

2. Stand der Literatur

Genetik der Alkoholabhängigkeit

Die meisten Familienuntersuchungen haben eine hohe Prävalenz von Alkoholabhängigkeit bei Verwandten von Alkoholabhängigen festgestellt [Guze et al., 1986]. In einer Übersicht über 29 Familienstudien mit 6251 Alkoholabhängigen und 4083 Gesunden wurde beobachtet, dass 27% der Väter und 4,9% der Mütter von Alkoholabhängigen selbst alkoholabhängig waren [no authors mentioned, Editorial im „British Medical Journal“, 1980]. Eine weitere Studie zeigte, dass bis zu 50% der Brüder und 8% der Schwestern von Alkoholkranken selbst alkoholabhängig waren [Winokur et al., 1970]. Eine familiäre Häufung der Alkoholabhängigkeit ist jedoch nicht automatisch mit einer hereditären Belastung gleichzusetzen [Soyka, 1998]. Daher kann eine ausschließliche familiäre Häufung der Alkoholabhängigkeit auf die gemeinsamen Umweltfaktoren und Lebensbedingungen zurückzuführen sein. Zwillings- und Adoptionsuntersuchungen weisen jedoch auf eine Vererbungskomponente der Alkoholabhängigkeit hin [Cloninger et al., 1988]. So konnten signifikant höhere Konkordanzen in der Entwicklung einer Alkoholabhängigkeit zwischen monozygoten als zwischen dizygoten Zwillingspaaren gezeigt werden [Prescott et al., 1999]. Auch die Konkordanz für exzessive Trinkmengen wurde häufiger bei eineiigen als bei zweieiigen Zwillingen beobachtet. Auf der Basis der oben genannten Untersuchungen wird der Anteil der genetischen Ursachen für die Entwicklung einer Alkoholabhängigkeit auf 50 – 60% geschätzt. Gegen eine einfache polygenetische Vererbung spricht, dass die Alkoholabhängigkeit bei Verwandten ersten Grades nicht wesentlich häufiger auftritt als bei Verwandten zweiten Grades [Soyka, 1998].

Einige Autoren sehen eher eine Assoziation der Alkoholabhängigkeit mit verschiedenen psychischen Störungen oder Persönlichkeitsmerkmalen wie z.B. mit antisozialen Zügen, Impulsivität, Sensationsgier, emotionaler Instabilität oder depressiven Störungen. Die Suche nach genetischen Markern für die Alkoholabhängigkeit läuft auf verschiedenen Gebieten.

Zu erwähnen sind u.a. Assoziations- und Kopplungsstudien. Eine mögliche Gruppe von Kandidatengenen sind dabei die Dopaminrezeptorgene. So wurden 1990 bei einer autoptischen Untersuchung von je 35 Gehirnen Alkoholkranker und Gesunder 2 Allele des DRD2-Gens isoliert. Bei 77% der Alkoholabhängigen konnte dabei das A1-Allel nachgewiesen werden

(Taq I A-Polymorphismus). Bei der Kontrollgruppe zeigte sich eine Prävalenz des A1-Allels lediglich von 28 % [Blum et al., 1990].

Genetische Polymorphismen im dopaminergen System

Im DRD2-Gen beispielsweise wurden 13 exonische und mehrere intronische Polymorphismen sowie zwei in der Promoterregion beschrieben.

Der Taq I A1/A2-Polymorphismus liegt 10542 Basenpaare „downstream“ vom Stopcodon entfernt und war, wie bereits oben erwähnt, Gegenstand zahlreicher Untersuchungen (Abb. 1).

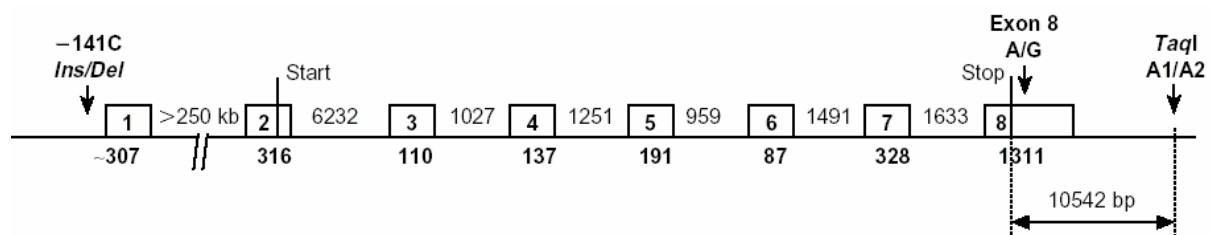


Abb. 1 [aus Samochowiec et al., 2000]

Tatsächlich war dieser Polymorphismus der erste, der das DRD2-Gen eine Zeit lang in den Mittelpunkt der genetischen Alkoholismusstudien rückte [Noble et al., 1991], zumal das dopaminerge Belohnungssystem einen großen Beitrag zur Entwicklung abhängigen Verhaltens leistet [Übersichtsarbeit von Self, 1998]. Außerdem ist gefunden worden, dass zumindest eine Subgruppe alkoholabhängiger Patienten (nämlich diejenigen mit schlechter Prognose und frühem Beginn) einen ausgeprägten genetischen Hintergrund für Alkoholabhängigkeit hat [Cloninger, 1983]. Das Vorliegen eines speziellen DRD2-Gen-Allels, nämlich A1, wie es durch den Taq I -Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) detektiert wird, scheint mit einer reduzierten Anzahl von cerebralen DRD2 assoziiert zu sein und könnte deshalb klinische Implikationen haben [Blum et al., 1996]. Nachdem das DRD2 A1-Allel im Zusammenhang mit Alkoholabhängigkeit gebracht wurde, konnten viele nachfolgende Untersuchungen diesen Befund nicht replizieren, andere wiederum bestätigten ihn [Bolos et al., 1990; Heinz et al., 1996; Lawford et al., 1997]. Die Schwere der Alkoholabhängigkeit, die in erster Linie durch somatische Folgen der chronischen Äthanoleinnahe, durch die Menge der Einnahme an Alkohol in Gramm am Tag vor der Aufnahme zur Entgiftung oder durch kumulative Zeiträume der Abstinenz angezeigt wird, ist in Assoziation mit dem Dopamin-D2-Rezeptor gefunden worden [Arinami et al., 1993].

Es gibt signifikante Unterschiede in der Frequenz des A1-Allels zwischen verschiedenen Populationen. Noble hat 1998 eine Review-Arbeit über Assoziationsstudien bei Alkoholismus und verschiedenen Phänotypen bezüglich des Taq I A-Polymorphismus durchgeführt. Um ethnische Stratifikationsartefakte zu vermeiden, wählte er ausschließlich Studien mit europäischen Kaukasiern aus. Insgesamt fand er 1015 Alkoholabhängige und 898 Kontrollen mit einer statistisch signifikant höheren Frequenz des A1-Allels bei den Alkoholabhängigen (21,6%), verglichen mit den Kontrollen (15,8%). Diese Metaanalyse vermittelte wieder den Eindruck, dass die Variabilität der Allelfrequenzen bei den Kontrollen höher war als bei den Alkoholabhängigen. Einige Studien anhand von Kontrollgruppen mit geringer Probandenzahl wiesen besonders niedrige A1-Frequenzen auf, und es gab eine signifikante Korrelation zwischen der Stichprobengröße bei den Kontrollprobanden und der Frequenz des A1-Allels, aber nicht bei den Alkoholabhängigen. Das deutete auch darauf hin, dass die Assoziationsstudien als Einschränkung genetische Inhomogenitäten aufwiesen und dass einige Assoziationen eher von der Genotypfrequenz im Kontroll- als im Patientenkollektiv abhingen. Das humane A1-Allel repräsentiert eine phylogenetisch alte Sequenz (TTGA), die bei Primaten identisch ist [Kidd et al., 1998]. Nun können, da es sich um einen sogenannten „stillen“ Polymorphismus beim Taq I A-Allel handelt, also ohne Bedeutung für die Translation und somit Proteinsequenz mit Hilfe der bekannten Polymorphismen in und um das DRD2-Gen verschiedene Haplotypen konstruiert werden. Ein anderer Weg, um die fehlende Spezifität dieses Polymorphismus auszugleichen, ist es, spezifische Phänotypen der Alkoholabhängigen, sei es einmal nach der Schwere der Alkoholabhängigkeit selbst oder nach bestimmten Persönlichkeitsdimensionen, aufzuteilen. Eine weitere Maßnahme, die wir gegen falsch negative Befunde ergriffen, war die Verwendung sehr streng ausgewählter gesunder Probanden.

Insbesondere die zahlreichen widersprüchlichen und wenig überzeugenden Assoziationsbefunde von Taq I A1 und einem DRD2-Promoter-Polymorphismus mit Alkoholismus (-141Ins/Del), schwerer Alkoholabhängigkeit oder anderen psychopathologischen Phänotypen haben zu der möglicherweise voreiligen Schlussfolgerung beigetragen, DRD2 könne kein geeignetes Kandidatengen sein. Allerdings konnte gezeigt werden, dass E8A/G und Taq I A in einem signifikanten Kopplungsungleichgewicht stehen. Das Kopplungsungleichgewicht spiegelt sich in der Tatsache wider, dass Taq I A1 in über 98 % der untersuchten Haplotypen im Cis mit E8A vorliegt. Die Taq I A2-Allele werden durch E8AG in 2 ähnlich große Subgruppen getrennt. Dadurch müssen Assoziationsstudien auf der Basis von E8A/G zu anderen Ergebnissen führen als solche allein auf der Basis von Taq I A,

sofern das untersuchte Merkmal durch den DRD2-Genotyp beeinflusst wird [Finckh et al., 1996]. Hierauf weisen letztendlich auch unsere Ergebnisse hin. Um Stratifikationsartefakte oder andere methodische Widrigkeiten zu umgehen, haben wir bestimmte, wesentlich genauer charakterisierte klinische Phänotypen ausgesucht.

Ein Parameter, um Patienten mit starker genetischer Belastung, mit schwerer Abhängigkeit, d.h. mit vielen alkoholassoziierten Gesundheitsproblemen und möglicherweise Chronifizierung von Patienten mit besserer Prognose zu unterscheiden, scheint das Erstmanifestationsalter zu sein [Babor et al., 1992]. Eine japanische Gruppe hat eine Assoziation der frühmanifesten Alkoholabhängigkeit, d.h. vor einem Alter von 25 Jahren, mit dem Vorkommen des A1-Allels gefunden [Kono et al., 1997]. In dieser Arbeit jedoch wurden Instrumente und Umstände für die Bestimmung dieses Kriteriums nicht erwähnt.

Entsprechend molekularbiologischer, physiologischer und pharmakologischer Merkmale werden zwei Hauptgruppen und 5 Untergruppen von Dopaminrezeptoren im ZNS unterschieden [Cooper et al., 1996]. Dabei werden zu den D1-artigen Rezeptoren der D1- und der D5-Rezeptor gezählt, zu den D2-artigen Rezeptoren der D2-, D3- und D4-Rezeptor. Die beiden Rezeptorklassen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Signaltransduktionsmechanismen, wobei über den D1-artigen Rezeptor eine Adenylylcyclase und so die Bildung von cAMP in der Effektorzelle stimuliert wird. Der D2-artige Rezeptor hingegen inhibiert entweder über die Adenylylcyclase den Kalziumeinstrom über potentialabhängige Kalziumkanäle oder den Phosphatidylinositol-Turnover bzw. stimuliert die Aktivität von Kaliumkanälen. Zusätzlich unterscheiden sich Dopaminrezeptoren ihrer Affinität (niedrig-hoch) für Dopaminagonisten [Hietala, 1988].

Die Ausschüttung von Prolaktin aus der Adenohypophyse ist unter der tonischen Kontrolle von Dopamin, welches als prolaktininhibierender Faktor (PIF) wirkt [Lal & Martin, 1980]. Dieses Dopamin wird von Neuronen des Nucleus arcuatus in der Eminentia mediana und von dort aus auf dem Blutweg zur Adenohypophyse transportiert, wo es an DRD2 von lactotrophen Zellen wirkt [Flores et al., 1992]. DRD2-Agonisten hemmen dementsprechend die Freisetzung von Prolaktin aus der Adenohypophyse in vitro und in vivo [Ben-Jonathan, 1985]. DRD2-Antagonisten erhöhen die Prolaktinausschüttung durch Verminderung der dopaminergen tonischen Inhibition.

Die Sekretion von Wachstumshormon (GH) wird durch 2 hypothalamische Neuropeptide reguliert, welche in das portale Gefäßsystem sezerniert werden: Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH), das die GH-Freisetzung stimuliert und das Growth Hormone Inhibiting

Hormone (GHIH, bzw. Somatostatin), das die GH- und TSH-Freisetzung aus der Adenohypophyse inhibiert [Tuomisto & Manistö, 1985]. Dopamin beeinflusst die GH-Ausschüttung auf hypothalamischer wie auf hypophysärer Ebene [Vance & Thorner, 1989]. Es wurde gezeigt, dass Dopamin sowohl die Freisetzung von GHRH als auch von GHIH stimuliert. Der stimulierende Effekt von Dopamin wird auf hypothalamischer Ebene vermittelt, während der inhibitorische Effekt über eine direkte Stimulation somatotroper Dopaminrezeptoren geleistet wird. Aus diesem Grund bewirken Infusionen von Apomorphin eine Stimulation der GH-Sekretion bei gesunden Menschen.

Für Dopamin wurde ein stimulierender Einfluss auf CRH-Neurone festgestellt, aber keine direkte Kontrolle der ACTH-Sekretion. Bei Ratten wurden zwei, sich in der Apomorphin-Empfindlichkeit unterscheidende Phänotypen gefunden. Die für Apomorphin empfindlichen Ratten zeigten eine höhere und längere stressinduzierte ACTH-Sekretion als die für Apomorphin unempfindlichen, obwohl sich die Gesamt-Corticosteronmenge nicht unterschied [Rots et al., 1996].

Apomorphin ist ein direkter, nicht-selektiver Agonist für prä- und postsynaptische Dopaminrezeptoren. In der Hypophyse fördert Apomorphin die Ausschüttung von Wachstumshormon und hemmt die von Prolaktin. Weiterhin hat Apomorphin keinen Effekt auf Noradrenalin- oder Serotoninrezeptoren. Auch hat es keinen Effekt auf den Blutalkoholspiegel. Bisher fand man im Wachstumshormon-Apomorphintest, dass sowohl bei mittelfristig (2 Monate) als auch jahrelang abstinenten, alkoholabhängigen Patienten die Wachstumshormonantwort im Vergleich zu Kontrollpersonen niedriger ausfiel, wobei die Ausgangskonzentration von Wachstumshormon bei den Alkoholabhängigen höher lag als bei Kontrollpersonen. Da dieser Test als Maß für die postsynaptische DRD2-Funktion gilt, kann davon ausgegangen werden, dass diese in der Abstinenzphase über einen längeren Zeitraum reduziert ist [Balldin et al., 1993]. In der frühen Alkoholabstinenzphase (erste Woche) ist die DRD2-Sensitivität jedoch gesteigert [Annunziato et al., 1983]. Sowohl bei alkoholpräferierenden Ratten als auch bei alkoholabhängigen Patienten wurde eine niedrige DRD2-Verfügbarkeit nachgewiesen im Vergleich zu nicht abhängigen Kontrollen, die Anzahl der Dopamintransporter wies jedoch keine Unterschiede auf [Volkow et al., 1996]. Inwieweit die Hyposensitivität der Dopaminrezeptoren bei Alkoholabhängigen auf einen Zustand von alkoholbedingter neuroadaptiver Alteration zurückzuführen ist oder auf genetisch determinierten Unterschieden basiert, wird in einigen Studien kontrovers diskutiert [z.B. Dettling et al., 1995]. Außerdem gibt es Anzeichen für eine positive Korrelation zwischen Therapieerfolg und Stärke der durch Apomorphin induzierten Wachstumshormonantwort vor der Detoxifikation, weshalb die

Dopaminrezeptordysfunktion als (Prognose-?)Marker für Alkoholabhängigkeit geeignet zu sein scheint [Heinz et al., 1995].

Der Taq I A1-Polymorphismus wurde, wie bereits oben erwähnt, mit Alkoholabhängigkeit assoziiert gefunden und gleichzeitig mit einer geringeren Dichte von Dopaminrezeptoren im Nucleus caudatus [Noble et al., 1991].

Es ist postuliert worden, dass Patienten mit Alkoholabhängigkeit eine veränderte Sensitivität von D2-artigen Dopaminrezeptoren haben, was u.a. an deren verschiedenen allelischen Formen liegen könnte. Um diese Hypothese zu testen, untersuchten wir die Wachstumshormon-, Prolaktin- und Cortisol-Konzentrationen im Serum vor und nach Apomorphingabe. Apomorphin ist ein dopaminerges Agonist mit hoher Affinität für D2- und D3-Rezeptoren und wird klinisch-experimentell als „Challenge“-Substanz zur Untersuchung der dopaminergen tuberoinfundibulären Transmission genutzt.

Die Wirkung von Dopamin im Gehirn hängt nicht ausschließlich von der Struktur der Rezeptoren, sondern auch von der Verfügbarkeit im synaptischen Spalt ab. Die synaptische Dopaminkonzentration wird hauptsächlich über den Dopamintransporter (DAT), der sich in der präsynaptischen Membran befindet, reguliert. Das Gen des humanen Dopamintransporters (DAT1; Locussymbol SLC6A3) wurde durch In-situ-Hybridisierung und PCR-Amplifikation auf Chromosom 5 B15.3 lokalisiert [Vandenbergh et al., 1992]. DAT1 zeigt verschiedene Polymorphismen. Außer einer 40-Basenpaar variablen Anzahl von Tandem-Repeats (sog. VNTR), die von 3 – 13 Kopien in der 3-untranslatierten Region des Gens vorhanden ist, wurde ein weiterer Polymorphismus G2019A beschrieben [Ueno et al., 1999]. Außerdem gibt es sogenannte „stille“ allelische SNP-Varianten in den DAT1-Genexons 2, 6, 9 und 15. Seltene Mutationen wurden in den Exonen 2 und 8 gefunden [Vandenbergh et al., 2000]. Die Frequenzen des VNTR variieren sehr stark in verschiedenen Populationen. Das häufigste Allel, A10, kommt ungefähr bei 52% der Griechen, aber 100% der Südamerikaner vor [Mitchell et al., 2000].

Der DAT1 gewann vor allem dadurch Bedeutung, dass eine Beziehung zur Aufmerksamkeitsstörung (mit/ohne Hyperaktivität; ADS) des Kindesalters gefunden wurde. Im Bereich der Abhängigkeitserkrankungen spielen DAT-Polymorphismen eine Rolle, nachdem gezeigt werden konnte, dass DAT-Knockout-Mäuse insensitive für Amphetamin und Kokain waren [Drago et al., 1998].

Das Gen für den DRD4 befindet sich auf dem Chromosom 11Q15.5 [Muramatsu et al., 1996]. Das Besondere des DRD4 sind seine bisher beschriebenen neuen genetischen Polymorphismen. Die C-11T (*SmaI*)-Region im nicht kodierenden 5-Ende zeigt eine Frequenz

des Allels A1 von 95% bei den Kaukasiern. Das Wildtyp-Allel tritt mit einer Frequenz von 93% bei den Deutschen auf [Cichon et al., 1996]. Eine 6 – 10fache Wiederholung des Guaninnucleotids GN im Intron 1 konnte gefunden werden, ohne dass die Bedeutung dieses Phänomens bislang geklärt wäre. Im ersten Exon wurde eine Duplikation von 12 Basenpaaren (bp) gefunden. Sie kodieren für die N-terminale, extrazelluläre Region des DRD4 [Catalano et al., 1993]. Ihre Funktion ist ebenfalls nicht bekannt. Weitere Polymorphismen sind der Austausch eines einzelnen Basenpaares im Exon 3, kodierend für die 5. transmembranäre Region. Eine Varianz im 1. Exon von 13 Basenpaaren, kodierend für die 2. transmembranäre Region, und eine Duplikation im 5-Intron von 120 bp und schließlich ein Austausch der Aminosäure Glycin durch Arginin auf Position 31 mit einer Allelfrequenz von 10% in Deutschland. Eine Deletion im Exon 1 von Position 106 bis 126 ist ebenfalls bekannt [Paterson et al., 1999]. Im Zentrum unserer Untersuchungen stand der Polymorphismus im 3. Exon des DRD4-Gens. Das DRD4-Gen besitzt im 3. Exon eine Basensequenz von 48 bp, kodierend für 16 Aminosäuren mit unterschiedlicher Wiederholung dieser Sequenz, sog. Repeats, in der VNTR (Variable Number of Tandem Repeats)-Region. Es wurden Allele dieser Region mit variabler Anzahl von Tandem-Repeats (VNTR) mit Repeats von 2 (32 Aminosäuren) bis 10 (160 Aminosäuren) identifiziert [Chang & Kidd, 1997]. Eine Darstellung des DRD4-Gens gibt Abb. 2.

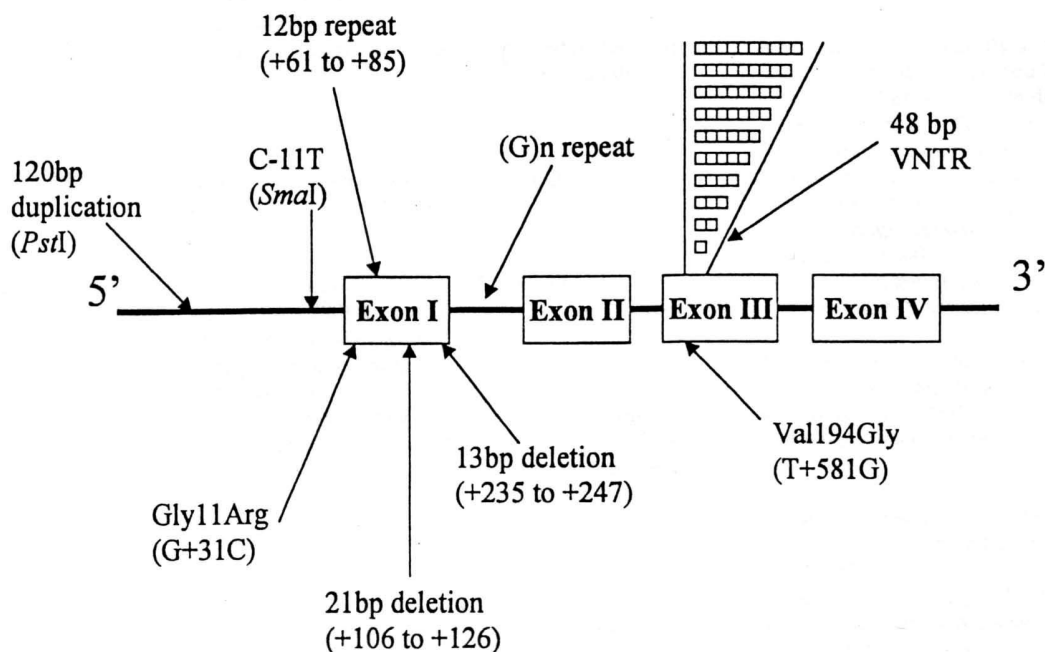


Abb. 2 [aus Paterson et al., 1999]

Der DRD4 besteht aus drei Domänen: zwei intramembranären und einer dritten, ins Zytoplasma ragenden, Domäne. Die Repeats kodieren für die dritte prolinreiche, zytoplasmatische Domäne des DRD4. Die Verteilung der verschiedenen DRD4-Allele in den Bevölkerungen ist unterschiedlich. So ist die Prävalenz des DRD4-4-Repeat-Allels in Mitteleuropa mit 57% in der Bevölkerung vor dem 7-Repeat-Allel mit 21% am größten. In Südamerika hingegen kommt das 7-Repeat-Allel mit 45 – 78% am häufigsten vor. Zahlreiche Studien beschäftigten sich mit der Frage, ob bestimmte DRD4-Allele bei einigen Krankheitsbildern gehäuft vorkommen. Die Ergebnisse sind zum Teil jedoch kontrovers. Bei gesunden Probanden konnte eine Assoziation von erhöhtem Neugierverhalten mit dem DRD4-Polymorphismus beschrieben werden [Ebstein et al., 1996]. Weiterhin wird postuliert, dass das 3-Repeat- und 6-Repeat-Allel des DRD4 gehäuft bei Alkoholabhängigen vorzufinden seien [George et al., 1993]. Andere Untersuchungen zeigten eine höhere Prävalenz des 5-Repeat-Allels des DRD4 bei Alkoholabhängigen [Muramatsu et al., 1996]. Diese Personen neigten gleichzeitig dazu, auch andere Drogen zu konsumieren. In einer amerikanisch-indianischen Population konnte ebenfalls eine Assoziation zwischen dem DRD4-Polymorphismus und der Alkoholabhängigkeit nachgewiesen werden [Long et al., 1998]. Allerdings gab es auch negative Studien wie die von Parsian et al. (1997). Assoziationen zwischen der Persönlichkeits- oder Temperamentsdimension des Neugierverhaltens und DRD4-Polymorphismen konnten gezeigt werden. In anderen Untersuchungen wiederum wurde keine Assoziation gefunden [Pogue-Geile et al., 1998; Sander et al., 1997].

Genetische Polymorphismen im serotonergen und glutamatergen System

Neben dem dopaminergen spielt auch das serotonerge System eine große Rolle bei verschiedenen Persönlichkeitsmerkmalen, die ihrerseits, wie oben erwähnt, zur Alkoholabhängigkeit prädisponieren können. Verschiedene Autoren haben dementsprechend Assoziationen zwischen abnormem Serotonin-„Turnover“, wie man ihn indirekt z.B. über niedrige Konzentrationen von 5-Hydroxyindolessigsäure als Serotonin-Metaboliten im Liquor feststellen kann, und impulsivem Verhalten, depressiver Verstimmung und Alkoholabhängigkeit [Linnoila et al., 1983, Virkkunen et al., 1995] gefunden. Das Schrittmacherenzym für die Serotoninbiosynthese ist die Tryptophanhydroxylase (TPH). Daher bietet sich das TPH-Gen als ein Kandidatengen für die oben erwähnten Befunde des niedrigen Serotoninmetaboliten im Liquor bei Alkoholabhängigkeit und Impulsivität an. Das TPH-Gen findet sich auf dem kurzen Arm von Chromosom 11 [Craig et al., 1991]. Es setzt

sich aus 11 Exonen mit einer Länge von 29 kB, die für ein 444 Aminosäurenprotein kodieren, zusammen. Primär wurden 2 biallelische Polymorphismen auf Intron 7 des Gens identifiziert: A218C und A779C, die durch RFLP-Analyse und Einzelstrang-Konformations-Polymorphismus-Analyse gefunden wurden. Beide Polymorphismen stehen bei westeuropäischen Kontrollen in einem Linkage-Ungleichgewicht. Ihre Allele werden als U („upper“ = Alanin an der entsprechenden Stelle) und L („lower“ = Cystein an der entsprechenden Stelle) konventionskonform bezeichnet. Kürzlich wurden 6 weitere Varianten des TPH-Gens gefunden [Paoloni-Giacobino et al., 2000], eine stille Mutation in Exon 10 (T1095C) ist ebenfalls bekannt [Han et al., 1999].