

---

TEZĂ DE DOCTORAT (REZUMAT)

# Alcoolismul și comorbidități psihiatrice

---

Doctorand **Maria Bonea**

---

Conducător de doctorat Prof.dr. **Ioana Valentina Micluția**

---



**UMF**  
UNIVERSITATEA DE  
MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
IULIU HAȚIEGANU  
CLUJ-NAPOCA

# CUPRINS

<b>INTRODUCERE</b>	13
<b>STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII</b>	
<b>1. Alcoolismul și comorbidități psihiatrice</b>	17
1.1. Generalități	17
1.1.1. Alcoolismul – problemă de sănătate publică	17
1.1.2. Criterii diagnostice și tipuri de alcoolism	18
1.1.2.1. Criterii diagnostice	18
1.1.2.2. Tipuri de alcoolism	19
1.1.2.3. Fenotipuri ale alcoolismului	20
1.2. Efecte neurobiologice și comportamentale ale alcoolului	20
1.2.1. Metabolizare	20
1.2.2. Efecte asupra sistemelor de neurotransmițători	20
1.2.3. Dezvoltarea dependenței	21
1.2.3.1. Circuitul recompensei	21
1.2.3.2. Factori de risc	22
1.3. Comorbidități psihiatrice	23
1.3.1. Tulburări de dispoziție	24
1.3.2. Tulburări de anxietate	24
1.3.3. Tulburări cognitive	25
1.3.4. Tulburări ale consumului altor substanțe psihoactive	26
1.3.5. Tulburări de personalitate	26
1.3.6. Tulburări psihotice	27
1.4. Terapia alcoolismului	27
1.4.1. Tratamente recomandate	27
1.4.1.1. Tratament farmacologic de fază acută	27
1.4.1.2. Tratament farmacologic pentru prevenirea recăderilor	28
1.4.2. Terapii experimentale și acțiunea lor asupra diverselor sisteme	29
1.4.2.1. Sistemul GABA-ergic	29

1.4.2.2. Sistemul glutamatergic	30
1.4.2.3. Sistemul dopaminergic	30
1.4.2.4. Sistemul serotoninergic	30
1.4.2.5. Sistemul colinergic	31
1.4.2.6. Sistemul opioid endogen	31
1.4.2.7. Sistemul adrenergic	31
1.4.2.8. Sistemul glucocorticoid	31
1.4.2.9. Sistemul canabinoid	32
1.4.2.10. Alte mecanisme de acțiune	32
<b>2. Genetica alcoolismului</b>	<b>33</b>
2.1. Variante genetice asociate cu alcoolismul	33
2.1.1. Tipuri de studii genetice	33
2.1.1.1. Studii de adopție și pe gemeni	33
2.1.1.2. Studii de linkage	33
2.1.1.3. Studii de asociație	34
2.1.1.4. Studii de asociație la scară genomică (GWAS)	34
2.1.2. Variante genetice ale enzimelor implicate în metabolismul alcoolului	35
2.1.3. Variante genetice la nivelul sistemelor de neurotransmițători	35
2.1.3.1. Sistemul GABA-ergic	35
2.1.3.2. Sistemul glutamatergic	35
2.1.3.3. Sistemul dopaminergic	35
2.1.3.4. Sistemul serotoninergic	36
2.1.3.5. Sistemul colinergic	36
2.1.3.6. Sistemul opioid endogen	36
2.1.3.6. Alte sisteme de neurotransmițători	37
2.1.4. Modificări epigenetice	37
2.2. Farmacogenetică	37
<b>CONTRIBUȚIA PERSONALĂ</b>	
<b>1. Ipoteza de lucru/obiective</b>	<b>41</b>
<b>2. Studiul 1 - Comorbiditățile dependenței cronice alcoolice</b>	<b>43</b>
2.1. Introducere	43
2.2. Ipoteza de lucru/obiective	43
2.3. Material și metodă	43
2.4. Rezultate	45
2.5. Discuții	62
2.6. Concluzii	64

<b>3. Studiul 2 - Calitatea vieții și nivelul dizabilității ale pacienților cu dependență cronică alcoolică și comorbidități psihiatrice</b>	65
3.1. Introducere	65
3.2. Ipoteza de lucru/obiective	66
3.3. Material și metodă	66
3.4. Rezultate	67
3.5. Discuții	73
3.6. Concluzii	75
<b>4. Studiul 3 - Asocierea dintre polimorfismul rs1437396 și dependența cronică alcoolică și depresia comorbidă alcoolismului</b>	77
4.1. Introducere	77
4.2. Ipoteza de lucru/obiective	78
4.3. Material și metodă	78
4.4. Rezultate	85
4.5. Discuții	96
4.6. Concluzii	99
<b>5. Studiul 4 - Efectul modulator al Metforminului asupra anxietății și neurotoxicității induse de alcool- studiu experimental pe șobolani Wistar</b>	101
5.1. Introducere	101
5.2. Ipoteza de lucru/obiective	102
5.3. Material și metodă	102
5.4. Rezultate	105
5.5. Discuții	116
5.6. Concluzii	120
<b>6. Concluzii generale</b>	121
<b>7. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei</b>	123
<b>REFERINȚE</b>	125

**Cuvinte cheie:** dependență, alcool, comorbidități, calitatea vieții, polimorfism genetic, Metformin

## 1. INTRODUCERE

Dependența cronică alcoolică (DCA) este o tulburare mentală cronică, marcată de multiple recăderi, cu o etiologie multifactorială. Deși consumul ocazional de alcool este acceptat în multe culturi, ingestia repetată a unor cantități ridicate, mai ales în cazul indivizilor cu susceptibilitate genetică, poate predispuce la adicție, manifestată prin simptome tipice precum dezvoltarea toleranței, a sindromului de sevraj, a unei dorințe compulsive, dificil de controlat de a bea, cu modificarea comportamentului, care devine centrat aproape în exclusivitate pe utilizarea etanolului. În mod caracteristic, pacienții dependenți continuă consumul în ciuda tuturor dificultăților socio-profesionale și a problemelor medicale și psihologice cauzate de alcool. Prevalența DCA variază la nivel global de la aproape 0% în țările islamice la 16% în țările din Europa de Est, România ocupând locul 5 mondial.

Evoluția și prognosticul DCA sunt influențate de prezența comorbidităților, atât psihiatrice, cât și somatice. Etiopatogeneza tulburărilor psihice comorbide poate include factori de risc comuni.

Pacienții dependenți de alcool suferă de o calitate a vieții scăzută, fapt ce ar putea duce dificultăți în menținerea complianței terapeutice, respectiv în abținerea de la consumul toxicului în cauză. Astfel, tratamentul multifactorial al pacientului dependent, având în vedere și componentele genetice, comorbiditățile asociate, calitatea vieții și dizabilitățile promite un prognostic mai bun.

## 2. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Conform Organizației Mondiale a Sănătății (OMS), consumul nociv de alcool este factor etiologic a peste 200 de patologii, atât somatice, cât și psihiatrice. Alcoolul este, la nivel global, cea mai consumată substanță psihoactivă, cu o prevalență în creștere începând cu anii 1990. Etanolului i se atribuie 5,9% din decesele în plan global, persoanele dependente având un risc de 3-4 ori mai mare de moarte prematură față de populația generală. Este binecunoscută asocierea cu tulburări de comportament și psihiatrice, ajungând una dintre cele mai importante probleme de sănătate publică, prin impactul său social și economic și prin puternica afectare funcțională și a calității vieții, chiar de la vârste tinere. Cauzele majore de moarte prematură atribuibile consumului de alcool sunt traumatismele de diverse tipuri, hepatita toxică etanolică (global, 50% din cazurile de afecțiuni hepatice fiind cauzate de alcool), bolile cardiovasculare și accidentele vasculare cerebrale, neoplasmul și afecțiunile gastroenterologice. Deși există beneficii cardiovasculare modeste, mai ales pentru bărbații de vârstă mijlocie, acestea sunt semnificativ depășite de riscuri.

Diagnosticul dual este entități clinice reprezentate nu doar de simpla coexistență a două patologii psihiatrice, de cele mai multe ori, acestea având și factori de risc, simptomatologie și evoluție intricate. În cazul pacienților alcoolici abștinenți pe termen lung (mai mult de 6 luni) s-a observat că nu există o corelație între durata abștinenței și diagnosticul psihiatric comorbide curente sau pe parcursul vieții.

Astfel că prezența concomitentă a tulburărilor afective sau de anxietate nu cresc riscul recăderilor. Totuși, se apreciază că doar 25% dintre alcoolici primesc tratament, iar majoritatea cercetărilor se efectuează doar pe această populație cu o patologie mai severă și cu un risc mare de a avea tulburări psihice comorbide.

Sensibilitatea la efectele etanolului variază interindividual dar și între diferitele populații. Susceptibilitatea genetică nu este de tip Mendelian, dată de un singur locus, ci de numeroase polimorfisme, repartizate la nivelul întregului genom, care, în condiții de mediu specifice, generează diferite fenotipuri de risc. Fiecare dintre aceste variante genetice este responsabilă de mai puțin de 1% din riscul de a dezvolta DCA. Polimorfisme la nivelul tuturor sistemelor importante de neurotransmițători au fost asociate cu alcoolismul. Heritabilitatea implică mai ales circuitele responsabile de recompensă, inhibiție comportamentală, compulsivitate, răspunsul la stres.

### 3. CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

#### Studiul 1. Comorbiditățile dependenței cronice alcoolice

**Obiectivul** studiului a fost analiza internărilor la secția de Psihiatrie legate de tulburarea consumului de alcool, o trecere în revistă a principalelor comorbidități psihiatrice și medicale și evaluarea unor potențiali factori de risc ai reinternărilor în decursul unei perioade de un an.

**Metodă:** Studiul de față este unul retrospectiv, descriptiv, ce a inclus toți pacienții internați pe cele 3 secții de Psihiatrie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj, pe parcursul anului 2016, cu diagnosticul principal sau secundar de DCA, conform criteriilor ICD-10. Datele au fost culese utilizând baza de date electronică AtlasMed a Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj și foile de observație ale pacienților disponibile în arhiva celor 3 secții de Psihiatrie

**Rezultate:** Între 1 ianuarie 2016 și 31 decembrie 2016, au existat 817 internări cu diagnosticul principal sau secundar de DCA, dintr-un total de 3549 de internări (reprezentând 23.02%), realizate de 623 de pacienți. Proporția bărbaților a fost mai mare (86.52%) față de femei (13.48%), majoritatea pacienților provenind din mediul urban (64%). Numărul de internări per pacient a variat între 1 (75.76%) și 9 (un singur caz). 1.76% dintre pacienți, exclusiv de sex masculin, au fost internați de peste 5 ori într-un an. Durata medie a primei internări a fost de  $12.02 \pm 7.24$  zile. Costul mediu al investigațiilor la prima internare a fost de  $233.2 \pm 202.5$  RON. Cei mai mulți pacienți au fost de vârstă medie, grupa de vârstă 50-65 de ani fiind cea mai bine reprezentată în cazul ambelor sexe. Cele mai comune comorbidități psihiatrice au fost tulburarea depresivă majoră și tulburarea cognitivă ușoară. Tulburările anxioase au reprezentat doar 0.67% din comorbidități. Cele mai frecvente comorbidități somatice ale pacienților alcoolici au fost tulburările hepatice și afecțiunile cardiovasculare (hipertensiune arterială, boală coronariană ischemică, aritmii). Tulburările neurologice, precum polineuropatia etanolică, traumatismele craniale și

epilepsia s-au înregistrat în proporții semnificative. 71.58% dintre pacienți prezentau minim o comorbiditate psihiatrică (37.4% dacă se iau în considerare doar cele de Axă I). 65.43% prezentau comorbidități somatice. Cei mai mulți pacienți au prezentat câte o singură afecțiune psihiatrică sau medicală comorbidă, dar au existat și pacienți cu trei comorbidități psihiatrice (de exemplu: episod depresiv, dependență de substanțe psihoactive și o tulburare de personalitate). În mod similar, a existat un procent mic de pacienți cu peste trei diagnostice somatice comorbide. Majoritatea pacienților au dezvoltat simptomatologia unui sevraj alcoolic necomplicat, 14.1% fiind internați de urgență pentru crize convulsive, respectiv 11% pentru delirium tremens. Bărbații dependenți de alcool au prezentat semnificativ mai rar tulburare depresivă majoră ( $p=0.048$ ) și schizofrenie ( $p=0.009$ ). În ceea ce privește frecvența celorlalte comorbidități psihiatrice nu au existat diferențe între sexe. Cele mai frecvente tulburări de personalitate asociate cu alcoolismul au fost cea instabil emoțională, aceasta fiind cea mai des întâlnită atât în cazul femeilor cât și al bărbaților și cea disocială. Nu au existat diferențe între sexe decât în ceea ce privește tulburarea de personalitate borderline, prezentă exclusiv la femei ( $p=0.002$ ). Tulburările de personalitate din clusterul A și C au fost foarte rar diagnosticate (0.7%, respectiv 0.5% din totalul pacienților). Bărbații au prezentat semnificativ mai frecvent complicații ale sevrajului alcoolic ( $p=0.001$ ), diferența fiind cea mai mare în cazul convulsiilor tonico-clinice ( $p=0.003$ ). Nu au existat diferențe semnificative statistic între sexe în ceea ce privește frecvența episoadelor de delirium tremens. Subiecții cu pensie de invaliditate au prezentat un risc semnificativ mai crescut, de 1.55 ori, de a fi reinternați în decurs de un an ( $p=0.03$ ). Lipsa asigurării medicale a reprezentat un factor care a elevat riscul respitalizării de 3.12 ori ( $p<0.001$ ). O durată medie mai scăzută a primei internări s-a asociat cu creșterea semnificativă a riscului de internări multiple în decursul aceluiași an. Pacienții care au necesitat reinternare în același an pentru sevraj alcoolic au prezentat un cost semnificativ mai redus al investigațiilor la prima internare ( $p<0.001$ ).

Prezența a minim unei comorbidități psihiatrice a crescut riscul reinternărilor de 1.92 ori ( $p=0.003$ ). Riscul internărilor multiple a fost de 3.8 ori mai crescut în cazul pacienților cu schizofrenie ( $p=0.28$ ). Prezența unei tulburări de personalitate a crescut de 1.82 ori riscul reinternărilor în decurs de un an ( $p=0.002$ ). În modelul de regresie logistică multivariată au fost incluse inițial următoarele variabile: vârstă, statutul de pensionar de invaliditate, statutul de neasigurat, durata și costurile investigațiilor pentru prima internare și prezența comorbidităților psihiatrice. Printr-un proces de eliminare pas cu pas, modelul final a relevat că internările multiple s-au asociat cu prezența comorbidităților psihiatrice ( $p = 0.002$ ), statutul de pensionar de invaliditate ( $p = 0.05$ ), durata ( $p = 0.001$ ) și costurile investigațiilor ( $p = 0.001$ ) primei internări. Un risc semnificativ mai crescut de a fi internate pentru depresie l-au avut femeile alcoolice ( $p=0.048$ ), din mediul urban ( $p=0.035$ ), cu asigurare medicală ( $p=0.004$ ).

Durata medie a primei internări din an a fost semnificativ mai lungă ( $p=0.015$ ) decât în cazul subiecților dependenți de alcool fără această tulburare a dispoziției. Majoritatea pacienților cu depresie au fost din grupa de vârstă 50-56 de ani. Au existat mai multe femei sub 34 de ani decât bărbați, respectiv mai mulți bărbați decât femei de peste 65 de ani. În modelul de regresie logistică multivariată au fost incluse inițial următoarele variabile: vârstă, sex, mediul de proveniență, ocupația și prezența comorbidităților psihiatrice și somatice. Printr-un proces de eliminare pas cu pas, modelul final a evidențiat următorii factori de risc pentru sevrajul alcoolic complicat: prezența comorbidităților somatice ( $p = 0.001$ ), sexul masculin ( $p = 0.029$ ), proveniența din mediul rural ( $p = 0.038$ ) și absența comorbidităților psihiatrice ( $p = 0.003$ ).

## **Studiul 2. Calitatea vieții și nivelul dizabilității pacienților cu dependență cronică alcoolică și comorbidități psihiatrice**

**Ipoteza de lucru și obiective:** Pacienții alcoolici care dezvoltă comorbidități psihiatrice, precum tulburări afective, tulburări anxioase, tulburări psihotice sau dependență de alte substanțe psihoactive prezintă o calitate a vieții mai diminuată și un nivel mai crescut de dizabilitate față de cei fără diagnostic dual.

**Metode:** Au fost incluși în studiu 50 de pacienți internați la secția de Psihiatrie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj-Napoca în perioada 15.01.2020 – 15.02.2020. Au fost excluși pacienții care prezentau întârziere în dezvoltarea mentală sau demență. Interviuul a fost realizat la o săptămână de la internare pentru a scădea riscul unor rezultate fals pozitive generate de simptomatologia sevrajului alcoolic. S-au aplicat următoarele scale: MINI (Mini-Interviul Neuropsihiatric Internațional) versiunea a 6-a, pentru evaluarea comorbidităților psihiatrice, WHOQOL-BREF (World Health Organisation Quality of Life Scale), o scala cu 26 de itemi care evaluează 4 domenii ale calității vieții: fizic, psihologic, relații sociale și mediul înconjurător și WHODAS 2.0 (World Health Organisation Disability Assessment Schedule 2.0), varianta cu 36 de întrebări, care evaluează nivelul de dizabilitate raportat la șase domenii ale funcționării: înțelegere și comunicare, activități în mediul apropiat, autonomie personală, relații interpersonale, activități cotidiene și inserția socială.

**Rezultate:** Dintre cei 50 de pacienți incluși în studiu, 43 (86%) au fost de sex masculin și șapte (14%) feminin. Vârsta subiecților a variat între 25 și 70 de ani (vârsta medie  $49.6 \pm 11$ ), respectiv între 42 și 61 în cazul femeilor (vârsta medie  $51 \pm 6.9$ ). Nu au existat diferențe semnificative statistic între subiecții alcoolici cu minim o comorbiditate psihiatrică și cei fără comorbidități în relație cu variabilele socio-demografice. Pacienții care au raportat simptomatologie psihiatrică au înregistrat un nivel semnificativ mai redus al calității vieții decât pacienții alcoolici fără comorbidități în două dintre domeniile evaluate de scala WHOQOL-BREF, respectiv domeniile psihologic ( $p=0.04$ ) și modul în care este perceput mediul înconjurător ( $p=0.002$ ).

În ceea ce privește dizabilitatea, evaluată prin scala WHODAS 2.0, subiecții cu diagnostic dual au raportat creșteri semnificative statistic ale scorului total și în patru



dintre cele șase domenii de funcționalitate, respectiv autonomie personală ( $p=0.04$ ), relații interpersonale ( $p=0.02$ ), activități cotidiene ( $p=0.04$ ) și inserție socială ( $p=0.016$ ). S-a remarcat o scădere progresivă a calității vieții cu creșterea numărului de comorbidități, cu diferențe semnificative statistic în cazul domeniilor psihologic ( $p=0.017$ ), al relațiilor sociale ( $p=0.03$ ) și al mediului înconjurător ( $p=0.007$ ). În mod similar scorurile dizabilității raportate de scala WHODAS 2.0 au prezentat o creștere progresivă aproape tuturor domeniilor de funcționare, dar semnificativ statistic doar pentru scorul total ( $p=0.028$ ) și afectarea activităților cotidiene ( $p=0.034$ ). Cea mai frecventă comorbiditate psihiatrică în cazul subiecților dependenți de alcool a fost episodul depresiv major. Calitatea vieții în cazul acestui lot de pacienți a fost semnificativ mai scăzută față de lotul fără nicio comorbiditate, pentru trei dintre domeniile evaluate de scala WHOQOL-BREF: psihologic ( $p=0.006$ ), social ( $p=0.012$ ) și percepția mediului înconjurător ( $p=0.006$ ). Și în cazul domeniului fizic al aceluiași chestionar, valorile raportate au fost mai scăzute la pacienții depresivi, fiind chiar la limita pragului de semnificație statistică ( $p=0.05$ ).

Gradul dizabilității raportate a fost mai ridicat în cazul subiecților depresivi în cazul tuturor domeniilor de funcționare evaluate de scala WHODAS 2.0, valori semnificative statistic fiind înregistrare în domeniile autonomie personală ( $p = 0.042$ ), activități cotidiene ( $p = 0.042$ ) și inserție socială ( $p = 0.026$ )

### **Studiu 3. Asocierea dintre polimorfismul rs1437396 și dependența cronică alcoolică și depresia comorbidă alcoolismului**

**Obiective:** evaluarea asocierii dintre polimorfismul rs1437396 și alcoolism, a modelului de transmitere (autozomal dominant, co-dominant sau recesiv), analiza comparativă a frecvenței genotipului de risc în cadrul lotului de pacienți în funcție de: sex (feminin/masculin), istoric familial de DCA, tipul de sevraj alcoolic (necompliat, complicat cu crize convulsive sau cu delirium tremens), depresie, tentative de suicid.

**Metode:** Populația de studiu: pacienți internați cu diagnosticul de DCA la secția de Psihiatrie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj-Napoca, în perioada 01.05.2017-30.06.2018. Lotul de control a fost reprezentat de studenți ai Universității de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, cu vârste între 20-26 de ani, ale căror probe biologice fuseseră stocate în prealabil în biobanca proprie a Catedrei de Genetică Medicală ale aceleiași instituții. S-a aplicat scala de depresie Hamilton. Analiza polimorfismului s-a realizat prin tehnica Tehnica real - time PCR.

**Rezultate:** În total au fost incluși în studiu 617 subiecți, majoritatea bărbați: 226 de pacienți dependenți de alcool și 391 subiecți sănătoși. Din câte știm, acesta este primul studiu care a validat asocierea dintre alela T a polimorfismului rs1437396, cu transmitere autozomal dominantă și un risc crescut de DCA (comparând lotul de pacienți alcoolici cu lotul de control format din voluntari sănătoși). Împărțind lotul de pacienți de alcool pe subploturi, alela T a polimorfismului rs1437396 s-a asociat cu un

risc crescut de depresie dar și de a dezvolta complicații ale sevrajului alcoolic (crize convulsive, delirium tremens).

#### **Studiul 4. Efectul modulator al Metforminului asupra anxietății și neurotoxicității induse de alcool- studiu experimental pe șobolani Wistar**

**Obiective:** Dacă efectul hepatoprotector al Metforminului (MET) în cazul hepatotoxicității induse de alcool a fost demonstrat, până în prezent, efectul neuroprotector al MET în cazul toxicității etanolică nu a fost evaluat la animale de laborator adulte. Acest studiu își propune să îl evalueze prin teste comportamentale, determinarea markerilor de stres oxidativ, nivelul metaloproteinazelor 2 și 9 și prin vizualizarea markerilor imunohistochimici de neuroprotecție în corelație cu evaluarea histopatologică a cortexului frontal și a hipocampului la șobolani Wistar.

**Metode:** Studiul a inclus 40 de șobolani masculi din rasa Wistar, în vârstă de două luni, cu o greutate de  $150 \pm 20$  g, provenind din Biobaza Universității de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca. Protocolul a fost aprobat de Comisia de Etică a aceleiași universități, conform directivei Uniunii Europene 2010/63/EU cu privire la utilizarea animalelor în scop științific. Animalele au fost ținute în condiții standard de laborator (ciclu lumină/întuneric de 12 ore, la o temperatură de  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ), cu acces liber la alimentație standard și la apă.

Șobolanii au fost împărțiți în patru loturi a câte 10 animale și au fost tratați timp de 21 de zile după cum urmează: Lotul 1 (Control) – au primit doar ser fiziologic, Lotul 2 (ALC) – li s-a administrat alcool o dată pe zi (2 g/Kg/zi) prin gavaj, Lotul 3 (ALC+MET) – au fost tratați cu Metformin (200 mg/Kg/zi dizolvat în ser fiziologic) administrat prin gavaj o dată pe zi, după 2 ore de la administrarea alcoolului în mod similar grupului 2 și Lotul 4 (MET) – au fost tratați exclusiv cu Metformin (200 mg/Kg/zi dizolvat în ser fiziologic) administrat prin gavaj o dată pe zi.

În ziua 22, s-au efectuat testele comportamentale: testul câmpului deschis (Open Field Test – OFT) și testul labirintului în cruce suspendat (Elevated Plus Maze – EPM). În ziua 23, toate animalele au fost eutanasiate după anestezie cu Ketamină/Xilaxină (90 mg/10 mg/Kg) injectate intraperitoneal. S-au recoltat cortexul frontal și hipocampul de la patru șobolani pentru analiza histopatologică iar de la restul de șase animale, pentru testarea ELISA și a parametrilor de stres oxidativ.

**Rezultate:** Tratamentul cu Metformin (200 mg/kg/zi) timp de 21 de zile la șobolanii Wistar a avut un efect antioxidant antagonizând parțial toxicitatea cerebrală a etanolului fapt evidențiat prin scăderea stresului oxidativ și nitrozativ (scăderea nivelului Nitrotirozinei, a NO în lobul frontal și hipocamp) și având un impact favorabil asupra matricei extracelulare cerebrale (scăderea MMP-2 și creșterea TIMP-1). În plus, a ameliorat oxigenarea cerebrală, sugerând un efect protector în zonele cerebrale cele mai vulnerabile la efectul neurotoxic al alcoolului (evidențiată prin creșterea expresiei Neuroglobinei în lobul frontal și menținerea nivelului Neuroglobinei din hipocamp la

nivelul lotului de control). În plus, MET a crescut locomoția redus nivelul anxietății evaluată prin testul EPM.

#### 4. CONCLUZII GENERALE

Au existat ușoare diferențe în ceea ce privește frecvența comorbidităților psihiatrice obținută în urma studiului retrospectiv și cea obținută prin aplicarea Mini Interviuului Neuropsihiatric MINI. În cazul studiului retrospectiv, rata comorbidităților psihiatrice a fost de 71.58% (37.4% dacă se iau în considerare doar cele de Axă I).

Dintre comorbiditățile psihiatrice de Axă I, cele mai frecvente au fost tulburarea depresivă majoră (15.2%) și tulburările neurocognitive (15.58%). După aplicarea MINI, 54% dintre subiecți au raportat simptome psihiatrice concomitente consumului de alcool. Cele mai frecvente trei comorbidități asociate au fost episodul depresiv major, tulburarea de anxietate generalizată și dependența de substanțe psihoactive altele decât alcoolul și nicotina.

Factori de risc pentru internările multiple în decurs de 12 luni: prezența comorbidităților psihiatrice, statutul de pensionar de invaliditate, durata scurtă a internării princeps.

Factori care au prezis în mod independent dezvoltarea complicațiilor sevrajului alcoolic: prezența comorbidităților somatice, sexul masculin, statutul locativ în mediul rural și absența comorbidităților psihiatrice

Debutul consumului de alcool este mai precoce în cazul bărbaților decât în cazul femeilor în România.

Calitatea vieții a fost mai redusă la subiecții care au prezentat comorbidități psihiatrice pe lângă DCA, în special în cazul celor cu multiplă patologie asociată.

Un grad semnificativ mai mare de dizabilitate a fost raportat în cazul subiecților cu comorbidități psihiatrice asociate pe multiple domenii (autonomie personală, relații interpersonale, activități cotidiene precum și inserție socială).

Alela T a polimorfismului rs1437396, situat pe cromozomul 2, cu efect asupra genei învecinate *CCDC88A*, după un model de transmitere autozomal dominant, s-a asociat cu un risc crescut de DCA, de complicații ale sevrajului alcoolic și de apariție a depresiei comorbide alcoolismului.

Terapia cu Metformin la șobolanii Wistar a avut un efect antioxidant, anxiolitic antagonizând parțial efectul neurotoxic al etanolului. Sunt necesare studii clinice care să evalueze dacă efectul acestui preparat atât de accesibil se poate extrapola și la oameni.

---

ABSTRACT OF THE PhD THESIS

# Alcohol dependence and psychiatric comorbidities

---

PhD Student **Maria Bonea**

---

PhD Supervisor Prof.dr. **Ioana Valentina Micluția**

---



**UMF**  
UNIVERSITATEA DE  
MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
IULIU HAȚIEGANU  
CLUJ-NAPOCA

## TABLE OF CONTENTS

<b>INTRODUCTION</b>	13
<b>CURRENT STATE OF KNOWLEDGE</b>	
<b>1. Alcoholism and psychiatric comorbidities</b>	17
1.1. Generalities	17
1.1.1. Alcohol dependence – a public health problem	17
1.1.2. Diagnostic criteria and types of alcohol dependence	18
1.1.2.1. Diagnostic criteria	18
1.1.2.2. Types of alcohol dependence	19
1.1.2.3. Phenotypes of alcohol dependence	20
1.2. Neurobiological and behavioral effects	20
1.2.1. Metabolism	20
1.2.2. Effects on neurotransmission	20
1.2.3. The development of addiction	21
1.2.3.1. The reward circuit	21
1.2.3.2. Risk factors	22
1.3. Psychiatric comorbidity	23
1.3.1. Mood disorders	24
1.3.2. Anxiety disorders	24
1.3.3. Cognitive disorders	25
1.3.4. Substance use disorders	26
1.3.5. Personality disorders	26
1.3.6. Psychotic disorders	27
1.4. The treatment of alcohol dependence	27
1.4.1. Approved treatments	27
1.4.1.1. Acute phase pharmacological treatment	27
1.4.1.2. Maintenance pharmacological treatment	28
1.4.2. Experimental therapies	29
1.4.2.1. GABA-ergic system	29
1.4.2.2. Glutamate system	30

1.4.2.3. Dopamine system	30
1.4.2.4. Serotonine system	30
1.4.2.5. Cholinergic system	31
1.4.2.6. Opioid system	31
1.4.2.7. Adrenergic system	31
1.4.2.8. Corticoide system	31
1.4.2.9. Canabinoid system	32
1.4.2.10. Other targets	32
<b>2. Genetics of alcohol dependence</b>	<b>33</b>
2.1. Genetic variants associated with alcohol dependence	33
2.1.1. Types of genetic studies	33
2.1.1.1. Adoption and twin studies	33
2.1.1.2. Linkage studies	33
2.1.1.3. Association studies	34
2.1.1.4. Genome wide association studies (GWAS)	34
2.1.2. Genetic variants of the alcohol metabolism enzymes genes	35
2.1.3. Neurotransmitters genetic variants	35
2.1.3.1. GABA-ergic system	35
2.1.3.2. Glutamate system	35
2.1.3.3. Dopamine system	35
2.1.3.4. Serotonine system	36
2.1.3.5. Cholinergic system	36
2.1.3.6. Opioid system	36
2.1.3.6. Other targets	37
2.1.4. Epigenetics	37
2.2. Pharmacogenetics	37
<b>PERSONAL CONTRIBUTION</b>	
<b>1. Working hypothesis/objectives</b>	<b>41</b>
<b>2. Study 1 – Comorbidities of alcohol dependence</b>	<b>43</b>
2.1. Introduction	43
2.2. Working hypothesis/objectives	43
2.3. Materials and methods	43
2.4. Results	45
2.5. Discussions	62
2.6. Conclusions	64
<b>3. Study 2 - Quality of life and disability in alcohol dependent patients with psychiatric comorbidity</b>	<b>65</b>
3.1. Introduction	65

---

3.2. Working hypothesis/objectives	66
3.3. Materials and methods	66
3.4. Results	67
3.5. Discussions	73
3.6. Conclusions	75
<b>4. Study 3 – The association between the rs1437396 polymorphism and alcohol dependence and comorbid depression</b>	77
4.1. Introduction	77
4.2. Working hypothesis/objectives	78
4.3. Materials and methods	78
4.4. Results	85
4.5. Discussions	96
4.6. Conclusions	99
<b>5. Study 4 – The modulatory effect of metformin on alcohol induces anxiety and neurotoxicity in Wistar rats</b>	101
5.1. Introduction	101
5.2. Working hypothesis/objectives	102
5.3. Materials and methods	102
5.4. Results	105
5.5. Discussions	116
5.6. Conclusions	120
<b>6. General conclusions</b>	121
<b>7. Originality and innovative contributions</b>	123
<b>REFERENCES</b>	125

**Keywords:** alcohol dependence, comorbidity, quality of life, polymorphism, Metformin

## 1. INTRODUCTION

Alcohol dependence (AD) is a chronic mental disorder, marked by multiple relapses, with a multifactorial etiology. Although occasional alcohol consumption is accepted in many cultures, repeated ingestion of high quantities, especially in the case of individuals with a genetic susceptibility, can predispose to addiction, manifested by typical symptoms such as the development of tolerance, withdrawal syndrome, an uncontrollable desire to drink, with changes in behavior, which becomes almost exclusively focused on the use of ethanol. Alcoholic patients typically continue to consume despite all socio-occupational difficulties and alcohol-related medical and psychological problems. The prevalence of AD varies globally from almost 0% in Islamic countries to 16% in Eastern European countries, with Romania ranked fifth in the world. The development and prognosis of AD are influenced by the presence of both psychiatric and somatic co-morbidity. The pathogenesis of comorbid mental disorders may include common risk factors.

Alcohol dependent patients suffer from a low quality of life, which could lead to difficulties in maintaining therapeutic compliance and. Thus, the multifactorial treatment of the dependant patient, considering also the genetic components, associated comorbidity, quality of life and disability, promises a better prognosis.

## 2. CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

According to the World Health Organization (WHO), harmful alcohol consumption is an ethological factor of more than 200 diseases, both somatic and psychiatric. Alcohol is globally the most used psychoactive agent, with increasing prevalence since 1990. Ethanol was associated with 5,9% of global deaths, AD patients having a 3-4 times higher risk of premature death than the general population. Alcohol has become one of the most important public health problems, through its social and economic impact and through strong functional and quality of life impairments, even from young age. The major causes of premature death attributable to alcohol consumption are trauma of various types, hepatic failure (overall, 50% of liver disorders are caused by alcohol), cardiovascular diseases, stroke, neoplasms and gastroenterological disorders. Although there are modest cardiovascular benefits, especially for middle-age men, they are significantly outweighed by the risks.

Dual diagnoses are clinical entities represented not only by the mere co-existence of two psychiatric pathologies, but also by common risk factors, symptoms and intricate evolution. For long-term abstinent individuals (more than 6 months), there is no correlation between the duration of abstinence and a life-time psychiatric diagnosis. Thus, the concomitant presence of mood or anxiety disorders does not increase the risk of relapse. However, it is estimated that only 25% of alcoholics receive treatment and most of the research is carried out on this population with a more severe pathology and a high risk of comorbid mental disorders.



Sensitivity to the effects of ethanol varies interindividually but also between different populations. Genetic susceptibility is not of Mendelian type, given by a single locus, but it is conferred by numerous polymorphisms, distributed throughout the genome, which, under specific environmental conditions, generate different risk phenotypes. Each of these genetic variants is responsible for less than 1% of the risk of developing AD. Polymorphisms in all major neurotransmitter systems have been associated with alcoholism. Heritability mainly involves the circuits responsible for reward, behavioral inhibition, obsession, compulsivity, stress response.

### 3. PERSONAL CONTRIBUTION

#### Study 1. Comorbidities of alcohol dependence

**The objectives** were to analyse all psychiatric admissions for alcohol dependence during 12 months. We recorded psychiatric and medical diagnoses and we evaluated potential readmission risk factors.

**Methods:** A retrospective study including all AD patients admitted to all three Psychiatry Clinics of the Cluj County Emergency Hospital during 2016. Data was collected from AtlasMed hospital electronic data base and from patients' charts.

**Results:** Between January 1<sup>st</sup> and December 31<sup>st</sup> of 2016, 623 AD patients were hospitalised 817 times with the diagnosis, out of a total of 3549 hospitalizations (23.02%). The proportion of men was higher (86.52%) than women (13.48%), most patients coming from urban areas (64%). The number of hospitalizations per patient varied between 1 (75.76%) and 9 (one case). The average duration of the first hospitalization was  $12.02 \pm 7.24$  days. The average cost of investigations at the first hospitalization was RON  $233.2 \pm 202.5$ . Most patients were of middle age, the age group of 50-65 years being the best represented for both sexes. The most common psychiatric comorbidities were major depressive disorder and mild cognitive impairment. Anxiety disorders accounted for only 0.67% of comorbidities. The most common somatic comorbidities were liver and cardiovascular diseases (hypertension, ischemic coronary heart disease, arrhythmias). Neurological disorders, such as ethanolic polyneuropathy, head trauma and epilepsy were recorded in significant proportions. 71.58% of patients had at least one psychiatric comorbidity (37.4% if only those of Axis I are taken into account). 65.43% had somatic comorbidities. Most patients had only one comorbid psychiatric or medical condition, but there were also patients with three psychiatric comorbidities (for example: depressive episode, dependence on psychoactive substances and a personality disorder). Similarly, there was a small percentage of patients with more than three comorbid somatic diagnoses.

Most patients developed symptoms of uncomplicated alcohol withdrawal, 14.1% being hospitalized for seizures, and 11% for delirium tremens. Alcohol-dependent men showed significantly less major depressive disorder ( $p=0.048$ ) and schizophrenia ( $p=0.009$ ). Regarding the frequency of the other psychiatric

comorbidities, there were no differences between the sexes. The most common personality disorders associated with alcoholism were emotionally unstable, impulsive type personality disorder, which was most common in both women and men and antisocial personality disorder. There were no gender differences except for borderline personality disorder, present exclusively in women ( $p = 0.002$ ). Personality disorders in clusters A and C were very rarely diagnosed (0.7% and 0.5% of all patients, respectively). Men had significantly more frequent complications of alcohol withdrawal ( $p = 0.001$ ), the difference being the largest in the case of grand mal seizures ( $p = 0.003$ ). There were no statistically significant gender differences in terms of the frequency of delirium tremens episodes. Subjects with a disability pension had a significantly higher risk, 1.55 times, of being readmitted within a year ( $p = 0.03$ ). Lack of health insurance was a factor that raised the risk of rehospitalization 3.12 times ( $p < 0.001$ ). A lower average duration of the first hospitalization was associated with a significant increase in the risk of multiple hospitalizations during the same year. Patients who required readmission in the same year for alcohol withdrawal had a significantly lower cost of investigations at the first admission ( $p < 0.001$ ).

The presence of at least one psychiatric comorbidity increased the risk of readmissions 1.92 times ( $p = 0.003$ ). The risk of multiple hospitalizations was 3.8 times higher in patients with schizophrenia ( $p = 0.28$ ). The presence of a personality disorder increased 1.82 times the risk of readmissions within one year ( $p = 0.002$ ). The following variables were initially included in the multivariate logistic regression model: age, disability pensioner status, uninsured status, duration and costs of investigations for the first hospitalization and the presence of psychiatric comorbidities. Through a step-by-step elimination process, the final regression model revealed that multiple hospitalizations were associated with the presence of psychiatric comorbidities ( $p = 0.002$ ), disability pensioner status ( $p = 0.05$ ), duration ( $p = 0.001$ ), and costs of investigations ( $p = 0.001$ ) of the first hospitalization. Alcoholic women ( $p = 0.048$ ), from urban areas ( $p = 0.035$ ), with medical insurance ( $p = 0.004$ ) had a significantly higher risk of being hospitalized for depression. The average duration of the first hospitalization in the year was significantly longer ( $p = 0.015$ ) than in the case of alcohol-dependent subjects without this mood disorder. Most patients with depression were in the 50-56 age group. There were more women under the age of 34 than men, and more men than women over the age of 65. The following variables were initially included in the multivariate logistic regression model: age, sex, place of origin, occupation and presence of psychiatric and somatic comorbidities. Through a step-by-step elimination process, the final regression model highlighted the following risk factors for complicated alcohol withdrawal: the presence of somatic comorbidities ( $p = 0.001$ ), male sex ( $p = 0.029$ ), rural origin ( $p = 0.038$ ) and absence of psychiatric comorbidities ( $p = 0.003$ ).

## Study 2 - Quality of life and disability in alcohol dependent patients with psychiatric comorbidity

**Objectives:** AD patients with psychiatric comorbidities, such as affective, anxiety, psychotic disorders or addiction to other psychoactive drugs have a lower quality of life and a higher level of disability than the ones without a dual diagnosis.

**Methods:** We included 50 patients admitted to the Psychiatry Department of the Cluj-Napoca County Emergency Clinical Hospital between 15.01.2020 - 15.02.2020. Patients with mental disability or dementia were excluded. The interview was conducted one week after hospitalization to reduce the risk of false positive results generated by the symptoms of alcohol withdrawal. The following scales were applied: MINI (International Mini-Neuropsychiatric Interview) version 6 - for the evaluation of psychiatric comorbidities, WHOQOL-BREF (World Health Organization Quality of Life Scale) - a scale with 26 items that assess the quality of life taking consider 4 areas: physical, psychological, social relations and the environment and WHODAS 2.0 (World Health Organization Disability Assessment Schedule 2.0) - the 36-question variant, which assesses the level of disability related to six areas of functioning: understanding and communication, activities in the immediate environment, personal autonomy, interpersonal relationships, daily activities and social integration.

**Results:** 43 patients (86%) were male. Their age varied between 25 and 70 years (mean age  $49.6 \pm 11$ ), respectively between 42 and 61 in the case of women (mean age  $51 \pm 6.9$ ). There were no statistically significant differences between alcoholic subjects with at least one psychiatric comorbidity and those without comorbidities in relation to socio-demographic variables. Patients who reported psychiatric symptoms had a significantly lower level of quality of life than alcoholic patients without comorbidities in two of the areas assessed by the WHOQOL-BREF scale, the psychological ( $p=0.04$ ) and the perception of the environment ( $p=0.002$ ).

Regarding disability, assessed by the WHODAS 2.0 scale, subjects with dual diagnosis reported significant increases in the total score in four of the six areas of functionality: personal autonomy ( $p=0.04$ ), interpersonal relationships ( $p=0.021$ ), daily activities ( $p=0.04$ ) and social inclusion ( $p=0.016$ ). There was a progressive decrease in quality of life with increasing numbers of comorbidities, with statistically significant differences in the fields of psychological ( $p=0.017$ ), social relations ( $p = 0.035$ ) and environment ( $p=0.007$ ). Similarly, the disability scores reported by the WHODAS 2.0 scale showed a progressive increase in almost all areas of operation, but the threshold of statistical significance was reached only in terms of total score ( $p = 0.028$ ) and impairment of daily activities ( $p=0.034$ ). The most common psychiatric comorbidity in alcohol-dependent subjects was major depressive disorder. The quality of life in this group of patients was significantly lower than in the group without any comorbidities, for three of the areas evaluated by the WHOQOL-BREF scale: psychological ( $p=0.006$ ), social ( $p=0.012$ ) and environmental perception ( $p=0.006$ ). And in the case of the physical domain of the same questionnaire, the reported values

were lower in depressed patients, being even at the limit of the threshold of statistical significance ( $p=0.05$ ). The degree of disability reported was higher in the case of depressed subjects in all areas of functioning assessed by the WHODAS 2.0 scale, statistically significant values being recorded in the areas of personal autonomy ( $p=0.042$ ), daily activities ( $p=0.042$ ) and social inclusion ( $p=0.026$ ).

### **Study 3 – The association between the rs1437396 polymorphism and alcohol dependence and comorbid depression**

**Objectives:** evaluation of the association between the rs1437396 polymorphism and AD, the transmission model (dominant, co-dominant or recessive), comparative analysis of the frequency of the risk genotype in the patient group according to: gender, family history of AD, type alcohol withdrawal (uncomplicated, complicated by seizures or delirium tremens), depression, suicide attempts.

**Methods:** Study population: hospitalized patients with the diagnosis of ACD at the Psychiatry Department of the Cluj-Napoca County Emergency Clinical Hospital, between 01.05.2017-30.06.2018. The control group was represented by students of the University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, aged 20-26 years, whose biological samples had been previously stored in the biobank of the Department of Medical Genetics. The Hamilton Depression Scale was applied. Polymorphism analysis was performed using the Real-time PCR technique.

**Results:** A total of 617 subjects were included in the study, mostly men: 226 alcohol-dependent patients and 391 healthy subjects. As far as we know, this is the first study to validate the association between the T allele of the rs143796 polymorphism, with autosomal dominant transmission and an increased risk of AD (comparing the group of alcoholic patients with the control group of healthy volunteers). After dividing the alcoholic patients into sublots, the T allele of the rs1437396 polymorphism was associated with an increased risk of depression but also of developing complications of alcohol withdrawal (seizures, delirium tremens).

### **Study 4 – The modulatory effect of metformin on alcohol induces anxiety and neurotoxicity in Wistar rats**

**Objectives:** If the hepatoprotective effect of Metformin (MET) in alcohol-induced hepatotoxicity has been demonstrated, to date, the neuroprotective effect of MET in ethanolic toxicity has not been evaluated in adult laboratory animals. This study aims to evaluate it by behavioral tests, determination of markers of oxidative stress, level of metalloproteinases 2 and 9 and by visualization of neuroprotective immunohistochemical markers in correlation with histopathological evaluation of the frontal cortex and hippocampus in Wistar rats.

**Methods:** The study included 40 two months old male Wistar rats, weighing  $150 \pm 20$  g, from the Biobase of the University of Medicine and Pharmacy "Iuliu

Hațieganu", Cluj-Napoca. The protocol was approved by the Ethics Commission of the same university, according to the European Union Directive 2010/63 / EU on the use of animals for scientific purposes. The animals were kept in standard laboratory conditions (12-hour light / dark cycle at a temperature of  $24 \pm 2$  ° C), with free access to standard feeding and water.

The rats were divided into four groups of 10 animals and treated for 21 days as follows: Group 1 (Control) - received only saline, Group 2 (ALC) - were given alcohol once a day (2 g / Kg / day) by gavage, Lot 3 (ALC + MET) - were treated with Metformin (200 mg / Kg / day dissolved in saline) administered by gavage once daily, 2 hours after administration alcohol similar to Group 2 and Group 4 (MET) - were treated exclusively with Metformin (200 mg / Kg / day dissolved in saline) administered by gavage once daily. On day 22, behavioral tests were performed: the Open Field Test (OFT) and the Elevated Plus Maze (EPM) test. On day 23, all animals were euthanized after anesthesia with intraperitoneally injected Ketamine / Xylazine (90 mg / 10 mg / Kg). In the case of each lot, the frontal cortex and hippocampus were collected from four rats for histopathological analysis and from the remaining six animals for ELISA testing and oxidative stress parameters.

**Results:** Treatment with MET (200 mg / kg / day) for 21 days in Wistar rats had an antioxidant effect partially antagonizing the alcohol neurotoxicity evidenced by decreased oxidative and nitrosative stress (decreased Nitrotyrosin, NO in the frontal lobe and hippocampus) and having a favorable impact on the extracellular matrix of the brain (decreased MMP-2 and increased TIMP-1). It improved brain oxygenation, suggesting a protective effect in the brain areas most vulnerable to the neurotoxic effect of alcohol (evidenced by increased Neuroglobin expression in the frontal lobe and maintaining hippocampal Neuroglobin levels in the control group). In addition, MET increased locomotion reduced the level of anxiety assessed by the EPM test.

#### 4. GENERAL CONCLUSIONS

There were slight differences in the frequency of psychiatric comorbidities obtained from the retrospective study and that obtained by applying the MINI Mini Neuropsychiatric Interview. In the case of the retrospective study, the rate of psychiatric comorbidities was 71.58% (37.4% if only those of Axis I are taken into account). Among the Axis I psychiatric comorbidities, the most common were major depressive disorder (15.2%) and neurocognitive disorders (15.58%). After applying MINI, 54% of subjects reported psychiatric symptoms concomitant with alcohol consumption. The three most common associated comorbidities were major depressive episode, generalized anxiety disorder, and addiction to psychoactive substances other than alcohol and nicotine.

Risk factors for multiple hospitalizations within 12 months: presence of psychiatric comorbidities, disability pensioner status, short duration of princeps hospitalization.

Factors that independently predicted the development of alcohol withdrawal complications: the presence of somatic comorbidities, male sex, rural housing status and the absence of psychiatric comorbidities

The onset of alcohol consumption is earlier in the case of men than in the case of women in Romania.

Quality of life was lower in subjects with psychiatric comorbidities in addition to ACD, especially in those with multiple associated pathology.

A significantly higher degree of disability was reported in subjects with psychiatric comorbidities associated with multiple domains (personal autonomy, interpersonal relationships, daily activities and social integration).

The T allele of the rs1437396 polymorphism, located on chromosome 2, with effect on the neighboring gene *CCDC88A*, after an autosomal dominant transmission pattern, was associated with an increased risk of ACD, complications of alcohol withdrawal and the occurrence of comorbid depression to alcoholism.

Metformin therapy in Wistar rats had an antioxidant, anxiolytic effect that partially antagonized the neurotoxic effect of ethanol. Clinical trials are needed to assess whether the effect of this affordable drug can be extrapolated to humans.