλ, επηρεάζοντας τη νευροπλαστικότητα, τη μνήμη και τη μάθηση. Η επιγενετική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης στο πλαίσιο της χρόνιας χρήσης αλκοόλ υποδεικνύει πιθανούς θεραπευτικούς στόχους, όπως η επαναφορά της φυσιολογικής γονιδιακής έκφρασης μέσω τροποποιητικών φαρμακευτικών παραγόντων (Grantham and Farris, 2019).

5. Θεραπευτικές προσεγγίσεις για την διαταραχή χρήσης αλκοόλ.

Η AUD αποτελεί μια από τις σοβαρότερες εξαρτησιογόνες διαταραχές παγκοσμίως. Οι κλινικές θεραπευτικές προσεγγίσεις που εφαρμόζονται σήμερα βασίζονται κυρίως σε μια συνδυαστική προσέγγιση που περιλαμβάνει ψυχολογικές παρεμβάσεις και φαρμακευτική αγωγή. Αυτές οι θεραπείες έχουν στόχο τόσο την αποχή από την κατανάλωση αλκοόλ όσο και την πρόληψη της υποτροπής, λαμβάνοντας υπόψη τις σύνθετες βιολογικές, ψυχολογικές και κοινωνικές αιτίες που σχετίζονται με την εξάρτηση από το αλκοόλ (Dionisi et al., 2024). Στο κεφάλαιο αυτό, θα εξεταστούν οι εφαρμοσμένες κλινικές προσεγγίσεις, καθώς και οι πιο σύγχρονες ερευνητικές κατευθύνσεις που αφορούν πολύπλοκα συστήματα μοριακών μηχανισμών και γονιδίων, τα οποία υπόσχονται να βελτιώσουν την κατανόηση και την αντιμετώπιση της AUD.

5.1. Θεραπευτικές εφαρμογές για την διαταραχή χρήσης αλκοόλ.

Οι ψυχολογικές παρεμβάσεις αποτελούν βασικό συστατικό της θεραπευτικής αντιμετώπισης για τη διαταραχή χρήσης αλκοόλ (AUD). Η αποτελεσματικότητα αυτών των προσεγγίσεων έχει επιβεβαιωθεί από εκτεταμένες επιστημονικές μελέτες (Dionisi et al., 2024). Αναφέρονται οι κύριες θεραπείες:

- Γνωσιακή Συμπεριφορική Θεραπεία (Cognitive Behavioral Therapy - CBT), η οποία επικεντρώνεται στον εντοπισμό και την τροποποίηση αρνητικών προτύπων σκέψης και συμπεριφοράς.
- Θεραπεία Ενίσχυσης Κινήτρων (Motivational Enhancement Therapy - MET), που βοηθά στην ενίσχυση της εσωτερικής παρακίνησης των ασθενών.
- Διαχείριση της Αντιμετώπισης (Contingency Management), όπου παρέχονται κίνητρα στους ασθενείς για την επίτευξη θεραπευτικών στόχων όπως η αποχή από το αλκοόλ.

Οι φαρμακευτικές παρεμβάσεις στοχεύουν κυρίως στη μείωση της επιθυμίας για αλκοόλ και στη μείωση των συμπτωμάτων στέρησης, ενώ παράλληλα συμβάλλουν στην πρόληψη των υποτροπών (Dionisi et al., 2024).

- Ακαμπροσίδιο (Acamprosate): Το ακαμπροσίδιο δρα κυρίως στη ρύθμιση του συστήματος γλουταμινικού και GABA, δύο νευροδιαβιβαστές που εμπλέκονται στην

εξάρτηση από το αλκοόλ. Μειώνει την υπερδιέγερση του κεντρικού νευρικού συστήματος κατά τη φάση στέρησης και βοηθά στην αποκατάσταση της ισορροπίας των νευροδιαβιβαστών.

- **Ναλτρεξόνη (Naltrexone):** Η ναλτρεξόνη είναι ανταγωνιστής των υποδοχέων οπιοειδών και χρησιμοποιείται για τη μείωση της ευχαρίστησης που συνδέεται με την κατανάλωση αλκοόλ. Βοηθά στην αποτροπή της υποτροπής μέσω της μείωσης της επιθυμίας για αλκοόλ και της απόλαυσης που προκαλεί το αλκοόλ.
- **Δισουλφιράμη (Disulfiram):** Η δισουλφιράμη λειτουργεί μέσω της πρόκλησης αρνητικών σωματικών αντιδράσεων (όπως ναυτία και εμετός) όταν ο ασθενής καταναλώσει αλκοόλ. Χρησιμοποιείται για την αποθάρρυνση της κατανάλωσης αλκοόλ, αλλά απαιτεί αυστηρή ιατρική παρακολούθηση και συνεργασία από τον ασθενή.

Παρά τις σημαντικές προόδους, το ποσοστό επιτυχίας αυτών των θεραπειών παραμένει χαμηλό, γεγονός που οφείλεται τόσο σε ψυχοκοινωνικούς όσο και σε γενετικούς παράγοντες. Για αυτόν τον λόγο, οι πρόσφατες ερευνητικές προσπάθειες εστιάζουν σε πιο περίπλοκα συστήματα και μοριακούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην εξάρτηση από το αλκοόλ. Η εξατομικευμένη ιατρική κερδίζει ολοένα και περισσότερο έδαφος στην αντιμετώπιση του AUD, με έμφαση στην προσαρμογή των θεραπευτικών επιλογών με βάση τα γενετικά και επιγενετικά χαρακτηριστικά κάθε ασθενούς. Η φαρμακογονιδιωματική προσέγγιση επιτρέπει τη βελτιστοποίηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία, λαμβάνοντας υπόψη την αλληλεπίδραση γονιδίων και φαρμάκων (Dionisi et al., 2024).

5.2. Σύνδεση Μοριακών Ευρημάτων με Θεραπευτικούς Στόχους

Τα ευρήματα που προκύπτουν από τη συνδυαστική χρήση GWAS και μοριακών τεχνικών ανοίγουν νέους δρόμους για την ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπειών για την AUD. Οι μοριακές οδοί που ρυθμίζονται από γονίδια όπως το BDNF, το CRF1 και η οδός mTOR, και που επηρεάζονται από γενετικές παραλλαγές, μπορούν να αποτελέσουν στόχους για τη θεραπευτική παρέμβαση. Για παράδειγμα, η ρύθμιση της πλαστικότητας των συνάψεων μέσω της στόχευσης της οδού mTOR μπορεί να βοηθήσει στην επανόρθωση των νευρολογικών προσαρμογών που προκαλούνται από το αλκοόλ, ενώ η χρήση microRNA ως βιολογικών δεικτών μπορεί να προσφέρει νέες στρατηγικές για την πρόληψη της υποτροπής (Logrip, 2019). Ο CREB, ως μεταγραφικός παράγοντας ρυθμίζει γονίδια που σχετίζονται με τη συναισθηματική σταθερότητα και την ανταμοιβή, γι' αυτό και έχει θεωρηθεί σημαντικός στόχος για την ανάπτυξη φαρμάκων που θα μπορούσαν να συμβάλλουν στη μείωση της εξάρτησης από το αλκοόλ. Ο μηχανισμός μέσω του οποίου το αλκοόλ μειώνει τη δραστηριότητα του CREB περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση με συστήματα νευροδιαβιβαστών, όπως η ντοπαμίνη και το γλουταμινικό (Grantham and Farris, 2019).

5.2.1. Νευροανοσολογία και φλεγμονώδεις αποκρίσεις στην διαταραχή χρήσης αλκοόλ.

Η νευροανοσολογία διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στη διαταραχή χρήσης αλκοόλ, καθώς η χρόνια κατανάλωση αλκοόλ προκαλεί σημαντικές αλλαγές στην ανοσολογική απόκριση του εγκεφάλου. Η μελέτη των Grantham and Farris, προσδίδει ιδιαίτερη προσοχή στην ενεργοποίηση των μικρογλοιακών κυττάρων, των κύριων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος του εγκεφάλου, που εμπλέκονται στην ανοσολογική επιτήρηση και την απελευθέρωση φλεγμονωδών παραγόντων, όπως οι κυτοκίνες και οι χημειοκίνες. Αυτοί οι φλεγμονώδεις παράγοντες επηρεάζουν την νευροπλαστικότητα και τη συναπτική λειτουργία, οδηγώντας σε μοριακές και κυτταρικές αλλαγές που συμβάλλουν στην εξαρτητική συμπεριφορά.

Η χρόνια χρήση αλκοόλ διεγείρει τα μικρογλοιακά κύτταρα, προκαλώντας μια υπερδραστηριότητα στο ανοσολογικό σύστημα του εγκεφάλου. Αυτή η ενεργοποίηση οδηγεί στην απελευθέρωση προ-φλεγμονωδών παραγόντων, όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκων (TNF-α), η ιντερλευκίνη-6 (IL-6), και η ιντερλευκίνη-1β (IL-1β).

Αυτές οι κυτοκίνες προκαλούν εκφυλιστικές διεργασίες στον εγκέφαλο, οι οποίες συνδέονται με τη μειωμένη λειτουργία της συναπτικής πλαστικότητας και την ανάπτυξη εξαρτητικών συμπεριφορών.

Ειδικά μονοπάτια που εμπλέκονται στην ανοσολογική απόκριση, όπως οι Toll-like υποδοχείς (TLRs) και το μετασχηματιστικό αυξητικό στοιχείο β (TGF- β), έχουν βρεθεί να επηρεάζονται σημαντικά από την κατανάλωση αλκοόλ. Οι Toll-like υποδοχείς είναι σημαντικοί ρυθμιστές της φλεγμονώδους απόκρισης, ανιχνεύοντας μόρια που σχετίζονται με βλάβες και ενεργοποιώντας αμυντικούς μηχανισμούς. Στο πλαίσιο της χρόνιας κατανάλωσης αλκοόλ, η υπερβολική ενεργοποίηση αυτών των υποδοχέων προκαλεί φλεγμονώδεις διεργασίες που συμβάλλουν στην καταστροφή νευρώνων και τη διαταραχή της νευροπλαστικότητας.

Το TGF- β είναι ένας άλλος σημαντικός ρυθμιστής της ανοσολογικής απόκρισης στον εγκέφαλο. Σε φυσιολογικές συνθήκες, διατηρεί την ομοιόσταση του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) και προστατεύει από υπερβολικές φλεγμονώδεις αποκρίσεις. Ωστόσο, σε συνθήκες χρόνιας κατανάλωσης αλκοόλ, το TGF- β μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ανάρρωση των νευρικών κυττάρων, μειώνοντας τη φυσική αντιφλεγμονώδη δράση και συμβάλλοντας στην επιδείνωση της AUD.

Αυτά τα ευρήματα (Grantham and Farris, 2019), υποδεικνύουν τη δυνατότητα χρήσης αντιφλεγμονωδών θεραπειών για την αντιμετώπιση της διαταραχής χρήσης αλκοόλ. Η στόχευση των Toll-like υποδοχέων ή η ρύθμιση της δραστηριότητας του TGF- β μπορεί να προσφέρει μια νέα προσέγγιση στη θεραπεία της εξάρτησης από το αλκοόλ, μειώνοντας τη φλεγμονώδη απόκριση και επαναφέροντας τη φυσιολογική νευροπλαστικότητα.

5.2.2. Φαρμακευτική επανάχρησιμοποίηση και ανακάλυψη νέων θεραπειών

Η φαρμακευτική επαναχρησιμοποίηση (drug repurposing) είναι μια στρατηγική που αξιοποιεί υπάρχοντα φάρμακα για νέες θεραπευτικές εφαρμογές. Η χρήση βιοπληροφορικών εργαλείων για την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης έχει επιτρέψει την αναγνώριση νέων στόχων για τη θεραπεία της AUD. Οι πλατφόρμες όπως το Connectivity Map (CMap) και το Library of Integrated Network-Based Cellular Signatures (LINCS) παρέχουν γονιδιακά δεδομένα που επιτρέπουν στους ερευνητές να συνδέσουν τα μονοπάτια γονιδιακής έκφρασης που σχετίζονται με την εξάρτηση από

το αλκοόλ με φάρμακα που έχουν ήδη εγκριθεί για άλλες ασθένειες (Grantham and Farris, 2019).

Το CMap, για παράδειγμα, συνδυάζει μοριακά προφίλ από γονιδιακή έκφραση που προκύπτουν από τη χρήση διαφορετικών φαρμάκων και επιτρέπει την πρόβλεψη φαρμακευτικών παραγόντων που μπορούν να αντιστρέψουν τα πρότυπα γονιδιακής έκφρασης που συνδέονται με τη χρόνια χρήση αλκοόλ. Αυτή η προσέγγιση είναι ιδιαίτερα σημαντική, διότι προσφέρει τη δυνατότητα ταχείας αναγνώρισης φαρμάκων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αντιμετώπιση της AUD (Grantham and Farris, 2019). Για παράδειγμα, οι αναλύσεις έχουν προτείνει την επαναχρησιμοποίηση φαρμάκων που επηρεάζουν τη φλεγμονή, την νευροπλαστικότητα, και τη νευροπροστασία, τα οποία έχουν ήδη δοκιμαστεί για άλλες νευρολογικές ή ψυχιατρικές διαταραχές. Αυτή η προσέγγιση είναι πιο αποδοτική και μπορεί να μειώσει σημαντικά το χρόνο και το κόστος για την ανάπτυξη νέων θεραπειών.

5.3. Ανάλυση Μονοκυττάρων (Single-Cell Sequencing) και Προσεγγίσεις Φαρμακευτικής Επανάχρησης (Drug Repurposing)

Single-Cell RNA Sequencing και Ετερογένεια του Εγκεφάλου

Η χρήση της ανάλυσης μονοκυττάρων (single-cell RNA sequencing) αποτελεί μια καινοτόμο προσέγγιση για την κατανόηση της ετερογένειας του εγκεφάλου στο πλαίσιο της διαταραχής χρήσης αλκοόλ. Αυτή η τεχνική επιτρέπει την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης σε μεμονωμένα κύτταρα του εγκεφάλου, προσδιορίζοντας τις διαφορετικές αποκρίσεις που εμφανίζουν διαφορετικοί κυτταρικοί τύποι στην παρουσία αλκοόλ (Grantham and Farris, 2019). Η ανάλυση μονοκυττάρων επιτρέπει τη λεπτομερή εξέταση της κυτταρικής ετερογένειας στον εγκέφαλο, παρέχοντας πληροφορίες για το πώς διαφορετικοί τύποι κυττάρων, όπως οι νευρώνες, τα αστροκύτταρα και τα μικρογλοιακά κύτταρα, ανταποκρίνονται στη χρόνια κατανάλωση αλκοόλ. Αυτή η προσέγγιση αναδεικνύει τον ρόλο συγκεκριμένων κυτταρικών υποπληθυσμών στην προσαρμογή ή στην αποδιοργάνωση των νευρωνικών κυκλωμάτων, που είναι κρίσιμα για την ανάπτυξη της εξάρτησης.

Με την τεχνική της single-cell RNA sequencing, είναι δυνατόν να εντοπιστούν διαφορές στη γονιδιακή έκφραση που δεν θα ήταν φανερές σε παραδοσιακές αναλύσεις κυττάρων (bulk RNA-seq). Αυτό σημαίνει ότι μπορούμε να προσδιορίσουμε πώς οι αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση σε συγκεκριμένα υποσύνολα κυττάρων συνδέονται με τη διαταραχή χρήσης αλκοόλ, αποκαλύπτοντας κρυφούς μηχανισμούς που οδηγούν στην εξάρτηση. Αυτή η προσέγγιση μπορεί επίσης να αποκαλύψει κυτταρικές αποκρίσεις που εμπλέκονται σε φλεγμονώδεις διεργασίες, αλλαγές στη συναπτική λειτουργία και την απώλεια νευρωνικής πλαστικότητας (Grantham and Farris, 2019).

5.3.1. Γονιδιακή Θεραπεία με AAV για την διαταραχή χρήσης αλκοόλ.

Ο αδενοσυσχετιζόμενος ιός (AAV) είναι ένας μη παθογόνος ιός, ο οποίος χρησιμοποιείται ως φορέας στη γονιδιακή θεραπεία για την εισαγωγή θεραπευτικού γενετικού υλικού στα κύτταρα. Ο AAV έχει το πλεονέκτημα της μακροχρόνιας και σταθερής έκφρασης των γονιδίων που μεταφέρει, γεγονός που τον καθιστά ιδανικό για θεραπείες χρόνιων ασθενειών. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, χρησιμοποιείται για τη μείωση της έκφρασης του γονιδίου ALDH2, το οποίο εμπλέκεται στον μεταβολισμό της αιθανόλης.

Η μελέτη των Sanchez et al. (2017) χρησιμοποίησε έναν ειδικό τύπο AAV, τον scAAV2, ο οποίος μεταφέρει μικρό RNA φουρκέτας (shRNA) με στόχο τη σίγαση της έκφρασης του ALDH2. Το shRNA αποτελείται από μια αλληλουχία RNA που αναδιπλώνεται σε μια δομή φουρκέτας (hairpin loop) και, όταν εισάγεται σε ένα κύτταρο, αναγνωρίζεται από τα κυτταρικά μηχανήματα που το επεξεργάζονται και το μετατρέπουν σε μικρό παρεμβατικό RNA (siRNA), το οποίο καταστρέφει το mRNA του γονιδίου στόχου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη σίγαση της γονιδιακής έκφρασης. Αυτή η τεχνική οδήγησε σε σημαντική μείωση της έκφρασης του ενζύμου ALDH2 σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές και πειραματόζωα, γεγονός που προκάλεσε αύξηση των επιπέδων ακεταλδεϋδης στο αίμα, με αποτέλεσμα δυσάρεστες φυσιολογικές αντιδράσεις, όπως ζάλη, κοκκίνισμα του προσώπου και αίσθημα παλμών, που μειώνουν την επιθυμία για κατανάλωση αλκοόλ.

Η μεθοδολογία που ακολούθησαν οι ερευνητές (Sanchez et al., 2017) περιλάμβανε την παραγωγή των φορέων AAV μέσω της μεθόδου τριπλής μεταφοράς πλασμιδίων σε κύτταρα HEK-293. Η μέθοδος αυτή περιλάμβανε τη χρήση τριών πλασμιδίων, ένα από

τα οποία περιείχε το γονίδιο για το shRNA κατά του ALDH2. Ο φορέας AAV απομονώθηκε από τα κύτταρα με χρήση διαφορικής φυγοκέντρωσης και κατόπιν μετρήθηκε η συγκέντρωσή του. Για τη δοκιμή της επίδρασης του shRNA, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν δύο κυτταρικές σειρές: HEK-293/ALDH2 και HepG2, οι οποίες είναι κύτταρα ανθρώπινης προέλευσης που εκφράζουν το ένζυμο ALDH2. Τα κύτταρα μολύνθηκαν με τον φορέα scAAV2, και στη συνέχεια αναλύθηκαν οι εκφράσεις του ALDH2 σε επίπεδο RNA και πρωτεΐνης.

Για την ανάλυση των αποτελεσμάτων, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν τεχνικές όπως η real-time RT-PCR για τη μέτρηση των επιπέδων του mRNA και η Western blot για την ανάλυση των επιπέδων πρωτεΐνης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χρήση του shRNA προκάλεσε μείωση κατά 90% στην έκφραση του ALDH2 σε ορισμένες κυτταρικές σειρές, με σημαντική αύξηση των επιπέδων ακεταλδεϋδης. Επίσης, η μείωση της δραστηριότητας του ALDH2 προκάλεσε αύξηση της συσσώρευσης ακεταλδεϋδης κατά 50% στα πειράματα με τα κύτταρα VL-17A HepG2, τα οποία είναι κύτταρα ηπατώματος που περιέχουν επίσης το ένζυμο αλκοόλης αφυδρογονάσης (ADH), το οποίο οξειδώνει την αιθανόλη σε ακεταλδεϋδη (Sanchez et al., 2017).

Τα αποτελέσματα της μελέτης υποστηρίζουν ότι η γονιδιακή θεραπεία με AAV μπορεί να αποτελέσει μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για τη θεραπεία για την AUD, καθώς οι φορείς scAAV2 που κωδικοποιούν shRNA είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικοί στη μείωση της έκφρασης του ALDH2 και στην αύξηση των επιπέδων ακεταλδεϋδης, μειώνοντας έτσι την κατανάλωση αλκοόλ. Παρά τα ενθαρρυντικά αυτά αποτελέσματα σε κυτταρικά μοντέλα και σε πειραματόζωα, οι Sanchez et al. υπογραμμίζουν ότι απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για την κλινική εφαρμογή αυτής της τεχνικής σε ανθρώπους.

5.3. Εφαρμογές της CRISPR/Cas στη στοχευμένη παρέμβαση Μοριακών Μηχανισμών για την αντιμετώπιση της Διαταραχής Χρήσης Αλκοόλ

Οι μελέτες GWAS έχουν εντοπίσει διάφορα γονίδια που ενδέχεται να συνδέονται με την προδιάθεση στον αλκοολισμό, όπως το Neuropeptide Y και οι υπομονάδες του υποδοχέα GABA_A. (Homanics, 2019). Παρόλο που αυτές οι στατιστικές συσχετίσεις είναι σημαντικές, δεν αποδεικνύουν αιτιότητα, δηλαδή δεν μπορούν να αποδείξουν ότι οι γενετικές παραλλαγές προκαλούν άμεσα την ανάπτυξη αλκοολισμού. Η τεχνολογία

CRISPR/Cas9 έχει αναδειχθεί ως ένα ιδιαίτερα ισχυρό εργαλείο για την ακριβή γενετική τροποποίηση, επιτρέποντας τη στοχευμένη παρέμβαση σε γονιδιώματα. Ο μηχανισμός δράσης του CRISPR/Cas9 περιλαμβάνει τη χρήση ενός οδηγού RNA (sgRNA) που σχεδιάζεται ώστε να αναγνωρίζει συγκεκριμένες αλληλουχίες στο DNA. Μόλις το sgRNA δεσμευτεί με την περιοχή στόχο, η νουκλεάση Cas9 προκαλεί διπλή διάσπαση του DNA, η οποία επιδιορθώνεται μέσω δύο κύριων μηχανισμών: της μη ομόλογης συνένωσης άκρων (NHEJ) ή του ομόλογου ανασυνδυασμού (HDR). Η επιλογή του μηχανισμού επηρεάζει το τελικό αποτέλεσμα της γενετικής τροποποίησης.

Στα πειράματα που περιγράφονται από τον Homanics (2019), το CRISPR/Cas9 χρησιμοποιήθηκε για τη δημιουργία "knockout" μοντέλων ζώων, στα οποία το γονίδιο Νευροπεπτίδιο Υ (NPY) απενεργοποιήθηκε για τη μελέτη της επίδρασής του στην κατανάλωση αλκοόλ. Τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση της κατανάλωσης αλκοόλ, αναδεικνύοντας τον πιθανό ρόλο του NPY στην ευαισθησία στον εθισμό. Επιπλέον, η τροποποίηση των υποδοχέων GABA_A μέσω CRISPR αποκάλυψε ότι συγκεκριμένες μεταλλάξεις στους υποδοχείς αυτούς επηρεάζουν την αλληλεπίδραση τους με το αλκοόλ, μειώνοντας την ανοχή στην αιθανόλη, γεγονός που τους καθιστά σημαντικούς στόχους για την ανάπτυξη θεραπειών κατά της διαταραχής χρήσης αλκοόλ.

Ένα σημαντικό ζήτημα στη χρήση της CRISPR/Cas9 είναι οι off-target επιδράσεις, δηλαδή οι ακούσιες γενετικές τροποποιήσεις σε περιοχές του γονιδιώματος που δεν ήταν οι επιθυμητοί στόχοι. Αυτές οι επιδράσεις μπορούν να προκαλέσουν ανεπιθύμητες μεταλλάξεις, οι οποίες μπορεί να επηρεάσουν τα φαινοτυπικά αποτελέσματα των πειραμάτων, οδηγώντας σε ανακριβή ή αμφισβητή ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Για να περιοριστούν αυτές οι επιδράσεις, οι ερευνητές χρησιμοποιούν εργαλεία σχεδιασμού sgRNA, τα οποία βοηθούν στην επιλογή της πιο κατάλληλης αλληλουχίας RNA που ταιριάζει με ακρίβεια στη στοχευμένη περιοχή του DNA, διασφαλίζοντας έτσι ότι η Cas9 θα λειτουργήσει στο επιθυμητό σημείο του γονιδιώματος. Το "high-fidelity" Cas9 είναι μια βελτιωμένη έκδοση της πρωτεΐνης Cas9, που σχεδιάστηκε για να μειώνει την πιθανότητα off-target μεταλλάξεων. Αυτή η έκδοση επιτρέπει μεγαλύτερη ακρίβεια στις γενετικές τροποποιήσεις, μειώνοντας τον κίνδυνο ανεπιθύμητων αλλαγών στο γονιδίωμα, κάτι που είναι κρίσιμο για την αξιοπιστία των πειραμάτων και των θεραπευτικών εφαρμογών.

Το πλεονέκτημα χρήσης αυτού του ισχυρού μηχανισμού είναι η δυνατότητα εφαρμογής παράλληλων τροποποιήσεων σε πλήθος γονιδίων, επιτρέποντας την ανάλυση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ γονιδίων που εμπλέκονται στην προδιάθεση για αλκοολισμό. Για παράδειγμα, οι ερευνητές έχουν τη δυνατότητα να εισάγουν ταυτόχρονες μεταλλάξεις στο γονίδιο Neuropeptide Y και στον υποδοχέα GABA_A, με σκοπό να μελετήσουν πώς οι αλληλεπιδράσεις αυτών των γονιδίων επηρεάζουν την ευπάθεια στον αλκοολισμό. Η μελέτη τέτοιων πολυγονιδιακών αλληλεπιδράσεων είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ γονιδίων μπορούν να επιδεινώσουν ή να μετριάσουν την προδιάθεση σε ασθένειες, όπως η διαταραχή χρήσης αλκοόλ, με τρόπους που δεν μπορούν να μελετηθούν μεμονωμένα.

Συνδυάζοντας τα ευρήματα των GWAS με τη στοχευμένη επεξεργασία γονιδίων μέσω της CRISPR/Cas9, οι ερευνητές μπορούν να εμβαθύνουν στην κατανόηση των γενετικών παραγόντων που συμβάλλουν στην ανάπτυξη αλκοολισμού και να ανοίξουν τον δρόμο για νέες εξατομικευμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις.

5.4. Φαρμακογονιδιωματική θεραπευτική προσέγγιση της διαταραχής χρήσης αλκοόλ.

Η φαρμακογονιδιωματική μελετά πώς οι γενετικές παραλλαγές επηρεάζουν την απόκριση του ατόμου στη φαρμακευτική αγωγή. Στη θεραπεία του AUD, έχουν εντοπιστεί πολλές γενετικές παραλλαγές που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα των φαρμάκων (Lohoff, 2020).

Πιο συγκεκριμένα, βασίζόμενοι σε κλινικές δοκιμές που μελετούν την απόκριση στα φάρμακα με βάση το γενετικό προφίλ των ασθενών, μπορούν να παρουσιαστούν γονίδια ευρέως γνωστά για την αλληλεπίδραση τους με φαρμακευτικές αγωγές (Lohoff, 2020).

OPRM1 και Νάλτρεξον

Το γονίδιο OPRM1 κωδικοποιεί τον μ-οπιοειδικό υποδοχέα, έναν από τους κύριους στόχους του νάλτρεξον. Το νάλτρεξον δρα ως ανταγωνιστής αυτού του υποδοχέα, μειώνοντας τις ενισχυτικές επιδράσεις του αλκοόλ. Μία από τις πιο μελετημένες

γενετικές παραλλαγές στο γονίδιο OPRM1 είναι η Asn40Asp (rs1799971). Οι φορείς της παραλλαγής Asp40 παρουσιάζουν σημαντικά καλύτερη απόκριση στη θεραπεία με νάλτρεξον, με μικρότερη πιθανότητα υποτροπής (Lohoff, 2020).

GRIK1 και Τοπιραμάτη

Το γονίδιο GRIK1 κωδικοποιεί την υπομονάδα GluK1 των υποδοχέων αμινοκαρβοξυλικού οξέος (AMPA/kainate), που σχετίζονται με τη γλουταματεργική διαβίβαση. Η παραλλαγή rs2832407 στο GRIK1 έχει βρεθεί να σχετίζεται με αυξημένη ανταπόκριση στην τοπιραμάτη, η οποία χρησιμοποιείται εκτός ετικέτας για τη θεραπεία του AUD. Η τοπιραμάτη, μέσω της αναστολής της γλουταματεργικής διαβίβασης, μειώνει τις ημέρες βαριάς κατανάλωσης αλκοόλ και προάγει την αποχή.

Βάσει μιας τυχαιοποιημένης διπλά τυφλής κλινικής δοκιμής των Morley et al., έγινε σύγκριση της αποτελεσματικότητας ανάμεσα σε τοπιραμάτη και της νάλτρεξόνη σε ασθενείς με AUD, χρησιμοποιώντας γενετικούς δείκτες για την εξατομίκευση της θεραπείας. Οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες και εφαρμόστηκε χρήση μικτών μοντέλων επιδράσεων (mixed effects models) για την ανάλυση των δεδομένων. Με τον τρόπο αυτό καθίστανται ακριβέστερες οι εκτιμήσεις της επίδρασης των φαρμάκων σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, επιτρέποντας ταυτόχρονα την ανάλυση της σχέσης μεταξύ γενετικών δεικτών και θεραπευτικής απόκρισης. Οι γενετικοί δείκτες που μελετήθηκαν ήταν οι πολυμορφισμοί GRIK1 (rs2832407) για την τοπιραμάτη και OPRM1 (rs1799971) για τη νάλτρεξόνη, οι οποίοι επηρεάζουν την ανταπόκριση στη θεραπεία (Morley et al., 2018). Συμπερασματικά, η τοπιραμάτη μπορεί να είναι πιο αποτελεσματική από τη νάλτρεξόνη σε ασθενείς με AUD, ειδικά για εκείνους που φέρουν συγκεκριμένες γενετικές παραλλαγές.

Μια άλλη έρευνα (Kranzler et al., 2021) χρησιμοποίησε τεχνική Timeline Follow-back για την παρακολούθηση της κατανάλωσης αλκοόλ και την ανάλυση του αριθμού των ημερών βαριάς κατανάλωσης αλκοόλ (Heavy Drinking Days - HDDs). Οι στατιστικές αναλύσεις βασίστηκαν σε μοντέλα μικτών γραμμικών επιδράσεων και ανάλυση διακύμανσης. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι οι ασθενείς που έλαβαν τοπιραμάτη παρουσίασαν σημαντική μείωση στις HDDs σε σύγκριση με την ομάδα που έλαβε εικονικό φάρμακο, υποστηρίζοντας έτσι την αποτελεσματικότητα της τοπιραμάτης ως θεραπεία για την AUD. Συγκεκριμένα, η ομάδα του εικονικού φαρμάκου είχε 1.67 φορές περισσότερες HDDs από την ομάδα της τοπιραμάτης

(Kranzler *et al.*, 2021). Παρόλο που η μελέτη επιβεβαίωσε την αποτελεσματικότητα της τοπιραμάτης στη μείωση της κατανάλωσης αλκοόλ, δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην απόκριση μεταξύ των γονιδιακών ομάδων του rs2832407. Αυτή η διαπίστωση δείχνει ότι, ενώ ο πολυμορφισμός αυτός είχε υποδειχθεί σε προηγούμενες μελέτες ως παράγοντας που επηρεάζει τη θεραπευτική απόκριση, δεν επαληθεύτηκε στην παρούσα έρευνα.

GATA4 και Ακαμπροστάτη

Το GATA4 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που ρυθμίζει την έκφραση του Atrial Natriuretic Peptide (ANP), ο οποίος παίζει ρόλο στους μηχανισμούς άγχους και στρες στον εγκέφαλο. Η παραλλαγή rs13273672 στο GATA4 έχει βρεθεί να επηρεάζει την απόκριση στο ακαμπροστάτη. Τα άτομα που φέρουν το G αλληλόμορφο παρουσιάζουν καλύτερη κλινική ανταπόκριση με μεγαλύτερο χρόνο μέχρι την υποτροπή, κάτι που το καθιστά κρίσιμο για την επιλογή της θεραπείας σε άτομα με υψηλά επίπεδα άγχους.

Αυτή η γενετική διαφοροποίηση επιτρέπει την εξατομίκευση της θεραπείας με βάση το γενετικό προφίλ του ασθενούς. Ωστόσο, οι υπάρχουσες μελέτες έχουν περιορισμούς, όπως τα μικρά δείγματα και η έλλειψη τυποποιημένων μεθόδων. Είναι σημαντικό να γίνουν μελλοντικές μελέτες με μεγαλύτερα δείγματα και τυποποιημένα πρωτόκολλα (Lohoff, 2020).

5.5. Η ρύθμιση της κατανάλωσης αλκοόλ μέσω του κυκλώματος FGF21-KLB υποδεικνύει νέα θεραπευτικά πεδία.

Η μελέτη που διεξήχθη από τον Kyle H. Flippo και την ομάδα του επικεντρώνεται στη διερεύνηση της δράσης της ενδοκρινικής ορμόνης FGF21 (Fibroblast Growth Factor 21), η οποία παράγεται κυρίως από το ήπαρ ως απόκριση σε μεταβολικές προκλήσεις όπως η κατανάλωση αλκοόλ. Ο κύριος στόχος της έρευνας ήταν να κατανοηθεί ο μηχανισμός μέσω του οποίου το FGF21 δρα στον εγκέφαλο, προκειμένου να μειώσει την κατανάλωση αλκοόλ. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στον ρόλο των νευρωνικών κυκλωμάτων, τα οποία μεσολαβούν σε αυτή τη διαδικασία, με κεντρικό στοιχείο τα γονίδια FGF21 και KLB (β-κλόθο), που εμπλέκονται στη ρύθμιση της συμπεριφοράς κατανάλωσης αλκοόλ.

Το FGF21 είναι μια πρωτεΐνη-ορμόνη που παίζει ρόλο στη διατήρηση της ενεργειακής ομοιόστασης και στην προσαρμογή του οργανισμού σε μεταβολικές διαταραχές, όπως η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ. Το γονίδιο FGF21 είναι υπεύθυνο για την παραγωγή της ορμόνης αυτής και σχετίζεται με την καταστολή της επιθυμίας για κατανάλωση αλκοόλ. Μέσα από μελέτες συσχέτισης γονιδιώματος (GWAS), διαπιστώθηκε ότι συγκεκριμένοι πολυμορφισμοί στο γονίδιο FGF21 και στο KLB, τον συνυποδοχέα του FGF21, σχετίζονται με αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ στους ανθρώπους.

Στην έρευνα (Flippo et al., 2022), η κατανάλωση αλκοόλ αντιμετωπίζεται ως σημαντική μεταβολική πρόκληση, με την ενεργοποίηση του FGF21 να παίζει ρόλο στον περιορισμό της επιθυμίας για αλκοόλ. Το KLB, ως συνυποδοχέας του FGF21, είναι απαραίτητο για τη σηματοδότηση της ορμόνης στον εγκέφαλο. Η έρευνα έδειξε ότι η σηματοδότηση αυτή λαμβάνει χώρα κυρίως σε νευρώνες του βασολατερικού αμυγδαλοειδούς πυρήνα (BLA), οι οποίοι στη συνέχεια προβάλλουν στον επικλινή πυρήνα (nucleus accumbens - NAc), μια περιοχή του εγκεφάλου που σχετίζεται με το σύστημα ανταμοιβής.

Για τη διερεύνηση της δράσης του FGF21 χρησιμοποιήθηκαν μια σειρά από πειραματικές τεχνικές σε διάφορα μοντέλα, κυρίως σε ποντίκια και πρωτεύοντα θηλαστικά.

- Πειράματα σε Ποντίκια: Τα ποντίκια έλαβαν ενδοκοιλιακές ενέσεις ανασυνδυασμένου ανθρώπινου FGF21 και του αναλόγου του (PF-05231023), ενώ μοντέλα γενετικής διαγραφής του FGF21 και του KLB χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση της λειτουργίας της ορμόνης. Χρησιμοποιήθηκε επίσης το πείραμα δύο μπουκαλιών, στο οποίο στα ποντίκια προσφέρθηκαν νερό και αλκοόλ για να μετρηθεί η κατανάλωσή τους.
- Πειράματα σε Πρωτεύοντα Θηλαστικά: Σε πειράματα με αλκοολόφιλους πιθήκους *vervet*, η χορήγηση FGF21 μείωσε σημαντικά την κατανάλωση αλκοόλ. Οι πίθηκοι χωρίστηκαν σε ομάδες που έλαβαν είτε φυσιολογικό ορό είτε το ανάλογο FGF21, ενώ καταγράφηκαν οι αλλαγές στην κατανάλωση αλκοόλ.

- **Νευροβιολογικές Τεχνικές:** Για την κατανόηση του τρόπου με τον οποίο το FGF21 επηρεάζει συγκεκριμένους νευρώνες, χρησιμοποιήθηκαν ηλεκτροφυσιολογικές καταγραφές στον βασολατερικό αμυγδαλοειδή πυρήνα, ενώ η έγχυση καθετήρων στον εγκέφαλο ποντικών επέτρεψε τη χορήγηση FGF21 απευθείας σε συγκεκριμένες περιοχές.

Τα αποτελέσματα της έρευνας (Flirpo et al., 2022), επιβεβαιώνουν ότι η χορήγηση FGF21 μειώνει σημαντικά την κατανάλωση αλκοόλ τόσο σε ποντίκια όσο και σε πρωτεύοντα θηλαστικά. Οι νευρώνες που εκφράζουν το *KLB* στον βασολατερικό αμυγδαλοειδή πυρήνα ενεργοποιούνται από το FGF21, καταστέλλοντας τη συμπεριφορά κατανάλωσης αλκοόλ. Η ενεργοποίηση αυτών των νευρώνων συνδέεται με το σύστημα ανταμοιβής του εγκεφάλου μέσω των προβολών στον επικλινή πυρήνα, περιορίζοντας έτσι την επιθυμία για αλκοόλ. Η καινοτομία της μελέτης έγκειται στο γεγονός ότι αναγνωρίζει ένα συγκεκριμένο νευρικό κύκλωμα μέσω του οποίου η ορμόνη FGF21 καταστέλλει την κατανάλωση αλκοόλ. Πρόκειται για ένα κύκλωμα που περιλαμβάνει νευρώνες του βασολατερικού αμυγδαλοειδή πυρήνα που εκφράζουν το γονίδιο *KLB* και προβάλλουν στον επικλινή πυρήνα. Η ανακάλυψη αυτή ανοίγει τον δρόμο για πιθανές θεραπευτικές προσεγγίσεις στην αντιμετώπιση της διαταραχής κατανάλωσης αλκοόλ (AUD).

5.6. Ο ρόλος της Φαρμακογονιδιοματικής όσον αφορά τη θεραπεία με SSRIs.

Η μείζων καταθλιπτική διαταραχή (MDD) και η AUD αποτελούν σημαντικές ψυχιατρικές παθήσεις με υψηλή συννοσηρότητα. Η φαρμακοθεραπεία με εκλεκτικούς αναστολείς επαναπρόσληψης σεροτονίνης (SSRIs- Selective Serotonin Reuptake Inhibitors) αποτελεί τη βασική θεραπευτική προσέγγιση στη MDD, με αμφίβολα όμως αποτελέσματα σε ποσοστό 30-50% των ασθενών (Nguyen et al., 2021).

Η βιοσύνθεση της σεροτονίνης, ως βασικός νευροδιαβιβαστής, επηρεάζεται από γενετικούς παράγοντες, με γονίδια όπως τα *TSPAN5* και *ERICH3* να διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο σε αυτό τον μηχανισμό. Η πολυ-ομική προσέγγιση της μελέτης (Nguyen

et al., 2021) προσφέρει νέα στοιχεία για την επίδραση αυτών των γονιδίων στη βιολογία της σεροτονίνης και την απόκριση στη θεραπεία. Η ομική (omics) αναφέρεται στην μελέτη μεγάλων συνόλων δεδομένων που αφορούν βιολογικά μόρια για να κατανοηθεί η λειτουργία και η αλληλεπίδραση τους σε έναν οργανισμό.

Η ερευνητική ομάδα (Nguyen et al., 2021) χρησιμοποίησε συγκεντρώσεις μεταβολιτών στο πλάσμα των ασθενών και πραγματοποιήθηκε μελέτη συσχέτισης στο γονιδίωμα (GWAS) με στόχο να εντοπιστούν γενετικές παραλλαγές (SNPs) που συνδέονται με την απόκριση στη θεραπεία. Στη μελέτη αυτή, έλαβαν μέρος δεδομένα από 803 ασθενείς που συμμετείχαν στη δοκιμή PGRN-AMPS (Pharmacogenomics Research Network - Antidepressant Medication Pharmacogenomics Study), η οποία εξέτασε τη φαρμακογονιδιοματική των SSRIs στη ΜΚΔ. Οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε θεραπεία με τα SSRIs σιταλοπράμη και εσιταλοπράμη για 4 και 8 εβδομάδες. Πραγματοποιήθηκαν μελέτες λειτουργικής γονιδιοματικής σε κυτταρικές σειρές για να επιβεβαιωθεί ο ρόλος των γονιδίων TSPAN5, ERICH3, DEFB1 και AHR στη βιοσύνθεση και μεταβολισμό της σεροτονίνης.

Το γονίδιο TSPAN5 εμπλέκεται στη ρύθμιση των ενζύμων που σχετίζονται με τη βιοσύνθεση της σεροτονίνης, όπως τα TPH1, TPH2, DDC, και MAOA. Οι λειτουργικές μελέτες έδειξαν ότι η μείωση της έκφρασης του TSPAN5 οδηγεί σε μείωση των επιπέδων σεροτονίνης, ενώ η υπερέκφραση του αυξάνει τη συγκέντρωσή της. Η λειτουργία του ERICH3 συνδέεται με τη μεταφορά νευροδιαβιβαστών μέσω των κυστίδων. Η μείωση της έκφρασής του οδηγεί σε χαμηλότερα επίπεδα σεροτονίνης στα νευρικά κύτταρα, γεγονός που συνδέεται με την ανθεκτικότητα στη θεραπεία με SSRIs. Επιπλέον, το ERICH3 επηρεάζει και άλλους νευροδιαβιβαστές, όπως η ντοπαμίνη, και η παρουσία του στον εγκέφαλο και τα αιμοπετάλια υποδηλώνει μια συνολική επίδραση στη ρύθμιση της σεροτονίνης. Το γονίδιο DEFB1 κωδικοποιεί την β-αμυνσίνη, η οποία εμπλέκεται στην ανοσολογική απόκριση και τη ρύθμιση της κινουρενίνης. Η ρύθμιση της κινουρενίνης από το DEFB1 μπορεί να επηρεάσει την παθοφυσιολογία της κατάθλιψης. Το γονίδιο AHR είναι ένας υποδοχέας που επηρεάζει τη βιοσύνθεση της κινουρενίνης και έχει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των φλεγμονωδών διαδικασιών.

Η ταυτοποίηση των SNPs σε αυτά τα γονίδια προσφέρει ενδείξεις για τη χρήση βιοδεικτών στην εξατομικευμένη ιατρική και τη φαρμακογονιδιοματική, επιτρέποντας πιο ακριβή πρόβλεψη της απόκρισης στη θεραπεία.

Το TSPAN5 έχει, επίσης, αναγνωριστεί ως αλκοόλ-ανταποκρινόμενο γονίδιο, το οποίο υποδηλώνει ότι μπορεί να διαδραματίζει ρόλο στη θεραπεία της AUD με ακαμπροσάτη, ενισχύοντας την αποχή από το αλκοόλ (Nguyen et al., 2021).

Το γονίδιο TSPAN5 ανήκει στην οικογένεια των τετρασπανινών, πρωτεϊνών με σημαντικό ρόλο στην κυτταρική σηματοδότηση και τη ρύθμιση της έκφρασης άλλων γονιδίων. Η μελέτη (Ho et al., 2021) επικεντρώνεται στο ρόλο του TSPAN5 στην σεροτονινεργική και κινουρενογενή οδό, και εξετάζει πώς πολυμορφισμοί του επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις αυτών των ουσιών στο κεντρικό νευρικό σύστημα.

Οι πολυμορφισμοί του TSPAN5 έχουν βρεθεί να επηρεάζουν τα επίπεδα σεροτονίνης, η οποία σχετίζεται με την κατάθλιψη και τη συμπεριφορά κατανάλωσης αλκοόλ. Η μελέτη (Ho et al., 2021) βασίστηκε σε δείγμα 442 ατόμων με AUD, από τα οποία 305 ήταν ευρωπαϊκής καταγωγής. Οι συμμετέχοντες υποβλήθηκαν σε θεραπεία με ακαμπροσατάτη και τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν ως προς τη διάρκεια αποχής από το αλκοόλ κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Επίσης, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν κύτταρα που προέρχονται από επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (iPSC), τα οποία διαφοροποιήθηκαν σε νευρώνες και αστροκύτταρα και υποβλήθηκαν σε αγωγή με αιθανόλη και ακαμπροσατάτη.

Για την ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν πολλές σύγχρονες τεχνικές. Η RNA-αλληλούχιση (RNA-seq) χρησιμοποιήθηκε για την εξέταση της γονιδιακής έκφρασης πριν και μετά την αγωγή, ενώ άλλες μέθοδοι όπως Western blot, real-time PCR, και knockdown του TSPAN5 με siRNA και CRISPR-Cas9 χρησιμοποιήθηκαν για την επιβεβαίωση των ευρημάτων.

Τα αποτελέσματα της μελέτης ανέδειξαν ότι η έκφραση του TSPAN5 μειώνεται σημαντικά μετά τη χορήγηση αιθανόλης και ακαμπροσατάτης, γεγονός που οδηγεί σε μείωση της σεροτονίνης και του κινουρενίου. Αυτή η μείωση επηρεάζει τη βιοσύνθεση της σεροτονίνης μέσω γονιδίων όπως τα DDC, TPH1, TPH2, MAOA, και MAOB. Οι πολυμορφισμοί rs11940430, rs4699354, και rs10029405 του TSPAN5 βρέθηκαν να συνδέονται με τη διάρκεια αποχής από το αλκοόλ κατά τη θεραπεία, ενώ οι ασθενείς με ομοζυγωτικά παραλλαγμένα γονότυπα είχαν υψηλότερο κίνδυνο υποτροπής.

Η μελέτη (Ho et al., 2021) προσέφερε νέες προοπτικές στην κατανόηση της δράσης της ακαμπροσατάτης και τον τρόπο με τον οποίο οι πολυμορφισμοί του TSPAN5 επηρεάζουν τη θεραπευτική ανταπόκριση. Αυτή η φαρμακογονιδιοματική προσέγγιση

θα μπορούσε να οδηγήσει σε πιο εξατομικευμένες θεραπείες για ασθενείς με AUD, με βάση τα γενετικά τους χαρακτηριστικά.

6. Συμπεράσματα

Η ανάλυση της AUD μέσα από το πρίσμα της γενετικής και επιγενετικής έρευνας αναδεικνύει την πολυπλοκότητα της διαταραχής, προσφέροντας νέες προοπτικές για την αντιμετώπισή της. Αυτή η ανασκόπηση είχε ως στόχο να φέρει στο φως μια συγκεντρωτική μελέτη των νέων οδών που ακολουθούν οι επιστήμονες για την έρευνα, αντιμετώπιση και θεραπεία της AUD. Έτσι, συνεισφέρει σημαντικά στην κατανόηση των μοριακών μηχανισμών και στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών, με καινοτόμα σημεία την αξιοποίηση φαρμακευτικής επανάχρησης και βιοδεικτών για την εξατομικευμένη θεραπεία. Οι ενότητες για τη νευροανοσολογία, τις βιοπληροφορικές αναλύσεις και τις προσεγγίσεις φαρμακευτικής επανάχρησης προσφέρουν κρίσιμες πληροφορίες για τους μοριακούς μηχανισμούς που οδηγούν στη διαταραχή χρήσης αλκοόλ, καθώς και για τις νέες θεραπευτικές στρατηγικές που μπορούν να αναπτυχθούν. Αυτή η προσέγγιση, που ενσωματώνει βιοπληροφορικά εργαλεία όπως το Connectivity Map (CMap) και το Library of Integrated Network-Based Cellular Signatures (LINCS), σηματοδοτεί μια σημαντική στροφή προς πιο στοχευμένες και προσαρμοσμένες λύσεις για την AUD. η πειραματική χρήση της CRISPR σε τέτοια γονίδια όχι μόνο προσφέρει μια νέα αντίληψη για τους μοριακούς μηχανισμούς του αλκοολισμού, αλλά δημιουργεί το πλαίσιο για την ανάπτυξη νέων θεραπειών. Οι μεταλλάξεις και οι επιδράσεις τους στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των νευροδιαβιβαστών, όπως το GABA και το NPY, προσφέρουν μια πιο στοχευμένη προσέγγιση για την αντιμετώπιση της AUD, ανοίγοντας το δρόμο για μελλοντικές κλινικές εφαρμογές.

Η χρήση βιοδεικτών είναι ακόμη ένα εργαλείο του μέλλοντος ώστε να επιτευχθεί ταχύς διάγνωση και πρόβλεψη της θεραπευτικής απόκρισης, συμβάλλοντας παράλληλα στη βελτιστοποίηση των φαρμακευτικών παρεμβάσεων. Αυτή η καινοτόμος προσέγγιση δείχνει ότι η έρευνα στον τομέα της AUD δεν περιορίζεται πλέον σε γενετικές μελέτες αλλά εξελίσσεται προς πολυπαραγοντικές, εξατομικευμένες στρατηγικές. Τέτοιες καινοτομίες μπορούν να φέρουν επανάσταση στη θεραπεία της διαταραχής, μειώνοντας τον χρόνο για την ανάπτυξη νέων θεραπειών και βελτιώνοντας τις μακροπρόθεσμες εκβάσεις για τους ασθενείς.

7. Βιβλιογραφία

Bevilacqua, L. *et al.* (2010) ‘A POPULATION-SPECIFIC HTR2B STOP CODON PREDISPOSES TO SEVERE IMPULSIVITY HHS Public Access’, *Nature*, 468(7327), pp. 1061–1066. doi: 10.1038/nature09629.

Blednov, Y. A. *et al.* (2015) ‘Peroxisome proliferator-activated receptors α and γ are linked with alcohol consumption in mice and withdrawal and dependence in humans’, *Alcoholism, clinical and experimental research*. NIH Public Access, 39(1), p. 136. doi: 10.1111/ACER.12610.

Carvalho, A. F. *et al.* (2019) ‘Alcohol use disorders’, *The Lancet*. Elsevier Ltd, 394(10200), pp. 781–792. doi: 10.1016/S0140-6736(19)31775-1.

Chartier, K. G., Vaeth, P. A. C. and Caetano, R. (2021) ‘Ethnicity and the Social and Health Harms From Drinking 229 Focus on: Ethnicity and the Social and Health Harms From drinking’.

Chen, J. *et al.* (2015) ‘CREB-BDNF Pathway Influences Alcohol Cue-Elicited Activation in Drinkers’, 3019(December 2014), pp. 3007–3019. doi: 10.1002/hbm.22824.

Clarke, T. K. *et al.* (2017) ‘Genome-wide association study of alcohol consumption and genetic overlap with other health-related traits in UK biobank (N=112117)’, *Molecular Psychiatry*. Nature Publishing Group, 22(10), pp. 1376–1384. doi: 10.1038/mp.2017.153.

Edenberg, H. J. and Foroud, T. (2006) ‘The genetics of alcoholism: Identifying specific genes through family studies’, *Addiction Biology*, 11(3–4), pp. 386–396. doi: 10.1111/j.1369-1600.2006.00035.x.

Edenberg, H. J., Gelernter, J. and Agrawal, A. (2019) ‘Genetics of Alcoholism’, *Current Psychiatry Reports*. Current Psychiatry Reports, 21(4). doi: 10.1007/s11920-019-1008-1.

Edenberg, H. J. and McClintick, J. N. (2018) ‘Alcohol Dehydrogenases, Aldehyde Dehydrogenases, and Alcohol Use Disorders: A Critical Review’, *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 42(12), pp. 2281–2297. doi: 10.1111/acer.13904.

- Egervari, G. *et al.* (2021) 'Alcohol and the brain: from genes to circuits', *Trends in Neurosciences*, 44(12), pp. 1004–1015. doi: 10.1016/j.tins.2021.09.006.
- Fiorelli, D. *et al.* (2023) 'Alcohol Abuse : A Retrospective Study of the Italian Drinking Trend among Drivers from 2016 to 2022'.
- Gameiro-Ros, I. *et al.* (2023) '5. Collaborative Study on the Genetics of Alcoholism: Functional genomics', *Genes, Brain and Behavior*, 22(5), pp. 1–12. doi: 10.1111/gbb.12855.
- Grant, B. F. *et al.* (2015) 'Epidemiology of DSM-5 Alcohol Use Disorder: Results From the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions III', *JAMA psychiatry*. NIH Public Access, 72(8), p. 757. doi: 10.1001/JAMAPSYCHIATRY.2015.0584.
- Grantham, E. K. and Farris, S. P. (2019) 'Bioinformatic and biological avenues for understanding alcohol use disorder', *Alcohol*. Elsevier Ltd, 74, pp. 65–71. doi: 10.1016/j.alcohol.2018.05.004.
- Gupta, I. *et al.* (2020) 'Recent Advances in Genetic Studies of Alcohol Use Disorders', *Current Genetic Medicine Reports*, 8(2), pp. 27–34. doi: 10.1007/s40142-020-00185-9.
- Harris, J. C. *et al.* (2022) 'Racial Differences in the Association between Alcohol Drinking and Cigarette Smoking: Preliminary Findings from an Alcohol Research Program', *Alcohol and Alcoholism*, 57(3), pp. 330–339. doi: 10.1093/alcalc/agab038.
- Hasin Deborah S. (2013) '<Appi.Ajp.2013.12060782.Pdf>', *Ajp.Psychiatryonline.Org*, 170(August), pp. 834–851.
- Iyer-Eimerbrink, P. A. and Nurnberger, J. I. (2014) 'Genetics of Alcoholism', *Current Psychiatry Reports*, 16(12). doi: 10.1007/s11920-014-0518-0.
- Jin, S. *et al.* (2021) 'HHS Public Access', 3(3), pp. 337–351. doi: 10.1038/s42255-021-00357-z.Brain.
- Kranzler, H. R. *et al.* (2021) 'Prospective randomized pharmacogenetic study of topiramate for treating alcohol use disorder', *Neuropsychopharmacology*. Springer US, 46(8), pp. 1407–1413. doi: 10.1038/s41386-020-00945-9.
- Lawlor, D. A. *et al.* (2014) 'ADH1B and ADH1C genotype, alcohol consumption and

- biomarkers of liver function: Findings from a Mendelian randomization study in 58,313 European origin Danes', *PLoS ONE*, 9(12), pp. 1–14. doi: 10.1371/journal.pone.0114294.
- Liu, M. *et al.* (2019) 'Association studies of up to 1.2 million individuals yield new insights into the genetic etiology of tobacco and alcohol use', *Nature Genetics*, 51(2), pp. 237–244. doi: 10.1038/s41588-018-0307-5.
- Logrip, M. L. (2019) 'Molecular tools to elucidate factors regulating alcohol use', *Alcohol*. Elsevier Ltd, 74, pp. 3–9. doi: 10.1016/j.alcohol.2018.03.006.
- Mahna, D., Puri, S. and Sharma, S. (2018) 'DNA methylation signatures: Biomarkers of drug and alcohol abuse', *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*. Elsevier, 777(June), pp. 19–28. doi: 10.1016/j.mrrev.2018.06.002.
- Mayfield, R. D. (2017) 'Emerging roles for ncRNAs in alcohol use disorders', *Alcohol*, 60, pp. 31–39. doi: 10.1016/j.alcohol.2017.01.004.
- Morozova, T. V. *et al.* (2012) 'The genetic basis of alcoholism: Multiple phenotypes, many genes, complex networks', *Genome Biology*, 13(2). doi: 10.1186/gb-2012-13-2-239.
- Morozova, T. V., Mackay, T. F. C. and Anholt, R. R. H. (2014) 'Genetics and genomics of alcohol sensitivity', *Molecular Genetics and Genomics*, 289(3), pp. 253–269. doi: 10.1007/s00438-013-0808-y.
- Nayak, D., Roth, T. L. and McGavern, D. B. (2014) 'The heritability of alcohol use disorders', *Psychological medicine*, 45(2), pp. 367–402. doi: 10.1017/S0033291714002165.The.
- OECD (2023) 'Alcohol consumption', '*Alcohol consumption*', in *Health at a Glance 2023*. doi: 10.1787/6e4b4ffb-en.
- Sacks, J. J. *et al.* (2015) '2010 National and State Costs of Excessive Alcohol Consumption', *American Journal of Preventive Medicine*. Elsevier, 49(5), pp. e73–e79. doi: 10.1016/j.amepre.2015.05.031.
- Sanchez-Roige, S., Palmer, A. A. and Clarke, T. K. (2020) 'Recent Efforts to Dissect the Genetic Basis of Alcohol Use and Abuse', *Biological psychiatry*. Biol Psychiatry, 87(7), pp. 609–618. doi: 10.1016/J.BIOPSYCH.2019.09.011.

Tawa, E. A., Hall, S. D. and Lohoff, F. W. (2016) 'Overview of the genetics of alcohol use disorder', *Alcohol and Alcoholism*, 51(5), pp. 507–514. doi: 10.1093/alcalc/agw046.

Tikkanen, R. *et al.* (2015) 'Impulsive alcohol-related risk-behavior and emotional dysregulation among individuals with a serotonin 2B receptor stop codon', *Translational Psychiatry*. Nature Publishing Group, 5(11). doi: 10.1038/tp.2015.170.

Volkow, N. D., Koob, G. F. and McLellan, A. T. (2016) 'Neurobiologic Advances from the Brain Disease Model of Addiction', *The New England journal of medicine*. NIH Public Access, 374(4), p. 363. doi: 10.1056/NEJMRA1511480.

Wedemeyer, F. *et al.* (2020) 'Prospects of Genetics and Epigenetics of Alcohol Use Disorder'. doi: 10.1007/s40429-020-00331-x.

Zhou, H. and Gelernter, J. (2024) 'Human genetics and epigenetics of alcohol use disorder', *The Journal of clinical investigation*, 134(16). doi: 10.1172/JCI172885.