

## Polimorfizm *rs4354668* w genie *SLC1A2* dla transportera glutaminianu EAAT2 wiążący się ze zwiększonym ryzykiem szkodliwego używania narkotyków – badanie eksploracyjne na populacji studentów

### The *rs4354668* polymorphism in the *SLC1A2* gene for the EAAT2 glutamate transporter is associated with an increased risk of harmful drug use – an exploratory study on a university student population

Bartosz Dawidowski<sup>1</sup>, Barbara Olejniczak<sup>2</sup>, Katarzyna Groblińska<sup>1</sup>,  
Magdalena Knapińska<sup>1</sup>, Urszula Kozicka<sup>1</sup>, Michał Krasieński<sup>1</sup>,  
Anna Kułak<sup>1</sup>, Grzegorz Grelecki<sup>1</sup>, Zuzanna Czapliska<sup>1</sup>,  
Oliwia Piotrowska<sup>3</sup>, Klaudia Kościelecka<sup>1</sup>, Piotr Podwalski<sup>1\*</sup>,  
Anna Michalczyk<sup>1</sup>, Jerzy Samochowiec<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika Psychiatrii, Pomorski Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup> Mossakowski Medical Research Institute,  
Polish Academy of Sciences NeuroOncology Laboratory

<sup>3</sup> Klinika Pediatrii, Hematoonkologii i Gastroenterologii,  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

#### Summary

**Aim.** Evidence suggests that decreased dopamine secretion in mesocorticolimbic pathways could predispose to increased susceptibility to substance addiction. It has been proposed to define such a phenomenon as the reward deficiency syndrome (RDS). Dopaminergic projections of the reward system receive glutaminergic projections from the cortex. Research indicates that a reduction in the stimulating glutamatergic transmission on the dopaminergic system could represent an alternative phenotype of RDS. A potential source of this type of abnormality is glutamate reuptake which depends on the function of excitatory amino acid transporter (EAAT) proteins. The most important of them is EAAT2, polymorphisms of which have been linked to several mental disorders. The aim of the presented research was to assess the association of the *rs4354668* gene variants for EAAT2 with the risk of substance use disorders.

**Material and methods.** We analyzed the genetic and psychometric data of 125 young adults ( $n = 125$ ) for the effect of the *rs4354668* polymorphism of the *SLC1A2* gene for EAAT2

on risky or harmful drug use (RHDU). After exploratory analysis we used logistic regression models to assess the probability of RHDU in individual groups.

**Results.** In the final model the T/T variant of rs4354668 was significantly associated with a lower probability of RHDU occurrence compared to the G/G variant (OR: 0.021; 95% CI: 0.001–0.275;  $p = 0.009$ ). Other significant predictors of RHDU were smoking status and risky or harmful drinking of alcohol.

**Conclusions.** The results obtained may indicate a possible relationship of the risk of harmful drug use with variants of the rs4354668 polymorphism of the *SLC1A2* gene for EAAT2. Subjects with the T/T variant of this polymorphism appear to be less at risk of developing drug use disorders.

**Słowa klucze:** uzależnienie, EAAT2, zespół deficytu nagrody

**Key words:** substance abuse, EAAT2, reward deficiency syndrome

## Wstęp

Uzależnienie od substancji psychoaktywnych jest przewlekłym zaburzeniem psychicznym charakteryzującym się uporczywym pragnieniem zażywania substancji psychoaktywnych i utratą kontroli nad ich używaniem. Jego etiopatogeneza obejmuje złożone interakcje między czynnikami genetycznymi i środowiskowymi, które powodują nieprawidłowości w funkcjonowaniu obwodów mózgowych [1, 2]. Niedobory w zakresie kontroli impulsów i uczenia się są uważane za szczególnie ważne dla rozwoju uzależnień (przykładowo osoby uzależnione mają zwiększoną zależność od nagrody i zmniejszoną wrażliwość na kary) [3]. Pacjenci uzależnieni zażywają narkotyki lub angażują się w zachowania związane z substancjami psychoaktywnymi w sposób kompulsywny, nieprzystosowawczy i trwały pomimo szkodliwych dla zdrowia i życia konsekwencji [4]. Uzależnienie od substancji psychoaktywnych wiąże się ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia zaburzeń psychicznych, nowotworów, infekcji, a także chorób układu krążenia, wątroby i płuc [5]. Dodatkowo stanowi istotny czynnik ryzyka samobójstwa [6] oraz często łączy się z poważnymi zaburzeniami afektywnymi i zaburzeniami psychotycznymi [7, 8].

W 1996 roku Bloom i wsp. [9] zaproponowali teoretyczny model wyjaśniający neurofizjologiczne podstawy uzależnienia i zdefiniowali tzw. zespół deficytu nagrody (*Reward Deficiency Syndrome* – RDS) [9]. Rzekoma wrodzona dysfunkcja szlaków mezikortykolimbicznych związana ze zmniejszonym wydzielaniem dopaminy predysponowałaby do zwiększonej impulsywności, podatności na uzależnienia i innych zaburzeń, takich jak otyłość [10]. Początkowy efekt nasilenia uzależnienia od większości substancji psychoaktywnych łączy się z nasileniem przekąźnictwa dopaminergicznego w jądrze półleżącym, które jest stymulowane przez szlaki mezikortykolimbiczne i bierze udział w regulacji układu nagrody i czynności motywacyjnych [2]. Takie wywołane substancją wzmocnienie przekąźnictwa dopaminergicznego może kompensować funkcjonalny niedobór dopaminy związany z RDS, a tym samym skłonić osoby podatne do dalszego używania substancji psychoaktywnych [10].

Model ten jest zgodny z wynikami badań pozytonowej tomografii emisyjnej (PET) – u pacjentów uzależnionych od alkoholu zaobserwowano zmniejszenie dostępności

receptorów D2 i D3 dla dopaminy w skorupie, prążkowiu brzuszonym i jądrze ogoniastym [11, 12]. W porównaniu ze zdrowymi osobami u pacjentów uzależnionych od alkoholu występuje również zmniejszona transmisja dopaminergiczna w obszarach korowych, w tym: grzbietowo-bocznej korze przedczołowej, przyśrodkowej korze przedczołowej, oczodołowej korze czołowej, korze skroniowej i przyśrodkowym płacie skroniowym [13]. Podobnie u pacjentów uzależnionych od stymulantów, takich jak amfetamina i kokaina, stwierdzono zmniejszony wyrzut dopaminy i zmniejszoną dostępność receptorów D2 i D3 [14].

Glutaminian, główny neuroprzebieżnik stymulujący ośrodkowy układ nerwowy, odgrywa kluczową rolę w różnicowaniu neuronów, odpowiadając m.in. za zjawisko neuroplastyczności związane z uczeniem się i pamięcią [15]. Jądro półleżące i prążkowie otrzymują projekcje glutaminergiczne odpowiednio ze szlaków korowo-półleżącego i korowo-prążkowiowego, co umożliwia wyższym obszarom korowym w korze przedczołowej kontrolowanie stymulacji dopaminergicznej szlaków mezo-kortykolimbicznych [16]. Ta kontrola jest istotna w regulacji zachowań związanych z poszukiwaniem substancji [2]. Z jednej strony może przyczynić się do ograniczenia negatywnych konsekwencji poszukiwania narkotyków, z drugiej zaś do potencjalizacji ich wpływu na układ dopaminergiczny i zachowań w odpowiedzi na okoliczności i wpływy środowiska, które w wyuczony sposób kojarzone są z używaniem substancji psychoaktywnych [17, 18]. Zmniejszenie lub zablokowanie transmisji glutaminergicznej do jądra półleżącego w modelu zwierzęcym indukuje zwiększone poszukiwanie substancji i nasila objawy uzależnienia [2, 19]. Zatem wrodzone zmniejszenie stymulującego wpływu transmisji glutaminergicznej na układ dopaminergiczny może stanowić alternatywny fenotyp RDS dla fenotypu związanego z pierwotnym niedoborem transmisji dopaminergicznej [19].

Synaptyczny wyciek glutaminianu związany ze zwiększoną jego akumulacją w synapsie może prowadzić do nadmiernej stymulacji niesynaptycznych receptorów glutaminianu, a w konsekwencji do wzrostu stresu oksydacyjnego wywierającego działanie cytotoksyczne na neurony i oligodendrocyty [20, 21]. Wynikające z tego zaburzenia struktury istoty białej łączono m.in. ze zwiększoną impulsywnością i zaburzeniami funkcji poznawczych w przebiegu choroby afektywnej dwubiegunowej, a cechy te są również istotne w etiopatogenezie uzależnień [22–24]. Jak pokazują metaanalizy, podobne zaburzenia integralności istoty białej obserwuje się także u pacjentów uzależnionych od kokainy i heroiny [25, 26]. Ponadto badania genetyczne sugerują istnienie poligenetycznych czynników ryzyka wspólnych dla uzależnień i choroby afektywnej dwubiegunowej [27]. Z tych powodów bardziej szczegółowa ocena roli zaburzeń glutaminergicznych w etiopatogenezie uzależnienia, ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmów chroniących przed ekscytotoksycznością glutaminianu, wydaje się obiecującym kierunkiem badań.

Jednym z głównych mechanizmów zapobiegania ekscytotoksyczności glutaminianu jest jego wychwyt zwrotny [28]. Istnieje 5 rodzajów EAAT zlokalizowanych w błonach komórkowych: EAAT1, EAAT2, EAAT3, EAAT4 i EAAT5 [29]. EAAT2, który jest kodowany przez gen *SLC1A2* zlokalizowany na chromosomie 11p13-12, odpowiada za ponad 90% wychwyty zwrotnego glutaminianu i ulega ekspresji głównie

w astrocytach, w około 10% w neuronach, a także w innych komórkach istoty białej, takich jak oligodendrocyty [30–32]. Zwiększona ekspresja *SLC1A2* w astrocytach ma działanie neuroprotekcyjne w warunkach zwiększonej ekscytotoksyczności, podczas gdy heroina w modelu zwierzęcym obniża ekspresję tego genu i zwiększa wyciek synaptyczny glutaminianu, co mediuje czas do ponownego zainicjowania poszukiwania narkotyku [33–35]. Ponadto podawanie ceftriaksonu, który zwiększa ekspresję *SLC1A2* w jądrze półleżącym, zmniejsza poszukiwanie kokainy i heroiny u zwierząt laboratoryjnych [35, 36]. Wskazuje to na potencjalny udział tego transportera w patomechanizmie uzależnienia.

Jednym z polimorfizmów *SLC1A2* będących przedmiotem badań nad zaburzeniami psychicznymi jest *rs4354668* zlokalizowany 181 bp od miejsca transkrypcji genu. Ten funkcjonalny polimorfizm jest związany z zamianą *T* na *G*, co skutkuje 30% redukcją aktywności promotora *SLC1A2* [32]. Wcześniejsze badania wykazały korzystny wpływ wariantu *T/T* na dysfunkcje poznawcze w schizofrenii, a także na częstość nawrotów i zaburzeń integralności istoty białej w chorobie afektywnej dwubiegunowej [37–43]. W schizofrenii ochronne działanie wariantu *T/T* dotyczyło funkcji wykonawczych i pamięci operacyjnej, których upośledzenie zostało potwierdzone metaanalitycznie u osób nadużywających metamfetaminy i konopi indyjskich, a w wypadku funkcji wykonawczych również stosujących ecstazy [44–48]. Raportowano też, że u osób nadużywających stymulantów występują zaburzenia integralności istoty białej [49]. Jest zatem możliwe, że korzystny wpływ tego wariantu *rs4354668* może występować w wypadku nadużywania substancji psychoaktywnych.

Podsumowując, wyższa ekspresja genu *SLC1A2* kodującego EAAT2, związanego z wariantem *T/T rs4354668*, może się przyczynić do wydajniejszego wychwytu zwrotnego glutaminianu, a tym samym jego zmniejszonej ekscytotoksyczności wobec neuronów, których aktywność łączy się ze stymulacją dopaminergiczną w układzie nagrody [16, 32, 33]. Pozostałe dwa warianty (*T/G* i *G/G*) powodują zmniejszoną ekspresję EAAT2 i mniej efektywny wychwyt zwrotny glutaminianu. Zatem warianty te mogą się przyczyniać do utraty stymulacji glutaminergicznej i dopaminergicznej oraz do występowania RDS predysponującego do uzależnienia [19, 20, 32]. Alternatywnie obniżone stężenia glutaminianu utrzymujące się w szczelinie synaptycznej u osób z wariantem *T/T* mogą być związane z mniej pobudzającym działaniem substancji psychoaktywnych na układ dopaminergiczny i mniejszym udziałem w rozwoju wyuczonych zachowań poszukiwania narkotyku niż u osób z wariantami *T/G* i *G/G* [17, 18, 32].

Celem prezentowanego badania była ocena związku wariantów *rs4354668* z ryzykiem wystąpienia zaburzeń łączących się z używaniem substancji psychoaktywnych, a także potencjalnych czynników zakłócających wpływających na ten związek w stosunkowo jednorodnej populacji młodych dorosłych studiujących na uniwersytecie medycznym.

## 1. Materiał i metody

### 1.1. Uczestnicy badania

Badanie miało charakter przekrojowy, eksploracyjny i dwuetapowy. W pierwszym etapie ankiety zostały rozdyskrybowane wśród polskojęzycznych studentów Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Przyjęto następujące kryteria włączenia do badania: (1) zgoda na udział w badaniu i przetwarzanie danych osobowych, (2) wiek 18–30 lat, (3) kompletne i poprawne wypełnienie kwestionariusza pierwszego etapu badania, (4) podanie poprawnych danych kontaktowych. Z kolei kryteria wykluczenia z badania to: (1) niestawienie się na drugi etap badania w celu pobrania krwi do badań genetycznych, (2) rozpoznanie ciężkich chorób somatycznych.

Górna granica wieku została ustalona tak, aby obejmowała osoby do górnego kwartyla wieku wystąpienia zaburzeń związanych z używaniem konopi indyjskich, które są w Polsce najczęściej używaną substancją psychoaktywną inną niż alkohol [50, 51].

W trakcie badania zebrano następujące informacje o uczestnikach badania: podstawowe dane biometryczne (wiek, płeć, wzrost, masa ciała, choroby somatyczne), dane demograficzne (poziom wykształcenia, podstawowe informacje o sytuacji społeczno-ekonomicznej i stanie zdrowia rodziny, liczba rodzeństwa), palenie tytoniu, czas spędzany na aktywności fizycznej, a także poproszono badanych o wypełnienie kwestionariuszy psychometrycznych (*Test identyfikacji zaburzeń związanych ze spożywaniem alkoholu* – AUDIT, *Test identyfikacji zaburzeń związanych z używaniem narkotyków* – DUDIT, *Skala depresji Becka* – BDI).

W okresie od 1 marca 2021 do 30 czerwca 2021 roku rozdano 427 ( $n = 427$ ) kwestionariuszy. Ostatecznie 201 osób ( $n = 201$ ) zwróciło prawidłowo wypełnione ankiety i wyraziło zgodę na udział w badaniu. Po procesie kodowania kwestionariuszy nawiązano kontakt telefoniczny w celu rekrutacji do drugiego etapu badania, polegającego na pobraniu krwi do badań genetycznych. Próbkę pobierano od 24 maja do 9 lipca 2021 roku. Ostatecznie w drugim etapie badania wzięło udział 125 osób ( $n = 125$ ), a ich dane poddano analizie statystycznej.

Wszystkie opisane czynności zostały wykonane zgodnie z Deklaracją Helsińską i zaakceptowane przez Komisję Bioetyczną Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie.

### 1.2. Narzędzia psychometryczne

Zdecydowano się na odrębne traktowanie używania alkoholu i innych substancji psychoaktywnych ze względu na istnienie narzędzi psychometrycznych do badania zaburzeń związanych ze spożywaniem alkoholu oraz odmienny status prawny alkoholu w Polsce. Od wszystkich zakwalifikowanych uczestników zebrano wypełnione kwestionariusze AUDIT, DUDIT i BDI-II. Przyjęto, że wynik AUDIT równy lub wyższy niż 6 dla kobiet, a dla mężczyzn równy lub wyższy niż 8 sugeruje ryzykowne lub szkodliwe picie alkoholu (*Risky or Harmful Drinking of Alcohol* – RHDA) [52]. W wypadku DUDIT wynik 2 lub wyższy dla kobiet i 6 lub wyższy dla mężczyzn zna-

no za sugerujący ryzykowne lub szkodliwe zażywanie narkotyków (*Risky or Harmful Drug Use* – RHDU) [53]. Ryzyko depresji (RD) uznano za obecne u uczestników, którzy uzyskali wynik BDI-II równy 14 lub więcej [54]. Respondentom zapewniono maksymalne możliwe poczucie bezpieczeństwa w trakcie badania. Uczestnicy samodzielnie wypełniali ankietę.

### 1.3. Dane genetyczne

Od 125 uczestników badania pobrano 2,6 ml krwi obwodowej. Genomowy DNA wyzolowano z użyciem zestawu Invisorb Spin Blood Mini Kit, Stratec Molecular. Próbkę DNA zamrożono do czasu przeprowadzenia dalszej analizy. Genotypowanie próbek DNA przeprowadzono techniką reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (Applied Biosystems StepOne) z sondami TaqMan. W tabeli uzupełniającej 1 przedstawiono sekwencje sondy i nazewnictwo, które zostały wykorzystane w projekcie (zaprojektowane i zsyntetyzowane przez Applied Biosystems).

W protokole badania zastosowano TaqMan Genotyping Master Mix. Każda reakcja zawierała 5  $\mu$ l master mixu, 3,57  $\mu$ l wody wolnej od nukleaz, 0,25  $\mu$ l dwudziestokrotnie rozcieńczonej sondy i 1  $\mu$ l DNA oraz 1  $\mu$ l wody wolnej od nukleaz jako kontrola negatywna. Profil reakcji PCR obejmował wstępną denaturację w 95°C przez 10 min, a następnie 40 cykli w 95°C przez 15 sek. i 60°C przez 1 min.

### 1.4. Analiza statystyczna

Analizę statystyczną podzielono na następujące etapy: (1) porównanie uzyskanych wartości zmiennych ciągłych między grupami wyróżnionymi warstwowaniem według wariantu *rs4354668*, (2) porównanie uzyskanych częstości zmiennych kategorycznych między tymi samymi grupami, (3) porównanie uzyskanych wartości zmiennych ciągłych między grupami nie-RHDU i RHDU, (4) porównanie uzyskanych częstości zmiennych kategorycznych między tymi samymi grupami, (5) jednowymiarowy model regresji logistycznej ze statusem występowania RHDU jako zmienną zależną i wariantem *rs4354668* jako zmienną niezależną, (6) model wielowymiarowej regresji logistycznej z dodatkowymi potencjalnymi czynnikami zakłócającymi, które były istotnie związane z wariantami RHDU lub *rs4354668*, (7) dopasowanie wielowymiarowego modelu regresji logistycznej o najwyższej dobroci dopasowania do danych na podstawie kryterium informacyjnego Akaikego (*Akaike Information Criterion* – AIC). Do porównania częstości alleli *rs4354668* w grupie badawczej z częstościami oczekiwanymi w wypadku równowagi Hardy’ego-Weinberga zastosowano test  $\chi^2$ .

Dla zmiennych ciągłych obliczono mediany, średnią i odchylenie standardowe w poszczególnych grupach jako statystyki opisowe. Dla zmiennych kategorycznych obliczono częstości oraz procentowy udział poziomów zmiennych w poszczególnych grupach.

W etapach 1 i 3 normalność rozkładu w grupach określono za pomocą wizualnej oceny histogramów oraz testu Shapiro-Wilka. Dodatkowo testem Levene’a oceniono homogeniczność wariancji w grupach.

W etapie 1, w wypadku spełnienia założenia o homogeniczności wariancji i normalności rozkładu w grupach, do oceny różnic między grupami wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). W przeciwnym razie zastosowano test Kruskala-Wallisa. W etapie 3, jeśli założenia były spełnione, stosowano test *t*-Studenta, a w przeciwnym wypadku test Manna-Whitneya. W etapach 2 i 4 zastosowano test  $\chi^2$  przy częstości występowania poszczególnych zmiennych kategorycznych w grupach równych lub większych od 5, natomiast przy niższych częstościach – test dokładny Fishera. Ze względu na eksploracyjny charakter analizy nie przeprowadzono analizy *post-hoc* w etapach 1–4.

W etapie 6 analizy, aby uniknąć korelacji między zmiennymi ciągłymi a odpowiadającymi im zmiennymi kategorycznymi (np. całkowity wynik AUDIT i wynik AUDIT powyżej punktu odcięcia), do modelu wprowadzono tylko zmienne kategoryczne, które – jak należy przyjąć – dla skal zwalidowanych mają wyższą moc predykcyjną.

Wszystkie etapy analizy statystycznej przeprowadzono z wykorzystaniem *R studio* w wersji 4.1.2. W etapie 7 wykorzystano pakiet *glmulti* do znalezienia modelu o najwyższej dobroci dopasowania do danych. Zestaw początkowy zmiennych obejmował wszystkie zmienne, które uzyskały statystycznie istotny związek z RHDU lub z wariantami *rs4354668*. Zastosowano wyczerpujący algorytm przesiewowy, aby sprawdzić wszystkie możliwe kombinacje zmiennych zawartych w zbiorze startowym bez żadnych interakcji między nimi. AIC wykorzystano jako kryterium oceny dobroci dopasowania i w wynikach przedstawiono modele o AIC nie większym niż 2 od AIC modelu o najlepszym dopasowaniu do danych. Model z najmniejszą liczbą predyktorów został następnie wybrany jako model najlepiej dopasowany do danych.

W wypadku modeli wielowymiarowych współliniowość oceniano za pomocą uogólnionego współczynnika inflacji wariancji (GVIF). Dla wszystkich modeli regresji logistycznej obliczono również iloraz szans poszczególnych predyktorów oraz trafność i precyzję predykcji.

Ze względu na eksploracyjny charakter badania i brak danych dotyczących częstości występowania RHDU w badanej populacji ocenę mocy statystycznej przeprowadzonych analiz wykonano *post-hoc*. W celu uwzględnienia wpływu pozostałych zawartych w modelu predyktorów na uzyskaną moc statystyczną obliczono wartość pseudo $R^2$  metodą Nagelkerkego. Do obliczeń wykorzystano program G\*Power w wersji 3.1.9.7.

Dla wszystkich testów przyjęto  $\alpha = 0,05$ . Otrzymane wartości  $p > 0,05$  i  $p < 0,1$  uznano za trend statystyczny.

## 2. Wyniki

Częstości alleli w badanej populacji nie odbiegały od przewidywanych na podstawie równowagi Hardy'ego-Weinberga ( $n_G = 99$ ;  $n_T = 151$ ;  $p = 0,579$ ).

Ocenę normalności rozkładu zmiennych w grupach wyróżnionych według wariantu *rs4354668* przedstawiono w tabeli uzupełniającej 2. Jedyną zmienną, dla której rozkład nie odbiegał od normalnego we wszystkich grupach, był wiek (*G/G*:  $W = 0,962$ ;  $p = 0,550$ ; *T/G*:  $W = 0,970$ ;  $p = 0,174$ ; *T/T*:  $W = 0,205$ ;  $p = 0,967$ ). W wypadku tej

zmiennej wariancja była dodatkowo homoskedastyczna ( $F(2;122) = 0,942; p = 0,393$ ), dlatego do dalszej analizy wieku wykorzystano ANOVA, a w odniesieniu do pozostałych zmiennych test Kruskala-Wallisa. W tabeli 1 przedstawiono zestawienie statystyk opisowych oraz analizę statystyczną związków zmiennych ciągłych z poszczególnymi genotypami *rs4354668*. Wstępna eksploracja danych nie wykazała statystycznie istotnego związku jakiegokolwiek zmiennej ciągłej z genotypami *rs4354668*. Wykazano jednak trend statystyczny dla wyniku DUDIT ( $\chi^2: 5,679; p = 0,058$ ).

Tabela 1. Porównanie median lub średnich zmiennych ciągłych objętych badaniem według grup wyodrębnionych na podstawie wariantów *rs4354668*

Zmienna	G/G n = 21 Mediana (Średnia ± SD)	T/G n = 57 Mediana (Średnia ± SD)	T/T n = 47 Mediana (Średnia ± SD)	F/X	p
Wiek	23,833 (23,722 ± 1,976)	23,833 (23,452 ± 2,385)	23,167 (23,576 ± 2,128)	0,121 <sup>a</sup>	0,886
BMI	21,604 (22,199 ± 3,944)	21,671 (22,006 ± 2,969)	21,968 (22,811 ± 3,751)	0,975 <sup>b</sup>	0,614
Papierosy/dzień	<0,001 (1,333 ± 3,773)	<0,001 (0,877 ± 3,301)	<0,001 (1,638 ± 4,12)	1,600 <sup>b</sup>	0,449
Godziny ćwiczeń/tydzień	3,000 (2,905 ± 1,814)	3,000 (3,772 ± 3,063)	3,000 (3,553 ± 3,074)	0,503 <sup>b</sup>	0,778
Liczba rodzeństwa	1,000 (1,286 ± 0,784)	1,000 (1,193 ± 1,076)	1,000 (1,213 ± 0,858)	1,117 <sup>b</sup>	0,572
AUDIT	5,000 (5,381 ± 3,748)	3,000 (4,632 ± 3,917)	5,000 (5,191 ± 3,728)	1,389 <sup>b</sup>	0,499
DUDIT	<0,001 (0,952 ± 1,802)	<0,001 (0,684 ± 1,814)	<0,001 (0,426 ± 2,234)	5,679 <sup>b</sup>	0,058
BDI	9,000 (10,714 ± 7,798)	9,000 (10,526 ± 8,279)	6,000 (8,638 ± 7,903)	2,297 <sup>b</sup>	0,317

Liczby przed nawiasami reprezentują medianę, a liczby w nawiasach oznaczają średnią ± odchylenie standardowe. BMI – wskaźnik masy ciała; AUDIT – Test identyfikacji zaburzeń używania alkoholu; DUDIT – Test identyfikacji zaburzeń używania narkotyków; BDI – Inwentarz depresji Becka; n – wielkość grupy; SD – odchylenie standardowe; F – statystyka Fishera; p – wartość p;  $\chi^2$  – chi-kwadrat; <sup>a</sup> ANOVA – zastosowano analizę wariancji; <sup>b</sup> – zastosowano test Kruskala-Wallisa. Wartości p odpowiadające trendowi statystycznemu zaznaczono kursywą.

W tabeli 2 przedstawiono częstość występowania poziomów głównych zmiennych kategorycznych i ich procentowy udział w grupach oraz analizę statystyczną związków z poszczególnymi wariantami *rs4354668*. Tabela uzupełniająca 3 przedstawia analogiczne informacje na temat dodatkowych zmiennych kategorycznych uwzględnionych



w badaniu. Wstępna eksploracja danych wykazała statystycznie istotny związek między wariantami *rs4354668* a RHDU ( $p = 0,030$ ).

Tabela 2. Porównanie częstości występowania głównych zmiennych kategorycznych i ich procentowego udziału w poszczególnych grupach wyróżnionych na podstawie wariantów *rs4354668*

Zmienna	G/G n = 21	% G/G	T/G n = 57	% T/G	T/T n = 47	% T/T	$\chi^2$	p
Płeć żeńska	16	76,19	38	66,67	32	68,09	0,666	0,717
Płeć męska	5	23,81	19	33,33	15	31,91	0,666	–
Zdiagnozowane zaburzenia psychiczne	4	19,05	12	21,05	7	14,89	–	0,712
Palenie tytoniu	3	14,29	6	10,53	9	19,15	–	0,490
RHDA	8	38,10	15	26,32	17	36,17	1,581	0,454
RHDU	4	19,05	8	14,04	1	2,13	–	<b>0,030</b>
RD	7	33,33	17	29,82	12	25,53	0,484	0,785

n = wielkość grupy;  $\chi^2$  – chi-kwadrat; p – wartość p; RHDA – ryzykowne lub szkodliwe picie alkoholu; RHDU – ryzykowne lub szkodliwe zażywanie narkotyków; RD – ryzyko występowania depresji. Wartości p odpowiadające istotności statystycznej zostały pogrubione.

Ocenę normalności rozkładu zmiennych w grupach nie-RHDU i RHDU przedstawiono w tabeli uzupełniającej 4. Jedyną zmienną, dla której rozkład nie odbiegał od normalnego w obu grupach, był wiek. W wypadku tej zmiennej wariancja była dodatkowo homoskedastyczna ( $F(1;123) = 1; p = 0,393$ ), dlatego do jej dalszej analizy wykorzystano test *t*, a w odniesieniu do pozostałych zmiennych test Manna-Whitneya. W tabeli 3 przedstawiono zestawienie statystyk opisowych oraz analizę statystyczną związku zmiennych ciągłych z RHDU. Wstępna eksploracja danych wykazała statystycznie istotny związek między RHDU a liczbą wypalanych papierosów dziennie ( $U = 348; p < 0,001$ ), wynikiem AUDIT ( $U = 370,5; p = 0,004$ ) i wynikiem BDI ( $U = 0,017; p = 0,017$ ).

Tabela 3. Porównanie median lub średnich zmiennych ciągłych uwzględnionych w badaniu w podziale na grupy wyodrębnione na podstawie występowania ryzykownego lub szkodliwego używania narkotyków

Zmienna	nie-RHDU n = 112 Mediana (Średnia ± SD)	RHDU n = 13 Mediana (Średnia ± SD)	<i>t/U</i>	p
Wiek	23,417 (23,501 ± 2,256)	24,000 (23,917 ± 1,806)	–0,764 <sup>a</sup>	0,455
BMI	21,787 (22,428 ± 3,439)	21,358 (21,597 ± 3,516)	832,500 <sup>b</sup>	0,400

dalszy ciąg tabeli na następnej stronie

Papierosy/dzień	<0,001 (0,795 ± 3,044)	2,000 (5,077 ± 6,116)	348,000 <sup>b</sup>	<b>&lt;0,001</b>
Godziny ćwiczeń/tydzień	3,000 (3,656 ± 2,915)	2,000 (2,577 ± 2,597)	905,000 <sup>b</sup>	0,150
Liczba rodzeństwa	1,000 (1,214 ± 0,895)	1,000 (1,231 ± 1,363)	807,500 <sup>b</sup>	0,473
AUDIT	4,000 (4,643 ± 3,666)	7,000 (7,769 ± 3,94)	370,500 <sup>b</sup>	<b>0,004</b>
BDI	7,000 (9,259 ± 7,804)	12,000 (14,923 ± 8,684)	431,500 <sup>b</sup>	<b>0,017</b>

Liczby przed nawiasami reprezentują medianę, a liczby w nawiasach oznaczają średnią ± odchylenie standardowe. RHDA – ryzykowne lub szkodliwe picie alkoholu; RHDU – ryzykowne lub szkodliwe zażywanie narkotyków; RD – ryzyko depresji; BMI – wskaźnik masy ciała; AUDIT – Test identyfikacji zaburzeń używania alkoholu; DUDIT – Test identyfikacji zaburzeń używania narkotyków; BDI – Skala depresji Becka; n – wielkość grupy; SD – odchylenie standardowe; t – statystyka t; U – statystyka U; p – wartość p; <sup>a</sup> – zastosowano test t; <sup>b</sup> – zastosowano test Manna-Withneya. Wartości p odpowiadające istotności statystycznej zostały pogrubione.

W tabeli 4 przedstawiono częstość występowania poziomów głównych zmiennych kategorycznych i ich procentowy udział w grupach oraz analizę statystyczną związków z RHDU. Analogiczne informacje dotyczące dodatkowych zmiennych uwzględnionych w badaniu zamieszczono w tabeli uzupełniającej 5. Wstępna analiza danych wykazała statystycznie istotny związek między RHDU a rozpoznaniem zaburzeń psychicznych (OR = 6,837; 95% CI: 1,726–28,265;  $p = 0,002$ ) i paleniem tytoniu (OR = 15,630; 95% CI: 3,729–73,743;  $p < 0,001$ ), RHDA (OR = 5,783; 95% CI: 1,483–27,616;  $p = 0,004$ ) oraz trend statystyczny dla występowania niedoczynności tarczycy (OR = 3,339; 95% CI: 0,658–14,293;  $p = 0,078$ ).

Tabela 4. Porównanie częstości głównych zmiennych kategorycznych i ich procentowego udziału w poszczególnych grupach wyróżnionych na podstawie występowania ryzykownego lub szkodliwego używania narkotyków

Zmienna	nie-RHDU $n = 112$	% nie-RHDU	RHDU $n = 13$	% RHDU	OR	95% CI	$p$
Płeć żeńska	75	66,96	11	84,62	0,371	0,038–1,833	0,342
Płeć męska	37	33,04	2	15,38	–	–	–
Zdiagnozowane zaburzenia psychiczne	16	14,29	7	53,85	6,837	1,726–28,265	<b>0,002</b>
Niedoczynność tarczycy	13	11,61	4	30,77	3,339	0,658–14,293	0,078
Palenie tytoniu	10	8,93	8	61,54	15,63	3,729–73,743	<b>&lt;0,001</b>

dalszy ciąg tabeli na następnej stronie

RHDA	31	27,68	9	69,23	5,783	1,483–27,616	<b>0,004</b>
RD	30	26,79	6	46,15	2,325	0,594–8,825	0,194

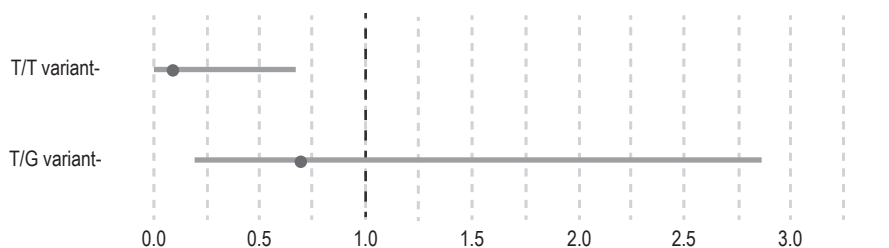
n – wielkość grupy; OR – iloraz szans; 95% CI – 95% przedział ufności; p – wartość p; RHDA – ryzykowne lub szkodliwe picie alkoholu; RHDU – ryzykowne lub szkodliwe zażywanie narkotyków; RD – ryzyko depresji. Wartości p odpowiadające istotności statystycznej zaznaczono pogrubioną czcionką, a odpowiadające trendowi statystycznemu – kursywą.

W jednoczynnikowym modelu regresji logistycznej wariant *T/T rs4354668* był statystycznie istotnie powiązany z mniejszym prawdopodobieństwem wystąpienia RHDU w porównaniu z wariantem *G/G* (OR: 0,092; 95% CI: 0,005–0,678;  $z = -2,065$ ;  $p = 0,039$ ), natomiast uczestnicy z wariantem *T/G* nie różnili się od tych z wariantem *G/G* (OR: 0,694; 95% CI: 0,192–2,865;  $z = -0,542$ ;  $p = 0,588$ ). Innymi słowy, uczestnicy z wariantem *T/T* mieli średnio o 90,8% mniejsze szanse na rozwój RHDU niż uczestnicy z wariantem *G/G*. W tabeli 5 zamieszczono bardziej szczegółowo statystyki modelu. Na rysunku 1 przedstawiono wykres ilorazów szans dla tego modelu.

Tabela 5. Podsumowanie statystyk jednowymiarowego modelu regresji logistycznej z wariantem *G/G* jako poziomem wskaźnika

Predyktor	$\beta$	SD	z	p	OR	OR 95% CI
<i>Wariant G/G</i>	-1,447	0,556	-2,604	<b>0,009</b>	–	–
<i>Wariant T/G</i>	-0,366	0,674	-0,542	0,588	0,694	0,192–2,865
<i>Wariant T/T</i>	-2,382	1,154	-2,065	<b>0,039</b>	0,092	0,005–0,678

$\beta$  – szacowany współczynnik  $\beta$ ; SD – odchylenie standardowe; z – statystyka Walda z; p – wartość p; OR – iloraz szans; OR 95% CI – przedział ufności ilorazu szans. Wartości p odpowiadające istotności statystycznej są pogrubione.



Rysunek 1. Wykres ilorazu szans dla modelu regresji logistycznej z wariantami *rs4354668* jako predyktorem

W wieloczynnikowym modelu regresji logistycznej uwzględniającym potencjalne czynniki zakłócające, dla których wykazano istotny statystycznie związek z wariantami *rs4354668* lub RHDU na wcześniejszych etapach analizy, utrzymano istotny statystycznie wpływ wariantu *T/T* na częstość występowania RHDU. Istotność statystyczna tego

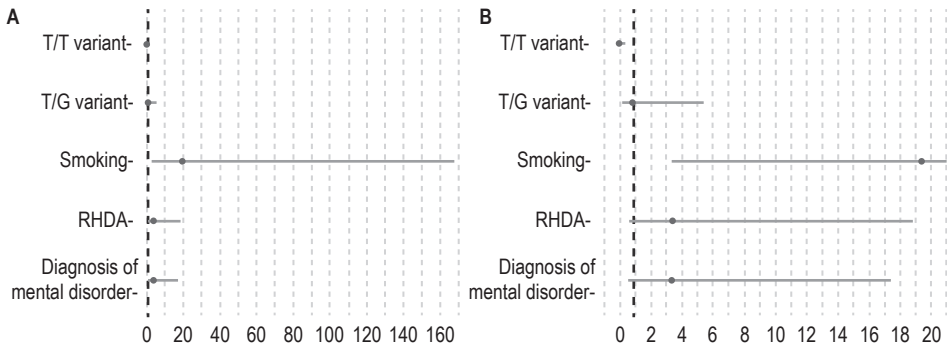
predyktora wzrosła, a związany z nim iloraz szans się zmniejszył (OR: 0,037; 95% CI: 0,001–0,433;  $z = -2,336$ ;  $p = 0,019$ ). Drugim bardzo istotnym predyktorem było palenie tytoniu (OR: 19,301; 95% CI: 3,336–168,063;  $z = 3,064$ ;  $p = 0,002$ ), podczas gdy diagnoza zaburzeń psychicznych (OR: 3,392; 95% CI: 0,585–17,425;  $z = 1,458$ ;  $p = 0,145$ ), RHDA (OR: 3,391; 95% CI: 0,633–18,804;  $z = 1,458$ ;  $p = 0,145$ ) oraz wariant *T/G* (OR: 0,785; 95% CI: 0,134–5,461;  $z = -0,265$ ;  $p = 0,791$ ) nie osiągnęły istotności statystycznej. Model był również statystycznie istotnie lepiej dopasowany do danych w porównaniu z modelem jednowymiarowym (odpowiednio: AIC = 59,821 i AIC = 82,368). Biorąc jednak pod uwagę niewielką liczebność próby badawczej, a także liczbę uwzględnionych predyktorów, nie można wykluczyć przeuczenia modelu i błędnego oszacowania jego parametrów. Problemy te zostały uwzględnione w kolejnym etapie analizy. Tabela 6 przedstawia szczegółowe statystyki modelu, natomiast tabela uzupełniająca 6 – wartości GVIF każdego predyktora. Wartości GVIF nie wskazywały na występowanie współliniowości. Na rysunku 2 zamieszczono wykres ilorazów szans dla tego modelu.

Tabela 6. Podsumowanie statystyk dla wieloczynnikowego modelu regresji logistycznej obejmującego wszystkie potencjalnie istotne czynniki zakłócające z wariantem *G/G* jako poziomem wskaźnikowym

Predyktor	$\beta$	SD	$z$	$p$	OR	OR 95% CI
<i>Intercept</i>	-3,107	0,939	-3,309	<b>0,001</b>	–	–
<i>Wariant T/G</i>	-0,242	0,915	-0,265	0,791	0,785	0,134–5,461
<i>Wariant T/T</i>	-3,295	1,410	-2,336	<b>0,019</b>	0,037	0,001–0,433
Zdiagnozowane zaburzenia psychiczne	1,222	0,838	1,458	0,145	3,392	0,585–17,425
Palenie tytoniu	2,960	0,966	3,064	<b>0,002</b>	19,301	3,336–168,063
RHDA	1,221	0,838	1,458	0,145	3,391	0,633–18,804

$\beta$  – szacowany współczynnik  $\beta$ ; SD – odchylenie standardowe;  $z$  – statystyka Walda;  $p$  – wartość  $p$ ; OR – iloraz szans; OR 95% CI – przedział ufności ilorazu szans; RHDA – ryzykowne lub szkodliwe picie alkoholu. Wartości  $p$  odpowiadające istotności statystycznej zostały pogrubione.

Algorytm wyboru modelu najlepiej dopasowanego do danych za pomocą glmulti wybrał 8 modeli, które nie różniły się wartością AIC od modelu najlepiej dopasowanego o więcej niż 2. Tabela uzupełniająca 7 ukazuje zestawienie predyktorów uwzględnionych w tych modelach oraz ich wartości AIC. Każdy z modeli zawierał wariant *rs4354668* jako predyktor, co może wskazywać, że był statystycznie istotny niezależnie od ujętych czynników zakłócających. Tylko jeden z otrzymanych modeli zawierał 3 predyktory i dlatego został uznany za najlepiej dopasowany do danych. Statystyki tego modelu podsumowano w tabeli 7. Statystycznie istotnymi predyktorami były: wariant *T/T* (OR: 0,021; 95% CI: 0,001–0,275;  $z = -2,618$ ;  $p = 0,009$ ), palenie tytoniu (OR: 42,446; 95% CI: 7,919–359,472;  $z = 3,982$ ;  $p < 0,001$ ) i RHDA (OR: 1,200; 95% CI: 1,009–1,435;  $z = 2,117$ ;  $p = 0,034$ ). Nieistotnym predyktorem był wariant *T/G* (OR: 0,823; 95% CI: 0,137–5,819;  $z = -0,211$ ;  $p = 0,833$ ). Można zatem założyć, że biorąc pod uwagę czynniki zakłócające, uczestnicy badania z wariantem *T/T*



A) Pełny zakres. B) Przycięte, aby dokładniej ukazać predyktory inne niż palenie tytoniu.

Rysunek 2. Wykres ilorazu szans dla modelu regresji logistycznej z wariantami *rs4354668* i potencjalnymi czynnikami zakłócającymi jako predyktorami

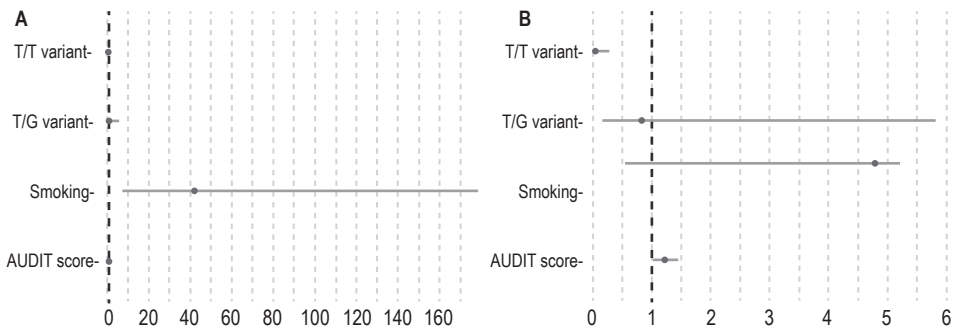
*rs435466* mieli średnio o 97,90% mniejsze ryzyko wystąpienia RHDU niż uczestnicy z wariantem *G/G*. Podsumowanie wartości GVIF dla modelu przedstawiono w tabeli uzupełniającej 8. Na rysunku 3 znajduje się wykres ilorazów szans dla tego modelu.

Tabela 7. Podsumowanie statystyk dla wielowymiarowego modelu regresji logistycznej, który po uwzględnieniu potencjalnych czynników zakłócających był najlepiej dopasowany do danych

Predyktor	$\beta$	SD	z	p	OR	OR 95% CI
Intercept	-3,505	1,027	-3,412	<b>0,001</b>	-	-
Wariant T/G	-0,195	0,924	-0,211	0,833	0,823	0,137-5,819
Wariant T/T	-3,858	1,473	-2,618	0,009	0,021	0,001-0,275
Palenie tytoniu	3,748	0,941	3,982	<b>&lt;0,001</b>	42,446	7,919-359,472
Wynik AUDIT	0,182	0,086	2,117	<b>0,034</b>	1,200	1,009-1,435

W wypadku genotypów jako punkt odniesienia przy obliczaniu ilorazów szans przyjęto wariant *G/G*, natomiast w wypadku wyników AUDIT przyjęto wynik AUDIT = 1.  $\beta$  – szacowany współczynnik; SD – odchylenie standardowe; z – statystyka Walda z; p – wartość p; OR – iloraz szans; OR 95% CI – przedział ufności ilorazu szans; AUDIT – Test identyfikacji zaburzeń używania alkoholu. Wartości p odpowiadające istotności statystycznej zostały pogrubione.

Dla ostatniego opisywanego modelu obliczono uzyskaną moc statystyczną. Jako że wartość  $\text{pseudo}R^2 = 0,393$ , dla pozostałych predyktorów uzyskana moc statystyczna była bardzo mała ( $1-\beta = 0,062$ ). Biorąc pod uwagę uzyskane w badaniu iloraz szans, częstości RHDU w grupach wyodrębnionych na podstawie wariantów *rs4354668* oraz wpływ pozostałych predyktorów, minimalna wielkość próby dla uzyskania mocy statystycznej równej 0,8 wyniosła  $n = 433$ .



A) Pełny zakres. B) Przycięty, aby dokładniej ukazać predyktory inne niż palenie.

Rysunek 3. Wykres ilorazu szans dla najlepiej dopasowanego modelu regresji logistycznej z wariantami *rs4354668* i potencjalnymi czynnikami zakłócającymi jako predyktorami

### 3. Dyskusja wyników

Według naszej wiedzy prezentowane badanie jest pierwszym badaniem potencjalnego wpływu wariantów polimorfizmu *rs4354668* genu *SLC1A2* na ryzykowne lub szkodliwe używanie narkotyków (RHDU). Przedstawione wyniki mogą wskazywać na potencjalne działanie ochronne wariantu *T/T* przed występowaniem takich zaburzeń. Zarówno analiza eksploracyjna, jak i jednowymiarowy model regresji logistycznej wykazały związek między wariantem *T/T* a mniejszą częstością występowania RHDU. Co więcej, poszczególne warianty *rs4354668* nie były statystycznie istotnie związane z żadnym z branych pod uwagę potencjalnych czynników zakłócających, w tym z diagnozą zaburzeń psychicznych, ryzykiem depresji i ryzykiem zaburzeń związanych ze spożywaniem alkoholu. Również uwzględnienie zmiennych łączących się z samym RHDU nie tylko nie zmniejszyło istotności statystycznej zależności między wariantem *T/T* a rzadszym występowaniem RHDU, ale wręcz istotnie ją poprawiło. Zależność ta jest zatem niezależna od rozpoznania zaburzeń psychicznych, RHDU, statusu palenia, wyników AUDIT i BDI oraz liczby wypalanych dziennie papierosów. Na podstawie modelu najlepiej dopasowanego do uzyskanych danych oszacowaliśmy, że osoby z wariantem *T/T* polimorfizmu *rs4354668* genu *SLC1A2* dla EAAT2 miały średnio o 97,90% mniejsze prawdopodobieństwo wystąpienia RHDU.

Nasze wyniki są spójne z dotychczasowymi badaniami nad rolę *rs4354668* w innych zaburzeniach psychicznych. Pacjenci ze schizofrenią z wariantem *T/T* *rs4354668* wykazywali mniejsze deficyty poznawcze związane z korą przedczołową, a także bardziej istotną poprawę w wyniku leczenia [39, 40, 42, 55]. Podobnie w wypadku choroby afektywnej dwubiegunowej pacjenci z wariantem *T/T* leczeni litem mieli mniejszą częstość nawrotów choroby [37]. Ponadto osoby z rozpoznaniem choroby afektywnej dwubiegunowej z wariantem *T/T* są mniej wrażliwe na niekorzystny wpływ stresu doświadczanego we wczesnym okresie życia na integralność istoty białej [41]. Także w niedawnym badaniu na polskiej populacji pacjentów z rozpoznaniem zaburzenia depresyjnego wykazano, że wariant *G/G* *rs4354668*, związany z niższą ekspresją

EAAT2, jest częstszy w grupie chorych niż w grupie kontrolnej, co wskazuje na to, że polimorfizmy *SLC1A2* mogą przyczyniać się do zwiększonego ryzyka wystąpienia tego zaburzenia [56]. Chociaż w badanej populacji nie wykryliśmy istotnego statystycznie związku między polimorfizmem *rs4354668* a wynikami BDI czy rozpoznaniem zaburzeń psychicznych, to nie kontrolowaliśmy wyników pod kątem stanów ryzyka psychozy, hipomanii i stresu na wczesnych etapach życia, które same w sobie mogą się łączyć z większym ryzykiem uzależnienia [57–59]. Nie można zatem wykluczyć, że ten polimorfizm nie przyczynił się bezpośrednio do wystąpienia RHDU, ale jest związany z fenotypem podatności na schizofrenię, chorobę afektywną dwubiegunową lub skutki stresu na wczesnych etapach życia. Alternatywnie nasze wyniki mogą wskazywać na częściowo wspólne neurobiologiczne podłoże tych zaburzeń i RHDU.

Innymi statystycznie istotnymi predyktorami RHDU w badanej populacji były wynik AUDIT oraz palenie tytoniu. Inne badania sugerują, że wcześniejszy początek spożywania alkoholu może zwiększać prawdopodobieństwo używania innych substancji psychoaktywnych w przyszłości [60–62]. U zwierząt laboratoryjnych wykazano również, że zarówno alkohol, jak i nikotyna mogą zwiększać ekspresję receptorów dopaminy (ale nie glutaminianu) i wpływać na późniejszą wrażliwość na uzależniające działanie amfetaminy [63]. Samo palenie tytoniu wiąże się też z częstszym nadużywaniem substancji psychoaktywnych i tendencją do nawrotów ich nadużywania [64]. Palacze nie tylko częściej nadużywają substancji psychoaktywnych, ale także częściej zapadają na zaburzenia depresyjne [65, 66]. Powszechne jest ponadto współwystępowanie nikotynizmu i choroby afektywnej dwubiegunowej, a zaburzenia te mają wspólne podłoże genetyczne [67]. Takie wyniki są zgodne z naszymi ustaleniami pokazującymi, że palenie i wynik AUDIT są lepszymi predyktorami RHDU niż sama RD lub wynik BDI. Pozytywny wpływ kontrolowania statusu palenia na dopasowanie modelu regresji logistycznej może wiązać się z tym, że promujący wpływ nikotyny na używanie innych substancji psychoaktywnych jest głównie pośredniczony przez układ dopaminergiczny, a nie przez układ glutaminergiczny [63]. Zatem uczestnicy, którzy byli pod wpływem współistniejącego nadużywania alkoholu, objawów depresyjnych lub palenia, mogą stanowić częściowo osobną populację od tych, dla których wpływ określonych wariantów *rs4354668* i związanego z nimi RDS był bardziej znaczący. Hipotezę tę wydaje się potwierdzać brak istotnego statystycznie związku między wariantami *rs4354668* a czynnikami innymi niż RHDU, wykazany w naszej analizie.

Zależność od nagrody to cecha osobowości zdefiniowana przez Cloningera, związana z niską aktywnością noradrenergiczną i dopaminergiczną, która objawia się jako „oporność na wygaszanie wcześniej nagradzanych zachowań” [68]. Chociaż wyniki badań nad rolą uzależnienia od nagrody w uzależnieniu są niejednoznaczne, część z nich sugeruje, że jej niski poziom może się łączyć z nadużywaniem opioidów [69–71]. Ponadto zasugerowano, że wysoka zależność od nagrody może mieć działanie ochronne przed uzależnieniem u osób używających opioidów, jak również przed nawrotem uzależnienia od alkoholu [72, 73]. Wariant *T/T rs4354668* wydaje się wpływać na zależność od nagrody, a osoby z tym genotypem osiągają niższe wartości zależności od nagrody [74]. Z tych powodów osoby z wariantem *T/T* powinny być bardziej podatne na nadużywanie substancji, co nie jest zgodne z naszymi wynikami.

Ta niespójność może wynikać z: 1) różnych relacji między uzależnieniem od narkotyku a nadużywaniem substancji, których nie kontrolowaliśmy w naszym badaniu, lub 2) braku istotnego związku między zależnością od narkotyku a RHDU w badanej populacji. Można również postawić hipotezę, że ze względu na rekrutację grupy badawczej wśród studentów medycyny osoby z wariantem *T/T*, które się uzależniły, nie miały możliwości podjęcia lub kontynuowania studiów, przez co w grupie badawczej znalazły się osoby z wariantem *T/T* i należące głównie do grupy nie-RHDU. Konieczne są dodatkowe badania w celu dalszej oceny możliwych korelacji między nadużywaniem substancji, wariantami *rs4354668* i cechami osobowości.

Wyciek synaptyczny glutaminianu stanowi jeden z istotnych mechanizmów kilku zaburzeń psychicznych, w tym schizofrenii, depresji, uzależnienia oraz chorób neurodegeneracyjnych [21, 29]. Przy nasilonym wycieku może dochodzić do nieswoistej aktywacji receptorów dla glutaminianu, które są kluczowe dla neuroplastyczności, a co za tym idzie – dla procesów pamięciowych i uczenia się [2, 75]. Długotrwały wpływ wycieku glutaminianu na neuroplastyczność w jądrze półleżącym przyczynia się do ryzyka nawrotów uzależnienia i utrzymywania się jego objawów [2]. Zmniejszona aktywność głównego transportera glutaminianu, EAAT2, może nasilać ten proces, natomiast zwiększona może mieć potencjalnie działanie ochronne [76]. Dodatkowo nasilony wyciek glutaminianu powoduje nasilenie stresu oksydacyjnego, który wywołuje apoptozę komórek tkanki nerwowej. W wypadku chorób neurodegeneracyjnych analogiczny wpływ EAAT2 na ten mechanizm został udowodniony [21].

Uzyskane przez nas wyniki wydają się pasować do przyjętego modelu, w którym zwiększony wychwyty zwrotny glutaminianu u osób z wariantem *T/T rs4354668* prowadzi do słabszego wiązania substancji psychoaktywnych z wyuczonymi zachowaniami i bodźcami środowiskowymi lub do skuteczniejszej ochrony przed ekscytotoksycznością glutaminianu wywołującą zmianę neuroplastyczności, czego efektem jest niedostateczna stymulacja układu dopaminergicznego związanego z zespołem deficytu nagrody [17, 18, 32, 33, 77]. Takie osoby mogą mieć mniejszą potrzebę kompensacji niedoboru dopaminy w szlakach mezokortykolimbicznych, a zatem prawdopodobieństwo rozwoju RHDU jest w ich wypadku mniejsze.

Opisywane badanie ma pewne ograniczenia. Badana grupa, składająca się prawie wyłącznie ze studentów medycyny, może nie być reprezentatywna dla ogólnej dorosłej populacji. Ponadto istniała luka czasowa między pierwszym etapem, gdy zbierano informacje psychometryczne, socjodemograficzne i dotyczące stylu życia, a drugim etapem, w którym pozyskiwano materiał genetyczny. Mogło to wpłynąć na wiarygodność danych uzyskanych ze skal AUDIT, DUDIT i BDI. Zebrane kwestionariusze nie były anonimowe, co biorąc pod uwagę status prawny niemal wszystkich substancji psychoaktywnych w Polsce z wyjątkiem alkoholu, mogło wpłynąć na rzetelność udzielanych odpowiedzi. Z tego samego powodu nie zebraliśmy informacji o rodzajach substancji zażywanych przez uczestników oraz obecności określonych diagnoz psychiatrycznych, co uniemożliwiło dokładniejszą analizę ich wpływu na RHDU. Ponadto wszystkie zastosowane metody psychometryczne opierały się na samoocenie, a uczestnicy nie byli badani przez specjalistów psychiatrów, i to także mogło się przyczynić do niższej jakości analizowanych w badaniu danych. Nie kontrolowaliśmy wyników pod kątem



obecności innych objawów choroby psychicznej, takich jak lęk, wysokie ryzyko psychozy czy hipomanii. Przez to, że dostępna jest bardzo ograniczona liczba aktualnych, zwalidowanych w języku polskim narzędzi do oceny osobowości, nie byliśmy w stanie skorygować uzyskanych wyników w zakresie takich cech osobowości, jak impulsywność, poszukiwanie nowości, unikanie krzywdy czy zależność od nagrody.

Najbardziej znaczącym ograniczeniem zaprezentowanego badania jest rozmiar próby. Ze względu na brak danych dotyczących częstości występowania RHDU w badanej populacji i eksploracyjny charakter badania nie mogliśmy oszacować wymaganego rozmiaru próby *a priori*. Uzyskana moc statystyczna była ostatecznie bardzo mała ( $1-\beta = 0,062$ ), jednak udało nam się oszacować rozmiar próby dla przyszłych badań o zbliżonych celach i badanych populacjach na  $n = 433$ . Chociaż wielkość próby badawczej pozwoliła na uzyskanie wyników istotnych statystycznie, wielowymiarowy typ przeprowadzonej analizy mógł uniemożliwić wykrycie słabszych zależności. W analizie nie wzięto również pod uwagę potencjalnych interakcji między uwzględnionymi w niej zmiennymi.

#### 4. Wnioski

Wyniki uzyskane w zaprezentowanym badaniu mogą wskazywać na możliwy związek ryzyka nadużywania substancji psychoaktywnych innych niż alkohol z wariantami polimorfizmu *rs4354668* genu *SLC1A2*. Osoby z wariantem *T/T* tego polimorfizmu wydają się mniej narażone na rozwój zaburzeń związanych z używaniem narkotyków. Może to pośrednio potwierdzać podejrzaną rolę EAAT2 w etiopatogenezie uzależnień oraz istotną rolę układu glutaminergicznego w kształtowaniu fenotypu zespołu deficytu nagrody. Konieczne są przyszłe prospektywne badania oparte na wnikliwej analizie, aby można było potwierdzić przyczynowo-skutkowy charakter zaobserwowanych zależności.

#### Piśmiennictwo

1. Zou Z, Wang H, Uquillas O, Wang X, Ding J, Chen H. *Definition of substance and non-substance addiction*. W: Zhang X, Shi J, Tao R. red. *Substance and non-substance addiction*. Singapore: Springer Singapore; 2017. S. 21–41. (Advances in Experimental Medicine and Biology; vol. 1010). <http://link.springer.com/10.1007/978-981-10-5562-1>.
2. Scofield MD, Heinsbroek JA, Gipson CD, Kupchik YM, Spencer S, Smith ACW i wsp.; and Witkin JM. *The nucleus accumbens: Mechanisms of addiction across drug classes reflect the importance of glutamate homeostasis*. *Pharmacol. Rev.* 2016; 68(3): 816–871. <http://pharmrev.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/pr.116.012484>.
3. Poulton A, Hester R. *Transition to substance use disorders: Impulsivity for reward and learning from reward*. *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.* 2020; 15(10): 1182–1191. <https://academic.oup.com/scan/article/15/10/1182/5679769>.
4. Battle DE. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM)*. *Codas* 2013; 25(2): 190–191. [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2317-17822013000200017&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-17822013000200017&lng=en&tlng=en).

5. Ghanbari R, Sumner S. *Using metabolomics to investigate biomarkers of drug addiction*. Trends Mol. Med. 2018; 24(2): 197–205. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2017.12.005>.
6. Conner KR, Bridge JA, Davidson DJ, Pilcher C, Brent DA. *Metaanalysis of mood and substance use disorders in proximal risk for suicide deaths*. Suicide Life Threat. Behav. 2019; 49(1): 278–292.
7. Hunt GE, Malhi GS, Lai HMX, Cleary M. *Prevalence of comorbid substance use in major depressive disorder in community and clinical settings, 1990–2019: Systematic review and meta-analysis*. J. Affect. Disord. 2020; 266: 288–304. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.01.141>.
8. Fiorentini A, Cantù F, Crisanti C, Cereda G, Oldani L, Brambilla P. *Substance-induced psychoses: An updated literature review*. Front. Psychiatry 2021; 12: 694863. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsy.2021.694863/full>.
9. Blum K, Sheridan PJ, Wood RC, Braverman ER, Chen TJ, Cull JG i wsp. *The D2 dopamine receptor gene as a determinant of reward deficiency syndrome*. J. R. Soc. Med. 1996; 89(7): 396–400. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8774539>.
10. Febo M, Blum K, Badgaiyan RD, Baron D, Thanos PK, Colon-Perez LM i wsp. *Dopamine homeostasis: Brain functional connectivity in reward deficiency syndrome*. Front. Biosci. – (Landmark Ed.) 2017; 22(4): 669–691.
11. Martinez D, Gil R, Slifstein M, Hwang DR, Huang Y, Perez A i wsp. *Alcohol dependence is associated with blunted dopamine transmission in the ventral striatum*. Biol. Psychiatry 2005; 58(10): 779–786. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322305005640>.
12. Volkow ND, Wang GJ, Telang F, Fowler JS, Logan J, Jayne M i wsp. *Profound decreases in dopamine release in striatum in detoxified alcoholics: Possible orbitofrontal involvement*. J. Neurosci. 2007; 27(46): 12700–12706. <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.3371-07.2007>.
13. Narendran R, Mason NS, Paris J, Himes ML, Douaihy AB, Frankle WG. *Decreased prefrontal cortical dopamine transmission in alcoholism*. Am. J. Psychiatry 2014; 171(8): 881–888. <http://psychiatryonline.org/doi/abs/10.1176/appi.ajp.2014.13121581>.
14. Ashok AH, Mizuno Y, Volkow ND, Howes OD. *Association of stimulant use with dopaminergic alterations in users of cocaine, amphetamine, or methamphetamine*. JAMA Psychiatry 2017; 74(5): 511. <http://archpsyc.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamapsychiatry.2017.0135>.
15. Reiner A, Levitz J. *Glutamatergic signaling in the central nervous system: Ionotropic and metabotropic receptors in concert*. Neuron 2018; 98(6): 1080–1098. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896627318304161>.
16. Schwartz TL, Sachdeva S, Stahl SM. *Glutamate neurocircuitry: Theoretical underpinnings in Schizophrenia*. Front. Pharmacol. 2012; 3: 1–11.
17. Bell K. *Context-specific enhancement of glutamate transmission by cocaine*. Neuropsychopharmacology 2000; 23(3): 335–344. [http://www.nature.com/doi/10.1016/S0893-133X\(00\)00100-7](http://www.nature.com/doi/10.1016/S0893-133X(00)00100-7).
18. Badiani A, Anagnostaras SG, Robinson TE. *The development of sensitization to the psychomotor stimulant effects of amphetamine is enhanced in a novel environment*. Psychopharmacology (Berl.) 1995; 117(4): 443–452. <http://link.springer.com/10.1007/BF02246217>.
19. Gondré-Lewis MC, Bassey R, Blum K. *Pre-clinical models of reward deficiency syndrome: A behavioral octopus*. Neurosci. Biobehav. Rev. 2020; 115: 164–188. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.04.021>.

20. Matute C, Alberdi E, Domercq M, Pérez-Cerdá F, Pérez-Samartín A, Sánchez-Gómez MV. *The link between excitotoxic oligodendroglial death and demyelinating diseases*. Trends Neurosci. 2001; 24(4): 224–230. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016622360001746X>.
21. Kim K, Lee SG, Kegelman TP, Su ZZ, Das SK, Dash R i wsp. *Role of Excitatory Amino Acid Transporter-2 (EAAT2) and glutamate in neurodegeneration: Opportunities for developing novel therapeutics*. J. Cell Physiol. 2011; 226(10): 2484–2493. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.22609>.
22. Lee RSC, Hoppenbrouwers S, Franken I. *A systematic meta-review of impulsivity and compulsivity in addictive behaviors*. Neuropsychol. Rev. 2019; 29(1): 14–26. <http://link.springer.com/10.1007/s11065-019-09402-x>.
23. Matsuo K, Nielsen N, Nicoletti MA, Hatch JP, Monkul ES, Watanabe Y i wsp. *Anterior genu corpus callosum and impulsivity in suicidal patients with bipolar disorder*. Neurosci. Lett. 2010; 469(1): 75–80. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304394009015389>.
24. Oertel-Knöchel V, Reinke B, Alves G, Jurcoane A, Wenzler S, Prvulovic D i wsp. *Frontal white matter alterations are associated with executive cognitive function in euthymic bipolar patients*. J. Affect. Disord. 2014; 155: 223–233. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165032713007982>.
25. Wollman SC, Alhassoon OM, Stern MJ, Hall MG, Rompogren J, Kimmel CL i wsp. *White matter abnormalities in long-term heroin users: A preliminary neuroimaging meta-analysis*. Am. J. Drug. Alcohol. Abuse 2015; 41(2): 133–138. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/00952990.2014.985829>.
26. Suchting R, Beard CL, Schmitz JM, Soder HE, Yoon JH, Hasan KM i wsp. *A meta-analysis of tract-based spatial statistics studies examining white matter integrity in cocaine use disorder*. Addict. Biol. 2021; 26(2): 12902. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/adb.12902>.
27. Reginsson GW, Ingason A, Euesden J, Bjornsdottir G, Olafsson S, Sigurdsson E i wsp. *Polygenic risk scores for schizophrenia and bipolar disorder associate with addiction*. Addict. Biol. 2018; 23(1): 485–492. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/adb.12496>.
28. Marcaggi P, Attwell D. *Role of glial amino acid transporters in synaptic transmission and brain energetics*. Glia 2004; 47(3): 217–225. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/glia.20027>.
29. O'Donovan SM, Sullivan CR, McCullumsmith RE. *The role of glutamate transporters in the pathophysiology of neuropsychiatric disorders*. NPJ Schizophr. 2017; 3(1): 32. <http://dx.doi.org/10.1038/s41537-017-0037-1>.
30. Tanaka K, Watase K, Manabe T, Yamada K, Watanabe M, Takahashi K i wsp. *Epilepsy and exacerbation of brain injury in mice lacking the glutamate transporter GLT-1*. Science (1979) 1997; 276(5319): 1699–1702. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.276.5319.1699>.
31. Furness DN, Dehnes Y, Akhtar AQ, Rossi DJ, Hamann M, Grutle NJ i wsp. *A quantitative assessment of glutamate uptake into hippocampal synaptic terminals and astrocytes: New insights into a neuronal role for excitatory amino acid transporter 2 (EAAT2)*. Neuroscience 2008; 157(1): 80–94. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306452208011925>.
32. Mallolas J, Hurtado O, Castellanos M, Blanco M, Sobrino T, Serena J i wsp. *A polymorphism in the EAAT2 promoter is associated with higher glutamate concentrations and higher frequency of progressing stroke*. Journal of Experimental Medicine 2006; 203(3): 711–717. <https://rupress.org/jem/article/203/3/711/54008/A-polymorphism-in-the-EAAT2-promoter-is-associated>.
33. Weller ML, Stone IM, Goss A, Rau T, Rova C, Poulsen DJ. *Selective overexpression of excitatory amino acid transporter 2 (EAAT2) in astrocytes enhances neuroprotection from moderate but not severe hypoxia–ischemia*. Neuroscience 2008; 155(4): 1204–1211. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306452208008361>.

34. Rosenberg PA, Aizenman E. *Hundred-fold increase in neuronal vulnerability to glutamate toxicity in astrocyte-poor cultures of rat cerebral cortex*. Neurosci. Lett. 1989; 103(2): 162–168. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0304394089905697>.
35. Shen H w., Scofield MD, Boger H, Hensley M, Kalivas PW. *Synaptic glutamate spillover due to impaired glutamate uptake mediates heroin relapse*. J. Neurosci. 2014; 34(16): 5649–5657. <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.4564-13.2014>.
36. LaCrosse AL, O'Donovan SM, Sepulveda-Orengo MT, McCullumsmith RE, Reissner KJ, Schwendt M i wsp. *Contrasting the role of xCT and GLT-1 upregulation in the ability of ceftriaxone to attenuate the cue-induced reinstatement of cocaine seeking and normalize AMPA receptor subunit expression*. J. Neurosci. 2017; 37(24): 5809–5821. <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.3717-16.2017>.
37. Dallaspezia S, Poletti S, Lorenzi C, Pirovano A, Colombo C, Benedetti F. *Influence of an interaction between lithium salts and a functional polymorphism in SLC1A2 on the history of illness in bipolar disorder*. Mol. Diagn. Ther. 2012; 16(5): 303–309. <http://link.springer.com/10.1007/s40291-012-0004-5>.
38. Poletti S, Radaelli D, Bosia M, Buonocore M, Pirovano A, Lorenzi C i wsp. *Effect of glutamate transporter EAAT2 gene variants and gray matter deficits on working memory in schizophrenia*. Eur. Psychiatry 2014; 29(4): 219–225. [https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0924933800241096/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0924933800241096/type/journal_article).
39. Spangaro M, Bosia M, Bechi M, Buonocore M, Cocchi F, Guglielmino C i wsp. *Neurobiology of cognitive remediation in schizophrenia: Effects of EAAT2 polymorphism*. Schizophr. Res. 2018; 202: 106–110. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0920996418304018>.
40. Spangaro M, Bosia M, Zanoletti A, Bechi M, Mariachiara B, Pirovano A i wsp. *Exploring effects of EAAT polymorphisms on cognitive functions in schizophrenia*. Pharmacogenomics 2014; 15(7): 925–932. <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/pgs.14.42>.
41. Poletti S, Bollettini I, Lorenzi C, Vitali A, Brioschi S, Serretti A i wsp. *White matter microstructure in bipolar disorder is influenced by the interaction between a glutamate transporter EAAT1 gene variant and early stress*. Mol. Neurobiol. 2019; 56(1): 702–710. <http://link.springer.com/10.1007/s12035-018-1117-6>.
42. Spangaro M, Bosia M, Zanoletti A, Bechi M, Cocchi F, Pirovano A i wsp. *Cognitive dysfunction and glutamate reuptake: Effect of EAAT2 polymorphism in schizophrenia*. Neurosci. Lett. 2012; 522(2): 151–155. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304394012008282>.
43. Zhang B, Guan F, Chen G, Lin H, Zhang T, Feng J i wsp. *Common variants in SLC1A2 and schizophrenia: Association and cognitive function in patients with schizophrenia and healthy individuals*. Schizophr. Res. 2015; 169(1–3): 128–134. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0920996415300128>.
44. Lovell ME, Akhurst J, Padgett C, Garry MI, Matthews A. *Cognitive outcomes associated with long-term, regular, recreational cannabis use in adults: A meta-analysis*. Exp. Clin. Psychopharmacol. 2020; 28(4): 471–494. <http://doi.apa.org/getdoi.cfm?doi=10.1037/pha0000326>.
45. N. Verbaten M. *Deterioration of executive functioning in chronic ecstasy users: Evidence for multiple drugs effects*. Curr. Drug Abuse Rev. 2010; 3(3): 129–138. <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1874-4737&volume=3&issue=3&spage=129>.
46. Potvin S, Pelletier J, Grot S, Hébert C, Barr AM, Lecomte T. *Cognitive deficits in individuals with methamphetamine use disorder: A meta-analysis*. Addict. Behav. 2018; 80: 154–160. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030646031830025X>.

47. Roberts CA, Jones A, Montgomery C. *Meta-analysis of executive functioning in ecstasy/poly-drug users*. Psychol. Med. 2016; 46(8): 1581–1596. [https://www.cambridge.org/core/product/identifer/S0033291716000258/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifer/S0033291716000258/type/journal_article).
48. Nulsen CE, Fox AM, Hammond GR. *Differential effects of ecstasy on short-term and working memory: A meta-analysis*. Neuropsychol. Rev. 2010; 20(1): 21–32. <http://link.springer.com/10.1007/s11065-009-9124-z>.
49. Beard CL, Schmitz JM, Soder HE, Suchting R, Yoon JH, Hasan KM i wsp. *Regional differences in white matter integrity in stimulant use disorders: A meta-analysis of diffusion tensor imaging studies*. Drug Alcohol Depend. 2019; 201: 29–37. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376871619301619>.
50. Nowak M, Papiernik M, Mikulska A, Czarkowska-Paczek B. *Smoking, alcohol consumption, and illicit substances use among adolescents in Poland*. Subst. Abuse Treat. Prev. Policy 2018; 13(1): 42. <https://substanceabusepolicy.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13011-018-0179-9>.
51. Solmi M, Radua J, Olivola M, Croce E, Soardo L, Salazar de Pablo G i wsp. *Age at onset of mental disorders worldwide: Large-scale meta-analysis of 192 epidemiological studies*. Mol. Psychiatry 2022; 27(1): 281–295. <https://www.nature.com/articles/s41380-021-01161-7>.
52. Kaarne T, Aalto M, Kuokkanen M, Seppä K. *AUDIT-C, AUDIT-3 and AUDIT-QF in screening risky drinking among Finnish occupational health-care patients*. Drug Alcohol Rev. 2010; 29(5): 563–567. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1465-3362.2010.00172.x>.
53. Berman AH, Bergman H, Palmstierna T, Schlyter F. *The Drug Use Disorders Identification Test: Manual*; 2003. <https://www.srdatf.ie/wp-content/uploads/2015/05/DUDITManual1.pdf> (dostęp: 1.06.2024).
54. Wang YP, Gorenstein C. *Psychometric properties of the Beck Depression Inventory-II: A comprehensive review*. Braz. J. Psychiatry 2013; 35(4): 416–431. [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-44462013000400416&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462013000400416&lng=en&tlng=en).
55. Spangaro M, Bosia M, Bechi M, Buonocore M, Cocchi F, Guglielmino C i wsp. *Neurobiology of cognitive remediation in schizophrenia: Effects of EAAT2 polymorphism*. Schizophr. Res. 2018; 202: 106–110. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2018.06.059>.
56. Rodek P, Kowalczyk M, Kowalski J, Owczarek A, Choręza P, Kucia K. *Association study of the SLC1A2 (rs4354668), SLC6A9 (rs2486001), and SLC6A5 (rs2000959) polymorphisms in major depressive disorder*. J. Clin. Med. 2022; 11(19): 5914. <https://www.mdpi.com/2077-0383/11/19/5914>.
57. Buchy L, Cadenhead KS, Cannon TD, Cornblatt BA, McGlashan TH, Perkins DO i wsp. *Substance use in individuals at clinical high risk of psychosis*. Psychol. Med. 2015; 45(11): 2275–2284. [https://www.cambridge.org/core/product/identifer/S0033291715000227/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifer/S0033291715000227/type/journal_article).
58. Messer T, Lammers G, Müller-Siecheneder F, Schmidt RF, Latifi S. *Substance abuse in patients with bipolar disorder: A systematic review and meta-analysis*. Psychiatry Res. 2017; 253: 338–350. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165178116318534>.
59. Fernandes GS, Spiers A, Vaidya N, Zhang Y, Sharma E, Holla B i wsp. *Adverse childhood experiences and substance misuse in young people in India: Results from the multisite cVEDA cohort*. BMC Public Health 2021; 21(1): 1920. <https://bmcpublichealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12889-021-11892-5>.
60. Barry AE, King J, Sears C, Harville C, Bondoc I, Joseph K. *Prioritizing alcohol prevention: Establishing alcohol as the gateway drug and linking age of first drink with illicit drug use*. J. Sch. Health 2016; 86(1): 31–38. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/josh.12351>.

61. Kirby T, Barry AE. *Alcohol as a gateway drug: A study of US 12th graders*. J. Sch. Health 2012; 82(8): 371–379. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1746-1561.2012.00712.x>.
62. Cappelli C, Ames SL, Xie B, Pike JR, Stacy AW. *Acceptance of drug use mediates future hard drug use among at-risk adolescent marijuana, tobacco, and alcohol users*. Prev. Sci. 2021; 22(5): 545–554. <https://link.springer.com/10.1007/s11121-020-01165-9>.
63. Stojakovic A, Ahmad SM, Lutfy K. *Alterations of amphetamine reward by prior nicotine and alcohol treatment: The role of age and dopamine*. Brain Sci. 2021; 11(4): 420. <https://www.mdpi.com/2076-3425/11/4/420>.
64. Weinberger AH, Platt J, Esan H, Galea S, Erlich D, Goodwin RD. *Cigarette smoking is associated with increased risk of substance use disorder relapse*. J. Clin. Psychiatry 2017; 78(02): e152–160. <http://www.psychiatrist.com/jcp/article/pages/2017/v78n02/v78n0203.aspx>.
65. Berg CJ, Wen H, Cummings JR, Ahluwalia JS, Druss BG. *Depression and substance abuse and dependency in relation to current smoking status and frequency of smoking among non-daily and daily smokers*. Am. J. Addict. 2013; 22(6): 581–589. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1521-0391.2013.12041.x>.
66. Rajabi A, Dehghani M, Shojaei A, Farjam M, Motevalian SA. *Association between tobacco smoking and opioid use: A meta-analysis*. Addict. Behav. 2019; 92: 225–235. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306460318303009>.
67. McEachin RC, Saccone NL, Saccone SF, Kleyman-Smith YD, Kar T, Kare RK i wsp. *Modeling complex genetic and environmental influences on comorbid bipolar disorder with tobacco use disorder*. BMC Med. Genet. 2010; 11(1): 14. <http://bmcmmedgenet.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2350-11-14>.
68. Howard MO, Kivlahan D, Walker RD. *Cloninger's tridimensional theory of personality and psychopathology: Applications to substance use disorders*. J. Stud. Alcohol. 1997; 58(1): 48–66. <https://www.jsad.com/doi/10.15288/jsa.1997.58.48>.
69. Teh LK, Izuddin AF, M H FH, Zakaria ZA, Salleh MZ. *Tridimensional personalities and polymorphism of dopamine D2 receptor among heroin addicts*. Biol. Res. Nurs. 2012; 14(2): 188–196. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1099800411405030>.
70. Milivojevic D, Milovanovic SD, Jovanovic M, Svrakic DM, Svrakic NM, Svrakic SM i wsp. *Temperament and character modify risk of drug addiction and influence choice of drugs*. Am. J. Addict. 2012; 21(5): 462–467. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1521-0391.2012.00251.x>.
71. Eisenberg E, Cohen D, Lawental E, Pud D. *Personality traits and sensitivity to pain in male chronic opioid addicts*. J. Opioid Manag. 2007; 3(4): 225. <http://www.wmpllc.org/ojs/index.php/jom/article/view/1020>.
72. Zaaier ER, Bruijijel J, Blanken P, Hendriks V, Koeter MWJ, Kreek MJ i wsp. *Personality as a risk factor for illicit opioid use and a protective factor for illicit opioid dependence*. Drug Alcohol Depend. 2014; 145: 101–105. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376871614018456>.
73. Foulds J, Newton-Howes G, Guy NH, Boden JM, Mulder RT. *Dimensional personality traits and alcohol treatment outcome: A systematic review and meta-analysis*. Addiction 2017; 112(8): 1345–1357. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/add.13810>.
74. Matsumoto Y, Suzuki A, Ishii G, Oshino S, Otani K, Goto K. *The -181 A/C polymorphism in the excitatory amino acid transporter-2 gene promoter affects the personality trait of reward dependence in healthy subjects*. Neurosci. Lett. 2007; 427(2): 99–102. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304394007010002>.
75. Tsvetkov E, Shin RM, Bolshakov VY. *Glutamate uptake determines pathway specificity of long-term potentiation in the neural circuitry of fear conditioning*. Neuron 2004; 41(1): 139–151. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896627303008006>.

- 
76. Scofield MD, Kalivas PW. *Astrocytic dysfunction and addiction*. *Neuroscientist* 2014; 20(6): 610–622. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1073858413520347>.
  77. Schwarz E, Maukonen J, Hyytiäinen T, Kieseppä T, Orešič M, Sabunciyar S i wsp. *Analysis of microbiota in first episode psychosis identifies preliminary associations with symptom severity and treatment response*. *Schizophr. Res.* 2018; 192: 398–403.

Adres: Piotr Podwalski  
Klinika Psychiatrii, Pomorski Uniwersytet Medyczny  
71-460 Szczecin, ul. Broniewskiego 26  
e-mail: piotr.podwalski@pum.edu.pl

Otrzymano: 16.03.2023  
Zrecenzowano: 4.08.2023  
Otrzymano po poprawie: 28.08.2023  
Przyjęto do druku: 28.08.2023

## ANEKS – TABELE UZUPEŁNIAJACE

TABELA DODATKOWA 1: Sondy użyte w badaniu.

Gen	VIC/AM	Sekwencja	Nomenklatura NCBI SNP	ID
SLC1A2	T/G	GCGCGTGTGCGGGTGTGTGCGGCC[T/G] GGGGAGCGGGTGGAGGCCGCTGCGC	rs4354668	C_27142767_20

TABELA DODATKOWA 2: Ocena normalności rozkładów wartości zmiennych ciągłych w grupach rozróżnionych przez wariant rs4354668.

Zmienna	G/G <i>p</i> (W) <i>n</i> = 21	T/G <i>p</i> (W) <i>n</i> = 57	T/T <i>p</i> (W) <i>n</i> = 47
Wiek	0.550 (0.962)	0.174 (0.970)	0.205 (0.967)
BMI	0.089 (0.921)	0.170 (0.970)	< 0.001 (0.819)
Papierosy/dzień	< 0.001 (0.417)	< 0.001 (0.298)	< 0.001 (0.462)
Godziny wysiłku/tydzień	0.214 (0.940)	< 0.001 (0.849)	< 0.001 (0.870)
Liczba rodzeństwa	0.001 (0.800)	< 0.001 (0.794)	< 0.001 (0.733)
AUDIT	0.171 (0.935)	< 0.001 (0.833)	0.005 (0.926)
DUDIT	< 0.001 (0.600)	< 0.001 (0.439)	< 0.001 (0.193)
BDI	0.058 (0.911)	0.001 (0.923)	< 0.001 (0.883)

*n* = rozmiar grupy; *W* – Statystyka *W*; *p* – wartość *p*; BMI – body mass index; AUDIT – wynik Alcohol Use Disorders Identification Test; DUDIT – wynik Drug Use Disorder Identification Test; BDI – wynik Beck Depression Inventory.

TABELA DODATKOWA 3: Porównanie częstości dodatkowych zmiennych kategorycznych w grupach rozróżnionych na podstawie wariantów rs4354668.

Zmienna	GG <i>n</i> = 21	% GG	TG <i>n</i> = 57	% TG	TT <i>n</i> = 47	% TT	$\chi^2$	<i>p</i>
Zamieszkanie z rodziną	9	42.86	21	36.84	17	36.17	0.302	0.860
Rodzina kompletna	19	90.48	46	80.70	41	87.23	-	0.565
Oboje żyjących rodziców	21	100	53	92.98	46	97.87	-	0.394
Rodzic mieszkający za granicą	0	0.00	8	14.04	6	12.77	-	0.219
Rodzic pracujący za granicą	2	9.52	10	17.54	7	14.89	-	0.715
Rodzic bezrobotny	2	9.52	12	21.05	6	12.77	-	0.394
Brak rodzeństwa	2	9.52	13	22.81	6	12.77	-	0.300

*dalszy ciąg tabeli na następnej stronie*



Niedoczynność tarczycy	3	14.29	9	15.79	5	10.64	-	0.780
Zespół jelita drażliwego	2	9.52	4	7.02	1	2.13	-	0.282
Astma	1	4.76	3	5.26	2	4.26	-	1.000
Trądzik	3	14.29	10	17.54	9	19.15	-	0.952
Otyły krewny	6	28.57	12	21.05	6	12.77	-	0.259
Stan przedcukrzycowy u krewnego	3	14.29	2	3.51	4	8.51	-	0.234
Cukrzyca typu II u krewnego	2	9.52	5	8.77	2	4.26	-	0.650
Hipercholesterolemia u krewnego	8	38.10	14	24.56	11	23.40	1.795	0.408
Hipertrigliceridemia u krewnego	2	9.52	6	10.53	4	8.51	-	1.000
Depresja u krewnego	2	9.52	9	15.79	13	27.66	-	0.180
Alkoholizm u krewnego	2	9.52	10	17.54	7	14.89	-	0.715
Jakiegokolwiek zaburzenie psychiczne u krewnego	3	14.29	17	29.82	17	36.17	3.338	0.188
Wykształcenie ponadpodstawowe	20	95.24	52	91.23	41	87.23	-	0.667
Wykształcenie wyższe	1	4.76	5	8.77	6	12.77	-	-
Wykształcenie podstawowe matki	1	4.76	1	1.75	0	0	-	0.903
Wykształcenie ponadpodstawowe matki	4	19.05	12	21.05	9	19.15	-	-
Wykształcenie wyższe niepełne matki	1	4.76	5	8.77	4	8.51	-	-
Wykształcenie wyższe matki	15	71.43	39	68.42	34	72.34	-	-
Wykształcenie podstawowe ojca	1	4.76	1	1.75	1	2.13	-	0.884
Wykształcenie ponadpodstawowe ojca	3	14.29	9	15.79	10	21.28	-	-
Wykształcenie wyższe niepełne ojca	5	23.81	11	19.30	7	14.89	-	-
Wykształcenie wyższe ojca	12	57.14	36	63.16	29	61.7	-	-

*n* = rozmiar grupy;  $\chi^2$  – Chi kwadrat; *p* = wartość *p*; RHDA – ryzykowne lub szkodliwe picie alkoholu; RHDU – ryzykowne lub szkodliwe używanie narkotyków; RD – ryzyko depresji

TABELA DODATKOWA 4: Ocena normalności rozkładów wartości zmiennych ciągłych w grupach rozróżnionych na podstawie występowania ryzykowego lub szkodliwego używania narkotyków.

Zmienna	nie-RHDU $p$ ( $W$ ) $n = 112$	RHDU $p$ ( $W$ ) $n = 13$
Wiek	0.094 (0.980)	0.337 (0.930)
BMI	< 0.001 (0.896)	0.558 (0.947)
Papierosy/dzień	< 0.001 (0.290)	0.011 (0.817)
Godziny wysiłku/tydzień	< 0.001 (0.859)	0.072 (0.880)
Liczba rodzeństwa	< 0.001 (0.803)	< 0.001 (0.688)
AUDIT	< 0.001 (0.877)	0.941 (0.974)
BDI	< 0.001 (0.901)	0.690 (0.956)

RHDU – ryzykowne lub szkodliwe używanie narkotyków  $n$  = rozmiar grupy;  $W$  – statystyka  $W$ ;  $p$  – wartość  $p$ ; BMI – body mass index; AUDIT – wynik Alcohol Use Disorders Identification Test; DUDIT – wynik Drug Use Disorder Identification Test; BDI – wynik Beck Depression Inventory.

TABELA DODATKOWA 5: Porównanie częstości dodatkowych zmiennych kategorycznych i ich procentowych udział w grupach rozróżnianych na podstawie występowania ryzykowego lub szkodliwego używania narkotyków.

Zmienna	nie-RHDU $n = 112$	%	RHDU $n = 13$	%	OR	95% CI	$p$
Zmieszkanie z rodziną	45	40.18	2	15.38	0.273	0.028 – 1.340	0.129
Rodzina kompletna	96	85.71	10	76.92	0.559	0.124 – 3.496	0.416
Oboje żyjących rodziców	108	96.43	12	92.31	0.448	0.040 – 23.691	0.428
Rodzic zamieszkały za granicą	12	10.71	2	15.38	1.509	0.146 – 8.291	0.639
Rodzic pracujący za granicą	18	16.07	1	7.69	0.437	0.010 – 3.322	0.690
Rodzic bezrobotny	19	16.96	1	7.69	0.410	0.009 – 3.099	0.691
Brak rodzeństwa	18	16.07	3	23.08	1.560	0.252 – 6.912	0.457
Zespół jelita drażliwego	6	5.36	1	7.69	1.467	0.030 – 13.823	0.546
Astma	5	4.46	1	7.69	1.773	0.035 – 17.915	0.490
Trądzik	21	18.75	1	7.69	0.363	0.008 – 2.721	0.462
Otyły krewny	20	17.86	4	30.77	2.031	0.415 – 8.223	0.273
Stan przedcukrzycowy u krewnego	7	6.25	2	15.38	2.697	0.245 – 16.794	0.236
Cukrzyca typu II u krewnego	7	6.25	2	15.38	2.697	0.245 – 16.794	0.236
Hipercholesterolemia u krewnego	29	25.89	4	30.77	1.270	0.265 – 4.99	0.743
Hipertrigliceridemia u krewnego	11	9.82	1	7.69	0.767	0.016 – 6.214	1.000

dalszy ciąg tabeli na następnej stronie

Depresja u krewnego	21	18.75	3	23.08	1.297	0.211 – 5.657	0.714
Alkoholizm u krewnego	16	14.29	3	23.08	1.790	0.286 – 8.041	0.416
Jakiegokolwiek zaburzenie psychiczne u krewnego	32	28.57	5	38.46	1.557	0.372 – 5.885	0.525
Wykształcenie ponadpodstawowe	102	91.07	11	84.62	-	-	0.362
Wykształcenie wyższe	10	8.93	2	15.38	-	-	-
Wykształcenie podstawowe matki	2	1.79	0	0	-	-	0.826
Wykształcenie ponadpodstawowe matki	22	19.64	3	23.08	-	-	-
Wykształcenie wyższe niepełne matki	10	8.93	0	0	-	-	-
Wykształcenie wyższe matki	78	69.64	10	76.92	-	-	-
Wykształcenie podstawowe ojca	3	2.68	0	0	-	-	1.000
Wykształcenie ponadpodstawowe ojca	20	17.86	2	15.38	-	-	-
Wykształcenie wyższe niepełne ojca	21	18.75	2	15.38	-	-	-
Wykształcenie wyższe ojca	68	60.71	9	69.23	-	-	-

$n$  = rozmiar grupy; OR – ilorazy szans; 95% CI – 95% przedział ufności;  $p$  – wartość  $p$ ; RHDA – ryzykowne lub szkodliwe picie alkoholu, RHDU – ryzykowne lub szkodliwe używanie narkotyków RD – ryzyko depresji.

TABELA DODATKOWA 6: Podsumowanie wartości uogólnionej inflacji wariancji współczynników (GVIF)

Predyktor	GVIF	df	GVIF <sup>(1/(2*df))</sup>
Wariant rs4354668	1.299	2	1.068
Zdiagnozowane zaburzenie psychiczne	1.065	1	1.032
Status palenia	1.338	1	1.157
RHDA	1.129	1	1.062

wartości GVIF<sup>(1/(2\*df))</sup> poniżej 2 wskazują, że w modelu nie występuje wielowspółliniowość predyktorów.. RHDA – ryzykowne lub szkodliwe picie alkoholu; df – stopnie swobody.

TABELA DODATKOWA 7: Wartości AIC modeli wybranych przez algorytm *glmulti*, które nie różniły się od modeli z najwyższą wartością AIC o więcej niż 2.

Predyktory	AIC
Wariant rs4354668 + zdiagnozowane zaburzenie psychiczne + status palenia + wynik AUDIT	57.461
<b>Wariant rs4354668 + status palenia + wynik AUDIT</b>	<b>57.557</b>
Wariant rs4354668 + status palenia + wynik AUDIT + wynik BDI	58.007
Wariant rs4354668 + zdiagnozowane zaburzenie psychiczne + status palenia + wynik AUDIT + wynik BDI	58.703
Wariant rs4354668 + status palenia + wynik AUDIT + papierosy/dzień	59.314
Wariant rs4354668 + zdiagnozowane zaburzenie psychiczne + status palenia + wynik AUDIT + papierosy/dzień	59.348
Wariant rs4354668 + zdiagnozowane zaburzenie psychiczne + RHDA + status palenia + wynik AUDIT	59.389
Wariant rs4354668 + RHDA + status palenia + wynik AUDIT+ wynik BDI	59.398

AIC – Kryterium informacyjne Akaike; AUDIT – Alcohol Use Disorders Identification Test; BDI – Beck Depression Scale; RHDA – ryzykowne lub szkodliwe picie alkoholu. Najlepiej dopasowany model został **pogrubiony**.

TABELA DODATKOWA 8: Podsumowanie wartości uogólnionej inflacji wariancji współczynników (GVIF) dla najlepiej dopasowanego modelu

Predyktor	GVIF	df	GVIF <sup>(1/(2*df))</sup>
Wariant rs4354668	1.320	2	1.072
Status palenia	1.307	1	1.143
Wynik AUDIT	1.021	1	1.011

wartości GVIF<sup>(1/(2\*df))</sup> poniżej 2 wskazują, że w modelu nie występuje wielowspliniowość. df – stopnie swobody. AUDIT – Alcohol Use Disorders Identification Test.