

## Niveles de beta-endorfinas en hijos de padres alcohólicos

J. L. DEL ÁRBOL, J. RICO IRLES, I. CONTRERAS, J. C. AGUIRRE, J. RAYA, M. E. RUIZ REQUENA, M. T. MIRANDA

*Departamentos de Medicina, Bioquímica y Bioestadística. Hospital Clínico de San Cecilio. Facultad de Medicina. Universidad de Granada*

### PLASMA CONCENTRATIONS OF BETA-ENDORPHINS IN THE CHILDREN OF ALCOHOLIC PARENTS

#### RESUMEN

**Introducción:** En los últimos años son numerosos los trabajos acerca de las posibles causas del alcoholismo, donde parece intervenir varios factores, siendo la herencia uno de los más implicados, aunque se han destacado otros, como factores ambientales, que contribuirían a aumentar o disminuir el riesgo individual para desarrollar una dependencia alcohólica.

**Método:** Para intentar aclarar la posible influencia de la herencia en el alcoholismo, hemos estudiado los niveles de beta-endorfinas ( $\beta$ -E) en 25 familias de alcohólicos, en las cuales había 27 hijos con un padre alcohólico y 7 hijos con los dos, así como en dichos padres alcohólicos, y comparado los resultados con unos grupos control: uno de adultos no bebedores y otro de niños normales en familias de no-bebedores, con edades similares.

**Resultados:** Se ha encontrado que los hijos de alcohólicos tienen unos niveles de  $\beta$ -E significativamente más bajos ( $p < 0,001$ ) que los controles, y estos niveles eran aún más bajos en los hijos cuyos dos padres eran alcohólicos.

**Conclusión:** Se concluye que la determinación de  $\beta$ -E podía tener un valor predictivo a la hora de determinar quién es más propenso a ser alcohólico en el futuro.

**PALABRAS CLAVE:** Alcoholismo. Beta-endorfinas. Marcadores genéticos. Herencia.

#### ABSTRACT

**Background:** *Of the factors identified in different studies as the possible causes of alcoholism, heredity appears to be the most important. However, environmental factors can increase or decrease the risk of an individual developing alcohol dependence.*

**Method:** *To clarify the possible influence of heredity on alcoholism, we studied the plasma concentration of beta-endorphins in 25 families with alcoholic members: 27 children whose father was alcoholic and 7 whose father and mother were both alcoholics. The results were compared with finding in an age-matched control group of no-drinking adults and normal children in non-drinking families.*

**Results:** *The children of alcoholic parents had significantly lower beta-endorphin levels ( $p < 0.001$ ) than control individuals, and concentrations were especially low when both parents were alcoholics.*

**Conclusion:** *We conclude that plasma beta-endorphin concentration may have predictive value in identifying persons likely to become alcoholics.*

**KEY WORDS:** Alcoholism. Beta-endorphin. Genetic marker. Heredity.

*Del Árbol JL, Rico Irles J, Contreras I, Aguirre JC, Raya J, Ruiz Requena ME, Miranda MT. Niveles de beta-endorfinas en hijos de padres alcohólicos. An Med Interna (Madrid) 2007; 24: 273-277.*

#### INTRODUCCIÓN

En los últimos años son numerosos los trabajos acerca de las posibles causas del alcoholismo, y aunque parece que en su desarrollo influyen múltiples factores, la herencia es uno de los más implicados (1).

Los estudios realizados en familias de alcohólicos muestran un riesgo 3-9 veces mayor de desarrollarse alcoholismo en los hijos cuando hay algún familiar de primer grado que es alcohólico (2). Estudios en hijos de alcohólicos adoptados por familias no alcohólicas confirman que una elevada proporción del riesgo de desarrollar alcoholismo tiene una base genética (3).

Pero no todos los hijos de alcohólicos serán también alcohólicos. Esto puede deberse a que realmente en el desarrollo del alcoholismo influyen múltiples factores: diferentes genes así como factores ambientales que aumentarían o disminuirían el riesgo individual de desarrollar una dependencia alcohólica (4). Los factores genéticos parecen ser responsables del 40 al 60% de los alcohólicos (5,6). El gen responsable podría estar en el cromosoma 2, 3, 4, 6, 7, 9 (7) y 11 (dopamine D2 receptor-DRD2) (8), mientras que otros autores no ven asociación entre el alelo A1 DRD2 del cromosoma 11 y el alcoholismo (9).

Numerosos trabajos han comparado las diferentes respuestas hormonales, fisiológicas o psicológicas, al consumo de

alcohol en sujetos con y sin historia familiar de alcoholismo (10), con el fin de señalar aquellas que puedan usarse como marcadores para identificar individuos genéticamente predispuestos a desarrollarlo (11-13). Diferentes sustancias parecen responder de forma diferente en aquellos sujetos con historia familiar de alcoholismo: adrenocorticotropin hormone (ACTH), cortisol (CORT) y prolactina (PRL) (14,15),[aunque estudios posteriores desmienten el comportamiento previo señalado para CORT (13) y para PRL (12)], así como el alcohol puede alterar el ritmo circadiano y sus controles (38,39).

Recientemente, se ha implicado la diferente respuesta de  $\beta$ -endorfinas ( $\beta$ -E) al alcohol para clasificar a sujetos con "alto" y "bajo" riesgo de desarrollar alcoholismo (13,16), lo que parece sugerir que esta respuesta puede utilizarse como biomarcador para identificar individuos con un alto riesgo genético para ser alcohólicos (17,18,37). Asimismo Town y cols. (19) sugieren que el sistema opióide endógeno juega un importante papel en la etiología del alcoholismo tanto en humanos como en animales.

En trabajos anteriores ya se ha comprobado que los niveles plasmáticos de  $\beta$ -E en los alcohólicos son más bajos que en sujetos normales, incluso tras más de 10 años de abstinencia (20-24), pero pocos trabajos hemos encontrado en los que se estudian estos niveles en hijos de alcohólicos, y entre éstos los resultados obtenidos son diferentes (13,25). Para intentar clarificar este aspecto hemos diseñado el presente trabajo donde estudiamos a los hijos de uno o dos progenitores alcohólicos y comprobamos sus niveles basales de  $\beta$ -E plasmática.

## MATERIAL Y MÉTODOS

En este trabajo han participado un total de 172 sujetos.

Hemos estudiado un total de 25 familias relacionadas con el alcoholismo. En 20 de ellas uno de los progenitores era alcohólico, y en las 5 restantes lo eran los dos.

El grupo de alcohólicos se reclutó de entre los pacientes que venían a la consulta de medicina general del hospital, a revisiones por procesos banales y sin relación conocida con las endorfinas, y que admitían consumir más de 100 g diarios de alcohol. El grupo control se reclutó de entre los empleados de una gran empresa que aseguraban no beber alcohol. Los niños controles se reclutaron en las consultas de pediatría a donde acudían para revisiones periódicas y estar libres de cualquier enfermedad.

Una vez seleccionados los miembros susceptibles de estudio consideramos los siguientes grupos:

—Hijos con un solo progenitor alcohólico ( $n = 27$ ; 15 niños y 12 niñas) con edades comprendidas entre el año de edad y los 16 años ( $x = 7,4 \pm 3,5$ ).

—Hijos con los dos progenitores alcohólicos ( $n = 7$ ; 4 niños y 3 niñas) con edades entre los 4 y 16 años ( $x = 3,36 \pm 1,22$ ).

—Alcohólicos: tanto padres como madres de los anteriores ( $n = 26$ ; 14 hombres y 12 mujeres) con un consumo de alcohol superior a 100g/día. La edad de este grupo oscilaba entre los 25 y 50 años ( $x = 36,4 \pm 5,7$ ).

Por otra parte los 2 grupos controles, cuyos miembros nunca habían consumido alcohol, estaban formados por:

—Primer grupo control ( $n = 78$ ) formado por 67 hombres y 11 mujeres de edades comprendidas entre 27-63 años ( $x = 44,4 \pm 1,2$ ).

—Segundo grupo control ( $n = 35$ ) constituido por 27 niños y 8 niñas, con edades comprendidas entre los 3 y 15 años ( $x = 9,5 \pm 3$ ). Podemos considerar este segundo como un grupo control más estricto, ya que estos niños, sobre todos los menores de once años, con total seguridad nunca habían consumido alcohol, así como tampoco sus padres, salvo en ocasiones esporádicas.

Ninguno de los sujetos estudiados presentaban enfermedad aparente, siendo descartados aquellos en los que se sospechara la presencia de enfermedad psiquiátrica o hepática. Asimismo ninguno de ellos consumía fármacos que pudiesen interferir con los resultados: psicofármacos, benzodiazepinas y neurolepticos, etc.

El diagnóstico de alcoholismo en el grupo correspondiente se hizo en base a los resultados obtenidos por el CAGE y MALT-test, y a resultados analíticos sugerentes de alcoholismo crónico: elevación de VCM y GGT, etc.

Se asume (si hemos de creer a los padres, ya que no hemos encontrado otra manera de controlarlo, pues las pruebas realizadas para detectar alcoholismo en algunos niños fueron siempre negativas) que los hijos de los alcohólicos, con edades inferiores a los 11 años, no habían consumido alcohol, y que los 3 niños mayores de 11 años, si alguna vez hubieran podido probar el alcohol, no lo hacían de forma habitual, ya que sus resultados analíticos no se diferenciaban significativamente de los de los otros niños, por lo que tampoco podrían alterar los resultados.

Se obtuvo consentimiento por escrito para la participación en el estudio en todos los grupos. En el caso de los menores de edad este consentimiento fue dado por sus padres.

En todos los grupos la muestra se tomó entre las 8 y 11 horas AM; se extrajeron 8 ml de sangre en cada sujeto y se introdujeron en un tubo de ensayo con 0,1 ml de EDTA dipotásico. Éste fue conservado en frío (4 °C) hasta su centrifugado. Posteriormente se almacenó a -20 °C hasta el día del análisis.

La técnica para análisis de  $\beta$ -E plasmática se hizo mediante el kit comercial INCSTAR  $\beta$ -endorphin RIA, con un paso previo de extracción purificación. Los niveles considerados normales tanto en controles adultos como en controles niños oscilaron entre 12,08 y 6,68 pmol/l. Con valores medios de 11,47 y 9,53 respectivamente. La sensibilidad de este método fue de 3 pmol/l, con una especificidad bastante buena (la mayor reacción cruzada era con beta-LPH a < 5%).

Método Estadístico: Los datos del presente estudio se han introducido en un archivo de datos de SPSS para su posterior tratamiento por dicho paquete de programas estadísticos. (Versión 11.0) En primer lugar se ha realizado un análisis descriptivo de los datos, obteniéndose los valores de la media, desviación estándar, error estándar de la media y valores mínimo y máximo observados en cada una de las muestras analizadas.

A continuación se ha estudiado la normalidad de la beta-endorfina en cada muestra mediante los tests de Kolmogorov-Smirnov y de Shapiro-Wilk según las muestras sean de tamaño elevado ( $n > 50$ ) o de menos de 50 observaciones. Dado que en algunos de los grupos la variable estudiada no sigue la distribución normal, se ha usado la transformación logarítmica que corrige la no-normalidad ajustándose los valores transformados a dicha distribución.

La comparación de los distintos grupos (adultos controles, niños controles, alcohólicos, hijos con un padre alcohólico e hijos con los dos padres alcohólicos), se ha realizado mediante un Análisis de la Varianza de un factor (ANOVA) inclu-

yéndose el resultado del test de Welch y Brown-Forsythe ante la presencia de varianzas desiguales. Dado que el resultado ha sido significativo se han realizado posteriormente las correspondientes comparaciones múltiples mediante el método de Bonferroni y de Tahmane.

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos se reflejan en la figura 1.

Todos los padres alcohólicos estudiados ( $n = 26$ ) presentan unos valores de  $\beta$ -E plasmática inferiores al resto de grupos (1-8,8 pmol/l, con un valor medio de  $3.4 \pm 1.9$  pmol/l), obteniendo significación estadística ( $p < 0,001$ ) al compararlos con todos los grupos, excepto con el de "hijos de 2 progenitores alcohólicos".

Los hijos de alcohólicos estudiados (tanto con uno como con dos progenitores alcohólicos) también presentan unos valores de  $\beta$ -E bajos en relación con los controles, obteniendo importante significación estadística ( $p < 0,001$ ): Los hijos con un solo padre alcohólico tienen unos valores que oscilan entre 2.2 y 13.2 pmol/l (valor medio:  $5.4 \pm 2,5$  pmol/L). Los que tienen los 2 padres alcohólicos tienen una concentración media de  $\beta$ -E aún menor:  $3,3 \pm 1,2$  pmol/l (1,9-5,3 pmol/l), por lo que no presentan significación estadística al compararlos con los grupos de alcohólicos. Estos 2 grupos de hijos no presentan diferencias significativas entre sí.

Los 2 grupos controles, tanto de adultos (valor medio:  $9,4 \pm 4,8$  pmol/l) como de niños (valor medio:  $9,5 \pm 1,7$  pmol/l) no presentaron diferencias entre sí. Los valores encontrados en estos 2 grupos son significativamente más elevados que en los demás grupos.

Al hacer el estudio diferenciando si el bebedor era el padre o la madre no se encontraron diferencias significativas.

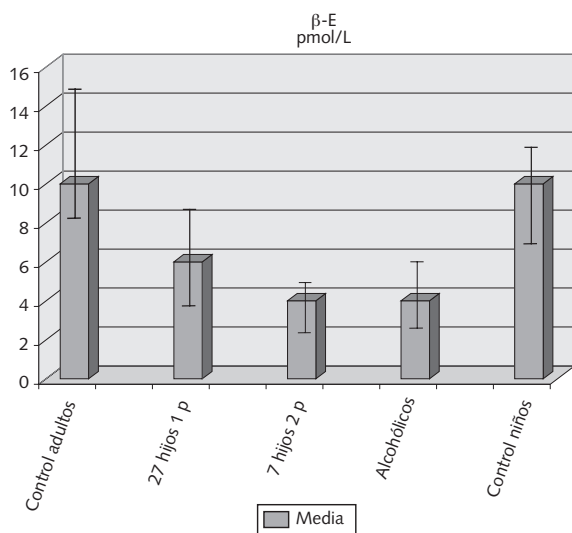


Fig. 1. Los niveles de  $\beta$ -E ( $\beta$ Endorfinas) de hijos de uno o dos padres alcohólicos, comparados con los controles adultos y niños, son significativamente ( $p < 0,001$ ) más bajos que dichos controles. Igualmente, los niveles de  $\beta$ -E en los padres alcohólicos son también significativamente ( $p < 0,001$ ) más bajos que los controles. No hay diferencia significativa entre los grupos de hijos de uno o dos padres alcohólicos. 1 p = 1 padre alcohólico; 2 p = 2 padres alcohólicos.

En resumen, tanto los alcohólicos, como sus hijos, presentan unos niveles plasmáticos de  $\beta$ -E significativamente más bajos que los controles. Esta significación es aún mayor cuando los 2 padres son alcohólicos.

## DISCUSIÓN

El planteamiento y resultados del presente trabajo pretenden responder a la pregunta, frecuentemente planteada, de si el alcoholismo se hereda o no. Como señalaremos a lo largo de esta discusión, numerosos autores se han planteado esta cuestión, con respuestas muy diferentes.

Un primer análisis de los resultados confirma, una vez más, nuestros datos previos de que los alcohólicos crónicos presentan unos valores plasmáticos de  $\beta$ -E significativamente más bajos que los no alcohólicos (20-23) y en concordancia con otros investigadores (24).

Creemos que lo más importante del presente trabajo es haber comprobado que los hijos de los alcohólicos también tienen unos valores más bajos de  $\beta$ -E plasmática que los controles, y muy semejantes a los valores que presentan sus padres alcohólicos (los resultados son similares entre el grupo de alcohólicos y los hijos de 2 padres alcohólicos). Por tanto, estos niveles anormalmente bajos no serían consecuencia del consumo de alcohol, cosa que ya sugerimos en anteriores trabajos, sino que sería una causa del mismo, ya que los hijos de alcohólicos que hemos estudiado con edades comprendidas entre los 1-16 años, difícilmente habrían tenido contacto con el alcohol, o de haberlo hecho de forma "esporádica" (sobre todo los mayores de 11 años), difícilmente se afectarían estadísticamente los niveles de beta.endorfinas, (máxime teniendo en cuenta que algunos de los niños tenían niveles de beta.endorfinas dentro de la normalidad,) como para considerar sus niveles bajos de  $\beta$ -E como consecuencia del alcohol. La cuestión es si esta deficiencia encontrada estaría o no genéticamente determinada.

La bibliografía consultada muestra las 2 tendencias: Por una parte hay un numeroso grupo de autores que por diferentes caminos (estudio de enzimas plaquetarias; monoaminooxidasa y adenilciclasa (26), receptores opioides (18, 19), dopamina (8), serotonina y alteraciones electroencefalográficas (11)) se decantan por una posible base genética del alcoholismo (27-29), mientras que otros indicaban que no parece existir dicha base genética (30). Profundizando en la primera hipótesis, incluso se sugiere que la presencia de cierto alelo en el gen DRD2 del cromosoma 11 se asocia de forma muy intensa con el alcoholismo, permitiendo clasificar correctamente al 77% de alcohólicos (8). En cambio para otros la presencia de este alelo actuaría más como modificador que como agente etiológico primario, o incluso niegan dicha asociación con el alcoholismo (9).

Donde parece haber un mayor consenso es en considerar factores plurietiológicos en el desarrollo del alcoholismo (31-33), es decir, en considerar atributos genéticos múltiples que interactuarían con otros factores (ambientales, por ejemplo) para aumentar o disminuir un determinado riesgo individual para el posterior desarrollo de la dependencia alcohólica (4).

El estudio del sistema opióide endógeno parece ser una de las claves de esta encrucijada (36). Froehlich et al (17) estudian 88 gemelos, y sugieren que la respuesta de la  $\beta$ -E al alcohol podría servir como "biomarcador funcional" que detectara

la vulnerabilidad genética para el alcoholismo, y, así, poder identificar a individuos que tendrían un elevado riesgo genético de desarrollarlo. Por otra parte el grupo de Gianoulakis (13), demuestra una aumentada sensibilidad de la  $\beta$ -E hipofisaria al consumo de alcohol en jóvenes no alcohólicos con antecedentes familiares de alcoholismo multigeneracional, sugiriendo, en conjunto, unas concentraciones basales de  $\beta$ -E más bajas en aquellos sujetos con alto riesgo de alcoholismo. Sin embargo, estos hallazgos no son compartidos por todos (25). También se ha estudiado la asociación entre los genes de los receptores opioides y el alcoholismo, pudiendo contribuir éstos al 40% del total de riesgo para su desarrollo (5,10,19). Por último, una disminuida actividad basal de  $\beta$ -E (niveles bajos de  $\beta$ -E en alcohólicos y menor densidad de receptores opioides en hijos de alcohólicos) parece ser un rasgo marcador de alcoholismo (34).

En resumen, aunque aún no se ha identificado un completo rasgo marcador del alcoholismo, hay esperanzas para poder identificar subgrupos de alcohólicos con determinadas marcas biológicas que permitan su identificación precoz, y corresponde a futuras generaciones de clínicos el tomar estas informaciones

y desarrollar programas preventivos para ayudar a los individuos predispuestos a evitar los problemas del alcohol (10).

Los hijos de padres alcohólicos tienen unos valores plasmáticos de  $\beta$ -E menores que los hijos de no alcohólicos y valores semejantes al de sus padres alcohólicos. Por tanto, a la vista de estos resultados, el descenso del nivel plasmático de  $\beta$ -E puede considerarse como un defecto previo al consumo de alcohol en sujetos con riesgo elevado de ser, en un futuro, alcohólicos. Se precisan nuevos estudios (35) para determinar si este "marcador" es una variación sin significado, o por el contrario es el signo de un defecto con amplias implicaciones.

Así, concluimos que, las concentraciones de beta-endorfinas podrían tener un valor predictivo en la identificación de personas propensas a ser, posiblemente, alcohólicas.

#### RECONOCIMIENTOS

Agradecemos al staff del Laboratorio de Bioquímica del Hospital Universitario de San Cecilio de Granada por su colaboración en la determinación de todas las pruebas analíticas.

## Bibliografía

- Gianoulakis C. Endogenous opioids and addiction to alcohol and other drugs abuse. *Curr Top Chem* 2004; 4: 39-50.
- Russell M. Prevalence of alcoholism among children of alcoholics, in children of alcoholics: Critical Perspectives (Windle M, Searles J eds), pp 9-38, Guilford Press, New York 1990.
- Cadore J, Cain CA, Grove WM. Development of alcoholism in adoptees raised apart from alcoholic biologic relatives. *Arch Gen Psychiatry* 1980; 37: 561-3.
- Gianoulakis C, de Waele JP. Genetics of alcoholism: Role of the endogenous opioid system. *Metab Brain Dis* 1994; 9: 105-31.
- Hesselbrock VM. The genetic epidemiology of alcoholism, in *Alcohol and Alcoholism: The Genetics of Alcoholism* (Begleiter H, Kissin B eds), vol 1; pp 17-39, Oxford University Press, New York; 1995.
- Heath AC, Bucholz KK, Madden PAF. Genetic and environmental contributions to alcohol dependence risk in a national twin sample: Consistency of findings in women and men. *Psychol Med* 1997; 27: 1381-96.
- Foroud T, Li TK. Genetics of alcoholism: A review of recent studies in human and animal models. *Am J Addict* 1999; 8: 261-278.
- Blum K, Noble EP, Sheridan PJ, Montgomery A, Ritchie T, Jagadeeswaran P, et al. Allelic Association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *JAMA* 1990; 263: 2055-60.
- Lu RB, Ko HC, Chang RM. No association between alcoholism and multiple polymorphisms at the dopamine D2 receptor gene (DRD2) in three distinct Taiwanese populations. *Biol Psychiatry* 1996; 39: 419-29.
- Farren CK, Tipton KF. Trait markers for alcoholism: Clinical utility. *Alcohol & Alcoholism* 1999; 34 (5): 649-65.
- Volavka J, Czobor P, Goodwin DW, Gabrielli WF, Penick EC, Mednick SA, et al. The electroencephalogram after alcohol administration in high-risk men and the development of alcohol use disorders 10 years later: Preliminary findings. *Arch Gen Psychiat* 1996; 53: 258-63.
- Schuckit MA, Tsuang JW, Anthenelli RM, Tipp J, Nurnberger JI. Alcohol challenges in young men from alcoholic pedigrees and control families: A report from the COGA project. *J Sud Alcohol* 1996; 57: 368-77.
- Gianoulakis C, Krishnan B, Thavundayil J. Enhanced sensitivity of pituitary B-endorphin to ethanol in subjects at high risk of alcoholism. *Arch Gen Psychiatry* 1996; 53: 250-7.
- Schuckit MA, Gold E, Risch C. Plasma cortisol levels following ethanol in sons of alcoholics and controls. *Arch Gen Psychiatry* 1987; 44: 942-5.
- Schuckit MA, Risch SC, Gold EO. Alcohol consumption, ACTH level and family history of alcoholism. *Am J Psychiatry* 1988; 145: 1391-5.
- Dai X, Thavundayil J, Gianoulakis C. Differences in the responses of the pituitary B-Endorphin and cardiovascular system to ethanol and stress as a function of family history. *Alcohol Clin Exp Res* 2002; 26: 1171-80.
- Froehlich JC, Zink RW, Li K, Christian JC. Analysis of heritability of hormonal responses to alcohol in twins: Beta-Endorphin as a potential biomarker of genetic risk for alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 2000; 24: 265-77.
- Gianoulakis C. Influence of the endogenous opioid system on high alcohol consumption and genetic predisposition to alcoholism. *J Psychiatry Neurosci* 2001; 26: 304-18.
- Town T, Schinka J, Tan J, Mullan M. The opioid receptor system and alcoholism: a genetic perspective. *Eur J Pharmacol* 2000; 410: 243-8.
- Aguirre JC, Del Árbol JL, Raya J, Rico J, Ruiz Requena ME, Miranda MT. Plasma B-endorphin levels in chronic alcoholics. *Alcohol* 1990; 7: 409-12.
- Aguirre JC, Del Árbol JL, Raya J, Rico J, Ruiz-Requena ME, Miranda MT. Derivados de la Pro-opiomelanocortina (ACTH y B-endorfinas) en alcohólicos crónicos. *An Med Interna (Madrid)* 1991; 8: 228-32.
- Del Árbol JL, Aguirre JC, Raya J, Rico J, Ruiz Requena ME, Miranda MT. Derivados de la POMC en alcohólicos crónicos. *An Med Interna (Madrid)* 1989; 6: 50-1.
- Aguirre JC, Del Árbol JL, Raya J, Rico J, Ruiz Requena ME, Miranda MT. Classification of alcoholics on the basis of B-endorphin concentrations. *Alcohol* 1995; 12: 531-4.
- Inder WJ, Livesey JH, Donald RA. Peripheral plasma levels of beta-endorphin in alcoholics and highly trained athletes and the relationship to a measure of central opioid tone. *Horm Metab Res* 1998; 30: 523-5.
- Moss HB, Yao JK. Basal plasma b-endorphin in prepuberal sons of alcoholics and drug addicts: lack of association with problem behaviors. *Drug and Alcohol Dependence* 1997; 48: 221-5.
- Tabakoff B, Hoffman PL, Lee JM, Saito T, Willard B, De Leon-Jones F. Differences in platelet enzyme activity between alcoholics and nonalcoholics. *N Engl J Med* 1988; 318: 134-39.
- Cloninger CR. Neurogenetic adaptive mechanism in alcoholism. *Science* 1978; 236: 410-6.
- Pickens RW, Svikis DS, McGue M, Lykken DT, Heston LL, Clayton PJ. Heterogeneity in the inheritance of alcoholism. *Arch Gen Psychiatry*

- 1991; 48: 19-28.
29. Schuckit MA. Reactions to alcohol in sons of alcoholics and controls. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1988; 12: 465-70.
  30. Jellinek EM. The disease concept of alcoholism. Hillhouse Press New-haven (EE.UU.) 1960.
  31. Light JM, Irvine KM, Kjerulf L. Estimating genetic and environmental effects of alcohol use and dependence from a national survey: A quasi-adoptive study. *J Stud Alcohol* 1996; 57: 507-20.
  32. Schuckit MA. Genetics of the risk for alcoholism. *Am J Addict* 2000; 9: 103-12.
  33. Johnson EO, Pickens RW. Familial transmission of alcoholism among nonalcoholics and mild, severe and dysocial subtypes of alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25: 661-6.
  34. Ratsma JE, Van Der Stelt O, Gunning WB. Neurochemical markers of alcoholism vulnerability in humans. *Alcohol and Alcoholism* 2002; 37: 522-33.
  35. Holden C. Alcoholism gene: Coming or going. *Science* 1991; 254: 200.
  36. Oswald LM, Wand GS. Opioids and alcoholism. *Physiol Behav* 2004; 81: 339-58.
  37. Zalewska-Kaszbska J, Czarnecka E. Deficit in beta-endorphin peptide and tendency to alcohol abuse. *Peptide* 2005; 26: 701-5.
  38. Spanagel R, Rosenwasser AM, Schumann G, Sarkar DR. Alcohol consumption and the body's biological clock. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29: 1550-7.
  39. Chen CP, Kuhn P, Advis JP, Sarkar DK. Prenatal ethanol exposure alters the expression of period genes governing the circadian function of beta-endorphin neurons in the hypothalamus. *Neurochem* 2006; 97: 1026-33.