

Aus der
Klinik und Poliklinik Psychiatrie und Psychotherapie
Ludwig-Maximilians-Universität München



**Epigenetische Veränderungen in peripheren Blutzellen
von alkoholabhängigen Männern während einer
Entzugstherapie**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Lorena Michelle Werz

aus
Riedlingen

Jahr
2023

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Erstes Gutachten:	PD Dr. rer. nat. Peter Zill
Zweites Gutachten:	Prof. Dr. med. Andreas Zwergal
Drittes Gutachten:	Prof. Dr. med. Markus Backmund
Promovierte Mitbetreuer:	Prof. Dr. med. Gabriele Koller Dr. Peggy Schmidt
Dekan:	Prof. Dr. med. Thomas Gudermann
Tag der mündlichen Prüfung:	14.11.2023

Inhaltsverzeichnis

<i>Abkürzungsverzeichnis</i>	7
1. Einleitung	8
1.1 Begriffe und Definitionen	9
1.2 Epidemiologie von Alkoholabhängigkeit	11
1.3 Ätiologie	13
1.4 Diagnostik	14
1.5 Therapie	15
1.6 Gesundheitliche Folgen von Alkoholabhängigkeit	16
1.7 Wirtschaftlicher Aspekt	20
1.8 Epigenetik	21
1.8.1 DNA-Methylierungen	22
1.8.2 Histon-Modifizierungen	23
1.9 Genetik, Epigenetik und Alkohol	24
1.9.1 Alkohol-Dehydrogenase	24
1.9.2 Methylierung von ADH1B	26
2. Zielsetzung	28
3. Material und Methoden	29
3.1 Studiendesign	29
3.2 Ein- und Ausschlusskriterien	29
3.2.1 Patienten	30
3.2.2 Kontrollprobanden	31
3.3 Untersuchungsablauf	31
3.3.1 Patienten	31
3.3.2 Kontrollprobanden	32
3.4 Fragebögen	32
3.4.1 CTQ	33
3.4.2 FHAM	34
3.4.3 IRQ-G	35
3.4.4 BIS-15	35
3.4.5 SSAGA	36
3.5 Laboranalysen	37
3.5.1 DNA-Präparation	37
3.5.2 Analyse der CpG-Methylierung im Promotorbereich des ADH1B-Gens	37
3.5.3 Genotypisierung des SNP rs1229984 im ADH1B-Gen	39

3.6	Statistische Auswertung	39
4.	<i>Ergebnisse</i>	41
4.1	Drop-Outs	41
4.2	Demographische Beschreibung	41
	4.2.1 Patienten	41
	4.2.2 Kontrollen und Vergleiche	43
4.3	Alkoholkonsum der Stichprobe	43
4.4	Auswertung der Fragebögen	46
	4.4.1 CTQ	46
	4.4.2 FHAM	47
	4.4.3 IRQ	48
	4.4.4 BIS-15	48
	4.4.5 SSAGA	49
4.5	Auswertung der Biomarker	49
	4.5.1 Korrelation zwischen Biomarker und demographischen Einflussvariablen sowie Alkoholkonsum	51
	4.5.2 Korrelation zwischen Biomarker und Ergebnisse der Fragebögen	56
4.6	Analyse des Polymorphismus	58
5.	<i>Diskussion</i>	60
5.1	Zusammenfassung der Hauptergebnisse	60
5.2	Diskussion der Ergebnisse	61
	5.2.1 Drop-Outs	61
	5.2.2 Stichprobenbeschreibung	61
	5.2.3 Alkoholkonsum	62
	5.2.4 Fragebögen	63
	5.2.5 Biomarker	67
	5.2.6 Polymorphismus	71
5.3	Ausblick	72
5.4	Limitationen	73
6.	<i>Zusammenfassung</i>	75
7.	<i>Abstract</i>	76
8.	<i>Literaturverzeichnis</i>	77
9.	<i>Abbildungsverzeichnis</i>	84
10.	<i>Tabellenverzeichnis</i>	85

11.	<i>Anhang</i>	86
11.1	Einverständniserklärung.....	86
11.2	Fragebögen.....	90
	11.2.1 BIS-15.....	90
	11.2.2 IRQ.....	91
	11.2.3 CTQ.....	93
	11.2.4 FHAM.....	95
12.	<i>Affidavit</i>	99

Danksagung

Mein Dank gilt besonders PD Dr. rer. nat. Peter Zill sowie Prof. Dr. med. Gabriele Koller, die diese Arbeit erst ermöglicht und mich bei jeder Frage und jedem Problem tatkräftig unterstützt haben. Ich schätze die gemeinsame Arbeit auf Augenhöhe und das Vertrauen, dass mir durch den Freiraum entgegengebracht wurde.

Außerdem danke ich herzlich meinen Eltern, Slavica und Michael Werz, die mir das Studium erst ermöglichten und ohne die ich diese und viele weitere Erfahrungen nicht hätte machen dürfen.

Zum Schluss danke ich Martin Hason, meinem Partner und besten Freund, für die vielen aufbauenden Worte in Zeiten von Frustration, für sein Durchhaltevermögen sowie für die Empathie, die er mir in dieser Phase meines Lebens entgegenbrachte.

Abkürzungsverzeichnis

ADH	Alkohol-Dehydrogenase
ALDH	Aldehyd-Dehydrogenase
AUDIT	Alcohol Use Disorder Identification Test
BIS-15	Barrat Impulsiveness Scale, 15 Items
CDT	Carbohydrate-Deficient Transferrin
CTQ	Childhood Trauma Questionnaire
DALY	Disability Adjusted Life Years
DNA	deoxyribonucleic acid
EtG	Ethylglukuronid
EtS	Ethylsulfat
FHAM	Family History Assessment Module
IARC	International Agency for Research on Cancer
MCV	Mean Corpuscular Volume
RNA	ribonucleic acid
SNP	single nucleotide polymorphism
SSAGA	Semi-Structured Assessment for the Genetics of Alcoholism
WHO	World Health Organization
YLD	Years Lost due to Disability
YLL	Years of Life Lost

1. Einleitung

Alkoholabhängigkeit ist eine Krankheit, mit der man viele Bezugspunkte im Alltag hat. Manche kennen eine betroffene Person persönlich, andere wiederum sehen nur den Betrunkenen, der in der Bushaltestelle auf der Bank eingeschlafen ist oder durch die Straßen torkelt. Oft folgen ähnliche Gedanken wie diese die Szene:

„Ist das eklig! Hoffentlich kommt der nicht in meine Richtung.“

„Kann diese Person sich nicht zusammenreißen?“

„Muss das hier sein?“

Viele Menschen sind von Alkohol abhängig, dennoch ist das ein Tabuthema in unserer Gesellschaft. Generell werden Menschen mit Suchterkrankungen stark stigmatisiert und ausgegrenzt. Die Gesellschaft sieht die Alkoholabhängigkeit als ein „Willensproblem“. Man „könne doch einfach aufhören“. Dabei wird völlig außer Acht gelassen, dass Sucht eine Krankheit ist und primär nichts mit Willensstärke zu tun hat.

Dabei ist Alkohol an sich nicht tabuisiert. Alkoholische Getränke sind in weiten Teilen Europas Teil des kulturellen Guts. Viele Feste leben erst durch die Musik, gute Laune und den Alkohol, wie es beispielsweise bei Volksfesten der Fall ist. Zu trinken ist demnach normal. Tatsächlich ist es so, dass wenn sich jemand dagegen entscheidet zu trinken, diese Person sich oft Unverständnis entgegenstellen muss. Sobald der Konsum allerdings die Schwelle zur Sucht überschreitet, folgt Ablehnung von Seiten der Gesellschaft. Wieso Sucht stigmatisiert ist, ist komplex und beruht zum großen Teil auf lange in der Gesellschaft lebende Vorurteile gegenüber Suchtkranken. Durch die starke Stigmatisierung der Alkoholabhängigkeit fühlen sich viele Betroffene allein und verheimlichen ihren Konsum, um gar nicht erst als Alkoholkranker aufzufallen. Dies kann in einem Teufelskreis enden, denn die Betroffenen sondern sich ab und schämen sich für ihre Krankheit. Vielleicht werden sie von der Familie ausgegrenzt, wenn diese davon erfährt, oder sie verlieren ihren Job. Jedenfalls erfahren sie starke Ausgrenzung, die auf den Betroffenen zurückfällt. Denn die Betroffenen leben ebenso in dieser sie verachtenden Gesellschaft. Sie haben selbst diese Vorurteile über Alkoholiker. Durch die Scham und ihr daraus

resultierendes Verhalten, nämlich dem „unkontrollierten“, starken Alkoholkonsum, erfüllen sie diese Vorurteile und die Gesellschaft sieht sich bestätigt. Durch die Isolation und Depression verstärkt sich der Konsum. Schnell befindet man sich in einer Schleife, die nicht nur die Lebensqualität einschränkt, sondern auch tödlich enden kann (1).

Es erfordert ein Umdenken in der Gesellschaft, Sucht nicht mehr als Charakterschwäche anzusehen. Nur wenn Betroffene ein starkes Hilfesystem haben, können sie die Unterstützung bekommen, die sie benötigen. Doch ein Umdenken geschieht nicht von heute auf morgen. Es ist ein gradueller Prozess, der ebenso ein Zutun der Wissenschaft benötigt. Wird verstanden, dass Sucht mehrere Komponenten hat, darunter eine genetische, wird die Schuld vom Individuum gelöst.

1.1 Begriffe und Definitionen

Folgende Begriffe werden in dieser Arbeit mehrfach verwendet und sollen zum besseren Verständnis an dieser Stelle definiert werden.

Akute Intoxikation

Die akute Intoxikation (ICD-10-Code: F10.0) ist definiert durch eine Bewusstseinsstrübung mit Einschränkungen der kognitiven Leistungen sowie des Verhaltens. Die zeitliche Dauer der Symptomatik ist begrenzt (2).

Schädlicher Gebrauch

Davon abzugrenzen ist laut ICD-10 der schädliche Gebrauch von Alkohol (Code F10.1). Dies liegt vor, wenn durch den Konsum die physische oder psychische Gesundheit verletzt wird, ohne dass die Kriterien für eine Sucht erfüllt sind, beispielsweise durch eine Hepatitis oder eine sich anschließende depressive Episode (2).

Alkoholabhängigkeit

Alkoholabhängigkeit beschreibt die Sucht nach Alkohol. Dabei existieren genaue Kriterien, ab wann Verhalten als süchtig beschrieben werden kann. Nach dem ICD-10 (Code F10.2) ist sie gekennzeichnet durch folgende Punkte:

- Es besteht ein starker Wunsch, Alkohol zu konsumieren.
- Es kommt zu einer reduzierten Kontrollfähigkeit; Dies bezieht sich auf Beginn, Ende und Menge des Konsums.
- Toleranzentwicklung: Es werden immer größere Mengen benötigt, um den gewünschten Effekt zu erzielen.
- Entzugerscheinungen werden durch einen Abstinenzversuch ausgelöst; Durch Konsum von Alkohol bessern sich die Symptome.
- Andere Interessen werden zunehmend vernachlässigt, um Alkohol zu konsumieren.
- Trotz deutlicher körperlicher oder psychischer Schäden wird weiter konsumiert.

Es müssen mindestens drei dieser Punkte innerhalb eines Jahres vorliegen, um mit Alkoholabhängigkeit diagnostiziert zu werden (2).

Risikoarmer Konsum

Nun stellt sich die Frage, wie viel Alkohol zu viel ist. Wer Alkohol trinkt, setzt seinem Körper immer einem Risiko aus. Die Abbauprodukte von Alkohol sind stark reaktionsfreudig und da Alkohol leicht in Zellen eindringen kann, kann dieser jedem Organ schaden (siehe Kapitel 1.6). Die IARC (*International Agency for Research on Cancer* der WHO) klassifiziert Alkohol sogar als kanzerogen (3). Einen gesunden Alkoholkonsum gibt es demnach nicht. Allerdings kann man das Risiko geringhalten. In Deutschland beträgt die Obergrenze für Frauen pro Tag ein Standardglas Alkohol, bei Männern zwei Standardgläser. Ein Standardglas ist definiert als ein alkoholisches Getränk mit zehn bis zwölf Gramm reinem Alkohol (4, 5). In Abbildung 1 ist dargestellt, wie unterschiedliche alkoholische Getränke als Standardgläser aussehen. Dabei fällt auf, dass bei manchen Getränken ein „gesellschaftliches“ Standardglas anders aussieht. So bekommt man in Bayern, wenn man ein Bier bestellt, standardmäßig 0,5 Liter serviert. Als

Frau wäre man bei dieser Menge Bier schon über der empfohlenen maximalen Menge an Alkohol pro Tag.

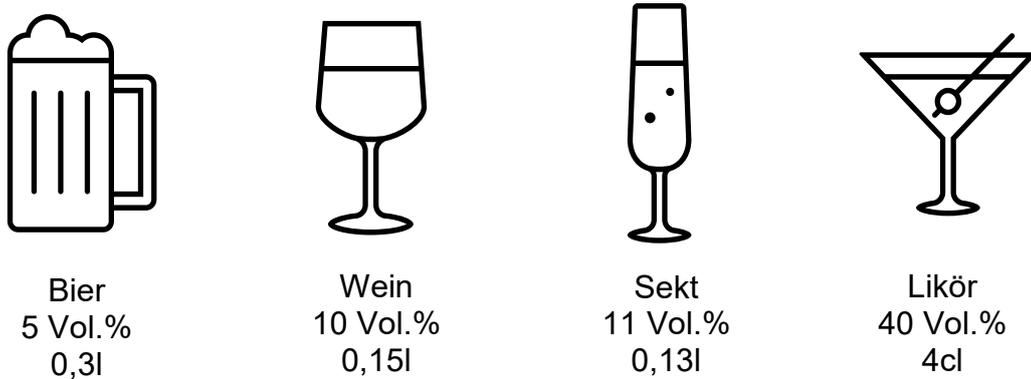


Abbildung 1 Darstellung von alkoholischen Getränken als Standardglas, eigene Darstellung

1.2 Epidemiologie von Alkoholabhängigkeit

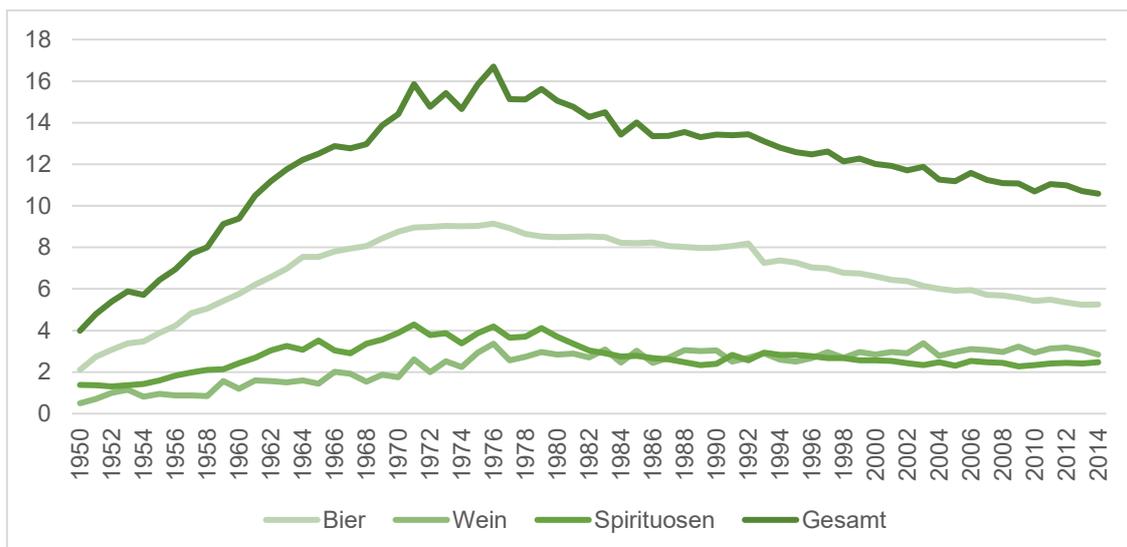


Abbildung 2 Konsum von Reinalkohol in Litern in Deutschland ab 15 Jahren in einem Zeitraum zwischen 1950 und 2014; nach John und Hanke 2017 (6)

In Deutschland hatten 2016 3,5 Prozent der Bevölkerung (5,0 Prozent der Männer und 2,0 Prozent der Frauen) eine Alkoholabhängigkeit. Damit liegt Deutschland nur knapp unter dem EU-Durchschnitt von 3,7 Prozent. Rechnet man zu der Abhängigkeit noch die Anzahl derer hinzu, die einen schädlichen Alkoholkonsum betreiben, waren 2016 9,8 Prozent der Männer und 4,0 Prozent der Frauen betroffen (7). Im Jahr 2014 hatten 7,8 Millionen Menschen im Alter von 18 und 64 Jahren in Deutschland einen riskanten Alkoholkonsum (8). Die Menge an getrunkenem Reinalkohol veränderte sich im Laufe der Zeit. Wie in

Abbildung 2 erkenntlich stieg die Menge konsumierten Alkohols in Deutschland bis etwa 1975 stark an. Seitdem fällt sie langsam wieder ab, wobei 2014 immer noch mit 10,58 Litern weit höhere Mengen konsumiert werden als 1950 mit 3,99 Litern (6). Dieser Trend ist europaweit erkennbar. Dabei fällt auf, dass zwar die Menge an Alkohol insgesamt langsam sinkt, dafür der riskante Alkoholkonsum unter jungen Menschen und Frauen steigt (9).

Die Mortalität von riskantem Alkoholkonsum bzw. -abhängigkeit ist hoch. Jährlich sterben etwa 74.000 Menschen in Deutschland an den Folgen. Interessant ist, dass vor allem die Altersgruppe von 35 bis 64 Jahren betroffen ist, siehe Abbildung 3 (10). Sie zeigt den Anteil in Prozent an allen Todesfällen in Deutschland im Jahr 2019. Dabei wird eine glockenähnliche Form deutlich. Die Anteile der Todesfälle steigen ab etwa 20 Jahren, erreichen mit 40 bis 45 Jahren das Maximum (mit etwa 4,8 Prozent) und fallen schließlich ab (11). Dadurch gehört die Alkoholabhängigkeit zu den führenden Todesursachen der erwerbstätigen Bevölkerung. Die auf Alkohol zurückführbare Mortalität beträgt in dieser Altersspanne 75 Prozent (10).

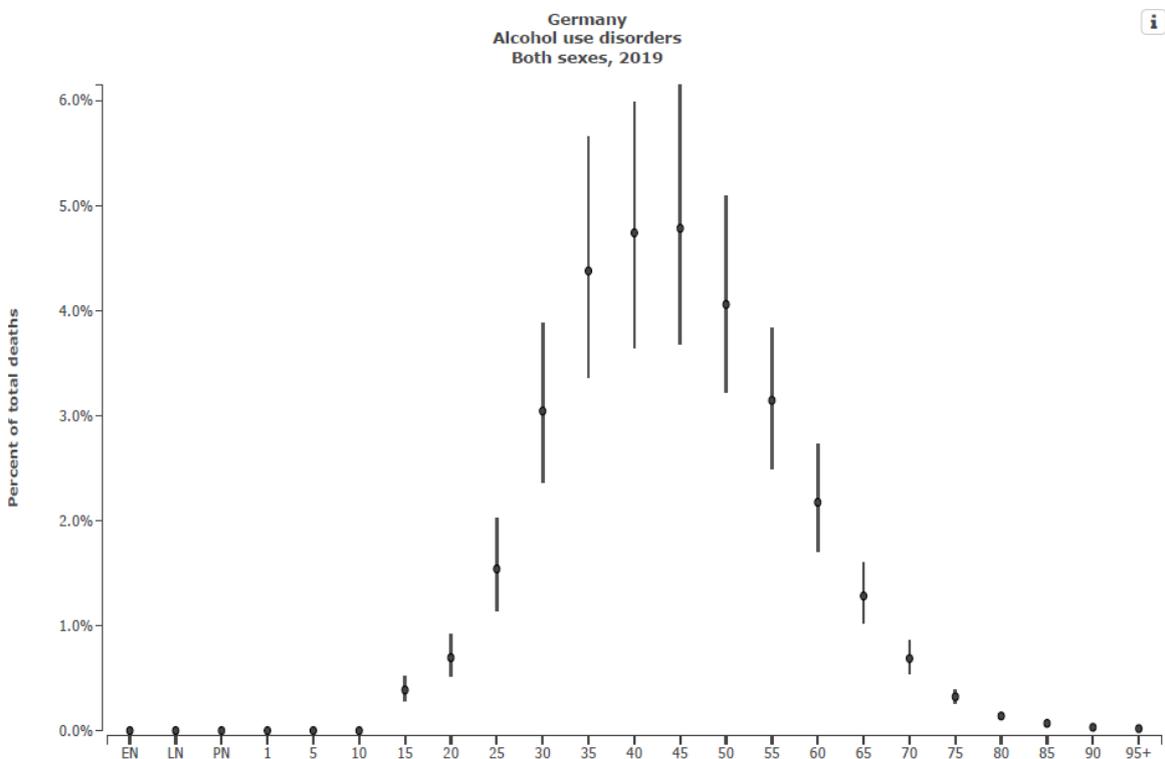


Abbildung 3 Darstellung der Todesfälle verursacht durch alkoholabhängige Störungen in Deutschland im Jahr 2019
 Alter aufgetragen gegen die Anteile der Todesfälle insgesamt in Prozent; Die Punkte stellen die Mittelwerte und die Striche die 95%-Konfidenzintervalle dar. EN = 0-6 Tage, LN = 7-27 Tage, PN = 28-365 Tage (11)

1.3 Ätiologie

Alkoholabhängigkeit kann man mit rein behavioralen Mechanismen nicht erklären, denn nicht jeder Mensch, der Alkohol trinkt, wird abhängig. Alkoholabhängigkeit ist nicht nur fehlende Willensstärke. Sie ist ein multifaktorielles Krankheitsbild. Multifaktoriell bedeutet, dass es nicht nur eine Ursache für die Entstehung einer Krankheit gibt. Oft wird hierbei das bio-psycho-soziale Modell genannt. Es handelt sich um eine Theorie, dass sowohl biologische und psychologische als auch soziale Aspekte in die Ätiologie einer Krankheit einfließen, siehe Abbildung 4 (12).

Zu den sozialen Faktoren gehören beispielsweise eventuelles süchtiges Verhalten der Eltern sowie der Wunsch als Kind und jugendliche Person, zu einer Gruppe dazuzugehören. Lernt ein Kind Abhängigkeit als etwas Normales, weil es das von seinem Elternhaus kennt, ist die Hemmschwelle im späteren Leben hierfür geringer. Außerdem kann das Streben, zu einer Gruppe dazuzugehören, manche aus Gruppenzwang dazu bringen, schon in jungen Jahren in Kontakt mit Alkohol zu kommen. Zu den psychologischen Faktoren zählen die Prinzipien der klassischen und operanten Konditionierung. Wer öfter die Erfahrung macht, dass Alkohol Probleme kurzfristig leichter erscheinen lässt, wird dies nach einiger Zeit unbewusst als feste Lösungsstrategie integrieren, ähnlich dem Pawlow'schen Hund, der schnell gelernt hat, dass die Glocke immer zur Essenszeit läutet. Zusätzlich können Kindheitstraumata, wie Gewalt, Missbrauch und Vernachlässigung, eine Rolle in der Entstehung spielen. (12, 13).

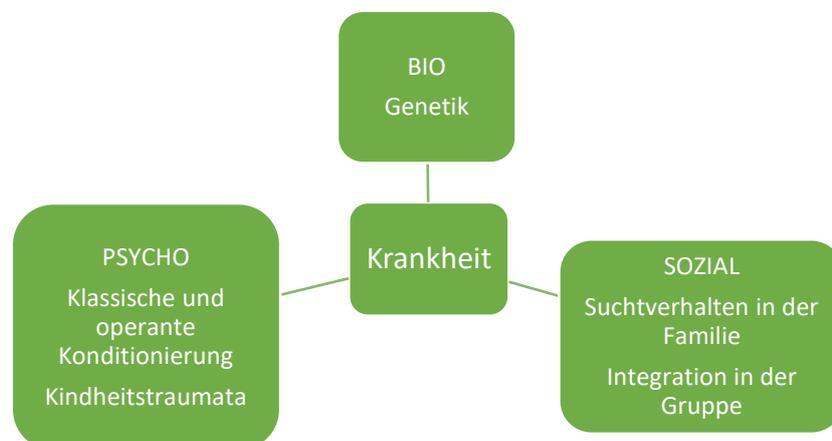


Abbildung 4 Das bio-psycho-soziale Modell der Alkoholabhängigkeit mit Beispielen, eigene Darstellung

Ebenso trägt die Genetik einen großen Teil zur Entstehung bei. Eine Schwierigkeit bei der Erfassung des genetischen Anteils an der Ätiologie kann sein, dass Eltern und Kinder zwar Gene teilen, aber gleichzeitig mit ähnlichen Umwelteinflüssen leben. Daher ist es schwierig genau sagen zu können, ob die Kinder alkoholabhängiger Eltern primär aus genetischen Gründen oder aus sozialen Gründen erkrankt sind. Um dieses Problem zu lösen, werden Zwillingsstudien und Studien mit adoptierten Kindern durchgeführt. In einer Zwillingsstudie von Liu et al. 2004 konnte eine Vererbbarkeit von ca. 50 Prozent festgestellt werden (14). Die Studie von Heath et al. 1997, die ebenso an Zwillingen durchgeführt wurde, ging von einer potentiellen Vererbbarkeit von bis zu zwei Dritteln aus (15). Somit ist die Genese einer Alkoholabhängigkeit weit komplexer als von den meisten angenommen. Denn man wird nicht süchtig, wenn man nie Alkohol trinkt, selbst wenn man eine genetische Veranlagung für eine Abhängigkeit hat.

1.4 Diagnostik

Die Diagnostik von alkoholbedingten Störungen kann sich zum Teil schwierig gestalten, da man auf die Angaben des Patienten angewiesen ist. Dies ist in der Psychiatrie generell oft der Fall. Anders als in beispielsweise der Inneren Medizin, können keine spezifischen Bluttests oder Bildgebungen angefertigt werden, welche die sichere Diagnose liefern. Deswegen spielen Fragebögen eine große Rolle. Dabei hat sich vor allem der AUDIT (*Alcohol Use Disorders Identification Test*) bewährt bzw. dessen Kurzform AUDIT-C (16).

Auch wenn keine Diagnose durch reine Bluttests oder dergleichen gestellt werden kann, können sie als Hilfestellung für die Diagnostik eines Alkoholkonsums herangezogen werden. Hierbei sind vor allem die Bestimmung der Alkoholkonzentration in der Atemluft und im Blut (17, 18) sowie EtG (Ethylglukuronid) und EtS (Ethylsulfat) im Urin von Bedeutung (19). Ebenso Marker, wie erhöhte CDT- (*Carbohydrate-Deficient Transferrin*) und MCV- (*Mean Corpuscular Volume*) Werte, können für die Diagnostik eines länger bestehenden Alkoholkonsums verwendet werden (20).

1.5 Therapie

Zur Therapie der Alkoholabhängigkeit muss eine kurzfristige von einer langfristigen Strategie unterschieden werden.

Zur ersten, kurzfristigen Strategie sind besonders Kurzinterventionen von Bedeutung. Diese werden eingesetzt, um akut die Alkoholmenge zu reduzieren oder um den Patienten zu motivieren, abstinent zu werden. Kurzinterventionen sind kurze Gespräche mit maximal 60 Minuten Dauer, die nicht häufiger als fünf Mal geschehen. Diese Strategie ist besonders bei Menschen mit riskantem Konsum wirksam (21, 22). Bei Alkoholabhängigen soll diese Maßnahme angeboten werden, sie ist dennoch weniger wirksam als bei riskantem Konsum. Kurzinterventionen können ebenso den ersten Kontakt zu dem Patienten darstellen, mit dem die weitere Therapie geplant werden soll (22).

Die zweite, langfristige Strategie ist die Entzugsbehandlung. Man unterscheidet zwischen einer körperlichen Entgiftung und einer qualifizierten Entzugsbehandlung. Die körperliche Entgiftung beinhaltet die körperlichen Probleme und Störungen, die mit einem Alkoholentzug einhergehen können. Dies umfasst neurologische Störungen, wie beispielsweise epileptische Anfälle, aber auch das Delir. Bei einer körperlichen Entgiftung werden diese Nebenwirkungen kontrolliert und gelindert. Die qualifizierte Entzugsbehandlung geht einen Schritt weiter. Hier werden nicht nur die körperlichen Symptome behandelt, sondern auch die psychischen sowie internistischen Komorbiditäten, welche oft einhergehen. Ziel ist es, die Bereitschaft zur Abstinenz im Patienten zu bestärken. Qualifizierte Entzugsbehandlungen werden in geeigneten Zentren, oft in Kliniken für Psychiatrie, angeboten (22).

Ein körperlicher Entzug kann mitunter sehr gefährlich für den Patienten sein. Mehrere Nebenwirkungen sind im Entzug beschrieben. Ein sogenanntes einfaches Entzugssyndrom ist gekennzeichnet durch Symptome wie Schwitzen, Tachykardie, Magen-Darm-Beschwerden, Kopfschmerzen, Schlafstörungen, Angst und vermehrte Reizbarkeit. Bei einem komplizierten Entzugssyndrom kommen Delir, epileptische Anfälle, Herzrhythmusstörungen sowie

Elektrolytstörungen hinzu (2, 23, 24). Aus diesem Grund wird die Entzugsbehandlung durch Medikamente unterstützt. Am häufigsten werden Benzodiazepine, zum Beispiel Oxazepam, eingesetzt. Sie lindern die Entzugssymptome und reduzieren die Gefahr eines epileptischen Anfalls oder des Auftretens eines Delirs. Auch Antikonvulsiva, wie Carbamazepin, können eingesetzt werden, um einen epileptischen Anfall zu verhindern. Dennoch ist die Studienlage zu Antikonvulsiva uneinheitlicher als zu Benzodiazepinen (25).

1.6 Gesundheitliche Folgen von Alkoholabhängigkeit

Alkohol ist nicht gesund – das ist weitgehend bekannt. Trotzdem wurden 2016 in Deutschland pro Kopf 13,4 Liter reinen Alkohols konsumiert, Tendenz steigend. 2010 waren es noch 12,9 Liter pro Person. Im Jahr 2016 sind weltweit drei Millionen Menschen an den Folgen von Alkohol gestorben. Das sind 5,3% aller Todesfälle. Zum Vergleich, die Anteile an der Mortalität von Diabetes mellitus (2,8%) und Hypertension (1,6%) sind kleiner. Die *World Health Organization* (WHO) zählt somit den Alkoholkonsum zu den führenden vermeidbaren Ursachen von Tod und Krankheit (7). In Tabelle 1 werden die Krankheiten aufgeführt, die Alkohol kausal beeinflusst. Dabei sieht man, dass nicht nur allgemein bekannte und typische Manifestationen, wie die Leber, aufgeführt sind, sondern ebenso unterschiedliche Krebsarten und übertragbare Krankheiten wie Tuberkulose und HIV. Es legt die Vermutung nahe, dass Alkohol eine immunsuppressive Wirkung haben muss (26, 27).

Tabelle 1 Übersicht der Krankheiten beeinflusst durch Alkohol
modifiziert nach dem Global Status Report on Alcohol and Health der WHO 2018 (7)

Übersicht der Krankheiten und Unfälle, kausal durch Alkohol beeinflusst	
übertragbar	Tuberkulose, HIV/AIDS, Erkrankungen der unteren Atemwege
nicht-übertragbar	Lippen-, Mundhöhlen-, Ösophagus-, Larynx-, Kolon-, Rektum-, Leber-, Mamma-Karzinom, Alkoholabhängigkeit, Epilepsie, hypertensive Herzerkrankung, alkoholische Kardiomyopathie, hämorrhagischer Schlaganfall, Leberzirrhose, Pankreatitis
Unfälle und Selbstverletzung	Verkehrsunfälle, Stürze, Vergiftungen, Ertrinken, Verletzen anderer und sich selbst

Im Folgenden wird kurz über die Rolle von Alkohol in der Entstehung dieser Krankheiten eingegangen. Anschließend wird dargestellt, welches Ausmaß Alkohol als *Burden Of Disease* (dt. „Last einer Krankheit“) trägt.

HIV und Tuberkulose

Alkohol hat eine entspannende Wirkung. Dabei kann die Fähigkeit, kluge Entscheidungen zu treffen, eingeschränkt werden. Mehrere Studien haben gezeigt, dass eine Blutalkoholkonzentration von 0,07 g/dl Sex ohne Kondom sehr viel wahrscheinlicher macht. Je höher die Blutalkoholkonzentration ist, desto eher wird kondomloser Sex praktiziert. Das führt zu vermehrten Neuinfektionen, besonders bei häufig wechselnden Partnern (28, 29). Dazu kommt, dass vor allem starker Alkoholkonsum einen Einfluss auf das Immunsystem hat, indem es zu erhöhten Entzündungsaktivitäten führt und einen direkten Effekt auf die CD4+-Zellen ausübt. Besonders HIV-positive Patienten, die eine antiretrovirale Therapie bekommen, haben unter starkem Alkoholkonsum doppelt so häufig wie Nicht-Trinker eine niedrigere CD4+-Zellzahl. Dies führt zu einem schnelleren Verlauf der Erkrankung (30, 31).

Auch bei Tuberkulose spielt die immunsuppressive Wirkung von Alkohol eine Rolle. So werden unter anderem die Phagozyten daran gehindert, pathogene Keime aufzuspalten (27). Dies trifft auch für das *Mycobacterium tuberculosis* zu, welches für die Entstehung von Tuberkulose verantwortlich ist. Etwa 30% aller Menschen sind mit *M. tuberculosis* infiziert. Dennoch werden nur die Menschen krank, bei denen das Immunsystem das Bakterium nicht erfolgreich bekämpfen kann und ein Grund hierfür ist Alkohol. Starker Alkoholkonsum gehört, neben Unterernährung, Rauchen, Diabetes und HIV, nach der WHO zu den fünf Risikofaktoren für Tuberkulose (32).

Erkrankungen der Leber

Ein Organ, welches automatisch in Verbindung mit Alkohol gebracht wird, ist die Leber. Zurecht, denn chronischer Alkoholkonsum ist die zweitgrößte Ursache für Leberzirrhose nach Hepatitis C (33). Die Schädigung der Leber beruht dabei unter anderem auf vermehrten oxidativen Stress.

Bei diversen biochemischen Reaktionen entstehen im Körper so genannte freie Radikale, was ein normaler Prozess ist. Sie entstehen vor allem in der Atmungskette in den Mitochondrien, aber auch durch die Cytochrom P450 Enzyme. Letzteres ist besonders für die Leber relevant. Freie Radikale sind Moleküle, die instabil und somit sehr reaktionsfreudig sind. Deswegen müssen sie von den Zellen unschädlich gemacht werden, da sie andere Strukturen, wie Proteine oder die DNA (dt. Desoxyribonukleinsäure), schädigen können. Dies geschieht durch so genannte Antioxidantien. Werden nun mehr freie Radikale produziert oder die Abbauprozesse dieser gehemmt, entsteht ein Ungleichgewicht zwischen freien Radikalen und Antioxidantien. Dieser Zustand wird oxidativer Stress genannt. Es entstehen mehr freie Radikale als die Organe vertragen. Genau dieser oxidative Stress ist bei der Entstehung von alkoholischer Leberzirrhose von großer Bedeutung (34). Man konnte zeigen, dass Leberzellen, welche in Kontakt mit Ethanol kommen, mehr freie Radikale produzieren als Zellen, die kein Ethanol bekommen haben. Ethanol-exponierte Zellen gingen öfter in Apoptose und wiesen DNA-Schäden auf, was man durch die Gabe von Antioxidantien stoppen konnte (35).

Allerdings ist oxidativer Stress nicht nur für die Entstehung von Lebererkrankungen relevant. Sehr viele Krankheiten, wie kardiovaskuläre Erkrankungen, Diabetes oder neurogenerative Erkrankungen stehen im Zusammenhang mit vermehrter Bildung von freien Radikalen (34).

Erkrankungen des kardiovaskulären Systems

Oft wird gesagt, dass eine moderate Menge Alkohol protektiv gegen Herz-Kreislauf-Erkrankungen wirkt. Tatsächlich konnte in einer Meta-Analyse von Ronksley et al. 2011 gezeigt werden, dass geringer Alkoholkonsum eine protektive Wirkung für die Mortalität von koronarer Herzerkrankung und Schlaganfall im Vergleich zu Nicht-Trinkern aufwies. Es zeigte sich, dass eine tägliche Menge von 2,5 bis 14,9 Gramm Alkohol eine Reduktion von 14 bis 25 Prozent der kardiovaskulären Mortalität hervorrief. Allerdings konnte auch gezeigt werden, dass ein Alkoholkonsum von mehr als 60 Gramm pro Tag mit einem signifikanten Risikoanstieg verbunden ist (36). Das entspricht in etwa einer Flasche Wein mit 0,75 Liter oder 1,5 Liter Bier pro Tag. In Deutschland werden

unter den Einwohnern, die Alkohol konsumieren, pro Jahr und Kopf 24 Liter reinen Alkohols konsumiert (7). Rechnet man die Gramm pro Tag aus, sind das in etwa 52 Gramm reiner Alkohol pro Tag. Diese Zahl ist nicht weit weg von den 60 Gramm Alkohol pro Tag, die von der oben genannten Meta-Analyse als Grenze angegeben wurden. Das zeigt, dass besonders exzessive Trinker und alkoholabhängige Menschen ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen haben.

Burden Of Disease

Um darzustellen, welchen Effekt eine Krankheit auf das Leben eines Menschen haben kann, wird oft das *Burden Of Disease* Projekt eingesetzt. Die *Burden Of Disease* beschreiben, welche Krankheiten weltweit oder für eine Region das größte Risiko für Tod und Behinderung darstellen. Sie stellen den Unterschied zwischen maximal erreichbarem und tatsächlich erreichtem Lebensalter dar. Die erste *Burden Of Disease* Studie wurde 1990 von der WHO durchgeführt (37). Als Maß dieses Projektes werden oft die DALYs (*Disability-Adjusted Life-Years*) verwendet. Ein DALY ist ein verlorenes gesundes Lebensjahr. Es setzt sich zusammen aus den Jahren, die verloren sind durch vorzeitigen Tod (YLL = Years of Life Lost) und den Jahren verloren durch Behinderung (YLD = Years Lost due to Disability). Also: $DALY = YLL + YLD$ (38). Auch für Alkohol wurde der *Burden Of Disease* erhoben. Im Jahr 2016 berichtete die WHO von 132,6 Millionen DALYs, die durch Alkohol und dessen Folgen weltweit verursacht wurden. Das sind 5,1% aller DALYs von diesem Jahr (7).

Abbildung 5 zeigt die DALYs pro 100.000 Einwohnern Deutschlands pro Altersgruppe. Hier sieht man, ähnlich zu Abbildung 3, einen glockenförmigen Verlauf der Kurve. Man erkennt, dass alkoholassoziierte Störungen nicht nur zu vielen Todesfällen im erwerbsfähigen Alter führen, sondern auch zu Verlusten von gesunden, behinderungsfreien Lebensjahren. In der Altersspanne von 55 – 59 Jahren, wo die Graphik ihr Maximum erreicht, entstehen im Schnitt 807 DALYs pro 100.000 Einwohnern. Auf das ganze Jahr gerechnet sind es in etwa 448 DALYs. Betrachtet man zum Vergleich die DALYs verursacht durch alle psychischen Erkrankungen in Deutschland, kommt man auf etwa 2.075 DALYs.

Damit machen alkoholassoziierte Störungen einen Anteil von ca. 21% von allen psychischen Erkrankungen aus (11).

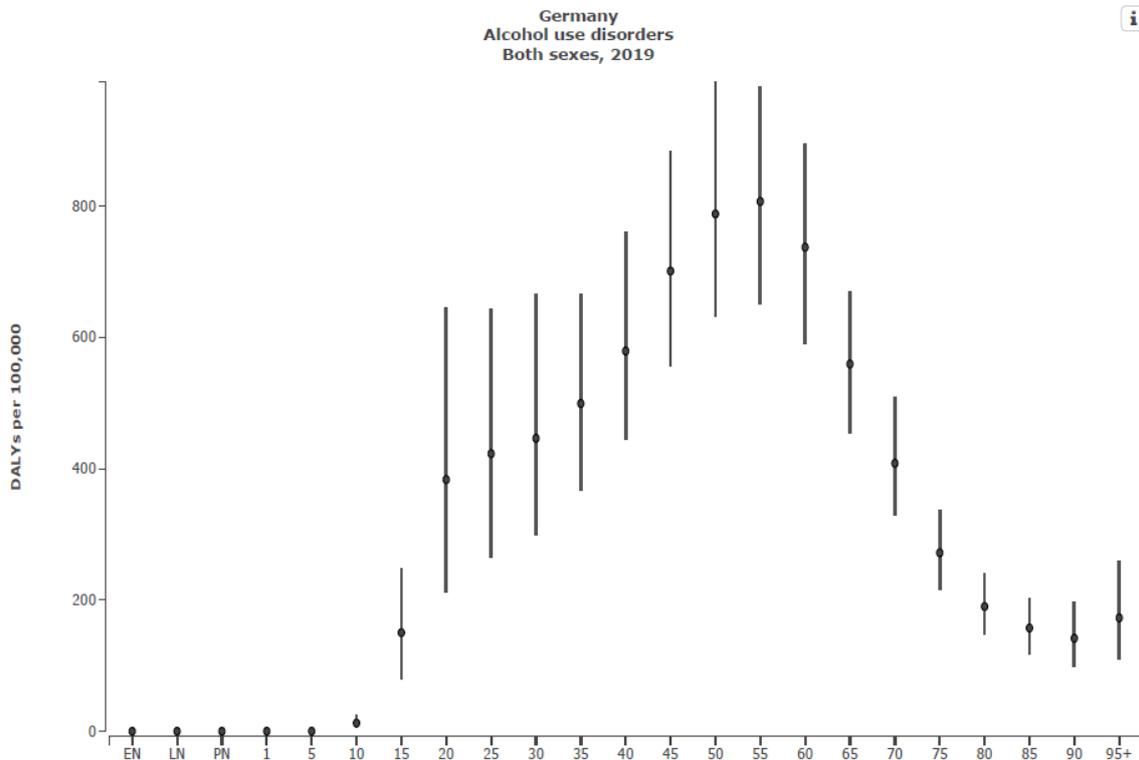


Abbildung 5 Darstellung der DALYs pro 100.000 Einwohnern in Deutschland im Jahr 2019 Aufgeteilt in Altersgruppen; Die Punkte stehen für Mittelwerte, Striche für 95%-Konfidenzintervalle. EN = 0-6 Tage, LN = 7-27 Tage, PN = 28-365 Tage (11)

1.7 Wirtschaftlicher Aspekt

Wie bereits erwähnt, betreffen die Folgen von Alkoholabhängigkeit besonders Menschen im erwerbsfähigen Alter. Das legt nahe, dass sich der Ausfall von Arbeitskräften, sei es durch vorzeitigen Tod, Behinderung oder Arbeitsverlust durch das süchtige Verhalten, negativ auf die wirtschaftliche Situation eines jeden betroffenen Landes auswirkt.

Dies geschieht auf zwei Arten: Einerseits entstehen alkoholbedingte Kosten direkt, das heißt durch Krankenhausaufenthalte, Entzugsbehandlungen oder Medikamenteneinnahme. Andererseits kommt es zu indirekten Kosten durch Arbeitskräfteausfälle, Krankschreibungen, vorzeitigen Renteneintritt oder Behinderung.

In einer Cost-of-Illness-Studie von Manthey et al., die 1.356 Patienten in der medizinischen Primärversorgung in Deutschland untersuchte, konnte festgestellt werden, dass in einer sechsmonatigen Periode pro Patienten mit Alkoholabhängigkeit in etwa 1.836 Euro mehr ausgegeben wurde, als bei Patienten ohne dieser Diagnose. Das sind 50% mehr Kosten, die aufgebracht werden mussten. Dabei zeigte sich, dass 57% dieser Kosten der alkoholabhängigen Patienten durch Krankschreibungen, Arbeitslosigkeit und vorzeitigen Renteneintritt verursacht wurden. Die alkoholabhängigen Patienten waren auch öfter arbeitslos und wiesen häufiger eine Behinderung auf und/oder gingen früher in die Rente als nicht-alkoholabhängige Patienten (39).

In einer ähnlichen Studie von Dams et al. war die wirtschaftliche Last höher. Auch hier wurden die Kosten bezogen auf einen sechsmonatigen Zeitraum pro Patienten erhoben. Dabei ergab sich, dass bei Patienten mit Alkoholabhängigkeit ca. 11.839 EUR mehr ausgegeben wurden als für Patienten ohne Alkoholabhängigkeit. Auch hier war der Anteil der indirekten Kosten höher als der, der direkten Kosten. In etwa 66% der Kosten entstanden vor allem durch Arbeitslosigkeit und Krankschreibungen (40).

Es ist sicherlich schwierig, genau sagen zu können, wie groß die wirtschaftliche Last durch alkoholabhängigen Menschen tatsächlich ausfällt. Dennoch konnten die Studien von Manthey et al. und Dams et al. zeigen, dass definitiv von einem Problem für unser Sozialsystem in Deutschland ausgegangen werden muss.

1.8 Epigenetik

Der Weg von Gen zu Genprodukt erfordert mehrere Schritte. Zunächst wird eine RNA-Kopie (*messenger-RNA*, kurz mRNA) des DNA-Stranges durch sogenannte RNA-Polymerasen angefertigt. Dieser Vorgang wird als Transkription bezeichnet. Nach Modifizierungen dieses Transkriptes (mRNA-Prozessierung) wird diese aus dem Zellkern in das Zytoplasma transportiert. Dort findet anschließend die Translation statt, bei der die mRNA am Ribosom in eine Aminosäuresequenz übersetzt wird.

Die Epigenetik ist ein Mechanismus des Körpers, welche die Expression von DNA-Abschnitten mittels chemischer Strukturen reguliert. Es werden nicht in jeder Zelle dieselben Proteine in derselben Menge benötigt. Mithilfe epigenetischer Mechanismen kann die Stärke der Expression gesteuert werden. Die DNA selbst wird dabei nicht verändert. Es handelt sich eher um vererbare, chemische Markierungen, die veränderbar sind. Vor allem durch Umweltfaktoren können diese Mechanismen modifiziert werden. Somit stellt die Epigenetik die Schnittstelle zwischen Genetik und Umwelteinflüssen dar. Sie erklärt, wie in allen Zellen des Körpers dieselbe Erbinformation enthalten ist und es trotzdem unterschiedliche Zellarten gibt.

Es gibt verschiedene Arten, wie epigenetische Information an der DNA kodiert werden kann. Diese umfassen DNA-Methylierungen sowie Histon-Modifizierungen durch Methylierungen, Phosphorylierungen und Acetylierungen und viele mehr (41). In den weiteren Abschnitten wird auf die wichtigsten Mechanismen eingegangen.

1.8.1 DNA-Methylierungen

Die Methylierung der DNA wird durch sogenannte DNA-Methyltransferasen vorgenommen. An so genannten CpG-Inseln, das sind Stellen der DNA, die besonders reich an Cytosin und Guanin sind, können diese Methyltransferasen ein Cytosin zu einem 5-Methylcytosin methylieren, wie in Abbildung 6 dargestellt. Diese Methylierungen können zur direkten Beeinträchtigung der Transkription führen und sind meist repressive Markierungen, da Transkriptionsfaktoren nicht mehr suffizient binden können. Etwa 60 bis 90 Prozent der Cytosine in CpG-Inseln, also Stellen auf der DNA, auf denen sich Cytosin und Guanin häufig wiederholen, sind methyliert (42-44).

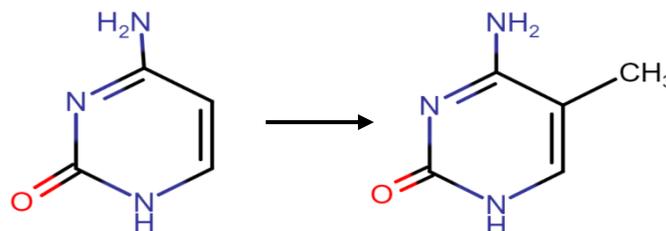


Abbildung 6 Methylierung von Cytosin zu 5-Methylcytosin

1.8.2 Histon-Modifizierungen

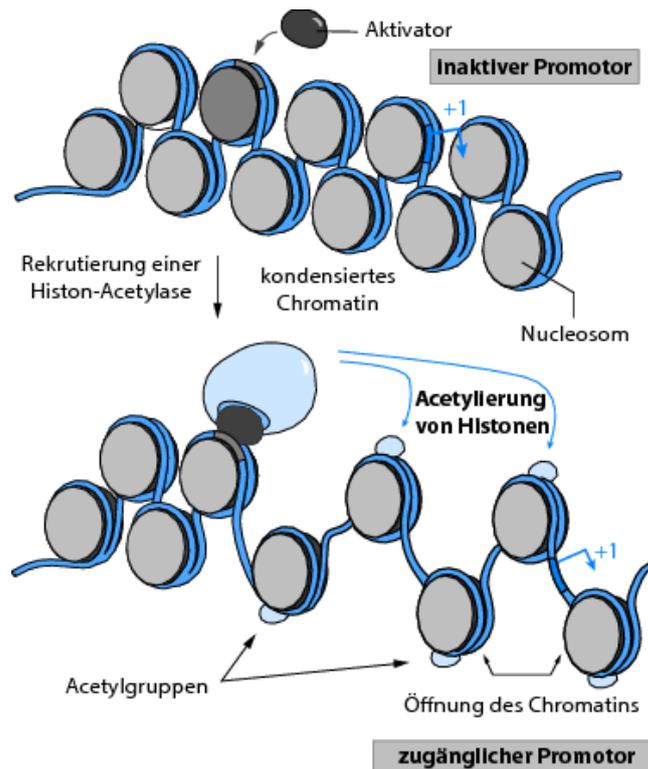


Abbildung 7 Histon-Acetylierung. Oben erkennt man eng gepacktes Heterochromatin, welches eine Transkription erschwert. Unten, durch Acetylierung aufgelockert, das Euchromatin. (45)

Histone sind Proteine, die für die grobe Struktur der DNA verantwortlich sind. Die Stränge der DNA werden um sie gewickelt, um eine einfache und platzsparende Handhabung im Zellkern zu gewährleisten. Eine Einheit aus Histon und DNA wird als Nucleosom bezeichnet (siehe Abbildung 7). Mehrere Nucleosome bilden so das Chromatin im Zellkern. Histone sind aber nicht nur Aufräumhilfen, sondern ebenso an der Regulierung der Transkription beteiligt. Vereinfacht gesagt, besteht ein Histon aus einem Zentrum und endständigen, freistehenden Teilen. Diese freistehenden Teile sind die Stellen, wo Enzyme durch Methyl-, Phosphor- und Acetylgruppen Modifizierungen der Struktur vornehmen. Acetylierungen werden besonders häufig durchgeführt, etwa 1 bis 5 Prozent der Transkription werden durch diesen Mechanismus reguliert. Diese Gruppen werden an Lysin- und Argininresten von Histon-Acetyltransferasen angehängt, von denen viele innerhalb eines Histons zu finden sind. Durch die Markierungen mittels der verschiedenen chemischen Gruppen, wird das Chromatin entweder enger oder weiter gepackt, was das Ablesen von bestimmten Genabschnitten erschwert oder vereinfacht. Man unterscheidet somit Heterochromatin und Euchromatin. Im Heterochromatin ist die DNA fester und dichter gepackt als im Euchromatin.

Deswegen stellt das Euchromatin die Bereiche mit hoher Genaktivität dar, da hier die DNA leicht zugänglich ist. (41, 46-49).

1.9 Genetik, Epigenetik und Alkohol

Starker Alkoholkonsum führt zu epigenetischen Veränderungen der DNA (50). Dabei ist nicht nur ein Genabschnitt betroffen, sondern es kommt zu Veränderungen an unterschiedlichen Genen (51). So hat man beispielsweise veränderte Methylierungsmuster an zwei Neurotransmitter-Genen gefunden, die bei Nicht-Trinkern nicht vorhanden waren (52). Auch bei Alkohol-Dehydrogenasen und Aldehyd-Dehydrogenasen, die eine wichtige Rolle im Abbau von Ethanol haben, wurden veränderte Methylierungen festgestellt (53). Doch nicht nur der Konsum von Alkohol an sich, sondern auch der Entzug kann zu epigenetischen Veränderungen führen. Diese Studie beschäftigte sich vor allem mit den Methylierungen der Alkohol-Dehydrogenasen.

1.9.1 Alkohol-Dehydrogenase

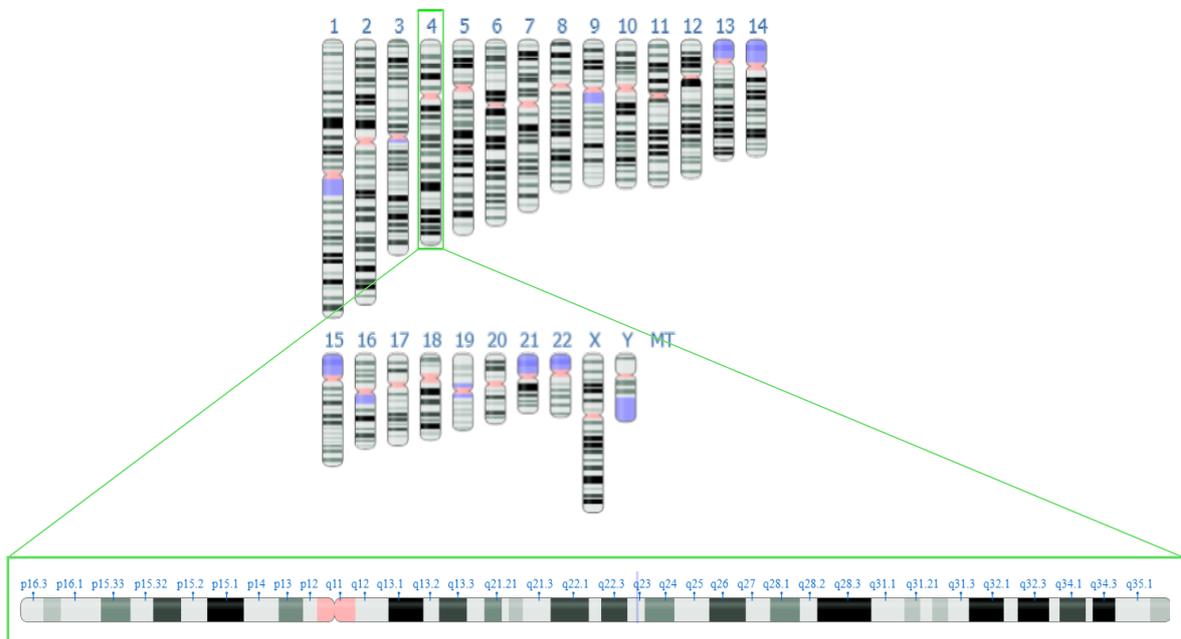


Abbildung 8 Darstellung von ADH1B auf Chromosom 4 (54)

Trinkt man ein alkoholisches Getränk, wird der Körper vor eine wichtige Aufgabe gestellt. Er muss den giftigen Alkohol abbauen. Dafür hat der Körper eine Reihe von Funktionen und Enzymen, die diese Pflicht erfüllen. Ethanol wird zuerst in

der Leber durch die Alkohol-Dehydrogenase (ADH) in Aldehyd umgewandelt. Dieser Stoff wird anschließend durch die Aldehyd-Dehydrogenase (ALDH) in Acetat abgebaut. Es gibt nicht nur eine ADH, sondern es existieren mehrere Formen, die alle am Abbau von Ethanol beteiligt sind. Die größte Rolle spielt die Unterform ADH1B. Dieses Gen befindet sich auf Chromosom 4 an der Stelle 4q23 (siehe Abbildung 8). Von dem Enzym ADH1B gibt es mehrere Polymorphismen, die bekannt und erforscht sind. Polymorphismen sind Varianten eines Gens innerhalb einer Population, welche die Funktion des Genproduktes beeinflussen können. Die meisten Polymorphismen sind stumm und üben keinen Einfluss auf das Genprodukt aus. Es gibt allerdings funktionelle Polymorphismen, die kleine Änderungen, an beispielsweise der Effizienz, vornehmen können. Im Gen ADH1B gibt es einen gut untersuchten funktionellen Polymorphismus, ADH1B*2 (weiter bezeichnet als SNP rs1229984). Es handelt sich um einen C-zu-T-Austausch, also anstelle der Base Cytosin wurde die Base Thymin eingesetzt. Dieser Polymorphismus befindet sich auf Chromosom 4 im Gen ADH1B an Stelle 99318162 (siehe Abbildung 9). So hat beispielsweise der Polymorphismus rs1229984 einen protektiven Effekt, da sie Ethanol viel schneller metabolisiert, was zur Akkumulation von Aldehyd führt. Das akkumulierte Aldehyd kann von der ALDH nicht im gleichen Tempo weitermetabolisiert werden, was zu unangenehmen Effekten führt, vergleichbar mit einem schlimmen „Kater“. Diese adversen Effekte führen zu einem verringerten Alkoholkonsum (54-58). Dabei ist die Frequenz des Allels für rs1229984 in den Populationen unterschiedlich. Am häufigsten ist dieser in der asiatischen Population anzutreffen, in der mehr als 80 Prozent Träger dieses Allels sind. In Europa ist dieser Polymorphismus vergleichsweise selten mit etwa 4 Prozent (57).

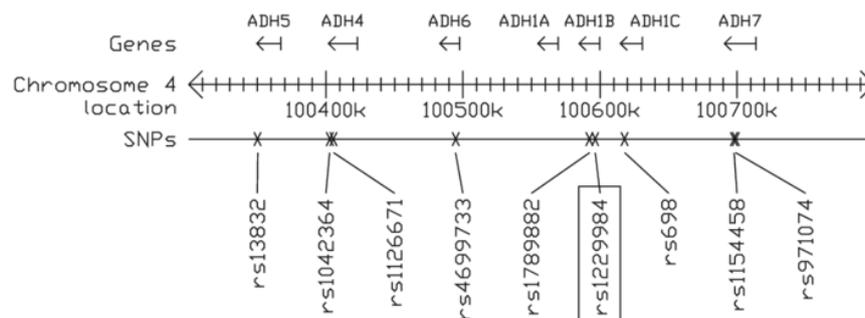


Abbildung 9 Übersicht der Lokalisationen der ADH Gene auf Chromosom 4 und die Position von rs1229984 in ADH1B (59).

Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die verschiedenen Varianten des ADH-Allels. Diese Allele sind in verschiedenen Bevölkerungen gehäuft anzutreffen. So findet man das ADH1B*2-Allel besonders in Menschen aus Asien und Europa, während das ADH1B*3-Allel in der Bevölkerung Afrikas häufiger ist (56).

Tabelle 2 Auswahl der ADH-Gen-Polymorphismen

Auflistung der ADH-Gen-Varianten	
<i>Enzym</i>	<i>Polymorphismen</i>
ADH1A	
ADH1B	ADH1B*1
	ADH1B*2 (rs1229984)
	ADH1B*3
ADH1C	ADH1C*1
	ADH1C*2
	ADH1C*352Thr
ADH4	
ADH5	
ADH6	
ADH7	

1.9.2 Methylierung von ADH1B

Es wurde gezeigt, dass die ADH1-Genabschnitte in der Leber durch epigenetische Mechanismen, insbesondere Methylierungen, reguliert werden (43). Außerdem konnte eruiert werden, dass chronischer Alkoholkonsum zu Hypermethylierungen im Genom führt (51). Dass es global zu mehr Methylierungen bei Alkoholabhängigen in Gegensatz zu abstinenten Menschen kommt, konnten unter anderem die Studien von Koller et al. 2019 und Friedel et al. 2020 zeigen (52, 53). Dabei wird bislang vor allem der Unterform ADH1B eine große Rolle in der Entstehung von Alkoholabhängigkeit zugeschrieben. In genomweiten Assoziationsstudien wurde das Enzym ADH1B mehrmals in Beziehung mit Alkoholabhängigkeit gesetzt (54-56). Die Autoren von Thompson et al. 2020 kamen zu dem Schluss, dass ADH1B den größten und bedeutendsten Effekt im Zusammenhang mit der Entstehung von Alkoholabhängigkeit in ihrer Studie hatte (57). Ebenso kamen die Autoren von Sun et al. 2019 zu demselben Schluss, in dem sie ADH1B eine starke genetische Assoziation zu Alkoholabhängigkeit zuwiesen (58).

Zudem gibt es Daten, dass es zur Methylierung von ADH1B an einer einzelnen CpG-Stelle (Englisch: *CpG site*) in der Promotorregion des Genes kommt und diese die Aktivität des Genes reduzieren. Eine CpG-Stelle ist ein „Zusammenschluss“ aus den Basen Cytosin und Guanin sowie aus freiem Phosphat. Diese Stellen in der DNA sind Ziel von Methylierungen. Im ADH1B-Gen gibt es nach aktuellem Wissensstand nur eine CpG-Stelle, die methyliert wird. Diese befindet sich an Position 99321573 innerhalb des Promotors (Positionen von 99321367 bis 99321673; Chr. 4 auf GRCh38) (47, 54).

Trotz dieser Einigkeit in diesem Forschungsgebiet, gibt es Ergebnisse, die noch unschlüssig sind. So fand die Studie von Witt et al. 2020 einen signifikanten Unterschied zwischen Methylierungen von CpG-Inseln während des Entzuges von alkoholabhängigen Männern innerhalb von zwei Wochen sowie zwischen alkoholabhängigen Männern und männlichen Kontrollprobanden generell (59). Eine ähnliche Studie von Soundararajan et al. 2021 zeigte zwar eine verstärkte globale Methylierung bei männlichen Probanden mit Alkoholabhängigkeit, jedoch keine Abnahme dieser direkt nach einer Entzugstherapie sowie nach drei Monaten (60).

Die Ergebnisse dieser zwei Studien sind verschieden, doch das Forschungsgebiet der epigenetischen Veränderungen durch Alkohol ist noch neu und wächst stetig. Es scheint sehr wahrscheinlich zu sein, dass starker Alkoholkonsum zu veränderten Methylierungen führt, dennoch ist weiterhin unklar, inwiefern diese Methylierungen veränderbar sind. Aus diesem Grund war es der Sinn dieser Studie einen weiteren Beitrag in der Klärung dieser Frage zu leisten.

2. Zielsetzung

Ziel dieser Studie war es, Veränderungen der DNA-Methylierung des ADH1B-Gens in peripheren Blutzellen bei alkoholabhängigen Männern im Rahmen einer Entzugsbehandlung festzustellen. Ausgangspunkt dafür waren zahlreiche Berichte über Assoziationen zwischen genetischen Varianten im ADH1B-Gen und der Entstehung einer Alkoholabhängigkeit. Ob hier gegebenenfalls auch epigenetische Mechanismen eine Rolle spielen, ist bislang nicht untersucht.

Aus den Ergebnissen dieser Studie soll langfristig ein besseres Verständnis dieser Krankheit resultieren, da besonders der epigenetische Aspekt Gegenstand neuer Forschungen ist. Sie soll einen Beitrag zu neuen therapeutischen Möglichkeiten leisten, indem der diagnostische Prozess erleichtert und ein Therapieansprechen kontrolliert werden kann.

Um dies zu gewährleisten, wurde eine longitudinale Verlaufsstudie an alkoholabhängigen Männern, welche sich zur Entzugsbehandlung einfanden, durchgeführt. Ziele der vorgestellten Studie waren:

- Das Feststellen ob Unterschiede in der Methylierung des ADH1B-Gens bei Alkoholabhängigkeit, im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, ermittelt werden können.
- Das Feststellen der Veränderbarkeit dieser epigenetischen Markierung:
 - > Bei Männern mit Alkoholabhängigkeit können keine signifikanten Veränderungen am epigenetischen Methylierungsmuster vom Gen ADH1B vor und nach einer Entzugsbehandlung sowie gegenüber einer Kontrollgruppe festgestellt werden (Nullhypothese).
 - > Bei Männern mit Alkoholabhängigkeit können signifikante Veränderungen am epigenetischen Methylierungsmuster vom Gen ADH1B vor und nach einer Entzugsbehandlung sowie gegenüber einer Kontrollgruppe festgestellt werden (Alternativhypothese).

3. Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Bei dieser Studie handelte es sich um eine longitudinale, prospektive Verlaufsstudie, bei der männliche, alkoholabhängige und volljährige Patienten während ihrer stationären Entzugsbehandlung begleitet wurden. Die Studie wurde von April 2020 bis November 2021 in der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie in München durchgeführt. Die Patienten wurden zuerst auf Eignung (siehe 3.2 Ein- und Ausschlusskriterien) geprüft und schließlich über die Studie aufgeklärt. Der Aufklärungsbogen und die Einverständniserklärung befinden sich im Anhang. Die Bedingungen auf der Entzugsstation wurden für die Patienten, die freiwillig an der Studie teilnahmen, nicht verändert. In die Therapie wurde nicht eingegriffen. Die Studie erfolgte unter lebensnahen Bedingungen auf Station. Die Teilnahmebereitschaft der Patienten war sehr hoch und es bestand großes Interesse an der Studie.

Parallel dazu wurden ebenso männliche Kontrollprobanden rekrutiert. Dafür wurden in verschiedenen Kliniken Münchens Flyer verteilt, auf die sich die Interessenten freiwillig meldeten. Daraufhin folgte ein Aufklärungsgespräch. Bei Einwilligung unterzeichneten die Kontrollprobanden den Aufklärungsbogen.

Sowohl die Patienten als auch die Kontrollprobanden wurden darauf hingewiesen, dass sie jederzeit aus der Studie ausscheiden können, wenn sie dies wünschen.

3.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Die Ein- und Ausschlusskriterien unterschieden sich zwischen Patienten und Kontrollprobanden.

3.2.1 Patienten

Die Patienten wurden auf der Entzugsstation rekrutiert. Einschlusskriterien umfassten:

- ICD-Diagnose F10.2 (Alkoholabhängigkeit)
- aktuell keine anderen Suchterkrankungen, außer Nikotin
- keine anderen psychiatrischen Erkrankungen mit der Ausnahme einer leicht- bis mittelgradigen Depression
- keine schweren internistischen Erkrankungen, wie beispielsweise Leberzirrhose, Lebertransplantation, schwere Herz-Kreislauf-Erkrankungen usw.
- kein epileptischer Anfall in der Vorgeschichte bzw. keine Medikation mit Antikonvulsiva
- freiwillige Teilnahme und unterzeichneter Aufklärungsbogen

Bei Nicht-Erfüllen dieser Kriterien wurde der Patient von der Studie ausgeschlossen.

Die Ein- und Ausschlusskriterien wurden so entwickelt, dass möglichst wenig Interferenzen mit anderen Einflussfaktoren der Epigenetik zutreffen. Demnach wurden keine Patienten mit Antikonvulsiva-Medikation aufgenommen. Antikonvulsiva wie Valproat induzieren epigenetische Mechanismen, auf die zum Teil deren Wirkung beruht (61).

Außerdem wurden keine Patienten mit anderen psychiatrischen Erkrankungen oder Suchterkrankungen, außer Nikotin, aufgenommen. Die einzige Ausnahme war eine leicht- bis mittelgradige Depression. Zwar hebt Alkoholkonsum für kurze Zeit die Stimmung, dennoch sind langfristig Depressionen häufig. Starker Alkoholkonsum kann langfristig in das Serotonin-, Dopamin- und Noradrenalinssystem eingreifen und somit die Entstehung von Depressionen begünstigen (62). Damit ist es für Menschen mit Alkoholabhängigkeit wahrscheinlicher eine Depression zu entwickeln, nämlich fast 30 Prozent pro Jahr, als für die Normalbevölkerung mit etwa 8 Prozent (63, 64). In einer Zwillingsstudie von Lyons et al. 2006 konnte ein starker Zusammenhang

zwischen Alkoholabhängigkeit und Depression festgestellt werden. Es zeigte sich, dass der Großteil der Befragten zuerst eine Alkoholabhängigkeit entwickelten und dann eine depressive Episode bekamen. Nur etwa zwölf Prozent hatten zuerst Symptome einer Depression, bevor sie alkoholabhängig wurden. Somit scheinen diese zwei Krankheiten stark miteinander in Verbindung zu stehen, obwohl hierfür noch weitere Forschung betrieben werden muss, um den genauen Mechanismus zu verstehen (65). Somit stellt die Depression eine sehr häufige Komorbidität dar, die aus diesem Grund in dieser Studie akzeptiert wurde.

3.2.2 Kontrollprobanden

Für die Kontrollprobanden galten dieselben Kriterien wie für die Patienten. Allerdings durfte keine Alkoholabhängigkeit oder andere Substanzabhängigkeiten bestehen. Außerdem wurde die maximale Anzahl der alkoholischen Getränke beschränkt. Um als Kontrollproband aufgenommen werden zu können, durfte dieser nicht mehr als ein alkoholisches Getränk pro Tag trinken.

3.3 Untersuchungsablauf

3.3.1 Patienten

Die Patienten kamen für eine meist 14-tägige Entzugsbehandlung in die Klinik. Während dieser Zeit fand die Datenerhebung statt. Am Tag der Aufnahme wurden die Patienten rekrutiert. Gleichzeitig wurde das erste Mal Blut abgenommen (Baseline = T1). Weitere Blutabnahmen folgten am Tag 7 (= T2) und 14 (= T3) des Aufenthalts. Während den zwei Wochen auf der Entzugsstation füllten die Patienten auch einige Fragebögen, zum Teil allein und zum Teil als Interview, aus (siehe 3.4 Fragebögen). Während des stationären Aufenthaltes erhielten alle Patienten das Benzodiazepin Oxazepam als Teil der Behandlung des Entzugssyndroms. Die Dosierung erfolgte in Abhängigkeit der Schwere der Entzugssymptomatik. Als Langzeitwert fand eine vierte Blutabnahme (= T4) sechs Monate nach der Baseline-Abnahme statt, wobei die Patienten zu diesem

Zeitpunkt die Entzugsbehandlung abgeschlossen haben und nicht mehr stationär waren. Hierfür wurden die Patienten mehrmals telefonisch kontaktiert und gefragt, ob sie mit der vierten Blutabnahme einverstanden waren.

3.3.2 Kontrollprobanden

Neben der Rekrutierung der Patienten, wurden auch Kontrollprobanden für die Studie gesucht. Nach der Einwilligung der Kontrollprobanden fand eine Blutabnahme (= T1) statt.

3.4 Fragebögen

In Tabelle 3 werden die in der Studie verwendeten Fragebögen übersichtlich dargestellt. Die genauen Erläuterungen befinden sich in den einzelnen Kapiteln. Die Fragebögen befinden sich außerdem im Anhang (ausgenommen SSAGA, siehe Kapitel 3.4.5).

Tabelle 3 Übersicht über die in der Studie verwendeten Fragebögen

Fragebogen	Charakteristika	Eigenständig oder Interview
CTQ <i>Childhood-Trauma-Questionnaire</i>	kindlicher Missbrauch	eigenständig
FHAM <i>Family History Assessment Module</i>	Erhebung einer psychiatrischen Familienanamnese	Interview
IRQ-G <i>Impulsive Relapse Questionnaire (German Version)</i>	Rückfall nach Abstinenz und Impulsivität	eigenständig
BIS-15 <i>Barrat Impulsiveness Scale (15 Items)</i>	Impulsivität im Alltag	eigenständig
SSAGA <i>Semi-Structured Assessment for the Genetics of Alcoholism</i>	psychiatrische Komorbiditäten bei Alkoholabhängigkeit	Interview

3.4.1 CTQ

Der *Childhood Trauma Questionnaire* (dt. Kindheitstrauma-Fragebogen, CTQ) ist ein Messinstrument, welches Missbrauch in der Kindheit oder Jugend aufdecken soll. Der Fragebogen kann in fünf Untergruppen eingeteilt werden:

- emotionaler Missbrauch
- körperlicher Missbrauch
- sexueller Missbrauch
- emotionale Vernachlässigung
- körperliche Vernachlässigung

Diese Untergruppen des Fragebogens können bei der Auswertung in verschiedene Schweregrade eingeteilt werden: „nicht bis minimal“, „gering bis mäßig“, „mäßig bis schwer“, „schwer bis extrem“. Zusätzlich gibt es drei Items, die auf eine Tendenz zu Bagatellisierung von Seiten des Befragten hinweisen, also ob die Kindheitserfahrungen geleugnet oder verharmlost werden. Werden hier hohe Werte erreicht, muss dies bei der Beurteilung des Fragebogens einkalkuliert werden.

Die Auswertung erfolgt nach folgendem Schema nach Rodewald 2005 (R = invertiertes Item) (66):

- Emotionale Misshandlung: Summe der Items 3, 8, 14, 18, 25
- Körperliche Misshandlung: Summe der Items 9, 11, 12, 15, 17
- Sexueller Missbrauch: Summe der Items 20, 21, 23, 24, 27
- Emotionale Vernachlässigung: Summe der Items 5 (R), 7 (R), 13 (R), 19 (R), 28 (R)
- Körperliche Vernachlässigung: Summe der Items 1, 2 (R), 4, 6, 26 (R)
- Bagatellisierung: Items 10, 16, 22 (wobei Antwortmöglichkeiten 1-4 mit 0 Punkten und Antwortmöglichkeit 5 mit 1 Punkt gewertet werden)

Die Schweregrade ergeben sich hinsichtlich dieser Einteilung:

Tabelle 4 Schweregradeinteilung CTQ nach Häuser et al. 2011 (67)

Punkte	nicht bis minimal	gering bis mäßig	mäßig bis schwer	schwer bis extrem
Emotionale Misshandlung	5-8	9-12	13-15	16-25
Körperliche Misshandlung	5-7	8-9	10-12	13-25
Sexueller Missbrauch	5	6-7	8-12	13-25
Emotionale Vernachlässigung	5-9	10-14	15-17	18-25
Körperliche Vernachlässigung	5-7	8-9	10-12	13-25

Von einer Prävalenz kann ab dem Schweregrad „mäßig bis schwer“ ausgegangen werden.

Die Items können mit 1 – Trifft überhaupt nicht auf mich zu, 2 – Trifft sehr selten auf mich zu, 3 – Trifft einige Male auf mich zu, 4 – Trifft häufig auf mich zu und 5 – Trifft sehr häufig auf mich zu beantwortet werden. Der Patient beantwortet den Fragebogen selbstständig und in Retrospektive. Es wurde gezeigt, dass der CTQ ein valides Maß mit guter Sensitivität und Spezifität für die Erfassung von Missbrauch im Kindesalter ist. Er zeigt ebenso eine Korrelation mit der Entwicklung einer Depression. Nur bei der Untergruppe „körperliche Vernachlässigung“ wurde eine niedrige Sensitivität festgestellt, worauf bei der Bewertung der Ergebnisse Acht gegeben werden muss (67-69).

3.4.2 FHAM

Das *Family History Assessment Module* (dt. Modul zur Beurteilung der Familiengeschichte, FHAM) ist ein Fragebogen zur Erhebung der Familienanamnese in Bezug auf Sucht, Depression, Manie, Schizophrenie, antisoziale Persönlichkeitsstörung und Suizidalität. Dabei wird der Patient beispielsweise gefragt, ob ein Verwandter jemals Probleme mit Alkohol am Arbeitsplatz hatte. Beantwortet der Patient diese Frage mit „Ja“, folgen weitere Fragen, die weiter explorieren sollen, ob bei dem jeweiligen Verwandten eine Alkoholabhängigkeit bestehen könnte (70).

3.4.3 IRQ-G

Der *Impulsive Relapse Questionnaire* (dt. Fragebogen zum impulsiven Rückfall, IRQ) soll das Verhalten eines Patienten bei einem Rückfall erfassen. Der Patient soll sich in die Situation versetzen, als er mindestens eine Woche lang abstinent war und danach wieder getrunken hat. Der Fragebogen umfasst insgesamt 30 Items, die erfragen, wie Suchtdruck empfunden wird und wie es zu einem Rückfall kommt bzw. wie impulsiv reagiert wird. Die Items können mit 5 – Stimme voll zu, 4 – Stimme zu, 3 – Bin unsicher, 2 – Stimme nicht zu und 1 – Stimme überhaupt nicht zu beantwortet werden. Aus dem Fragebogen ergeben sich fünf Untergruppen:

- Automtizität: trainiertes und eingelerntes Verhalten bei Alkoholrückfällen
- Geschwindigkeit: sofortiger, starker Drang nach Alkohol; schnelle Geschwindigkeit zum Rückfall
- Kontrolldefizite: Fähigkeiten der Kontrolle von Suchtdruck sind gering
- Verleugnung: Rückfälle werden verleugnet bzw. bagatellisiert
- Kapazität für Verzögerung: gute Fähigkeiten der Suchtkontrolle; größere Verzögerung bis Rückfall

Dabei wird bei diesem Fragebogen nicht die Impulsivität an sich, wie beim BIS-15 (siehe Kapitel 3.4.4), sondern die drogen-assoziierte Impulsivität, also etwa im Kontext eines Rückfalles erfasst (71).

3.4.4 BIS-15

Die *Barrat Impulsiveness Scale* (dt. Barrat Impulsivitätsskala, BIS) soll zeigen, wie unüberlegt eine Person in unterschiedlichen Situationen agiert. Erhöhte Impulsivität kann ein Merkmal verschiedenster psychischer Erkrankungen sein, darunter auch von Substanzabhängigkeit. Die BIS-15 hat 15 Items und ist eine überarbeitete Variante der ursprünglichen Skala von Barrat, die 30 Items umfasste. Die Items sind vom Likert-Typ und können mit 4 – Immer, 3 – Oft, 2 – Gelegentlich und 1 – Selten/Nie beantwortet werden. Der Fragebogen kann grob

in drei Untergruppen eingeteilt werden, die unterschiedliche Aspekte von Impulsivität widerspiegeln:

- nicht-planende Impulsivität: Handeln ohne Voraussicht
- motorische Impulsivität: Handeln ohne nachzudenken
- aufmerksamkeitsbasierte Impulsivität: mangelnde Fähigkeit, sich zu konzentrieren

Einer Subskala sind jeweils fünf Items zugeordnet. Somit kann eine Subskala Werte zwischen fünf und 20 und der Gesamtwert Werte zwischen 15 und 60 betragen. Höhere Werte stehen für eine ausgeprägte Impulsivität. Es konnte gezeigt werden, dass die BIS-15 sich gut dafür eignet, Impulsivität in einem Patienten zu erkennen (72). Die Studie von Preuss et al. 2008 untersuchte die Validität des Fragebogens an alkoholabhängigen Probanden und fand heraus, dass sich die Impulsivität dieser Gruppe signifikant von den Kontrollen unterschied. Damit konnte die Forschungsgruppe zeigen, dass der Fragebogen ein gutes Maß für die Impulsivität bei Alkoholabhängigen aufweist (73).

3.4.5 SSAGA

Der *Semi-Structured Assessment for the Genetics of Alcoholism* (dt. Semi-Strukturierte Beurteilung zur Genetik von Alkoholabhängigkeit, SSAGA) Fragebogen wird als Interview geführt und wurde entwickelt, um psychiatrische Komorbiditäten bei Alkoholabhängigkeit festzustellen. Es wurde vor allem nach einem strukturierten Instrument gesucht, um Probanden in einem Studien-Setting standardisiert untersuchen zu können. Aus diesem Grund findet dieser Fragebogen besonders in Genetik-Studien Anwendung. Neben einer Alkoholanamnese werden auch nach Depression, Manie, Essstörungen, Somatisierungsstörungen, Ängsten und Zwängen sowie nach weiterem Drogenmissbrauch gefragt. Der Untersucher soll am Ende des Interviews einen Eindruck vom Leben des Patienten erhalten. Der SSAGA stellt sich als valides Maß zur Untersuchung von psychiatrischen Erkrankungen bei Patienten mit Alkoholabhängigkeit heraus (74, 75).

Die Printversion des SSAGA wurde nicht in den Anhang mitaufgenommen, da diese 82 Seiten umfasst und daher den Rahmen dieser Arbeit sprengen würde. Im Internet ist allerdings die volle Version frei zugänglich (zum Beispiel auf Englisch hier: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gap/cgi-bin/document.cgi?study_id=phs000092.v1.p1&phd=1204, Stand 09.08.2021). Daher wird an dieser Stelle auf diese verwiesen.

3.5 Laboranalysen

Die Analyse der Laborproben für diese Studie erfolgte, wie die Rekrutierung der Probanden, in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München. Die Labormessungen wurden im Labor für Molekulare Neurobiologie in der Sektion Epigenetik (Leiter: PD Dr. Peter Zill) durchgeführt.

Den Patienten wurde während den Visiten bis zu vier Mal und den Kontrollen einmalig Blut abgenommen. Anschließend wurden die Proben in das Labor transportiert, wo es aufbereitet und archiviert wurde.

Das Blut wurde den Probanden und Kontrollen aus peripheren Armvenen entnommen. Dies ist für genetische Untersuchungen nicht unüblich. Mit dieser Studie vergleichbare Studien, wie etwa Zhang et al. 2017 (50), Glahn et al. 2014 (76), Koller et al. 2019 (77) und Soundararajan et al. 2021, nahmen ihren Probanden ebenso auf diese Weise Blut ab.

3.5.1 DNA-Präparation

Die DNA wurde aus 7,5 ml EDTA-Vollblut mittels des E.Z.N.A. SQ Blood DNA Kit (Omega Bio-Tek, Norcross, USA) nach Herstellerangaben extrahiert.

3.5.2 Analyse der CpG-Methylierung im Promotorbereich des ADH1B-Gens

Im Promotorbereich des ADH1B Gens auf Chromosom 4 wurde die Methylierung einer CpG-Stelle an Position 99321573 untersucht (NCBI Reference Sequence:

NC_000004.12 (78). In Abbildung 10 ist diese dargestellt. Der Promotorbereich erstreckt sich von Position 99321367 bis 99321673.

```

1 agtgaataa taagtccaag tacacagaac aagtaaggaa ctgggttggc ctggtcccac
61 aagccatgcc atcacccgctg cccatactg cctcttggca caggcagagg tcatgtctta
121 ttcatactg ctactccact ggaccagct tagtgcctga cacagggagg tgttcagtcc
181 atacatacta gttttgagtg gagcagaatt gccaggcaca gtgatccctt ttgctgtgac
241 taattgggtg tctgattctc tgctgtaaag acaaagaggc tgctctctct atcctacttc
301 gtttttctg ttttcttact cttcttctt cctcgccacc ccatgtgcat tcaaagttgc
361 agcttagtgc agacaaaggg aatacaaggc agaacgacct atgtgggatt gaaagaagag
421 aaacaaggaa ttccagaggc cggggggggg tgggaagtga ggaaaagaga aagtgattac
481 aatttatcac ttttaacttaa tatttaact aatgaaaaca aaatcttatc tagaatttgg
541 aagtcaatat tttgattgct ggttcagtag ccttttatct gttttgacag tctgggaata
601 atccagtggg tgtggcttaa agacatagat cacgtgtgga attggaattg gatgttacac
661 aagcaaaaca aataaatatc tgtgcaatat atctgcttta tgcactcaag cagagaagaa
721 atccacaaag actcacagtc tgctgggtgg cagagaagac agaaacgaca tgagcacagc
781 aggaaaagta agcaaaaaat atattactgt tggtaataata ttctcatcaa tataacaaag
841 aaaggaatac agtatttgat gaataattta aaattcatat ctaaattaga aatgatatgc
901 tgaatatga tatgcaatat acacctcaat atgtaatgta tactgaactg cagtggaaat
961 aagctattct taagtacctt taacaggaat gtatagaacc tgtgtctatt agtctttatt
1021 tcctacatta aataaattta cagtaaaatg atagtttatt ccaagctaata catgactgat
1081 ttgtaaactc aaagttagaa aagtctttaa tggcaagtta tctttataat aagaaacat
1141 aattcaaatg tgttattatt tttattcaa tttttatga acacaggaaa gttgtctgac
1201 agaagtttga tgagaggaat ttgactcaga agactgaaat atcctttaac cttactataa
1261 aatatcttac aaaatactca ttgattcac agcattagaa tcatcaaggt taagcaagac
1321 atcaacatgc aaattctgat taaaaggggt ccattatgat acaattcagg gaatttccac
1381 aaaaatccta tggaacagta tcttccccat taaaagtta atatggtttt acagaaaatc
1441 aatgatacaa tttgaataat aatacaattt gaatcactta gcaactaggaa tacagatatt
1501 tggttttttc ttctataaat ttgtacttat ttgctcaatg tgtttacagg tgcattgtgt

```

Abbildung 10 Ausschnitt aus der DNA-Sequenz des humanen Alkohol-Dehydrogenase 1B Beta Polypeptid (ADH1B) auf Chromosom 4; NCBI Reference Sequence: NC_000004.12 (78); die analysierte CpG-Stelle ist rot markiert.

Die Analyse der DNA-Methylierung erfolgte mittels Pyrosequenzierung am PyroMark Q48 (Qiagen, Hilden, Deutschland).

Dazu wurde genomische DNA mit dem EpiTect Bisulfite Conversion Kit 48 (Qiagen, Hilden, Deutschland) zuerst bisulfitiert, wodurch unmethylierte Cytosine in der DNA chemisch zu Uracil umgewandelt werden. Uracil wird in der anschließenden Sequenzierung als Thymin nachgewiesen. Methylierte Cytosine bleiben nach Bisulfitierung unverändert. Die Bisulfitierung erfolgte nach Herstellerangaben.

Mittels der Pyromark Assay Design 2.0 Software (Qiagen, Hilden, Deutschland) wurden folgende Oligonukleotide (Primer) zur PCR-Amplifikation der zu analysierenden Region und zur Sequenzierung der CpG-Stelle entwickelt:

- Vorwärts-Primer: 5'-TGTTTTGATAGTTTGGGAATAATTTAGT-3'
- Rückwärts-Primer: 5'-TTATTTTATTTACTTATATAACATCCAAT-3'
- Sequenzierungsprimer: 5'-GGGAATAATTTAGTGGG-3'

Die Amplifikation und Sequenzierung erfolgten ebenfalls nach Herstellerangaben in 15 µl Gesamtvolumen mit 20 ng Bisulfit-konvertierter DNA unter Verwendung kommerziell erhältlicher Kits (PyroMark Q48 Advanced CpG Reagents; PyroMark PCR Kit; Qiagen, Hilden, Deutschland).

Die Auswertung und Quantifizierung der CpG-Methylierung wurde mit der Q48 Autoprep Software 2.4.2 (CpG Analyse Modus) in Form prozentualer Werte durchgeführt.

3.5.3 Genotypisierung des SNP rs1229984 im ADH1B-Gen

Der A/G-Polymorphismus im ADH1B Gen (rs1229984, Position 99318162 auf Chromosom 4, GRCh38.p13 (79) erfolgte mit der TaqMan®-Technologie (TaqMan® SNP Genotyping Assay) am StepOnePlus System (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) und dem kommerziell erhältlichen Assay C_2688467_20. Die Standard PCR-Reaktion wurde unter Einsatz des TaqMan® Genotyping Master Mix im Gesamtvolumen von 10 µl nach Herstellerangaben durchgeführt.

3.6 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurde SPSS Statistics von IBM in der Version 26 verwendet.

Für das Signifikanzniveau wurde $\alpha = 0,05$ festgelegt, ein für wissenschaftliche Arbeiten üblicher Wert. Hinsichtlich des Charakters dieser Studie, bei dem Patienten zu mehreren Zeitpunkten getestet wurden, müsste eine Bonferroni-Korrektur des p-Wertes durchgeführt werden. In diesem Fall müsste der p-Wert bei $\frac{0,05}{4}$, also 0,0125 liegen. Aufgrund des explorativen Charakters dieser Studie, wurde darauf verzichtet, da es sich hierbei um ein noch weitgehend unerforschtes Gebiet handelt. So können neue Hypothesen für weitere Studien generiert werden.

Die deskriptive Beschreibung der Demografik des Kollektivs wurde mit Häufigkeitsanalysen durchgeführt und in Prozent (%) bzw. in Gruppengrößen (n)

angegeben. Die deskriptive Beschreibung des Methylierungsstatus der ADH1B wurde mit Gruppengrößen (n), Mittelwerten, Standardabweichungen (SD), Minimum sowie Maximum angegeben.

Die Auswertung der Fragebögen erfolgte mithilfe von Mittelwerten und Standardabweichungen sowie Häufigkeitsanalysen.

Zur Überprüfung von Unterschieden zwischen Patienten und Kontrollen, wurden die Mittelwerte des Methylierungsstatus zu den einzelnen Zeitpunkten miteinander mittels *repeated measures ANOVA* verglichen. *Repeated measures ANOVA* ist eine Methode, um Mittelwerte miteinander vergleichen zu können, die auf wiederholte Messungen basieren, um eine alpha-Fehler-Kumulierung zu verhindern.

Um Einflussvariablen zu untersuchen, wurde die Spearman-Korrelation angewandt, welcher im Vergleich zum Pearson-Korrelationskoeffizienten resistenter gegenüber Ausreißern ist. Außerdem benötigt der Spearman-Korrelationskoeffizient nicht die Annahme, dass die Beziehung zwischen den Variablen linear ist.

Ein Einfluss von Variablen auf das Outcome (Methylierungswerte) wurde mittels linearer gemischter Modelle berechnet, da das Outcome sich über die Zeit änderte und so keine Standardregression mehr anwendbar war. Dabei wurden sowohl univariate als auch multivariate Modelle gerechnet, wobei bei der multivariablen Berechnung die maximale und die durchschnittliche Trinkmenge getrennt betrachtet wurden, da diese miteinander korrelierten und für die Regression eine Unabhängigkeit der Variablen Voraussetzung ist.

Wichtige Ergebnisse wurden grafisch als Boxplots oder Streudiagramme dargestellt.

4. Ergebnisse

4.1 Drop-Outs

Nicht von jedem zu Beginn rekrutierten Patienten konnten alle Blutproben abgenommen werden. Diese werden Drop-Outs genannt.

Es konnten 60 Patienten für die Visiten T1-3 rekrutiert werden. Trotz aller Bemühungen konnten für die T4 Visite nach 6 Monaten nur 7 Probanden für die Auswertung rekrutiert und eingeschlossen werden. Für die Kontrollen wurden entsprechend insgesamt 51 Proben für die Auswertung verwendet.

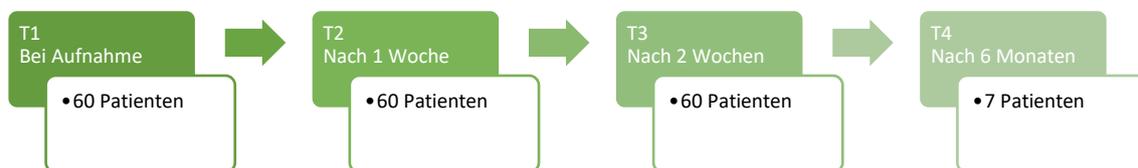


Abbildung 11 Übersicht der Drop-Outs bei den Studienpatienten

4.2 Demographische Beschreibung

4.2.1 Patienten

Insgesamt konnten im Studienzeitraum 20 Patienten rekrutiert werden. Dazu konnte für die Auswertung auf einen bestehenden Datensatz der Biobank zurückgegriffen werden, um die Power der Studie zu erhöhen. Damit wurden insgesamt 107 Proben von Patienten für die Auswertung dieser Studie in Erwägung gezogen, wovon schlussendlich 60 eingeschlossen wurden. Gründe für den Ausschluss waren hauptsächlich unvollständige Proben. So wurden nur Patientenproben für diese Studie herangezogen, welche alle Visiten durchlaufen hatten.

Das durchschnittliche Alter der Patienten lag bei 45,3 (SD 10,4) Jahren mit einer Spannweite von 28 bis 72 Jahren. In Tabelle 5 wird die demographische Verteilung dieses Kollektivs dargestellt.

Tabelle 5 Demographische Verteilung des Patientenkollektivs; von 17 Patienten fehlende Angaben

		n	Prozent
		43	100
Familienstand	Ledig	24	55,8
	Verheiratet	10	23,2
	Geschieden, Getrennt	9	20,9
Kinder	Nein	25	58,1
	Ja	18	41,9
Derzeit erwerbstätig	Nein	19	44,2
	Ja	24	55,8
Rauchen	Ja	31	72,1
	Nein, > 6 Monate	12	27,9

Tabelle 6 Medikation mit Oxazepam der Patienten während der Entzugstherapie; von 23 Patienten fehlende Angaben

	Mittelwert (mg)	SD (mg)	Minimum (mg)	Maximum (mg)
n = 37				
Oxazepam Festmedikation	351,8	496,5	0	2180
Oxazepam Bedarfsmedikation	69,5	54,3	0	195

In Tabelle 6 ist die Menge an Oxazepam aufgelistet, die die Patienten mit Alkoholabhängigkeit während des stationären Aufenthaltes verabreicht bekamen. Dabei erhielten die Patienten eine feste Tagesdosis, die während des Entzuges langsam ausgeschlichen wurde, sowie eine Bedarfsmenge, welche besonders in den ersten Tagen des Entzuges genutzt wurde. Dabei nahmen 18 (33,3 Prozent) Patienten keine Festmedikation von Oxazepam und 6 (11,1 Prozent) keine Bedarfsmedikation in Anspruch. Die Patienten, die keine Festmedikation wollten, nahmen dafür eher die Bedarfsmedikation, denn nur 2 Patienten verlangten während der Entzugsstherapie nach keinem Oxazepam.

Die Depression ist eine häufige Komorbidität bei Alkoholabhängigkeit. Darauf wurde in Kapitel 3.2.1 vertiefend eingegangen. Mitthilfe des SSAGA konnten bei vielen Patienten Hinweise auf bestehende Komorbiditäten bzw. Suizidalität ermittelt werden. Diese sind in Tabelle 7 und Tabelle 8 aufgeführt.

Tabelle 7 Komorbiditäten der Patienten: Anhalt für Depression, Manie und Angststörung; von 17 Patienten fehlende Angaben

		n	Prozent
		43	100
Traurigkeit > 2 W	Nein	17	39,5
	Ja	26	60,5
Interessensverlust > 2 W	Nein	20	46,5
	Ja	23	53,5
Glücklich, Überdreht > 2 W	Nein	40	93,0
	Ja	3	7,0
Angstanfall, Starke Angst	Nein	39	90,7
	Ja	4	9,3
Ängstlich, angespannt	Nein	39	90,7
	Ja	4	9,3

Tabelle 8 Suizidalität der Patienten; von 22 Patienten fehlende Angaben

		n	Prozent
		38	100
Suizidgedanken	Nein	21	55,3
	Ja	17	44,7
Suizidversuch	Nein	32	84,2
	Ja	6	15,8

4.2.2 Kontrollen und Vergleiche

Für die Kontrollen wurden im Studienzeitraum 10 Probanden rekrutiert. Mit den zusätzlichen Proben der Biobank konnte diese Zahl auf 51 erhöht werden. Das durchschnittliche Alter der Kontrollprobanden lag bei 37,8 Jahren mit einer Spannweite von 20 bis 66 Jahren und einer Standardabweichung von 11,1 Jahren (n = 51).

Entsprechend besteht ein Altersunterschied zwischen den Gruppen, welcher statistisch signifikant ist ($p < 0,001$).

4.3 Alkoholkonsum der Stichprobe

Da sich diese Studie zentral um Alkohol und den Konsum dreht, sollen an dieser Stelle Charakteristika des Alkoholkonsums dieser Stichprobe dargestellt werden. Dadurch soll es leichter vorstellbar sein, wie sich eine Alkoholabhängigkeit im Alltag äußern kann. Diese Daten wurden aus den Fragen des SSAGA erhoben.

In der Stichprobe betrug das Anfangsalter für regelmäßiges Trinken 25,0 Jahre (SD 10,4). Dabei muss beachtet werden, dass eine Abhängigkeit nicht plötzlich, sondern allmählich entsteht. Für viele Patienten war es schwer, ein bestimmtes Jahr als Anfangsalter zu nennen. Sie meinten, die Sucht sei oft allmählich über mehrere Jahre entstanden.

Tabelle 9 Alkoholkonsum der Patienten: Anfangsalter und Trinkmenge

	Anfangsalter für regelmäßiges Trinken (in Jahren)	Größte Anzahl alkohol. Getränke innerhalb 24h (g)	Anzahl alkohol. Getränke pro Tag vor Aufnahme (g)
n	43	40	34
Mittelwert	25,0	362,6	179,5
Std.-Abweichung (SD)	10,4	175,0	150,1

In Tabelle 9 sieht man Angaben zu den größten alkoholischen Getränken innerhalb von 24 Stunden und des alltäglichen Alkoholkonsums vor Aufnahme. Da es schwer ist, sich in Gramm Alkohol etwas Konkretes vorzustellen, werden diese Zahlen in Liter Bier mit 5 Vol.-% umgewandelt. Die größte Anzahl an alkoholischen Getränken, die diese Stichprobe in 24 Stunden konsumierte, betrug im Durchschnitt 362,6 g Alkohol mit einer Standardabweichung von 175,0 (entspricht in etwa 9,0 Liter Bier, SD 4,5). Es fällt auf, dass die Standardabweichung sehr groß ist. Das ist darauf zurückzuführen, dass das individuelle Trinkverhalten der einzelnen Probanden sehr unterschiedlich ist. Manche Patienten waren regelmäßig auf so genannten „Saufgelagen“, wo viel Alkohol in kurzer Zeit getrunken wird (20 Patienten gaben dies an), während andere im Vergleich eher kleinere Mengen tranken, aber dafür täglich. Ähnlich verhielt es sich demnach mit der Anzahl alkoholischer Getränke pro Tag vor der Aufnahme auf die Entgiftungsstation. Hier wurden im Durchschnitt 175,0 g Alkohol mit einer Standardabweichung von 150,1 getrunken (entspricht in etwa 4,4 Liter Bier, SD 3,6).

Tabelle 10 Toleranzentwicklung des Alkoholkonsums

		n	Prozent
		42	100
Toleranzentwicklung bemerkt	Nein	12	28,6
	Ja	30	71,4
		n	Prozent
		41	100
Mengenerhöhung um 50%	Nein	16	39
	Ja	25	61

Es ist typisch, dass sich die Menge des Alkoholkonsums über viele Jahre steigert, denn ein Charakteristikum der Sucht ist die Toleranzentwicklung (siehe Kapitel 1.1). In Tabelle 10 sind die Antworten der Patienten auf die Fragen zum Thema Toleranz aufgeführt. Diese zeigt, dass die Mehrheit der befragten Patienten eine Toleranzentwicklung bei sich selbst feststellen konnte. Im Durchschnitt bemerkten die Patienten eine gesteigerte Toleranz mit 34,4 Jahren, SD 9,5 Jahre.

Tabelle 11 Alkoholkonsum und Scham; 19 Patienten mit fehlenden Angaben

		n	Prozent
		41	100
Jemals Alkohol vor anderen versteckt?	Nein	26	63,4
	Ja	15	36,6
Jemals Alkohol in verschiedenen Geschäften gekauft?	Nein	25	61,0
	Ja	16	39,0
Jemals Flaschen heimlich weggeworfen/versteckt?	Nein	20	48,8
	Ja	21	51,2
Jemals Regeln aufgestellt, um Trinken zu kontrollieren?	Nein	13	31,7
	Ja	28	68,3
Jemals wegen des Trinkens schuldig gefühlt?	Nein	9	22,0
	Ja	32	78,0

In Tabelle 11 sind unterschiedliche Fragen zum Thema Alkoholkonsum und Schamgefühl zusammengefasst. Dabei wird deutlich, dass die meisten Patienten sich bezüglich ihres Konsums schuldig fühlten und viele versuchten, diesen zu kaschieren.

Tabelle 12 Alkoholkonsum und Sozialleben; 19 Patienten mit fehlenden Angaben

		n	Prozent
		41	100
Gab es jemals Einwand bezüglich Ihres Trinkens von Familie, Freunden, Ärzten oder Geistlichen?	Nein	6	14,6
	Ja	35	85,4
Hat Ihr Trinken jemals zu Problemen mit Freunden oder Familie geführt?	Nein	20	48,8
	Ja	21	51,2
Haben Sie jemals Freunde verloren wegen Ihres Trinkens?	Nein	32	78,0
	Ja	9	22,0
Hatten Sie jemals Probleme in der Arbeit oder Schule wegen Ihres Trinkens?	Nein	26	63,4
	Ja	15	36,6
Haben Sie jemals betrunken einen Streit angezettelt?	Nein	31	75,6
	Ja	10	24,4
Haben Sie betrunken jemals ein Familienmitglied geschlagen?	Nein	39	95,1
	Ja	2	4,9
Wurden Sie jemals wegen Trunkenheit am Steuer verurteilt?	Nein	29	70,7
	Ja	12	29,3
Hatten Sie jemals einen Unfall, als Sie betrunken Auto gefahren sind?	Nein	26	63,4
	Ja	15	36,6

In Tabelle 12 wurden einige Fragen des SSAGA zum Thema Alkoholkonsum und Soziales zusammengetragen. Dabei wird ersichtlich, dass ein großer Teil der Befragten Probleme mit seinem sozialen Umfeld aufgrund seines Alkoholproblems hatte.

4.4 Auswertung der Fragebögen

4.4.1 CTQ

Tabelle 13 Auswertung der Skalen des CTQ

n (%)	nicht bis minimal	gering bis mäßig	mäßig bis schwer	schwer bis extrem	auswertbare Fragebögen
Emotionale Misshandlung	28 (63,6%)	8 (18,2%)	4 (9,1%)	4 (9,1%)	44
Körperliche Misshandlung	35 (77,8%)	3 (6,7%)	4 (8,9%)	3 (6,7%)	45
Sexueller Missbrauch	36 (83,7%)	4 (9,3%)	1 (2,3%)	1 (2,3%)	43
Emotionale Vernachlässigung	17 (41,5%)	15 (36,6%)	4 (9,8%)	5 (12,2%)	41
Körperliche Vernachlässigung	20 (45,5%)	11 (25,0%)	9 (20,5%)	4 (9,1%)	44

Nach den dargestellten Ergebnissen des CTQ in Tabelle 13 sehen die Prävalenzen der Subskalen folgendermaßen aus:

- Emotionale Misshandlung 18,2%
- Körperliche Misshandlung 15,6%
- Sexueller Missbrauch 4,6%
- Emotionale Vernachlässigung 22,0%
- Körperliche Vernachlässigung 29,6%

Die Auswertung des Childhood Trauma Questionnaires zeigt eine breite Vielfalt der Kindheitserlebnisse der befragten Patienten an. Die Subskala „Sexueller Missbrauch“ zeigt die geringste Prävalenz auf, wohingegen „emotionale Vernachlässigung“ und „körperliche Vernachlässigung“ am stärksten vertreten sind.

Bei 60,0 Prozent (bei 45 auswertbaren Fragebögen) wurden null Punkte auf der Bagatellisierungsskala erhoben, bei jeweils 20,0 Prozent ein Punkt, bei 11,1 Prozent zwei Punkte und bei 8,9 Prozent drei Punkte.

4.4.2 FHAM

Tabelle 14 Auswertung des FHAM

n (%)	Mutter	Vater
37 (100%)		
Genuss von Alkohol über einen längeren Zeitraum und mehr als vorgehabt?	8 (21,6%)	10 (27,0%)
Es war ihm/ihr nicht möglich aufzuhören?	4 (10,8%)	10 (27,0%)
Er/sie hat viel Zeit mit Trinken verbracht?	5 (13,3%)	9 (24,3%)
Ihm/ihr war es unmöglich zu arbeiten/sich um den Haushalt zu kümmern?	3 (8,1%)	3 (8,1%)
Hat er/sie belastende Situationen durch Trinken erleichtert?	4 (10,8%)	8 (21,6%)
Hat er/sie früher wichtige Aktivitäten aufgegeben/vermindert?	3 (8,1%)	3 (8,1%)
Hatte er/sie Konflikte in Familie/Arbeit/Freunden?	4 (10,8%)	8 (21,6%)
Ist er/sie häufig auf Safttouren gegangen?	0 (0%)	4 (10,8%)
Hatte er/sie jemals Entzugssymptome (morgendliches Zitter, Krampfanfälle...)?	2 (5,4%)	2 (5,4%)
Wurde er/sie jemals im Krankenhaus wegen Alkohol behandelt?	3 (8,1%)	2 (5,4%)
Litt er/sie unter einer Depression?	15 (40,5%)	2 (5,4%)

Tabelle 14 zeigt einen Auszug der Fragen, die beim Interview des FHAM erhoben wurden. Für diese Studie waren besonders die Fragen zum Thema

Alkoholkonsum interessant und auffällig. Man kann erkennen, dass viele der befragten Patienten Eltern mit Alkoholproblemen hatten. Dabei ist allerdings anzuerkennen, dass keine Diagnosefindung stattfinden konnte, da die Patienten über ihre Eltern nur aus ihrer Sicht erzählen konnten.

4.4.3 IRQ

Tabelle 15 Auswertung des IRQ

	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD	n
IRQ-Automatizität	7	29	18,0	5,0	39
IRQ-Geschwindigkeit	4	20	11,3	3,8	39
IRQ-Kontrolldefizit	6	25	17,6	5,4	38
IRQ-Verleugnung	5	20	12,6	3,8	39
IRQ-Kapazität für Verzögerung	10	39	22,2	6,6	38
IRQ-Gesamtscore	50	100	82,1	12,0	36

Die Ergebnisse des *Impulsive Relapse Questionnaire* sind in Tabelle 15 aufgeführt. Bei der Subskala „Geschwindigkeit“ sind zwischen 4 und 20 Punkten möglich, bei der Subskala „Verleugnung“ zwischen 5 und 25 und bei den Subskalen „Automatizität“ und „Kontrolldefizit“ zwischen 6 und 30 Punkten. In der Subskala „Kapazität für Verzögerung“ können zwischen 9 und 45 Punkten erreicht werden. Beim Gesamtscore sind zwischen 30 und 150 Punkten möglich.

4.4.4 BIS-15

Tabelle 16 Auswertung des BIS-15

	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD	n
BIS-NP	5	18	12,0	4,0	36
BIS-MOT	5	16	11,1	2,6	38
BIS-A	5	19	10,2	3,2	37

BIS-NP = Subskala „nicht planende Impulsivität“, BIS-MOT = Subskala „motorische Impulsivität“, BIS-A = Subskala „aufmerksamkeitsbasierte Impulsivität“

Man kann erkennen, dass zwar die Spannweiten der einzelnen Subskalen die maximal erreichbaren Punkte abdecken, die Mittelwerte jedoch eher um den Mittelpunkt liegen. Man kann hierbei davon ausgehen, dass bei einigen Patienten eine erhöhte Impulsivität vorliegt.

4.4.5 SSAGA

Die Auswertung des SSAGA wurde in den Kapiteln 4.2 und 4.3 besprochen.

4.5 Auswertung der Biomarker

Tabelle 17 Ergebnisse der prozentualen Methylierungswerte der CpG-Stelle im ADH1B-Gen der Patienten bei Visiten T1-4

%	n	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD
T1	60	26,0	56,2	43,5	5,4
T2	60	27,1	58,3	42,3	6,0
T3	60	26,5	55,6	41,9	5,6
T4	7	28,9	57,2	42,5	9,2

Tabelle 18 Ergebnisse der prozentualen Methylierungswerte der CpG-Stelle im ADH1B-Gen der Kontrollen

n = 51; %	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD
T1	30,6	50,6	39,7	5,3

Von den Patienten konnten 60 Proben in die Analyse eingeschlossen werden. Bei den Kontrollen waren es 51 Proben. Der mittlere prozentuelle Grad der Methylierung betrug bei den Patienten bei Visite T1 43,5 % (SD 5,4) und fiel nach den zwei Wochen Entzugstherapie bei Visite T3 auf 41,9 % (SD 5,6) ab. Dieser Unterschied erwies sich als signifikant mit einem p-Wert von 0,004. Die Ergebnisse aller Visiten sind in Tabelle 17 bis Tabelle 21 aufgelistet.

Bei den Kontrollen betrug der mittlere Grad der Methylierung 39,7 % (SD 5,4). Die Standardabweichungen sind bei allen Ergebnissen der Visiten T1-3 ähnlich.

Tabelle 19 Übersicht der Ergebnisse der prozentualen Methylierungswerte der CpG-Stelle im ADH1B-Gen der Visiten T1-3 bei den Patienten und T1 der Kontrollen

Mittelwert (SD) %	T1	T2	T3	p-Wert
Patienten	43,5 (5,4)	42,3 (6,0)	41,9 (5,6)	0,004
Kontrollen	39,7 (5,4)			

Für die letzte Visite T4 konnten 7 Patienten rekrutiert werden. Berücksichtigt man diesen Wert mit, ist der Unterschied der prozentualen Methylierungswerte der CpG-Stelle im ADH1B-Gen im zeitlichen Verlauf mit einem p-Wert von 0,241 nicht mehr signifikant.

Tabelle 20 Übersicht der Ergebnisse der prozentualen Methylierungswerte der CpG-Stelle im ADH1B-Gen unter Mitberücksichtigung von Visite T4 bei den Patienten

Mittelwert (SD) %	T1	T2	T3	T4	p-Wert
Patienten	43,5 (5,4)	42,3 (6,0)	41,9 (5,6)	42,5 (9,2)	0,241

Tabelle 21 zeigt den Vergleich der Mittelwerte der prozentualen Methylierungswerte der CpG-Stelle im ADH1B-Gen der Patienten mit den Kontrollen. Es ist ersichtlich, dass bei den Visiten T1-3 signifikante Unterschiede zwischen den Patienten und Kontrollen bestanden. Bei Visite T4, bei der nur 7 Patienten rekrutiert werden konnten, konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p = 0,454$).

Tabelle 21 Vergleiche der Mittelwerte der Methylierungswerte der CpG-Stelle im ADH1B-Gen zwischen den Visiten T1-4 der Patienten und der Kontrollen

	Mittelwert Patient	Mittelwert Kontrolle T1	p
Kontrolle T1 vs. Patient T1	43,5	39,7	<0,001
Kontrolle T1 vs. Patient T2	42,3	39,7	0,016
Kontrolle T1 vs. Patient T3	41,9	39,7	0,033
Kontrolle T1 vs. Patient T4	42,5	39,7	0,454

Die Abbildung 12 und Abbildung 13 stellen die oben genannten Ergebnisse grafisch als Boxplots dar. In Abbildung 13 wurde die Visite T4 mitberücksichtigt.

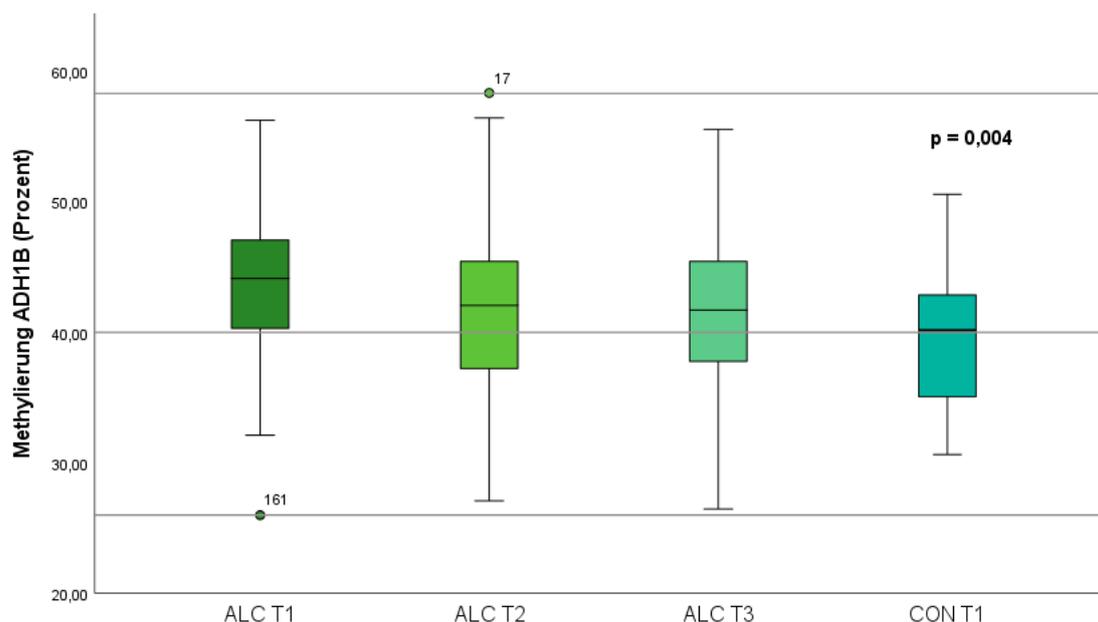


Abbildung 12 Boxplots des Methylierungsgrades der CpG-Stelle im ADH1B-Gen in % der Patienten (ALC) bei Visiten T1-3 und der Kontrollen bei T1 (CON); 3 zusätzliche y-Positionen kennzeichnen den Mittelwert der Kontrollgruppe (mittlere Linie) sowie Minimum und Maximum (obere und untere Linie) über alle Messzeitpunkte

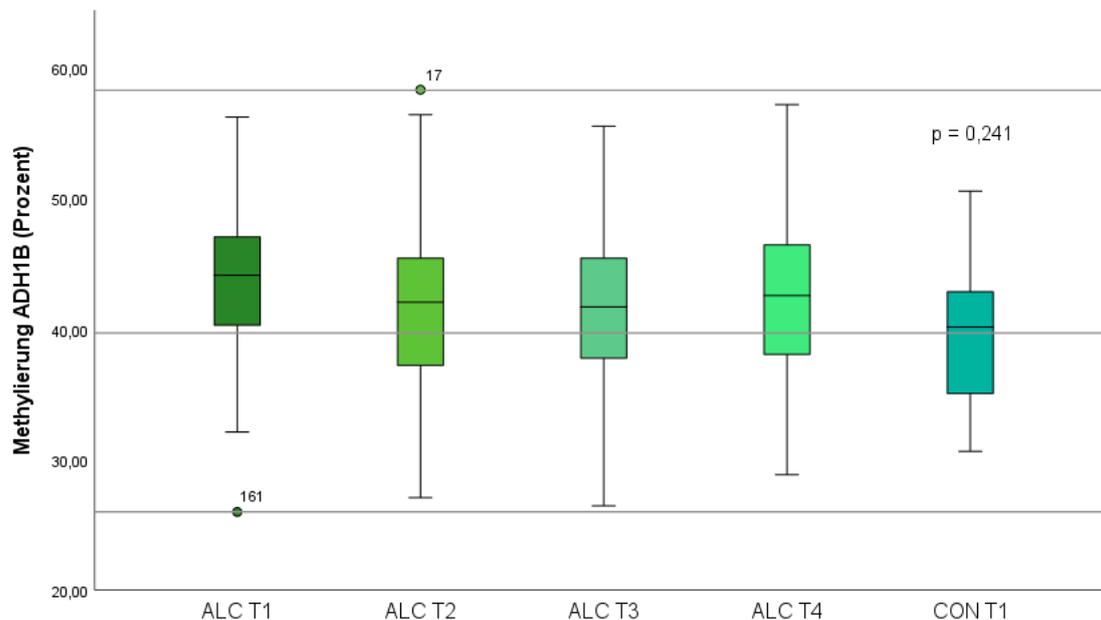


Abbildung 13 Boxplots des Methylierungsgrades der CpG-Stelle im ADH1B-Gen in % der Patienten (ALC) bei Visiten T1-4 und der Kontrollen bei T1 (CON); 3 zusätzliche y-Positionen kennzeichnen den Mittelwert der Kontrollgruppe (mittlere Linie) sowie Minimum und Maximum (obere und untere Linie) über alle Messzeitpunkte

4.5.1 Korrelation zwischen Biomarker und demographischen Einflussvariablen sowie Alkoholkonsum

Um eine eventuelle Beziehung zwischen der Methylierung der CpG-Stelle im ADH1B-Gen und anderen Variablen aufzudecken, wurden Korrelationsanalysen nach Spearman durchgeführt, um Einflussvariablen zu untersuchen. Berücksichtigt wurden Alter, Rauchen, eingenommene Oxazepam-Dosis und die Trinkmenge.

Tabelle 22 Korrelationen zwischen Methylierungswerten der CpG-Stelle im ADH1B-Gen zum Zeitpunkt der Aufnahme (T1) und mehreren Variablen

	Methylierung zum Zeitpunkt T1	
Alter (Probanden)	r = -0,195	(p = 0,135)
Alter (Kontrollen)	r = -0,016	(p = 0,465)
Rauchen	r = -0,185	(p = 0,466)
gesamte Oxazepam-Dosis	r = -0,326	(p = 0,052)
durchschnittliche Trinkmenge	r = -0,049	(p = 0,789)
maximale Trinkmenge in 24h	r = -0,105	(p = 0,512)

Wie in Tabelle 22 ersichtlich zeigte keine der untersuchten Variablen eine signifikante Korrelation mit den Methylierungswerten von ADH1B zum Zeitpunkt der Aufnahme (T1). Lediglich die Korrelation zwischen Methylierungswerten und der Oxazepam-Dosis sowie der maximalen Trinkmenge in 24 Stunden zeigten einen grenzwertigen p-Wert.

Weiterhin wurde eine mögliche Korrelation zwischen Alkoholkonsum und Alter untersucht. Es wurde eine schwache bis moderate negative Korrelation zwischen Alter und durchschnittlicher täglicher Alkoholmenge ($r = -0,378$, $p = 0,030$) sowie maximaler täglicher Alkoholmenge ($r = -0,316$, $p = 0,044$) gefunden, welche beide Signifikanzen zeigten. Tendenziell tranken ältere Probanden im Schnitt weniger als die jüngeren (siehe Abbildung 14 und 15).

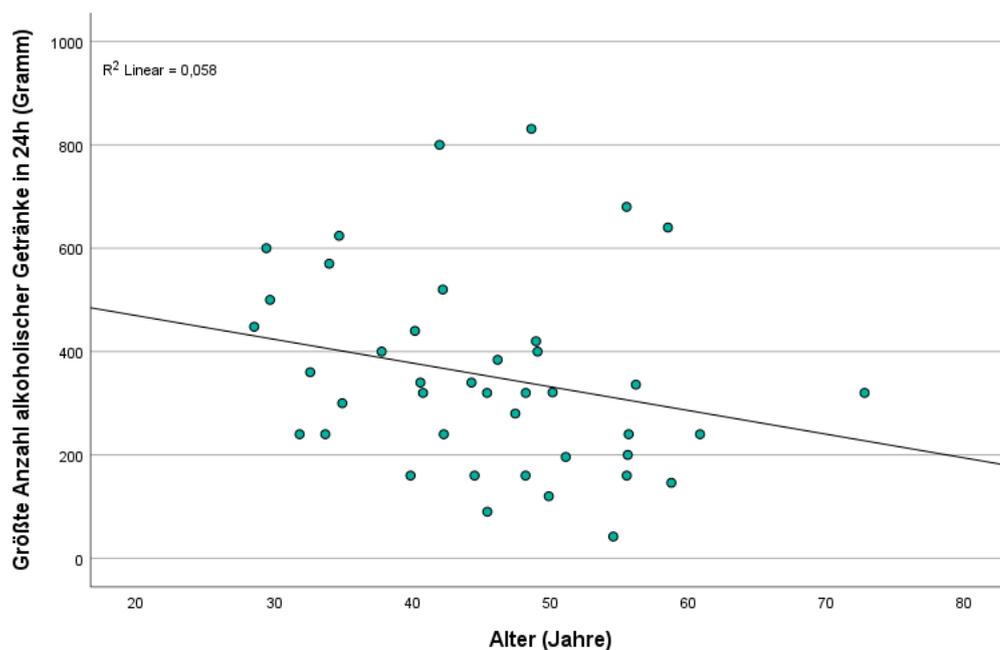


Abbildung 14 Streudiagramm mit Trendlinie; Korrelation zwischen Alter und größter Anzahl alkoholischer Getränke innerhalb von 24h

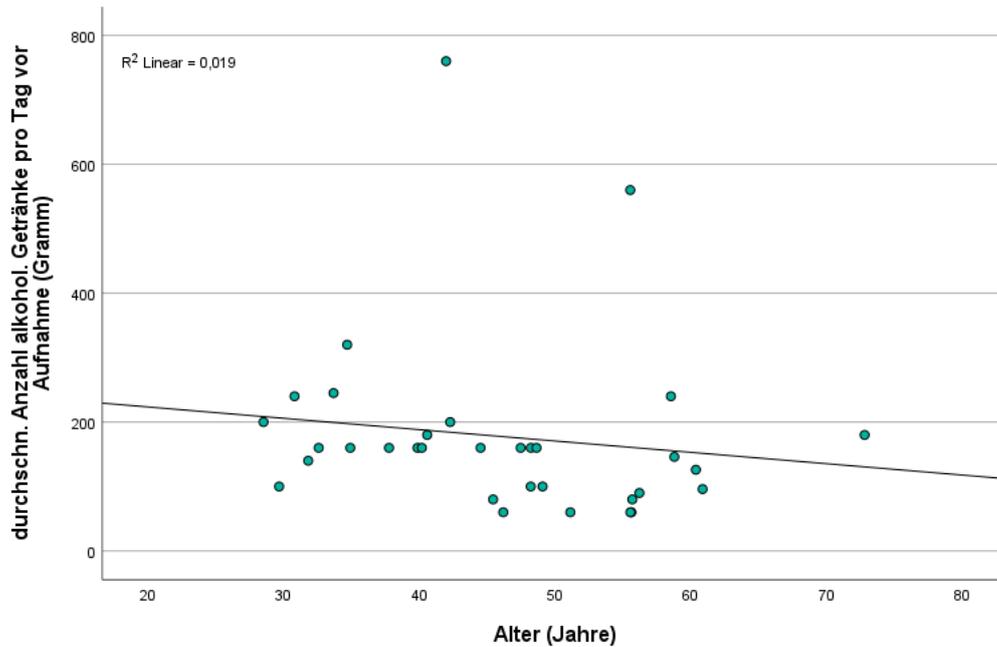


Abbildung 15 Streudiagramm mit Trendlinie; Korrelation zwischen Alter und durchschnittlicher Trinkmenge pro Tag vor Aufnahme

Man kann erkennen, dass die Daten in Abbildung 14 stärker um die Linie streuen als in Abbildung 15, bei den Daten, abgesehen von zwei größeren Ausreißern, sich in der Nähe der Trendlinie befinden.

Außerdem wurde analysiert, ob die durchschnittliche mit der maximalen täglichen Trinkmenge korrelieren (siehe Abbildung 16). Hierbei konnte eine moderate positive Korrelation festgestellt werden mit $r = 0,520$ ($p = 0,003$). Die Probanden, die täglich im Durchschnitt mehr tranken, neigten eher dazu, auch innerhalb von 24 Stunden größere Mengen zu trinken.

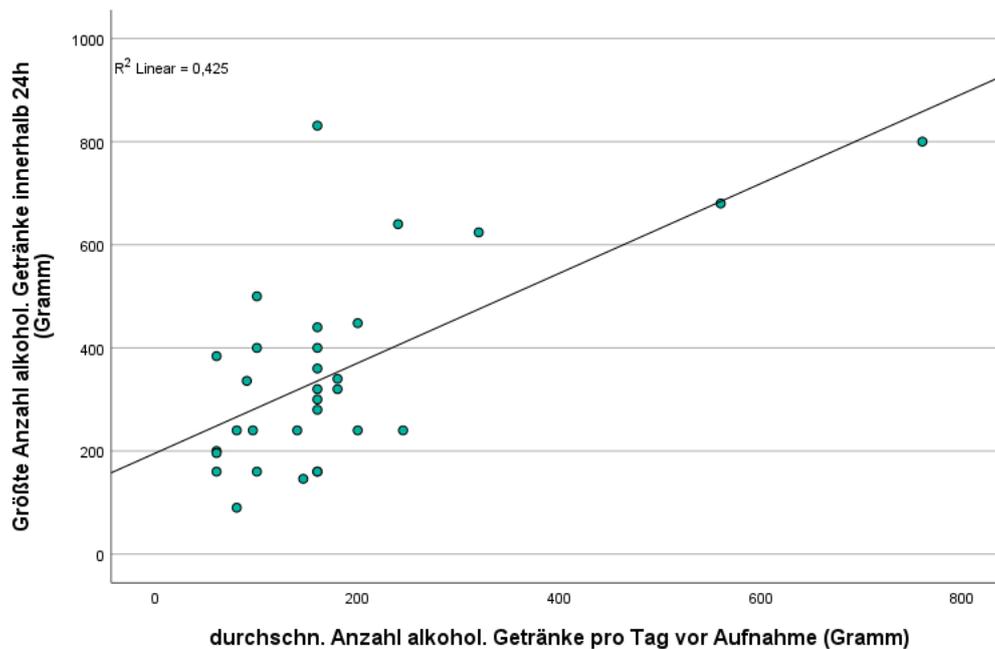


Abbildung 16 Streudiagramm mit Trendlinie; Korrelation zwischen durchschnittlicher Trinkmenge pro Tag und maximaler Trinkmenge innerhalb 24h

Schließlich wurde mittels einer Regressionsanalyse untersucht, welche der Variablen das Outcome Methylierung über die Zeit beeinflussen. Da sich das Outcome über die Zeit ändert, wurden gemischte lineare Modelle herangezogen.

Tabelle 23 univariates Regressionsmodell; KI = Konfidenzintervall

Einflussvariable	Schätzer	95% KI	p-Wert
Alter (per 10 Jahre)	-1.15	(-2.43, 0.12)	0.080
Oxazepam (per 10 mg)	-0.01	(-0.05, 0.02)	0.331
Trinkmenge max (per 10 g)	-0.03	(-0.12, 0.05)	0.448
Trinkmenge im Alltag (per 10 g)	-0.03	(-0.15, 0.09)	0.653

Tabelle 23 zeigt die Ergebnisse der univariaten Analyse. Die univariate Analyse untersucht den Einfluss von einer Variable auf das Outcome. Bei den untersuchten Variablen Alter, Oxazepam-Dosis, maximaler und durchschnittlicher Trinkmenge konnte kein statistisch signifikanter Einfluss festgestellt werden. Das bedeutet, für das Beispiel Alter, dass pro 10 Jahre Alterszuwachs, sich die Methylierungswerte um 1,15 Prozent (KI -2,43; 0,12) reduzierten, was nicht signifikant war ($p = 0,080$).

Tabelle 24 multivariates Regressionsmodell mit maximaler Trinkmenge pro 24h; KI = Konfidenzintervall

Einflussvariable	Schätzer	95% KI	p-Wert
Alter (per 10 Jahre)	-0.84	(-2.7, 1.02)	0.401
Oxazepam (per 10 mg)	-0.02	(-0.06, 0.01)	0.164
maximale Trinkmenge pro 24h (per 10 g)	-0.01	(-0.11, 0.07)	0.717

Tabelle 25 multivariates Regressionsmodell mit durchschnittlicher Trinkmenge vor Aufnahme; KI = Konfidenzintervall

Einflussvariable	Schätzer	95% KI	p-Wert
Alter (per 10 Jahre)	-0.42	(-2.33, 1.49)	0.683
Oxazepam (per 10 mg)	-0.02	(-0.05, 0.02)	0.309
durchschnittliche Trinkmenge vor Aufnahme (per 10 g)	-0.03	(-0.15, 0.10)	0.703

Anschließend wurden multivariate Modelle berechnet. Hierbei wird der Einfluss von mehreren Variablen auf das Outcome zusammen betrachtet. Dabei wird der Effekt von einer Einflussvariable auf den Effekt der anderen adjustiert. Da die maximale und die durchschnittliche Trinkmenge miteinander korrelierten ($r = 0,520$; $p = 0,003$; siehe Abbildung 16) und Regressionsmodelle eine Unabhängigkeit der Einflussvariablen voraussetzen, wurden zwei Modelle mit jeweils einer dieser Trinkmengen-Variablen berechnet. Die Ergebnisse sind in Tabellen 24 und 25 aufgeführt. Bei keinem der beiden berechneten Varianten konnte ein Einfluss der Variablen auf die prozentualen Methylierungswerte der CpG-Stelle im ADH1B-Gen über die Zeit beobachtet werden. Als Beispiel sei hier wieder das Alter als Einfluss auf die Methylierung genannt. Hierbei zeigt sich pro 10 Jahre Alterszuwachs und unabhängig von den Effekten der Oxazepam-Dosis und der durchschnittlichen Trinkmenge vor Aufnahme, eine Abnahme der Methylierung von etwa 0,42 Prozent (KI -2,33; 1,49), was nicht signifikant ist ($p = 0,683$). Während also bei der univariaten Analyse der Effekt bei etwa 1,15 Prozent lag, reduzierte sich dieser bei der multivariaten Analyse unter Rücksichtnahme der Oxazepam-Dosis und durchschnittlichen Trinkmenge auf 0,42 Prozent, wobei beide Ergebnisse keine statistische Signifikanz erwiesen.

4.5.2 Korrelation zwischen Biomarker und Ergebnisse der Fragebögen

Tabelle 26 Korrelation zwischen Methylierung der CpG-Stelle im ADH1B-Gen und Subskalen der Fragebögen BIS, IRQ und CTQ

	Methylierung ADH1B	
BIS - nicht-planende Impulsivität	r = 0,370	p = 0,029
BIS - motorische Impulsivität	r = 0,279	p = 0,094
BIS - aufmerksamkeitsbasierte Impulsivität	r = 0,277	p = 0,102
IRQ - Automtizität	r = 0,355	p = 0,029
IRQ - Geschwindigkeit	r = 0,221	p = 0,182
IRQ - Kontrolldefizit	r = 0,242	p = 0,149
IRQ - Verleugnung	r = 0,038	p = 0,819
IRQ - Kapazität für Verzögerung	r = -0,384	p = 0,019
IRQ - Gesamtscore	r = 0,122	p = 0,487
CTQ - emotionale Misshandlung	r = -0,05	p = 0,972
CTQ - körperliche Misshandlung	r = -0,144	p = 0,341
CTQ - sexueller Missbrauch	r = -0,077	p = 0,620
CTQ - emotionale Vernachlässigung	r = 0,082	p = 0,607
CTQ - körperliche Vernachlässigung	r = -0,289	p = 0,054

In Tabelle 26 sind die Korrelationskoeffizienten und p-Werte aufgezählt. Signifikante Ergebnisse wurden in fetter Schrift markiert. Abgesehen von den Subskalen „Automtizität“ (moderate positive Korrelation) und „Kapazität für Verzögerung“ (moderaten negativen Korrelation) des IRQ und der BIS-Subskala „nicht-planende Impulsivität“ (moderate positive Korrelation) konnten keine signifikanten Korrelationen festgestellt werden.

Die Subskala „körperliche Vernachlässigung“ des CTQ zeigte eine moderate negative Korrelation mit knapper Signifikanz von $p = 0,054$.

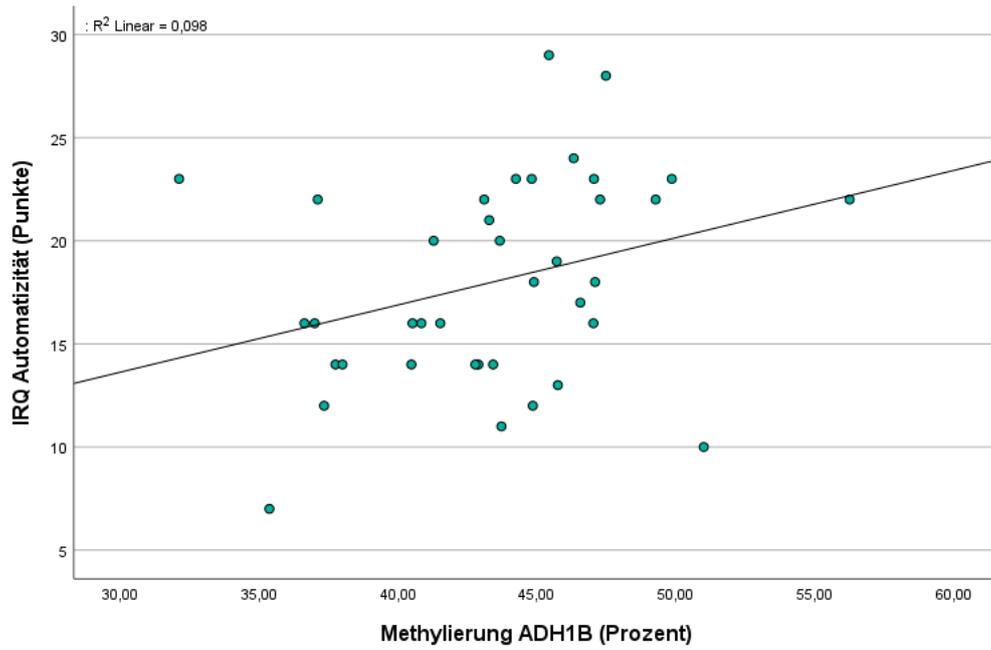


Abbildung 17 Streudiagramm mit Trendlinie; Korrelation zwischen Methylierung der CpG-Stelle im ADH1B-Gen und IRQ Subskala „Automtizität“

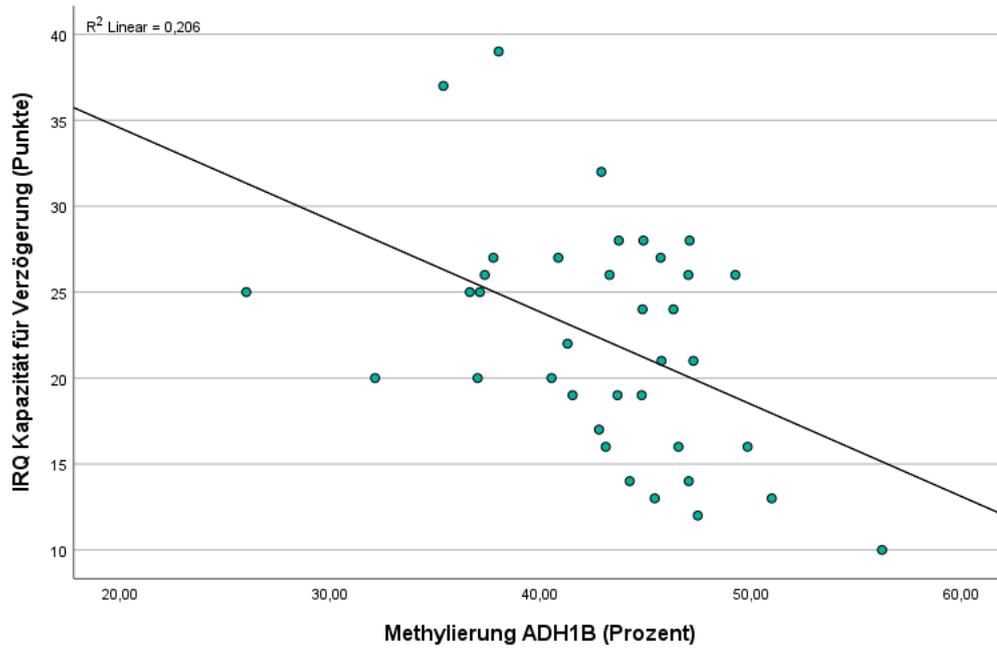


Abbildung 18 Streudiagramm mit Trendlinie; Korrelation zwischen Methylierung der CpG-Stelle im ADH1B-Gen und IRQ Subskala „Kapazität für Verzögerung“

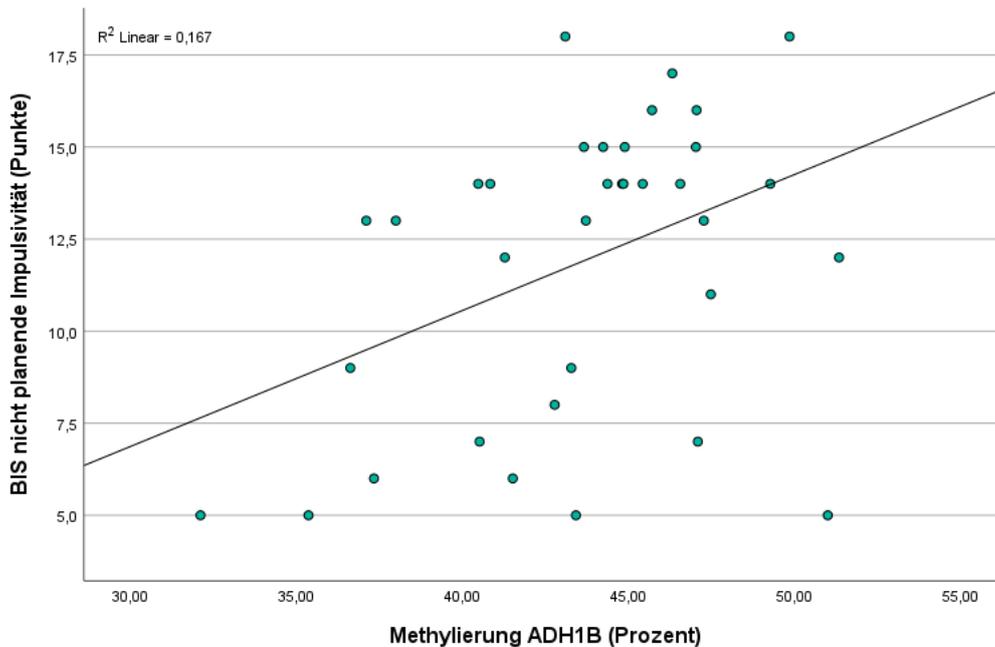


Abbildung 19 Streudiagramm mit Trendlinie; Korrelation zwischen Methylierungswerten der CpG-Stelle im ADH1B-Gen und BIS Subskala „nicht-planende Impulsivität“

In Abbildungen 17 bis 19 wurden die in Tabelle 26 gezeigten signifikanten Ergebnisse als Streudiagramme mit Trendlinien grafisch dargestellt. Hierbei ist erkennbar, dass die Punkte zum Teil weit von der Trendlinie entfernt liegen. Dies gibt auch das Bestimmtheitsmaß R^2 wieder, welches 0,206 und weniger beträgt, also eine höhere Streuung der Daten.

4.6 Analyse des Polymorphismus

Für die Analyse des ADH1B rs1229984 Polymorphismus konnten zusätzlich Proben aus der Biobank der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie verwendet werden. Somit konnte die Anzahl der verwertbaren Proben bei den Probanden auf 105 gesteigert werden. Bei den Kontrollen waren 50 Proben für die Analyse des Polymorphismus verwertbar. Es wurde untersucht, ob jeweils die T (Thymin) oder C (Cytosin)-Variante vorlag (siehe Kapitel 1.9.1). Die T-Variante führt zur funktionellen Konsequenz des Polymorphismus.

Die Auswertung zeigte, dass lediglich 2 Probanden und 2 Kontrollen die T-Variante besaßen. Das entspricht in unserem Probandenkollektiv einer Prävalenz von etwa 1,9 Prozent und in unserem Kontrollkollektiv einer von 4,0

Prozent. Dies entspricht etwa der allgemeinen Prävalenz von etwa 4 Prozent. Weder ein Vergleich der Genotypen noch der Allelverteilung erbrachten signifikante Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen. Aufgrund der geringen Frequenz des T-Allels und der geringen Stichprobengröße wurde auf korrelative Untersuchungen hinsichtlich der klinischen Variablen verzichtet.

5. Diskussion

Im Folgenden werden die Methoden und Ergebnisse der Studie diskutiert. Aktuell gibt es wenig explizite Literatur zu der hier gemessenen ADH1B-Methylierung und wenig Studien mit einem vergleichbaren Studienaufbau. Deswegen wird diese Studie auch mit Veröffentlichungen mit unterschiedlichen Ansätzen verglichen.

5.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Frage, ob bei alkoholabhängigen Männern, welche sich zu einer stationären Entzugstherapie einfanden, signifikante epigenetische Veränderungen hinsichtlich der DNA-Methylierung im Promotorbereich des ADH1B-Gens im Verlauf des Entzuges auftraten. Dabei konnten 60 Probanden und 51 Kontrollen eingeschlossen werden. Den Probanden wurde vier Mal Blut abgenommen: bei Aufnahme (T1), nach 7 Tagen (T2), nach 14 Tagen (T3) und nach 6 Monaten (T4). 60 Probanden durchliefen die Zeitpunkte T1 bis T3. Für die letzte Untersuchung (T4) nach sechs Monaten konnten leider nur 7 Probanden rekrutiert werden. Den Kontrollen wurde einmal Blut abgenommen (T1). Es wurde die Methylierung einer CpG-Stelle im Promotorbereich des ADH1B-Gens in der DNA peripherer Blutzellen untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass die Probanden eine signifikant höhere prozentuale Methylierung aufwiesen als die Kontrollen ($p < 0,001$). Außerdem konnte die Studie darlegen, dass die prozentuale Methylierung der Probanden im zeitlichen Verlauf des Entzuges (T1 bis T3) signifikant abnahm ($p = 0,004$). Schloss man den Zeitpunkt nach 6 Monaten (T4) ein, konnte keine signifikante Abnahme beobachtet werden.

Eventuelle Einflussfaktoren auf die Methylierung, wie Oxazepam-Einnahme der Probanden, Alter, Rauchen oder Trinkmenge, konnten nicht eruiert werden.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Drop-Outs

An dieser Stelle sollen die Drop-Outs besprochen werden. Nicht alle Patienten haben an allen Visiten teilgenommen. Es gab unterschiedliche Gründe dafür, wieso nicht bei allen rekrutierten Patienten alle Blutabnahmen durchgeführt werden konnten. Diese Gründe waren:

Erstens, die Meinung des Patienten änderte sich und er wollte nicht weiter an der Studie teilnehmen.

Zweitens, die Entzugsbehandlung wurde vorzeitig, das heißt vor Verstreichen der 14 Tage, abgebrochen, sodass der T3- und zum Teil der T2-Termin nicht wahrgenommen werden konnten.

Drittens, für den T4-Termin waren vor allem fehlende Erreichbarkeit, erschwerte soziale Verhältnisse oder Motivation des Patienten ausschlaggebend.

Die Patienten, die aufgrund der ersten beiden Gründe ausschieden, wurden in die Analyse nicht miteinbezogen. Das bedeutet, dass nur Patienten, die einverstanden waren und an den Visiten T1-3 teilnahmen, in die Analyse dieser Studie aufgenommen wurden.

5.2.2 Stichprobenbeschreibung

Mehr als 70 Prozent der Patienten gaben an, aktuell zu rauchen oder früher geraucht zu haben. Das deckt sich mit anderen Forschungsarbeiten zum Thema Alkoholismus und Rauchen. Nach DiFranza et al. 1990 rauchten etwa 83 Prozent der Befragten mit Alkoholabhängigkeit im Gegensatz zu 34 Prozent der Nicht-Alkoholabhängigen (80). In einer Studie von Glass et al. 2009 gaben 41,5 Prozent der Befragten an zu rauchen (81). Nach Room et al. 2004 sind 50 bis 90 Prozent der Menschen mit Alkoholabhängigkeit auch nikotinabhängig (82). In dieser Studie waren 72,1 Prozent der Patienten Raucher zum Zeitpunkt der Befragung und 27,9 Prozent Nichtraucher. Damit decken sich die Daten mit den Vergleichsstudien. Dass alkoholabhängige Menschen oft gleichzeitig Raucher sind, könnte kein Zufall sein. Die Studie von True et al. 1999 stellte fest, dass

eine gemeinsame „genetische Vulnerabilität“, also eine genetische Disposition für Nikotin- und Alkoholabhängigkeit bei Männern wahrscheinlich ist (83).

In dieser Arbeit wurde die Menge an eingenommenem Oxazepam der Patienten während der Entzugsbehandlung sowie eine mögliche Korrelation mit den Methylierungswerten einer CpG-Stelle im Promotorbereich des ADH1B Gens beschrieben. Auch andere Studien dokumentierten dies. In der Arbeit von Soundararajan et al. 2021 wurde die Einnahme von Benzodiazepinen als Teil der Therapie des Entzuges der Probanden erwähnt, allerdings nicht weiter beschrieben (60). Die Autoren Koller et al. 2019 erwähnten, dass in ihrer Studie keine Korrelation zwischen Oxazepam-Dosis und globaler DNA-Methylierung gefunden werden konnte (77).

Da viele Menschen mit Alkoholabhängigkeit Depressionen haben, wurde diese psychiatrische Diagnose als Komorbidität in der vorliegenden Arbeit akzeptiert, obwohl andere psychiatrische Diagnosen ein Ausschlusskriterium darstellten, wie in Kapitel 3.2.1 bereits diskutiert. Andere Studien in diesem Forschungsgebiet stellte diese Tatsache vor eine ähnliche Herausforderung. Die Studie von Liu et al. 2004 nahm alkoholabhängige Probanden mit Depression, Angststörungen sowie antisozialer Persönlichkeitsstörung auf (14). Weitere Studien, die mit dieser Arbeit verglichen wurden, machten hierzu keine Aussage, was entweder darauf schließen lässt, dass keine anderen Komorbiditäten eingeschlossen wurden oder eine eventuelle Depression bei den Probanden nicht näher untersucht wurde.

5.2.3 Alkoholkonsum

Das durchschnittliche Anfangsalter für regelmäßiges Trinken lag in unserer Stichprobe bei 25,0 Jahren (SD 10,4). Bei Sun et al. 2019 lag das Anfangsalter bei 22,67 (SD 7,09) (84). In der Studie von Liu et al. 2004 wurden mono- und dizygotische Zwillinge mit Alkoholabhängigkeit verglichen. Dort lag das Anfangsalter der Alkoholabhängigkeit von monozygotischen Zwillingen bei 25,4 Jahren (SD 6,3) und von dizygotischen Zwillingen bei 25,2 Jahren (SD 6,5) (14). In diesen drei Studien ist das Anfangsalter der Probanden sehr vergleichbar.

Die durchschnittliche Trinkmenge pro Tag lag in unserem Patientenkollektiv bei 179,5 Gramm Alkohol (SD 150,1) und die maximale Trinkmenge in 24 Stunden bei 362,6 Gramm Alkohol (SD 175,0). In einer vergleichbaren Studie von Sun et al. 2019 wurden diese Daten ebenso erhoben, nur in Standardgetränken dargestellt. Die Studie von Sun et al. 2019 wurde in China durchgeführt. Die Autoren gaben nicht an, wieviel Gramm Alkohol ein Standardglas in ihren Befragungen enthielt. In China enthält offiziell ein Standardglas, ähnlich wie in Deutschland, zehn Gramm Alkohol (5). Somit erhält man nach Umrechnung folgende Ergebnisse aus der Studie Sun et al. 2019: Durchschnittliche Trinkmenge pro Tag 76,9 Gramm Alkohol (SD 69,1), maximale Trinkmenge in 24 Stunden 101,0 Gramm Alkohol (SD 88,1) (84). Damit ist die Alkoholmenge bei Sun et al. viel geringer als in dieser Studie. Vergleichbar sind dafür die großen Standardabweichungen, die auf individuelle Trinkgewohnheiten zurückzuführen sind. In einer Studie von Koller et al. 2019, die sich mit globaler Methylierung der DNA bei Alkoholabhängigkeit auseinandersetzte, lag die durchschnittliche Trinkmenge vor Aufnahme bei etwa 113,33 Gramm Alkohol pro Tag (SD 46,8) (77). Zwar ist hier die Standardabweichung kleiner als in dieser Arbeit und der von Sun et al. 2019, dennoch spiegelt dies die große Bandbreite der Trinkgewohnheiten von alkoholabhängigen Probanden wider. Demnach ist eine genaue Interpretation der Trinkmengen einer Stichprobe von alkoholabhängigen Menschen schwierig, da nicht die Menge an getrunkenem Alkohol die Sucht ausmacht, sondern andere Faktoren, wie Suchtdruck und Toleranzentwicklung (siehe Kapitel 1.1).

5.2.4 Fragebögen

Die Auswertung der unterschiedlichen Fragebögen konnte zeigen, dass viele gängige Verhaltensweisen, wie Impulsivität, bei dem Patientenkollektiv zu einem Teil zutrafen. Dabei zeigte sich, dass manche Individuen stärker betroffen waren als andere. Jedoch konnten nicht alle Fragebögen ausgewertet werden. Das lag hauptsächlich daran, dass diese nicht vollständig oder falsch bearbeitet wurden oder zu einer Frage keine Aussage gemacht werden wollte. Wenn Fragebögen Probanden zur selbstständigen Bearbeitung gegeben werden, besteht das allgemeine Risiko, dass diese nicht gewissenhaft durchgeführt werden. Man

kann Patienten mit monetären Maßnahmen zur Teilnahme motivieren, hingegen muss es akzeptiert werden, wenn ein Proband einen Fragebogen nicht beantworten möchte.

Diskussion des CTQ

Die Ergebnisse des CTQ zeigen, dass ein nicht zu vernachlässigender Anteil der Patienten Missbrauch bzw. Vernachlässigung in ihrer Kindheit erfuhren. Nämlich 15,6 Prozent erlebten nach eigenen Aussagen körperliche Misshandlung und 18,2 Prozent emotionale Misshandlung. Die Anteile der körperlichen bzw. emotionalen Vernachlässigung liegen höher. Es gibt Hinweise darauf, dass Missbrauch und Misshandlung in der Kindheit zu einer erhöhten Prädisposition für psychische Erkrankungen führen. In der Studie von Wingo et al. 2014, die sich mit dem Zusammenhang zwischen Substanzabhängigkeit und kindlicher Misshandlung auseinandersetzte, kamen die Autoren zu dem Schluss, dass Kinder, die misshandelt wurden oder traumatische Erlebnisse erfuhren, später in ihrem Leben ein höheres Risiko für Abhängigkeit, aber auch für Depression, Suizidalität und posttraumatische Belastungsstörung hatten (85). Ein großer Anteil, nämlich 29,6 Prozent, fiel in die Untergruppe körperliche Vernachlässigung. Wie in Kapitel 3.4.1 bereits beschrieben, war diese Subskala die Einzige, die nicht dasselbe Maß an Sensibilität aufbringen konnte wie die anderen. Das liegt daran, dass sich für diese Subskala, im Gegensatz zu den anderen, kein signifikanter Unterschied im Hinblick auf die Lebenszeitprävalenz für Depressionen ergab (68). Daher kann für die Subskala körperliche Vernachlässigung keine verlässliche Aussage gemacht werden.

Diskussion des FHAM

21,6 Prozent der Mütter und 27 Prozent der Väter der befragten Probanden tranken nach deren Aussage mehr als vorgehabt. Jene Väter und die Hälfte dieser Mütter konnten nicht mit dem Trinken von Alkohol aufhören. Eine Diagnosestellung konnte in diesem Rahmen nicht stattfinden. Dennoch ist dies ein Hinweis für einen riskanten Alkoholkonsum bei vielen Eltern der Probanden. In Kapitel 1.3 wurde das bio-psycho-soziale Modell als Erklärungsmöglichkeit für die Entstehung einer Alkoholabhängigkeit erklärt. Dort wurde erwähnt, dass ein problematisches Trinkverhalten der Eltern die Entstehung eines ebenso

problematischen Verhaltens bei den Kindern begünstigen kann. Es konnte gezeigt werden, dass Kinder alkoholabhängiger Elternteile ein höheres Risiko für die Entstehung einer Alkoholabhängigkeit und Depression haben. Dies sei vor allem darauf zurückzuführen, da die Kinder solcher Eltern vermehrt negative Erfahrungen, wie Misshandlung, psychische Erkrankungen der Eltern, Trennung von den Eltern oder Suizidversuche der Mutter oder des Vaters, in ihrer Kindheit machen (86). Dies deckt sich ebenso mit den Ergebnissen des CTQ bei den Probanden (siehe Diskussion des CTQ).

Diskussion des IRQ

Der IRQ ist ein Fragebogen, der das Verhalten des Probanden bei einem Rückfall festhalten sollte. Dabei wurden Subskalen erhoben, wie die Automtizität des Verhaltens, inwiefern der Proband seinen Rückfall leugnet und wie schnell es nach dem Aufkommen des Bedürfnisses zum Rückfall kommt bzw. wie lange der Proband dem Suchtdruck widerstehen kann. Damit soll abgeschätzt werden, ob jemand eher zu einem Rückfall neigt.

Dabei konnte in einer Arbeit von Stoltman et al. 2015 gezeigt werden, dass vor allem hohe Werte in der Subskala „Geschwindigkeit“ und niedrige Werte bei der Subskala „Kapazität für Verzögerung“ eine Impulsivität bei Abhängigkeit widerspiegeln (87). Die Arbeit von Stoltman et al. 2015 bezog sich vorwiegend auf Menschen mit einer Opiatabhängigkeit bzw. Polytoxikomanie. Eine Opiatabhängigkeit unterscheidet sich von einer Alkoholabhängigkeit vor allem in der schnelleren Entstehung und den höheren sozioökonomischen Risiken, die die Betroffenen eingehen. Außerdem besteht bei einer Opiatabhängigkeit in der Regel ein höherer Suchtdruck als bei Alkoholabhängigkeit. Die Mechanismen eines Rückfalls sind allerdings bei beiden Abhängigkeitsformen ähnlich, sodass davon ausgegangen werden kann, dass die oben erwähnten Subskalen auch für den Rückfall bei Alkoholabhängigkeit eine Rolle spielen. Zudem sei genannt, dass Rückfälle meist multifaktoriell bedingt sind und nicht unbedingt einem bestimmten Parameter zugeordnet werden können (88). Die Probanden erreichten in der Subskala „Geschwindigkeit“ im Mittel 11,3 Punkte (SD 3,8) und in der Subskala „Kapazität für Verzögerung“ 22,2 Punkte (SD 6,6). Damit wurden hohe Werte in diesen Subskalen erreicht, was für eine hohe Impulsivität bei dem Kollektiv sprechen könnte.

Diskussion des BIS-15

Im BIS-15 wird, wie beim IRQ, die Impulsivität des Betroffenen gemessen. Allerdings ist hier die allgemeine und nicht die suchtspezifische Impulsivität gemeint. Während beim IRQ Items vorkamen, die speziell auf den Substanzabusus abzielten, werden beim BIS-15 Fragen gestellt, wie „Ich plane meine Vorhaben gründlich.“, „Ich sichere mich im Leben in allen Dingen ab.“ und „Ich kaufe Sachen ganz spontan.“

Hohe Impulsivität kann einerseits ein Indikator einer Alkoholabhängigkeit sein, andererseits durch eine Abhängigkeit verstärkt werden, besonders bei Menschen mit initial erhöhter Impulsivität. Eine stark ausgeprägte Impulsivität korreliert mit einer schwer verlaufenden Abhängigkeit, respektive vielen Rückfällen und erschweren Entzügen (89).

Bei den befragten Probanden lagen die Mittelwerte der Subskalen in den mittleren Bereichen, die Spannweiten deckten allerdings den vollen Punkterahmen ab. Das spricht dafür, dass das Kollektiv sehr heterogen ist und entsprechend Probanden mit wenig bis hohen Werten für eine allgemeine Impulsivität zu finden sind. Dies passt zu den Beobachtungen, dass manche Betroffene einen leichteren Verlauf der Abhängigkeit mit längerer Abstinenz und weniger Rückfällen aufweisen als andere.

Es gibt Hinweise, dass der BIS mit dem ADH1B Polymorphismus rs1229984 korreliert. Dabei korreliert besonders die Subskala „nicht-planende Impulsivität“ mit rs1229984. Die Autoren von Sun et al. 2019 legten nahe, dass die durch BIS ermittelte Impulsivität einerseits die Vulnerabilität des rs1229984 Polymorphismus auf die Schwere der Alkoholabhängigkeit vermittelt und andererseits rs1229984 bei Alkoholabhängigen den Schweregrad der Abhängigkeit beeinflusst (84). Das bedeutet, nach aktuellem Stand scheint die Beziehung wechselseitig zu sein, wobei es sich hierbei um Anhaltspunkte und nicht um ein vollständig erfasstes Forschungsgebiet handelt.

Diskussion des SSAGA

Der SSAGA ist ein viel verwendetes Interview in der Forschung zu Alkoholabhängigkeit, da es ein breites Spektrum erfasst und erlaubt, die genaue Historie und Situation des Probanden zu erfragen. Es ist umfangreicher als der ebenso häufig zur Diagnosestellung benutzte AUDIT (siehe Kapitel 1.4). So

verwendete auch Koller et al. 2019 und Lai et al. 2019 den SSAGA zur Diagnosestellung und Datenerhebung in ihrer Studie (77).

5.2.5 Biomarker

In dieser Studie konnte in der Probandenstichprobe ein signifikanter Abfall der prozentualen Methylierungswerte einer CpG-Stelle im ADH1B Gen bei den Visiten T1 bis T3 im Vergleich zu gesunden Kontrollen festgestellt werden. Bislang gibt es nicht viele Studien, die sich mit dieser exakten Fragestellung befassten.

Koller et al. 2019 untersuchten ebenso epigenetische Veränderungen bei Alkoholabhängigen im Entzug, analysierten aber nicht einen speziellen Locus, sondern globale Effekte. Sie beobachteten eine Abnahme der globalen Methylierung bei alkoholabhängigen Probanden im Entzug in einem Zeitraum von 2 Wochen (77).

Es ist anzunehmen, dass der Effekt von Alkoholkonsum und dessen Entzug epigenetische Effekte bei einer Vielzahl von Genen aufweist. Zhang et al. 2013 führten eine genomweite Assoziationsstudie durch, um den epigenetischen Effekt von Alkoholabhängigkeit auf die DNA-Methylierung zu beobachten. Sie untersuchten 27.000 CpG-Inseln bei 63 Probanden und 65 Kontrollen und konnten an einer Vielzahl von Genloci Unterschiede in der Methylierung erkennen (53). Dabei scheint es nicht so zu sein, dass die DNA generell hypo- oder hypermethyliert wird, sondern dass es spezifische Gene gibt, bei denen Alkoholkonsum und der Entzug epigenetische Auswirkungen haben. So untersuchten Bönsch et al. 2005 das Methylierungsmuster des alpha-Synuclein Promotors bei männlichen Alkoholabhängigen im Entzug. Alpha-Synuclein spielt eine Rolle in der Modulierung von *craving*, also dem Verlangen nach Alkohol, bei Alkoholabhängigkeit. Sie konnten dabei eine signifikante Hypermethylierung erkennen. Dabei verglichen sie die Resultate mit einem Kontrollgen (Presenilin-1), bei dem keine Unterschiede festgestellt werden konnten (90). In einer zu dieser ähnlich durchgeführten Studie von Glahn et al. 2014 wurde der Grad der Methylierung am Promotor des Atrialen Natriuretischen Peptids (ANP) gemessen und eine signifikante Abnahme der Methylierung nach 7 sowie 14 Tagen Alkoholentzug beobachtet (76).

Die Ergebnisse in diesem Forschungsfeld sind allerdings nicht beständig. Soundararajan et al. 2021 konnte zwar einen signifikanten Unterschied der Methylierung von ALDH2 und MTHFR (Methylen-Tetrahydrofolat-Reduktase; wichtig für den Homocystein-Abbau) vor einem Entzug und gesunden Kontrollen feststellen, aber keinen signifikanten Unterschied nach einem Entzug in einem Beobachtungszeitraum bis zu 3 Monaten nach erfolgtem Entzug (60). Zhang et al. 2011 führten eine Studie durch, bei der sie Einflussfaktoren auf das globale DNA-Methylierungsmuster feststellen wollten. Dabei untersuchten sie soziodemographische sowie diätetische Faktoren. Sie konnten keinen Zusammenhang zwischen Alkoholkonsum und globaler DNA-Methylierung erkennen. Dazu ist zu erwähnen, dass die Autoren den Alkoholkonsum in einem Interview erhoben. Dabei gab es 3 Auswahlmöglichkeiten auf die Frage, wie häufig die Probanden Alkohol konsumierten: „niemals“, „einmal pro Monat oder weniger“ und „mehr als 2- bis 4-mal pro Monat“ (91). Entsprechend wurde hier kein Unterschied zwischen gelegentlichem Alkoholkonsum und -abhängigkeit gemacht, was eventuell andere Ergebnisse erbracht hätte.

Wie bereits erwähnt, war in der vorliegenden Arbeit der Abfall der prozentualen Methylierungswerte der CpG-Stelle im Promotorbereich des ADH1B-Gens innerhalb der ersten 2 Wochen des Entzuges signifikant. Diese Studie hatte zusätzlich zum Ziel, auch einen Langzeitwert nach 6 Monaten (T4) zu erheben. Wie bereits beschrieben (siehe Kapitel 4.1 und 5.2.1), war die erneute Rekrutierung der Probanden zur T4-Visite schwierig. Entsprechend konnten nur 7 Probanden für den Langzeitwert T4 rekrutiert werden. Diese geringe Zahl kann ein Grund dafür sein, dass die Ergebnisse nicht mehr statistisch signifikant waren. Viele Studien, die Langzeitwerte in diesem Kontext erhoben, sind nicht bekannt. Die meisten erhoben die Daten, während die Probanden im stationären Entzug waren, da dort die Bedingungen kontrolliert waren. Soundararajan et al. 2021 untersuchten 52 Probanden zu drei Zeitpunkten: vor dem Entzug, direkt nach dem Entzug und nach 3 Monaten. Sie rekrutierten alle 52 Probanden für den dritten Termin und konnten keine Unterschiede in der globalen DNA-Methylierung nach 3 Monaten feststellen. Dabei gab es keinen Unterschied zwischen Probanden, welche abstinent blieben (52 Prozent) und Probanden, welche rückfällig wurden (60).

Korrelationen der Einflussvariablen

Die prozentuale Methylierung der CpG-Stelle im ADH1B-Gen wurde mit mehreren Variablen korreliert, um einen eventuellen Zusammenhang erkennen zu können. Diese waren das Alter, das Rauchen, die Oxazepam-Dosis und die Trinkmenge. Bei keiner dieser Variablen konnte ein Einfluss auf die Methylierung von ADH1B erfasst werden.

Dass das Alter im Allgemeinen einen globalen Einfluss auf die Methylierung von Genen hat, wurde bereits mehrfach postuliert (92, 93). Dabei ist nicht die gesamte DNA gleich betroffen, sondern es scheint Loci zu geben, welche stärkere Veränderungen beim Altern aufweisen als andere (92). Johansson et al. 2013 untersuchten über 476.000 CpG-Inseln und fanden heraus, dass bei 29 Prozent dieser CpG-Inseln das Alter eine Rolle bei der Methylierung spielte. Dabei waren mit zunehmendem Alter von den 29 Prozent etwa 60 Prozent hypomethyliert und 40 Prozent hypermethyliert (94). Bei Koller et al. konnte das Alter nicht als Einflussvariable der globalen Methylierung bei alkoholabhängigen Männern im Entzug identifiziert werden (77). In der bereits oben beschriebenen Studie von Zhang et al. 2011, in der Einflussfaktoren auf die globale DNA-Methylierung untersucht wurden, konnte kein signifikanter Einfluss von Alter auf die DNA-Methylierung erkannt werden. Die Autoren legten allerdings nahe, dass in einer Studienpopulation mit einer größeren Altersspanne (sie untersuchten 161 Probanden zwischen 45 und 75 Jahren) ein signifikanter Unterschied entdeckt werden könnte (91). In Zusammenschau mit den Ergebnissen dieser Studie scheint es aktuell naheliegend, dass das Alter in der Methylierung bei Alkoholabhängigen keinen oder nur einen geringen Einfluss haben mag, besonders im Vergleich zu den Veränderungen, die Alkohol auf die Epigenetik hat.

Ähnlich verhielt es sich mit der Variable Rauchen. Der Einfluss von Rauchen wurde bei Koller et al. 2019 und Nassab et al. 2016 ebenso untersucht. Die Autoren fanden keine Korrelation zwischen Methylierung und Rauchen, wobei die Autoren Nassab et al. 2016 den Promotor des ALDH2-Gens untersuchten, ein Enzym, welches ähnlich wie ADH1B eine große Rolle im Alkoholabbau innehat (77, 95). Auch Zhang et al. 2011 fanden keinen Zusammenhang von

Rauchen und DNA-Methylierung (91). Die globale DNA betrachtet, verursacht Rauchen Veränderungen der DNA Methylierungen, was vor allem mit chronischen und Krebserkrankungen in Zusammenhang gebracht wurde (96). Gen-spezifische Methylierungen scheinen besonders beim Gen AHRR (Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor-Repressor) vorzukommen, einem Gen, welches in der Regulation der Genexpression und im Zellwachstum eine Rolle spielt (97).

Die aktuelle Datenlage zum Einfluss von Oxazepam auf die DNA-Methylierung ist komplexer. Studien, die sich direkt mit dem Thema beschäftigten, existierten zum Zeitpunkt dieser Studie nicht. Allerdings gab es Arbeiten, welche veränderte DNA-Methylierungen unter Psychopharmaka beschrieben. Die Autoren D'addario et al. 2018 untersuchten den Zusammenhang von bipolarer Störung und DNA Methylierung an spezifischen Genen. Dabei fanden sie heraus, dass bei Patienten mit bipolarer Störung die DNA-Methylierung an spezifischen Promotoren unter Therapie mit Lithium und Antikonvulsiva geringer war als bei Patienten ohne dieser Therapie (98).

Allerdings muss man unterscheiden, dass obwohl das Benzodiazepin Oxazepam eine antikonvulsive Wirkung hat, es von der Wirkung nicht mit klassischen Antikonvulsiva wie beispielsweise Valproat gleichzusetzen ist. Valproat hat eine verstärkende Wirkung des GABA-Neurotransmitter-Systems, wodurch die antikonvulsive Wirkung entsteht, und ist zugleich ein Hemmer der Histon-Deacetylase, wodurch es zu weniger DNA-Methylierung kommt (siehe Kapitel 1.8.2) (99). Durch den dadurch entstehenden Eingriff in die Epigenetik wurde die Medikation mit dem Antikonvulsivum Valproat als Ausschlusskriterium behandelt (siehe Kapitel 3.2). Andere breit eingesetzten Antikonvulsiva, wie Lamotrigin und Carbamazepin, zeigten keinen starken Einfluss auf die Genexpression (61). Oxazepam hat sein Wirkungsspektrum ebenso im GABA-System, aber ob der Wirkstoff auch direkten Einfluss auf epigenetische Mechanismen und Genexpression aufweist, ist aktuell unklar. Einige Studien in diesem Gebiet schlüsselten die Oxazepam-Gabe entweder nicht auf oder inkludierten sie nicht als mögliche Confounder-Variable (60, 76). Nassab et al. 2016 setzten statt Oxazepam Carbamazepin und Clomethiazol ein, machten allerdings keine Angaben zu Confounder-Analysen (95). In der Studie von Koller et al. 2019 zeigte die Oxazepam-Einnahme keinen signifikanten Einfluss auf die globale

Methylierung bei Alkoholabhängigen (77). In Zusammenschau kann man zusammenfassen, dass in diesem Gebiet noch weiter geforscht werden muss. In dieser Studie konnte kein Einfluss von Oxazepam auf die Methylierung der analysierten CpG-Stelle im ADH1B-Gen über die Zeit festgestellt werden.

Die durchschnittliche Trinkmenge pro Tag vor Aufnahme und die maximale Trinkmenge innerhalb 24 Stunden korrelierten nicht mit den prozentualen Methylierungswerten von ADH1B zum Zeitpunkt der Aufnahme. Daraus lässt sich ablesen, dass nicht zwangsläufig die Menge des getrunkenen Alkohols das Ausmaß der Methylierung beeinflusst, sondern die Dauer des Konsums von größerer Bedeutung sein könnte. So untersuchten auch Koller et al. 2019 unter anderem die durchschnittliche Trinkmenge vor Aufnahme und die Dauer der Alkoholabhängigkeit als Einflussvariablen. Sie konnten keinen Einfluss auf die globale Methylierung feststellen (77).

Korrelationen der Fragebögen

Es wurden etwaige Zusammenhänge zwischen den Subskalen der Fragebögen und der prozentualen Methylierungswerte der analysierten CpG-Stelle im ADH1B-Gen bei Aufnahme durchgeführt. Bei den meisten Subskalen lagen die Werte deutlich über dem Signifikanzniveau. Lediglich bei drei Subskalen konnte ein signifikantes Ergebnis eruiert werden: „BIS – nicht-planende Impulsivität“, „IRQ – Kapazität für Verzögerung“ und „IRQ – Automatizität“. Aufgrund fehlender Vergleichsarbeiten ist es schwer, diese Ergebnisse einzuordnen. Sicherlich sind größere Fallzahlen ein Weg, um mehr Klarheit zu schaffen. Sind die Ergebnisse reproduzierbar, könnte man deutlichere Zusammenhänge zwischen Methylierung der ADH1B CpG-Stelle und den entsprechenden Subskalen erkennen.

5.2.6 Polymorphismus

Die Auswertung der Prävalenz des Polymorphismus im untersuchten Kollektiv ergab bei den Probanden eine niedrigere Prävalenz als bei den Kontrollen. Da es sich um den funktionellen Polymorphismus rs1229984 um eine schützende Variante des Gens ADH1B handelt, könnte ein fehlendes Vorliegen von

rs1229984 eventuell einer der biologischen Risikofaktoren für die Entstehung einer Alkoholabhängigkeit darstellen (siehe Kapitel 1.3). Allerdings ist die Prävalenz für die T-Variante in Europa etwa 4,8 Prozent und in Asien 82,7 Prozent (57). Dort liegt die Prävalenz von Alkoholabhängigkeit etwa bei 2,9 Prozent und ist damit niedriger als in Europa mit 3,7 Prozent. Die hohe Prävalenz der T-Variante könnte, neben verstärkter politischer Regulatorik in einigen asiatischen Ländern, eine der Gründe für die niedrige Prävalenz der Alkoholabhängigkeit in Asien sein (7). Für eine genauere Betrachtung erfordert es sicherlich eine Untersuchung an einer weit größeren Stichprobe, um eine verlässliche Aussage über das seltenere T-Allel tätigen zu können. Mit größeren Fallzahlen könnte man in Zukunft untersuchen, ob sich die Rate der Methylierung bei Probanden mit den unterschiedlichen Varianten voneinander unterscheidet. So untersuchten die Autoren Nassab et al. 2016 in ihrer Studie die Methylierung des Promotors des ALDH2-Gens. Dabei betrachteten sie, ähnlich wie diese Studie, einen Polymorphismus dieses Gens (rs886205), bei der es eine A (Adenin)-Variante und eine G (Guanin)-Variante gibt. Sie fanden beispielsweise heraus, dass Probanden mit der A-Variante zu Beginn des Entzuges eine signifikante DNA-Hypermethylierung des Gens aufwiesen und dass diese Probanden einen signifikanten Abfall der prozentualen Methylierungswerte über die Zeit des Entzuges zeigten (95).

5.3 Ausblick

Diese Studie konnte zeigen, dass die prozentuale Methylierung einer CpG-Stelle im Promotorbereich des ADH1B-Gens sich zwischen alkoholabhängigen Männern und Kontrollen signifikant unterscheidet und sich im Verlauf eines Entzuges langsam reduziert. Da die Proben der Probanden aus peripherem Blut gewonnen wurden und so im klinischen Alltag leicht zugänglich sind, könnte dies in Zukunft eine interessante Methode werden, um einen Biomarker für die Diagnostik einer Alkoholabhängigkeit zu entwickeln, welcher aktuell fehlt. Hierfür macht es sicherlich Sinn, die Methylierung von ADH1B mit anderen Gen-Abschnitten, welche häufig bei Alkoholabhängigkeit methyliert werden, zu kombinieren, um ein zuverlässiges Ergebnis zu erhalten. Die funktionelle Variante rs1229984 könnte in Zukunft als Marker für den Schweregrad einer

Alkoholabhängigkeit eingesetzt werden, auch wenn es hierfür noch mehr Untersuchungen bedarf.

Der Vorteil von einem Biomarker ist in erster Linie die einfache und zuverlässige Diagnosestellung. Wenn gleichzeitig ein Biomarker verfügbar ist, der bei Besserung der Krankheit, also in diesem Falle die Abstinenz, reagiert, kann dies als Biofeedback für den Patienten genutzt werden. Dieser kann den Erfolg der Abstinenz einerseits für den Patienten greifbarer machen und andererseits als Motivation dienen, abstinent zu bleiben. Während der Rekrutierungsphase dieser Studie waren die Probanden sehr interessiert daran, ihren „persönlichen Methylierungsstatus“ zu erfahren, besonders im Verlauf des Entzuges. Sie wollten sehen, ob dieser „besser“ geworden ist. Inwiefern sich ein solcher Biomarker auf die Motivation der Probanden niederschlägt oder auch umgekehrt, muss ohne Frage beobachtet und erforscht werden. Anekdotisch lässt sich berichten, dass die Probanden sehr neugierig und empfänglich waren.

5.4 Limitationen

Die Ergebnisse dieser Studie sollten mit folgenden Limitationen betrachtet werden.

Bei dieser Studie handelte es sich um eine prospektive Verlaufsstudie mit einem Patientenkollektiv von Männern mit Alkoholabhängigkeit, die während ihres normalen Klinikalltages bei dieser Studie teilnahmen. Dabei kam es zu keinen Therapieunterbrechungen. Vor allem zum Termin nach sechs Monaten (T4) war es schwierig, die teilnehmenden Patienten zu kontaktieren. Dies geschah besonders aufgrund von Änderung der Kontaktdaten, Umzug und Obdachlosigkeit. Die fehlende Erreichbarkeit von Patienten bei Langzeitstudien stellt ein allgemeines Problem in der Forschung dar. In Zukunft wird darauf zu achten sein, die Patienten mehr zur Teilnahme, beispielsweise mit monetären Aufwandsentschädigungen, zu motivieren. Zudem sind für zukünftige Vorhaben in diesem Forschungsgebiet klinikübergreifende Projekte sicher eine gute Lösung, um viele Patienten für eine aussagekräftige Studie zu generieren.

Bei dem rekrutierten Patientenkollektiv handelte es sich ausschließlich um Männer. Zwar sind mehr Männer als Frauen an Alkoholabhängigkeit erkrankt, dennoch können damit die Aussagen dieser Studie nur auf Männer bezogen

werden. Folgeuntersuchungen sollen sich um ein ausgeglichenes Geschlechterverhältnis bemühen oder eine Studie mit nur weiblichem Kollektiv konzipieren.

Die in dieser Studie untersuchten Variablen zeigten keinen Einfluss auf die Methylierung einer CpG-Stelle im ADH1B-Gen bei alkoholabhängigen Männern. Allerdings sind andere Einflussfaktoren, welche in dieser Studie nicht beleuchtet wurden, denkbar. So wurde die Dauer der Alkoholabhängigkeit nicht als möglicher Einfluss näher durchleuchtet. In Kapitel 5.2.5 wurde angemerkt, dass die Dauer des Konsums einen größeren Effekt auf die Methylierung haben könnte als die Trinkmenge. Die Erfassung der Dauer des Alkoholkonsums gestaltete sich in dieser Studie schwierig. Viele Probanden konnten keinen Zeitpunkt nennen, zu dem die Abhängigkeit begann, da der Übergang von riskantem Konsum in eine Abhängigkeit fließend verläuft. Außerdem ist zu diskutieren, ob der Start der Abhängigkeit oder der Start des riskanten Konsums für die Operationalisierung der Dauer ausgewählt werden sollte. Koller et al. 2019, welche einige ähnliche Einflussfaktoren wie diese Studie untersuchten, betrachteten zudem die Dauer der Abhängigkeit als möglichen Einfluss. Sie konnten dabei keinen signifikanten Einfluss feststellen (77). Für zukünftige Studien sollte der Aspekt von Einflussfaktoren erweitert und genauer betrachtet werden, da einige Studien in diesem Feld keine Angaben hierzu machten und besonders bei der Forschung der Epigenetik nicht immer von einem univariaten Einfluss ausgegangen werden kann.

6. Zusammenfassung

Die Alkoholabhängigkeit ist eine schwere Suchterkrankung, welche etwa 3,5 Prozent der deutschen Bevölkerung betrifft. Es rückt immer näher in das Interesse der Forschung, die genetischen sowie epigenetischen Hintergründe und Einflüsse von Alkohol besser zu verstehen. So beschäftigte sich die vorliegende Arbeit mit den epigenetischen Veränderungen im ADH1B-Gen, welches im Alkoholabbau eine große Rolle spielt, bei alkoholabhängigen Männern im Entzug. Ziel war es, herauszufinden, inwiefern sich die Methylierung, ein epigenetischer Mechanismus, des Promotors von ADH1B im Entzug über die Zeit verändert und ob es Unterschiede zu gesunden Kontrollprobanden gab.

Dabei wurden die alkoholabhängigen Probanden während des 14-tägigen stationären Entzuges rekrutiert. Es wurde mehrmals Blut abgenommen: bei Aufnahme (T1), nach 7 Tagen (T2), nach 14 Tagen (T3) und nach 6 Monaten (T4). Zusätzlich wurden gesunde, nicht alkoholabhängige Männer als Kontrollprobanden rekrutiert. Insgesamt konnten 60 Probanden und 51 Kontrollen in dieser Studie inkludiert werden.

Es konnte gezeigt werden, dass sich die prozentualen Methylierungswerte einer CpG-Stelle im ADH1B-Gen bei den Probanden bei Aufnahme (Mittelwert 43,5 Prozent) und Kontrollen (Mittelwert 39,7 Prozent) signifikant unterschieden ($p < 0,001$). Außerdem nahm der prozentuale Methylierungswert über die Zeit des stationären Entzuges (T1-3) signifikant ab ($p = 0,004$; $n = 60$). Unter Miteinbeziehen der letzten Visite T4 konnte keine signifikante Änderung beobachtet werden ($p = 0,241$; $n = 7$).

Damit liefert diese Studie Hinweise dafür, dass die Methylierung dieser CpG-Stelle im ADH1B-Gen unter Abstinenz bei alkoholabhängigen Männern schon nach kurzer Zeit rückläufig ist. Weitere Forschung, besonders zum Thema der Langzeitveränderungen, ist vonnöten.

7. Abstract

Epigenetic changes in peripheral blood cells of patients with alcohol addiction during withdrawal

Background

Alcohol use disorder has a multi-factorial genesis with complex interactions between genetic and epigenetic mechanisms and environmental factors. The genetic factors are still widely unresearched. A heritability of approximately 50% is estimated (14). It has been shown that variants of ADH1B (aldehyde dehydrogenase 1 B) is associated with the cause of alcohol use disorder (AUD) (100). Further, epigenetic mechanisms, e.g. DNA-methylation, are linked to genetic causes for AUD (53).

Methods

The aim of this study is to assess if epigenetic modifications of ADH1B change during a controlled withdrawal treatment. For this, we recruit male patients with alcohol use disorder who enrolled for a two-week withdrawal treatment. During their stay, we take four blood samples (on day 1, 7 and 14 as well as after 6 months) to look for short-term and long-term alterations. Also, the patients complete different questionnaires (BIS-15, IRQ-GN, FHAM, CTQ and SSAGA). In addition to that, we take blood samples of male healthy controls without AUD to compare our findings.

Findings

60 patients and 51 controls have been included in this study. There were significant differences between the methylation of one CpG site in the promoter region of the of the ADH1B gene between patients and controls ($p < 0,001$). Furthermore, methylation changed significantly over the time of two weeks ($p = 0,004$; $n = 60$). Not all patients could be recruited for the long-term sample after six months. When including the long-term sample in the analysis, change over time was not significant ($p = 0,241$; $n = 7$). Multiple potential confounder variables, like age, oxazepam dosage, mean alcohol intake prior to admission and maximum alcohol intake, were considered and no significant influence was found.

Conclusion

These results confirm previous findings of the significant influence of alcohol in methylation in patients with AUD. Better knowledge of epigenetic variants of the ADH1B allele might help the understanding of a genetic cause of AUD in patients and could even cause a shift in the diagnosis process in the future.

8. Literaturverzeichnis

1. Schomerus G, Holzinger A, Matschinger H, Lucht M, Angermeyer MC. Einstellung der Bevölkerung zu Alkoholkranken. *Psychiatrische Praxis*. 2010;37(03):111-8.
2. Dilling H, Mombour W, Schmidt M, World Health Organization. Internationale Klassifikation psychischer Störungen: ICD-10 Kapitel V (F) Klinisch-diagnostische Leitlinien. 5 ed. Bern: Verlag Hans Huber; 2005.
3. Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, et al. Carcinogenicity of alcoholic beverages. *The Lancet Oncology*. 2007;8(4):292-3.
4. Alkohol? Kenn dein Limit, Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung. Was ist ein Standardglas? 2020 [Available from: <https://www.kenn-dein-limit.de/alkohol/haeufige-fragen/was-ist-ein-standardglas/>]. Accessed: 16.11.2020
5. Kalinowski A, Humphreys K. Governmental standard drink definitions and low-risk alcohol consumption guidelines in 37 countries. *Addiction*. 2016;111(7):1293-8.
6. John U, Hanke M. Trends des Tabak- und Alkoholkonsums über 65 Jahre in Deutschland. *Gesundheitswesen*. 2018;80(02):160-71.
7. World Health Organization. Global status report on alcohol and health 2018. Geneva: World Health Organization; 2018.
8. Rummel C, Lehner B, Kepp J. Daten, Zahlen und Fakten. In: e.V. DHfS, editor. DHS Jahrbuch Sucht 2018. Lengerich: Pabst Science Publishers. p. 9-34.
9. OECD. Tackling Harmful Alcohol Use 2015.
10. John U, Hanke M. Alcohol-attributable mortality in a high per capita consumption country—Germany. *Alcohol and Alcoholism*. 2002;37(6):581-5.
11. Institute for Health Metrics and Evaluation. GBD Compare Seattle: University of Washington; 2019 [Available from: <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/>]. Accessed: 11.11.2020
12. Skewes MC, Gonzalez VM. The biopsychosocial model of addiction. *Principles of addiction*. 2013;1:61-70.
13. Wallace J. A biopsychosocial model of alcoholism. *Social Casework*. 1989;70(6):325-32.
14. Liu I-C, Blacker DL, Xu R, Fitzmaurice G, Lyons MJ, Tsuang MT. Genetic and Environmental Contributions to the Development of Alcohol Dependence in Male Twins. *Archives of general psychiatry*. 2004;61(9):897-903.
15. Heath AC, Bucholz K, Madden P, Dinwiddie S, Slutske W, Bierut L, et al. Genetic and environmental contributions to alcohol dependence risk in a national twin sample: consistency of findings in women and men. *Psychological medicine*. 1997;27(6):1381-96.

16. Dybek I, Bischof G, Grothues J, Reinhardt S, Meyer C, Hapke U, et al. The reliability and validity of the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT) in a German general practice population sample. *Journal of studies on alcohol*. 2006;67(3):473-81.
17. Csipke E, Touquet R, Patel T, Franklin J, Brown A, Holloway P, et al. Use of blood alcohol concentration in resuscitation room patients. *Emergency Medicine Journal*. 2007;24(8):535-8.
18. Gullberg RG, Polissar NL. Factors contributing to the variability observed in duplicate forensic breath alcohol measurement. *Journal of breath research*. 2011;5(1):016004.
19. Dahl H, Voltaire Carlsson A, Hillgren K, Helander A. Urinary Ethyl Glucuronide and Ethyl Sulfate Testing for Detection of Recent Drinking in an Outpatient Treatment Program for Alcohol and Drug Dependence. *Alcohol and Alcoholism*. 2011;46(3):278-82.
20. Hock B, Schwarz M, Domke I, Grunert V, Wuertemberger M, Schiemann U, et al. Validity of carbohydrate-deficient transferrin (% CDT), γ -glutamyltransferase (γ -GT) and mean corpuscular erythrocyte volume (MCV) as biomarkers for chronic alcohol abuse: a study in patients with alcohol dependence and liver disorders of non-alcoholic and alcoholic origin. *Addiction*. 2005;100(10):1477-86.
21. Bertholet N, Daepfen J-B, Wietlisbach V, Fleming M, Burnand B. Reduction of alcohol consumption by brief alcohol intervention in primary care: systematic review and meta-analysis. *Archives of internal medicine*. 2005;165(9):986-95.
22. Bühringer G, Klein M, Reimer J, Reymann G, Thomasius R, Petersen KU. S3-Leitlinie screening, diagnose und Behandlung alkoholbezogener Störungen: Springer; 2015.
23. Lerner WD, Fallon HJ. The alcohol withdrawal syndrome. *Mass Medical Soc*; 1985.
24. Hillbom M, Pieninkeroinen I, Leone M. Seizures in alcohol-dependent patients. *CNS drugs*. 2003;17(14):1013-30.
25. Amato L, Minozzi S, Davoli M. Efficacy and safety of pharmacological interventions for the treatment of the Alcohol Withdrawal Syndrome. *Cochrane database of systematic reviews*. 2011(6).
26. Happel KI, Nelson S. Alcohol, immunosuppression, and the lung. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2005;2(5):428-32.
27. Szabo G. Alcohol's contribution to compromised immunity. *Alcohol health and research world*. 1997;21(1):30.
28. Rehm J, Probst C, Shield KD, Shuper PA. Does alcohol use have a causal effect on HIV incidence and disease progression? A review of the literature and a modeling strategy for quantifying the effect. *Population health metrics*. 2017;15(1):1-7.
29. Rehm J, Shield KD, Joharchi N, Shuper PA. Alcohol consumption and the intention to engage in unprotected sex: Systematic review and meta-analysis of experimental studies. *Addiction*. 2012;107(1):51-9.

30. Neuman MG, Schneider M, Nanau RM, Parry C. Alcohol consumption, progression of disease and other comorbidities, and responses to antiretroviral medication in people living with HIV. *AIDS research and treatment*. 2012;2012.
31. Miguez MJ, Shor-Posner G, Morales G, Rodriguez A, Burbano X. HIV treatment in drug abusers: impact of alcohol use. *Addiction biology*. 2003;8(1):33-7.
32. World Health Organization. *Global Tuberculosis Report 2020*. Geneva: World Health Organization; 2020.
33. Singal AK, Anand BS. Recent trends in the epidemiology of alcoholic liver disease. *Clinical Liver Disease*. 2013;2(2):53.
34. Wu D, Cederbaum AI. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Research & Health*. 2003;27(4):277.
35. Wu D, Cederbaum AI. Ethanol-induced apoptosis to stable HepG2 cell lines expressing human cytochrome P-4502E1. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 1999;23(1):67-76.
36. Ronksley PE, Brien SE, Turner BJ, Mukamal KJ, Ghali WA. Association of alcohol consumption with selected cardiovascular disease outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Bmj*. 2011;342:d671.
37. World Health Organization. About the Global Burden of Disease (GBD) project: World Health Organization; 2020 [Available from: https://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/about/en/]. Accessed: 02.11.2020
38. World Health Organization. Metrics: Disability-Adjusted Life Year (DALY): World Health Organization; 2020 [Available from: https://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/metrics_daly/en/]. Accessed: 02.11.2020
39. Manthey J, Laramée P, Parrott S, Rehm J. Economic burden associated with alcohol dependence in a German primary care sample: a bottom-up study. *BMC public health*. 2016;16(1):906.
40. Dams J, Buchholz A, Kraus L, Reimer J, Scherbaum N, Konnopka A, et al. Excess costs of alcohol-dependent patients in German psychiatric care compared with matched non-alcohol-dependent individuals from the general population: A secondary analysis of two datasets. *BMJ open*. 2018;8(8):e020563.
41. Gibney E, Nolan C. Epigenetics and gene expression. *Heredity*. 2010;105(1):4-13.
42. Weber M, Schübeler D. Genomic patterns of DNA methylation: targets and function of an epigenetic mark. *Current opinion in cell biology*. 2007;19(3):273-80.
43. Kass SU, Pruss D, Wolffe AP. How does DNA methylation repress transcription? *Trends in Genetics*. 1997;13(11):444-9.
44. Tate PH, Bird AP. Effects of DNA methylation on DNA-binding proteins and gene expression. *Current opinion in genetics & development*. 1993;3(2):226-31.

45. Boujard D, Anselme B, Cullin C, Raguénès-Nicol C. Regulation der Genexpression. Zell- und Molekularbiologie im Überblick. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014. p. 123-50.
46. Lennartsson A, Ekwall K. Histone modification patterns and epigenetic codes. *Biochimica et biophysica acta (BBA)-general subjects*. 2009;1790(9):863-8.
47. Dannenberg LO, Chen HJ, Tian H, Edenberg HJ. Differential regulation of the alcohol dehydrogenase 1B (ADH1B) and ADH1C genes by DNA methylation and histone deacetylation. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2006;30(6):928-37.
48. Wu J, Grunstein M. 25 years after the nucleosome model: chromatin modifications. *Trends in biochemical sciences*. 2000;25(12):619-23.
49. Van Lint C, Emiliani S, Verdin E. The expression of a small fraction of cellular genes is changed in response to histone hyperacetylation. *Gene Expression The Journal of Liver Research*. 1996;5(4-5):245-53.
50. Zhang H, Gelernter J. DNA methylation and alcohol use disorders: Progress and challenges. *The American journal on addictions*. 2017;26(5):502-15.
51. Dulman RS, Wandling GM, Pandey SC. Epigenetic Mechanisms Underlying Pathobiology of Alcohol Use Disorder. *Current Pathobiology Reports*. 2020:1-13.
52. Liu C, Marioni RE, Hedman ÅK, Pfeiffer L, Tsai P-C, Reynolds LM, et al. A DNA methylation biomarker of alcohol consumption. *Molecular psychiatry*. 2018;23(2):422-33.
53. Zhang R, Miao Q, Wang C, Zhao R, Li W, Haile CN, et al. Genome-wide DNA methylation analysis in alcohol dependence. *Addiction biology*. 2013;18(2):392-403.
54. National Library of Medicine. ADH1B alcohol dehydrogenase 1B (class I), beta polypeptide [Homo sapiens (human)]: National Library of Medicine; [updated 03.07.2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/125>]. Accessed: 26.07.2022
55. Tawa EA, Hall SD, Lohoff FW. Overview of the Genetics of Alcohol Use Disorder. *Alcohol Alcohol*. 2016;51(5):507-14.
56. Edenberg HJ. The genetics of alcohol metabolism: role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants. *Alcohol Research & Health*. 2007;30(1):5.
57. National Library of Medicine. rs1229984: National Library of Medicine; 2021 [Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1229984>]. Accessed: 13.12.2022
58. Walters RK, Polimanti R, Johnson EC, McClintick JN, Adams MJ, Adkins AE, et al. Transancestral GWAS of alcohol dependence reveals common genetic underpinnings with psychiatric disorders. *Nature neuroscience*. 2018;21(12):1656-69.
59. Eccles D, Chambers G, Lea R. Haplotype analysis at the alcohol dehydrogenase gene region in New Zealand Maori. *Journal of Human Genetics*. 2007;52:191-4.

60. Soundararajan S, Agrawal A, Purushottam M, Anand SD, Shankarappa B, Sharma P, et al. Changes in DNA methylation persist over time in males with severe alcohol use disorder—A longitudinal follow-up study. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2021;186(3):183-92.
61. Tan N-N, Tang H-L, Lin G-W, Chen Y-H, Lu P, Li H-J, et al. Epigenetic downregulation of *Scn3a* expression by valproate: a possible role in its anticonvulsant activity. *Molecular neurobiology*. 2017;54(4):2831-42.
62. Duncan J, Johnson S, Ou X-M. Monoamine oxidases in major depressive disorder and alcoholism. *Drug discoveries & therapeutics*. 2012;6(3):112-22.
63. Kessler RC, Nelson CB, McGonagle KA, Edlund MJ, Frank RG, Leaf PJ. The epidemiology of co-occurring addictive and mental disorders: implications for prevention and service utilization. *American journal of orthopsychiatry*. 1996;66(1):17-31.
64. Thom J, Kuhnert R, Born S, Hapke U. 12-Monats-Prävalenz der selbstberichteten ärztlich diagnostizierten Depression in Deutschland. 2017.
65. Lyons MJ, Schultz M, Neale M, Brady K, Eisen S, Toomey R, et al. Specificity of familial vulnerability for alcoholism versus major depression in men. *The Journal of nervous and mental disease*. 2006;194(11):809-17.
66. Rodewald F. Deutsche Bearbeitung des Childhood Trauma Questionnaire: Testbeschreibung und Auswertung. Unveröffentlichtes Manuskript, Medizinische Hochschule Hannover. 2005.
67. Häuser W, Schmutzer G, Brähler E, Glaesmer H. Maltreatment in Childhood and Adolescence Results From a Survey of a Representative Sample of the German Population. *Dtsch Arztebl Int*. 2011;108(17):287-94.
68. Glaesmer H, Schulz A, Häuser W, Freyberger HJ, Brähler E, Grabe H-J. Der Childhood Trauma Screener (CTS)—Entwicklung und Validierung von Schwellenwerten zur Klassifikation. *Psychiatrische Praxis*. 2013;40(04):220-6.
69. Klinitzke G, Romppel M, Häuser W, Brähler E, Glaesmer H. The German Version of the Childhood Trauma Questionnaire (CTQ): psychometric characteristics in a representative sample of the general population. *Psychotherapie, Psychosomatik, Medizinische Psychologie*. 2011;62(2):47-51.
70. Rice JP, Reich T, Bucholz KK, Neuman RJ, Fishman R, Rochberg N, et al. Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 1995;19(4):1018-23.
71. Krebaum S, Jackley P, Adinoff B. The impulsive relapse questionnaire: Development and validation. *Drug Alcohol Depend*. 2002;66:S96.
72. Meule A, Vögele C, Kübler A. Psychometrische Evaluation der deutschen Barratt Impulsiveness Scale - Kurzversion (BIS-15). *Diagnostica*. 2011;57:126-33.
73. Preuss UW, Rujescu D, Giegling I, Watzke S, Koller G, Zetsche T, et al. Psychometrische evaluation der deutschsprachigen version der Barratt-Impulsiveness-Skala. *Der Nervenarzt*. 2008;79(3):305-19.

74. Hesselbrock M, Easton C, Bucholz KK, Schuckit M, Hesselbrock V. A validity study of the SSAGA-a comparison with the SCAN. *Addiction*. 1999;94(9):1361-70.
75. Bucholz KK, Cadoret R, Cloninger CR, Dinwiddie SH, Hesselbrock V, Nurnberger Jr J, et al. A new, semi-structured psychiatric interview for use in genetic linkage studies: a report on the reliability of the SSAGA. *Journal of studies on alcohol*. 1994;55(2):149-58.
76. Glahn A, Knorrnschild RR, Rhein M, Nassab MH, Gröschl M, Heberlein A, et al. Alcohol-induced changes in methylation status of individual CpG sites, and serum levels of vasopressin and atrial natriuretic peptide in alcohol-dependent patients during detoxification treatment. *European addiction research*. 2014;20(3):143-50.
77. Koller G, Zill P, Soyka M, Adorjan K, Weiss C, Kern A, et al. Short-term changes in global methylation and hydroxymethylation during alcohol detoxification. *European Neuropsychopharmacology*. 2019;29(7):897-903.
78. Medicine NLo. ADH1B alcohol dehydrogenase 1B (class I), beta polypeptide [Homo sapiens (human)]: National Library of Medicine; [updated 03.07.2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/125>]. Accessed: 26.07.2022
79. Medicine NLo. rs1229984: National Library of Medicine; 2021 [Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1229984>]. Accessed: 25.07.2022
80. DiFranza JR, Guerrera MP. Alcoholism and smoking. *Journal of studies on alcohol*. 1990;51(2):130-5.
81. Glass JM, Buu A, Adams KM, Nigg JT, Puttler LI, Jester JM, et al. Effects of alcoholism severity and smoking on executive neurocognitive function. *Addiction*. 2009;104(1):38-48.
82. Room R. Smoking and drinking as complementary behaviours. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2004;58(2):111-5.
83. True WR, Xian H, Scherrer JF, Madden PA, Bucholz KK, Heath AC, et al. Common genetic vulnerability for nicotine and alcohol dependence in men. *Archives of general psychiatry*. 1999;56(7):655-61.
84. Sun Y, Chang S, Wang F, Sun H, Ni Z, Yue W, et al. Genome-wide association study of alcohol dependence in male Han Chinese and cross-ethnic polygenic risk score comparison. *Translational psychiatry*. 2019;9(1):1-10.
85. Wingo AP, Ressler KJ, Bradley B. Resilience characteristics mitigate tendency for harmful alcohol and illicit drug use in adults with a history of childhood abuse: A cross-sectional study of 2024 inner-city men and women. *Journal of psychiatric research*. 2014;51:93-9.
86. Anda RF, Whitfield CL, Felitti VJ, Chapman D, Edwards VJ, Dube SR, et al. Adverse Childhood Experiences, Alcoholic Parents, and Later Risk of Alcoholism and Depression. *Psychiatric Services*. 2002;53(8):1001-9.
87. Stoltman J, Woodcock E, Lister J, Lundahl L, Greenwald M. Heroin Delay Discounting: Modulation by Pharmacological State, Drug-Use Impulsivity, and Intelligence. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*. 2015;23:455-63.

88. Kadam M, Sinha A, Nimkar S, Matcheswalla Y, De Sousa A. A Comparative Study of Factors Associated with Relapse in Alcohol Dependence and Opioid Dependence. *Indian J Psychol Med.* 2017;39(5):627-33.
89. Jakubczyk A, Klimkiewicz A, Mika K, Bugaj M, Konopa A, Podgórska A, et al. Psychosocial predictors of impulsivity in alcohol-dependent patients. *J Nerv Ment Dis.* 2013;201(1):43-7.
90. Bönsch D, Lenz B, Kornhuber J, Bleich S. DNA hypermethylation of the alpha synuclein promoter in patients with alcoholism. *Neuroreport.* 2005;16(2):167-70.
91. Zhang FF, Cardarelli R, Carroll J, Fulda KG, Kaur M, Gonzalez K, et al. Significant differences in global genomic DNA methylation by gender and race/ethnicity in peripheral blood. *Epigenetics.* 2011;6(5):623-9.
92. Boks MP, Derks EM, Weisenberger DJ, Strengman E, Janson E, Sommer IE, et al. The relationship of DNA methylation with age, gender and genotype in twins and healthy controls. *PLoS one.* 2009;4(8):e6767.
93. Day K, Waite LL, Thalacker-Mercer A, West A, Bamman MM, Brooks JD, et al. Differential DNA methylation with age displays both common and dynamic features across human tissues that are influenced by CpG landscape. *Genome biology.* 2013;14(9):1-19.
94. Johansson Å, Enroth S, Gyllenstein U. Continuous aging of the human DNA methylome throughout the human lifespan. *PLoS one.* 2013;8(6):e67378.
95. Nassab MH, Rhein M, Hagemeyer L, Kaeser M, Muschler M, Glahn A, et al. Impaired regulation of ALDH2 protein expression revealing a yet unknown epigenetic impact of rs886205 on specific methylation of a negative regulatory promoter region in alcohol-dependent patients. *European addiction research.* 2016;22(2):59-69.
96. Fragou D, Pakkidi E, Aschner M, Samanidou V, Kovatsi L. Smoking and DNA methylation: correlation of methylation with smoking behavior and association with diseases and fetus development following prenatal exposure. *Food and Chemical Toxicology.* 2019;129:312-27.
97. Zeilinger S, Kühnel B, Klopp N, Baurecht H, Kleinschmidt A, Gieger C, et al. Tobacco smoking leads to extensive genome-wide changes in DNA methylation. *PLoS one.* 2013;8(5):e63812.
98. D'addario C, Palazzo MC, Benatti B, Grancini B, Pucci M, Di Francesco A, et al. Regulation of gene transcription in bipolar disorders: Role of DNA methylation in the relationship between prodynorphin and brain derived neurotrophic factor. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.* 2018;82:314-21.
99. Phiel CJ, Zhang F, Huang EY, Guenther MG, Lazar MA, Klein PS. Histone deacetylase is a direct target of valproic acid, a potent anticonvulsant, mood stabilizer, and teratogen. *Journal of Biological Chemistry.* 2001;276(39):36734-41.
100. Hart AB, Lynch KG, Farrer L, Gelernter J, Kranzler HR. Which alcohol use disorder criteria contribute to the association of ADH1B with alcohol dependence? *Addiction biology.* 2016;21(4):924-38.

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Darstellung von alkoholischen Getränken als Standardglas.....	11
Abbildung 2 Konsum von Reinalkohol in Litern in Deutschland ab 15 Jahren in einem Zeitraum zwischen 1950 und 2014	11
Abbildung 3 Darstellung der Todesfälle verursacht durch alkoholabhängige Störungen in Deutschland im Jahr 2019	12
Abbildung 4 Das bio-psycho-soziale Modell der Alkoholabhängigkeit.....	13
Abbildung 5 Darstellung der DALYs pro 100.000 Einwohnern in Deutschland im Jahr 2019	20
Abbildung 6 Methylierung von Cytosin zu 5-Methylcytosin.....	22
Abbildung 7 Histon-Acetylierung	23
Abbildung 8 Darstellung von ADH1B auf Chromosom 4	24
Abbildung 9 Übersicht der Lokalisationen der ADH Gene auf Chromosom 4 und die Position von rs1229984 in ADH1B.	25
Abbildung 10 Ausschnitt aus der DNA-Sequenz des humanen Alkohol-Dehydrogenase 1B Beta Polypeptid (ADH1B) auf Chromosom 4	38
Abbildung 11 Übersicht der Drop-Outs bei den Studienpatienten	41
Abbildung 12 Boxplots des Methylierungsgrades der CpG-Stelle im ADH1B-Gen in % der Patienten bei Visiten T1-3 und der Kontrollen bei T1	50
Abbildung 13 Boxplots des Methylierungsgrades der CpG-Stelle im ADH1B-Gen in % der Patienten bei Visiten T1-4 und der Kontrollen bei T1	51
Abbildung 14 Streudiagramm mit Trendlinie; Korrelation zwischen Alter und größter Anzahl alkoholischer Getränke innerhalb von 24h	52
Abbildung 15 Streudiagramm mit Trendlinie; Korrelation zwischen Alter und durchschnittlicher Trinkmenge pro Tag vor Aufnahme	53
Abbildung 16 Streudiagramm mit Trendlinie; Korrelation zwischen durchschnittlicher Trinkmenge pro Tag und maximaler Trinkmenge	54
Abbildung 17 Streudiagramm mit Trendlinie; Korrelation zwischen Methylierung der CpG-Stelle im ADH1B-Gen und IRQ Subskala „Automatizität“	57
Abbildung 18 Streudiagramm mit Trendlinie; Korrelation Methylierung der CpG-Stelle im ADH1B-Gen und IRQ Subskala „Kapazität für Verzögerung“	57
Abbildung 19 Streudiagramm mit Trendlinie; Korrelation zwischen Methylierungswerten der CpG-Stelle im ADH1B-Gen und BIS Subskala „nicht-planende Impulsivität“	58

10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Übersicht der Krankheiten beeinflusst durch Alkohol	16
Tabelle 2 Auswahl der ADH-Gen-Polymorphismen.....	26
Tabelle 3 Übersicht über die in der Studie verwendeten Fragebögen.....	32
Tabelle 4 Schweregradeinteilung CTQ nach Häuser et al. 2011	34
Tabelle 5 Demographische Verteilung des Patientenkollektivs	42
Tabelle 6 Medikation mit Oxazepam der Patienten während der Entzugstherapie	42
Tabelle 7 Komorbiditäten der Patienten: Anhalt für Depression, Manie und Angststörung	43
Tabelle 8 Suizidalität der Patienten	43
Tabelle 9 Alkoholkonsum der Patienten: Anfangsalter und Trinkmenge	44
Tabelle 10 Toleranzentwicklung des Alkoholkonsums	45
Tabelle 11 Alkoholkonsum und Scham	45
Tabelle 12 Alkoholkonsum und Sozialleben	46
Tabelle 13 Auswertung der Skalen des CTQ	46
Tabelle 14 Auswertung des FHAM.....	47
Tabelle 15 Auswertung des IRQ.....	48
Tabelle 16 Auswertung des BIS-15.....	48
Tabelle 17 Ergebnisse der prozentualen Methylierungswerte der CpG-Stelle im ADH1B-Gen der Patienten bei Visiten T1-4	49
Tabelle 18 Ergebnisse der prozentualen Methylierungswerte der CpG-Stelle im ADH1B-Gen der Kontrollen	49
Tabelle 19 Übersicht der Ergebnisse der prozentualen Methylierungswerte der CpG-Stelle im ADH1B-Gen der Visiten T1-3 bei den Patienten und T1 der Kontrollen	49
Tabelle 20 Übersicht der Ergebnisse der prozentualen Methylierungswerte der CpG-Stelle im ADH1B-Gen unter Mitberücksichtigung von Visite T4 bei den Patienten	50
Tabelle 21 Vergleiche der Mittelwerte der Methylierungswerte der CpG-Stelle im ADH1B-Gen zwischen den Visiten T1-4 der Patienten und der Kontrollen	50
Tabelle 22 Korrelationen zwischen Methylierungswerten der CpG-Stelle im ADH1B-Gen zum Zeitpunkt der Aufnahme (T1) und mehreren Variablen.....	51
Tabelle 23 univariates Regressionsmodell.....	54
Tabelle 24 multivariates Regressionsmodell mit maximaler Trinkmenge	55
Tabelle 25 multivariates Regressionsmodell mit durchschnittlicher Trinkmenge vor Aufnahme	55
Tabelle 26 Korrelation zwischen Methylierung der CpG-Stelle im ADH1B-Gen und Subskalen der Fragebögen BIS, IRQ und CTQ.....	56

11. Anhang

11.1 Einverständniserklärung

Patienteninformation und Einwilligungserklärung

im Rahmen der Studie „Epigenetische Veränderungen bei alkoholabhängigen Patienten während Intoxikation, Entzug und Remission“

Sehr geehrte Probandin, sehr geehrter Proband,

Sie werden gebeten an der Studie „Epigenetische Veränderungen bei alkoholabhängigen Patienten während Intoxikation, Entzug und Remission“ teilzunehmen.

Wir möchten Sie bitten, dieses Merkblatt aufmerksam durchzulesen. Es enthält die notwendigen Informationen zum Verständnis der Studie.

Alkoholabhängigkeit ist mit einem veränderten Stoffwechsel des Gehirns verbunden. Eine besondere Bedeutung kommt hierbei wahrscheinlich bestimmten Eiweißstoffen (Proteinen) im Gehirn zu. Der „Bauplan“ dieser Eiweißstoffe ist in der Erbsubstanz (Desoxyribonukleinsäure, DNA) aufgezeichnet, die in jeder Zelle des Körpers vorliegt. Inzwischen ist bekannt, an welcher Stelle der Erbsubstanz (in welchen Genen) die Information für einige dieser Eiweißstoffe verschlüsselt ist, und dass deren Aktivität z.T. durch epigenetische Mechanismen reguliert wird.

Unter Epigenetik versteht man molekulare Mechanismen, die zu einer stärkeren oder schwächeren Aktivität von Genen führen, ohne dass die dort gespeicherte Erbinformation verändert wird, d.h. die Sequenz der Erbsubstanz DNA) wird nicht geändert, sondern durch chemische Modifikationen markiert. Zellen steuern so unter anderem, wann sie welche Proteine produzieren und in welchen Mengen.

Ziele dieser Studie

Die Studie geht der Frage nach, ob bei alkoholabhängigen Patienten während verstärktem Alkoholkonsum, Entzug und Abstinenz Veränderungen bezüglich der Aktivität von Genen nachgewiesen werden können, die möglicherweise auch durch die Therapie beeinflussbar sind. In diesem Zusammenhang werden chemische Modifikationen an der DNA (DNA-Methylierung) gemessen, die im Blut nachweisbar sind und mit bestimmten Mechanismen der Genaktivität in Verbindung stehen. Ferner werden Unterschiede zwischen verschiedenen Individuen auf Grund dieser DNA-Modifikationen und der damit verbundenen Genaktivität analysiert. Ebenso soll ein möglicher Zusammenhang mit dem klinischen Ansprechen auf die Therapie untersucht werden.

Um grundlegende Aussagen über mögliche Veränderungen dieser DNS-Modifikationen bei Alkoholabhängigkeit machen zu können, sollen diese auch mit einer Gruppe gesunder Kontrollpersonen verglichen werden.

Im Rahmen dieser Studie sollen an alkoholabhängigen Patienten biologische Mechanismen, Gene sowie verschiedene genetische Faktoren untersucht werden, die in Zukunft als mögliche prognostische Risikoprofile dienen können. Um Unterschiede feststellen zu können, sollen Modifikationen in und an der Erbsubstanz (DNA) bestimmt werden.

Möglicher Nutzen der Teilnahme an dieser Studie

Diese Studie ist primär von wissenschaftlicher Bedeutung. Ein besseres Verständnis über die möglichen Ursachen der Alkoholabhängigkeit und deren Verlauf kann langfristig in neuen Therapieansätzen münden. Durch Ihre Teilnahme an dieser Studie können Sie zur weiteren Erforschung häufiger Suchterkrankungen beitragen.

Studienablauf

Zunächst prüft der Studienarzt in einem Gespräch Ihre Eignung für eine eventuelle Studienteilnahme (Ein- und Ausschlusskriterien). Sollten Sie die Aufnahmekriterien erfüllen und mit der Teilnahme an der Studie einverstanden sein, so müssten Sie dies schriftlich durch Ihre Unterschrift am Ende der hier vorliegenden Probandeninformation und -einverständniserklärung bestätigen.

An demselben Tag erfolgt dann die Blutentnahme zur Bestimmung der für die Fragestellung dieser Studie relevanten Parameter.

Dazu werden etwa 20 ml Blut benötigt. Die gleichen Blutentnahmen erfolgen dann nach einer und zwei Wochen, sowie abschließend nach 6 Monaten.

Anschließend bitten wir sie verschiedenen Fragebögen zusammen mit unseren Mitarbeitern oder allein auszufüllen.

Genauere Vorgehensweise:

Nach Zustimmung zur Studienteilnahme wird Ihnen, soweit möglich im Rahmen der Routineblutentnahmen insgesamt vier Mal jeweils ein zusätzliches Blutröhrchen abgenommen. Dieses Blutröhrchen wird nicht mit dem Namen, sondern mit einem Code versehen. Im Rahmen des in der Regel zwei Wochen dauernden Aufenthalts werden DoktorandInnen auf Sie zukommen und mit Ihnen gemeinsam Fragebögen ausfüllen, oder Ihnen Fragebögen zum eigenständigen Ausfüllen aushändigen. Diese Fragebögen werden ebenso nur mit einem Code versehen sein.

Mit den Blutproben werden verschiedene Labortests durchgeführt werden, die einerseits eine Form der DNA-Modifikation, die DNA-Methylierung, in der gesamten Erbsubstanz (global) analysieren; andererseits wird die DNA-Methylierung in spezifischen, sogenannten Kandidatengenen, der Alkoholabhängigkeit genspezifisch untersucht. Die Laborergebnisse aller eingeschlossenen Probanden werden dann nach einem signifikanten Zusammenhang mit bestimmten Angaben in den Fragebögen untersucht.

In diesen Untersuchungen sind die Angaben verschlüsselt und nicht mehr mit Namen zuzuordnen.

Auch in einer eventuellen wissenschaftlichen Veröffentlichung sind die Ergebnisse nicht namentlich zuzuordnen.

Besondere Risiken, mögliche Nebenwirkungen

Die Bestimmung der für die Fragestellung dieser Studie relevanten Parameter erfolgt durch Blutentnahmen. Ansonsten sind keine weiteren risikoreichen Maßnahmen vorgesehen.

Vorgehen beim Eintritt von Nebenwirkungen:

Die Blutentnahme ist eine häufig durchgeführte Routineprozedur und es kann zu einem kurzen Schmerzreiz während des Einstichs führen und in einigen Fällen zur Ausbildung eines Hämatoms („blauer Fleck“) an der Einstichstelle.

Widerrufsrecht

Sie haben jederzeit das Recht, Ihr Einverständnis zur Teilnahme an der Studie auch ohne Angaben von Gründen zu widerrufen. Daraus werden keinerlei Nachteile für Sie entstehen.

Datenschutz:

Diese Untersuchungen erfolgen unter perfekter Anonymisierung, d.h. eine Zuordnung irgendwelcher Ergebnisse zu Ihrer Person über Ihren Namen ist völlig ausgeschlossen und unmöglich, da außer Ihrem Alter bei Blutabnahme und Ihres Geschlechts keinerlei persönliche Daten weder elektronisch noch auf Papier gespeichert werden.

Auch in einer eventuellen wissenschaftlichen Veröffentlichung sind die Ergebnisse nicht namentlich zuzuordnen.

Versicherung

Da die vorgesehenen Blutentnahmen im Rahmen der Studie mit keinen nennenswerten Risiken verbunden sind, keine anderen invasiven oder belastenden Verfahren vorgesehen sind und somit für Sie durch die Studienteilnahme keine wesentlichen Risiken bestehen, besteht für diese Studie keine Versicherung, die für verschuldensunabhängige Schäden eintritt. *Es besteht auch keine Wege- Unfall- Versicherung.*

Ethisch rechtliche Grundlagen

Diese Studie wird unter der Berücksichtigung der Richtlinien der Deklaration von Helsinki zur biomedizinischen Forschung am Menschen in der revidierten Fassung von Seoul 2008 und den Richtlinien der Europäischen Gemeinschaft durchgeführt.

Wir möchten mit dieser Studie zu einem besseren Verständnis der molekularen Grundlagen der Alkoholabhängigkeit beitragen, was letztlich auch die Behandlung von weiteren Suchterkrankungen verbessern wird. Wir sind Ihnen dankbar, wenn Sie sich bereit erklären an dieser Untersuchung teilzunehmen, auch wenn diese für Sie ohne direkten Nutzen ist.

Bei Rückfragen zu und während der Untersuchung stehen wir Ihnen, der Projektleiter oder Ihr behandelnder Arzt zur Verfügung.

Einwilligungserklärung:

Mit meiner Unterschrift bestätige ich folgendes:

Ich wurde umfassend über das Wesen und die Bedeutung der Studie aufgeklärt.

Ich habe die obige Probandeninformation und -einverständniserklärung gelesen und deren Inhalt verstanden.

Ich hatte die Möglichkeit, Fragen über die Studie und deren Ablauf zu stellen.

Ich erkläre mich mit der Teilnahme an der Studie einschließlich aller dafür notwendigen Untersuchungen einverstanden.

Meine Teilnahme an dieser Studie erfolgt **freiwillig**.

Ich weiß, daß ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen zurückziehen kann.

Sofern Sie weitere Fragen zu der Untersuchung haben, stehen Ihnen der Projektleiter oder der Mitarbeiter der Studie gerne zur Verfügung.

Proband Nr.: _____

Ich bin über Vor- und Nachteile der Studie aufgeklärt worden und nehme freiwillig an dieser Untersuchung teil.

München, den _____
(Datum)

(Studienteilnehmer)

München, den _____
(Datum)

(Studienarzt)

Datenschutzrechtliche Einwilligung

Ich bin mit der Erhebung und Verwendung persönlicher Daten und Befunddaten nach Maßgabe der Probandeninformation einverstanden.

München, den _____
(Datum)

(Studienteilnehmer)

München, den _____
(Datum)

(Studienarzt)

11.2 Fragebögen

11.2.1 BIS-15

Barrat Impulsiveness Scale (BIS-15)

Der folgende Fragebogen enthält eine Reihe von Aussagen, wie impulsiv man in verschiedenen Situationen reagiert und handelt. Bitte kreuzen Sie bei jeder Aussage an, was am Ehesten auf Sie zutrifft. Es gibt keine richtigen oder falschen Antworten.

		Selten/ Nie	Gelegentlich	Oft	Fast immer/immer
1	Ich plane meine Vorhaben gründlich.	1	2	3	4
2	Ich mache häufig Dinge ohne vorher darüber nachzudenken	1	2	3	4
3	Ich bin unaufmerksam.	1	2	3	4
4	Ich kann mich gut konzentrieren.	1	2	3	4
5	Ich sichere mich im Leben in allen Dingen ab.	1	2	3	4
6	Ich rutsche bei Spielen oder Vorträgen oft hin und her.	1	2	3	4
7	Ich denke gründlich nach.	1	2	3	4
8	Ich plane für meine berufliche Sicherheit.	1	2	3	4
9	Ich sage Dinge ohne darüber nachzudenken.	1	2	3	4
10	Ich handele spontan.	1	2	3	4
11	Mir wird beim Lösen von Denkaufgaben schnell langweilig.	1	2	3	4
12	Ich handele gerne aus dem Moment heraus.	1	2	3	4
13	Ich kaufe Sachen ganz spontan.	1	2	3	4
14	Ich werde im Theater oder bei Vorträgen schnell unruhig.	1	2	3	4
15	Ich plane für die Zukunft.	1	2	3	4

11.2.2 IRQ

The Impulsive Relapse Questionnaire (IRQ-G) German Version

Instruktion: Wir würden Ihnen gerne einige Fragen stellen was passiert, wenn Sie **für eine Weile abstinent waren und erneut begonnen haben, zu trinken**. Bitte versuchen Sie sich in die Situation hineinzusetzen, in der Sie **freiwillig für mindestens eine Woche zu trinken aufgehört haben (einschließlich des Gebrauchs von anderen abhängig machenden Substanzen oder Drogen)**. Erinnern Sie sich bitte daran, **was passiert ist, als Sie erneut zu Trinken angefangen haben**. Bitte beurteilen Sie die nachfolgenden Fragen, was in dieser Situation **im Allgemeinen vorgeht**, wenn Sie erneut beginnen zu trinken (Jeweils ein Kästchen für jede Frage ankreuzen):

IRQ	Stimme Voll zu	Stimme Zu	Bin unsicher	Stimme nicht zu	Stimme überhaupt nicht zu
1. Ich brauche eine Weile, um das Für und Wider abzuwägen, ehe ich wieder trinke	5	4	3	2	1
2. Wenn ich wieder anfangen zu trinken, geschieht dies ganz spontan	5	4	3	2	1
3. Ich denke weniger als einen Tag an das Trinken, ehe ich wieder Alkohol konsumiere	5	4	3	2	1
4. Ich weiß bereits von Vorneherein, dass ich wieder zu trinken beginne	5	4	3	2	1
5. Einige Minuten, ehe ich wieder zu trinken beginne, bin ich sicher, dass ich nicht trinken werde	5	4	3	2	1
6. Ich denke an das Trinken für weniger als ein paar Minuten, ehe ich Alkohol wieder konsumiere	5	4	3	2	1
7. Ich habe Suchtdruck für mehr als einen Tag, ehe ich wieder trinke	5	4	3	2	1
8. Ich weiß nie im Voraus, ob ich wieder zu trinken beginne	5	4	3	2	1
9. Ich habe Suchtdruck für weniger als eine Stunde, ehe ich wieder trinke	5	4	3	2	1
10. Wenn ich mich entschlossen habe, wieder zu trinken, braucht es mehr als einen Tag ehe ich Alkohol konsumiere	5	4	3	2	1
11. Einige Minuten, ehe ich wieder trinke, bin ich sicher ich werde trinken	5	4	3	2	1

12. Ich verbringe eine Menge Zeit damit, mich auf die Rückkehr zum Trinken vorzubereiten	5	4	3	2	1
13. Wenn ich mich entschieden habe zu trinken, braucht es weniger als ein paar Minuten, ehe ich wirklich wieder trinke	5	4	3	2	1
14. Ich denke nicht ans Trinken, ehe ich wieder Alkohol konsumiere	5	4	3	2	1
15. Ich habe Suchtdruck für weniger als einen Tag, ehe ich wieder trinke	5	4	3	2	1
16. Ich verbringe mehrere Tage mit der Planung, ehe ich wieder beginne zu trinken	5	4	3	2	1
17. Ich bin überrascht, wenn ich wieder zu trinken beginne	5	4	3	2	1
18. Wenn ich wieder zu trinken beginne, geschieht das ganz impulsiv	5	4	3	2	1
19. Ich denke an das Trinken für weniger als eine Stunde bis ich Alkohol wieder konsumiere	5	4	3	2	1
20. Einen Tag, ehe ich wieder zu trinken beginne, bin ich ganz sicher, dass ich wieder trinken werde	5	4	3	2	1
21. Wenn ich mich dazu entscheide zu trinken, braucht es nur einige Sekunden, bis ich Alkohol wieder konsumiere	5	4	3	2	1
22. Ich weiß niemals von Vorneherein, dass ich wieder trinke, bis es wirklich passiert.	5	4	3	2	1
23. Wenn ich mich dazu entscheide zu trinken, braucht es weniger als einen Tag, bis ich Alkohol wieder konsumiere	5	4	3	2	1
24. Ich denke an das Trinken für mehr als einen Tag, ehe ich Alkohol wieder konsumiere	5	4	3	2	1
25. Eine Stunde bevor ich wieder trinke, bin ich sicher, dass ich Alkohol konsumiere	5	4	3	2	1
26. Ich habe Suchtdruck für weniger als ein paar Minuten, ehe ich wieder trinke	5	4	3	2	1

27. Wenn ich wieder zu trinken beginne, ist das nicht geplant	5	4	3	2	1
28. Wenn ich mich dazu entscheide zu trinken, braucht es weniger als eine Stunde, ehe ich Alkohol wirklich wieder konsumiere	5	4	3	2	1
29. Ich denke die ganze Zeit an das Trinken, ehe ich wieder Alkohol konsumiere	5	4	3	2	1
30. Eine Stunde, ehe ich wieder trinke, bin ich sicher, dass ich Alkohol nicht konsumiere	5	4	3	2	1

11.2.3 CTQ

Childhood Trauma Questionnaire

Anleitung: Diese Fragen befassen sich mit einigen Ihrer Erfahrungen während Ihrer Kindheit und Jugend. Auch wenn die Fragen sehr persönlich sind, versuchen Sie bitte, sie so ehrlich wie möglich zu beantworten. Kreisen Sie dazu bitte für jede Frage die Zahl ein, die am besten beschreibt, wie Sie rückblickend die Situation einschätzen.

Als ich aufwuchs...

Trifft auf mich zu...

über- Sehr einige häufig sehr
haupt selten Male häufig
nicht

1. ...hatte ich nicht genug zu essen.	1	2	3	4	5
2. ...wußte ich, daß sich jemand um mich sorgte und mich beschützte.	1	2	3	4	5
3. ...bezeichneten mich Personen aus meiner Familie als „dumm“, „faul“ oder „häßlich“.	1	2	3	4	5
4. ...waren meine Eltern zu betrunken oder von anderen Drogen „high“, um für die Familie zu sorgen.	1	2	3	4	5
5. ...gab es jemand in der Familie, der mir das Gefühl gab, wichtig und jemand Besonderes zu sein.	1	2	3	4	5
6. ...mußte ich dreckige Kleidung tragen.	1	2	3	4	5
7. ...hatte ich das Gefühl, geliebt zu werden.	1	2	3	4	5
8. ...glaubte ich, daß meine Eltern wünschten, ich wäre nie geboren.	1	2	3	4	5
9. ...wurde ich von jemandem aus meiner Familie so stark geschlagen, daß ich zum Arzt oder ins Krankenhaus mußte.	1	2	3	4	5
10. ...gab es nichts, was ich an meiner Familie ändern wollte.	1	2	3	4	5
11. ...schlugen mich Personen aus meiner Familie so stark, daß ich blaue Flecken oder Schrammen davontrug.	1	2	3	4	5

Als ich aufwuchs...

Trifft auf mich zu...

über- Sehr einige häufig sehr
haupt selten Male häufig
nicht

12.	...wurde ich mit einem Gürtel, einem Stock, einem Riemen oder mit einem harten Gegenstand bestraft.	1	2	3	4	5
13.	...gaben meine Familienangehörigen auf einander acht.	1	2	3	4	5
14.	...sagten Personen aus meiner Familie verletzend oder beleidigende Dinge zu mir.	1	2	3	4	5
15.	Ich glaube, ich bin körperlich misshandelt worden, als ich aufwuchs.	1	2	3	4	5
16.	...hatte ich eine perfekte Kindheit.	1	2	3	4	5
17.	...wurde ich so stark geschlagen oder verprügelt, dass es jemandem (z.B. Lehrer, Nachbar oder Arzt) auffiel.	1	2	3	4	5
18.	...hatte ich das Gefühl, es hasste mich jemand in meiner Familie.	1	2	3	4	5
19.	...fühlten sich meine Familienangehörigen einander nah.	1	2	3	4	5
20.	...versuchte jemand, mich sexuell zu berühren oder mich dazu zu bringen, sie oder ihn sexuell zu berühren.	1	2	3	4	5
21.	...drohte mir jemand, mir weh zu tun oder Lügen über mich zu erzählen, wenn ich keine sexuellen Handlungen mit ihm oder ihr ausführen würde.	1	2	3	4	5
22.	...hatte ich die beste Familie der Welt.	1	2	3	4	5
23.	...versuchte jemand, mich dazu zu bringen, sexuelle Dinge zu tun oder bei sexuellen Dingen zuzusehen.	1	2	3	4	5
24.	...belästigte mich jemand sexuell.	1	2	3	4	5
25.	Ich glaube, ich bin emotional (gefühlsmäßig) missbraucht worden, als ich aufwuchs.	1	2	3	4	5
26.	...gab es jemanden, der mich zum Arzt brachte, wenn ich es brauchte.	1	2	3	4	5
27.	Ich glaube, ich bin sexuell missbraucht worden, als ich aufwuchs.	1	2	3	4	5
28.	...war meine Familie mir eine Quelle der Unterstützung.	1	2	3	4	5

11.2.4 FHAM

Family History Assessment Module

Anweisungen: Bitte lesen Sie die folgenden Fragen gut durch und kreuzen dann jeweils entweder Ja oder Nein an. Wichtig: Sollten sie **JA** ankreuzen, geben sie bitte in der Spalte unter der Frage den Verwandtschaftsgrad (Mutter, Vater, Schwester, Bruder, Großvater, Großmutter etc.), sowie Geburtsdatum des Verwandten und eventuell Sterbedatum mit Sterbegrund an.

		JA	NEIN
1	Hat das Trinken von Alkohol bei Ihren Verwandten jemals zu Problemen am Arbeitsplatz, mit der Familie, Gesundheit oder der Polizei geführt?		
Verwandtschaftsgrad: _____ Geburtsdatum: _____ Sterbedatum + Grund: _____			
2	Hat der Genuss von Rauschmitteln bei Ihren Verwandten jemals zu Problemen mit Gesundheit, Familie, Beruf oder der Polizei geführt?		
Verwandtschaftsgrad: _____ Geburtsdatum: _____ Sterbedatum + Grund: _____			
3	Hat einer Ihrer Verwandten jemals an Depressionen gelitten, z. B. jemand über eine Periode von mindestens 2 Wochen in der Stimmung derart schlecht fühlte, dass er/sie nur schwer Essen, Schlafen und in ihren täglichen Verrichtungen stark eingeschränkt waren?		
Verwandtschaftsgrad: _____ Geburtsdatum: _____ Sterbedatum + Grund: _____			
4	Hatte einer Ihrer Verwandten jemals eine Episode, in der er/sie Tag und Nacht weit mehr aktiv war und scheinbar keinen Schlaf benötigten und mehr redeten als dies vorher für sie/ihn üblich war?		
Verwandtschaftsgrad: _____ Geburtsdatum: _____ Sterbedatum + Grund: _____			
5	Hatte einer Ihrer Verwandten jemals eine Episode in ihrem Leben, in der er/sie glaubte, Stimmen zu hören oder Visionen zu haben oder dachte, die Leute spionierten ihm/ihr hinterher oder sich gegen ihn/sie verschwören, die länger als 6 Monate dauerte?		
Verwandtschaftsgrad: _____ Geburtsdatum: _____ Sterbedatum + Grund: _____			
6	Ist einer Ihrer Verwandten eher ein Mensch, der seinen Beruf niemals mehr als 6 Monate ausübte, leicht in körperliche Auseinandersetzungen mit anderen oder der Polizei gerät oder schon einmal als Kind oder Erwachsener sonst Probleme mit der Polizei hatte?		
Verwandtschaftsgrad: _____ Geburtsdatum: _____ Sterbedatum + Grund: _____			
7	Hatte einer Ihrer Verwandten sonst jemals Probleme mit den Nerven oder einen Nervenzusammenbruch?		
Verwandtschaftsgrad: _____ Geburtsdatum: _____ Sterbedatum + Grund: _____			
8	Hatte einer Ihrer Verwandten jemals mit einem Arzt oder Anwalt über emotionale oder psychische Probleme oder Probleme mit Drogen und Alkohol gesprochen?		
Verwandtschaftsgrad: _____ Geburtsdatum: _____ Sterbedatum + Grund: _____			
9	War einer Ihrer Verwandten jemals in einem Krankenhaus wegen emotionaler oder psychischer Probleme oder Probleme mit Drogen und Alkohol?		

		JA	NEIN
Verwandtschaftsgrad: _____			
Geburtsdatum: _____			
Sterbedatum + Grund: _____			
10	Hat einer Ihrer Verwandten jemals einen Selbstmordversuch versucht?		
Verwandtschaftsgrad: _____			
Geburtsdatum: _____			
Sterbedatum + Grund: _____			
11	Hat einer Ihrer Verwandten jemals einen Selbstmordversuch vollzogen?		
Verwandtschaftsgrad: _____			
Geburtsdatum: _____			
Sterbedatum + Grund: _____			

Haben Sie eine oder mehrere Fragen mit **JA** beantwortet füllen Sie bitte zu dem entsprechenden Thema die Fragen auf den folgenden Seiten aus.

Alkohol (Frage 1)

		JA	NEIN	WEISS NICHT
1	Würden Sie sagen, sie kennen ihren Verwandten gut?			
2	Wann hatten Sie zuletzt Kontakt zu Ihm/ihr?	Jahr: _____		
Hatte ihr Verwandter Probleme mit dem Trinken wie:				
3	Genuss von Alkohol in größerer Menge über einen längeren Zeitraum, als er/sie vorhatte?			
4	Es ihm/ihr nicht möglich war, mit dem Trinken aufzuhören?			
5	Eine Menge Zeit mit dem Trinken verbrachte			
6	Es ihm/ihr unmöglich war, zu arbeiten, zur Schule zu gehen oder sich um den Haushalt zu kümmern?			
7	Ist er/sie in belastenden Situationen durch das Trinken erleichtert?			
8	Hatte er/sie Verletzungen durch Unfälle?			
9	Hat er/sie wichtige frühere Aktivitäten aufgegeben oder vermindert?			
10	Hatte er/sie Konflikte mit der Familie oder Freunden am Arbeitsplatz oder in der Schule?			
11	Jemals wegen einer Straftat verurteilt worden?			
12	Jemals einen 'Filmriss'?			
13	Häufig auf eine 'Sauftour' geht?			
14	Bereits körperliche Erkrankungen im Zusammenhang mit Alkohol entwickelt hat?			
15	Bereits einmal psychische oder körperliche Probleme im Zusammenhang mit Alkohol entwickelt hat?			
16	Jemals Entzugssymptome wie morgendliches Zittern, Krampfanfälle hatte?			
17	Sehr viel mehr trinken muss als früher um eine Wirkung zu fühlen oder ein Rauschgefühl zu haben?			
18	Jemals in Behandlung oder im Krankenhaus im Zusammenhang mit Alkohol war?			

Drogenmissbrauch und -abhängigkeit (Frage 2)

		JA	NEIN	WEISS NICHT
1	Würden Sie sagen, sie kennen ihren Verwandten gut?			
2	Wann hatten Sie zuletzt Kontakt zu Ihm/ihr?	Jahr: _____		
Welche Probleme hatte ihr Verwandter wegen diesen Drogengebrauches:				
3	Drogeneinnahme in größerer Menge oder über längere Zeit, als Ihr Verwandter dies vorhatte?			

4	Es Ihrem Verwandten nicht mehr möglich war, auf die Drogeneinnahme zu verzichten oder die Dosis zu reduzieren			
5	Ihr Verwandter eine Menge Zeit damit verbrachte, Drogen einzunehmen oder sich von den Wirkungen zu erholen			
6	Nicht mehr zur Arbeit gehen oder den Haushalt führen konnte			
7	In schwierigen Situationen Drogen zu nehmen			
8	Verletzungen durch Unfälle			
9	Früher wichtige Aktivitäten verminderte			
10	Probleme mit der Familie, Freunden, der Schule oder im Beruf			
11	Probleme mit der Polizei			
12	Gesundheitliche Probleme (Hepatitis, Überdosierung)			
13	Emotionale oder psychische Probleme			
14	Entzugssymptome			
15	Dosissteigerung, um die gleiche Wirkung zu erzielen			
16	Schon einmal in Behandlung oder Krankenhaus war			

Depression (Frage 3)

		JA	NEIN	WEISS NICHT
1	Würden Sie sagen, sie kennen ihren Verwandten gut?			
2	Wann hatten Sie zuletzt Kontakt zu Ihm/ihr?	Jahr:		
Als ihr Verwandter unter Depressionen litt, war er/sie				
3	ängstliche, furchtsam oder leicht irritierbar?			
4	weinte oft oder war weinerlicher Stimmung			
5	Interesseverlust an Dingen oder Tätigkeiten			
6	Appetitverlust oder Appetit /Gewichtszunahme ohne Absicht			
7	Schliefe wenig oder zu viel			
8	Bewegte oder sprach langsamer als sonst			
9	Nervöses Händeringen oder nesteln			
10	Wenig Energie oder rasches Ermüden			
11	Konnte nicht mehr arbeiten, zur Schule gehen oder sich um den Haushalt kümmern			
12	Fühlte sich schuldig, wertlos oder beschuldigte sich selbst			
13	Hatte Probleme sich zu konzentrieren oder Entscheidungen zu fällen			
14	Dachte oder sprach über Tod oder Selbstmord			
15	Versuchte, sich umzubringen			
16	War in Behandlung oder im Krankenhaus			

Manie (Frage 4)

		JA	NEIN	WEISS NICHT
1	Würden Sie sagen, sie kennen ihren Verwandten gut?			
2	Wann hatten Sie zuletzt Kontakt zu Ihm/ihr?	Jahr:		
Wenn ihr Verwandter manisch war, dann war er/sie				
3	Zu fröhlich, erregt, hochgestimmt?			
4	Sehr irritierbar?			
5	Meinte, besondere Kräfte oder Fähigkeiten zu haben			
6	Weniger Schlaf benötigte			
7	Sehr viel gesprächiger als vorher			
8	Von einem Einfall zum nächsten sprang			
9	Leicht aus der Fassung zu bringen			
10	In zu viele Aktivitäten in Schule oder Beruf verwickelt war			

11	Zu gesellig			
12	Mehr an Sexualität interessiert als sonst			
13	Eingeschränktes Urteilsvermögen hatte			
14	In Behandlung oder im Krankenhaus			

Schizophrenie (Frage 5)

		JA	NEIN	WEISS NICHT
1	Würden Sie sagen, sie kennen ihren Verwandten gut?			
2	Wann hatten Sie zuletzt Kontakt zu Ihm/ihr?	Jahr:		
Als Ihr Verwandter ungewöhnliche Vorstellungen und Erfahrungen hatte, hatte er/sie auch				
3	die Vorstellung, Leute verfolgten sie/ihn			
4	die Vorstellung, jemand wolle ihn verletzen oder vergiften			
5	die Vorstellung, jemand könne sein Gedächtnis lesen			
6	die Vorstellung, unter der Kontrolle von jemandem zu stehen			
7	die Vorstellung, jemand könne ihm/ihr Gedanken eingeben			
8	die Vorstellung, jemand könne ihm/ihr Gedanken stehlen			
9	die Vorstellung, er/sie habe besondere Fähigkeiten oder eine Mission			
10	Dinge sehen konnte, die real nicht da waren			
11	Stimmen hörte, obwohl kein Mensch zugegen war			
12	In Behandlung oder im Krankenhaus war			

AP (Frage 6)

		JA	NEIN	WEISS NICHT
1	Würden Sie sagen, sie kennen ihren Verwandten gut?			
2	Wann hatten Sie zuletzt Kontakt zu Ihm/ihr?	Jahr:		
Als Ihr Verwandter jünger als 15 Jahre war, hatte er/sie Probleme wie:				
3	Probleme mit Lehrern (Verweise von der Schule etc.)			
4	Regelmäßig in körperliche Auseinandersetzungen verwickelt			
5	Über Nacht von Zuhause weggelaufen			
6	Regelmäßiges Lügen			
7	Probleme mit der Polizei			
8	Stehlen (von der Familie oder außerhalb)			
9	Brutal gegenüber Tieren oder Menschen			
10	Verbummelte wichtige Ereignisse			
11	Vorsätzliche Zerstörung von Eigentum anderer			
12	Machte bei Auseinandersetzungen von Waffen Gebrauch			
13	Vorsätzliches Brandstiften			
14	Die meiste Zeit arbeitslos			
15	Aus verschiedenen Jobs entlassen worden			
16	In kriminelle Aktivitäten verwickelt			
17	Bereits einmal verhaftet oder im Gefängnis war			
18	Schulden hatte			
19	Unverantwortliches Verhalten als (Ehe-) Partner oder als Vater/Mutter			
20	Häufiger Wohnungswechsel oder keine feste Adresse			
21	Verwendung von Falschnamen			
22	Geldverdienen mit kriminellen Aktivitäten			
23	Fahren oder Rasen nach Alkohol/Drogengenuss			
24	Unfähig, Beziehungen zu Partnern auf längere Zeit zu halten			

12. Affidavit

Eidesstattliche Versicherung

Werz, Lorena Michelle

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

Epigenetische Veränderungen in peripheren Blutzellen von alkoholabhängigen Männern während einer Entzugstherapie

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, der 14.11.2023

Lorena Werz

Erklärung zur Übereinstimmung der gebundenen Ausgabe der Dissertation mit der elektronischen Fassung

Werz, Lorena Michelle

Anton-Benya Straße 16, 2435 Ebergassing, AUSTRIA

Hiermit erkläre ich, dass die elektronische Version der eingereichten
Dissertation mit dem Titel:

Epigenetische Veränderungen in peripheren Blutzellen von alkoholabhängigen Männern während einer Entzugstherapie

in Inhalt und Formatierung mit den gedruckten und gebundenen Exemplaren
übereinstimmt.

München, der 14.11.2023

Lorena Werz
