

**Akademia Wychowania Fizycznego i Sportu
im. Jędrzeja Śniadeckiego w Gdańsku**



Remigiusz Reclaw

***Epigenetyczne, genetyczne i psychologiczne
badania sportowców i osób uzależnionych
jako podstawa badań różnych aspektów
działania układów neuroprzekąźnictwa mózgowego.***

promotor:

prof. dr hab. Anna Grzywacz

promotor pomocniczy:

dr Milena Lachowicz

Gdańsk 2024

Spis treści

Spis rycin.....	2
Wprowadzenie	3
Metodologia badań własnych	6
Problematyka badań: cel pracy, pytania i hipotezy.....	6
Procedura badań	7
Osoby badane / materiał badawczy	7
Metody badań / techniki / narzędzia	8
Główne wyniki i wypływające z nich wnioski	11
DAT1	11
COMT.....	11
OPRM1.....	16
Dyskusja.....	18
Koncepcja wspólnych szlaków mózgowych.....	19
Koncepcja wspólnych genów kandydujących.....	20
Uzależnieni	21
Sportowcy.....	23
Koncepcja typowania czynników epigenetycznych.....	24
DAT1 i metylacja	24
Koncepcja badania czynników psychologicznych.....	26
Koncepcja zmiany nagrody w mózgu	27
Leczenie wysiłkiem fizycznym depresji.....	28
Leczenie uzależnień sportem.....	29
Podsumowanie	32
Bibliografia.....	33
Streszczenie	40
Summary	41
Oświadczenia współautorów.....	42
Publikacje wchodzące w skład rozprawy.....	46

Spis rycin

Rycina 1. Synapsa dopaminergiczna i metabolizm dopaminy.....	5
Rycina 2. Sposób typowania wysp metylacyjnych.....	9
Rycina 3. Interakcja między zaburzeniami hazardowymi a zaburzeniami związanymi z używaniem amfetaminy (GAD); n= 107/kontrola (C) oraz COMT rs4680 i skala cech STAI.	13
Rycina 4. Interakcja pomiędzy zaburzeniami hazardowymi a zaburzeniami związanymi z używaniem amfetaminy (GAD); n= 107/kontrola (C) i COMT rs4680 oraz skala stanu STAI.	14
Rycina 5. Interakcja między zaburzeniami hazardowymi a zaburzeniami używania amfetaminy (GAD)/kontrolą (C) oraz skalą COMT rs4680 i sumienności.....	15
Rycina 6. Interakcja między podmiotami sportowymi (SpS) / grupą kontrolną (C) a skalą OPRM1 rs1799971 i samokierowania.....	17

Wprowadzenie

Wyjaśnienia na gruncie neurobiologii koncentrują się na mezolimbicznym układzie nagrody w mózgu (mezolimbiczny system dopaminowy), stanowiącym poniekąd ludzki „napęd do działania”, regulując m.in. doświadczanie przyjemności, nastrój, uwagę, aktywność poznawczą i pamięć. Wyjść należy od tego, że wszystkie czynności sprawiające człowiekowi przyjemność powodują podniesienie poziomu dopaminy w układzie nerwowym (mającej działanie nagradzające – poprzez wywołanie uczucia przyjemności). To samo ma miejsce w przypadku czynności i substancji, od których ludzie uzależniają się (Magalon D., 2012), jak również w rywalizacji sportowej oraz przy uprawianiu sportu. Zwolennicy tego podejścia twierdzą, że na poziomie biologicznym nie ma żadnych różnic pomiędzy osobami uzależnionymi od substancji chemicznych i od zachowań, a każde uzależnienie jest chorobą układu nagrody (Vetulani J., 2014).

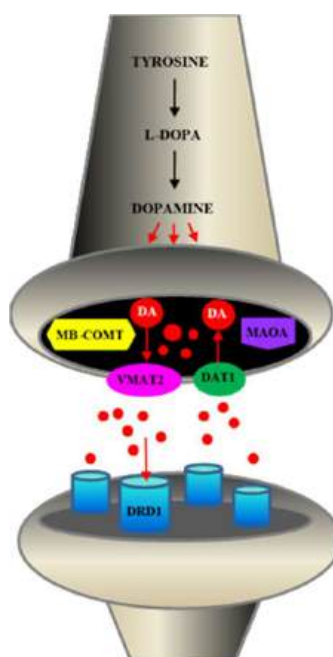
Badania potwierdzają, że osoby uzależnione mają zbyt niski poziom dopaminy w układzie nerwowym bądź też receptory dopaminowe (czyli odbierające sygnał o odczuwaniu przyjemności) są niewydolne lub jest ich mniej. Poza tym stałe doświadczanie nagradzające (nałogowe zachowanie) powoduje przyzwyczajanie się organizmu do podwyższonego poziomu neuroprzekaźników odpowiedzialnych za przyjemność (oprócz dopaminy jest to także m.in. kwas glutaminowy), co powoduje powstanie tolerancji sprawiającej, że konieczne jest ciągłe nasilanie zachowania w celu doświadczania początkowej przyjemności (Vetulani J., 2014).

U sportowców mechanizm neurobiologiczny jest taki sam. Warunkiem podjęcia i kontynuowania treningu sportowego, a co za tym idzie: możliwość osiągnięcia sukcesu w sporcie, wydaje się wynikać z oddziaływania czynników genetycznych (jak temperament) i ukształtowanych środowiskowo (jak charakter). W tym przypadku ontogenetyczne różnice wyrażają się na przykład poprzez modulujący wpływ układu neuroprzekaźników na ekspresję określonych cech osobowości sportowców. Dobrym przykładem jest „poszukiwanie nowości”, wyrażające się „głodem” do przeżywania dreszczy np. w wyniku rywalizacji sportowej, co wynika z funkcjonowania układu dopaminergicznego, czyli niedoboru dopaminy. Gen poszukiwaczy nowości jest powiązany z układem dopaminergicznym i receptorem DRD4. Receptory i transporter dopaminy były już przebadane przez zespoły naukowców i opisane w wielu publikacjach (MacKillop J. i in., 2007; Congdon E. i in., 2008; Dreber A. i in., 2009; Grady D.L. i in., 2013; Cherepkova E.V. i in., 2017; Masiak J. i in., 2020; Chmielowiec K. i in., 2021).

Aby jednak pozostać precyzyjnym w rozważaniach, analizach i wyborze genów związanych z przekaznictwem neurobiologicznym w mózgu w niniejszej pracy zdecydowano przeanalizować nie tylko warianty związane z dopaminą, ale również układem opioidowym.

Psychogenetyka sportu jest stosunkowo młodą dziedziną, jednak już udowodniono jej aktualność i zasadność badań. Istnieje szansa na zdefiniowanie nowego biomarkera charakteryzującego poszczególne grupy sportowców. To w przyszłości może się przełożyć na opracowywanie indywidualnych programów dla sportowców, biorąc pod uwagę kilka czynników, m.in. psychologiczne – a co za tym idzie – lepsze wyniki sportowe. **Model dopaminergiczny przydatny w analizie uzależnień możemy przełożyć na aspekt praktyczny – aby zastąpić degradujące organizm zachowania związane z pozyskaniem dopaminy – na sport będący naturalnym źródłem przyjemności w układzie dopaminergicznym.**

Układ limbiczny traktowany jest jako źródło przyjemności z rywalizacji w sporcie lub z zażywania substancji uzależniającej. Neurony dopaminowe biorące udział w powstawaniu uzależnienia umiejscowione są w polu brzusznej nakrywki (śródmózgowie), jądrze półkuli (system limbiczny) i korze przedczołowej. Pole brzuszne nakrywki łączy się zarówno z systemem limbicznym (odpowiedzialnym m.in. za emocje), jak i korą mózgową (odpowiedzialną m.in. za racjonalne myślenie). System limbiczny obejmuje wspomniane już jądro półkuli stanowiące pierwotny obszar przyjemności, jądra migdałowe odpowiedzialne m.in. za odczuwanie pierwotnych emocji oraz hipokamp – odpowiedzialny za konsolidację śladów pamięciowych (pamięć). Struktury te wspólnie „przyczyniają się” do powstania tzw. pamięci przyjemności, czyli trwałego zapisu w mózgu śladu bodźca, który był źródłem przyjemności (im częściej ta przyjemność jest wywoływana, tym szybsze zapisywanie śladu). W. Löwenstein wyjaśnia zjawisko nawrotów w taki sposób, że człowiek nawet po wielu latach reaguje silnymi emocjami na sytuację/bodziec wywołujący przyjemne uczucie i pragnie ponownego doświadczenia pierwotnej przyjemności przez kontakt z wywołującym je bodźcem (Löwenstein W., 2005). Doświadczenie przyjemności wpływające z rywalizacji sportowej, jak i przyjemność wpływająca z substancji uzależniającej, podlega temu samemu mechanizmowi w układzie limbicznym. Każde zwycięstwo sportowe, uzyskany dobry wynik i każdy dobry trening pozostawia ślad w pamięci, który trwale zapisuje się w mózgu jako pożądane źródło przyjemności. Mózg pragnie ponownego doświadczenia przyjemności przez udział w kolejnej rywalizacji sportowej i w kolejnym treningu. Wysiłek związany z uzyskaniem przyjemności u sportowca ma mniejsze znaczenie dla mózgu, podobnie jak dla osoby uzależnionej mniejsze znaczenie ma wysiłek i wynikający ze zdobycia substancji.



Rycina 1. Synapsa dopaminergiczna i metabolizm dopaminy [opracowanie własne].

W zakończeniu presynaptycznym neuronów dopaminergicznych tyrozyna przekształca się w L-DOPA pod wpływem działania hydroksylazy tyrozynowej. L-DOPA jest następnie przekształcana w neuroprzekaźnik dopaminę (DA) pod wpływem dekarboksylazy DOPA. DA jest następnie przenoszony w pęcherzykach przez pęcherzykowy transporter monoamin 2 (VMAT-2). Po egzocytozie pęcherzyków DA, DA wiąże się z receptorami DA (receptor dopaminowy DRD1 D1) na błonie postsynaptycznej, co prowadzi do przekazania sygnału w neuronie postsynaptycznym. DA jest następnie poddawany recyklingowi poprzez wychwyt zwrotny przez transporter DA (DAT1 – transporter dopaminy 1) na końcu presynaptycznym do kolejnego cyklu egzocytozy pęcherzykowej lub katabolizowany przez działanie monoaminooksydazy A (MAOA) i związanej z błoną katecholo-O-metylotransferazy (MB-COMT).

Dlatego w prezentowanym badaniu wybrano gen transportera dopaminy DAT1, gen katecholo-O-metylotransferazy – COMT oraz gen związany z układem opioidowym – OPRM1.

Zasadnym wydaje się typowanie genów związanych z układem nagrody w badanych grupach. W analizach poparto wybór genów i grup do badania kolejno na poziomach:

1. Neurobiologicznym
2. Genetycznym
3. Epigenetycznym
4. Psychologicznym

Układ nagrody działa na wszystkie aspekty świadomego działania. Istnieje wiele naturalnych sposobów pobudzania mezo limbicznych neuronów dopaminergicznych do uwalniania dopaminy – od osiągnięć intelektualnych czy sportowych poprzez dobrą muzykę, palenie tytoniu, jedzenie, hazard, słuchanie dobrej muzyki aż do przeżywania orgazmu. Sposoby te niekiedy określa się jako „naturalny haj”.

Metodologia badań własnych

Problematyka badań: cel pracy, pytania i hipotezy

Celem prezentowanego badania było określenie czynników genetycznych i epigenetycznych, które mogą mieć istotny wpływ na różnice operacyjne w indywidualnej regulacji układu dopaminergicznego związane z różnymi drogami pobudzenia dopaminy. Wybrano dwie różne grupy osób, które na pierwszy rzut oka są ze sobą zupełnie niezwiązane: osoby uzależnione behawioralnie (lub/i od substancji) oraz zawodowi sportowcy.

W pierwszej z nich źródłem nagrody dopaminergicznej jest zachowanie uzależniające, w drugim zaś naturalne formy pobudzenia, czyli sport czy rywalizacja, które powodują „dopaminową ucztę”, a postsynaptyczne receptory dopaminergiczne domagają się nowej dawki – a w konsekwencji wyrzutu dopaminy. Proces ten prowadzi do skupienia się na celu, jakim jest osiągnięcie satysfakcji z uzależniających czynności lub rywalizacji sportowej w celu uzyskania nagrody dla mózgu. W ten sposób, zarówno w sporcie, jak i przy uzależnieniu, wszystkie czynności życiowe są zaangażowane i poddane regulacji dopaminergicznej niezależnej od głównego stymulatora.

W literaturze tematu znajdujemy szereg doniesień dotyczących sportowców i osób uzależnianych behawioralnie, badanych pod względem zmienności genetycznej i epigenetycznej obszarów związanych z neuroprzekaznictwem mózgowym. Pozwala to na formułowanie hipotez do eksploracji w niniejszym badaniu. Podstawą analizy jest uwzględnienie korelacji powyższych czynników z testami psychometrycznymi sportowców i osób uzależnionych. Kompleksowa analiza tych zmiennych wydaje się być pierwszym krokiem do zrozumienia przyczyn odmiennych form

funkcjonowania, wyrażania siebie, idei motywacyjnych oraz regulacji procesów wolicjonalnych i emocjonalnych u sportowców i osób uzależnionych.

Głównym założeniem pracy jest jednoczesne badanie niezależnych czynników:

- (1) **epigenetycznego** – ocena poziomu metylacji w regionach mających istotny wpływ na układ nagrody w mózgu podczas rywalizacji sportowej i przy uzależnieniu behawioralnym,
- (2) **psychologicznego** – jak wymiary osobowości wpływają na indywidualne wzorce zachowań i wybory w poszczególnych grupach badanych,
- (3) **genetycznego** – czy poszczególne warianty polimorficzne genów związanych z neuroprzekaznictwem różnią się częstością występowania u sportowców i osób uzależnionych.

Procedura badań

Osoby badane / materiał badawczy

Projekt badania opisywanego w niniejszej rozprawie powstał na podstawie projektu naukowego OPUS, gdzie były badane czynniki epigenetyczne, psychologiczne i genetyczne w różnych grupach poszukiwaczy dopaminy. Ogrom zebranych danych fenotypowych pozwolił na dalsze analizy i po raz pierwszy zestawiono do badań i analiz dwie grupy – uzależnionych (w tym z uzależnieniem behawioralnym) oraz grupę sportowców.

Pierwszy etap badań dotyczył epigenetyki. Do analizy wybrano grupę uzależnionych.

Do badania włączono dwie grupy różniące się między sobą pod względem zależności od używania stymulantów. Zrekrutowano 226 osób, u których rozpoznano uzależnienie od psychostymulantów – była to grupa badana dorosłych mężczyzn przebywających w ośrodkach leczenia uzależnień. Grupę kontrolną stanowiło 290 osób, u których takiego uzależnienia nie było, również mężczyźni dobrani wiekiem do grupy badanej (Reclaw R., Lachowicz M. i in., 2024).

Drugi etap badania dotyczył analizy asocjacji polimorfizmu genu *COMT* u osób uzależnionych behawioralnie i jednocześnie od amfetamy.

W tej części projektu wybraliśmy analizę typu case control – grupę badaną stanowiło 307 osób: 107 mężczyzn z zaburzeniami hazardowymi oraz uzależnieni od amfetaminy, w trakcie trzymiesięcznej abstynencji w ramach leczenia w ośrodku uzależnień (średnia wieku = 27,51, SD = 5,25) i 200 osób nieuzależnionych, zdrowych psychicznie – byli to mężczyźni (średnia wieku = 20,20,

SD = 4,51). Badanie zostało zatwierdzone przez Komisję Bioetyczną Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie (KB-0012/106/16 (17 października 2016 r.)). Wszyscy uczestnicy wyrazili wcześniej pisemną świadomą zgodę na udział w badaniu (Reclaw R., Chmielowiec K. i in., 2024).

Trzeci etap badania dotyczył analizy typu case – control u sportowców.

Grupę badaną stanowiło 391 ochotników płci męskiej. Spośród nich 222 osoby uprawiające sport (średni wiek = 26,23, SD = 8,18; F=27%, M=73%), a 186 nie uprawiające sportu jako grupa kontrolna (średnia wieku = 23,98, SD = 6,16; F=40 %, M=60%). Do badania włączono zarówno osoby uprawiające sport, jak i grupę kontrolną – obie z tych grup były przebadane przez specjalistę psychiatrę w celu wykluczenia chorób psychicznych i uzależnień. Zbadano również związki między cechami osobowości a polimorfizmami w genie OPRM1 rs1799971 (Reclaw R., Boroń A. i in., 2024).

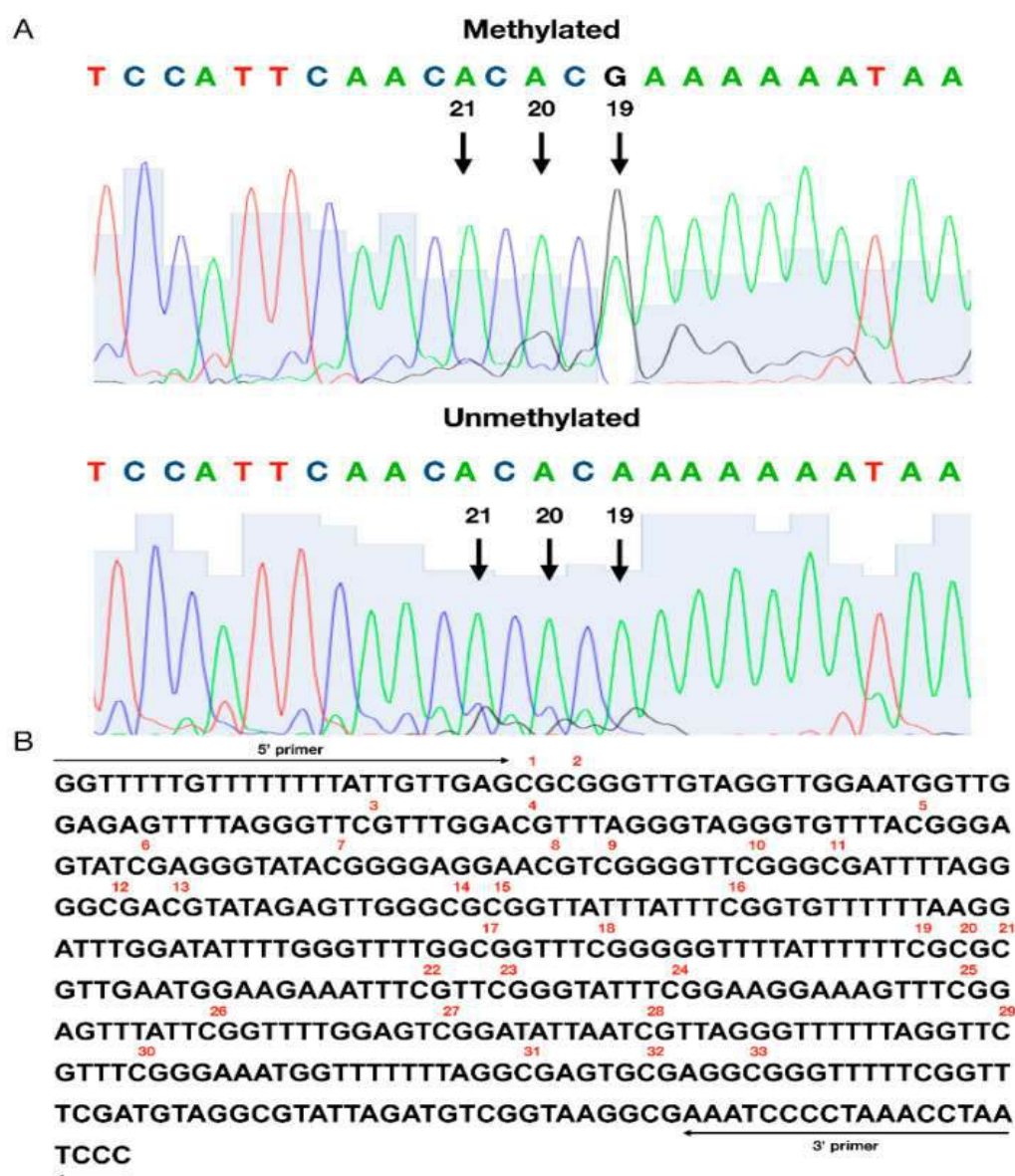
Metody badań / techniki / narzędzia

Żadna z osób biorących udział w badaniu nie otrzymywała zachęt finansowych za udział w badaniu. Badanie zostało całkowicie anonimowe, aby zapewnić ochronę danych osobistych. Grupę kontrolną dobrano ze względu na wiek i płeć. Od pacjentów pobrano próbkę krwi żyłnej o objętości 9 ml na probówkę EDTA, materiał genetyczny wyizolowano w postaci DNA.

Ocena stanu metylacji promotora transportera genu dopaminy (DAT1). Zgodnie z instrukcją producenta, izolację DNA z krwi obwodowej przeprowadzono przy użyciu zestawu do izolacji (A&A Biotechnology, Gdynia, Polska). Modyfikacje wodorosiarczanem przeprowadzono na 250 ng DNA przy użyciu zestawu EZ DNA Methylation Kit z Zymo Research w Orange, Kalifornia, USA, zgodnie z instrukcjami producenta. Do metylacji użyto Mastercycler epgradient S (Eppendorf, Hamburg, Niemcy) specyficzny test PCR. Startery oligonukleotydowe otrzymano z Genomed.pl (Warszawa, Polska). Zastosowano PCR ze starterami ukierunkowanymi na fragment genu, aby ocenić status promotora DAT1 (ENSG00000142319), tj. DATF: 5'-GGTTTTTGT TTT TTT TTT TTT TTT GTTGAG-3'; DATR: 5'-AAATCCCCTAAACCTAATCCC-3'.

Produkty PCR sekwencjonowano w sposób opisany wcześniej (Jasiewicz A. i in., 2015). Krótko mówiąc, próbki były zweryfikowane metodą sekwencjonowania przy użyciu zestawu BigDye v3.1 (Applied Biosystems, Darmstadt, Niemcy). Próbki rozdzielono poprzez ekstrakcję etanolem przy użyciu ABI Prism 3130XL (Applied Biosystems). Chromatogramy sekwencjonowania analizowano

przy użyciu oprogramowania 4peaks. Za pozytywny uznawano stosunek G/A + G wynoszący co najmniej 20% całkowitego sygnału metylacji cytozyny. Wzór na obliczenie procentu metylacji w każdym z nich to: $(G/(G + A) \times 100)$.



Rycina 2. Sposób typowania wysp metylacyjnych (Reclaw R., Lachowicz M. i in., 2024).

Ocena stanu metylacji poszczególnych miejsc CpG w promotorze DAT1. (A) Reprezentatywny wynik pozytywnego (górnego) i negatywnego (dolnego) statusu metylacji; (B) sekwencja analizowanego promotora DAT1. Poszczególnym stanowiskom na badanym obszarze nadano numery rozpoczynające się od 5'. Stan metylacji poszczególnych miejsc CpG wykrywano przy poziomie odcięcia wynoszącym 20% stosunku G/A + G przy użyciu oprogramowania 4Peaks (Mek & Tosj, Amsterdam, Holandia).

Genotypowanie

Do izolacji genomowego DNA z krwi żyłnej zastosowano standardowe procedury. Izolację materiału genetycznego przeprowadzono zgodnie ze standardami wskazanymi przez producenta – firmę ROCHE.

Oznaczenie polimorfizmu rs4680 w genie COMT przeprowadzono za pomocą metody PCR w czasie rzeczywistym. Dla każdej próbki wykreślono krzywe topnienia. Szczyty COMT rs4680 dla miejsc polimorficznych odczytano w temperaturze 53,29°C dla allelu A i w temperaturze 59,93°C dla allelu G.

Analiza statystyczna

Do sprawdzenia zgodności rozkładu częstotliwości alleli wykorzystano oprogramowanie HWE z równowagą Hardy’ego-Weinberga (<https://wpcalc.com/en/equilibrium-hardy-weinberg/> – dostęp 3 grudnia 2023 r.).

Do analizy zależności wykorzystano wieloczynnikową analizę efektów czynnikowych ANOVA pomiędzy wariantami COMT rs4680, zaburzeniami związanymi z hazardem i uzależnieniem od amfetaminy oraz grupy kontrolnej.

Główne wyniki i wyływające z nich wnioski

DAT1

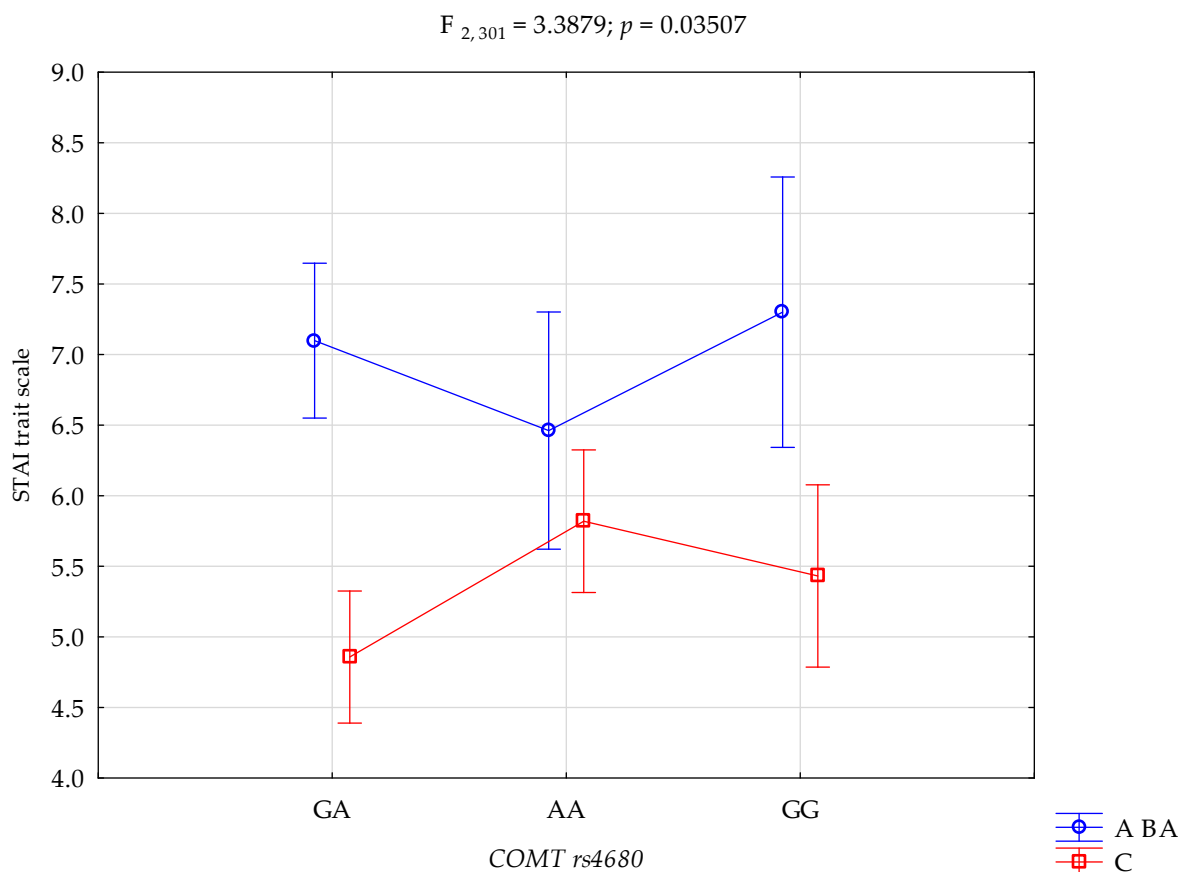
W niniejszym badaniu przeprowadzono analizę metylacji w regionie promotora genu DAT1, który obejmował 33 wyspy metylacji CpG. Analiza polegała na porównaniu kliniczno-kontrolnym osób uzależnionych od psychostymulantów z grupą kontrolną złożoną z osób zdrowych i nieuzależnionych. Co ciekawe, wybrane miejsca w grupie badanej były hipermetylowane, a inne hipometylowane w porównaniu z grupą kontrolną. Niniejsze badania pokazują niższą metylację wysp 1, 9 i 14 u osób uzależnionych oraz większą metylację wysp 32 i 33. Całkowita metylacja nie różniła się pomiędzy grupami. Różnica w poszczególnych wyspach metylacji CpG badanego genu dostarcza cennych informacji na temat procesu metylacji DNA u pacjentów uzależnionych od psychostymulantów.

COMT

Stwierdzono statystycznie istotne różnice w częstości występowania genotypów COMT rs4680 w badanej grupie osób z zaburzeniami hazardowymi i zaburzeniami używania amfetaminy w porównaniu z grupą kontrolną (G/A 0,57 vs. G/A 0,42; A/A 0,24 vs. A/A 0,36; G/G 0,19 vs. G/G 0,22, $\chi^2 = 6,681$, $p = 0,03543$). Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w częstości występowania alleli COMT rs4680 pomiędzy osobami z zaburzeniami hazardowymi i zaburzeniami używania amfetaminy a grupą kontrolną (A 0,53 vs. A 0,57; G 0,47 vs. G 0,43, $\chi^2 = 0,990$, $p = 0,3187$) (Tabela 2).

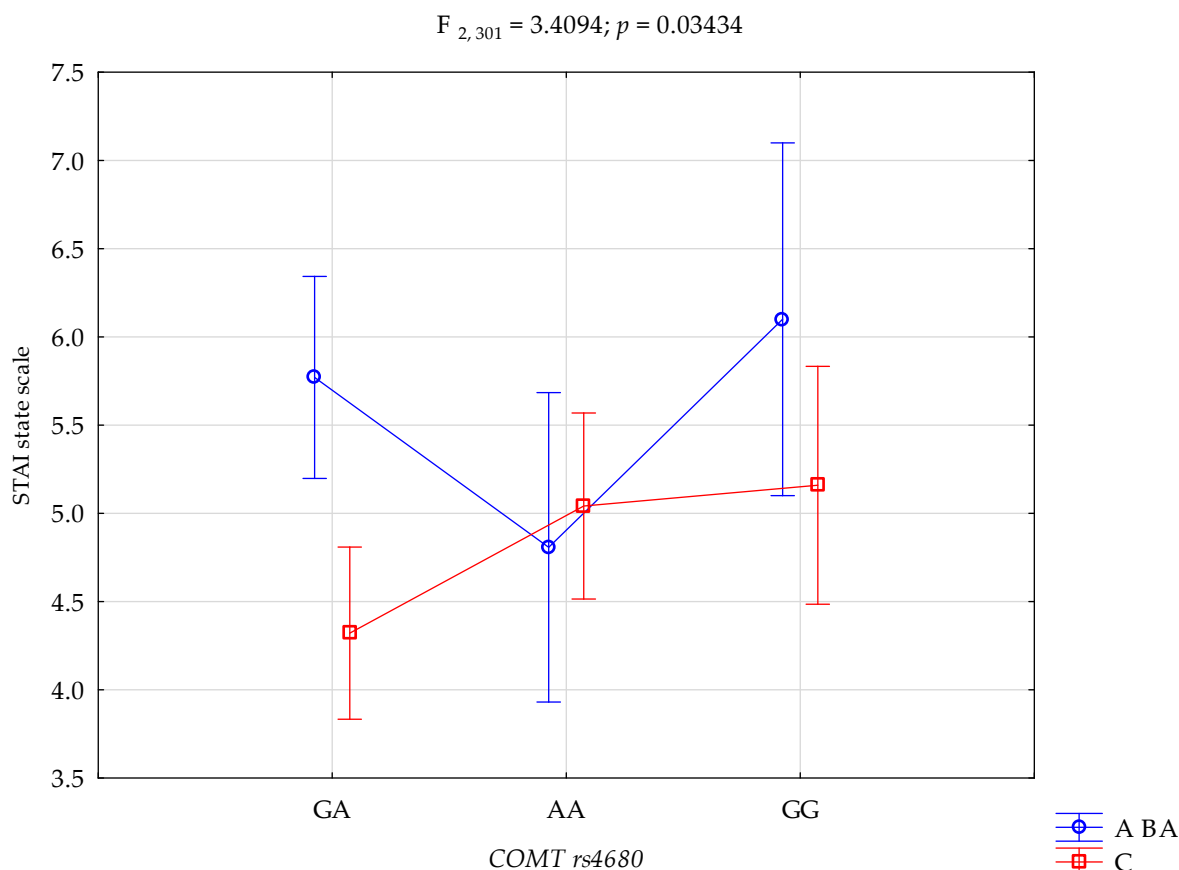
Osoby z zaburzeniami hazardowymi i zaburzeniami używania amfetaminy w porównaniu z grupą kontrolną uzyskały wyższe wyniki w ocenie skali cech STAI (6,98 vs. 5,33; $Z = 3,106$; $p = 0,0019$) i skali stanu (5,60 vs. 4,77; $Z = 5,575$; $p < 0,0000$) oraz skali Neurotyczności NEO-FFI (6,58 vs. 4,76; $Z = 6,657$; $p < 0,0000$). Istotnie niższe wyniki uzyskała skala Ugodowości NEO-FFI (4,28 vs. 5,54; $Z = -4,941$; $p < 0,0000$). Wykazano istotny statystyczny wpływ zaburzeń hazardowych i zaburzeń związanych z używaniem amfetaminy oraz genotypu COMT rs4680 dla wyników skali cech STAI. Stwierdzono istotny statystycznie wpływ interakcji genotypu COMT rs4680 z zaburzeniami hazardowymi i zaburzeniami używania lub nieużywania amfetaminy (grupa kontrolna) na skalę cechy STAI ($F_{2,301} = 3,39$; $p = 0,0351$; $\eta^2 = 0,022$). Moc zaobserwowana dla tego czynnika wyniosła 64%, a około 2% powiązano z polimorfizmem COMT rs4680 oraz zaburzeniami hazardu i zaburzeniami używania amfetaminy lub ich brakiem na wariancji wyniku cechy STAI. Stwierdzono także istotny statystycznie wpływ zaburzeń hazardowych i zaburzeń używania amfetaminy oraz

grupy kontrolnej na wynik w skali stanu STAI ($F_{2,301} = 3,41$; $p = 0,0343$; $\eta^2 = 0,022$). Moc zaobserwowana dla tego czynnika wyniosła 64%, a około 2% powiązano z polimorfizmem COMT rs4680 oraz zaburzeniami hazardu i zaburzeniami używania amfetaminy lub ich brakiem na wariancji wyniku w skali stanu STAI. Wykazano istotny statystyczny wpływ zaburzeń hazardowych i zaburzeń używania amfetaminy oraz genotypu COMT rs4680 na wynik skali Sumienności NEO-FFI. Stwierdzono istotny statystycznie wpływ interakcji genotypu COMT rs4680 z zaburzeniami hazardowymi i zaburzeniami używania lub nieużywania amfetaminy (grupa kontrolna) na skalę Sumienności ($F_{2,301} = 6,47$; $p = 0,0018$; $\eta^2 = 0,041$). Moc zaobserwowana dla tego czynnika wyniosła 90%, a około 4% powiązano z polimorfizmem COMT rs4680 oraz zaburzeniami hazardu i zaburzeniami używania amfetaminy lub ich brakiem na podstawie cechy wariancji wyniku Sumienności.



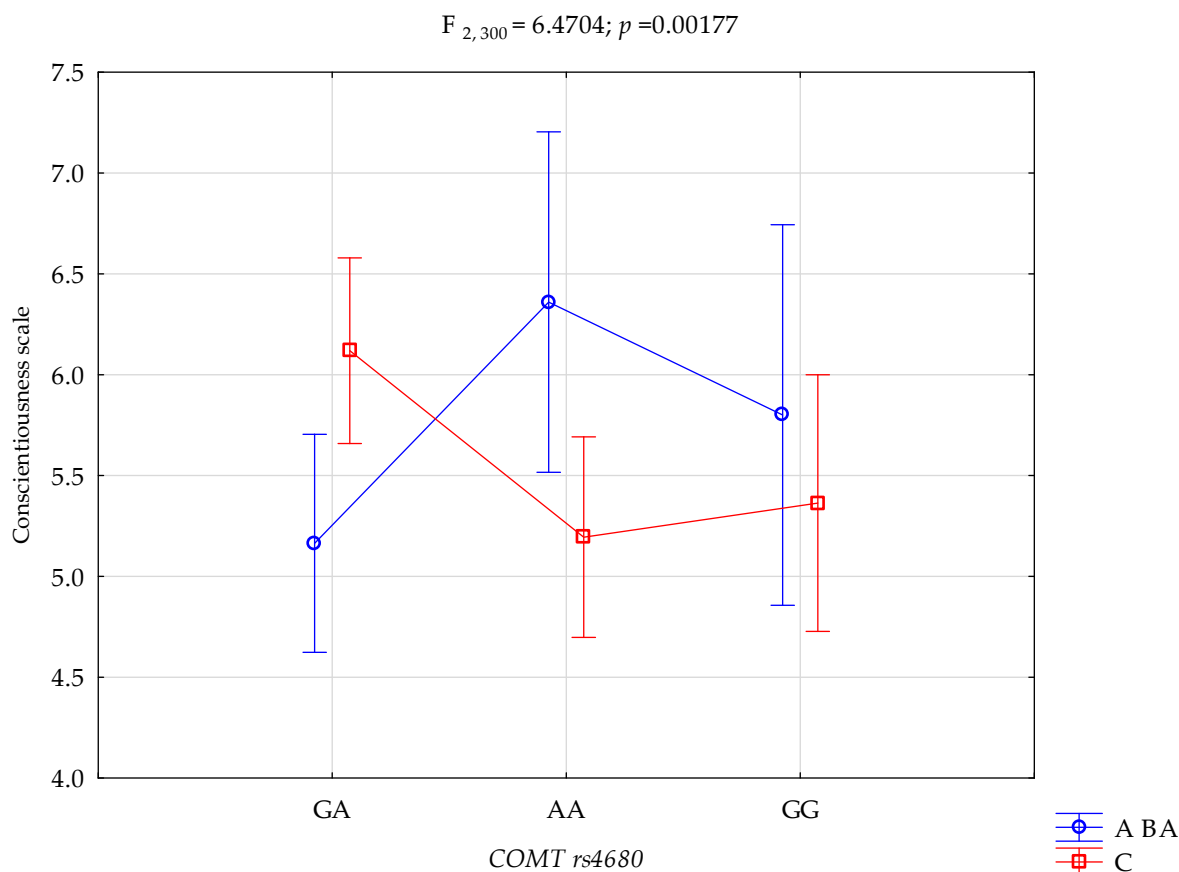
Rycina 3.

Interakcja między zaburzeniami hazardowymi a zaburzeniami związanymi z używaniem amfetaminy (GAD); $n = 107$ /kontrola (C) oraz COMT rs4680 i skala cech STAI. Istnieje znacząca interakcja zaburzeń hazardowych i zaburzeń związanych z używaniem amfetaminy oraz polimorfizmu genu COMT rs4680 w wyniku poziomu lęku jako cechy. Osoby z zaburzeniami hazardowymi i zaburzeniami używania amfetaminy o genotypie GA mają istotnie wyższy poziom lęku jako cechy w porównaniu z grupą kontrolną o genotypie GA. Podobnie osoby z zaburzeniami hazardowymi i zaburzeniami używania amfetaminy o genotypie GG mają istotnie wyższy poziom lęku jako cechy w porównaniu z grupą kontrolną o genotypie GG (Reclaw R., Chmielowiec K. i in., 2024).



Rycina 4.

Interakcja pomiędzy zaburzeniami hazardowymi a zaburzeniami związanymi z używaniem amfetaminy (GAD); $n = 107$ /kontrola (C) i COMT rs4680 oraz skala stanu STAI. Istnieje znacząca interakcja zaburzeń hazardowych i zaburzeń związanych z używaniem amfetaminy oraz polimorfizmu genu COMT rs4680 w wyniku poziomego lęku jako stanu. Osoby z zaburzeniami hazardowymi i zaburzeniami używania amfetaminy o genotypie GA mają istotnie wyższy poziom lęku jako stanu w porównaniu z grupą kontrolną o genotypie GA GG (Reclaw R., Chmielowiec K. i in., 2024).



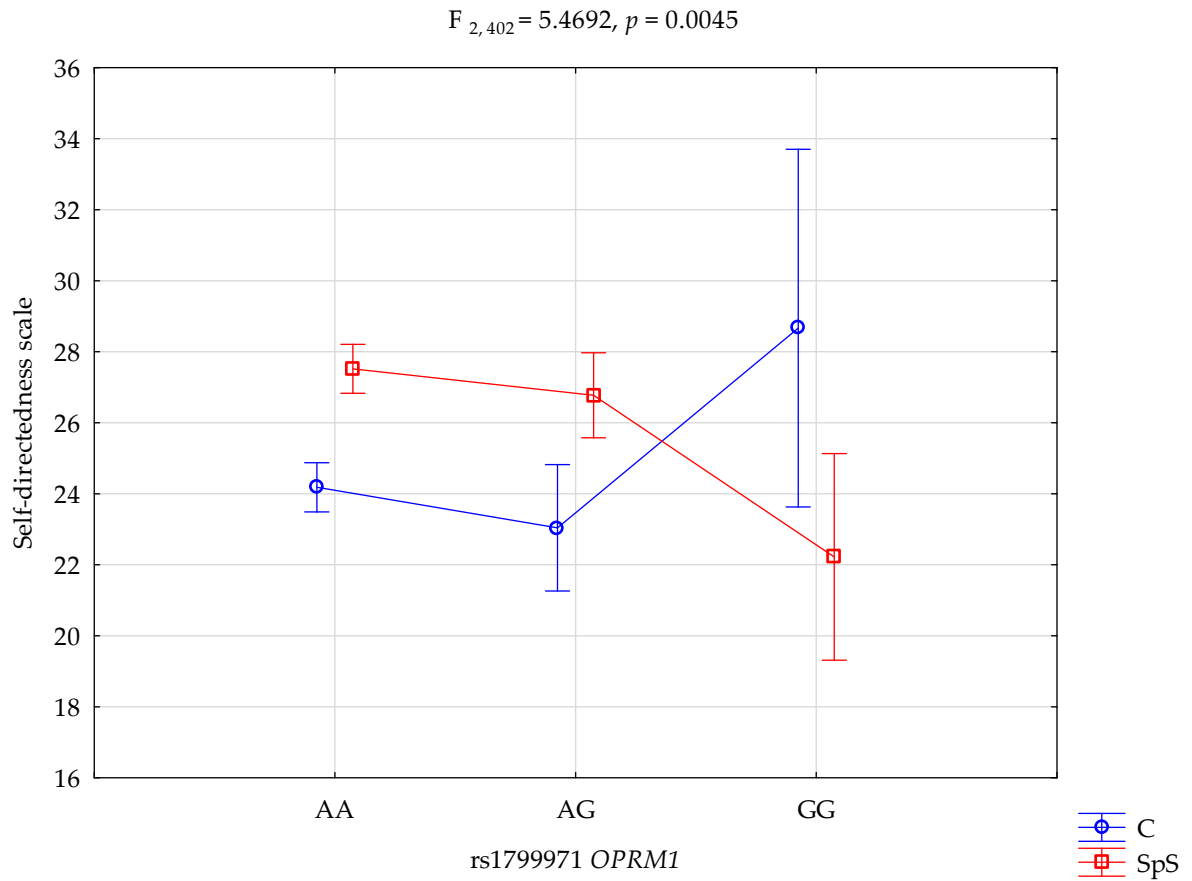
Rycina 5.

Interakcja między zaburzeniami hazardowymi a zaburzeniami używania amfetaminy (GAD)/kontrolą (C) oraz skalą COMT rs4680 i sumienności. Istnieje znacząca interakcja zaburzeń hazardowych i zaburzeń związanych z używaniem amfetaminy oraz polimorfizmu genu COMT w wyniku poziomu Sumienności. Osoby z zaburzeniami hazardowymi i zaburzeniami używania amfetaminy o genotypie GA mają znacząco niższe wyniki w zakresie Sumienności w porównaniu z grupą kontrolną o genotypie GA. I odwrotnie, osoby z zaburzeniami hazardu i zaburzeniami używania amfetaminy o genotypie AA mają znacznie wyższe wyniki w zakresie Sumienności w porównaniu z grupą kontrolną o genotypie AA GG (Reclaw R., Chmielowiec K. i in., 2024).

OPRM1

Stwierdzono statystycznie istotne różnice w częstości występowania genotypów OPRM1 rs1799971 u badanych osób uprawiających sport w porównaniu z grupą kontrolną. OPRM1 rs1799971 (A/A 0,72 vs A/A 0,85; G/G 0,04 vs G/G 0,02; A/G 0,24 vs A/G 0,13, $\chi^2 = 10,833$, $p < 0,0044$). Stwierdzono jednak istotne statystycznie różnice w częstości występowania alleli genu OPRM1 rs1799971 pomiędzy osobami uprawiającymi sport a grupą kontrolną (A 0,84 vs. A 0,92; G 0,16 vs. G 0,08, $\chi^2 = 12,710$, $p = 0,0004$).

Badani Sportowcy w porównaniu z grupą kontrolną uzyskali wyższe wyniki w ocenie skali Temperamentu i Inwentarza Charakteru Samokierowania (27,13 vs. 24,10; $Z = 6,259$; $p < 0,0001$) oraz skali Temperamentu i Inwentarza Charakteru Współpraca (21,17 vs. 20,19; $Z = 1,984$;) Wyniki czynnikowej analizy ANOVA skal Inwentarza Temperamentu i Charakteru (TCI-R) również były ciekawe. Skala samokierowania: Stwierdzono statystycznie istotny wpływ interakcji genotypu OPRM1 rs1799971 i osób uprawiających sport lub grupy kontrolnej na skalę Samokierowania ($F_{2, 402} = 5,47$, $p = 0,0045$; $\eta^2 = 0,026$;). Moc zaobserwowana dla tego czynnika wyniosła 85%, a około 3% zostało wyjaśnione polimorfizmem rs1799971 i przedmiotami sportowymi lub jego brakiem w wariancji wyniku w skali Samokierowania. Osoby uprawiające sport z genotypami A/A mają znacznie wyższe wyniki w skali Samokierowania w porównaniu z grupą kontrolną z genotypami A/A i A/G. Pacjenci z genotypem A/G mieli również znacząco wyższe wyniki w skali Samokierowania w porównaniu z grupą kontrolną z genotypem A/A i A/G. Osoby uprawiające sport z genotypami A/A i A/G mają znacznie niższe wyniki w skali Samokierowania w porównaniu do osób uprawiających sport z genotypami G/G. Osoby uprawiające sport z genotypami G/G mają znacząco niższe wyniki w skali Samokierowania w porównaniu do osób z grupy kontrolnej z genotypami G/G. Osoby z grupy kontrolnej z genotypami A/G mają znacznie mniej wyników w skali Samokierowania w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej z genotypami G/G (Reclaw R., Boroń A. i in., 2024).



Rycina 6.

Interakcja między podmiotami sportowymi (SpS) / grupą kontrolną (C) a skalą OPRM1 rs1799971 i samokierowania (Reclaw R., Boroń A. i in., 2024).

Dyskusja

Często utrzymuje się, że w zawodach sportowych wygrywa umysł, a nie mięśnie. To, czy ktoś odniesie sukces, czy porażkę, często zależy od jego woli rywalizacji, wytrwałości, śmiałości i wewnętrznego dążenia do osiągnięcia celu, na które składają się cechy osobowości i temperament. Jest to głęboko zakorzenione w neurobiologii i funkcjonowaniu ludzkiego mózgu, jego neuroprzekaźników i receptorów. Ponadto należy wziąć pod uwagę znaczenie dopaminy, uznanej przez psychologów i psychiatrów za „hormon motywacji, emocji i poszukiwania przygód” (Blanco N.J. i in., 2015). Pod tym względem dopamina ma ogromny wpływ na dokonywanie wyborów, które dotyczą tzw. „decyzji ryzykownych”. Geny kodujące receptory i transporter neuroprzekaźnika najczęściej badane są w związku ze zdolnością do uprawiania sportu. Jest to związane ze ścieżką przyjemności i zadowolenia mózgu. Należy również wziąć pod uwagę tak zwany „mezolimbiczny układ nagrody”, który pośredniczy w psychofarmakologii nagrody wynikającej z ćwiczeń i innych czynników. Obszar mózgu brzuszego obszaru nakrywkowego, w którym znajdują się neurony układu dopaminergicznego i sąsiadujące z nim jądro półleżące, nazywany jest „ośrodkiem przyjemności”, a dopamina nazywana jest po prostu „przyjemnością”.

Psychogenetyka sportu jest stosunkowo młodą dziedziną, jednak już udowodniono jej aktualność i zasadność badań. Istnieje szansa na zdefiniowanie nowego biomarkera charakteryzującego poszczególne grupy sportowców. To w przyszłości może się przełożyć na opracowywanie indywidualnych programów dla sportowców, biorąc pod uwagę kilka czynników, m.in. psychologiczne – a co za tym idzie – lepsze wyniki sportowe. Model dopaminergiczny przydatny w analizie uzależnień możemy przełożyć na aspekt praktyczny – aby zastąpić degradujące organizm zachowania związane z pozyskaniem dopaminy – na sport będący naturalnym źródłem przyjemności w układzie dopaminergicznym.

W ten sposób, zarówno w sporcie, jak i przy uzależnieniu, wszystkie czynności życiowe są zaangażowane i poddane regulacji dopaminergicznej niezależnej od głównego stymulatora. W literaturze tematu znajdujemy szereg doniesień dotyczących sportowców i osób uzależnianych behawioralnie, badanych pod względem zmienności genetycznej i epigenetycznej obszarów związanych z neuroprzekaźnictwem mózgowym. Pozwala to na formułowanie hipotez do eksploracji w niniejszym badaniu. Podstawą analizy jest uwzględnienie korelacji powyższych czynników z testami psychometrycznymi sportowców i osób uzależnionych. Kompleksowa analiza tych zmiennych wydaje się być pierwszym krokiem do zrozumienia przyczyn odmiennych form funkcjonowania, wyrażania siebie, idei motywacyjnych oraz regulacji procesów wolicjonalnych i emocjonalnych u sportowców i osób uzależnionych.

Koncepcja wspólnych szlaków mózgowych

U sportowców mechanizm neurobiologiczny szlaków neuroprzekąźnictwa jest taki sam. Warunkiem podjęcia i kontynuowania treningu sportowego, a co za tym idzie: możliwość osiągnięcia sukcesu w sporcie, wydaje się wynikać z oddziaływania czynników genetycznych (jak temperament) i ukształtowanych środowiskowo (jak charakter). W tym przypadku ontogenetyczne różnice wyrażają się na przykład poprzez modulujący wpływ układu neuroprzekąźników na ekspresję określonych cech osobowości sportowców. Dobrym przykładem jest „poszukiwanie nowości”, wyrażające się „głodem” do przeżywania dreszczy np. w wyniku rywalizacji sportowej, co wynika z funkcjonowania układu dopaminergicznego, czyli niedoboru dopaminy. Gen poszukiwaczy nowości jest powiązany z układem dopaminergicznym i receptorem DRD4. Receptory i transporter dopaminy były już przebadane przez zespoły naukowców i opisane w wielu publikacjach. Aby jednak pozostać precyzyjnym w rozważaniach, analizach i wyborze genów związanych z przekąźnictwem neurobiologicznym w mózgu w niniejszej pracy zdecydowano przeanalizować nie tylko warianty związane z dopaminą, ale również układem opioidowym.

Zachowanie motywacyjne zwykle ulega wzmocnieniu w przypadku zwiększonego poziomu nagród i wiąże się ze zwiększoną dostępnością synaptycznego DA. Mutacje w DRD4 gen są powiązane z różnymi fenotypami behawioralnymi, na przykład podejmowaniem ryzyka (Abidin S.Z. i in., 2015; Mallard T.T. i in., 2016). W regionie promotora DRD4 znajduje się kilkadziesiąt loci polimorficznych. Badania wykazały, że allel C polimorfizmu rs1800955 jest powiązany z poszukiwaniem nowości i ekstrawersją. Drugim polimorfizmem jest zmienna ilość powtórzeń tandemowych (VNTR) 48 par zasad w eksonie 3, w zakresie od 2 powtórzeń (2R) do 11 powtórzeń (11R) (Chang F.M. i in., 1996). Osoby z allelem 7R angażują się w zwiększoną aktywność fizyczną (Faraone S.V. i in., 2001; Kluger A.N. i in., 2002; Li D. i in., 2006) i są bardziej wrażliwe na czynniki zewnętrzne (Belsky J. i in., 2009; Olsson C.A. i in., 2013; Grady D.L. i in., 2013). Allel 7R jest również powiązany z ryzykiem w decyzjach finansowych (Dreber A. i in., 2009; Muda R. i in., 2018), deficytem/nadpobudliwością koncentracji (Faraone S.V. i in., 2001; Grady D.L. i in., 2013), alkoholizmem (MacKillop J. i in., 2007) oraz nadwrażliwością (Congdon E. i in., 2008). Badania przeprowadzone na grupie zawodników MMA wykazały, że mają oni tzw. zwiększoną częstość występowania alleli 7R w porównaniu z grupą kontrolną (Cherepkova E.V. i in., 2017).

Ciekawym aspektem, również będącym inspiracją do planu badawczego prezentowanych wyników własnych i koncepcji myślenia wskazującej na ogromne znaczenie neuroprzekąźnictwa mózgowego było połączenie podobnych neurobiologicznie zachowań ludzkich.

Koncepcja wspólnych genów kandydujących

Fischer Lee wraz ze swoim zespołem badawczym wskazują w grupie sportowców na interakcję między genami a środowiskiem (Fischer R. i in., 2018), co oczywiście sprawia, że analiza statystyczna takich asocjacji staje się bardziej wymagająca i złożona. Wiedząc o wpływie środowiska i biorąc ten czynnik pod uwagę, ciągle pamiętamy, że geny nie są strukturą marginalną – lecz zasadniczą w tym zestawieniu. Dlatego też badacze skoncentrowali się na fluktuacji jednego z polimorfizmów genu związanego z układem dopaminergicznym. Dokładniej rzecz ujmując – był to gen DRD2 i jego wariant polimorficzny rs1076560. Ludzkie DNA (kwas dezoksyrybonukleinowy) składa się z dwóch łańcuchów polinukleotydowych złożonych z prostszych jednostek monomerycznych – nukleotydów (Watson J.D. i in., 1974; Jaekel A. i in., 2020). Każdy nukleotyd składa się z jednej z czterech zasad nukleinowych zawierających azot, którymi są cytozyna (C), guanina (G), adenina (A) lub tymina (T). Taka właśnie konstrukcja pozwala zaobserwować pewne różnice, które są związane ze zmianą jednej zasady nukleotydowej na inną, zwaną SNP (single nucleotide polymorphism). SNP to podstawienie pojedynczego nukleotydu w określonym miejscu w genomie, co może (lecz nie musi) skutkować zmianą właściwości białka (Sherry S.T. i in., 2001). Każdy dziedziczy dwa allele każdego genu, po jednym od każdego z rodziców (Song Y. i in., 2021). **Różnice takie mogą mieć bardzo duże znaczenie w fenotypach związanych z osiągnięciami sportowymi.** Ponieważ za fenotyp człowieka odpowiadają geny, możemy obserwować ich wpływ na organizm ludzki w każdej sferze funkcjonowania człowieka, także w sporcie. W tym przypadku traktuje się je jako potencjalny wyznacznik predyspozycji i talentu do określonych dyscyplin sportowych. **Różnice genetyczne mogą powodować zmianę właściwości funkcjonalnych i strukturalnych mięśni, takich jak ich adaptacja na wysiłek, reakcja na procesy zapalne, podatność na kontuzje i regenerację zdolności oraz może wpływać na cechy psychologiczne, które w wybranych przypadkach mogą mieć ogromne znaczenie dla wybranych dyscyplin sportowych** (Jacob Y. i in., 2018; Guo S. i in., 2018; Kitazawa H. i in., 2021; Takeuchi H. i in., 2015).

Typując geny kandydujące związane z neuroprzekąźnictwem mózgowym, widzimy wyraźnie podobne badania wśród uzależnionych i sportowców. Często wspólną cechą analiz obu grup jest analiza cech osobowości.

Rozpatrując cechy osobowości, po pierwsze, istnieją wyraźne dowody na istnienie asocjacji z podstawą genetyczną. Zauważono związek pomiędzy miejscami polimorficznymi genów receptorów dopaminy – a podatnością na uzależnienie. To jest oczywiste i łatwe do zrozumienia, głównie dlatego, że istnieje związek pomiędzy funkcjonowaniem układu dopaminergicznego i uzależnieniem (Suchancka A. i in., 2020). Jednak to skojarzenie jest bardziej złożone. Właściwe wydzielanie poziomu dopaminy można również uznać za czynnik wpływający na elementarne cechy osobowości, a co za tym idzie także stosunek do sportu i uczestnictwa w nim. Nasz projekt koncentruje się na grupie sportowców sztuk walki, dlatego uważamy jako uzasadnione analizowanie polimorfizmów w genach związanych z wydzielaniem dopaminy. Według naszej najlepszej wiedzy istnieje wiele genów potencjalnie związanych z wydzielaniem dopaminy wpływających na osobiste podejście do sportu. Niemniej jednak skupiliśmy się na obszarach polimorficznych w DRD2 PROM rs1799732, DRD2 rs1076560, DRD2 Tag1D rs1800498, DRD2 Ex8 rs6276, DRD2Tag1B rs1079597 i ANKK1 Tag1A rs1800497. Dopamina, będąca substancją chemiczną, cząsteczką z grupy katecholamin, jest ważnym neuroprzekaźnikiem wydzielanym przez neurony dopaminergiczne ośrodkowego układu nerwowego. Jedną z cech, na które ma to wpływ – jest postawa wobec podejmowania „ryzykownych decyzji” (Freels T.G. i in., 2020), jako główna rola dopaminy, a zwłaszcza izoform receptora D2, jest integracją motywacji, akcji i emocji. Hranilovic i współautorzy zaobserwowali, że wydaje się on najwyższy z w przypadku nowych bodźców. Wybicie D2L wpływa na zdolność eksploracji i czas potrzebny na reakcję w szkodliwej sytuacji (Hranilovic D. i in., 2008). Zauważono w innym badaniu fakt, że istnieje pozytywny związek pomiędzy dopaminą mezokortykolimbiczną (DA) i wykonaniem wyuczonych zachowań ukierunkowanych na nagrodę (Ranaldi R., 2014; Lammel S. i in., 2014).

Pomimo rozwoju obszaru badawczego związanego z biologią molekularną, genetyką, psychologią – ciągle jeszcze nie wiemy w jakim stopniu i udziale te czynniki warunkują stan kliniczny pacjenta. Dlatego w głównym nurcie badań naukowych znalazły się analizy związane z poszukiwaniem asocjacji uzależnienia i wybranych polimorfizmów genów, czynników epigenetycznych, czynników związanych z osobowością.

Zasadnym wydaje się pokazanie podczas dyskusji powiązania podstaw neuroprzekaźnictwa i genów kandydujących z nim związanych, w uzależnieniach i w badaniach nad predyspozycjami w sporcie. Szczególnie istotny okazał się tu gen DRD4.

Uzależnieni

W efekcie wielu badań mających na celu poszukiwania u osób uzależnionych od wielu substancji psychoaktywnych oraz u osób, u których uzależnienie od substancji współwystępuje z innymi zaburzeniami psychicznymi, wytypowano szereg markerów genetycznych (tzw. endofenotypu). Skoncentrowano się również na poszukiwaniu markerów genetycznych uzależnienia od substancji

psychoaktywnych związanych z deficytem układu nagrody. W zakresie deficytu transmisji dopaminergicznej i jej korelacji z cechami osobowości, udało się zdefiniować endofenotyp osób z uzależnieniem od wielu substancji z uzależnieniem od stymulantów i współwystępowaniem zaburzeń psychiatrycznych. Jest to wynik pokazujący zasadność tworzenia homogennych podgrup podczas badania grup pod względem cech, które są wielogenowe i wieloczynnikowe. Wykazano również, że zaburzenia psychiatryczne częściej występowały u osób z uzależnieniem od wielu substancji z uzależnieniem od stymulantów, w porównaniu z osobami z uzależnieniem wielosubstancyjnym, ale bez uzależnienia od stymulantów oraz, że polimorfizm genu *DRD4* Ex3 u pacjentów z uzależnieniem od wielu substancji z uzależnieniem od stymulantów z występowaniem allelu s jest markerem genetycznym występowania zaburzeń psychiatrycznych w tej podgrupie pacjentów. Podczas badań stwierdzono istotne różnice w częstości występowania polimorfizmów genu *DRD4* Ex3: genotyp s/s występował częściej u osób z uzależnieniem od wielu substancji z uzależnieniem od stymulantów, natomiast genotyp l/l był obserwowany rzadziej. W *DRD2* PROM rs 1799732 allel del występował częściej niż allel ins osób z uzależnieniem od wielu substancji z uzależnieniem od stymulantów. W zakresie polimorfizmu genu *DRD4* Ex3 w osób z uzależnieniem od wielu substancji z uzależnieniem od stymulantów częściej występował allel s, a rzadziej allel l. W zakresie polimorfizmu genu *DRD4* Ex3 u osób z genotypem s/s częściej występowały zaburzenia psychiatryczne i lęk uogólniony, natomiast u osób z genotypem s/l i l/l rzadziej. W odniesieniu do polimorfizmu *DRD4* Ex3 allele s były częstsze u osób, które doświadczały także epizodów depresyjnych, dystymii i zaburzeń psychiatrycznych, jak również uogólnionego zaburzenia lękowego. Wykazano również związek polimorfizmu genu *DRD4* Ex3 u pacjentów z uzależnieniem od wielu substancji z uzależnieniem od stymulantów z występowaniem allelu s: w tej podgrupie pacjentów obserwowano częstsze występowanie allelu s, a występowanie allelu s było częstsze u osób, które doświadczały także epizodów depresyjnych, dystymii i zaburzeń psychiatrycznych, jak również uogólnionego zaburzenia lękowego. Można sądzić zatem, że polimorfizm genu *DRD4* Ex3 u pacjentów z uzależnieniem od wielu substancji z uzależnieniem od stymulantów z występowaniem allelu s jest markerem genetycznym występowania zaburzeń psychiatrycznych w tej podgrupie pacjentów (Masiak J. i in., 2020).

Co ciekawe, wykazano również, że mężczyźni z rozpoznaniem zaburzeń związanych z używaniem wielu substancji oraz współwystępującym epizodem depresyjnym w porównaniu z grupą kontrolną zdrowych badanych uzyskali istotnie wyższe wyniki zarówno w skali stanu i cechy lęku ocenianych z zastosowaniem STAI, jak i skali Neurotyzmu i Otwartości (NEO-FFI), a także niższe w skali Ekstrawersji, Ugodowości i Sumienności (NEO-FFI). W polimorfizmie eksonu 3 genu *DRD4*, allel s był częstszy u pacjentów z rozpoznaniem zaburzeń związanych z używaniem wielu substancji oraz

współwystępującym epizodem depresyjnym w porównaniu z allelem l, który był rzadszy. **Tu z kolei widzimy badanie tymi samymi testami psychologicznym – tu uzależnionych – a później sportowców** (Chmielowiec K. i in., 2021).

Kolejne badanie obrazuje istotnie wyższe wyniki w skali stanu STAI oraz cech Neurotyczność i Otwartość, a także niższe wyniki w skalach Ekstrawersji, Ugodowości i Sumienności uzyskano w grupie osób badanych w porównaniu z grupą kontrolną. Nie stwierdzono różnic w częstości występowania genotypów i alleli polimorfizmu *Taq1A* pomiędzy badanymi grupami. *ANKK1 Taq1* osiągał istotność statystyczną dla lęku jako cechy ocenianego STAI. Badanie pokazało nie tylko różnice w cechach osobowości między osobami uzależnionymi i nieuzależnionymi, ale także możliwy wpływ ANKK1 na dane cechy osobowości i na samo uzależnienie (Grzywacz A. i in., 2019).

Stwierdzono także, że u użytkowników kanabinoli wyższe wyniki w skalach oceniających lęk jako stan i cecha STAI, wyższe wyniki w skalach Neurotyczności i Otwartości, a także niższe wyniki w skalach Ekstrawersji, Ugodowości i Sumienności (NEO-FFI). Stwierdzono istotne różnice między osobami uzależnionymi od kanabinoli a grupą kontrolną w częstości występowania alleli DRD2 rs179973. Wieloczynnikowa analiza ANOVA wykazała statystycznie istotny wpływ genotypu DRD2 rs1799732 na skalę Ugodowości NEO-FFI oraz statystycznie istotny wpływ uzależnienia od kanabinoli lub jego braku na wynik skali Ugodowości NEO-FFI (Chmielowiec J. i in., 2022).

Sportowcy

Istnieje cały cykl badań poświęcony związkom wymiarów osobowości, uwarunkowań genetycznych i osiągnięciom sportowców uprawiających mieszane sztuki walki (Chmielowiec K. i in., 2021; Grzywacz A. i in., 2021; Humińska-Lisowska K. i in., 2022; Leźnicka K. i in., 2017; Michałowska-Sawczyn M. i in., 2019; Michałowska-Sawczyn M. i in., 2021; Niewczas M. i in., 2021).

Okazało się, że sportowcy uprawiający sztuki walki, u których stwierdzono genotyp G/G genu BDNF rs6265 mieli istotnie wyższe wyniki wymiaru osobowości Sumiennosc ocenianego NEO-FFI. Sportowcy uprawiający sztuki walki uzyskali istotnie wyższe wyniki w wymiarze Ekstrawersja i Sumiennosc oceniane NEO-FFI (Humińska-Lisowska K. i in., 2022).

Stwierdzono również, że sportowcy sztuk walki uzyskali istotnie wyższe wyniki w skali Samokontroli, jednocześnie uzyskując niższe wyniki w skalach Unikania szkód i Uzależnienia od nagrody. Odnotowano statystycznie istotny wpływ złożonego czynnika genotypu DRD2 rs1799732 na zależność od nagrody u sportowców i w grupie kontrolnej. Stwierdzono, że genotyp DRD2 rs1799732 był związany ze zdolnością do współpracy, zaobserwowano wyraźny związek między cechami osobowości a wariantami genetycznymi w obszarze genu receptora dopaminy DRD2 wśród sportowców MMA. Wykazano, że polimorfizm rs1799732 DRD2 może wiązać się ze zmniejszonym

unikaniem szkód u sportowców sztuk walki (wg koncepcji Cloningera jest to wymiar temperamentalny czyli wg inwentarza Cloningera uwarunkowany genetycznie, modulując w ten sposób predyspozycje sportowców do udziału w sporcie wysokiego ryzyka (Niewczas M. i in., 2021).

Wykazano również podczas badań interakcje między sztukami walki a DRD2 rs1799732 G/- (VIC/FAM) -ins/del i RD- Skala unikania szkód i zależności od nagrody. U sportowców niższy wynik w skali zależności od nagrody był związany z polimorfizmem DRD2 rs1799732 -/- w porównaniu z grupą kontrolną. W prezentowanych badaniach wykazano związek między polimorfizmem genu receptora dopaminy a cechami osobowości sportowców trenujących sporty walki (Chmielowiec K. i in., 2021).

Stwierdzono różnice w częstości polimorfizmu genu DRD2 Tag1B rs1079597 pomiędzy osobami uprawiającymi sporty walki a grupą kontrolną i DRD2 PROM rs1799732, DRD2 rs1076560, DRD2 Tag1D rs1800498, DRD2 Ex8 rs6276, DRD2 Tag1B rs1079597 i ANKK1 Tag1A rs1800497 oraz częstości występowania alleli w badanej próbie nie różniły się pomiędzy analizowanymi grupami. Stąd też uznano te polimorficzne miejsca za interesujący obszar do dalszych poszukiwań jednoznacznych związków między cechami osobowości a postawą wobec wysiłku fizycznego (Michałowska-Sawczyn M. i in., 2021).

Koncepcja typowania czynników epigenetycznych

DAT1 i metylacja

Dowody eksperymentalne i kliniczne wskazują, że zmiany sekwencji powyżej miejsca startu transkrypcji (TSS) wpływają na regulację transkrypcji DAT1 (Drgon T. i in., 2006). Promotorowi brakuje bloków „TATA” i „CAT” (te sekwencje DNA zapewniają miejsca dokowania dla podstawowego kompleksu transkrypcyjnego) (Martinat C. i in., 2006). Często inicjacja transkrypcji genów neuronalnych jest ułatwiona poprzez wiązanie rdzeniowej maszynery transkrypcyjnej z elementem CCAAT (Alberini C.M., 2009). Shumay (Shumay E. i in., 2010) wykrył kilka konsensusów CCAAT powyżej i poniżej DAT1 TSS, co sugeruje, że DAT1 może być jednym z nich. Ludzkie geny, które mają promotory CCAAT wykazują kilka wspólnych cech – generalnie są mniej precyzyjne pod względem TSS niż geny z promotorami TATA i w większości pokrywają się z CpG wyspy. Inicjacja transkrypcji z CCAAT obejmuje element NF-Y cechy histonowe i szczególnie podzbiór czynników transkrypcyjnych (Dolfini D. i in., 2009). Złożona struktura ludzkich promotorów genów z szeregiem alternatywnych miejsc startu transkryptu (TSS) (Finotti A. i in., 2008) wspiera zróżnicowane czasowo i przestrzennie wzorce ekspresji genów i zapewnia dodatkowy poziom regulacji genów poprzez modulację efektywności translacji (Carninci P. i in., 2006). Około

jedna piąta ludzkich genów ma alternatywne promotory. Zjawisko to występuje najczęściej w genach związanych z mózgiem (Schulz R. i in., 2008).

Kolejną analizą było badanie poziomu metylacji DNA w rejonie promotora genu DAT1. Okazało się, że w niektórych miejscach z 33 miejsc CpG zlokalizowanych w regionie promotorowym genu DAT1 u osób uzależnionych od kanabinoli hipermetylację, a w niektórych hipometylację. Ponadto ocena zdolności czynników transkrypcyjnych do wiązania wskazanych miejsc ujawniła znaczną liczbę tych regulatorów ekspresji genów. Trzy z analizowanych okolic oceniono jako miejsca możliwego przyłączania czynnika transkrypcji PAX5 (pozycje 3, 22, i 33), wszystkie były hipermetylowane u osób uzależnionych od kanabinoli. PAX5 jest czynnikiem transkrypcji związanym z licznymi procesami w tym z rozwojem układu nerwowego. Analiza poszczególnych miejsc CpG, w których nastąpiła metylacja, wykazała istotne różnice. Wiadomo, że miejsca te są wiązane przez czynniki transkrypcyjne (np. SP1, p53, PAX5 lub GR), które oprócz innych funkcji, jak wykazano, odgrywają rolę w rozwoju układu nerwowego. Dlatego badania metylacji promotora genu DAT1 mogą dostarczyć ważnego wglądu w mechanizm uzależnienia od kanabinoli. Dodatkowo zdolność wiązania transkrypcji ujawniła, że wyspa CpG obejmuje sekwencję, która może być związana przez związany z ligandem GR (pozycja 6). Jak wykazano, było to miejsce, które wykazało znaczącą różnicę w statusie metylacji po korekcie Bonferroniego. Może to mieć istotne znaczenie, ponieważ glukokortykoidy pośredniczą w funkcjonowaniu układu nerwowego w uzależnieniu od substancji. Przed tym badaniem nie opisano w publikacjach badań dotyczących statusu metylacji DAT1 w kontekście uzależnienia od kanabinoli (Grzywacz A. i in., 2020).

Zaobserwowano również, że poziom ogólnej metylacji wyspy CpG był podobny dla obu grup u sportowców i w grupie kontrolnej. Dalsza eksploracja poszczególnych miejsc CpG pozwoliła zauważyć istotne różnice w statusie metylacji w poszczególnych pozycjach. Nie było jednak reguły, która wskazywałaby na wyższą lub niższą metylację poszczególnych miejsc, cztery z nich były metylowane na wyższym poziomie (pozycje 1, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 23, 25, 26, 27, 29 i 30), podczas gdy jeden wykazywał trend odwrotny (pozycja 3). Dokładniejsza analiza z wykorzystaniem poprawki Bonferroniego dla wielu testów wykazała, że różnice w metylacji miejsca CpG były głównie zwiększone w kilku pozycjach i zmniejszone w pozycji 3 (Michałowska-Sawczyn M. i in., 2021).

W kolejnym badaniu zaobserwowano istnienie statystycznie istotnej korelacji dla wszystkich badanych aspektów osobowości i metylacji wysp CpG. U sportowców uprawiających sporty walki obserwowano istotne interakcje pomiędzy metylacją wyspy 3 DAT1 PAX5, CpG i niższymi wynikami skali Otwartość (NEO-FFI) w DAT1 PAX5, CpG wyspie 13 obserwowano istotne interakcje pomiędzy metylacją a podwyższonymi wynikami w skali Neurotyzmu (NEO-FFI). Jednak

w DAT1 PAX5 wyspa CpG 22 zauważono istotną interakcję pomiędzy niedoborem metylacji u sportowców sztuk walki a niższymi wynikami w skali Neurotyzmu (NEO-FFI). W DAT1 PAX5 wyspa CpG 22 zauważono istotną interakcję pomiędzy niedoborem metylacji u sportowców sztuk walki i wyższymi wynikami skali Otwartości (NEO-FFI). Natomiast odwrotną interakcję zaobserwowano w przypadku metylacji – u sportowców sztuk walki obserwowano niższe wyniki w skali Otwartości (NEO-FFI). W DAT1 PAX5 wyspa CpG 22 zauważono istotną interakcję pomiędzy niedoborem metylacji u sportowców sztuk walki i wyższymi wynikami skali Ugodowość (NEO-FFI). Natomiast odwrotną interakcję zaobserwowano w przypadku metylacji – u sportowców sztuk walki obserwowano niższe wyniki w skali Ugodowość (NEO-FFI). Chociaż wpływ metylacji genów na ekspresję genów jest złożony, metylacja genów jest ogólnie postrzegana jako „wyciszający” znak epigenetyczny.

Analizując uwarunkowania genetyczne czy uwarunkowania w sporcie, ważne jest również uwzględnienie czynników związanych z funkcjonowaniem ludzkiego mózgu. Poszczególne cechy osobowości mogą różnić się w zakresie wrażliwości czynników metylacji (Grzywacz A. i in., 2021).

Koncepcja badania czynników psychologicznych

Badania wrodzonych cech psychologicznych u sportowców sztuk walki sugerują niższą wrażliwość i wyższą odporność centralnego układu nerwowego w porównaniu z osobami niebędącymi sportowcami (Leżnicka K. i in., 2017). **Zawodnicy mniej wrażliwi sensorycznie lepiej radzą sobie z napięciem, brakiem komfortu, presji czasu i dyskomfortu fizycznego.** Kontrola pobudzenia emocjonalnego przyczynia się do kontroli emocji i zarządzania energią w celu uzyskania maksymalnych efektów, szczególnie w sytuacjach dużego stresu podczas rywalizacji sportowej. Sportowcy ćwiczący sporty indywidualne są bardziej introwertyczni w porównaniu z zawodnikami uprawiającymi sporty zespołowe (Bäckmand H. i in., 2001). Ewentualny niepokój zawodnika wiąże się z ciągłym wzrostem poziomu sprawności fizycznej i utrzymaniem efektywnego napięcia mięśni, ale także z trudnościami z koordynacją i zaburzeniami koncentracji, szczególnie gdy sportowiec zaobserwuje brak kontroli w konkretnej sytuacji. Metaanaliza opisująca problem różnorodności osobowości w różnych grupach wiekowych sportowców i nie-sportowców wskazuje na wyższy poziom Ekstrawersji i niższy poziom Neurotyzmu wśród sportowców w porównaniu z populacją ogólną (Fisher A.C. i in., 2003). Większość badań pokazuje, że indywidualna skuteczność zawodników jest dodatnio skorelowana z Ekstrawersją i negatywnie z Neurotyzmem (Baanac L.J. i in., 2001; Lemieux P. i in., 2002; McKelvie S.J. i in., 2003). Poprzednie doniesienia dotyczące cech temperamentu sportowców, są również bardzo interesujące. Zaobserwowano znaczące zmiany w inwentarzu temperamentu i charakteru (TCI) autorstwa Cloningera i powiązania między

impulsywnością, porywczością i poszukiwaniem nowości (NS) (Cloninger C.R., 1999; O'Sullivan D. i in., 1998). Han w przeprowadzonym badaniu zaobserwował predykcyjną rolę wytrwałości w zakresie możliwości wygranej (Han D.H. i in., 2006). Cloninger w swoim raporcie (1986) zaobserwował, że jednostki o wyższej wytrwałości są bardziej predysponowane do ciągłego wykonywania zadań bez natychmiastowej nagrody lub wzmocnienia (Cloninger C.R., 1986). Badania przeprowadzone przez Hollisa (Hollis S.J. i in., 2009) podkreślają indywidualne cechy osobowości – może to modulować podatność na urazy sportowe. Autorzy zauważyli, że gracze rugby ze zwiększonym ryzykiem wstrząsu mózgu osiągają wyższe wyniki w zakresie impulsywności. Zarówno impulsywność, jak i agresję wiązano z występowaniem wstrząśnięć mózgu w tej samej grupie sportowców (Goswami R. i in., 2016). Prawdopodobne jest, że związki pomiędzy genetycznie uwarunkowanym temperamentem a uwarunkowanym środowiskowo charakterem silnie moduluje wolę uczestnictwa i kontynuowanie treningów sportowych, a także modyfikuje tolerancję na duży wysiłek, który w efekcie może mieć wpływ na osiągnięcie sukcesu w tym obszarze (Michałowska-Sawczyn M. i in., 2019). Cztery czynniki – mianowicie unikanie szkody (HA), poszukiwanie nowości (NS), zależność od nagrody (RD) i wytrwałość – reprezentują charakter temperamentu danej osoby, który nie jest genetycznie uwarunkowany sam w sobie, ale jest umiarkowanie dziedziczny i stabilny w czasie (Cloninger C.R. i in., 1991). Cechy osobowości związane z silną wolą poszukiwania nowości (NS) lub skłonnością do tego oraz podejmowanie ryzykownych zachowań były wcześniej skorelowane z wariantami genetycznymi w obszarze genów kodujących receptory dopaminy. Dopamina jest jednym z głównych neuroprzekaźników w ramach systemu podejścia behawioralnego (DeYoung C., 2014) zaangażowanego w regulację systemów mózgowych kontroluje poznawcze i emocjonalne procesy decyzyjne, które leżą u podstaw obu ekstrawersji i neurotyzmu (Wacker J. i Smillie L.T., 2015). Podtypy receptorów dopaminy D2 i D4 biorą udział w neurotransmisji i mogą modulować pamięć, zachowanie i funkcje wykonawcze. Badania potwierdzają tę zmienność w genach regulujących pracę mózgu dopaminergicznego, a system moduluje różnice w przetwarzaniu w prążkowie, obszarach kory przedczołowej i układzie limbicznym, które są centralnie zaangażowane w podejmowanie decyzji, uczenie się przez wzmacnianie i ocenę ryzyka (Schultz W., 2007; Smillie L. i Wacker J., 2014).

Koncepcja zmiany nagrody w mózgu

Popularny termin uzależnienie wchodzi w zakres słownictwa każdego człowieka. Często możemy usłyszeć: „myślę, że jestem od tego beznadziejnie uzależniony”. Terminu tego używamy potocznie i w kontekście nienaukowym. A co z ludźmi, którzy dużo piją i tracą swoje prawdziwe „ja” określani są częstokroć mianem „pijaków”? Palących nałogowo marihuanę określa się jako potheads, a

zażywających nielegalne narkotyki – takie jak heroina nazywa się „narkomanami”, „ćpunami”. Te pejoratywne wyrażenia wskazują, że biorący narkotyki to „nie jedni z nas”, że problem z narkotykami to ich własny błąd i że powinni być za to karani. Tacy ludzie są „źli”, „szaleni” albo „głupi” i aby przestać stosować narkotyki muszą stać się po prostu „dobrzy”, „zdrowi” albo „wyedukowani”. Jednak czy taka przemiana jest prosta i w ogóle możliwa? Czy główną rolę odgrywają tutaj czynniki biologiczne, genetyczne, środowisko a może po prostu chęć znalezienia ulgi i przyjemności. Czy uzależnienie jest grzechem czy chorobą mózgu, emocji, duszy? Co się kryje za narkomanem który wciąż jeszcze cierpi? Haplotypy, genotypy, zmiany poziomu metylacji w rejonie promotora DAT 1 czy po prostu ból duszy nie związany z czynnikami genetycznymi? Tego ciągle nie wiemy. Faktem jest natomiast to, że tysiące ludzi cierpi, wychodząc z nałogu i tkwiąc w nim jednocześnie. Wiemy o uzależnieniach ciągle za mało, aby skutecznie pomagać pacjentom. Dlatego właśnie podjęliśmy się takiego badania.

Leczenie wysiłkiem fizycznym depresji

Do tej pory nie do końca wiadomo czy wymienione wyżej cechy depresji są jej objawami, czy raczej skutkami. Pewne jest natomiast, że jedno z nich napędzają powstawanie kolejnych. Spadek aktywności i brak chęci do działania powoduje upośledzenie życia społecznego, co z kolei może obniżać nastrój chorego i niekorzystnie wpływać na jego ogólne samopoczucie. Ze względu na tak dużą ilość objawów i skutków leczenie depresji jest złożone i może wymagać współpracy kilku specjalistów: psychologa, psychiatry i neurologa. Farmakoterapia okazuje się nie być jedynym wskazanym środkiem – powinna iść w parze z psychoterapią. Niekiedy stosowana jest fototerapia, zwłaszcza w przypadku tzw. depresji sezonowej (zimowej), kiedy człowiek doświadcza niedoboru światła. W ostatnich latach popularne stało się łączenie farmako- i psychoterapii z ćwiczeniami fizycznymi. Okazuje się, że lekki wysiłek fizyczny może być skuteczną metodą leczenia depresji. Nie oznacza to jednak, że można „odpuścić sobie” stosowanie leków – ćwiczenia mają stanowić dodatek do podstawowej terapii.

Dlaczego trening jest skuteczny?

Osoby chorujące na depresję charakteryzuje obniżony nastrój, złe samopoczucie i często niemożność odczuwania radości z życia. Hormonami, które pozytywnie wpływają na samopoczucie i nastrój jednostki są endorfiny. **Wysiłek fizyczny wywołuje wydzielanie przez mózg endorfin, które jako agoniści receptorów opioidowych mają zdolność do uśmierzania bólu i wprowadzania w „błogostan”.** Ważne jest jednak, żeby z treningiem „nie przesadzić” – badania wykazały bowiem, że duży i długotrwały wysiłek nie wpływa korzystnie na pacjenta – nie odczuwa on zmiany, bądź wręcz czuje się gorzej.

To jednak nie wszystko. Aktywność fizyczna wpływa nie tylko na wydzielanie tzw. hormonów szczęścia, ale także na ilość niektórych neurotransmiterów. Jednym z neuroprzekaźników reagujących na wysiłek jest serotonina, czyli substancja odpowiedzialna za ogólne zadowolenie i dobre samopoczucie, a także apetyt i koncentrację. Ludzie chorzy na depresję mają obniżony poziom serotoniny, co powoduje u nich gorszy humor oraz problemy ze snem i dekoncentrację. Systematyczny i lekki wysiłek fizyczny mogą skutecznie zapobiec spadkowi poziomu serotoniny – zatem trening nie tylko „leczy”, ale też jest efektywnym środkiem prewencji zaburzeń nastroju. Stosunkowo niedawno odkrytą funkcją serotoniny jest poprawa jakości komunikacji międzyneuronalnej. Doktor Scott Thompson mówi: *„Zasadniczo efekty jej interwencji można porównać do głośniejszego mówienia na przyjęciu; neuroprzekaźnik daje gwarancję, że kluczowe konwersacje neuronalne zostaną usłyszane”*. Jego zespół przeprowadził serię eksperymentów na myszach wprowadzając stresujące sytuacje, przez co znacznie obniżyła się ich aktywność. Zwierzęta przestały interesować się rzeczami, które wcześniej sprawiały im przyjemność (np. słodzona woda). Badacze następnie przyglądali się zmianom, które zaszły w komórkach zwierząt na skutek manipulacji eksperymentalnej i pomimo że nie odnotowano spadku poziomu serotoniny w odpowiedzi na stres zauważono, że neurony inaczej na nią reagują. W efekcie – w przebiegu depresji serotonina nie spełniła swojej funkcji.

Drugą substancją, której stężenie w organizmie ulega zmianie podczas wysiłku fizycznego jest GABA, czyli główny neuroprzekaźnik o działaniu hamującym. U osób borykających się z depresją występuje niedobór tego neurotransmitera, co prowadzi do pojawiania się stanów lękowych i trudności z zasypianiem. Zaburzenia funkcjonowania układu GABA-ergicznego można stwierdzić m.in. dzięki analizie płynu mózgowo-rdzeniowego. Badania sprzed kilku lat wykazały znaczny wzrost ilości GABA niedługo po zakończeniu treningu, a także jego stabilny poziom na przestrzeni lat u osób, które regularnie ćwiczyły. O kojącym i przeciwlękowym działaniu GABA świadczą wyniki badań z 2013 roku. Eksperymentatorzy ponownie pod lupę wzięli myszy: tym razem jedna grupa miała dostęp do kołowrotka, a druga nie. Po 6 tygodniach badacze wystawili przedstawicieli obu grup na działanie zimnej wody. W mózgach aktywnych gryzoni (głównie w części hipokampa odpowiedzialnej za powstawanie strachu) wzrastała się aktywność układu GABA-ergicznego. Dodatkowo wzrostowi stężenia GABA towarzyszył wzrost poziomu transporterów pęcherzyków synaptycznych dla glutaminianu (Abe Y. i in., 2023).

Leczenie uzależnień sportem

Częste spożywanie dużej ilości alkoholu i uprawianie regularnej aktywności fizycznej nie jest z sobą kompatybilne, bowiem spożywany w dużej mierze wpływa na organizm, wydajność fizyczną i

samopoczucie powodując odwodnienie, problemy żołądkowe, wolniejsze krążenie krwi, słabą koordynację ruchową, uczucie przemęczenia oraz ogólny brak energii.

Alkohol prowadzi do wazodylatacji, czyli do rozkurczu mięśni gładkich w ścianie naczyń krwionośnych. Powoduje to poszerzenie światła naczyń i spadek ciśnienia krwi. To z kolei może prowadzić do zmian normalnego poziomu tętna. Wolniejsze krążenie krwi oznacza gorszą wydajność ćwiczącego podczas treningu (Ryszkowski A. i in., 2015; Jankowski M.M. i in., 2013). Ponadto długotrwałe spożywanie alkoholu uszkadza układ nerwowy i pozbawia osoby uzależnione zdolności kontrolowania swoich odruchów oraz koncentracji, co skutkuje zmniejszoną aktywnością fizyczną. Osłabiona koordynacja ruchowa i niewystarczająca zdolność koncentracji mają wpływ, nawet na bardzo niskim poziomie aktywności ruchowej, na niższą wydajność, wzmożony wysiłek, a nawet duże ryzyko kontuzji lub urazu. Uszkodzenie nerwów natomiast może powodować drętwienie, drżenie kończyn oraz utratę kontroli nad poszczególnymi częściami ciała. U osób z zespołem uzależnienia od alkoholu dochodzi w ostatecznym przypadku do całkowitej utraty zdolności koordynacyjnych. Stan ten związany jest z wpływem alkoholu na neuroprzebieżnik GABA, który działa hamująco na komórki mózgu. Alkohol nasila te właściwości przebieżnika, co prowadzi do niezręczności i spowolnienia odruchów (Frąckowiak M. i in., 2015; Jankowski M.M. i in., 2013).

Uczucie przemęczenia oraz zmniejszona ilość energii mogą być wynikiem odwodnienia, ale jest drugi równie istotny czynnik, tj. alkohol działa bardzo depresyjnie. Uczucie smutku, zmęczenia, przygnębienia i braku zadowolenia pojawia się często po wypiciu zbyt dużej ilości alkoholu. Organizm następnego dnia po spożywaniu alkoholu zwalcza stresory nim wywołane, pochłaniając część energii. Kiedy dochodzą do tego pozostałe czynniki, takie jak problemy z żołądkiem, odwodnienie czy całkowity brak koncentracji, podjęcie aktywności ruchowej staje się bardzo utrudnione, a czasem nawet niemożliwe (Ryszkowski A. i in., 2015; Jankowski M.M. i in., 2013).

Jednakże są osoby uzależnione od alkoholu, które preferują zdrowy i aktywny pod względem fizycznym tryb życia. Uprawianie sportu daje w niektórych przypadkach siłę i determinację, aby wytrwać w abstynencji oraz móc czerpać zadowolenie z życia.

W trakcie leczenia zespołu uzależnienia od alkoholu aktywność fizyczna może być czynnikiem wspomagającym efektywną terapię. U pacjentów często borykających się z depresją znakomite efekty w jej pozbyciu się i zapobieganiu przynosi właśnie aktywność ruchowa. Uprawianie wszelakich sportów nie tylko posiada pozytywny wpływ na ciało, czy sylwetkę, ale również w dużym stopniu na umysł, jakość życia i sposób postrzegania świata. Poza tym ma jeszcze dobroczynne działanie na kształtowanie pewności siebie, pozytywnego systemu wartości i poczucia mistrzostwa, których to zazwyczaj alkoholikom zdecydowanie brakuje (Paluska S.A. i Schwenk T.L., 2000). Dzięki aktywności fizycznej poprawia się przekaz impulsów między komórkami nerwowymi,

wzrasta wydzielanie endorfin oraz serotoniny. Sporty grupowe mają dodatkowo to do siebie, że poprawiają zdecydowanie nastrój i kontakty międzyludzkie wśród ćwiczących, co z kolei stanowi społeczny czynnik wsparcia w walce z uzależnieniem.

Według naukowców Paluska i Schwenk najskuteczniejsze ćwiczenia wspomagające leczenie depresji, a co za tym idzie choroby alkoholowej, stanowią: stretching, ćwiczenia rozciągające i aerobowe. W przeciwieństwie do innych ćwiczeń w tym przypadku nie ma znaczenia wielkość i intensywność wysiłku, która by tylko negatywnie działała na obciążenie układu sercowo-naczyniowego, ale sam fakt podjęcia nawet najmniejszej aktywności ruchowej w celu dążenia do poprawy jakości życia. Dużą uwagę również dla skuteczności ćwiczeń trzeba przywiązywać do systematyczności.

Podsumowując sport jako czynnik profilaktyczny ma duży wpływ na poprawę stanu chorego. W przypadku zdiagnozowania specjalistycznego choroby, psychoterapia z równoczesnym podejmowaniem aktywności fizycznej oraz w razie konieczności z dodatkową farmakologią, przynoszą najefektywniejsze osiągnięcia w procesie leczenia (Paluska S.A. i Schwenk T.L., 2000).

Z kolei według danych zaczerpniętych z badań amerykańskich w Nowej Zelandii spożycie alkoholu przez sportowców jest o wiele większe niż u nietrenujących ich rówieśników. Na występowanie takiej sytuacji zapewne składa się bardzo ciężka praca przed ważnymi wydarzeniami, powiązane z tym napięcie emocjonalne, stres oraz późniejsza chęć uczczenia zwycięstwa lub poradzenia sobie z poniesioną porażką przez sportowców (O'Brien K.S. i in., 2005; Garry J.P. i Morrissey S.I., 2000). Dla niektórych osób alkohol staje się „środkiem pomocniczym” w przełamywaniu granic, zwłaszcza psychicznych, podczas podejmowania różnych form aktywności fizycznej. Takie zachowanie może powodować wypadki oraz poważne konsekwencje zdrowotne, jak to ma miejsce w przypadku np. nurkowania czy wspinania.

Podsumowanie

Chociaż wpływ metylacji na ekspresję genów jest złożony, metylacja jest ogólnie postrzegana jako „wyciszający” znak epigenetyczny. Podczas analizy genetycznej uwarunkowania lub skojarzenia w sporcie, ważne jest również, aby wziąć pod uwagę czynniki związane z funkcjonowaniem mózgu człowieka. Indywidualne cechy osobowości mogą różnić się w obszarze wrażliwości czynników metylacyjnych. Jednakże badana grupa i liczba testowanych wysp promotorowych w genie *DAT1* jest wciąż zbyt mała, aby można ją było jednoznacznie określić, dlatego wymaga dalszej analizy.

Badania behawioralne cech osobowości i ich interakcji z czynnikami biologicznymi, jak genetyka osobowości, stanowią nowy, obiecujący obszar badań. Włączenie do analiz cech osobowości oraz wprowadzenie ich do opracowań statystycznych związanych z dziedziczeniem mogłoby przyczynić się do lepszego zrozumienia sportu, motywacji i zachowań ludzkich.

Bibliografia

- Abe, Y.; Yagishita, S.; Sano, H.; Sugiura, Y.; Dantsuji, M.; Suzuki, T.; Mochizuki, A.; Yoshimaru, D.; Hata, J.; Matsumoto, M.; Taira, S.; Takeuchi, H.; Okano, H.; Ohno, N.; Suematsu, M.; Inoue, T.; Nambu, A.; Watanabe, M.; Tanaka, K.F. Shared GABA transmission pathology in dopamine agonist- and antagonist-induced dyskinesia. *Cell Reports Medicine* 2023, 101208. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2023.101208>
- Abidin, S.Z.; Tan, E.L.; Chan, S.C.; Jaafar, A.; Lee, A.X.; Hamid, M.H.N.A.; Murad, N.A.A.; Razy, N.F.P.; Azmin, S.; Annuar, A.A.; et al. DRD and GRIN2B polymorphisms and their association with the development of impulse control behavior among Malaysian Parkinson's disease patients. *BMC Neurol.* 2015, 15, 59.
- Alberini, C.M. Transcription Factors in Long-Term Memory and Synaptic Plasticity. *Physiol. Rev.* 2009, 89, 121–145.
- Baanac, L.J. The psychological profile of Yugoslav boxers. *Facta. Univ. Ser. Phys. Educ. Sport* 2001, 1, 13–24.
- Bäckmand, H.; Kaprio, J.; Kujala, U.; Sarna, S. Personality and mood of former elite male athletes-a descriptive study. *Int. J. Sports Med.* 2001, 22, 215–221.
- Belsky, J.; Jonassaint, C.; Pluess, M.; Stanton, M.; Brummett, B.; Williams, R. Vulnerability genes or plasticity genes? *Mol. Psychiatry* 2009, 14, 746.
- Blanco, N.J.; Love, B.C.; Cooper, J.A.; McGeary, J.E.; Knopik, V.S.; Maddox, W.T. A Frontal Dopamine System for Reflective Exploratory Behavior. *Neurobiol Learn Mem* 2015, 123, 84–91, doi:10.1016/J.NLM.2015.05.004.
- Carninci, P.; Sandelin, A.; Lenhard, B.; Katayama, S.; Shimokawa, K.; Ponjavic, J.; Semple, C.; Taylor, M.; Engström, P.; Frith, M.; et al. Genome-wide analysis of mammalian promoter architecture and evolution. *Nat. Genet.* 2006, 38, 626–635.
- Chang, F.M.; Kidd, J.R.; Livak, K.J.; Pakstis, A.J.; Kidd, K.K. The world-wide distribution of allele frequencies at the human dopamine D4 receptor locus. *Hum. Genet.* 1996, 98, 91–101.
- Cherepkova, E.V.; Maksimov, V.N.; Kushnarev, A.P.; Shakhmatov, I.I.; Aftanas, L.I. The polymorphism of dopamine receptor D4 (DRD4) and dopamine transporter (DAT) genes in the men with antisocial behaviour and mixed martial arts fighters. *World J. Biol. Psychiatry* 2017, 20, 1–14.
- Chmielowiec, J.; Chmielowiec, K.; Masiak, J.; Śmiarowska, M.; Strońska-Pluta, A.; Dziedziejko, V.; Grzywacz, A.; Association between Polymorphism rs1799732 of DRD2 Dopamine Receptor Gene and Personality Traits among Cannabis Dependency. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2022, 19(17), 10915.
- Chmielowiec, K.; Chmielowiec, J.; Masiak, J.; Czekaj, M.; Krawczyk, P.; Soroka, E.; Śmiarowska, M.; Musiał, W.; Pawłowski, T.; Grzywacz, A. DRD4 exon 3 gene polymorphisms in patients diagnosed with polysubstance use disorder and co-occurrence of a depressive episode. *Genes* 2021, vol. 12 nr 11 [art. nr] 1834.

- Chmielowiec, K.; Michałowska-Sawczyn, M.; Masiak, J.; Chmielowiec, J.; Trybek, G.; Niewczas, M.; Grzywacz, A. Analysis of DRD2 Gene Polymorphism in the Context of Personality Traits in a Group of Athletes. *Genes* 2021, 12(8), 1219.
- Cloninger, C.R. A systematic method for clinical description and classification of personality variants. *Arch. Gen. Psychiatry* 1986, 44, 573–588.
- Cloninger RC. The temperament and character inventory (TCI) : A guide to its development and use; center for psychobiology of personality. Washington University; 1994.
- Cloninger, C.R. The Temperament and Character Inventory – Revised, 240-Item version (TCI-240); Center for Psychobiology of Personality, Washington University: St. Louis, MO, USA, 1999.
- Cloninger, C.R.; Przybeck, T.R.; Svrakic, D.M. The tridimensional personality questionnaire: U.S. normative data. *Psychol. Rep.* 1991, 69 Pt 1, 1047–1057.
- Cloninger, C.R.; Svrakic, D.M.; Przybeck, T.R. A Psychobiological Model of Temperament and Character. *Arch Gen Psychiatry* 1993, 50, 975–990. DOI: 10.1001/arch-psyc.1993.01820240059008
- Congdon, E.; Lesch, K.P.; Canli, T. Analysis of DRD4 and DAT polymorphisms and behavioral inhibition in healthy adults: Implications for impulsivity. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 2008, 147, 27–32.
- Costa, P.T.; McCrae, R.R. The Revised NEO Personality Inventory (NEO-PI-R). In *The SAGE Handbook of Personality Theory and Assessment: Volume 2—Personality Measurement and Testing*; Sage: Newcastle, UK, 2008; pp. 179–198.
- DeYoung, C. Cybernetic big five theory. *J. Res. Personal.* 2014, 56, 33–58.
- Dolfini, D.; Mantovani, R.; Zambelli, F.; Pavesi, G. A perspective of promoter architecture from the CCAAT box. *Cell Cycle* 2009, 8, 4127–4137.
- Dreber, A.; Apicella, C.L.; Eisenberg, D.T.; Garcia, J.R.; Zamore, R.S.; Lum, J.K.; Campbell, B. The 7R polymorphism in the dopamine receptor D4 gene (DRD4) is associated with financial risk taking in men. *Evol. Hum. Behav.* 2009, 30, 85–92.
- Drgon, T.; Lin, Z.; Wang, G.-J.; Fowler, J.; Pablo, J.; Mash, D.C.; Volkow, N.; Uhl, G.R. Common Human 50 Dopamine Transporter (SLC6A3) Haplotypes Yield Varying Expression Levels In Vivo. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2006, 26, 873–887.
- Faraone, S.V.; Doyle, A.E.; Mick, E.; Biederman, J. Meta-analysis of the association between the 7-repeat allele of the dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Am. J. Psychiatr.* 2001, 158, 1052–1057.
- Finotti, A.; Treves, S.; Zorzato, F.; Gambari, R.; Feriotto, G. Upstream stimulatory factors are involved in the P1 promoter directed transcription of the A beta H-J-J locus. *BMC Mol. Biol.* 2008, 9, 110.
- Fischer, R.; Lee, A.; Verzijden, M.N. Dopamine genes are linked to Extraversion and Neuroticism personality traits, but only in demanding climates. *Sci. Rep.* 2018, 8, 1733.

- Fisher, A.C.; Horsfall, J.S.; Morris, H.H. Sport personality assessment: A methodological re-examination. *Int. J. Sport Psychol.* 2003, 8, 92–102.
- Frąckowiak, M.; Motyka, M. Zespół zależności alkoholowej: charakterystyka, fazy rozwoju, metody diagnozowania. *Probl Hig Epidemiol* 2015, 96(2):315-320.
- Freels, T.G.; Gabriel, D.B.K.; Lester, D.B.; Simon, N.W. Risky decision-making predicts dopamine release dynamics in nucleus accumbens shell. *Neuropsychopharmacology* 2020, 45, 266–275.
- Garry, J.P.; Morrissey, S.I. Team sports participation and risk-taking behaviours among a biracial middle school population. *Clinical Journal of Sports Medicine* 2000, 10:185–190.
- Goswami, R.; Dufort, P.; Tartaglia, M.C.; Green, R.E.; Crawley, A.; Tator, C.H.; Wennberg, R.; Mikulis, D.J.; Keightley, M.; Davis, K.D. Frontotemporal correlates of impulsivity and machine learning in retired professional athletes with a history of multiple concussions. *Brain Struct. Funct.* 2016, 221, 1911–1925.
- Grady, D.L.; Thanos, P.K.; Corrada, M.M.; Barnett, J.C., Jr.; Ciobanu, V.; Shustarov, D.; Napoli, A.; Moyzis, A.G.; Grandy, D.; Rubinstein, M.; et al. DRD4 genotype predicts longevity in mouse and human. *J. Neurosci.* 2013, 33, 286–291.
- Grzywacz, A.; Barczak, W.; Chmielowiec, J.; Chmielowiec, K.; Suchanecka, A.; Trybek, G.; Masiak, J.; Jagielski, P.; Grochowski, K.; Rubiś, B. Contribution of dopamine transporter gene methylation status to cannabis dependency. *Brain Sci.* 2020 vol. 10 nr 6 [art. nr] 400, s. 1-11.
- Grzywacz, A.; Chmielowiec, J.; Chmielowiec, K.; Mroczek, B.; Masiak, J.; Suchanecka, A.; Sipak-Szmigiel, O.; Szumilas, K.; Trybek, G. The ankyrin repeat and kinase domain containing 1 gene polymorphism (ANKK1 Taq1A) and personality traits in addicted subjects. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2019, vol. 16 nr 15 [art. nr] 2687, s. 1-13.
- Grzywacz, A.; Chmielowiec, K.; Boroń, A.; Michałowska-Sawczyn, M.; Chmielowiec, J.; Trybek, G.; Masiak, J. Influence of DAT1 Promotor Methylation on Sports Performance. *Genes* 2021, 12(9), 1425.
- Guo, S.; Iqbal, S.; Ma, R.; Song, J.; Yu, M.; Gao, Z. High-density genetic map construction and quantitative trait loci analysis of the stony hard phenotype in peach based on restriction-site associated DNA sequencing. *BMC Genom.* 2018, 19, 612.
- Han, D.H.; Kim, J.H.; Lee, Y.S.; Bae, S.J.; Kim, H.J.; Sim, M.Y.; Sung, Y.H.; Lyoo, I.K. Influence of temperament and anxiety on athletic performance. *J. Sports Sci. Med.* 2006, 5, 381–389.
- Hollis, S.J.; Stevenson, M.R.; McIntosh, A.S.; Arthur Shores, E.; Collins, W.M.; Taylor, C.B. Incidence, risk, and protective factors of mild traumatic brain injury in a cohort of Australian nonprofessional male rugby players. *Am. J. Sports Med.* 2009, 37, 2328–2333.
- Hranilovic, D.; Bucan, M.; Wang, Y. Emotional response in dopamine D2L receptor-deficient mice. *Behav. Brain Res.* 2008, 195, 246–250.
- Humińska-Lisowska, K.; Chmielowiec, J.; Chmielowiec, K.; Niewczas, M.; Lachowicz, M.; Cieszczyk, P.; Masiak, J.; Strońska-Pluta, A.; Michałowska-Sawczyn, M.; Maculewicz, E.; Grzywacz, A. Associations of Brain-Derived Neurotrophic Factor rs6265 Gene Polymorphism with

Personality Dimensions among Athletes. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2022, 19(15), 9732.

Jacob, Y.; Spiteri, T.; Hart, N.H.; Anderton, R.S. The Potential Role of Genetic Markers in Talent Identification and Athlete Assessment in Elite Sport. *Sports* 2018, 6, 88.

Jaekel, A.; Lill, P.; Whitelam, S.; Saccà, B. Insights into the Structure and Energy of DNA Nanoassemblies. *Molecules* 2020, 25, 5466.

Jankowski, M.M.; Ignatowska-Jankowska, B.; Kumański, K.; Witek, B.; Świergiel, A.H. Wpływ alkoholu na układ odpornościowy – przegląd badań. *Alkoholizm i Narkomania* 2013, 26(1):37-53.

Jasiewicz, A.; Rubiś, B.; Samochowiec, J.; Małecka, I.; Suchanecka, A.; Jabłoński, M.; Grzywacz, A. DAT1 Methylation Changes in Alcohol-Dependent Individuals vs. Controls. *J. Psychiatr. Res.* 2015, 64, 130–133.

Kitazawa, H.; Hasegawa, K.; Aruga, D.; Tanaka, M. Potential Genetic Contributions of the Central Nervous System to a Predisposition to Elite Athletic Traits: State-of-the-Art and Future Perspectives. *Genes* 2021, 12, 371.

Kluger, A.N.; Siegfried, Z.; Ebstein, R.P. A meta-analysis of the association between DRD4 polymorphism and novelty seeking. *Mol. Psychiatry* 2002, 7, 712.

Lammel, S.; Lim, B.K.; Malenka, R.C. Reward and aversion in a heterogeneous midbrain dopamine system. *Neuropharmacology* 2014, 76, 351–359.

Lecrubier, Y.; Sheehan, D.V.; Weiller, E.; Amorim, P.; Bonora, I.; Sheehan, K.H.; Janavs, J.; Dunbar, G.C. Mini International Neuropsychiatric Interview. APA PsycTests. 1997. Available online: <https://psycnet.apa.org/doiLanding?doi=10.1037/t18597-000> (accessed on 6 January 2024).

Lemieux, P.; McKelvie, S.J.; Stout, D. Self-reported hostile aggression in contact athletes, no contact athletes and non-athletes. *Athl. Insight* 2002, 4, 42–56.

Leżnicka, K.; Starkowska, A.; Tomczak, M.; Ciąższczyk, P.; Białecka, M.; Ligocka, M.; Żmijewski, P.; Pawlak, M. Temperament as a modulating factor of pain sensitivity in combat sport athletes. *Physiol. Behav.* 2017, 180, 131–136.

Li, D.; Sham, P.C.; Owen, M.J.; He, L. Meta-analysis shows significant association between dopamine system genes and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Hum. Mol. Genet.* 2006, 15, 2276–2284.

MacKillop, J.; Menges, D.P.; McGeary, J.E.; Lisman, L.A. Effects of craving and DRD4 VNTR genotype on the relative value of alcohol: An initial human laboratory study. *Behav. Brain Funct.* 2007, 3, 11.

Magalon, D.; Parola, N.; Habrat, B.; Pomianowski, R.; Woronowicz, B. Diagnoza i terapia patologicznego hazardu. Ogólnopolska konferencja szkoleniowa. Białobrzegi Fundacja Zależni Nie-Zależni 2012.

Mallard, T.T.; Doorley, J.; Esposito-Smythers, C.L.; McGeary, J.E. Dopamine D4 receptor VNTR polymorphism associated with greater risk for substance abuse among adolescents with disruptive behavior disorders: Preliminary results. *Am. J. Addict.* 2016, 25, 56–61.

- Martinat, C.; Bacci, J.-J.; Leete, T.; Kim, J.; Vanti, W.B.; Newman, A.H.; Cha, J.H.; Gether, U.; Wang, H.; Abeliovich, A. Cooperative transcription activation by Nurr1 and Pitx3 induces embryonic stem cell maturation to the midbrain dopamine neuron phenotype. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006, 103, 2874–2879.
- Masiak, J.; Chmielowiec, J.; Chmielowiec, K.; Grzywacz, A. DRD4, DRD2, DAT1, and ANKK1 genes polymorphisms in patients with dual diagnosis of polysubstance addictions. *J. Clin. Med.* 2020, vol. 9 nr 11 [art. nr] 3593, s. 1-15.
- McKelvie, S.J.; Lemieux, P.; Stout, D. Extraversion and Neuroticism in Contact Athletes No Contact Athletes and Non-athletes: A Research Note. *Athl. Inside Online J. Sport Psychol.* 2003, 5, 19–27.
- Michałowska-Sawczyn, M.; Chmielowiec, K.; Chmielowiec, J.; Trybek, G.; Masiak, J.; Niewczas, M.; Grzywacz, A. Analysis of Selected Variants of DRD2 and ANKK1 Genes in Combat Athletes. *Genes*, 2021, 12(8), 1239
- Michałowska-Sawczyn, M.; Grzywacz, A.; Masiak, J.; Chmielowiec, K.; Chmielowiec, J.; Chycki, J.; Ciężczyk, P. Associations Between Physical Effort and DNA Methylation in the Promotor Region of the Dopamine Transporter Gene (DAT1). *Journal of Human Kinetics* 2021, 77(1), 125-133.
- Michałowska-Sawczyn, M.; Niewczas, M.; Król, P.; Czarny, W.; Rzeszutko, A.; Chmielowiec, K.; Chmielowiec, J.; Grzywacz, A.; Humińska-Lisowska, K.; Lachowicz, M.; et al. Associations between the dopamine D4 receptor gene polymorphisms and personality traits in elite athletes. *Biol. Sport.* 2019, 36, 365–372.
- Muda, R.; Kicia, M.; Michalak-Wojnowska, M.; Ginszt, M.; Filip, A.; Gawda, P.; Majcher, P. The dopamine receptor D4 Gene (DRD4) and financial risk-taking: Stimulating and instrumental risk-taking propensity and motivation to engage in investment activity. *Front. Behav. Neurosci.* 2018, 12, 34.
- Niewczas, M.; Grzywacz, A.; Leżnicka, K.; Chmielowiec, K.; Chmielowiec, J.; Maciejewska-Skrendo, A.; Ruzbarsky, P.; Masiak, J.; Czarny, W.; Ciężczyk, P. Association between Polymorphism rs1799732 of DRD2 Dopamine Receptor Gene and Personality Traits among MMA Athletes. *Genes* 2021, 12(8), 1217.
- O'Brien, K.S.; Blackie, J.M.; Hunter, J.A. Hazardous drinking in elite New Zealand sports people, *Alcohol and Alcoholism* 2005, 40:239–241.
- O'Sullivan, D.; Zuckerman, M.; Kraft, M. Personality characteristics of male and female participants in team sports. *Personal. Individ. Differ.* 1998, 25, 119–128.
- Olsson, C.A.; Moyzis, R.K.; Williamson, E.; Ellis, J.A.; Parkinson-Bates, M.; Patton, G.C.; Dwyer, T.; Romaniuk, H.; Moore, E.E. Gene environment interaction in problematic substance use: Interaction between DRD4 and insecure attachments. *Addict. Biol.* 2013, 18, 717–726.
- Paluska, S.A.; Schwenk, T.L. Physical activity and mental health: current concepts. *Sport Medicine* 2000, 29(3):167-180.

Ranaldi, R. Dopamine and reward seeking: The role of ventral tegmental area. *Rev. Neurosci.* 2014, 25, 621–630.

Reclaw, R.; Lachowicz, M.; Chmielowiec, K.; Chmielowiec, J.; Strońska-Pluta, A.; Kowalski, M.T.; Kudliński, B.; Grzywacz, A. Analysis of the methylation level of the DAT1 dopamine transporter gene in patients addicted to stimulants, taking into account an analysis of personality traits. *Int. J. Mol. Sci.* 2024 : vol. 25, nr 1, id. art. 532. <https://doi.org/10.3390/ijms25010532>

Reclaw, R.; Chmielowiec, K.; Suchanecka, A.; Boroń, A.; Chmielowiec, J.; Strońska-Pluta, A.; Kowalski, M.T.; Masiak, J.; Trybek, G.; Grzywacz, A. The influence of genetic polymorphic variability of the Catechol-O-methyltransferase Gene in a group of patients with a diagnosis of behavioural addiction, including personality traits. *Genes*, 2024 : vol. 15, nr 3, id. art. 299. <https://doi.org/10.3390/genes15030299>

Reclaw, R.; Boroń, A.; Chmielowiec, K.; Chmielowiec, J.; Prabucka, K.; Lachowicz, M.; Zadroga, Ł.; Guła, P.; Brożyna, M.; Grzywacz, A. Association analysis of the OPRM1 polymorphism gene and personality traits among a cohort of professional athletes. *Balt J Health Phys Act*, 2024; 16(2): Article13. <https://doi.org/10.29359/BJHPA.16.2.13>

Reclaw, R.; Lachowicz, M.; Prabucka, K.; Drozd, M.; Huzarska, I.; Grzywacz, A. Podobieństwo genetycznych i epigenetycznych uwarunkowań uzależnień i rywalizacji sportowej w powiązaniu z wymiarem psychologicznym. *Journal of Kinesiology and Exercise Sciences* 2024; p-ISSN: 2956-4581. DOI: 10.5604/01.3001.0054.7202

Ryszkowski, A.; Wojciechowska, A.; Kopański, Z.; Brukwicka, I.; Lishchynskyy, Y.; Mazurek, M. Objawy i skutki nadużywania alkoholu. *Journal of Clinical Healthcare* 2015, 1:2-6.

Schultz, W. Behavioral dopamine signals. *Trends Neurosci.* 2007, 30, 203–210.

Schulz, R.; McCole, R.B.; Woodfine, K.; Wood, A.J.; Chahal, M.; Monk, D.; Moore, G.E.; Oakey, R.J. Transcript- and tissue-specific imprinting of a tumour suppressor gene. *Hum. Mol. Genet.* 2008, 18, 118–127.

Sherry, S.T.; Ward, M.H.; Kholodov, M.; Baker, J.; Phan, L.; Smigielski, E.M.; Sirotkin, K. dbSNP: The NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res.* 2001, 29, 308–311.

Shumay, E.; Fowler, J.S.; Volkow, N.D. Genomic Features of the Human Dopamine Transporter Gene and Its Potential Epi-genetic States: Implications for Phenotypic Diversity. *PLoS ONE* 2010, 5, e11067.

Smillie, L.; Wacker, J. Dopaminergic foundations of personality and individual differences. *Front. Hum. Neurosci.* 2014, 8, 874.

Song, Y.; Biernacka, J.M.; Winham, S.J. Testing and estimation of X-chromosome SNP effects: Impact of model assumptions. *Genet. Epidemiol.* 2021.

Suchanecka, A.; Chmielowiec, J.; Chmielowiec, K.; Masiak, J.; Sipak-Szmigiel, O.; Sznabowicz, M.; Czarny, W.; Michałowska-Sawczyn, M.; Trybek, G.; Grzywacz, A. Dopamine Receptor DRD2 Gene rs1076560, Personality Traits and Anxiety in the Polysubstance Use Disorder. *Brain Sci.* 2020, 10, 262.

- Takeuchi, H.; Tomita, H.; Taki, Y.; Kikuchi, Y.; Ono, C.; Yu, Z.; Sekiguchi, A.; Nouchi, R.; Kotozaki, Y.; Nakagawa, S.; et al. The associations among the dopamine D2 receptor Taq1, emotional intelligence, creative potential measured by divergent thinking, and motivational state and these associations' sex differences. *Front. Psychol.* 2015, 6, 912.
- Wacker, J.; Smillie, L.T. Extraversion and dopamine function. *Soc. Personal. Psychol. Compass* 2015, 9, 225–238.
- Watson, J.D.; Crick, F.H. Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 1974, 248, 765.
- Vetulani, J. *Mózg: fascynacje problemy tajemnice*. 2014. ISBN: 9788373545205. Wydawnictwo Homini / Tyniec Wydawnictwo Benedyktynów.

Streszczenie

Wprowadzenie: Wyjaśnienia na gruncie neurobiologii koncentrują się na mezolimbicznym układzie nagrody w mózgu (mezolimbiczny system dopaminowy), stanowiącym poniekąd ludzki „napęd do działania”, regulując m.in. doświadczanie przyjemności, nastrój, uwagę, aktywność poznawczą i pamięć. Wyjść należy od tego, że wszystkie czynności sprawiające człowiekowi przyjemność powodują podniesienie poziomu dopaminy w układzie nerwowym (mającej działanie nagradzające – poprzez wywołanie uczucia przyjemności). Zwolennicy tego podejścia twierdzą, że na poziomie biologicznym nie ma żadnych różnic pomiędzy osobami uzależnionymi od substancji chemicznych i od zachowań, a każde uzależnienie jest chorobą układu nagrody (Vetulani J., 2014). W tym przypadku ontogenetyczne różnice wyrażają się na przykład poprzez modulujący wpływ układu neuroprzekaźników na ekspresję określonych cech osobowości sportowców. Dobrym przykładem jest „poszukiwanie nowości”, wyrażające się „głodem” do przeżywania dreszczy np. w wyniku rywalizacji sportowej, co wynika z funkcjonowania układu dopaminergicznego, czyli niedoboru dopaminy.

Cel Pracy: Głównym założeniem pracy jest jednoczesne badanie niezależnych czynników:

- (1) epigenetycznego – ocena poziomu metylacji w regionach mających istotny wpływ na układ nagrody w mózgu podczas rywalizacji sportowej i przy uzależnieniu behawioralnym,
- (2) psychologicznego – jak wymiary osobowości wpływają na indywidualne wzorce zachowań i wybory w poszczególnych grupach badanych,
- (3) genetycznego – czy poszczególne warianty polimorficzne genów związanych z neuroprzekaźnictwem różnią się częstością występowania u sportowców i osób uzależnionych.

Metodologia: Badanie zostało przeprowadzone według schematu case-control. Grupę badaną stanowili sportowcy i/lub uzależnieni. Do badań genetycznych użyto standardowych procedur real time PCR oraz analizy metylacji w rejonie promotora genu *DAT1*. Wykorzystano również standaryzowane testy psychoogiczne.

Wyniki: Wykazano istotnie statystyczne wyniki dotyczące polimorfizmów genów COMT, OPR1 oraz metylacji genu *DAT1*, zarówno w grupie sportowców jak i uzależnionych.

Wnioski: Badania behawioralne cech osobowości i ich interakcji z czynnikami biologicznymi, jak genetyka osobowości, stanowią nowy, obiecujący obszar badań. Włączenie do analiz cech osobowości oraz wprowadzenie ich do opracowań statystycznych związanych z dziedziczeniem mogłoby przyczynić się do lepszego zrozumienia sportu, motywacji i zachowań ludzkich.

Summary

Introduction: Neurobiological explanations focus on the mesolimbic reward system in the brain (mesolimbic dopamine system), which is, in a way, the human "drive to action", regulating, among other things, the experience of pleasure, mood, attention, cognitive activity and memory. It should be assumed that all activities that give people pleasure increase dopamine in the nervous system (which has a rewarding effect - by inducing a feeling of joy). Supporters of this approach claim that at the biological level, there are no differences between people addicted to chemicals and behaviours and that every addiction is a disease of the reward system (Vetulani J., 2014). In this case, ontogenetic differences are expressed, for example, through the modulating effect of the neurotransmitter system on the expression of specific personality traits in athletes. A good example is the "search for novelty", expressed by "hunger" to experience thrills, e.g., due to sports competition, which results from the functioning of the dopaminergic system, i.e., dopamine deficiency.

Aim of the study: The main assumption of the study is to simultaneously study independent factors: (1) epigenetic – assessment of methylation level in regions that have a significant impact on the reward system in the brain during sports competition and in behavioural addiction, (2) psychological – how personality dimensions affect individual behavioural patterns and choices in individual study groups, (3) genetic – whether individual polymorphic variants of genes related to neurotransmission differ in frequency of occurrence in athletes and addicts.

Methodology: The study was conducted according to the case-control scheme. The study group consisted of athletes and/or addicts. Standard real-time PCR procedures and analysis of methylation in the *DAT1* gene promoter region were used for genetic studies. Standardized psychological tests were also used. Results: Significant statistical results were shown regarding polymorphisms of the *COMT*, and *OPRM1* genes and methylation of the *DAT1* gene, both in the group of athletes and addicts.

Conclusions: Behavioral studies of personality traits and their interactions with biological factors, such as personality genetics, constitute a new, promising area of research. Including personality traits in analyses and introducing them into statistical studies related to heredity could contribute to a better understanding of sport, motivation and human behavior.



OŚWIADCZENIE WSPÓLAUTORÓW PUBLIKACJI

Reclaw R., Lachowicz M., Chmielowiec K., Chmielowiec J., Strońska-Pluta A., Kowalski M.T., Kudliński B., Grzywacz A. (2024). Analysis of the Methylation Level of the DAT1 Dopamine Transporter Gene in Patients Addicted to Stimulants, Taking into Account an Analysis of Personality Traits. *International Journal of Molecular Sciences*, 25, 532.
<https://doi.org/10.3390/ijms25010532>

Niniejszym oświadczamy, że indywidualny wkład w powstanie ww publikacji jest następujący:

autor	wkład %	opis*	podpis
Remigiusz Reclaw	65%	A, B, D, E, F	Remigiusz Reclaw
Milena Lachowicz	10%	D, E	Milena Lachowicz
Krzysztof Chmielowiec	7%	C, D	Krzysztof Chmielowiec
Jolanta Chmielowiec	2%	C, D	Jolanta Chmielowiec
Aleksandra Strońska-Pluta	7%	E, F	Aleksandra Strońska-Pluta
Michał Tomasz Kowalski	2%	E	Michał Tomasz Kowalski
Bartosz Kudliński	2%	E	Bartosz Kudliński
Anna Grzywacz	5%	A, E, G	Anna Grzywacz

* A – przygotowanie projektu badania, B – przeprowadzanie badań, C – analiza statystyczna, D – interpretacja wyników, E – przygotowanie publikacji, F – opracowanie pismownictwa, G – pozyskanie funduszy

Remigiusz Reclaw
podpis doktoranta

Anna Grzywacz
podpis promotora



OŚWIADCZENIE WSPÓLAUTORÓW PUBLIKACJI

Reclaw R., Chmielowiec K., Suchanecka A., Boroń A., Chmielowiec J., Strońska-Pluta A., Kowalski M.T., Masiak J., Trybek G., Grzywacz A. (2024). The Influence of Genetic Polymorphic Variability of the Catechol-O-methyltransferase Gene in a Group of Patients with a Diagnosis of Behavioural Addiction, including Personality Traits. *Genes*, 15, 299.
<https://doi.org/10.3390/genes15030299>

Niniejszym oświadczamy, że indywidualny wkład w powstanie ww publikacji jest następujący:

autor	wkład %	opis*	podpis
Remigiusz Reclaw	60%	A, B, D, E, F	Remigiusz Reclaw
Krzysztof Chmielowiec	8%	C, D	K Chmielowiec
Aleksandra Suchanecka	6%	E	Suchanecka
Agnieszka Boroń	5%	E, F	Agnieszka Boroń
Jolanta Chmielowiec	4%	C, D	Chmielowiec
Aleksandra Strońska-Pluta	3%	E	Strońska-Pluta
Michał Tomasz Kowalski	2%	F	Kowalski
Jolanta Masiak	2%	F	Jolanta Masiak
Grzegorz Trybek	2%	D	Trybek
Anna Grzywacz	8%	A, D, G	Grzywacz

* A – przygotowanie projektu badania, B – przeprowadzanie badań, C – analiza statystyczna, D – interpretacja wyników, E – przygotowanie publikacji, F – opracowanie piśmiennictwa, G – pozyskanie funduszy

Remigiusz Reclaw
podpis doktora

Grzywacz Anna
podpis promotora

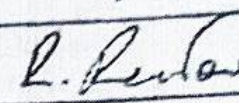
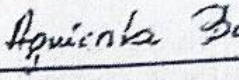
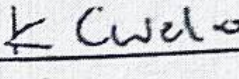
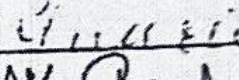
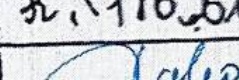
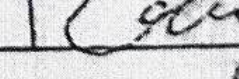
Grzywacz Anna



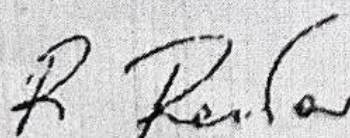
OŚWIADCZENIE WSPÓLAUTORÓW PUBLIKACJI

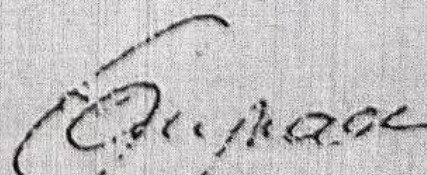
Reclaw R., Boroń A., Chmielowiec K., Chmielowiec J., Prabucka K., Lachowicz M., Zadroga Ł., Gula P., Brożyna M., Grzywacz A. (2024). Association analysis of the OPRM1 polymorphism gene and personality traits among a cohort of professional athletes. *Baltic Journal of Health and Physical Activity*, Act. 2024; 16(2): Article13.
<https://doi.org/10.29359/BJHPA.16.2.13>

Niniejszym oświadczamy, że indywidualny wkład w powstanie ww publikacji jest następujący:

autor	wkład %	opis*	podpis
Remigiusz Reclaw	60%	A,B,C,D, E,F	
Agnieszka Boroń	10%	B,C,E,F	
Krzysztof Chmielowiec	8%	C,D,E,F	
Jolanta Chmielowiec	5%	E,F	
Katarzyna Prabucka	4%	C,E,F	
Milena Lachowicz	3%	E,F	
Lukasz Zadroga	3%	C,E,F	
Przemysław Gula	1%	E,F	
Maciej Brożyna	1%	E,F	
Anna Grzywacz	5%	A,D,E,G	

A – przygotowanie projektu badania, B – przeprowadzanie badań, C – analiza statystyczna, D – interpretacja wyników,
E – przygotowanie publikacji, F – opracowanie piśmiennictwa, G – pozyskanie funduszy


podpis doktoranta


podpis promotora



OŚWIADCZENIE WSPÓLAUTORÓW PUBLIKACJI

Reclaw R., Lachowicz M., Prabucka K., Drozd M., Huzarska I., Grzywacz A. (2024). The world of top sports people – the review of genetic, epigenetic and psychological factors underlying athletic achievements in terms of neural transmission. *Journal of Kinesiology and Exercise Sciences*, 2024. p-ISSN: 2956-4581 <https://doi.org/10.5604/01.3001.0054.7202>

Niniejszym oświadczamy, że indywidualny wkład w powstanie ww publikacji jest następujący:

autor	wkład %	opis*	podpis
Remigiusz Reclaw	70%	A,B,C,D, E,F	Reclaw
Milena Lachowicz	11%	A,B,E	Lachowicz
Katarzyna Prabucka	9%	E	Prabucka
Monika Drozd	2%	D, E	Monika Drozd
Izabela Huzarska	2%	D, E	Huzarska
Anna Grzywacz	6%	A, E,G	Grzywacz

* A – przygotowanie projektu badania, B – przeprowadzanie badań, C – analiza statystyczna, D – interpretacja wyników, E – przygotowanie publikacji, F – opracowanie piśmiennictwa, G – pozyskanie funduszy

Reclaw

podpis doktora

Grzywacz Anna

podpis promotora

Publikacje wchodzące w skład rozprawy

- (1) Reclaw Remigiusz, Lachowicz Milena, Chmielowiec Krzysztof, Chmielowiec Jolanta, Strońska-Pluta Aleksandra, Kowalski Michał Tomasz, Kudliński Bartosz, Grzywacz Anna. *Analysis of the methylation level of the DAT1 dopamine transporter gene in patients addicted to stimulants, taking into account an analysis of personality traits*. Int. J. Mol. Sci. 2024 : vol. 25, nr 1, id. art. 532, 12 s. il. tab. bibliogr. summ. p-ISSN: 1422-0067, e-ISSN: 1661-6596. DOI: 10.3390/ijms25010532, IF: 4.9, Punktacja MNiSW: 140.
- (2) Reclaw Remigiusz, Chmielowiec Krzysztof, Suchanecka Aleksandra, Boroń Agnieszka, Chmielowiec Jolanta, Strońska-Pluta Aleksandra, Kowalski Michał Tomasz, Masiak Jolanta, Trybek Grzegorz, Grzywacz Anna. *The influence of genetic polymorphic variability of the Catechol-O-methyltransferase Gene in a group of patients with a diagnosis of behavioural addiction, including personality traits*. Genes. 2024 : vol. 15, nr 3, id. art. 299, 20 s. il. tab. bibliogr. summ. p-ISSN: 2073-4425. DOI: 10.3390/genes15030299, IF: 2.8. Punktacja MNiSW: 100.
- (3) Remigiusz Reclaw, Agnieszka Boroń, Krzysztof Chmielowiec, Jolanta Chmielowiec, Katarzyna Prabucka, Milena Lachowicz, Łukasz Zadroga, Przemysław Guła, Maciej Brożyna, Anna Grzywacz. *Association analysis of the OPRM1 polymorphism gene and personality traits among a cohort of professional athletes*. Balt J Health Phys Act. 2024;16(2):Article13. DOI: 10.29359/BJHPA.16.2.13; p-ISSN: 2080-1297, e-ISSN: 2080-9999. IF: 0.8, Punktacja MNiSW: 70.
- (4) Remigiusz Reclaw, Milena Lachowicz, Katarzyna Prabucka, Monika Drozd, Izabela Huzarska, Anna Grzywacz. *Podobieństwo genetycznych i epigenetycznych uwarunkowań uzależnień i rywalizacji sportowej w powiązaniu z wymiarem psychologicznym*. Journal of Kinesiology and Exercise Sciences 2024; p-ISSN: 2956-4581. DOI: 10.5604/01.3001.0054.7202, IF: 0, Punktacja MNiSW: 70.



Article

Analysis of the Methylation Level of the *DAT1* Dopamine Transporter Gene in Patients Addicted to Stimulants, Taking into Account an Analysis of Personality Traits

Remigiusz Reclaw, Milena Lachowicz, Krzysztof Chmielowiec, Jolanta Chmielowiec, Aleksandra Strońska-Pluta, Michał Tomasz Kowalski, Bartosz Kudliński and Anna Grzywacz

Special Issue

Role of Dopamine in Health and Disease: Biological Aspect 2.0

Edited by

Dr. Anna Grzywacz and Prof. Dr. Jolanta Masiak





Article

Analysis of the Methylation Level of the *DAT1* Dopamine Transporter Gene in Patients Addicted to Stimulants, Taking into Account an Analysis of Personality Traits

Remigiusz Reclaw ¹, Milena Lachowicz ², Krzysztof Chmielowiec ³, Jolanta Chmielowiec ³, Aleksandra Strońska-Pluta ⁴, Michał Tomasz Kowalski ⁵, Bartosz Kudliński ⁶ and Anna Grzywacz ^{4,*}

- ¹ Foundation Strong in the Spirit, 60 Sienkiewicza St., 90-058 Łódź, Poland; health@mocniw duchu.pl
² Department of Psychology, Gdansk University of Physical Education and Sport, Kazimierza Górskiego 1 St., 80-336 Gdansk, Poland; milena.lachowicz@awf.gda.pl
³ Department of Hygiene and Epidemiology, Collegium Medicum, University of Zielona Góra, 28 Zyty St., 65-046 Zielona Góra, Poland; chmiele@vp.pl (K.C.); chmiele1@o2.pl (J.C.)
⁴ Independent Laboratory of Health Promotion, Pomeranian Medical University in Szczecin, Powstańców Wielkopolskich 72 St., 70-111 Szczecin, Poland; aleksandra.stronska@pum.edu.pl
⁵ Clinical Department of Cardiology, Nowa Sól Multidisciplinary Hospital, 67-100 Nowa Sól, Poland; kowaltdm@wp.pl
⁶ Department of Emergency Medicine, Anesthesiology and Intensive Care in K. Marcinkowski University Hospital, Collegium Medicum, University of Zielona Góra, 65-046 Zielona Góra, Poland; b.kudlinski@inz.uz.zgora.pl
* Correspondence: anna.grzywacz@pum.edu.pl; Tel.: +48-91-441-47-66



Citation: Reclaw, R.; Lachowicz, M.; Chmielowiec, K.; Chmielowiec, J.; Strońska-Pluta, A.; Kowalski, M.T.; Kudliński, B.; Grzywacz, A. Analysis of the Methylation Level of the *DAT1* Dopamine Transporter Gene in Patients Addicted to Stimulants, Taking into Account an Analysis of Personality Traits. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 532. <https://doi.org/10.3390/ijms25010532>

Academic Editor: Giuseppe Di Giovanni

Received: 17 November 2023

Revised: 25 December 2023

Accepted: 28 December 2023

Published: 30 December 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Drug addiction is a chronic biochemical drug use disorder that affects the human brain and behavior and leads to the uncontrolled use of legal or illicit drugs. It has been shown that three factors are involved in the development of addiction: genetic factors, a diverse environment, and the effect of medication on gene expression. The comprehensive approach and holistic analysis of the problem are due to the multigenic and multifactorial nature of addiction. Dopamine, one of the major neurotransmitters in the brain, is believed to be the “culprit” that leads to a drug abuse-induced “high”. That is why, in our research, we focused mainly on the genes related to dopaminergic reuptake. In the present study, we chose methylation of the *DAT1* dopamine transporter gene based on molecular reasons related to the dopaminergic theory of addiction. This study included two groups: 226 stimulant-dependent and 290 non-stimulant-dependent subjects. The analysis consisted of a case–control comparison of people addicted to psychostimulants compared to a control group of healthy and non-addicted people. There were differences in the levels of statistical significance between the groups. Our research shows lower methylation of islands 1, 9, and 14 in addicted people and greater methylation of islands 32 and 33. The difference in individual CpG methylation islands of the gene under study provides valuable information about the DNA methylation process in patients addicted to psychostimulants. Pearson’s linear correlation analysis in stimulant dependence showed a negative correlation between total methylation island levels and the NEO-FFI Neuroticism scale. In subjects with neuroticism, the methylation level was statistically significantly lower. Pearson’s linear correlation analysis of stimulant-dependent subjects showed a positive correlation between total methylation island levels and the NEO-FFI Openness scale and the NEO-FFI Conscientiousness scale.

Keywords: dopamine transporter; *DAT1*; methylation; stimulant dependence; NEO-FFI

1. Introduction

Drug addiction is a chronic biochemical drug use disorder that affects the human brain and behavior and leads to the uncontrolled use of legal or illicit drugs. Drug addiction can begin, usually in young people, with non-medical or recreational use of a drug in social settings, which becomes more frequent over time. This involves increasing doses of

the drug to achieve a state of euphoria. Drug addiction has been considered a significant social and health problem, posing a threat to public health [1]. In this study, we analyzed patients addicted to psychostimulants, taking into account other factors, including epigenetic and psychological ones, following the holistic approach to the problem of addiction recommended in the literature.

The field of medicine encompasses a category of drugs known as psychostimulants or stimulants. These drugs have been observed to effectively enhance the activity of the central nervous system, thereby conferring numerous benefits to the body [2]. Nevertheless, the widespread and growing use of stimulants has raised public health concerns because of the various physical and mental health risks associated with their use [3]. It is important to note, however, that the category of psychostimulants includes prescription stimulants, including dextroamphetamine and methylphenidate, that are used to treat disorders such as ADHD. These legitimate medications can augment focus, promote sociability, and enhance vigor when taken appropriately under clinical supervision [4]. It has been shown that three factors are involved in the development of addiction: genetic factors, a diverse environment, and the effect of medication on gene expression or mRNA levels [5]. Therefore, an analysis of epigenetic factors, especially those related to methylation, is essential in diseases as complex as addiction [5].

As with other mental disorders, not all people are at the same risk of addiction, and this risk varies significantly from person to person. There are many different factors, characteristics, and variables in the addiction process that determine one's susceptibility to the development of this disease. In general, the more risk factors a person has, the more likely they are to develop substance use disorder after using drugs occasionally [6]. Recent studies show that transcription factors, including non-coding RNA, histone modifications, and chromatin structure, can alter gene transcription potential. These transcription factors are also important contributors to numerous neuroadaptations that result from chronic drug exposure [7]. Accumulating evidence supports the hypothesis that drugs directly affect all mechanisms of epigenetic regulation and that these adaptations are among the major processes by which drugs induce highly stable brain changes that mediate the phenotype of addiction [8]. Important epigenetic mechanisms are DNA methylation, histone modifications, and small non-coding RNAs [9,10]. Growing evidence has identified the critical mesolimbic dopaminergic circuit as well as essential molecules in this neural pathway that mediate addiction to specific drugs and excessive behaviors [11]. Dopamine, one of the major neurotransmitters in the brain, is believed to be the "culprit" that leads to a drug abuse-induced "high" [12].

That is why, in our research, we focused mainly on genes related to dopaminergic transmission. In the present study, we chose methylation of the *DAT1* dopamine transporter gene based on molecular reasons. The *DAT1* gene, also identified as *SLC6A3* [13], is located on chromosome 5p15 and belongs to the Na/Cl-dependent transporter family. This transporter is widely distributed throughout the brain in areas of dopaminergic activity. DAT is located in the plasma membrane of axon terminals and reuptakes dopamine from the synapse [14] and controls the level of dopamine in the extracellular space [15–17]. Dysregulated DA activity may result from altered release or reuptake; therefore, the proper regulation of *DAT1* gene expression is crucial for maintaining homeostasis in dopaminergic systems [18].

At the protein level, DAT is present perisynaptically rather than in the synaptic cleft, thus promoting volumetric and somewhat paracrine transmission rather than a standard synaptic transmission that is spatially confined to target postsynaptic dendrites [19]. Interestingly, DAT is present at subcellular levels in intracellular compartments and on the plasma membrane of the dendrites, the cell body, and axon terminals. This suggests that DAT may release DA at the dendritic level near DA cell bodies [20] and that its membrane targeting is regulated by a DA tone. DAT is in the spotlight because of its crucial role in regulating DA transmission, but also because it is a target of psychostimulants such

as cocaine and amphetamine [21]. In our study, we linked brain molecular mechanisms related to brain neurotransmission to the epigenetics of addiction.

The dopamine transporter plays an important role in dopamine neurotransmission. It is located on nerve endings and modulates an independent level of dopamine release, returning extracellular dopamine to the presynaptic terminal, thus terminating its function. Impaired dopamine activity may result from altered release or reuptake. For this reason, the regulation of *DAT1* gene expression is important for maintaining homeostasis in the dopaminergic system [18]. There is the possibility, however, that the *DAT1* methylation status might either predispose or reflect exposure to substances in dependent individuals. Therefore, we do not know if it is more of a prognostic or diagnostic marker. However, we do know that, functionally, epigenetic alterations affect the expression of genes, as measured by RNA and protein synthesis; this may affect cellular structure and function and consequently affect the whole body's metabolism and behavior.

It has been shown that the development of addiction is positively related to genetic factors, suggesting a high heritability of the addiction trait. Drug addiction is not inherited from generation to generation, but, interestingly, personality traits associated with the initiation of drug use are heritable [22]. In addition, epigenetic changes and epigenetic regulators, e.g., chromatin-remodeling enzymes, histone acetyltransferases, and methyltransferases, also play key roles in mediating the long-term effects of drug use [23]. Recent studies have also shown that microRNAs and other non-coding RNAs are essential factors in mediating the rewarding properties of drugs, suggesting that the modulation of post-transcriptional RNA may be a possible pharmacotherapy to reverse drug-induced brain neuroplasticity [24,25].

Recent research has shown that the interaction between genetic and environmental factors and their impact on the emotions and behaviors of children as well as adolescents may depend on the epigenetic mechanisms of DNA methylation [26]. DNA methylation (resulting in gene silencing) is one of the best-studied epigenetic mechanisms. This is mainly accomplished at CpG islands, where cytosine conversion to 5-methylcytosine reduces gene expression. Therefore, in our study, we decided to combine epigenetics with personality traits.

The molecular, cellular, and physiological mechanisms that mediate the transition from sporadic controlled drug use to the loss of control, which, in part, defines addiction, are unknown. However, it is widely believed that changes in gene expression in the central nervous system play a key role [27].

2. Results

Differences in methylation levels at individual sites (islands) of the *DAT1* promoter were observed when analyzing the methylation status of unique CpG islands (Table 1). Of the 33 CpG islands, 2 showed significantly higher methylation levels in stimulant dependence (islands 32 and 33) and 3 showed significantly lower levels of methylation in drug addiction (islands 1, 9, and 14). When comparing the odds ratio of increased methylation in the stimulant-dependent group compared to the control group, the islands 1, OR = 1.99; 9, OR = 1.48; 14, OR = 1.87; 32, OR = 0.64; and 33, OR = 0.47 were significant (Table 1).

Table 1. Methylation status of 33 CpG *DAT1* islands in the group with stimulant dependence and the control group.

CpG Site	Study Groups		Test χ^2	<i>p</i> Value	OR	CL −95; +95
	Methylation Level n (%)					
	Stimulant Dependence	Controls				
	<i>n</i> = 226	<i>n</i> = 290				
1	98	175	14.702	0.0001	1.99 *	1.40; 2.83
	43.36%	60.34%				

Table 1. Cont.

CpG Site	Study Groups Methylation Level n (%)		Test χ^2	p Value	OR	CL −95; +95
	Stimulant Dependence	Controls				
	n = 226	n = 290				
2	160	225	3.091	0.0787	1.43	0.96; 2.13
	70.80%	77.59%				
3	208	252	3.467	0.0626	0.57	0.31; 1.04
	92.04%	86.90%				
4	51	75	0.747	0.3873	1.20	0.80; 1.80
	22.57%	25.86%				
5	65	97	1.295	0.2550	1.24	0.85; 1.82
	28.76%	33.45%				
6	25	36	0.222	0.6370	1.14	0.66; 1.96
	11.06%	12.41%				
7	28	45	1.023	0.3117	1.30	0.78; 2.16
	12.39%	15.52%				
8	10	12	0.023	0.8794	0.93	0.40; 2.21
	4.42%	4.15%				
9	73	120	4.471	0.0344	1.48 *	1.03; 2.13
	32.30%	41.38%				
10	80	106	0.054	0.8154	1.04	0.73; 1.50
	35.56%	36.55%				
11	7	13	0.654	0.4185	1.47	0.58; 3.74
	3.10%	4.48%				
12	62	86	0.306	0.5799	1.11	0.76; 1.64
	27.43%	29.66%				
13	13	15	0.083	0.7730	0.89	0.42; 1.91
	5.75%	5.17%				
14	181	256	6.566	0.0104	1.87 *	1.15; 3.04
	80.09%	88.28%				
15	182	237	0.118	0.7307	1.08	0.69; 1.69
	80.53%	81.72%				
16	138	185	0.40	0.5246	1.12	0.78; 1.61
	61.06%	63.79%				
17	69	84	0.149	0.6993	0.92	0.63; 1.36
	30.53%	28.97%				
18	12	24	1.722	0.1895	1.61	0.79; 3.29
	5.31%	8.28%				
19	214	276	0.062	0.8038	1.10	0.50; 2.44
	94.69%	95.17%				
20	98	125	0.003	0.9529	0.99	0.70; 1.41
	43.36%	43.10%				

Table 1. Cont.

CpG Site	Study Groups Methylation Level n (%)		Test χ^2	<i>p</i> Value	OR	CL −95; +95
	Stimulant Dependence	Controls				
	<i>n</i> = 226	<i>n</i> = 290				
21	158	191	0.951	0.3293	0.83	0.57; 1.21
	69.91%	65.86%				
22	206	265	0.008	0.9272	1.03	0.56; 1.90
	91.15%	91.38%				
23	41	55	0.057	0.8114	1.06	0.67; 1.65
	18.14%	18.97%				
24	153	205	0.535	0.4646	1.15	0.78; 1.68
	67.70%	70.69%				
25	63	93	1.059	0.3035	1.22	0.83; 1.79
	27.88%	32.07%				
26	95	116	0.219	0.6408	0.92	0.65; 1.31
	42.04%	40.00%				
27	41	51	0.027	0.8701	0.96	0.61; 1.52
	18.14%	17.59%				
28	150	198	0.210	0.6470	1.09	0.75; 1.58
	66.37%	68.28%				
29	52	64	0.064	0.7997	0.95	0.63; 1.44
	23.01%	22.07%				
30	27	29	0.498	0.4805	0.81	0.47; 1.43
	11.95%	10.00%				
31	14	16	0.106	0.7442	0.88	0.42; 1.85
	6.19%	5.52%				
32	164	182	5.531	0.0186	0.64 *	0.44; 0.93
	72.57%	62.76%				
33	187	201	12.287	0.0005	0.47 *	0.31; 0.72
	82.74%	69.31%				
			Z	<i>p</i> -Value		
Total Methylation Level (%) *	41.02 ± 15.22	42.36 ± 15.70	−1.172	0.2411		
Number of Methylation Islands *	13.54 ± 5.02	13.98 ± 5.18	−1.172	0.2411		

χ^2 (p)—chi-square test (significance level); * differences which are statistically significant ($p < 0.05$); n—number of subjects.

The analysis of the total methylation of *DAT1* showed a statistically significant difference in the number of total methylated CpG islands in the group with stimulant dependence (41.02%) compared to the controls (42.36%) ($Z = -1.172$, $p = 0.2411$, Table 1).

While comparing the controls and the group with stimulant dependence, we observed significantly higher scores on the NEO Five-Factor Inventory Neuroticism scale (M 6.58 vs. M 4.61, $p < 0.00001$) and the NEO Five-Factor Inventory Openness scale (M 5.01 vs. M 4.50, $p = 0.0045$). However, significantly lower scores were observed on the NEO Five-Factor Inventory Extraversion scale (M 5.84 vs. M 6.36, $p = 0.0076$), the NEO Five-Factor Inventory Agreeability scale (M 4.28 vs. M 5.59, $p < 0.00001$), and the NEO Five-Factor Inventory Conscientiousness scale (M 5.60 vs. M 6.10, $p = 0.0173$) (Table 2).

Table 2. The results of the NEO Five-Factor Inventory were obtained in steps for the group with stimulant dependence and the control group.

NEO FFI	Stimulant Dependence	Control	Z
	$n = 226$	$n = 290$	(p -Value)
Neuroticism/scale *	6.58 ± 2.17	4.61 ± 1.96	9.632 (<0.00001)
Extraversion/scale *	5.84 ± 2.15	6.36 ± 1.99	−2.668 (0.0076)
Openness/scale *	5.01 ± 2.01	4.50 ± 1.60	2.841 (0.0045)
Agreeability/scale *	4.28 ± 1.91	5.59 ± 2.09	−7.001 (<0.00001)
Conscientiousness/scale *	5.60 ± 2.30	6.10 ± 2.14	−2.380 (0.0173)

p -value of statistical significance in Mann–Whitney U-test; n —number of subjects; $M \pm SD$ —mean $\pm$ standard deviation; * differences which are statistically significant ($p < 0.05$).

Pearson’s linear correlation analysis of the group with stimulant dependence showed a negative correlation between total methylation island levels and the NEO-FFI Neuroticism scale ($r = -0.154$, $p = 0.020$, Figure 1). Pearson’s linear correlation analysis of the group with stimulant dependence showed a positive correlation between total methylation island levels and the NEO-FFI Openness scale ($r = 0.148$, $p = 0.026$) and the NEO-FFI Conscientiousness scale ($r = 0.137$, $p = 0.040$, Table 3, Figures 2 and 3).

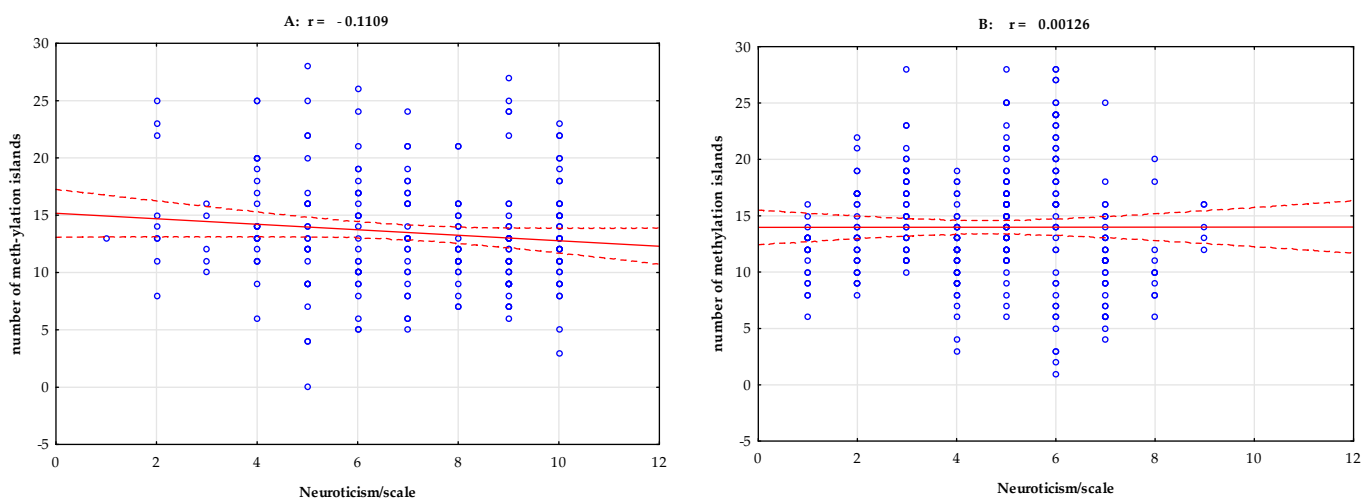


Figure 1. Pearson’s linear correlation between total methylation level, number of methylation islands, and NEO-FFI Neuroticism scale in the group with stimulant dependence (A) and the controls (B). r —correlation coefficient.

Table 3. Pearson’s linear correlation between total methylation level, number of methylation islands, and NEO-FFI in the group with stimulant dependence and the control group.

	Neuroticism Scale	Extraversion Scale	Openness Scale	Agreeability Scale	Conscientiousness Scale
Number of methylation islands	$r = -0.154^*$	$r = -0.021$	$r = 0.148^*$	$r = 0.060$	$r = 0.137^*$
Stimulant dependence	$(p = 0.020)$	$(p = 0.753)$	$(p = 0.026)$	$(p = 0.371)$	$(p = 0.040)$
Number of methylation islands	$r = 0.001$	$r = -0.069$	$r = -0.025$	$r = 0.084$	$r = 0.030$
Controls	$(p = 0.983)$	$(p = 0.238)$	$(p = 0.665)$	$(p = 0.155)$	$(p = 0.616)$

r—Pearson’s linear correlation; p-value of statistical significance; * differences which are statistically significant ($p < 0.05$).

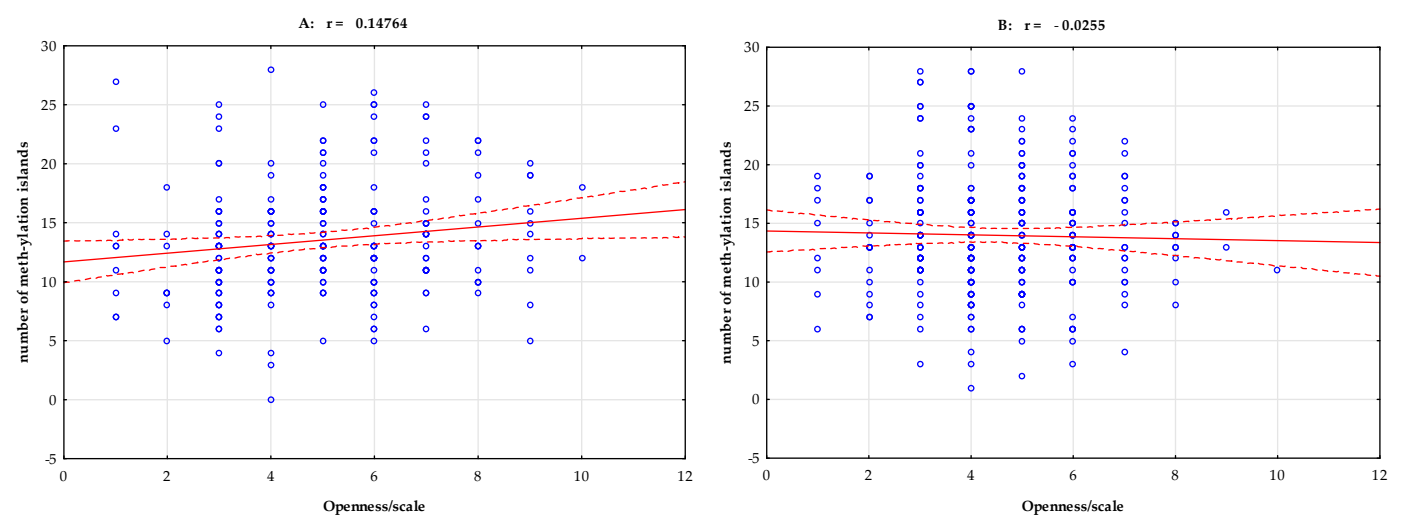


Figure 2. Pearson’s linear correlation between total methylation level, number of methylation islands, and NEO-FFI Openness scale in the group with stimulant dependence (A) and the controls (B). r—correlation coefficient.

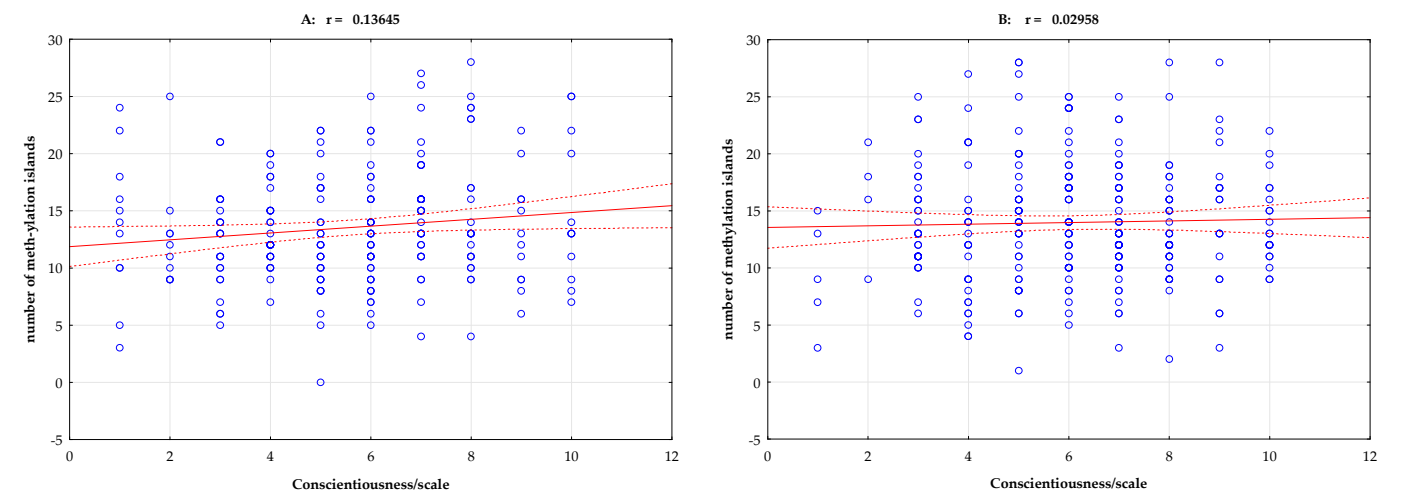


Figure 3. Pearson’s linear correlation between total methylation level, number of methylation islands, and NEO-FFI Conscientiousness scale in the group with stimulant dependence (A) and the controls (B). r—correlation coefficient.

When analyzing the NEO-FFI Neuroticism scale, we observed a negative correlation with the degree of methylation. On the NEO-FFI Openness scale, a positive correlation was observed in terms of methylation. We also found a positive correlation between the NEO-FFI Conscientiousness scale and methylation. No correlation was observed in the control group.

3. Discussion

In the present study, we conducted a methylation analysis in the promoter region of the *DAT1* gene, which included 33 CpG methylation islands. The analysis consisted of a case–control comparison of people addicted to psychostimulants compared to a control group of healthy and non-addicted people. As seen in Table 1, there were differences in the levels of statistical significance between these groups. Interestingly, selected sites in the study group were hypermethylated, and others were hypomethylated compared to the control group. Our research shows lower methylation of islands 1, 9, and 14 in addicted people and greater methylation of islands 32 and 33. As Table 1 shows, total methylation did not differ between the groups. The difference in individual CpG methylation islands of the tested gene provides valuable information about the DNA methylation process in patients addicted to psychostimulants.

Although most studies have focused on histone modifications, DNA methylation is also a critical component of the epigenetic response to psychostimulant-related behaviors. A growing body of research provides evidence for the role of DNA methylation in cocaine-induced neuronal plasticity in the NAc [28–31]. Several studies have shown that DNMT3A expression levels in the NAc vary with acute and chronic cocaine exposure and during long-term withdrawal, suggesting that psychostimulants are capable of dynamic control of DNA methylation [28,31]. Local knockdown of DNMT3A in the NAc or local infusion of the DNMT inhibitor RG108 enhanced cocaine reward. In contrast, NAc-specific upregulation of DNMT3A attenuated cocaine reward and increased dendritic arborization of NAc neurons [28].

In our study, however, we undertook an even more difficult analysis by adding a factor related to the personality of the studied groups—combining various factors leading to the development of addiction to psychostimulants. We show an interesting result in Table 2—Pearson’s linear correlation analysis of stimulant-dependent subjects showed a negative correlation between total methylation island levels and the NEO-FFI Neuroticism scale ($r = -0.154$, $p = 0.020$, Figure 1). In subjects with neuroticism, the methylation level was statistically significantly lower. This relationship is also seen in Figure 1. Considering non-biological factors that may influence methylation, we can observe a personality-related factor here. Openness and conscientiousness correlated positively with the methylation of CpG islands in the *DAT1* gene promoter. Pearson’s linear correlation analysis of stimulant-dependent subjects showed a positive correlation between total methylation island levels and the NEO-FFI Openness scale ($r = 0.148$, $p = 0.026$) and the NEO-FFI Conscientiousness scale ($r = 0.137$, $p = 0.040$, Table 3, Figures 2 and 3).

This is a difficult aspect for us to discuss because, in research, there is agreement and recommendations for studying psychological and other non-biological traits, but we do not yet know how each of these factors influences the level of DNA methylation in the regions of individual genes. Interestingly, methylation status is widely described in the case of addicts and is sometimes associated with hopes for the selection of therapy. It is increasingly accepted that the overall epigenetic status of a cell can be modulated by various environmental factors, including nutrients, chemicals, and the early life environment [32–34]. Early research suggests that various environmental factors also affect brain DNA methylation. For example, repeated SAM (methyl donor) pretreatment significantly potentiated cocaine-induced locomotor sensitization, and the modulatory effect of SAM is due, in part, to reduced methyltransferase activity via the downregulation of DNMT3A [35]. This study supports the hypothesis that environmental factors influencing the epigenetic status of NAc cells may alter how a psychostimulant-induced addiction develops. In

addition, these results may at least partially explain why some people are more susceptible to drug addiction.

Here, we can consider whether earlier methylation causes a greater tendency to addiction or whether specific personality traits correlate with epigenetics through genetics. What is interesting, however, is that epigenetic changes are reversible and modifiable.

Because epigenetic mechanisms are dynamic and reversible, chemical agents that alter histone modification or DNA methylation may be potential candidates for therapeutic interventions. In addition, identifying specific epigenetic patterns associated with specific disease phenotypes may provide useful biomarkers for early disease diagnosis and preventative interventions. Future studies should elucidate whether drug effects on epigenetic endpoints in peripheral tissues (e.g., blood) may serve as valuable biomarkers for clinical features of addiction.

The increasing number of reports on drug abuse not only demonstrates the paramount role of epigenetic modifications in regulating behavioral responses to drug exposure but also helps to understand the complex mechanisms underlying drug addiction. However, it is worth noting that only a small number of epigenetic studies of addiction have been conducted in humans. Further research needs to evaluate the possible role of the epigenetic mechanism in addicts [36].

4. Materials and Methods

4.1. Participants

This study included two groups: 226 stimulant-dependent and 290 non-stimulant-dependent subjects. Table 4 shows the mean age distribution for each group. The study group consisted of men recruited from residential addiction treatment centers. The all-male gender selection was due to the homogeneous gender subgroups of the addiction study (hormonal changes in women, different type and course of addiction, biological and psychological factors influencing the development of addiction). Addiction to illicit substances was reported in the study group.

Table 4. Primary statistics of analyzed groups.

	Stimulant Dependence	Controls
<i>n</i>	226	290
Age M (SD)	27.61 (5.84)	22.17 (4.61)

Our study aimed to analyze a group of patients undergoing treatment in closed addiction treatment centers. A specialist psychiatrist examined the study and control groups, and an interview related to the history of addiction was analyzed. In the current study, patients addicted to psychostimulants constituted a homogeneous subgroup. In the interview with this subgroup, the first addictive substance was amphetamine.

All participants were of European descent to reduce the likelihood of genetic admixture and overcome potential population stratification issues.

The study met the criteria of the Declaration of Helsinki and received a positive opinion from the Bioethics Committee of the Pomeranian Medical University. All participants were informed of the study rules and procedures. In addition, they were informed of their right to withdraw from the study at any time.

None of the participants in the study received any financial incentives for their involvement in the project. The study was entirely anonymized to ensure the protection of personal data. The control group was selected based on age and gender. Throughout the study, all measures were taken to ensure the comfort and concentration of the participants.

A venous blood sample of 9 mL per EDTA tube was collected from the subjects and the genetic material was isolated in the form of DNA.

4.2. Assessment of the Methylation Status of the Dopamine Gene Transporter (DAT1) Promoter

According to the manufacturer's instructions, DNA isolation from peripheral blood was performed using an isolation kit (A&A Biotechnology, Gdynia, Poland). Bisulfite modifications were carried out on 250 ng of DNA using the EZ DNA Methylation Kit from Zymo Research in Orange, CA, USA, following the manufacturer's instructions. A Mastercycler eppgradient S (Eppendorf, Hamburg, Germany) was used for the methylation-specific PCR assay.

Oligonucleotide primers were obtained from Genomed.pl (Warsaw, Poland) and designed using a methprimer (<http://www.urogene.org/cgi-bin/methprimer/methprimer.cgi>, accessed 29 April 2022). PCRs with primers that targeted the gene fragment were used to evaluate the status of the *DAT1* promoter (ENSG00000142319), i.e., DATE: 5'-GGTTTTTGTGTTT TTTTGTGAG-3'; DATR: 5'-AAATCCCCTAAACCTAATCCC-3'. The PCR conditions for amplifying the 447 bp fragment spanning the 33 CpG islands in the *DAT1* gene promoter are shown in Table 5.

Table 5. PCR conditions for amplification of a 447 bp fragment encompassing 33 CpG islands in the *DAT1* gene promoter.

Number of Cycles	PCR Step	Temperature	Time
1	Initial Denaturation	94 °C	5:00
	Denaturation	94 °C	0:25
35	Annealing	61 °C	0:25
	Elongation	72 °C	0:25
1	Final elongation	72 °C	5:00

The concentration of magnesium chloride ions was set at 2.5 mM. After amplification, PCR products were sequenced as previously described [37]. Briefly, the samples were verified by means of sequencing using the BigDye v3.1 kit (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany). The samples were separated by ethanol extraction using ABI Prism 3130XL (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany) in a 36 cm POP7 polymeric capillary using a reverse primer.

Sequencing chromatograms were analyzed using 4peaks software (v. 1.8., Mek & Tosj, Amsterdam, The Netherlands, <https://nucleobytes.com/4peaks/index.html>, accessed 29 April 2023). A G/A + G ratio of at least 20% of the total signal was considered positive for cytosine methylation. The formula for calculating the percentage of methylation in each subject was $(G/(G + A) \times 100)$.

4.3. Statistical Analysis

To analyze and compare the total methylation levels (%) of 33 CpG *DAT1* islands in the two groups of subjects, the Mann–Whitney U test was used. The personality traits of stimulant-dependent subjects, as measured by the NEO Five-Factor Inventory, were compared with the control group using the same test.

To analyze differences in the methylation percentage at individual CpG islands in the two groups of subjects, chi-squared tests were used, with $p < 0.05$ considered statistically significant.

The relationship between the total methylation levels (%) of 33 CpGs and the personality traits measured by the NEO Five-Factor Inventory was shown separately in both study groups using Pearson's linear correlation. All statistical analyses were performed using STATISTICA 13 (TIBCO Software, Inc., Palo Alto, CA, USA) and PQStat software (v. 1.8.2., Poznań, Poland).

5. Conclusions

Our analysis of the methylation status of individual CpG islands has opened up a new line of research on the biological aspects of psychostimulant addiction. The methylation analysis presented in our study makes it possible to combine the biology of addiction with elements of the analysis of aspects of personality testing. This is an important issue that, for the time being, remains at the level of basic research, but which offers the hope of being used in the future for the individualized treatment of patients, taking into account criteria related to psychology, biology, genetics, and epigenetics.

Author Contributions: Conceptualization, R.R., K.C. and A.G.; methodology, M.L. and K.C.; formal analysis, K.C.; investigation, R.R., M.L., K.C. and M.T.K.; resources, K.C.; data curation, R.R.; writing—original draft preparation, R.R., A.G., J.C., A.S.-P., M.T.K. and B.K.; writing—review and editing, A.G., K.C., A.G., J.C., A.S.-P. and R.R.; visualization, K.C.; supervision, A.G.; project administration, K.C.; acquisition, A.G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This project was financed by the program of the Minister of Science and Higher Education in Poland under the name “Regional Initiative of Excellence” in 2019–2022, project number 002/RID/2018/19, amount of financing PLN 12,000,000.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki principles and approved by the Bioethics Committee of the Pomeranian Medical University in Szczecin (KB-0012/106/16).

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Data are contained within the article.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Nwonu, C.N.S.; Nwonu, P.C.; Ude, R.A. Neurobiological Underpinnings in Drug Addiction. *West. Afr. J. Med.* **2022**, *39*, 874–884. [[PubMed](#)]
2. Liu, J.; Wu, R.; Li, J.-X. TAAR1 and Psychostimulant Addiction. *Cell. Mol. Neurobiol.* **2020**, *40*, 229–238. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Lappin, J.M.; Sara, G.E. Psychostimulant Use and the Brain. *Addiction* **2019**, *114*, 2065–2077. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Moriyama, T.S.; Polanczyk, G.V.; Terzi, F.S.; Faria, K.M.; Rohde, L.A. Psychopharmacology and Psychotherapy for the Treatment of Adults with ADHD—A Systematic Review of Available Meta-Analyses. *CNS Spectr.* **2013**, *18*, 296–306. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Kreek, M.J.; Nielsen, D.A.; LaForge, K.S. Genes Associated with Addiction: Alcoholism, Opiate, and Cocaine Addiction. *Neuromolecular Med.* **2004**, *5*, 85–108. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Blanco-Gandia, M.C.; Montagud-Romero, S.; Rodríguez-Arias, M. Binge Eating and Psychostimulant Addiction. *World J. Psychiatry* **2021**, *11*, 517. [[CrossRef](#)]
7. Nestler, E.J. Molecular Basis of Long-Term Plasticity Underlying Addiction. *Nat. Rev. Neurosci.* **2001**, *2*, 119–128. [[CrossRef](#)]
8. Robison, A.J.; Nestler, E.J. Transcriptional and Epigenetic Mechanisms of Addiction. *Nat. Rev. Neurosci.* **2011**, *12*, 623–637. [[CrossRef](#)]
9. Vassoler, F.M.; Sadri-Vakili, G. Mechanisms of Transgenerational Inheritance of Addictive-like Behaviors. *Neuroscience* **2014**, *264*, 198–206. [[CrossRef](#)]
10. Waddington, C.H. The Epigenotype. 1942. *Int. J. Epidemiol.* **2012**, *41*, 10–13. [[CrossRef](#)]
11. Lüscher, C. The Emergence of a Circuit Model for Addiction. *Annu. Rev. Neurosci.* **2016**, *39*, 257–276. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Baik, J.H. Dopamine Signaling in Reward-Related Behaviors. *Front. Neural Circuits* **2013**, *7*, 152. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Sullivan, D.; Pinsonneault, J.K.; Papp, A.C.; Zhu, H.; Lemeshow, S.; Mash, D.C.; Sadee, W. Dopamine Transporter DAT and Receptor DRD2 Variants Affect Risk of Lethal Cocaine Abuse: A Gene-Gene-Environment Interaction. *Transl. Psychiatry* **2013**, *3*, e222. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Merchant, B.A.; Madura, J.D. Insights from Molecular Dynamics: The Binding Site of Cocaine in the Dopamine Transporter and Permeation Pathways of Substrates in the Leucine and Dopamine Transporters. *J. Mol. Graph. Model.* **2012**, *38*, 1–12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Norregaard, L.; Gether, U. The Monoamine Neurotransmitter Transporters: Structure, Conformational Changes and Molecular Gating. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel* **2001**, *4*, 591–601. [[PubMed](#)]
16. Khodayari, N.; Garshasbi, M.; Fadaei, F.; Rahimi, A.; Hafizi, L.; Ebrahimi, A.; Najmabadi, H.; Ohadi, M. Association of the Dopamine Transporter Gene (DAT1) Core Promoter Polymorphism -67T Variant with Schizophrenia. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* **2004**, *129*, 10–12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

17. Zhang, H.; Li, S.; Wang, M.; Vukusic, B.; Pristupa, Z.B.; Liu, F. Regulation of Dopamine Transporter Activity by Carboxypeptidase E. *Mol. Brain* **2009**, *2*, 10. [[CrossRef](#)]
18. De Nardi, L.; Carpentieri, V.; Pascale, E.; Pucci, M.; D'addario, C.; Cerniglia, L.; Adriani, W.; Cimino, S. Involvement of DAT1 Gene on Internet Addiction: Cross-Correlations of Methylation Levels in 5'-UTR and 3'-UTR Genotypes, Interact with Impulsivity and Attachment-Driven Quality of Relationships. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* **2020**, *17*, 7956. [[CrossRef](#)]
19. Garris, P.A.; Ciolkowski, E.L.; Pastore, P.; Wightman, R.M. Efflux of Dopamine from the Synaptic Cleft in the Nucleus Accumbens of the Rat Brain. *J. Neurosci.* **1994**, *14*, 6084–6093. [[CrossRef](#)]
20. Hersch, S.M.; Yi, H.; Heilman, C.J.; Edwards, R.H.; Levey, A.I. Subcellular Localization and Molecular Topology of the Dopamine Transporter in the Striatum and Substantia Nigra. *J. Comp. Neurol.* **1997**, *388*, 211–217. [[CrossRef](#)]
21. Mohamed Jaber Monoamine Transporters. In *Psychopharmacogenetics*; Springer: Boston, MA, USA, 2006; pp. 333–355.
22. Ducci, F.; Goldman, D. The Genetic Basis of Addictive Disorders. *Psychiatr. Clin. North. Am.* **2012**, *35*, 495–519. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Walker, D.M.; Nestler, E.J. Neuroepigenetics and Addiction. *Handb. Clin. Neurol.* **2018**, *148*, 747. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Smith, A.C.W.; Kenny, P.J. MicroRNAs Regulate Synaptic Plasticity Underlying Drug Addiction. *Genes. Brain Behav.* **2018**, *17*, e12424. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Jia, X.; Wang, F.; Han, Y.; Geng, X.; Li, M.; Shi, Y.; Lu, L.; Chen, Y. MiR-137 and MiR-491 Negatively Regulate Dopamine Transporter Expression and Function in Neural Cells. *Neurosci. Bull.* **2016**, *32*, 512. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Cimino, S.; Cerniglia, L.; Ballarotto, G.; Marzilli, E.; Pascale, E.; D'Addario, C.; Adriani, W.; Icro Maremmanni, A.G.; Tambelli, R. Children's DAT1 Polymorphism Moderates the Relationship Between Parents' Psychological Profiles, Children's DAT Methylation, and Their Emotional/Behavioral Functioning in a Normative Sample. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* **2019**, *16*, 2567. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Rhodes, J.S.; Crabbe, J.C. Gene Expression Induced by Drugs of Abuse. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2005**, *5*, 26–33. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Laplant, Q.; Vialou, V.; Covington, H.E.; Dumitriu, D.; Feng, J.; Warren, B.L.; Maze, I.; Dietz, D.M.; Watts, E.L.; Iñiguez, S.D.; et al. Dnmt3a Regulates Emotional Behavior and Spine Plasticity in the Nucleus Accumbens. *Nat. Neurosci.* **2010**, *13*, 1137–1143. [[CrossRef](#)]
29. Han, J.; Li, Y.; Wang, D.; Wei, C.; Yang, X.; Sui, N. Effect of 5-Aza-2-Deoxycytidine Microinjecting into Hippocampus and Prelimbic Cortex on Acquisition and Retrieval of Cocaine-Induced Place Preference in C57BL/6 Mice. *Eur. J. Pharmacol.* **2010**, *642*, 93–98. [[CrossRef](#)]
30. Barros, M.; Dempster, E.L.; Illott, N.; Chabrawi, S.; Maior, R.S.; Tomaz, C.; De Souza Silva, M.A.; Huston, J.P.; Mill, J.; Müller, C.P. Decreased Methylation of the NK3 Receptor Coding Gene (TACR3) after Cocaine-Induced Place Preference in Marmoset Monkeys. *Addict. Biol.* **2013**, *18*, 452–454. [[CrossRef](#)]
31. Anier, K.; Malinovskaja, K.; Aonurm-Helm, A.; Zharkovsky, A.; Kalda, A. DNA Methylation Regulates Cocaine-Induced Behavioral Sensitization in Mice. *Neuropsychopharmacology* **2010**, *35*, 2450–2461. [[CrossRef](#)]
32. Waterland, R.A. Assessing the Effects of High Methionine Intake on DNA Methylation. *J. Nutr.* **2006**, *136*, 1706S–1710S. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Weaver, I.C.G.; Champagne, F.A.; Brown, S.E.; Dymov, S.; Sharma, S.; Meaney, M.J.; Szyf, M. Reversal of Maternal Programming of Stress Responses in Adult Offspring through Methyl Supplementation: Altering Epigenetic Marking Later in Life. *J. Neurosci.* **2005**, *25*, 11045–11054. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Roth, T.L.; Lubin, F.D.; Funk, A.J.; Sweatt, J.D. Lasting Epigenetic Influence of Early-Life Adversity on the BDNF Gene. *Biol. Psychiatry* **2009**, *65*, 760–769. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Anier, K.; Zharkovsky, A.; Kalda, A. S-Adenosylmethionine Modifies Cocaine-Induced DNA Methylation and Increases Locomotor Sensitization in Mice. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2013**, *16*, 2053–2066. [[CrossRef](#)]
36. Kalda, A.; Zharkovsky, A. Epigenetic Mechanisms of Psychostimulant-Induced Addiction. *Int. Rev. Neurobiol.* **2015**, *120*, 85–105. [[CrossRef](#)]
37. Jasiewicz, A.; Rubiś, B.; Samochowiec, J.; Małecka, I.; Suchanecka, A.; Jabłoński, M.; Grzywacz, A. DAT1 Methylation Changes in Alcohol-Dependent Individuals vs. Controls. *J. Psychiatr. Res.* **2015**, *64*, 130–133. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



genes



Article

The Influence of Genetic Polymorphic Variability of the Catechol-O-methyltransferase Gene in a Group of Patients with a Diagnosis of Behavioural Addiction, including Personality Traits

Remigiusz Reclaw, Krzysztof Chmielowiec, Aleksandra Suchanecka, Agnieszka Boroń, Jolanta Chmielowiec, Aleksandra Strońska-Pluta, Michał Tomasz Kowalski, Jolanta Masiak, Grzegorz Trybek and Anna Grzywacz

Special Issue

The Genetic Basis of Mental Disorders

Edited by

Dr. Sarah Tosato and Dr. Chiara Bonetto



<https://doi.org/10.3390/genes15030299>

Article

The Influence of Genetic Polymorphic Variability of the Catechol-O-methyltransferase Gene in a Group of Patients with a Diagnosis of Behavioural Addiction, including Personality Traits

Remigiusz Reclaw ¹, Krzysztof Chmielowiec ², Aleksandra Suchanecka ³, Agnieszka Boroń ⁴, Jolanta Chmielowiec ², Aleksandra Strońska-Pluta ³, Michał Tomasz Kowalski ⁵, Jolanta Masiak ⁶, Grzegorz Trybek ^{7,8} and Anna Grzywacz ^{3,*}

- ¹ Foundation Strong in the Spirit, 60 Sienkiewicza St., 90-058 Łódź, Poland; health@mocniwduchu.pl
- ² Department of Hygiene and Epidemiology, Collegium Medicum, University of Zielona Góra, 28 Zyty St., 65-046 Zielona Góra, Poland; chmie1@vp.pl (K.C.); chmie1@o2.pl (J.C.)
- ³ Independent Laboratory of Health Promotion, Pomeranian Medical University in Szczecin, Powstańców Wielkopolskich 72 St., 70-111 Szczecin, Poland; aleksandra.suchanecka@pum.edu.pl (A.S.); aleksandra.stronska@pum.edu.pl (A.S.-P.)
- ⁴ Department of Clinical and Molecular Biochemistry, Pomeranian Medical University in Szczecin, Aleja Powstańców Wielkopolskich 72 St., 70-111 Szczecin, Poland; agnieszka.boron@pum.edu.pl
- ⁵ Clinical Department of Cardiology, Nowa Sól Multidisciplinary Hospital, 67-100 Nowa Sol, Poland; kowaltmd@wp.pl
- ⁶ II Department of Psychiatry and Psychiatric Rehabilitation, Medical University of Lublin, 1 Głuska St., 20-059 Lublin, Poland; jolantamasiak@wp.pl
- ⁷ Department of Oral Surgery, Pomeranian Medical University in Szczecin, 70-111 Szczecin, Poland; grzegorz.trybek@pum.edu.pl
- ⁸ Maxillofacial Surgery Clinic, 4th Military Clinical Hospital in Wrocław, ul. Rudolfa Weigla 5, 50-981 Wrocław, Poland
- * Correspondence: anna.grzywacz@pum.edu.pl; Tel.: +48-91441-47-46



Citation: Reclaw, R.; Chmielowiec, K.; Suchanecka, A.; Boroń, A.; Chmielowiec, J.; Strońska-Pluta, A.; Kowalski, M.T.; Masiak, J.; Trybek, G.; Grzywacz, A. The Influence of Genetic Polymorphic Variability of the Catechol-O-methyltransferase Gene in a Group of Patients with a Diagnosis of Behavioural Addiction, including Personality Traits. *Genes* **2024**, *15*, 299. <https://doi.org/10.3390/genes15030299>

Academic Editor: Xingguang Luo

Received: 2 February 2024

Revised: 24 February 2024

Accepted: 24 February 2024

Published: 26 February 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Gambling Disorder (GD) is characterised by a harmful, enduring, and recurrent involvement in betting-related behaviours. Therefore, GD shares similar biological mechanisms and symptoms to substance use disorders (SUD). Therefore, in this study, we chose the behavioural addictions group. During the examination and recruitment to the study, it turned out that all the people undergoing treatment for gambling addiction were also addicted to amphetamines, which is consistent with the biological mechanism related to cerebral neurotransmission. The aim of the study was to investigate the association of the *COMT* gene polymorphism with behavioral addiction. The study group consisted of 307 participants: 107 men with gambling disorder and amphetamine dependency (mean age = 27.51, SD = 5.25) and 200 non-addicted, nor dependent, free from neuro-psychiatric disorders control group men (mean age = 20.20, SD = 4.51). Both groups were subjected to psychometric evaluation using the State-Trait Anxiety Inventory and the NEO Five-Factor Personality Inventory. Genomic DNA was extracted from venous blood following standard protocols. Determination of the rs4680 polymorphism in the *COMT* gene was performed using the real-time PCR technique. Statistically significant differences in the frequency of rs4680 genotypes were found in the tested sample of subjects compared with the control group ($p = 0.03543$). Subjects with gambling disorder and amphetamine use disorder compared to the control group obtained higher scores in the assessment of the STAI trait scale ($p = 0.0019$), state scale ($p < 0.0000$), and NEO-FFI Neuroticism scale ($p < 0.0000$). Significantly lower results were obtained for the NEO-FFI Agreeability scale ($p < 0.0000$). Additionally, a significant statistical impact of gambling disorder and amphetamine use disorder, and the *COMT* rs4680 genotype was demonstrated for the score of the STAI trait ($p = 0.0351$) and state ($p = 0.0343$) and the NEO-FFI Conscientiousness scale ($p = 0.0018$). We conclude that *COMT* and its polymorphic variant influence the development of addiction. Still, considering its multifactorial and polygenic nature, it should be combined with other factors such as personality.

Keywords: behavioral addiction; personality traits; COMT rs4680

1. Introduction

Behavioral addictions have an identical neurobiological basis as substance addictions. Gambling Disorder (GD) is characterised by a harmful, enduring, and recurrent involvement in betting-related behaviours [1]. Hence, Gambling Disorder exhibits biological processes and symptoms that are akin to those found in Substance Use Disorders (SUD) [2]. Therefore, in the present study, a homogeneous subgroup of people with behavioural addiction was selected. This choice was dictated by the literature but also by the fact that in rehab facilities, groups of behavioural addicts are formed as separate, homogeneous subgroups. Previous research has shown that GD and SUD often co-occur [3,4], and both of these conditions may be very different in a population with only one of these diagnoses [4]. Specifically, symptoms of SUD and coexisting GD are typically complex [5,6], and treatment can be particularly challenging [7]. The relative time of onset of substance use disorder and gambling disorder is problematic. Specifically, SUD may precede GD in some individuals, whereas it might follow GD in another group, while the co-occurring disorders are more often present before GD [8,9]. Therefore, in this study, we chose the behavioural addictions group. During the examination and recruitment to the study, it turned out that all people undergoing treatment for gambling addiction were also addicted to amphetamines, which is consistent with the biological mechanism related to cerebral neurotransmission. It was also important for us to select a gene related to brain neurotransmission, which was described in detail in the introduction.

Impairments in many post-cognitive areas, including inhibition, working memory, decision-making, cognitive flexibility and executive planning, have been reported in studies regarding adults with gambling problems [10,11]. Dopamine is crucial for cognitive functions that rely on the frontostriatal circuit. It is believed that dopamine imbalances can significantly influence impulsive behaviours, especially those associated with decision-making and inhibitory control [12]. A unique role in the regulation of dopamine in the prefrontal cortex is played by the enzyme catechol-O-methyltransferase (COMT) [13] and is recognised in many psychiatric disorders, particularly those characterised by high impulsivity, as a potential pharmacological target for the treatment of cognitive dysfunction [14,15].

As the dopaminergic system undoubtedly influences the development and course of addiction, the present study focused on the gene encoding one of the enzymes involved in the metabolism of dopamine, catechol-o-methyltransferase, which is a postsynaptic enzyme that degrades catecholamines (epinephrine, dopamine and norepinephrine) [16]. In the *COMT* gene, mapped to chromosome 22q11.1-q11.2, with a size of approximately 27 Kbp, up to 345 polymorphisms have been identified. One functional single nucleotide polymorphism (rs4680) is caused by guanine to adenine substitution at codon 158, resulting in a change of valine (Val) to methionine (Met). This polymorphism may affect dopamine levels, particularly in the prefrontal cortex [17]. Carriers of the Val158 allele synthesise a thermostable form of the enzyme [18], with 40% higher brain activity than the Met158 allele at normal body temperature. As these two alleles are additive, heterozygotes show intermediate activity [19]. Higher extracellular dopamine levels in prefrontal cortex areas and better performance in cognitive tasks have been reported for the low-activity Met158 allele [20]. The Val158 allele, on the other hand, has been associated with positive processing of the signals related to aversive stimuli [21]. This polymorphism has been identified as a risk factor for several neuropsychiatric disorders, including substance use and addiction, obsessive-compulsive disorder (OCD) [22] and attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) [23]. The low-activity *COMT* allele or genotype has been linked to alcohol problems in several studies [24–26]. It has also been shown that the highly active *COMT* allele (Val158) is more common in polysubstance users [27] and heroin abusers [28].

In the present study, the gene encoding *COMT* and its functional polymorphic variant were selected due to their connection with the functioning of the dopaminergic system and the possibility of interaction with the environment. Research on this gene suggests that the effect of the *COMT* Val158Met polymorphism on behaviour should be considered in the context of gene-environment interactions rather than a direct effect. Interestingly, carriers of the methionine allele are more susceptible to stress and environmental factors in some studies of general population samples [29]. The methionine allele is associated with increased anxiety, decreased extraversion and decreased novelty seeking [30,31]. Psychostimulants have different effects in people with different *COMT* gene variants. In Val/Val subjects, amphetamine improves PFC function and performance on tasks measuring working memory or attention [32,33]. Met/Met individuals show better PFC function and are reported to have higher baseline PFC dopamine concentrations than Val/Val carriers under normal conditions [34]. However, amphetamine exposure has been shown to impair PFC function, working memory performance and attention in Met/Met carriers [32,33]. The Val158Met substitution has been shown to have sex-specific consequences. In vitro cell studies have shown that physiological levels of 17- β -estradiol can downregulate *COMT* gene transcription and *COMT* protein expression [35,36]. In another study, an association was found between Met alleles with low levels of activity and obsessive-compulsive disorder in men, but not in women [37]. Studies in mice have shown that homozygous *COMT*-knockout females develop increased anxiety in a light-dark model compared to *COMT*-knockout males. In the same study, heterozygous *COMT* knockout males showed increased aggressive behaviour compared to other male genotypes [38].

The ‘endophenotypic’ approach [39–42] is a recent conceptual approach that may help reduce the heterogeneity of substance use disorder phenotypes and provide a framework for identifying general and specific factors influencing SUD [39–42]. Considered genetically ‘simpler’ than SUDs, endophenotypes are measurable traits that lie between the clinical phenotype and the disease susceptibility genotype [39–41]. Neurocognitive function is particularly well suited as an endophenotype. It is more objective than self-reported measures. According to researchers, impulsivity has a significant relationship with addiction. The neurocognitive dimensions of impulsivity have received the strongest support as a potential SUD endophenotype among the various neurocognitive functions associated with SUD [40,43–45]. Several dimensions characterise neurocognitive impulsivity. These are typically measured using tasks that fall into one of two categories [46]: (1) decision/choice impulsivity, referring to the tendency to choose immediate but smaller rewards over delayed but larger rewards; may involve deficits in delayed gratification and self-control [41], as assessed by decision making tasks involving different risk, reward and delay events [41,47]; (2) motor/action impulsivity, referring to the ability to fail to inhibit inappropriate actions, as assessed by response inhibition tasks [48,49]. People addicted to different classes of drugs, such as opiates and stimulants, may differ significantly in these dimensions of impulsivity [50–53].

The factor related to impulsivity and other traits also seems important, as described by Boscutti et al. in 2022, considering various genetic factors [54]. Another study supporting our approach to analysis was presented by Fang et al., who examined *COMT* in a clinical context [55].

In a comprehensive and holistic approach to addiction and dependency as a dysfunction of the dopaminergic system in the brain, personality-related factors cannot be forgotten or omitted. Therefore, in the presented study we analysed personality dimensions measured by the NEO-Five Factor Inventory, and anxiety measured by the State-Trait Anxiety Inventory together with *COMT* rs4680. The aim of the study was to investigate the association of the *COMT* gene polymorphism with behavioral addiction.

We emphasise that this is the first study of its kind to consider the simultaneous analysis of psychological and genetic factors, also taking into account interactions. The study included a group of men as a homogeneous group, not only biologically but also psychologically.

2. Materials and Methods

The study group consisted of 307 subjects: 107 men with gambling disorder and amphetamine dependence, during three months of abstinence in an addiction treatment facility (mean age = 27.51, SD = 5.25) and 200 non-addicted, nor dependent, free from neuropsychiatric disorders control group men (mean age = 20.20, SD = 4.51). The study was approved by the Bioethics Committee of the Pomeranian Medical University in Szczecin (KB-0012/106/16 (17 October 2016)). All participants gave written informed consent before participating in the study. The study was conducted in the Independent Laboratory of Health Promotion at the Pomeranian Medical University in Szczecin.

2.1. Psychometric Tests

In the study group and in the control group, the NEO-FFI personality test and the State-Trait Anxiety Inventory (STAI) were performed. NEO-FFI defines five main traits—extraversion, openness, conscientiousness, agreeableness and neuroticism. The STAI inventory, on the other hand, describes anxiety as a trait and/or as a state [56]. A psychologist interpreted the results of the psychometric tests. The results were converted to the sten scale. The interpretation included Polish standards for adults, which assume a meagre rating for sten 1–2, a low rating for sten 3–4, an average rating for sten 5–6, a high rating for sten 7–8 and a very high rating for sten 9–10.

The MINI International Neuropsychiatric Interview was used to evaluate the eligibility for inclusion into the control group [57]. It is a structured diagnostic interview assessing mental disorders. Mini focuses on the patient's current condition. Past diagnoses are analysed to determine if they are clinically significant for the present.

2.2. Genotyping

Standard procedures were used to isolate genomic DNA from venous blood.

The isolation of genetic material was carried out according to ROCHE standards and procedures. The selection of reagents and primers can be found in the description of the ROCHE real-time PCR methodology.

Determination of the rs4680 polymorphism in the *COMT* gene was performed using the real-time PCR technique. Melting curves were generated for each sample by plotting the fluorescence signal as a function of temperature. The peaks of the *COMT* rs4680 polymorphic site were read at 53.29 °C for the A allele and at 59.93 °C for the G allele.

2.3. Statistical Analysis

The HWE software was used to test the concordance of the alleles frequency distribution with the Hardy–Weinberg equilibrium (<https://wpcalc.com/en/equilibrium-hardy-weinberg/> (accessed on 3 December 2023)).

A multivariate analysis of factor effects ANOVA was used to analyse the relations between *COMT* rs4680 variants, gambling disorder and amphetamine dependency, and control subjects, as well as the NEO Five-Factor Inventory [NEO-FFI/scale STAI/ × genetic feature × control and gambling disorder and amphetamine dependency × (genetic feature × control and gambling disorder and amphetamine dependency)]. The homogeneity of variance condition was met (Levene test $p > 0.05$). The variables under analysis did not follow a normal distribution. The U Mann–Whitney test was used to compare sten scores for the NEO Five-Factor Inventory (Neuroticism, Extraversion, Openness, Agreeableness, and Conscientiousness). The association of the *COMT* rs4680 genotype and alleles in both groups was tested using the chi-squared test ($n = 307$, $\phi = 0.15$; $\alpha = 0.05$; statistical power 0.646). The computations were performed using STATISTICA 13 (Tibco Software Inc., Palo Alto, CA, USA) for Windows (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

3. Results

The frequency distributions were consistent with the Hardy–Weinberg equilibrium (HWE) in both the group with a gambling disorder and amphetamine use disorder, as well as the control group (Table 1).

Table 1. Hardy-Weinberg's equilibrium for the *COMT* rs4680 polymorphism.

Hardy-Weinberg Equilibrium including Analysis for Ascertainment Bias		Observed (Expected)	Allele Freq	χ^2 (p Value)
<i>COMT</i> rs4680 Subjects with gambling disorder and amphetamine use disorder <i>n</i> = 107	G/A	26 (29.8)	p (ins) = 0.47 q (del) = 0.53	2.212 (0.137)
	A/A	61 (53.3)		
	G/G	20 (23.8)		
<i>COMT</i> rs4680 Control <i>n</i> = 200	G/A	72 (66.1)	p (ins) = 0.43 q (del) = 0.57	2.889 (0.0891)
	A/A	86 (97.8)		
	G/G	42 (36.1)		

p—statistical significance, χ^2 test.

Statistically significant differences in the frequency of *COMT* rs4680 genotypes were found in the tested sample of subjects with gambling disorder and amphetamine use disorder compared with the control group (G/A 0.57 vs. G/A 0.42; A/A 0.24 vs. A/A 0.36; G/G 0.19 vs. G/G 0.22, $\chi^2 = 6.681$, *p* = 0.03543). No statistically significant differences in the frequency of *COMT* rs4680 alleles were found between subjects with gambling disorder and amphetamine use disorder and the control group (A 0.53 vs. A 0.57; G 0.47 vs. G 0.43, $\chi^2 = 0.990$, *p* = 0.3187) (Table 2).

Table 2. Frequency of the genotypes and alleles of the *COMT* rs4680 polymorphism in the subjects with gambling disorder and amphetamine use disorder and control subjects.

	<i>COMT</i> rs4680				
	Genotypes			Alleles	
	G/A <i>n</i> (%)	A/A <i>n</i> (%)	G/G <i>n</i> (%)	A <i>n</i> (%)	G <i>n</i> (%)
Subjects with gambling disorder and amphetamine use disorder <i>n</i> = 107	61 (57.01%)	26 (24.30%)	20 (18.69%)	113 (52.80%)	101 (47.20%)
Control <i>n</i> = 200	86 (42.00%)	72 (36.00%)	42 (22.00%)	228 (57.00%)	172 (43.0%)
χ^2 (<i>p</i> value)	6.681 (0.03543) *			0.990 (0.3187)	

n—number of subjects. *—significant statistical differences.

The means and standard deviations of the NEO-FFI and STAI state and trait scores for subjects with gambling and amphetamine use disorders and controls are shown in Table 3.

Subjects with gambling disorder and amphetamine use disorder compared to the control group obtained higher scores in the assessment of STAI trait scale (6.98 vs. 5.33; *Z* = 3.106; *p* = 0.0019), and state scale (5.60 vs. 4.77; *Z* = 5.575; *p* < 0.0000), and NEO-FFI Neuroticism scale (6.58 vs. 4.76; *Z* = 6.657; *p* < 0.0000). Significantly lower results were obtained for the NEO-FFI Agreeability scale (4.28 vs. 5.54; *Z* = −4.941; *p* < 0.0000).

Table 3. STAI and NEO Five-Factor Inventory sten scores in subjects with gambling disorder and amphetamine use disorder, and controls.

STAI/NEO Five-Factor Inventory	Subjects with Gambling Disorder and Amphetamine Use Disorder M $\pm$ SD (n = 107)	Control M $\pm$ SD (n = 200)	Z	(p-Value)
STAI trait scale	6.98 $\pm$ 2.30	5.33 $\pm$ 2.14	3.106	0.0019 *
STAI state scale	5.60 $\pm$ 2.61	4.77 $\pm$ 2.11	5.575	0.0000 *
Neuroticism scale	6.58 $\pm$ 2.28	4.76 $\pm$ 1.94	6.657	0.0000 *
Extraversion scale	5.99 $\pm$ 2.18	6.28 $\pm$ 2.00	−1.143	0.2529
Openness scale	4.77 $\pm$ 2.02	4.56 $\pm$ 1.64	0.765	0.4442
Agreeability scale	4.28 $\pm$ 1.82	5.54 $\pm$ 2.04	−4.941	0.0000 *
Conscientiousness scale	5.57 $\pm$ 2.24	5.62 $\pm$ 2.15	0.119	0.9054

p, statistical significance with Mann–Whitney U-test; n, number of subjects; M $\pm$ SD, mean $\pm$ standard deviation; * statistically significant differences.

The results of the 2×3 factorial ANOVA of the NEO Five-Factor Personality Inventory and the State-Trait Anxiety Inventory sten scales are summarised in Table 4. The significant statistical impact of gambling disorder and amphetamine use disorder and the *COMT* rs4680 genotype was demonstrated for the score of the STAI trait scale. There was a statistically significant effect of the *COMT* rs4680 genotype interaction and gambling disorder and amphetamine use disorder or not using (control group), on the STAI trait scale ($F_{2,301} = 3.39$; $p = 0.0351$; $\eta^2 = 0.022$; Figure 1). The power observed for this factor was 64%, and approximately 2% was explained by the polymorphism of *COMT* rs4680 and gambling disorder and amphetamine use disorder, or lack thereof, on STAI trait score variance. There was also a statistically significant effect of gambling disorder and amphetamine use disorder or the control group on the STAI state scale score ($F_{2,301} = 3.41$; $p = 0.0343$; $\eta^2 = 0.022$; Figure 2). The power observed for this factor was 64%, and approximately 2% was explained by the polymorphism of *COMT* rs4680 and gambling disorder and amphetamine use disorder, or lack thereof, on the variance in the STAI state scale score.

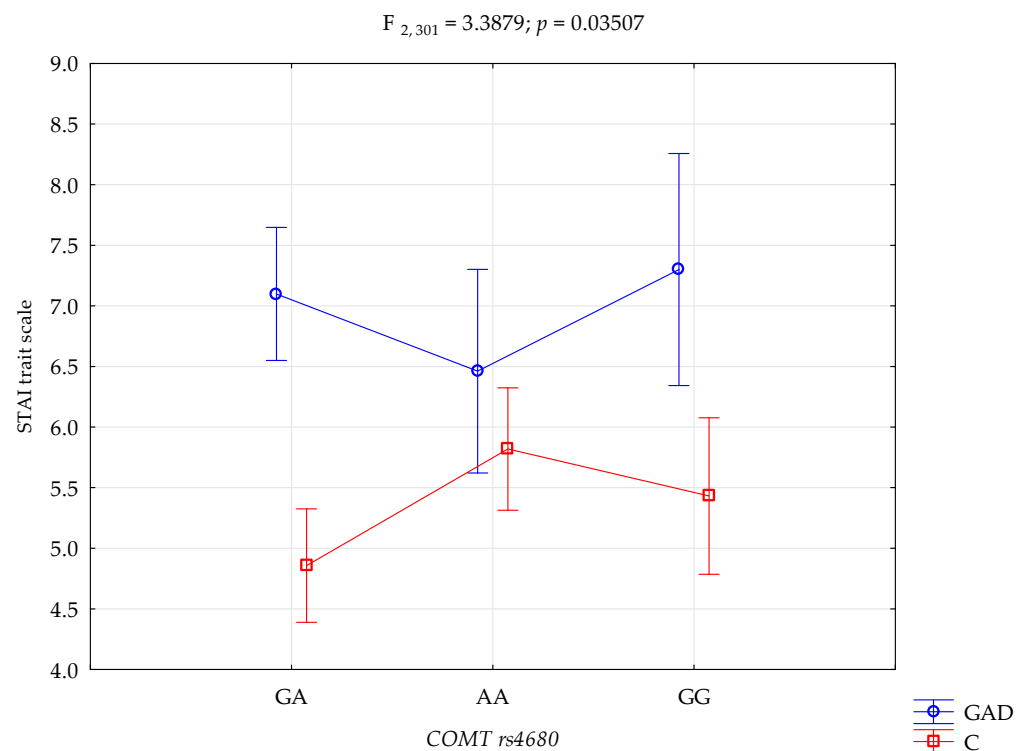
**Figure 1.** Interaction between gambling disorder and amphetamine use disorder (GAD); $n = 107$ /control (C), and *COMT* rs4680, and STAI trait scale.

Table 4. The results of 2×3 factorial ANOVA for gambling and amphetamine use disorder subjects and controls, NEO-FFI, STAI and COMT rs4680.

STAI/NEO Five-Factor Inventory	Group	COMT rs4680			Factor	ANOVA		
		G/A <i>n</i> = 145 M ± SD	A/A <i>n</i> = 98 M ± SD	G/G <i>n</i> = 64 M ± SD		F (<i>p</i> Value)	η^2	Power ($\alpha = 0.05$)
STAI trait scale	Gambling disorder and amphetamine use disorder subjects (GAD); <i>n</i> = 107	7.10 ± 2.28	6.46 ± 2.27	7.30 ± 2.43	intercept GAD/C COMT rs4680	$F_{1,301} = 1881.08$ ($p < 0.0001$) $F_{1,301} = 31.07$ ($p < 0.0001$) * $F_{2,301} = 0.64$ ($p = 0.5245$)	0.862 0.094 0.004	1.000 1.000 0.158
	Control (C); <i>n</i> = 200	4.86 ± 2.05	5.82 ± 2.06	5.43 ± 2.29	GAD/C × COMT rs4680	$F_{2,301} = 3.39$ ($p = 0.0351$) *	0.022	0.636
STAI state scale	Gambling disorder and amphetamine use disorder subjects (GAD); <i>n</i> = 107	5.77 ± 2.57	4.81 ± 2.81	6.10 ± 2.36	intercept GAD/C COMT rs4680	$F_{1,301} = 1229.59$ ($p < 0.0001$) $F_{1,301} = 5.87$ ($p = 0.0160$) * $F_{2,301} = 1.74$ ($p = 0.1775$)	0.803 0.019 0.011	1.000 0.676 0.363
	Control (C); <i>n</i> = 200	4.32 ± 1.94	5.04 ± 2.17	5.16 ± 2.21	GAD/C × COMT rs4680	$F_{2,301} = 3.41$ ($p = 0.0343$) *	0.022	0.639
Neuroticism scale	Gambling disorder and amphetamine use disorder subjects (GAD); <i>n</i> = 107	6.72 ± 2.31	6.16 ± 2.32	6.65 ± 2.21	intercept GAD/C COMT rs4680	$F_{1,301} = 1739.99$ ($p < 0.0001$) $F_{1,301} = 41.00$ ($p < 0.0001$) * $F_{2,301} = 0.09$ ($p = 0.9103$)	0.853 0.120 0.001	1.000 1.000 0.064
	Control (C); <i>n</i> = 200	4.44 ± 1.92	5.10 ± 1.76	4.79 ± 2.21	GAD/C × COMT rs4680	$F_{2,301} = 2.12$ ($p = 0.1216$)	0.014	0.434
Extraversion scale	Gambling disorder and amphetamine use disorder subjects (GAD); <i>n</i> = 107	6.03 ± 2.21	6.28 ± 2.17	5.50 ± 2.16	intercept GAD/C COMT rs4680	$F_{1,301} = 2029.80$ ($p < 0.0001$) $F_{1,301} = 1.29$ ($p = 0.2577$) $F_{2,301} = 1.27$ ($p = 0.2833$)	0.871 0.004 0.008	1.000 0.204 0.274
	Control (C); <i>n</i> = 200	6.62 ± 2.11	6.00 ± 1.90	6.11 ± 1.89	GAD/C × COMT rs4680	$F_{2,301} = 1.21$ ($p = 0.2992$)	0.008	0.264
Openness scale	Gambling disorder and amphetamine use disorder subjects (GAD); <i>n</i> = 107	4.82 ± 2.12	4.88 ± 2.15	4.50 ± 1.57	intercept GAD/C COMT rs4680	$F_{1,301} = 1558.87$ ($p < 0.0001$) $F_{1,301} = 0.88$ ($p = 0.3489$) $F_{2,301} = 0.95$ ($p = 0.3893$)	0.839 0.003 0.006	1.000 0.155 0.213
	Control (C); <i>n</i> = 200	4.73 ± 1.69	4.54 ± 1.53	4.27 ± 1.70	GAD/C × COMT rs4680	$F_{2,301} = 0.12$ ($p = 0.8881$)	0.001	0.068
Agreeability scale	Gambling disorder and amphetamine use disorder subjects (GAD); <i>n</i> = 107	4.03 ± 1.79	4.76 ± 1.88	4.45 ± 1.85	intercept GAD/C COMT rs4680	$F_{1,301} = 1471.13$ ($p < 0.0001$) $F_{1,301} = 18.70$ ($p < 0.0001$) * $F_{2,301} = 0.72$ ($p = 0.4854$)	0.831 0.059 0.005	1.000 0.991 0.172
	Control (C); <i>n</i> = 200	5.57 ± 2.04	5.51 ± 2.12	5.52 ± 1.97	GAD/C × COMT rs4680	$F_{2,301} = 1.01$ ($p = 0.3648$)	0.007	0.226
Conscientiousness scale	Gambling disorder and amphetamine use disorder subjects (GAD); <i>n</i> = 107	5.16 ± 2.25	6.36 ± 2.23	5.80 ± 1.99	intercept GAD/C COMT rs4680	$F_{1,301} = 1622.79$ ($p < 0.0001$) $F_{1,301} = 0.59$ ($p = 0.4441$) $F_{2,301} = 0.15$ ($p = 0.1539$)	0.844 0.002 0.001	1.000 0.119 0.073
	Control (C); <i>n</i> = 200	6.12 ± 2.21	5.19 ± 1.93	5.36 ± 2.21	GAD/C × COMT rs4680	$F_{2,301} = 6.47$ ($p = 0.0018$) *	0.041	0.904

*—significant result; GAD—Gambling disorder and amphetamine use disorder; M ± SD—mean ± standard deviation.

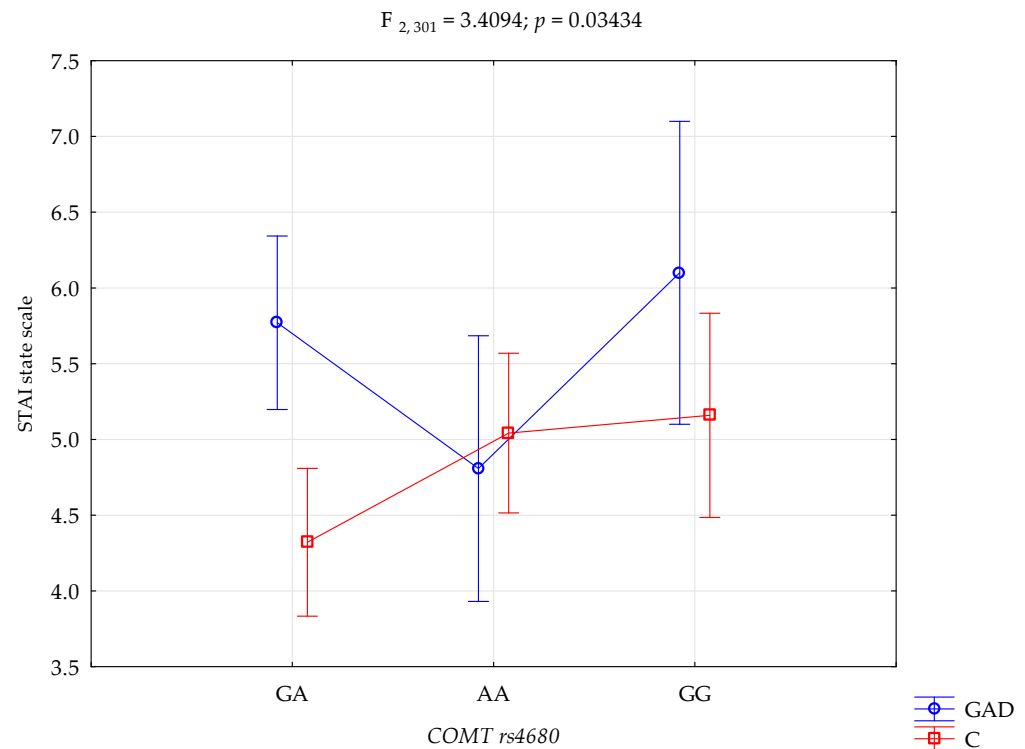


Figure 2. Interaction between gambling disorder and amphetamine use disorder (GAD); $n = 107$ /control (C), and *COMT* rs4680, and STAI state scale.

A significant statistical impact of gambling disorder and amphetamine use disorder and the *COMT* rs4680 genotype was demonstrated for the score of the NEO-FFI Conscientiousness scale. There was a statistically significant effect of the *COMT* rs4680 genotype interaction and gambling disorder and amphetamine use disorder or not using (control group) on the Conscientiousness scale ($F_{2,301} = 6.47; p = 0.0018; \eta^2 = 0.041$; Figure 3). The power observed for this factor was 90%, and approximately 4% was explained by the polymorphism of *COMT* rs4680, gambling disorder and amphetamine use disorder, or lack thereof, on the trait of the Conscientiousness score variance. Table 5 shows the results of the post hoc test.

There is a significant interaction between gambling disorder and amphetamine use disorder, and the *COMT* gene rs4680 polymorphism in the outcome score level of anxiety as a trait. Subjects with gambling disorder and amphetamine use disorder with the GA genotype have significantly higher levels of anxiety as a trait compared to the control group with the GA, AA and GG genotypes. Similarly, gambling disorder and amphetamine use disorder subjects with the GG genotype have significantly higher levels of anxiety as a trait compared to the control group with the GA, AA and GG genotypes. Subjects with gambling disorder and amphetamine use disorder with the AA genotype have significantly higher levels of anxiety as a trait compared to the control group with the GA genotype. The control group with the GA genotype has significantly lower anxiety as a trait compared to the control group with the AA genotype (Table 5).

There is a significant interaction between gambling disorder and amphetamine use disorder, and the *COMT* gene rs4680 polymorphism in the outcome score level of anxiety as a state. Gambling disorder and amphetamine use disorder subjects with the GA genotype have significantly higher levels of anxiety as a state compared to the control group with the GA genotype. Gambling disorder and amphetamine use disorder subjects with the GG genotype have significantly higher levels of anxiety as a state compared to the control group with the GA genotype. The control group with the GA genotype has significantly lower levels of anxiety as a state compared to the control group with the AA and GG genotype (Table 5).

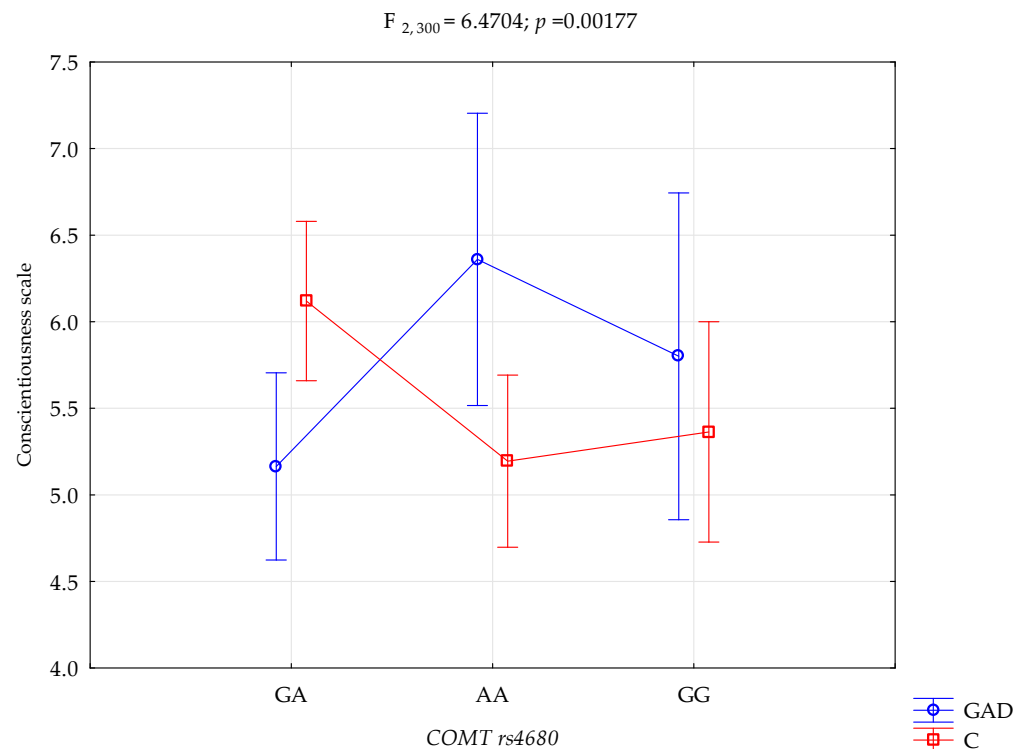


Figure 3. Interaction between gambling disorder and amphetamine use disorder (GAD)/control (C) and *COMT* rs4680 and Conscientiousness scale.

Table 5. Post hoc test (Bonferroni) analysis of interactions between gambling disorder and amphetamine use disorder, control and *COMT* rs4680 and Conscientiousness scale, anxiety as a state and as a trait.

<i>COMT</i> rs4680 and STAI State Scale						
	{1} M = 5.77	{2} M = 4.81	{3} M = 6.10	{4} M = 4.32	{5} M = 5.04	{6} M = 5.15
Gambling disorder and amphetamine use disorder G/A {1}		0.0714	0.5739	0.0002 *	0.0662	0.1747
Gambling disorder and amphetamine use disorder A/A {2}			0.0568	0.3410	0.6530	0.5323
Gambling disorder and amphetamine use disorder G/G {3}				0.0018 *	0.0663	0.1257
Control G/A {4}					0.0493 *	0.0485 *
Control A/A {5}						0.7873
Control G/G {6}						
<i>COMT</i> rs4680 and STAI Trait Scale						
	{1} M = 7.10	{2} M = 6.46	{3} M = 7.30	{4} M = 4.86	{5} M = 5.82	{6} M = 5.43
Gambling disorder and amphetamine use disorder G/A {1}		0.2125	0.7194	0.0000 *	0.0008 *	0.0001 *
Gambling disorder and amphetamine use disorder A/A {2}			0.1962	0.0011 *	0.1982	0.0567
Gambling disorder and amphetamine use disorder G/G {3}				0.0000 *	0.0075 *	0.0016 *
Control G/A {4}					0.0063 *	0.1570
Control A/A {5}						0.3527
Control G/G {6}						
<i>COMT</i> rs4680 and Conscientiousness Scale						
	{1} M = 5.16	{2} M = 6.36	{3} M = 5.80	{4} M = 6.12	{5} M = 5.19	{6} M = 5.36
Gambling disorder and amphetamine use disorder G/A {1}		0.0195 *	0.2506	0.0085 *	0.9349	0.6381
Gambling disorder and amphetamine use disorder A/A {2}			0.3847	0.6222	0.0199 *	0.0645
Gambling disorder and amphetamine use disorder G/G {3}				0.5503	0.2648	0.4511
Control G/A {4}					0.0077 *	0.0593
Control A/A {5}						0.6804
Control G/G {6}						

*—significant statistical differences, M—mean.

There is a significant interaction between gambling disorder, amphetamine use disorder, and *COMT* gene polymorphism in the outcome of Conscientiousness level. Gambling

disorder and amphetamine use disorder subjects with the GA genotype have significantly lower scores of Conscientiousness compared to the control group with the GA genotype. Conversely, gambling disorder and amphetamine use disorder subjects with the AA genotype have significantly higher scores of Conscientiousness compared to the control group with the AA genotype. Furthermore, Gambling disorder and amphetamine use disorder subjects with the GA genotype had significantly lower scores of Conscientiousness compared to the Gambling disorder and amphetamine use disorder subjects with the AA genotype. Also, the control group with the GA genotype has significantly higher scores of Conscientiousness compared to the control group with the AA genotype (Table 5).

4. Discussion

The aim of the presented study was the case-control analysis of over one hundred male subjects with amphetamine use disorder and gambling disorder. We analysed the catechol-o-methyl transferase single nucleotide polymorphism rs4680; personality was measured with the NEO-FFI inventory and anxiety was measured as a state and trait by the STAI questionnaire. Additionally, we analysed the interactions between the *COMT* genotypes, personality traits and anxiety measures. The main findings of the analyses are as follows: the GA genotype is statistically significantly more frequent in the study group compared to the control group; the study group had higher scores on the anxiety as a trait and as a state scale and higher scores on the neuroticism scale compared to the control group and lower scores on the agreeableness scale. We also showed an interaction between anxiety as a trait and the rs4680 genotypes of the *COMT* gene and conscientiousness and the rs4680 genotypes of the *COMT* gene.

In the presented study, we analysed subjects burdened with both behavioural addiction, gambling disorder and substance use disorder, amphetamines. A high degree of concordance between substance use disorders and other potentially addictive behaviours has been demonstrated in epidemiological studies [48,58–63]. There also appears to be an overlap in the psychological mechanisms at the basis of these behaviours. Specific personality traits [49], e.g., impulsivity [64], and motivational factors [65] appear to play an important role in both substance use and other potential behavioural addictions. Research also suggests a strong neurobiological link between substance use disorders and behavioural addictions from biochemical, neuroimaging, genetic and treatment perspectives [66–69]. Individuals with those disorders derive pleasure, stimulation and satisfaction from their impulsive behaviour (e.g., gambling addiction, compulsive shopping). In addition, a common psychological and molecular pathway underlying impulsive, compulsive and addictive behaviours is suggested by the Reward Deficiency Syndrome hypothesis [70]. It is often the case that methamphetamine use disorder and gambling disorder cooccur. People with both of these disorders tend to be more difficult to treat than people with only one of these disorders [9]. Compared to non-gamblers, adolescent gamblers were more likely to drink alcohol, smoke tobacco and use illicit drugs in an earlier study [62]. Similarly, the study of a sample of young people found that men who were nicotine, alcohol or cannabis users were almost twice as likely to be problem gamblers than those who were not [48]. In another study [58], it was found that people with alcohol use disorders had significantly higher scores on scales for gambling disorder, compulsive buying and sex addiction when compared to control subjects. Higher levels of impulsivity and alcohol craving were also found in people with alcohol use disorder and co-occurring behavioural addictions. The main findings of this study suggest that there is an association between the use of certain substances (in particular, the regular use of alcohol) and the severity of certain potentially addictive behaviours. In addition, some potentially addictive behaviours (problematic internet use, gambling and eating disorders) appear to be more related to substance use than others (e.g., hair pulling), suggesting that addictions may be divided into different homogeneous subgroups [71].

In our study, we analysed only male subjects since we did not encounter female subjects with both gambling disorder and amphetamine use disorder, as both of these

disorders are far more frequent in males than in females. Knowing its sex-dependent action, we chose the *COMT* gene for the analysis. The selection of the group was also justified by the analysis of the group of men as a homogeneous subgroup of addicts. This research model is justified due to psychological factors and the course of addiction.

The effect of *COMT* on sex may result from a number of possible mechanisms. In both men and women, the Met allele is associated with lower levels of *COMT* enzyme activity (relative to Val/Val). However, women have lower levels of *COMT* enzyme activity in the dorsolateral PFC [72] and blood [19] for each genotype (Val/Val, Val/Met, Met/Met) compared to men. Estrogen regulation of *COMT* may also be a contributor to its sex-specific effects [73]. In addition, significant sex differences have been shown in the dopaminergic systems affected by *COMT*, which are associated with smoking and addiction more generally [74–76]. Functional neuroimaging studies indicate that in contrast to men, women have higher basal synaptic levels of dopamine [77] and may show lower amphetamine-induced dopamine release in the striatum [78]. In smokers, the smoking-induced striatal dopamine release regional location differs between sexes as well, i.e., in men we observed increased activation of the ventral striatum, and in women of the dorsal striatum [79]. Women have been shown to experience a greater decrease in dopamine in the nucleus accumbens following nicotine withdrawal [80]. Additionally, studies have shown sex differences in the cognitive impact of dopaminergic interventions [81,82]. Furthermore, the sex-specific effects of the *COMT* genotype on cortical development and morphology have been documented [83–85]. The psychiatric phenotypes affected by the *COMT* genotype exhibit sex-specificity [73], including smoking behavior, depression, and anxiety-related phenotypes where we observe a stronger association with the Val allele in women [86–89].

Our analysis began with an examination of the frequencies of genotypes and alleles of *COMT* rs4680. Statistically significant differences were found in the frequencies of genotypes in the tested sample of subjects with gambling disorder and amphetamine use disorder compared to the control group. The GA genotype was more frequent in cases, and the AA genotype was more frequent in controls. For the alleles, we did not find significant differences. Chmielowiec et al. [90] found no statistically significant differences under the co-dominant model of genotype frequencies for rs4680 in their study regarding patients diagnosed with other-than-cocaine stimulant dependence. Allelic frequencies were also not statistically significant. Zhang et al. [91], whose study showed reduced prefrontal fractional anisotropy only in Met/Met homozygotes who were also drug users, found a significant genotype $\times$ drug use status interaction. These data suggest that Met/Met homozygotes may have an increased susceptibility to white matter structural alterations in the context of addiction, which may contribute to previously identified structural and functional prefrontal cortical deficits in addiction.

The personality and anxiety measures were the second analysis we conducted. Subjects with amphetamine use disorder and gambling disorder scored higher on the STAI trait and state scales and the NEO-FFI Neuroticism scale compared to the control group. Significantly lower scores were obtained on the NEO-FFI Agreeableness scale. While comparing the controls and the group of patients with a diagnosis of other-than-cocaine stimulants dependence, for the latter, Chmielowiec et al. [90] observed significantly higher scores on the STAI trait and state scale, and the NEO Five-Factor Inventory scale of Neuroticism and Openness. The study group had significantly lower results on the NEO Five-Factor Inventory scale of Extraversion, Agreeability, and Conscientiousness than the control group. More than half (60%) of participants were classified as having moderate or severe anxiety and/or depression in a study of correlates of anxiety and depression in people who smoke methamphetamine. In multivariate models, being in poor/very poor health, being dependent on methamphetamine and being unemployed were associated with higher odds of both moderate to severe depression and moderate to severe anxiety. Lower odds of moderate or severe depression were associated with living in a large rural town, identifying as Aboriginal and Torres Strait Islander and smoking methamphetamine. Higher odds of moderate or severe anxiety were associated with being female [92]. Anxious

people may gamble to cope with negative effects, according to stress reduction theory. It is important to examine moderators, as the literature shows mixed associations between anxiety and gambling behaviour. The research investigated how impulsivity moderates anxiety and problem gambling, as well as gambling, to cope. Since sex differences are important, the moderation of impulsivity has been examined across sexes. Results showed that at both high and low levels of impulsivity, men with higher levels of anxiety scored higher on coping motives for gambling. However, the effect size was larger for men with high impulsivity. Women did not show this moderating effect [93].

The third and final step of the presented study was the interaction analysis. A significant statistical effect of gambling disorder and amphetamine use disorder, and the *COMT* rs4680 genotype was shown for the score on the STAI trait scale. Compared to controls with the GA genotype, dependent subjects with the GA genotype have significantly higher levels of anxiety as a trait. Similarly, compared to the control group with the GG genotype, dependent subjects with the GG genotype have significantly higher levels of anxiety as a trait. There was also a statistically significant effect between gambling disorder and amphetamine use disorder and the control group on the STAI state scale score. Compared to the control group with the GA genotype, people with an addiction with the GA genotype have a significantly higher level of anxiety as a state. For the NEO-FFI Conscientiousness scale score, a significant statistical effect of gambling disorder and amphetamine dependence and the *COMT* rs4680 genotype was demonstrated. Compared to the control group with the GA genotype, dependent subjects with the GA genotype have significantly lower conscientiousness scores. Conversely, compared to the control group with the AA genotype, dependent subjects with the AA genotype have significantly higher Conscientiousness scores. The analysis of the interactions between dependency on other-than-cocaine stimulants and *COMT* rs4680, the STAI trait scale, the STAI state scale, the NEO-FFI neuroticism scale and the NEO-FFI extraversion scale showed significant results. The G/G *COMT* rs4680 genotype polymorphism was associated with higher STAI trait and STAI state scores in patients dependent on other stimulants. However, there were no such interactions in the control group, suggesting that hypodopaminergic activity in these patients may more likely be a *COMT* function [90].

5. Conclusions

In the presented study, we see that addictions should be analysed multi-factorially. We can conclude that *COMT* and its polymorphic variant influence the development of addiction. Still, considering its multifactorial and polygenic nature, it should be combined with other factors such as personality. The presented group is also interesting, as it confirms the multithreadedness and combination of behavioural addiction with substance addiction. We hope that these, and similar discoveries, will translate into clinical practice in the future.

There are also limitations to the study. A similar analysis scheme should be carried out on a larger group of subjects and taking into account a larger number of tested genes.

Author Contributions: Conceptualisation, R.R. and A.G.; methodology, A.B. and A.G.; software, K.C.; validation, J.C. and A.S.; formal analysis, K.C.; investigation, A.B.; resources, A.S.-P.; data curation, A.S.; writing—original draft preparation, A.G., R.R., K.C., A.S., A.S.-P., J.C., A.B., M.T.K. and J.M.; writing—review and editing, A.G., G.T., K.C., A.S.-P., J.C., A.B. and J.M.; visualisation, A.S.; supervision, A.G.; project administration, A.G.; funding acquisition, A.G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the National Science Center, Poland, grant number UMO2015/19/B/NZ7/03691.

Institutional Review Board Statement: Approval was obtained from the Bioethical Committee of the Pomeranian Medical University in Szczecin (KB-0012/106/16 (17 October 2016)).

Informed Consent Statement: All participants gave their written, informed consent prior to entering the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Rash, C.J.; Weinstock, J.; Patten, R. Van A Review of Gambling Disorder and Substance Use Disorders. *Subst. Abus. Rehabil.* **2016**, *7*, 3–13. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Kraus, S.W.; Etuk, R.; Potenza, M.N. Current Pharmacotherapy for Gambling Disorder: A Systematic Review. *Expert Opin. Pharmacother.* **2020**, *21*, 287–296. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Grant, J.E.; Chamberlain, S.R. Gambling and Substance Use: Comorbidity and Treatment Implications. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2020**, *99*, 109852. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Lorains, F.K.; Cowlishaw, S.; Thomas, S.A. Prevalence of Comorbid Disorders in Problem and Pathological Gambling: Systematic Review and Meta-Analysis of Population Surveys. *Addiction* **2011**, *106*, 490–498. [\[CrossRef\]](#)
5. Håkansson, A.; Karlsson, A. Suicide Attempt in Patients With Gambling Disorder—Associations With Comorbidity Including Substance Use Disorders. *Front. Psychiatry* **2020**, *11*, 593533. [\[CrossRef\]](#)
6. Sundqvist, K.; Wennberg, P. The Association between Problem Gambling and Suicidal Ideations and Attempts: A Case Control Study in the General Swedish Population. *J. Gambl. Stud.* **2022**, *38*, 319–331. [\[CrossRef\]](#)
7. Grant, J.E.; Potenza, M.N.; Kraus, S.W.; Petrakis, I.L. Naltrexone and Disulfiram Treatment Response in Veterans With Alcohol Dependence and Co-Occurring Problem-Gambling Features. *J. Clin. Psychiatry* **2017**, *78*, 15673. [\[CrossRef\]](#)
8. Kessler, R.C.; Hwang, I.; Labrie, R.; Petukhova, M.; Sampson, N.A.; Winters, K.C.; Shaffer, H.J. DSM-IV Pathological Gambling in the National Comorbidity Survey Replication. *Psychol. Med.* **2008**, *38*, 1351–1360. [\[CrossRef\]](#)
9. Wang, Y.; Zuo, J.; Hao, W.; Wu, L.; Liu, F.; Wang, Q.; He, L.; Peng, P.; Zhou, Y.; Li, M.; et al. Relationships Between Impulsivity, Methamphetamine Use Disorder and Gambling Disorder. *J. Gambl. Stud.* **2023**, *39*, 1635–1650. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
10. Ledgerwood, D.M.; Orr, E.S.; Kaploun, K.A.; Milosevic, A.; Frisch, G.R.; Rupcich, N.; Lundahl, L.H. Executive Function in Pathological Gamblers and Healthy Controls. *J. Gambl. Stud.* **2011**, *28*, 89–103. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
11. Goudriaan, A.E.; Oosterlaan, J.; De Beurs, E.; Van Den Brink, W. Neurocognitive Functions in Pathological Gambling: A Comparison with Alcohol Dependence, Tourette Syndrome and Normal Controls. *Addiction* **2006**, *101*, 534–547. [\[CrossRef\]](#)
12. Malloy-Diniz, L.F.; Lage, G.M.; Campos, S.B.; de Paula, J.J.; de Souza Costa, D.; Romano-Silva, M.A.; de Miranda, D.M.; Correa, H. Association between the Catechol O-Methyltransferase (COMT) Val158met Polymorphism and Different Dimensions of Impulsivity. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e73509. [\[CrossRef\]](#)
13. Tunbridge, E.M.; Bannerman, D.M.; Sharp, T.; Harrison, P.J. Catechol-o-Methyltransferase Inhibition Improves Set-Shifting Performance and Elevates Stimulated Dopamine Release in the Rat Prefrontal Cortex. *J. Neurosci.* **2004**, *24*, 5331–5335. [\[CrossRef\]](#)
14. Grant, J.E.; Leppink, E.W.; Redden, S.A.; Odlaug, B.L.; Chamberlain, S.R. COMT Genotype, Gambling Activity, and Cognition. *J. Psychiatr. Res.* **2015**, *68*, 371–376. [\[CrossRef\]](#)
15. Scheggia, D.; Sannino, S.; Luisa Scattoni, M.; Papaleo, F. COMT as a Drug Target for Cognitive Functions and Dysfunctions. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* **2012**, *11*, 209–221. [\[CrossRef\]](#)
16. Pavlov, K.A.; Chistiakov, D.A.; Chekhonin, V.P. Genetic Determinants of Aggression and Impulsivity in Humans. *J. Appl. Genet.* **2011**, *53*, 61–82. [\[CrossRef\]](#)
17. Akil, M.; Kolachana, B.S.; Rothmond, D.A.; Hyde, T.M.; Weinberger, D.R.; Kleinman, J.E. Catechol-O-Methyltransferase Genotype and Dopamine Regulation in the Human Brain. *J. Neurosci.* **2003**, *23*, 2008. [\[CrossRef\]](#)
18. Lachman, H.M.; Papolos, D.F.; Saito, T.; Yu, Y.M.; Szumlanski, C.L.; Weinshilboum, R.M. Human Catechol-O-Methyltransferase Pharmacogenetics: Description of a Functional Polymorphism and Its Potential Application to Neuropsychiatric Disorders. *Pharmacogenetics* **1996**, *6*, 243–250. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Weinshilboum, R.M.; Otterness, D.M.; Szumlanski, C.L. Methylation Pharmacogenetics: Catechol O-Methyltransferase, Thiopurine Methyltransferase, and Histamine N-Methyltransferase. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1999**, *39*, 19–52. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
20. Dumontheil, I.; Roggeman, C.; Ziermans, T.; Peyrard-Janvid, M.; Matsson, H.; Kere, J.; Klingberg, T. Influence of the COMT Genotype on Working Memory and Brain Activity Changes during Development. *Biol. Psychiatry* **2011**, *70*, 222–229. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
21. Mier, D.; Kirsch, P.; Meyer-Lindenberg, A. Neural Substrates of Pleiotropic Action of Genetic Variation in COMT: A Meta-Analysis. *Mol. Psychiatry* **2009**, *15*, 918–927. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Kumar, P.; Rai, V. Catechol-O-Methyltransferase Gene Val158Met Polymorphism and Obsessive Compulsive Disorder Susceptibility: A Meta-Analysis. *Metab. Brain Dis.* **2020**, *35*, 241–251. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Villemonteix, T.; De Brito, S.A.; Slama, H.; Kavec, M.; Balériaux, D.; Metens, T.; Bajiot, S.; Mary, A.; Ramoz, N.; Septier, M.; et al. Structural Correlates of COMT Val158Met Polymorphism in Childhood ADHD: A Voxel-Based Morphometry Study. *World J. Biol. Psychiatry* **2015**, *16*, 190–199. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

24. Kauhanen, J.; Hallikainen, T.; Tuomainen, T.-P.; Koulu, M.; Karvonen, M.K.; Salonen, J.T.; Tiihonen, J. Association Between the Functional Polymorphism of Catechol-O-Methyltransferase Gene and Alcohol Consumption Among Social Drinkers. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **2000**, *24*, 135–139. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Wang, T.; Franke, P.; Neidt, H.; Cichon, S.; Knapp, M.; Lichtermann, D.; Maier, W.; Propping, P.; Nöthen, M.M. Association Study of the Low-Activity Allele of Catechol-O-Methyltransferase and Alcoholism Using a Family-Based Approach. *Mol. Psychiatry* **2001**, *6*, 109–111. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Guillot, C.R.; Fanning, J.R.; Liang, T.; Berman, M.E. COMT Associations with Disordered Gambling and Drinking Measures. *J. Gambl. Stud. Co-Spons. Natl. Counc. Probl. Gambl. Inst. Study Gambl. Commer. Gaming* **2015**, *31*, 513. [[CrossRef](#)]
27. Vandenberg, D.J.; Rodriguez, L.A.; Miller, I.T.; Uhl, G.R.; Lachman, H.M. High-Activity Catechol-O-Methyltransferase Allele Is More Prevalent in Polysubstance Abusers. *Am. J. Med. Genet.* **1997**, *74*, 439–442. [[CrossRef](#)]
28. Horowitz, R.; Kotler, M.; Shufman, E.; Aharoni, S.; Kremer, I.; Cohen, H.; Ebstein, R.P. Rapid Publication Confirmation of an Excess of the High Enzyme Activity COMT Val Allele in Heroin Addicts in a Family-Based Haplotype Relative Risk Study. *Am. J. Med. Genet.* **2000**, *96*, 599–603. [[CrossRef](#)]
29. Oswald, L.M.; McCaul, M.; Choi, L.; Yang, X.; Wand, G.S. Catechol-O-Methyltransferase Polymorphism Alters Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Responses to Naloxone: A Preliminary Report. *Biol. Psychiatry* **2004**, *55*, 102–105. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Nennicioglu, Y.; Kaya, H.; Eraybar, S.; Atmaca, S.; Gorukmez, O.; Armagan, E. An Investigation of the COMT Gene Val158Met Polymorphism in Patients Admitted to the Emergency Department Because of Synthetic Cannabinoid Use. *Balk. J. Med. Genet.* **2020**, *23*, 63. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Stein, M.B.; Fallin, M.D.; Schork, N.J.; Gelernter, J. COMT Polymorphisms and Anxiety-Related Personality Traits. *Neuropsychopharmacology* **2005**, *30*, 2092–2102. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Mattay, V.S.; Goldberg, T.E.; Fera, F.; Hariri, A.R.; Tessitore, A.; Egan, M.F.; Kolachana, B.; Callicott, J.H.; Weinberger, D.R. Catechol O-Methyltransferase Val158-Met Genotype and Individual Variation in the Brain Response to Amphetamine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 6186–6191. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Hamidovic, A.; Dlugos, A.; Palmer, A.A.; De Wit, H. Catechol-O-Methyltransferase Val158met Genotype Modulates Sustained Attention in Both the Drug-Free State and in Response to Amphetamine. *Psychiatr. Genet.* **2010**, *20*, 85–92. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Bilder, R.M.; Volavka, J.; Lachman, H.M.; Grace, A.A. The Catechol-O-Methyltransferase Polymorphism: Relations to the Tonic-Phasic Dopamine Hypothesis and Neuropsychiatric Phenotypes. *Neuropsychopharmacology* **2004**, *29*, 1943–1961. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Xie, T.; Ho, S.L.; Ramsden, D. Characterization and Implications of Estrogenic Down-Regulation of Human Catechol-O-Methyltransferase Gene Transcription. *Mol. Pharmacol.* **1999**, *56*, 31–38. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Jiang, H.; Xie, T.; Ramsden, D.B.; Ho, S.L. Human Catechol-O-Methyltransferase down-Regulation by Estradiol. *Neuropharmacology* **2003**, *45*, 1011–1018. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Karayiorgou, M.; Sobin, C.; Blundell, M.L.; Galke, B.L.; Malinova, L.; Goldberg, P.; Ott, J.; Gogos, J.A. Family-Based Association Studies Support a Sexually Dimorphic Effect of COMT and MAOA on Genetic Susceptibility to Obsessive-Compulsive Disorder. *Biol. Psychiatry* **1999**, *45*, 1178–1189. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Gogos, J.A.; Morgan, M.; Luine, V.; Santha, M.; Ogawa, S.; Pfaff, D.; Karayiorgou, M. Catechol-O-Methyltransferase-Deficient Mice Exhibit Sexually Dimorphic Changes in Catecholamine Levels and Behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 9991. [[CrossRef](#)]
39. Gottesman, I.I.; Gould, T.D. The Endophenotype Concept in Psychiatry: Etymology and Strategic Intentions. *Am. J. Psychiatry* **2003**, *160*, 636–645. [[CrossRef](#)]
40. Frederick, J.A.; Iacono, W.G. Beyond the DSM: Defining Endophenotypes for Genetic Studies of Substance Abuse. *Curr. Psychiatry Rep.* **2006**, *8*, 144–150. [[CrossRef](#)]
41. Fineberg, N.A.; Potenza, M.N.; Chamberlain, S.R.; Berlin, H.A.; Menzies, L.; Bechara, A.; Sahakian, B.J.; Robbins, T.W.; Bullmore, E.T.; Hollander, E. Probing Compulsive and Impulsive Behaviors, from Animal Models to Endophenotypes: A Narrative Review. *Neuropsychopharmacology* **2010**, *35*, 591. [[CrossRef](#)]
42. Gilmore, C.S.; Malone, S.M.; Iacono, W.G. Brain Electrophysiological Endophenotypes for Externalizing Psychopathology: A Multivariate Approach. *Behav. Genet.* **2010**, *40*, 186. [[CrossRef](#)]
43. Bickel, W.K. Discounting of Delayed Rewards as an Endophenotype. *Biol. Psychiatry* **2015**, *77*, 846–847. [[CrossRef](#)]
44. Mackillop, J. Integrating Behavioral Economics and Behavioral Genetics: Delayed Reward Discounting as an Endophenotype for Addictive Disorders. *J. Exp. Anal. Behav.* **2013**, *99*, 14–31. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Kreek, M.J.; Nielsen, D.A.; Butelman, E.R.; LaForge, K.S. Genetic Influences on Impulsivity, Risk Taking, Stress Responsivity and Vulnerability to Drug Abuse and Addiction. *Nat. Neurosci.* **2005**, *8*, 1450–1457. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Winstanley, C.A.; Olsson, P.; Taylor, J.R.; Jentsch, J.D. Insight Into the Relationship Between Impulsivity and Substance Abuse From Studies Using Animal Models. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **2010**, *34*, 1306. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Hamilton, K.R.; Mitchell, M.R.; Wing, V.C.; Balodis, I.M.; Bickel, W.K.; Fillmore, M.; Lane, S.D.; Lejuez, C.W.; Littlefield, A.K.; Luijten, M.; et al. Choice Impulsivity: Definitions, Measurement Issues, and Clinical Implications. *Pers. Disord.* **2015**, *6*, 182. [[CrossRef](#)]

48. Van Rooij, A.J.; Kuss, D.J.; Griffiths, M.D.; Shorter, G.W.; Schoenmakers, T.M.; Van De Mheen, D. The (Co-)Occurrence of Problematic Video Gaming, Substance Use, and Psychosocial Problems in Adolescents. *J. Behav. Addict.* **2014**, *3*, 157. [CrossRef] [PubMed]
49. Andreassen, C.S.; Griffiths, M.D.; Gjertsen, S.R.; Krossbakken, E.; Kvam, S.; Pallesen, S. The Relationships between Behavioral Addictions and the Five-Factor Model of Personality. *J. Behav. Addict.* **2013**, *2*, 90–99. [CrossRef] [PubMed]
50. Fernández-Serrano, M.J.; Pérez-García, M.; Verdejo-García, A. What Are the Specific vs. Generalized Effects of Drugs of Abuse on Neuropsychological Performance? *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2011**, *35*, 377–406. [CrossRef]
51. Ersche, K.D.; Sahakian, B.J. The Neuropsychology of Amphetamine and Opiate Dependence: Implications for Treatment. *Neuropsychol. Rev.* **2007**, *17*, 317. [CrossRef]
52. Rogers, R.D.; Everitt, B.J.; Baldacchino, A.; Blackshaw, A.J.; Swainson, R.; Wynne, K.; Baker, N.B.; Hunter, J.; Carthy, T.; Booker, E.; et al. Dissociable Deficits in the Decision-Making Cognition of Chronic Amphetamine Abusers, Opiate Abusers, Patients with Focal Damage to Prefrontal Cortex, and Tryptophan-Depleted Normal Volunteers: Evidence for Monoaminergic Mechanisms. *Neuropsychopharmacology* **1999**, *20*, 322–339. [CrossRef]
53. Badiani, A.; Belin, D.; Epstein, D.; Calu, D.; Shaham, Y. Opiate versus Psychostimulant Addiction: The Differences Do Matter. *Nat. Rev. Neurosci.* **2011**, *12*, 685. [CrossRef]
54. Boscutti, A.; Pigoni, A.; Delvecchio, G.; Lazzaretti, M.; Mandolini, G.M.; Girardi, P.; Ferro, A.; Sala, M.; Abbiati, V.; Cappucciati, M.; et al. The Influence of 5-HTTLPR, BDNF Rs6265 and COMT Rs4680 Polymorphisms on Impulsivity in Bipolar Disorder: The Role of Gender. *Genes* **2022**, *13*, 482. [CrossRef] [PubMed]
55. Fang, Y.J.; Tan, C.H.; Tu, S.C.; Liu, C.Y.; Yu, R.L. More than an “Inverted-U”? An Exploratory Study of the Association between the Catechol-o-Methyltransferase Gene Polymorphism and Executive Functions in Parkinson’s Disease. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0214146. [CrossRef] [PubMed]
56. Costa, P.T.; McCrae, R.R. The Revised NEO Personality Inventory (NEO-PI-R). In *The SAGE Handbook of Personality Theory and Assessment: Volume 2—Personality Measurement and Testing*; Sage: Newcastle, UK, 2008; pp. 179–198. [CrossRef]
57. Lecrubier, Y.; Sheehan, D.V.; Weiller, E.; Amorim, P.; Bonora, I.; Sheehan, K.H.; Janavs, J.; Dunbar, G.C. Mini International Neuropsychiatric Interview. APA PsycTests. 1997. Available online: <https://psycnet.apa.org/doiLanding?doi=10.1037/t18597-000> (accessed on 6 January 2024).
58. Di Nicola, M.; Tedeschi, D.; De Risio, L.; Pettorruso, M.; Martinotti, G.; Ruggeri, F.; Swierkosz-Lenart, K.; Guglielmo, R.; Callea, A.; Ruggeri, G.; et al. Co-Occurrence of Alcohol Use Disorder and Behavioral Addictions: Relevance of Impulsivity and Craving. *Drug Alcohol. Depend.* **2015**, *148*, 118–125. [CrossRef] [PubMed]
59. Grant, J.E.; Mancebo, M.C.; Pinto, A.; Eisen, J.L.; Rasmussen, S.A. Impulse Control Disorders in Adults with Obsessive Compulsive Disorder. *J. Psychiatr. Res.* **2006**, *40*, 494–501. [CrossRef] [PubMed]
60. Grant, J.E.; Potenza, M.N. Tobacco Use and Pathological Gambling. *Ann. Clin. Psychiatry* **2005**, *17*, 237–241. [CrossRef]
61. Griffiths, M.; Sutherland, I. Adolescent Gambling and Drug Use. *J. Community Appl. Soc. Psychol.* **1998**, *8*, 423–427. [CrossRef]
62. Griffiths, M.; Wardle, H.; Orford, J.; Sproston, K.; Erens, B. Gambling, Alcohol, Consumption, Cigarette Smoking and Health: Findings from the 2007 British Gambling Prevalence Survey. *Addict. Res. Theory* **2010**, *18*, 208–223. [CrossRef]
63. Sussman, S.; Lisha, N.; Griffiths, M. Prevalence of the Addictions: A Problem of the Majority or the Minority? *Eval. Health Prof.* **2011**, *34*, 3. [CrossRef]
64. Walther, B.; Morgenstern, M.; Hanewinkel, R. Co-Occurrence of Addictive Behaviours: Personality Factors Related to Substance Use, Gambling and Computer Gaming. *Eur. Addict. Res.* **2012**, *18*, 167–174. [CrossRef]
65. Ream, G.L.; Elliott, L.C.; Dunlap, E. Patterns of and Motivations for Concurrent Use of Video Games and Substances. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2011**, *8*, 3999. [CrossRef] [PubMed]
66. Blum, K.; Febo, M.; McLaughlin, T.; Cronjé, F.J.; David, H.A.N.; Gold, M.S. Hatching the Behavioral Addiction Egg: Reward Deficiency Solution System (RDSS)TM as a Function of Dopaminergic Neurogenetics and Brain Functional Connectivity Linking All Addictions under a Common Rubric. *J. Behav. Addict.* **2014**, *3*, 149. [CrossRef]
67. Blum, K.; Febo, M.; Badgaiyan, R.D.; Demetrovics, Z.; Simpatico, T.; Fahlke, C.; Oscar-Berman, M.; Li, M.; Dushaj, K.; Gold, M.S. Common Neurogenetic Diagnosis and Meso-Limbic Manipulation of Hypodopaminergic Function in Reward Deficiency Syndrome (RDS): Changing the Recovery Landscape. *Curr. Neuropharmacol.* **2017**, *15*, 184. [CrossRef]
68. Grant, J.E.; Brewer, J.A.; Potenza, M.N. The Neurobiology of Substance and Behavioral Addictions. *CNS Spectr.* **2006**, *11*, 924–930. [CrossRef]
69. Leeman, R.F.; Potenza, M.N. A Targeted Review of the Neurobiology and Genetics of Behavioral Addictions: An Emerging Area of Research. *Can. J. Psychiatry* **2013**, *58*, 260. [CrossRef]
70. Blum, K.; Sheridan, P.J.; Wood, R.C.; Braverman, E.R.; Chen, T.J.H.; Cull, J.G.; Comings, D.E. The D2 Dopamine Receptor Gene as a Determinant of Reward Deficiency Syndrome. *J. R. Soc. Med.* **1996**, *89*, 396. [CrossRef] [PubMed]
71. Kotyuk, E.; Magi, A.; Eisinger, A.; Király, O.; Vereczkei, A.; Barta, C.; Griffiths, M.D.; Székely, A.; Kökönyi, G.; Farkas, J.; et al. Co-Occurrences of Substance Use and Other Potentially Addictive Behaviors: Epidemiological Results from the Psychological and Genetic Factors of the Addictive Behaviors (PGA) Study. *J. Behav. Addict.* **2020**, *9*, 272. [CrossRef]
72. Chen, J.; Lipska, B.K.; Halim, N.; Ma, Q.D.; Matsumoto, M.; Melhem, S.; Kolachana, B.S.; Hyde, T.M.; Herman, M.M.; Apud, J.; et al. Functional Analysis of Genetic Variation in Catechol-O-Methyltransferase (COMT): Effects on mRNA, Protein, and Enzyme Activity in Postmortem Human Brain. *Am. J. Hum. Genet.* **2004**, *75*, 807. [CrossRef] [PubMed]

73. Tunbridge, E.M.; Harrison, P.J. Importance of the COMT Gene for Sex Differences in Brain Function and Predisposition to Psychiatric Disorders. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* **2011**, *8*, 119–140. [\[CrossRef\]](#)
74. Loke, H.; Harley, V.; Lee, J. Biological Factors Underlying Sex Differences in Neurological Disorders. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2015**, *65*, 139–150. [\[CrossRef\]](#)
75. Bobzean, S.A.M.; DeNobrega, A.K.; Perrotti, L.I. Sex Differences in the Neurobiology of Drug Addiction. *Exp. Neurol.* **2014**, *259*, 64–74. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
76. Becker, J.B.; Chartoff, E. Sex Differences in Neural Mechanisms Mediating Reward and Addiction. *Neuropsychopharmacology* **2019**, *44*, 166. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
77. Laakso, A.; Vilkmán, H.; Bergman, J.; Haaparanta, M.; Solin, O.; Syvälahti, E.; Salokangas, R.K.R.; Hietala, J. Sex Differences in Striatal Presynaptic Dopamine Synthesis Capacity in Healthy Subjects. *Biol. Psychiatry* **2002**, *52*, 759–763. [\[CrossRef\]](#)
78. Munro, C.A.; McCaul, M.E.; Wong, D.F.; Oswald, L.M.; Zhou, Y.; Brasic, J.; Kuwabara, H.; Kumar, A.; Alexander, M.; Ye, W.; et al. Sex Differences in Striatal Dopamine Release in Healthy Adults. *Biol. Psychiatry* **2006**, *59*, 966–974. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
79. Cosgrove, K.P.; Wang, S.; Kim, S.J.; McGovern, E.; Nabulsi, N.; Gao, H.; Labaree, D.; Tagare, H.D.; Sullivan, J.M.; Morris, E.D. Sex Differences in the Brain's Dopamine Signature of Cigarette Smoking. *J. Neurosci.* **2014**, *34*, 16851. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
80. Carcoba, L.M.; Flores, R.J.; Natividad, L.A.; O'Dell, L.E. Amino Acid Modulation of Dopamine in the Nucleus Accumbens Mediates Sex Differences in Nicotine Withdrawal. *Addict. Biol.* **2018**, *23*, 1046. [\[CrossRef\]](#)
81. De Wit, S.; Standing, H.R.; Devito, E.E.; Robinson, O.J.; Ridderinkhof, K.R.; Robbins, T.W.; Sahakian, B.J. Reliance on Habits at the Expense of Goal-Directed Control Following Dopamine Precursor Depletion. *Psychopharmacology* **2012**, *219*, 621. [\[CrossRef\]](#)
82. Robinson, O.J.; Standing, H.R.; Devito, E.E.; Cools, R.; Sahakian, B.J. Dopamine Precursor Depletion Improves Punishment Prediction during Reversal Learning in Healthy Females but Not Males. *Psychopharmacology* **2010**, *211*, 187. [\[CrossRef\]](#)
83. Sannino, S.; Padula, M.C.; Managò, F.; Schaer, M.; Schneider, M.; Armando, M.; Scariati, E.; Sloan-Bena, F.; Mereu, M.; Pontillo, M.; et al. Adolescence Is the Starting Point of Sex-Dichotomous COMT Genetic Effects. *Transl. Psychiatry* **2017**, *7*, e1141. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
84. Xu, J.; Qin, W.; Li, Q.; Li, W.; Liu, F.; Liu, B.; Jiang, T.; Yu, C. Prefrontal Volume Mediates Effect of COMT Polymorphism on Interference Resolution Capacity in Healthy Male Adults. *Cereb. Cortex* **2017**, *27*, 5211–5221. [\[CrossRef\]](#)
85. Sannino, S.; Gozzi, A.; Cerasa, A.; Piras, F.; Scheggia, D.; Managò, F.; Damiano, M.; Galbusera, A.; Erickson, L.C.; De Pietri Tonelli, D.; et al. COMT Genetic Reduction Produces Sexually Divergent Effects on Cortical Anatomy and Working Memory in Mice and Humans. *Cereb. Cortex* **2015**, *25*, 2529. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
86. Domschke, K.; Deckert, J.; O'Donovan, M.C.; Glatt, S.J. Meta-Analysis of COMT Val158met in Panic Disorder: Ethnic Heterogeneity and Gender Specificity. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* **2007**, *144B*, 667–673. [\[CrossRef\]](#)
87. Hettema, J.M.; An, S.S.; Bukszar, J.; van den Oord, E.J.C.G.; Neale, M.C.; Kendler, K.S.; Chen, X. COMT Contributes to Genetic Susceptibility Shared Among Anxiety Spectrum Phenotypes. *Biol. Psychiatry* **2008**, *64*, 302. [\[CrossRef\]](#)
88. Hill, L.D.; Lorenzetti, M.S.; Lyle, S.M.; Fins, A.I.; Tartar, A.; Tartar, J.L. Catechol-O-methyltransferase Val158Met Polymorphism Associates with Affect and Cortisol Levels in Women. *Brain Behav.* **2018**, *8*, e00883. [\[CrossRef\]](#)
89. DeVito, E.E.; Sofuoglu, M. Catechol-O-Methyltransferase Effects on Smoking: A Review and Proof of Concept of Sex-Sensitive Effects. *Curr. Behav. Neurosci. Rep.* **2022**, *9*, 113. [\[CrossRef\]](#)
90. Chmielowiec, K.; Chmielowiec, J.; Masiak, J.; Strońska-Pluta, A.; Śmiarowska, M.; Boroń, A.; Grzywacz, A. Associations between the COMT Rs4680 Gene Polymorphism and Personality Dimensions and Anxiety in Patients with a Diagnosis of Other Stimulants Dependence. *Genes* **2022**, *13*, 1768. [\[CrossRef\]](#)
91. Zhang, X.; Lee, M.R.; Salmeron, B.J.; Stein, D.J.; Hong, L.E.; Geng, X.; Ross, T.J.; Li, N.; Hodgkinson, C.; Shen, P.H.; et al. Prefrontal White Matter Impairment in Substance Users Depends upon the Catechol-o-Methyl Transferase (COMT) Val158met Polymorphism. *Neuroimage* **2013**, *69*, 62. [\[CrossRef\]](#)
92. Duncan, Z.; Kippen, R.; Sutton, K.; Ward, B.; Agius, P.A.; Quinn, B.; Dietze, P. Correlates of Anxiety and Depression in a Community Cohort of People Who Smoke Methamphetamine. *Aust. N. Z. J. Psychiatry* **2022**, *56*, 964–973. [\[CrossRef\]](#)
93. Rapinda, K.K.; Edgerton, J.D.; Keough, M.T. Impulsivity Moderates the Association Between Anxiety and Problem Gambling Among Canadian Undergraduates. *J. Gambl. Stud.* **2023**, *39*, 1735–1750. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

2024

Association analysis of the OPRM1 polymorphism gene and personality traits among a cohort of professional athletes.

Remigiusz Reclaw

Independent Laboratory of Genetics and Behavioral Epigenetics, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland, remigiusz.reclaw@pum.edu.pl

Agnieszka Boroń

Department of Clinical and Molecular Biochemistry, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland, agnieszka.boron@pum.edu.pl

Krzysztof Chmielowiec

Department of Hygiene and Epidemiology, Collegium Medicum, University of Zielona Góra, Poland, chmiele@vp.pl

Jolanta Chmielowiec

Department of Hygiene and Epidemiology, Collegium Medicum, University of Zielona Góra, Poland, chmiele1@o2.pl

Katarzyna Prabucka

Practical Foreign Language Study Center, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland, katarzyna.prabucka@pum.edu.pl

See next page for additional authors

Follow this and additional works at: <https://www.balticsportscience.com/journal>



Part of the [Health and Physical Education Commons](#), [Other Psychiatry and Psychology Commons](#), [Sports Medicine Commons](#), [Sports Sciences Commons](#), and the [Sports Studies Commons](#)

Recommended Citation

Reclaw R, Boron A, Chmielowiec K, Chmielowiec J, Prabucka K, Lachowicz M, Zadroga L, Gula L, Brozyna M, Grzywacz A. Association analysis of the OPRM1 polymorphism gene and personality traits among a cohort of professional athletes. *Balt J Health Phys Act.* 2024;16(2):Article13. DOI: 10.29359/BJHPA.16.2.13

This Article is brought to you for free and open access by Baltic Journal of Health and Physical Activity. It has been accepted for inclusion in Baltic Journal of Health and Physical Activity by an authorized editor of Baltic Journal of Health and Physical Activity.

Association analysis of the OPRM1 polymorphism gene and personality traits among a cohort of professional athletes.

Abstract

In sports research, genetic studies linked to the traits of the temperament, in addition to medical examinations and other physiological and biochemical tests, would enrich the scope of possibilities and successes that a competitor can accomplish. This could be beneficial for the protection of both mental and physical health. The study group comprised 391 male volunteers. Out of these, 222 sports subjects and 186 were non-addicted. The temperament and character questionnaire (TCI-R) was used to determine personality traits such as novelty seeking, harm avoidance, reward addiction and perseverance, as well as self-direction, cooperation and self-transcendence. Genotyping *OPRM1* rs1799971 was carried out with the real-time PCR method. In the present study polymorphic variants of selected genotypes were associated with self-direction - A/A genotypes in the study group. Higher values were observed compared to the control group ($p = 0.045$). Similarly, the A/G genotype occurred statistically significantly more frequently in the study group compared to the control group. The G/G genetic variant was less common in the study group compared to the controls. Conclusions: The study reveals the validity of analysing connections between personality traits and selected gene polymorphisms in athletes, a relatively new field. The presence of the *OPRM1* rs1799971 AA genotype is associated with higher self-management scores, indicating genetic predispositions in the study group for better results in sports.

Keywords

OPRM1, polymorphism, personality traits, professional athletes

Creative Commons License



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-Noncommercial-No Derivative Works 4.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Authors

Remigiusz Reclaw, Agnieszka Boroń, Krzysztof Chmielowiec, Jolanta Chmielowiec, Katarzyna Prabucka, Milena Lachowicz, Łukasz Zadroga, Przemysław Guła, Maciej Brożyna, and Anna Grzywacz

Article

Association analysis of the OPRM1 polymorphism gene and personality traits among a cohort of professional athletes

Remigiusz RECLAW¹, Agnieszka BOROŃ², Krzysztof CHMIELOWIEC³, Jolanta CHMIELOWIEC⁴, Katarzyna PRABUCKA⁵, Milena LACHOWICZ⁶, Łukasz ZADROGA⁷, Przemysław GUŁA⁸, Maciej BROŻYNA⁹, Anna GRZYWACZ^{10*}

¹ Independent Laboratory of Genetics and Behavioral Epigenetics, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland; ORCID: 0009-0004-7841-821X

² Department of Clinical and Molecular Biochemistry, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland; ORCID: 0000-0003-3574-5726

³ Department of Hygiene and Epidemiology, Collegium Medicum, University of Zielona Góra, Poland; ORCID: 0000-0003-4254-5466

⁴ Department of Hygiene and Epidemiology, Collegium Medicum, University of Zielona Góra, Poland; ORCID: 0000-0003-3285-5313

⁵ Practical Foreign Language Study Center, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland; ORCID: 0009-0001-7403-1710

⁶ Gdansk University of Physical Education and Sport, Gdansk, Poland; ORCID: 0000-0002-8402-0564

⁷ Student Scientific Circle of Genetics and Behavioral Epigenetics, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland; ORCID: 0009-0002-8632-4059

⁸ College of Medical Sciences, University of Rzeszow, Poland

⁹ College of Medical Sciences, University of Rzeszow, Poland; ORCID: 0000-0001-6659-927X

¹⁰ Independent Laboratory of Genetics and Behavioral Epigenetics, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland; ORCID: 0000-0002-2633-520X

* Correspondence: prof. dr hab. Anna Grzywacz; e-mail: grzywacz.anna.m@gmail.com

Citation: Reclaw R, Boron A, Chmielowiec K, Chmielowiec J, Prabucka K, Lachowicz M, Zadroga L, Gula L, Brozyna M, Grzywacz A. Association analysis of the OPRM1 polymorphism gene and personality traits among a cohort of professional athletes. *Balt J Health Phys Act.* 2024;16(2):Article13.
DOI: 10.29359/BJHPA.16.2.13

Academic Editor:

Agnieszka Maciejewska-Skrendo

Received: May 2024

Accepted: May 2024

Published: June 2024

Publisher's Note: BJHPA stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2024 by Gdansk University of Physical Education and Sport.

Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-ND) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Introduction: In sports research, genetic studies linked to the traits of the temperament, in addition to medical examinations and other physiological and biochemical tests, would enrich the scope of possibilities and successes that a competitor can accomplish. This could be beneficial for the protection of both mental and physical health. The aim of the study is to determine the association between the OPRM1 rs1799971 gene polymorphism and traits determined using the Temperament and Character Inventory (TCI-R) scores and sports subjects. Material and methods: The study group comprised 391 male volunteers. Out of these, 222 sports subjects and 186 were non-addicted (alcohol, drugs) and not practicing competitive sports. The temperament and character questionnaire (TCI-R) was used to determine personality traits such as novelty seeking, harm avoidance, reward addiction and perseverance, as well as self-direction, cooperation and self-transcendence. Genotyping OPRM1 rs1799971 was carried out with the real-time PCR method. Results: In the present study polymorphic variants of selected genotypes were associated with self-direction - A/A genotypes in the study group. Higher values were observed compared to the control group ($p = 0.045$). Similarly, the A/G genotype occurred statistically significantly more frequently in the study group compared to the control group. The G/G genetic variant was less common in the study group compared to the controls. Conclusions: The study reveals the validity of analyzing connections between personality traits and selected gene polymorphisms in athletes, a relatively new field. The presence of the OPRM1 rs1799971 AA genotype is associated with higher self-management scores, indicating genetic predispositions in the study group for better results in sports.

Keywords: OPRM1, polymorphism, personality traits, professional athletes.

1. Introduction

Certain athletes seem to be gifted by nature and excel at particular sports disciplines, even though their physical fitness and training regime does not differ from other athletes. It is generally believed that the inborn aptitude of each sportsperson is one of the key factors for top achievements in sports, and genetic factors play a crucial role in determining an individual's capability and specific characteristics [1–3]. Due to current developments in DNA sequencing technology, knowledge of the distinct genetic variants conducting to these characteristics in sports achievements has increased, and the field of study 'sports genomics' has evolved [1–3]. Throughout intensive research in the area of sports genomics, over the last 20 years, 185 genetic markers have been determined as correlated with the highest level of athletic performance. Among 185 genetic markers, 100 are stamina-related, 69 are power/potency-related, and 16 are psychogenetic-unique genetic markers [1–3]. Combat disciplines (such as judo, wrestling, and mixed martial arts MMA) are competitive fighting sports characterized by rapid movements with intense cardio workout alternated with low-intensity stamina exercises [4]. Combat sports rely on a variety of techniques and combine power/energy and endurance performance [4]. Furthermore, martial arts demand proficiency in maintaining constant attention to the opponent's actions along with a deep desire to overpower the opponent [4]. It indicates that intricate physical and psychological phenotypes are linked with combat sports. m-Opioid receptor stimulation promotes a reward based on social relations and other different experiences, as well as the abuse liability of exogenous opiate narcotics [5–7]. Agonists with high m-opioid receptor affinity enhance visual attention to faces in humans and improve cooperative play behavior in juvenile rodents as well as marmosets, whereas pharmacological blockade of opioid receptors results in deficits in these behaviors [8–10]. m-Opioid receptor availability in the human nucleus accumbens is adjusted by a range of social situations [11, 12], and intra-accumbal manipulations of m-opioid receptor activation can bidirectionally modify social behavior in rodents [13–15]. These results are concordant with a general function of m-opioid receptor activation within the nucleus accumbens in motivated behavior [16–18].

Disruption of m-opioid receptor signaling may result in deficits in social interaction and other motivated behaviors which are characteristic features of neuropsychiatric disorders [19–23].

The behavior alteration caused by the dopamine and norepinephrine neurotransmitter release differs from the under-activation in the dorsolateral prefrontal cortex and deregulation of various pathways involved in the attention and impulse control processes [24, 25]. Cloninger's study on personalities [26] regarding four dimensions of human behavior (harm avoidance, reward dependence, novelty seeking, and perseverance) greatly contributed to assessing the personality structures of extreme sports athletes.

In sports research, genetic studies linked to the traits of the temperament, in addition to medical examinations and other physiological and biochemical tests, would enrich the scope of possibilities and successes that a competitor can accomplish. This could be beneficial for the protection of both mental and physical health. The aim of the study is to determine the association between the *OPRM1* rs1799971 gene polymorphism and traits determined using the Temperament and Character Inventory (TCI-R) scores and sports subjects.

2. Material and methods

2.1. Materials

The study group comprised 391 male volunteers. Out of these, 222 sports subjects no prior history of substance dependency or psychosis (mean age = 26.23, SD = 8.18; F = 27%, M = 73%, Table 1) and 186 were non-addicted alcohol, drugs and not practicing competitive sports (mean age = 23.98, SD = 6.16; F = 40%, M = 60%). The study was completely

anonymized, in compliance with the principles of personal data protection. Athletes were recruited as people involved in sports at a professional level. The control group was selected according to age and gender. All sports subjects and controls were European to reduce the possibility of racial bias and overcome any potential problems resulting from population stratification. The Bioethics Committee of the Pomeranian Medical University in Szczecin (KB-0012/106/16) had approved the study. All participants submitted their written consent to partake in the study, and the studies were conducted in the Independent Health Promotion Laboratory. The control subjects control subjects were recruited and were subsequently examined by a psychiatrist.

The associations between personality traits and polymorphisms in the *OPRM1* rs1799971 gene were investigated in a group of sports subjects and controls subjects.

2.2. Measures

The MINI-International Neuropsychiatric Interview is a structured diagnostic interview designed to evaluate the diagnoses of psychiatric patients according to the DSM-IV and ICD-10 criteria. This tool was used to exclude from further research proceedings people with mental disorders and problems with addiction to psychoactive substances.

2.3. Psychological tests

Temperament and Character Inventory-Revised (TCI-R) is a self-perception survey designed to establish personality traits with the usage of 240 items based on Cloninger's multidimensional model and structured into seven factors [four for temperament (novelty seeking, harm avoidance, reward dependence, and persistence), and three for character (self-directedness, cooperation, and self-transcendence)]. Adequate adaptations were made to obtain the Polish-language psychometrical research instrument [26, 27].

2.4. Genotyping

The genomic DNA was isolated from venous blood by using standard procedures. Genotyping was carried out with the real-time PCR method. A LightCycler® 480 II system (Roche Diagnostic, Basel, Switzerland) was used to perform fluorescence resonance energy in the genotype data. PCR was performed with 50 ng of DNA from each sample in a final volume of 20 µl containing 2 µl of reaction mixture, 0.5 mM of each primer, 0.2 mM of each hybridization probe, and 2 mM MgCl₂, according to the manufacturer's instructions. After amplification, a melting curve was generated. The fluorescence signal was plotted against temperature to obtain melting curves for each sample. The fluorescence signal was plotted as a function of temperature to provide melting curves for each sample. *OPRM1* rs1799971 gene peaks are read (1800498), 56.64 °C for the C allele and 62.85 °C for the (-) allele.

2.5. Statistical analysis

A concordance between the genotype frequency distribution and Psychological Tests Temperament and Character Inventory-Revised (TCI-R) was established. Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was tested using the HWE software (<https://wpcalc.com/en/equilibrium-hardy-weinberg/>) (05 April 2023). The relations between *OPRM1* rs1799971 variants: Sports Subjects and control subjects and the TCI-R were analyzed using a multivariate analysis of factor effects ANOVA [TCI-R scale × genetic feature × control and Sports Subjects × (genetic feature × control and Sports Subjects)]. The condition of homogeneity of variance was fulfilled (Levene test $p > 0.05$). The analyzed variables were not distributed normally. The TCI-R was applied and compared using the U Mann-Whitney test. *OPRM1* rs1799971 genotype frequencies between healthy control subjects and Sports Subjects were tested using the chi-square test. All computations were performed using STATISTICA 13 (Tibco Software Inc, Palo Alto, CA, USA) for Windows (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

Table 1. The percentages of surveyed athletes practicing specific sports

	n	%
box	32	14.41%
judo	35	15.77%
MMA	63	28.38%
kickboxing	11	4.95%
karate	9	4.05%
ice-hockey	24	10.81%
triathlon	1	0.45%
basketball	2	0.90%
handball	4	1.80%
volleyball	2	0.90%
swimming	4	1.80%
skiing	2	0.90%
jujitsu	7	3.15%
gym workouts	10	4.50%
football	16	7.21%

3. Results

These frequency distributions accorded with the HWE both in the sports subjects and the control subjects are presented in Table 2.

Table 2. Hardy-Weinberg's law for sports subjects and control subjects.

Hardy-Weinberg equilibrium calculator including analysis for ascertainment bias		Observed (Expected)	allele freq	χ^2 (p value)
<i>OPRM1</i> rs1799971				
Sports Subjects n = 222	A/A	160 (156.7)	p (A)= 0.84 q (G)= 0.16	2.756 (0.097)
	A/G	53 (59.6)		
	G/G	9 (5.7)		
Control N = 186	A/A	159 (157.2)	p (A)= 0.92 q (G)= 0.08	3.135 (0.077)
	A/G	24 (27.6)		
	G/G	3 (1.2)		

p–statistical significance χ^2 test.

Statistically significant differences were found in the frequency of *OPRM1* rs1799971 genotypes in the tested sports subjects compared to the control group. *OPRM1* rs1799971 (A / A 0.72 vs A / A 0.85; G / G 0.04 vs G / G 0.02; A / G 0.24 vs A / G 0.13, $\chi^2 = 10.833$, $p < 0.0044$). Similarly, statistically significant differences in the frequency of *OPRM1* rs1799971 gene alleles were found the *OPRM1* rs1799971 between sports subjects and the control group (A 0.84 vs. A 0.92; G 0.16 vs. G 0.08, $\chi^2 = 12.710$, $p = 0.0004$) (Table 3).

The means and standard deviations for all the TCI-R results for the sports subjects and control subjects are presented in Table 4.

The test sports subjects compared to the control group obtained higher scores in the assessment of the Temperament and Character Inventory Self-directedness scale (27.13 vs. 24.10; $Z = 6.259$; $p < 0.0001$) and the Temperament and Character Inventory Cooperation scale (21.17 vs. 20.19; $Z = 1.984$; $p = 0.0472$).

The results of the factorial ANOVA of the Temperament and Character Inventory (TCI-R) scales are summarized in Table 5.

Table 3. Frequency of genotypes of the *OPRM1 rs1799971* gene polymorphisms in the sports subjects and control subjects

	<i>OPRM1 rs1799971</i>				
	Genotypes			Alleles	
	A/A n(%)	A/G n(%)	G/G n(%)	A n(%)	G n(%)
Sports Subjects n = 222	160 (72.07%)	53 (23.87%)	9 (4.05%)	373 (83.63%)	73 (16.37%)
Control n = 186	159 (85.48%)	24 (12.90%)	3 (1.61%)	342 (91.93%)	30 (8.06%)
χ^2 (p value)	10.833 (0.0044)*			12.710 (0.0004)*	

n—number of subjects. *—significant statistical differences.

Table 4. Tests Temperament and Character Inventory (TCI-R) scores between controls and sports subjects

TCI-R	Sports Subjects (n = 222)	Control (n = 186)	Mann– Whitney U- test Z	(p-Value)
Novelty seeking /scale	20.36±4.69	20.09±4.76	0.712	0.4763
Harm avoidance /scale	10.02±4.55	10.59±4.90	-1.213	0.2250
Reward dependance /scale	10.06±2.97	10.33±3.00	-0.529	0.5971
Self-directedness /scale	27.13±4.17	24.10±4.89	6.259	<0.0001*
Cooperation/ scale	21.17±4.26	20.19±4.82	1.984	0.0472*
Self-transcendence /scale	6.87±3.59	7.13±3.51	-0.7603	0.4471

p, statistical significance with Mann–Whitney U-test; *n*, number of subjects; *M* ± *SD*, mean ± standard deviation; * statistically significant differences.

Self-directedness scale

There was a statistically significant effect of *OPRM1 rs1799971* genotype interaction and sports subjects or control group on the Self-directedness scale ($F_{2, 402} = 5.47$, $p = 0.0045$; $\eta^2 = 0.026$; Figure 1). The power observed for this factor was 85%, and approximately 3% was explained by the polymorphism *rs1799971* in sports subjects or lack thereof on the Self-directedness scale score variance. Table 6 shows the results of the post hoc test. Sports subjects with A/A genotypes have significantly higher Self-directedness scale scores compared to controls with A/A and A/G genotypes. Sport subjects with the A/G genotype also had significantly higher Self-directedness scale scores compared to controls with the A/A and A/G genotype. Sports subjects with A/A and A/G genotypes have significantly lower Self-directedness scale scores compared to sports subjects with G/G genotypes. Sports subjects with G/G genotypes have significantly lower Self-directedness scale scores compared to controls subjects with G/G genotypes. Controls subjects with A/G genotypes have significantly lower Self-directedness scale scores compared to controls subjects with G/G genotypes.

Table 5. Differences in *OPRM1* rs1799971 and TCI-R Inventory between healthy Control subjects and Sports Subjects

TCI-R	Group	OPRM1 rs1799971			ANOVA			
		A/A n=319 M±SD	A/G n=77 M±SD	G/G n=12 M±SD	factor	F (p value)	η²	Power (alfa=0,05)
Novelty seeking scale	Sports Subjects (SpS); n= 222	4.76±0.38	19.89±4.07	20.22±6.83	intercept	F _{1,402} = 1206.52 (<i>p</i> < 0.0001)*	0.750	1.000
	Control; n = 186	20.23±4.77	19.37±4.77	18.00±4.58	SpS /control	F _{1,402} = 0.95 (<i>p</i> = 0.3867)	0.005	0.215
					rs1799971	F _{2,402} = 0.79 (<i>p</i> = 0.3746)	0.002	0.144
					SpS /control x rs1799971	F _{2,402} = 0.19 (<i>p</i> = 0.8266)	0.001	0.080
Harm avoid- ance scale	Sports Subjects (SpS); n= 222	10.00±4.73	9.91±4.14	11.00±3.84	intercept	F _{1,402} = 382.49 (<i>p</i> < 0.0001)*	0.488	1.000
	Control; n = 186	10.41±4.98	11.42±4.25	13.67±4.62	SpS /control	F _{1,402} = 1.09 (<i>p</i> = 0.3384)	0.005	0.241
					rs1799971	F _{2,402} = 1.83 (<i>p</i> = 0.1775)	0.005	0.271
					SpS /control x rs1799971	F _{2,402} = 0.58 (<i>p</i> = 0.5579)	0.003	0.147
Reward de- pendance scale	Sports Subjects (SpS); n= 222	10.29±3.07	9.58±2.55	8.89±3.02	intercept	F _{1,402} = 723.57 (<i>p</i> < 0.0001)*	0.643	1.000
	Control; n = 186	10.36±3.03	10.46±2.84	8.00±2.65	SpS /control	F _{1,402} = 1.94 (<i>p</i> = 0.1453)	0.010	0.401
					rs1799971	F _{2,402} = 0.001 (<i>p</i> = 0.9793)	0.00001	0.050
					SpS /control x rs1799971	F _{2,402} = 0.65 (<i>p</i> = 0.5240)	0.003	0.158
Self-direct- edness scale	Sports Subjects (SpS); n= 222	27.52±4.12	26.77±4.09	22.22±1.39	intercept	F _{1,402} = 2279.23 (<i>p</i> < 0.0001)*	0.850	1.000
	Control; n = 186	24.18±4.92	23.04±4.68	28.67±1.53	SpS /control	F _{1,402} = 1.25 (<i>p</i> = 0.2879)	0.006	0.272
					rs1799971	F _{2,402} = 0.04 (<i>p</i> = 0.8452)	0.0001	0.054
					SpS /control x rs1799971	F _{2,402} = 5.47 (<i>p</i> = 0.0045)*	0.026	0.848
Cooperation scale	Sports Subjects (SpS); n= 222	21.39±4.27	20.77±4.34	19.56±3.09	intercept	F _{1,402} = 1350.99 (<i>p</i> < 0.0001)*	0.771	1.000
	Control; n = 186	20.32±4.94	19.58±4.09	18.00±4.00	SpS /control	F _{1,402} = 1.44 (<i>p</i> = 0.2372)	0.007	0.309
					rs1799971	F _{2,402} = 1.38 (<i>p</i> = 0.2414)	0.003	0.216
					SpS /control x rs1799971	F _{2,402} = 0.01 (<i>p</i> = 0.9840)	0.0001	0.052
Self-tran- scendence scale	Sports Subjects (SpS); n= 222	7.19±3.67	6.19±3.39	5.22±2.73	intercept	F _{1,402} = 192.02 (<i>p</i> < 0.0001)*	0.323	1.000
	Control; n = 186	7.42±3.52	5.71±3.07	3.33±0.58	SpS /control	F _{1,402} = 6.84 (<i>p</i> = 0.0012)*	0.033	0.920
					rs1799971	F _{2,402} = 0.72 (<i>p</i> = 0.3964)	0.002	0.136
					SpS /control x rs1799971	F _{2,402} = 0.62 (<i>p</i> = 0.5362)	0.003	0.154

*-significant result; SpS – Sports subjects; M±SD – mean ± standard deviation.

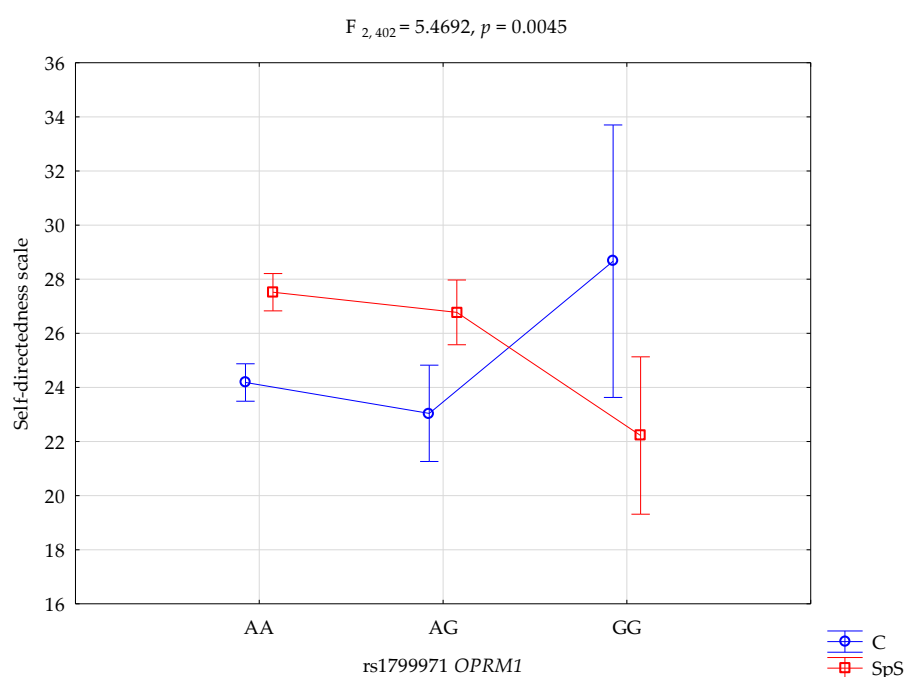


Figure 1. Interaction between the Sports Subjects (SpS) / Control (C) and *OPRM1* *rs1799971* and Self-directedness scale.

Table 6. Post hoc test (Least Significant Difference) analysis of interactions between the Sports subjects/Control and *rs1799971* and Self-directedness scale.

rs1799971 and Self-directedness scale						
	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
	M=27.51	M=24.18	M=26.77	M=23.04	M=22.22	M=28.67
Sports Subjects A/A {1}		0.0000*	0.2899	0.0000*	0.0005*	0.6573
Control A/A {2}			0.0003*	0.2411	0.1981	0.0837
Sports Subjects A/G {3}				0.0007*	0.0047*	0.4726
Control A/G {4}					0.6369	0.0391*
Sports Subjects G/G {5}						0.0300*
Control G/G {6}						

* – significant statistical differences, M – mean.

4. Discussion

The objective of the psychogenetics of sports is the fact that a polymorphism of the specific gene may influence cognitive traits (e.g. memory, way of thinking, reaction time, concentration) and character traits (e.g. aggression, motivation, temperament) of a sports-person. The understanding of how to seek polymorphisms of candidate genes most effectively, which may be reflected in the psychology of elite sports athletes, requires the knowledge of the central and peripheral nervous system molecular mechanisms. Genetic markers which facilitate the development of such personality traits as stress resilience, concentration, reaction time or adaptability are intrinsically connected in one way or another with the neurotransmitter system. Various stimulating and motivating behaviors are particularly linked to the serotonergic, dopaminergic or opioid systems.

In the present study, we noted statistical significance. Polymorphic variants of selected genotypes were associated with self-direction - A/A genotypes in the study group. Higher values were observed compared to the control group ($p = 0.045$, Tables 3, 5, 6). Similarly, the A/G genotype occurred statistically significantly more frequently in the study group compared to the control group. The G/G genetic variant was less common in the study group compared to the controls.

The correlation between athletes' personalities and their success has been studied for many years. Beckmann and Kazen [28] observed that controlled type sports athletes whose demands connected with energy regulation were high (long-distance runners and rowers) were predisposed to suffering from failure-related state orientation or the shortage of motivation. Other studies found that people with higher novelty-seeking easily lose determination in the situation that does not meet their needs [29,30]. Morgan [31] observed that male distance runners declared lower stress, depression, anger, and tiredness in comparison to an average person. Egloff and Gruhn [32] proposed that in the case of endurance athletes, outgoingness and sociability are the features that greatly influence the choice of sport. Extraversion is characterized by sociability, controlled impulsiveness, and optimism [33]. Bäckmand [34] argued that endurance sport athletes had lower neuroticism scores than other sports athletes.

The μ -opioid receptor is a crucial receptor for endogenous and exogenous opioids analgesic substances, such as β -endorphin, enkephalin and morphine; thus, it is of high importance in the physiological and psychological response to stress, trauma and pain [35]. The A118G (A>G functional substitution at locus 118; rs1799971) polymorphism is one of the most frequently investigated single-nucleotide polymorphism (SNPs) in the OPRM1 gene. The variant affects a presumed glycosylation site and the protein stability of the μ -opioid receptor, and it also lowers receptor expression and receptor signaling efficacy [36, 37]. It has been demonstrated that the rs1799971 polymorphism is involved in the need for analgesia in chronic pain, and its significance in both pain sensation and pain management has been shown [38–40].

The studies on polymorphisms in the OPRM1 concerning pain have been conducted for many years and have been widely described. The behavior was linked to OPRM1 genotypes back in 2018. The model of neurotransmission in the opioid system was then linked to personality traits. A similar model of connections in the animal model was created - as the one presented in our study. However, we have attempted to combine opioid receptor with personality traits. Interestingly, such findings have been scarce. The one worth noticing was the study on animals where researchers combined OPRM1 and other genotypic variants with personality traits [41]. Inoue-Murayama et al. studied personality, subjective well-being, and hair cortisol level, in common marmosets *Callithrix jacchus*, a small, cooperatively breeding New World monkey, by examining their associations with one another and genotypes. Personality and arbitrary well-being were evaluated by keeper ratings on two questionnaires; hair samples were collected to test cortisol level, and buccal swabs were used to assess AVPR1a, OPRM1 and DAT genotypes. Three personality domains – Dominance, Sociability, and Neuroticism – were identified. Sociability and Neuroticism were connected to higher and lower arbitrary well-being, correspondingly. Sociability was also linked with higher hair cortisol levels. The personality domains and hair cortisol levels were hereditary and affiliated with genotypes: the short form of AVPR1a was affiliated with lower Neuroticism, and the AA genotype of the A111T SNP of OPRM1 was related to lower Dominance, lower Neuroticism, and higher hair cortisol level [41]. The study by Inoue-Murayama et al. demonstrates the validity of the model linking polymorphisms in genes related to the opioid system to personality-related behaviors.

5. Conclusions

The study reveals the validity of analyzing connections between personality traits and selected gene polymorphisms in athletes, a relatively new field. The presence of the OPRM1 rs1799971 AA genotype is associated with higher self-management scores, indicating genetic predispositions in the study group for better results in sports. Despite limitations, such as limited analysis of polymorphic variants, the findings already demonstrate significant associations the OPRM1 rs1799971 AA genotype and Self-directedness scale in the Sports Subjects. Further research with larger participant groups and expanded gene analysis is needed to explore these relationships more comprehensively.

References

1. Semenova EA, Fuku N, Ahmetov II. Genetic profile of elite endurance athletes. *Sport Exerc Nutrition Genom: Curr Status Future Dir.* 2019;73–104. DOI: 10.1016/B978-0-12-816193-7.00004-X
2. Maciejewska-Skrendo A, Cieszczyk P, Chycki J, Sawczuk M, Smółka W. Genetic markers associated with power athlete status. *J Hum Kinet.* 2019;68:17. DOI: 10.2478/hukin-2019-0053
3. Valeeva EV, Ahmetov II, Rees T. Psychogenetics and Sport. *Sport Exerc Nutrition Genom: Curr Status Future Dir.* 2019;147–165. DOI: 10.1016/B978-0-12-816193-7.00007-5
4. Barley OR, Chapman DW, Guppy SN, Abbiss CR. Considerations when assessing endurance in combat sport athletes. *Front Physiol.* 2019;10:205. DOI: 10.3389/fphys.2019.00205
5. Panksepp J, Herman BH, Vilberg T, Bishop P, DeEsquinazi, FG. Endogenous opioids and social behavior. *Neurosci Biobehav Rev.* 1980;4:473–487. DOI: 10.1016/0149-7634(80)90036-6
6. Trezza V, Baarendse PJJ, Vanderschuren LJM. The pleasures of play: Pharmacological insights into social reward mechanisms. *Trends Pharmacol Sci.* 2010;31:463–469. DOI: 10.1016/j.tips.2010.06.008
7. Darq E, Kieffer BL. Opioid receptors: drivers to addiction? *Nat Rev Neurosci.* 2018;19:499–514. DOI: 10.1038/s41583-018-0028-x
8. Guard HJ, Newman JD, Lucille Roberts R. Morphine administration selectively facilitates social play in common marmosets. *Dev Psychobiol.* 2002;41:37–49. DOI: 10.1002/dev.10043
9. Chelnokova O, Laeng B, Løseth G, Eikemo M, Willoch F, Leknes S. The M-opioid system promotes visual attention to faces and eyes. *Soc Cogn Affect Neurosci.* 2016;11:1902–1909. DOI: 10.1093/scan/nsw116
10. Achterberg EJM, van Swieten MMH, Houwing DJ, Trezza V, Vanderschuren LJM. Opioid modulation of social play reward in juvenile rats. *Neuropharmacol.* 2019;159. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2018.09.007
11. Hsu DT, Sanford BJ, Meyers KK, Love TM, Hazlett KE, Walker SJ, et al. It still hurts: Altered endogenous opioid activity in the brain during social rejection and acceptance in major depressive disorder. *Mol Psychiatry* 2015;20:193–200. 10.1038/mp.2014.185
12. Hsu DT, Sanford BJ, Meyers KK, Love TM, Hazlett KE, Wang H, et al. Response of the μ -opioid system to social rejection and acceptance. *Mol Psychiatry.* 2013;18:1211. DOI: 10.1038/mp.2013.96
13. Trezza V, Damsteegt R, Achterberg EJM, Vanderschuren LJM. Nucleus Accumbens μ -opioid receptors mediate social reward. *J Neurosci.* 2011;31:6362–6370. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5492-10.2011
14. Resendez SL, Dome M, Gormley G, Franco D, Nevárez N, Hamid AA, Aragona BJ. μ -opioid receptors within subregions of the striatum mediate pair bond formation through parallel yet distinct reward mechanisms. *J Neurosci.* 2013; 33, 9140–9149. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4123-12.2013
15. Smith CJW, Wilkins KB, Li S, Tulimieri MT, Veenema AH. Nucleus accumbens μ opioid receptors regulate context-specific social preferences in the juvenile rat. *Psychoneuroendocrinol.* 2018; 89:59–68. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2017.12.017
16. Baldo BA, Kelley AE. Discrete neurochemical coding of distinguishable motivational processes: Insights from nucleus accumbens control of feeding. *Psychopharmacology (Berl).* 2007;191:439–459. DOI: 10.1007/s00213-007-0741-z
17. Richard JM, Castro DC, DiFeliceantonio AG, Robinson MJF, Berridge KC. Mapping brain circuits of reward and motivation: In the footsteps of Ann Kelley. *Neurosci Biobehav Rev.* 2013;37:1919–1931. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2012.12.008
18. Castro DC, Bruchas MR. A motivational and neuropeptidergic hub: Anatomical and functional diversity within the nucleus accumbens Shell. *Neuron.* 2019;102:529–552. DOI: 10.1016/j.neuron.2019.03.003
19. Kennedy SE, Koeppe RA, Young EA, Zubieta JK. Dysregulation of endogenous opioid emotion regulation circuitry in major depression in women. *Arch Gen Psychiatry.* 2006;63:1199–1208. DOI: 10.1001/archpsyc.63.11.1199
20. Prossin AR, Love TM, Koeppe RA, Zubieta JK, Silk KR. Dysregulation of regional endogenous opioid function in borderline personality disorder. *Am J Psychiatry.* 2010;167:925–933. DOI: 10.1176/appi.ajp.2010.09091348
21. Pellissier LP, Gandía J, Laboute T, Becker JAJ, Le Merrer J. μ opioid receptor, Social behaviour and autism spectrum disorder: Reward matters. *Br J Pharmacol.* 2018;175:2750–2769. DOI: 10.1111/bph.13808

22. Ashok AH, Myers J, Reis Marques T, Rabiner E, Howes OD. Reduced mu opioid receptor availability in schizophrenia revealed with [11C]-carfentanil positron emission tomographic imaging. *Nature Commun.* 2019;10(1):1–9. DOI: 10.1038/s41467-019-12366-4
23. Nummenmaa L, Karjalainen T, Isojärvi J, Kantonen T, Tuisku J, Kaasinen V, et al. Lowered endogenous mu-opioid receptor availability in subclinical depression and anxiety. *Neuropsychopharmacol.* 2020;45:195. DOI: 10.1038/s41386-020-0725-9
24. Seidman LJ, Valera EM, Makris N. Structural brain imaging of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry.* 2005;57:1263–1272. 10.1016/j.biopsych.2004.11.019
25. Arnsten AF, Scahill L, Findling RL. Alpha2-adrenergic receptor agonists for the treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder: Emerging concepts from new data. *J Child Adolesc Psychopharmacol.* 2007;17:393–406. DOI: <https://doi.org/10.1089/cap.2006.0098>
26. Cloninger, C.R.; Svrakic, D.M.; Przybeck, T.R. A Psychobiological Model of Temperament and Character. *Arch Gen Psychiatry* 1993, 50, 975–990. DOI: 10.1001/archpsyc.1993.01820240059008
27. Cloninger RC. The temperament and character inventory (TCI): A guide to its development and use; center for psychobiology of personality. Washington University; 1994.
28. Beckmann J, Kazén M. Action and state orientation and the performance of top athletes. In: J. Kuhl, J. Beckmann (Eds.). *Volition and personality: Action versus state orientation*. Hogrefe & Huber Publishers; 1994.
29. Martin WR, Sandquist VL. A Sustained release depot for narcotic antagonists. *Arch Gen Psychiatry.* 1974;30:31–33. DOI: 10.1001/archpsyc.1974.01760070019003
30. Michałowska-Sawczyn M, Niewczas M, Król P, Czarny W, Rzeszutko A, Chmielowiec K, Chmielowiec J, et al. Associations between the dopamine D4 receptor gene polymorphisms and personality traits in elite athletes. *Biol Sport.* 2019;36:365–372. DOI: 10.5114/biolsport.2019.85457
31. Morgan W, O'Connor P, Ellickson KA, Bradley P. Personality structure, mood states, and performance in elite male distance runners. *Int J Sport Psychol.* 1988;19:247–263.
32. Egloff B, Gruhn AJ. Personality and endurance sports. *Pers Individ Dif.* 1996;21:223–229. DOI: 10.1016/0191-8869(96)00048-7
33. Watson AE, Pulford BD. Personality differences in high risk sports amateurs and instructors. *Percept Mot Skills.* 2004;99:83–94. 10.2466/pms.99.1.83-94
34. Bäckmand H, Kaprio, J, Kujala U, Sarna S. Personality and mood of former elite male athletes – A descriptive study. *Int J Sports Med.* 2001;22:215–221. DOI: 10.1055/s-2001-16382
35. Diatchenko L, Robinson EJ, Maixner W. Elucidation of mu-opioid gene structure: How genetics can help predict responses to opioids. *Eur J Pain Suppl.* 2011;5:433–438. DOI: 10.1016/j.eujps.2011.08.022
36. Soto EJJ, Catanesi CI. Human population genetic structure detected by pain-related mu opioid receptor gene polymorphisms. *Genet Mol Biol.* 2015;38:152–155. 10.1590/S1415-4757382220140299
37. Huang P, Chen C, Mague SD, Blendy JA, Liu-Chen LY. A common single nucleotide polymorphism A118G of the μ opioid receptor alters its N-glycosylation and protein stability. *Biochem J.* 2012;441:379–386. DOI: 10.1042/BJ20111050
38. Zhang W, Chang YZ, Kan QC, Zhang LR, Lu H, Chu QJ, et al. Association of human micro-opioid receptor gene polymorphism a118g with fentanyl analgesia consumption in Chinese gynaecological patients. *Anaesthesia.* 2010;65:130–135. DOI: 10.1111/j.1365-2044.2009.06193.x
39. Walter C, Lötsch J. Meta-analysis of the relevance of the OPRM1 118A>G genetic variant for pain treatment. *Pain.* 2009;146:270–275. DOI: 10.1016/j.pain.2009.07.013
40. Vieira CMP, Fragoso RM, Pereira D, Medeiros R. Pain polymorphisms and opioids: An evidence based review. *Mol Med Rep.* 2019;19:1423–1434. DOI: 10.3892/mmr.2018.9792
41. Inoue-Murayama M, Yokoyama C, Yamanashi Y, Weiss A. Common marmoset (*callithrix jacchus*) personality, subjective well-being, hair cortisol level and AVPR1a, OPRM1, and DAT genotypes. *Sci Rep.* 2018;8:10255. DOI: 10.1038/s41598-018-28112-7

Author Contributions: Study Design, RR and AG; Data Collection, RR, KC, JC, and AG; Statistical Analysis, RR, AB, KC, KP, and LZ; Data Interpretation, RR, KC, and AG; Manuscript Preparation, RR, AB, KC, JC, KP, ML, LZ, PG, MB, and AG; Literature Search, RR, AB, JC, ML, PG, MB, and AG; Funding Acquisition, RR and AG. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The research obtained no external funding.

Institutional Review Board Statement: The Bioethics Committee of the Pomeranian Medical University in Szczecin (KB-0012/106/16) had approved the study.

Informed Consent Statement: All participants submitted their written consent to partake in the study, and the studies were conducted in the Independent Health Promotion Laboratory.

Data Availability Statement: Data available from the corresponding author on request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.



Journal of Kinesiology and Exercise Sciences

E-ISSN: 2956-4581

ICV: 100.00 | MNiSW: 70

[Home](#) > [Online first](#)

> The world of top sports people – the review of genetic, epigenetic and psychological factors underlying athletic achievements in terms of neural trans ...

22-08-2024 - Review article

The world of top sports people – the review of genetic, epigenetic and psychological factors underlying athletic achievements in terms of neural transmission

Remigiusz Reclaw¹ , Milena Lachowicz² , Katarzyna Prabucka³ ,
Monika Drozd⁴ , Izabela Huzarska⁴ , Anna Grzywacz¹

1. Independent Laboratory of Genetics and Behavioral Epigenetics, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland

2. Department of Psychology, Gdansk University of Physical Education and Sport, Poland

3. Practical Foreign Language Study Center, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland

4. College of Medical Sciences, Institute of Physical Culture Studies, University of Rzeszow, Poland

Published: 22-08-2024

[Show less](#) ^

Language versions: [English](#)

9

DOI: 10.5604/01.3001.0054.7202

GICID: 01.3001.0054.7202

Keywords: [sports neurobiology](#) [dopaminergic system](#) [psychogenetics](#)



ANTROPOMOTORYKA

Journal of Kinesiology and Exercise Sciences (JKES)

31-571 Kraków, al. Jana Pawła II 78, tel 126831441, tel/fax 126831076, 126831278, e-mail: antropomotoryka@awl.krakow.pl

The world of top sports people – the review of genetic, epigenetic and psychological factors underlying athletic achievements in terms of neural transmission.

Remigiusz Reclaw¹, Milena Lachowicz², Katarzyna Prabucka³, Monika Drozd⁴, Izabela Huzarska⁴ and Anna Grzywacz^{1*}

¹ Independent Laboratory of Genetics and Behavioral Epigenetics, Pomeranian Medical University in Szczecin, Powstańców Wielkopolskich 72 St., 70-111 Szczecin, Poland; remigiusz.reclaw@pum.edu.pl (R.R.); grzywacz.anna.m@gmail.com (A.G.);

² Department of Psychology, Gdansk University of Physical Education and Sport, Kazimierza Górskiego 1 St., 80-336 Gdansk, Poland; milena.lachowicz@awf.gda.pl (M.L.);

³ Practical Foreign Language Study Center, Pomeranian Medical University in Szczecin, Powstańców Wielkopolskich 72 St., 70-111 Szczecin, Poland; katarzyna.prabucka@pum.edu.pl (K.P.);

⁴ College of Medical Sciences, Institute of Physical Culture Studies, University of Rzeszow, 35-310 Rzeszów, Poland;

* Correspondence: grzywacz.anna.m@gmail.com; Tel.: +48-91441-47-4

Abstract

Background: Psychogenetics of sports is a fairly recent branch that combines research on genetic, environmental, and psychological factors influencing sports accomplishments. There has been a growing interest among scientists in analysing the results of polymorphic variants of genes that code for brain neurotransmitters. Epigenetics is also significant, especially in DNA methylation in selected promoters of candidate genes.

Methods: The work includes a review of the available literature on the topic. The review concerned scientific publications on cerebral neurotransmission in sports from the last 20 years.

Results: The analysis of publications on the researched topic results in a holistic presentation of a new, prospective area of research: psychogenetics in sport. For biological reasons, the authors focused on the dopaminergic system, which includes catechol-methyltransferase. Epigenetics, which has been shown to significantly impact sports psychogenetics, is also central to the study.

Conclusion: It has been demonstrated that elite sports development depends to some extent on a genetic component. Nevertheless, our present understanding of the molecular basis of cognitive abilities and personality traits in athletes is still insufficient and the very discipline of sports genetics and epigenetics needs further extensive research.

Introduction

Psychogenetics in sport

It is often held that it is our mind that wins a sports competition not the muscles. Whether one succeeds or fails is often dependent on their will to compete, persistence, boldness and internal drive to reach a goal, which are all personality traits and temperaments.

This is deeply rooted in neurobiology and human brain functions, its neurotransmitters and receptors. Furthermore, the importance of dopamine should be considered, as it is acknowledged by psychologists and psychiatrists as "a hormone of motivation, emotions and adventure-seeking"[1]. In this respect, dopamine has a major impact on making choices which regard so-called "risky decisions". The genes encoding the receptors and the neurotransmitter's transporter are usually investigated in connection with the aptitude to do sports. It is associated with the brain pleasure and contentment pathway. The so-called "mesolimbic reward system" which mediates the psychopharmacology of exercise-derived reward and other factors should also be taken into account. The region of the brain of the ventral tegmental area in which the neurons of the dopaminergic system and the adjacent nucleus accumbens are situated is referred to as the "pleasure centre", and dopamine is just called "pleasure". Thus, it can be presumed in this context that the above system may be one of the critical factors for persuing and sustaining regular sports training. An increasing number of studies growing body of research has indicated the role of dopamine-related genes in exercise-related behaviour, since this neuromediator affects the brain's reward system response and how individuals learn. DRD2 TT homozygotes were considerably less inclined to engage in sport and physical activity than DRD2 CT heterozygotes and CC homozygotes in white women [2]. Similarly, Flack et al. showed that possessing the A1 allele of the DRD2 gene is linked to a lower RRV exercise (relative reinforcing value of exercise) among 178 adults (127 were female) [3]. Lee et al. also established that the women who carry the DRD2A1 allele are less likely to partake in sports in adolescence and adulthood. [4]. Wang et al. found that women who possess all these traits can become involved in addictive behaviour rather than in doing sports to derive pleasure [5]. By comparison, as for men, the more DRD2 A1 alleles they have, the more prone they are to participate in sports in adolescence and adulthood [4], which suggests that physical activity and sports can become addictive within the male group [6]. Another strong candidate gene to study behavior related to physical activity is the methyl transferase (COMT) gene as it is frequently linked to several addictive behaviours [7–9]. Rosso et al. analyzed the differences based on dopamine-related genes, the COMT gene inclusive, after the intervention-induced changes in physical activity. The variations in physical activity between intervention and control group were more significant for COMT methionine (Met) homozygotes than for ones with the valine COMT allele (Val) [10]. Van der Mee et al. found out that exercise behaviour at an external pace was positively correlated with the COMT Met allele in the adult population. They also learnt that this correlation was even greater for those athletes who participated in exercise and sports on a regular basis[11]. The findings of this research strongly imply that present/former experience connected to exercise and sport may provoke a boost or sustain volitional exercise and sports involvement in future life among

people with the DRD2A1 allele and the COMT Met allele. On the contrary, studies reveal no major association between the DRD2 and COMT genes and activity in adults. [3,12–14]. The research did not take into consideration present/previous exercise and sports experiences and were not differentiated by gender. Several cross-sectional studies tested genes' influence on physical activity at a single moment in time. Nevertheless, we cannot disregard the influence of the environment on sports behaviour. Since human behaviour is greatly influenced by the cumulative impact of environmental and genetic factors [15,16], gene-environment interplay needs to be considered when anticipating engagement in sports. There is growing body of evidence in literature that that participation in physical exercise during adolescence enhances the probability of participation in physical exercise in adulthood [17]. Furthermore, the correlation between adolescence and adulthood physical exercise is more remarkable when the type of physical exercise is connected to sport [18,19]. Applying the National Longitudinal Study of Adolescent Health Data (AddHealth), Current Research - Associated the Joint Effects of Adolescent Sports Experience and Dopamine-Related Genes (i.e., DRD2 and COMT genes) on sports engagement in adulthood, as well as results from prior genetic studies indicate that there are possible relationships between present/previous exercise and sports experience and dopamine-related genes in anticipating volitional exercise and sports involvement.

Methods

The work includes a review of the available literature on the topic. The review concerned scientific publications on cerebral neurotransmission in sports from the last 20 years.

Using databases: in this study, we used the literature on the subject based mainly on neurobiology and the basics of brain transmission. An analysis of publications from the selected range of years was not carried out, because the topic is still poorly researched and the authors tried to include all the analyzed data in the selected narrow topic of the study.

Results

A holistic approach to the brain – other neurotransmitters

There also other systems in the brain related to neurotransmission and their role needs to be acknowledged to give a precise and holistic picture. The serotonergic system which greatly influences behaviour and psychopathogenesis should be mentioned here. We take into account the functional and biochemical aspects when marking candidate genes in the field of psychogenetics in sports. We may have two approaches in our considerations: from a phenotype point of view, i.e., a specific trait connected to the psychological aspect. Next, the qualities are chosen (e.g., excellent emotional intelligence, openness or intrinsic motivation) and a group of sportspeople exhibiting these qualities (e.g., stamina athletes, team sports athletes, martial arts participants). This allows us a psychological perspective to which the gene variant may be correlated. Sports psychogenetics is a novel discipline, but we have already demonstrated its relevance. Polymorphic variants have been researched for many years, with growingly refined methods such as GWAS.

DNA methylation

The substantial number of gene promoters, approximately 70%, are located within CpG Island - strands of DNA about 1000 base pairs long characterized by a greater CpG density than the rest of the genome. Particularly, the promoters for housekeeping genes are frequently included in CpG Island. In the course of evolution, the location and preservation of CpG islands suggest that these regions bear functional significance [20]. Cytosine methylation is usually believed to take place solely at CpG sites. Current developments in genome-wide single nucleotide sequencing have resulted in re-evaluating this notion. Intriguingly, non-CpG methylation (CpH, where H can be any nucleotide apart from G) was seen in mammalian stem cells and neuronal cells. Some examples of evidence imply that non-CpG methylation might be functional. To begin with, the flanking sequences of the methylated CpH (mCpH) revealed similar motifs to 5'-TNCA(C/G)125 (where N can be any nucleotide). Furthermore, the position of DNA methylation is strictly conserved for various cell types. Thirdly, the level of gene expression is negatively correlated with the methylation level in the gene structure.

Epigenetic studies – a new era of sport

DNA methylation remains stable through cell division but is progressive throughout life because of environmental factors, such as training and diet [21, 22]. Former studies have demonstrated that exercise generates minor (<10%) and extensive changes in DNA methylation in striated muscles [23, 24]. Exercise epigenetics is a novel and promising field of research, and up to date it has limited body of evidence of whether and how epigenetic tags, such as DNA methylation, are responsive to exercise. A study from 2012 revealed lower DNA methylation in particular genes 20 minutes after high-impact endurance training [21] and demonstrated prompt changes of DNA methylation. No possible gender-related reactions were proven in that study. Nevertheless, prompt demethylation of exercise-susceptible genes indicates that close monitoring of DNMT activity during training is essential for this reaction. In vitro studies demonstrate that DNMT3B is a crucial regulator of this gene program [25]. Interestingly, human hepatic expression of DNMT3B is remarkably higher in females than in males [26], however it is uncertain whether this also pertains to skeletal muscles. Whereas DNMTs are engaged in DNA methylation, ten in eleven translocation enzymes (TETs) are engaged in DNA demethylation. TET enzymes are expressed in human skeletal muscles [27], and accounting for how recently they have been identified, gender variations in TET skeletal muscles are still to be established. Yet, in one analysis, no gender-specific variations in TET expression were identified in the hippocampus tissue of a mouse [28]. Despite that, the knowledge of the dynamics of DNMT and TET in both sexes is warranted so as to uncover the nature of DNA methylation in exercise adjustments. A current study is the first to closely analyze gender differences in DNA methylation in human skeletal muscle tissue, i.e. in myoblasts and myotubes (13 males, 13 females). DNA methylation and genome-wide

expression (assessed by microarrays) were carried out on autosomes and X-chromosomes. A few pathways connected to the cell cycle and energy, protein and fatty acid metabolism have been enhanced in females, while pathways which are mainly connected to cellular communication (e.g., TGF-beta signalling) have been enhanced in males. They validated the direct impact of DNA methylation on gene expression using a test for luciferase.

They established gender-related differences in both DNA methylation and gene expression for 40 genes in myoblasts (including LAMP2 and SIRT1), 9 in myotubes (KDM6A) and 5 in both myoblasts and myotubes (CREB5, RSP4X, SYAP1, XIST, ZRSR2). Additionally, in autosomes, the study showed more differences in DNA methylation during cell differentiation in females in comparison to males. These internal variations may play a role in the gender-specific differences found in muscle phenotypes [29]. These results emphasize the significance of taking the gender aspect into consideration in biomedical research with the hope that the medicine of the future will continue to benefit from such findings. Furthermore, this places the emphasis on researching if gender-specific differences in DNA methylation are also responsible for adaptation in Landen exercise. A meta-analysis of 16 studies distinguished 478 loci (307 in skeletal muscle) that are subject to methylation changes after either intense (one bout) or chronic exercise (walking, cycling, and tai-chi). Methylation altered to a larger extent (i.e., larger effect size) in females than males after exercise, which indicates sex differences in the epigenetic response to exercise. On the other hand, a sex comparison was not the core of this study, so specific DNA methylation variations between males and females were not explored. Further studies have showed that long-term training is associated with alterations in DNA methylation in human skeletal muscles [23, 24]. Subsequently to 3 months of one-legged knee extensor exercise training in men and women, 4919 loci were diversely methylated in the exercised leg, as contrasted with the control leg. Training and sex were identified as main factors of differentiation in methylation on autosomal DNA. Sex was seen as a confounding factor. Yet, no statistical analysis was done to establish whether males and females showed differences in their DNA methylation pattern in reaction to exercise and which specific methylation sites were modified in each gender [23]. Majority of the cited studies have placed their raw DNA methylation data on the Gene Expression Omnibus (GEO) platform, enabling exploration of possible gender differences in epigenetic response to training.

Discussion

Research on Dopamine and COMT

The intercerebral dopaminergic system plays the key role in governing cognitive skills. Dopamine (DA; 3,4-dihydroxy-phenylethylamine) is a catecholamine neurotransmitter responsible for the development of tiredness, which results in a decrease in intensity or discontinuation of exercise by regulating circuits linked to motor control and thermal regulation, along with the motivation and reward system [30– 32]. In a study investigating the connection between the DA system's three genes and swimmers' performance, Abe et al. presented statistically significant results specifically for the Val158Met polymorphism within

the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene. Hence, they proposed that it is the most probable candidate gene correlated with individual characteristics in cognitive abilities which may determine variations in achieving exceptional results in professional sports competitions and daily exercise regimen. [33]. However, its role in the improvement of physical fitness is yet to be established. Non-athletic populations and more replication studies are necessary. The human COMT gene located on the long arm of chromosome 22 (locus22q11.21) encodes catechol-O-methyltransferase (COMT; EC 2.1.1.6), the key regulator of dopaminergic and adrenergic synaptic transmission. In the presence of magnesium (Mg^{2+}), the COMT enzyme shifts the methyl group from S-adenosyl-L-methionine (SAM) to one of the catechol hydroxyls. O-methylation activity is involved in the deactivation of catecholamine neurotransmitters and catechol hormones such as DA [34]. Two isoforms expressed from distinct promoters have been identified: the soluble form (S-COMT) and the membrane-bound form (MB-COMT). The second isoform is primarily expressed in brain neurons and controls extracellular DA levels in the prefrontal cortex. Even though its role was determined in 1958 [35], the function of the COMT enzyme in other pathways and conditions is becoming more and more prevalent study subject. It is associated with neuropsychiatric conditions and the neurobiology of cognition, emotions, behaviour, sleep regulation, pain mechanisms and perception, patterns of addiction, and neurologic deterioration [34, 36]. Thus, enzyme activity may contribute significantly to developing athletic skills. In the process of planning the studies on phenotype and genotype and explaining their association, it is extremely important to recognize the haplotype structures in the human genome since haplotypes are very potent and efficient tools to research the possible influence of genetic variation on biological functions and predisposition to diseases [37, 38]. Numerous haplotype analysis studies have shown that coupling SNPs resulted in collective effects on enzyme activity and protein function [39]. Moreover, the haplotype distribution is varied between settings and geographic regions and can influence the results [40]. The Chinese carried out a haplotype investigation based on data for eight COMT polymorphisms generating two haplotype sets. Within these, only the composition of the C-G-C-G haplotype in the first block consisting of rs165722, rs6269, rs4633, and rs4818 was substantially connected with the risk of multiple physical activity-related injuries (PARI) (OR: 0.474; 95% CI: 0.269 to 0.834). The result demonstrated a much lower frequency of this haplotype in the PARI group than in the control group, indicating that it might play a defensive role in PARI incidence. This was the pioneer research (2021) to gain insight into the association between the COMT haplotype and the development of PARI. The potential mechanism underlying this defensive effect of the low-active COMT haplotype on PARI incidence remains uncertain. Further studies should be conducted to verify and reach more conclusive results which would elucidate the role of COMT haplotypes in PARI occurrence [41]. Currently [42], there has been a growing interest in research to understand the development of a talent to excel at sports, which produced a number of feasible models [43]. Scholars and researchers consent that talent emergence is based on the interplay of different personal traits of the athlete with the environment, exercise, and training [44]. Simultaneously, the core studies of sports talent have greatly changed from a greater concentration on

physiology and anthropometry to acknowledge psychology as a crucial element of talent development [44, 45]. On the other hand, low number of studies analyzed if the psychological traits of sportspeople are genetically determined, though some progress to understand the genetics determining physical fitness has been made [46] and there have been attempts to carry out studies on this subject [47]. It might be quite surprising as it was established that multiple characteristics seen as essential for sporting prowess prove genetic inheritance in non-athletic people (e.g., personality traits are considered reasonably genetically determined [48]. Up to 50% of intelligence (learning skills, reasoning, problem analysis) may be genetically determined [49].

Consequently, the mutual influence of the genetically determined temperament and the environmentally determined character seem to condition the undertaking and continuation of athletic trainings, which in turn allow to excel at sports [50]. Ontogenetic discrepancies are, in that event, expressed by a regulating effect of the neurotransmitter system on the expression of specific personality traits. A proper example is so-called "novelty seeking", characterized by a "desire" for experiencing excitement, which stems from the dopaminergic system functioning, i.e., too little levels of dopamine. The novelty-seeking gene is linked with the dopaminergic system and the DRD4 receptor.

Conclusion

It has been demonstrated that elite sports development depends to some extent on a genetic component. Nevertheless, our present understanding of the molecular basis of cognitive abilities and personality traits in athletes is still insufficient. The discipline of sports genetics and epigenetics needs further extensive research. The following decades may be an advent of rapid developments in sports psychogenetics, with the implementation of novel DNA technologies (e.g., whole genome sequencing, GWAS; epigenomic, transcriptomic, and proteomic profiling) and bio-informatics to investigate the impact of heredity - genes and their modifications on sportspeople conduct and professional career pursuit.

It seems reasonable to conduct a multi-dimensional study taking into account biology, genetics, epigenetics and psychological factors in selected groups of athletes. Genes related to the dopaminergic system in the brain are an important predictive factor related to the motivational system in athletes. Psychological factors and the genetic determinants associated with them are necessary factors for holistic analysis in the process of searching for behavioural genetic determinants in sports.

References

1. Blanco NJ, Love BC, Cooper JA, McGeary JE, Knopik VS, Maddox WT. A Frontal Dopamine System for Reflective Exploratory Behavior. *Neurobiol Learn Mem* 2015, 123, 84–91, doi:10.1016/J.NLM.2015.05.004.

2. Simonen RL, Rankinen T, Pérusse L, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, Rao DC, Bouchard CA. Dopamine D2 Receptor Gene Polymorphism and Physical Activity in Two Family Studies. *Physiology and Behavior* 2003, 78, 751–757, doi:10.1016/S0031-9384(03)00084-2.
3. Flack K, Pankey C, Ufholz K, Johnson L, Roemmich JN. Genetic Variations in the Dopamine Reward System Influence Exercise Reinforcement and Tolerance for Exercise Intensity. *Behavioural Brain Research* 2019, 375, 112148, doi:10.1016/J.BBR.2019.112148.
4. Lee CG, Moon H, Park S. The Effects of Dopamine Receptor Genes on the Trajectories of Sport Participation from Adolescence through Young Adulthood. <https://doi.org/10.1080/03014460.2020.1736629> 2020, 47, 256–262, doi:10.1080/03014460.2020.1736629.
5. Wang N, Zhang JB, Zhao J, Cai XT, Zhu YS, Li SB. Association between Dopamine D2 Receptor Gene Polymorphisms and the Risk of Heroin Dependence. *Genet Mol Res* 2016, 15, doi:10.4238/GMR15048772.
6. Vilella C, Martinotti G, di Nicola M, Cassano M, la Torre G, Gliubizzi MD, Messeri I, Petrucci F, Bria P, Janiri L. Behavioural Addictions in Adolescents and Young Adults: Results from a Prevalence Study. *Journal of Gambling Studies* 2011, 27, 203–214, doi:10.1007/S10899-010-9206-0/TABLES/2.
7. Kauhanen J, Hallikainen T, Tuomainen T-P, Koulu M, Karvonen MK, Salonen JT, Tiihonen J. Association Between the Functional Polymorphism of Catechol-O-Methyltransferase Gene and Alcohol Consumption Among Social Drinkers. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 2000, 24, 135–139, doi:10.1111/J.1530-0277.2000.TB04582.X.
8. Munafò MR, Johnstone EC, Guo B, Murphy MFG, Aveyard P. Association of COMT Val108/158Met Genotype with Smoking Cessation. *Pharmacogenetics and Genomics* 2008, 18, 121–128, doi:10.1097/FPC.0B013E3282F44DAA.
9. Schellekens AFA, Franke B, Ellenbroek B, Cools A, de Jong CAJ, Buitelaar JK, Verkes RJ. COMT Val158Met Modulates the Effect of Childhood Adverse Experiences on the Risk of Alcohol Dependence. *Addiction Biology* 2013, 18, 344–356, doi:10.1111/J.1369-1600.2012.00438.X.
10. Rosso AL, Metti AL, Glynn NW, Boudreau RM, Rejeski WJ, Bohnen N, Chen H, Johannsen NM, King AC, Manini TM. Dopamine-Related Genotypes and Physical Activity Change During an Intervention: The Lifestyle Interventions and Independence for Elders Study. *J Am Geriatr Soc* 2018, 66, 1172–1179, doi:10.1111/JGS.15369.
11. Mee DJ, Fedko IO, Hottenga JJ, Ehli EA, Zee MD, Ligthart L, Beijsterveldt TCEM, Davies GE, Bartels M, Landers JG. Dopaminergic Genetic Variants and Voluntary Externally Paced Exercise Behavior. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 2018, 50, 700–708, doi:10.1249/MSS.0000000000001479.
12. Jozkow P, Slowinska-Lisowska M, Laczanski L, Medras M. DRD2 C313T and DRD4 48-Bp VNTR Polymorphisms and Physical Activity of Healthy Men in Lower Silesia, Poland (HALS Study). <https://doi.org/10.3109/03014460.2012.748829> 2013, 40, 186–190, doi:10.3109/03014460.2012.748829.

13. Huppertz C, Bartels M, Groen-Blokhuis MM, Dolan C, Moor MHM, Abdellaoui A, Beijsterveldt CEM, Ehli EA, Hottenga JJ, Willemsen G. The Dopaminergic Reward System and Leisure Time Exercise Behavior: A Candidate Allele Study. *BioMed Research International* 2014, 2014, doi:10.1155/2014/591717.
14. Moor MHM, Liu YJ, Boomsma DI, Li J, Hamilton JJ, Hottenga JJ, Levy S, Liu XG, Pei YF, Posthuma D. Genome - Wide Association Study of Exercise Behavior in Dutch and American Adults. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 2009, 41, 1887–1895, doi:10.1249/MSS.0B013E3181A2F646.
15. Halldorsdottir T, Binder EB. Gene-Environment Interactions: From Molecular Mechanisms to Behavior 2017. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-psych-010416-044053>, 68, 215–241, doi:10.1146/ANNUREV-PSYCH-010416-044053.
16. Young-Wolff KC, Enoch MA, Prescott CA. The Influence of Gene-Environment Interactions on Alcohol Consumption and Alcohol Use Disorders: A Comprehensive Review. *Clinical Psychology Review* 2011, 31, 800–816, doi:10.1016/J.CPR.2011.03.005.
17. Batista MB, Leila C, Romanzini P, Correa C, Barbosa L, Shigaki GB, Romanzini M, Ricardo E, Ronque V. Participation in Sports in Childhood and Adolescence and Physical Activity in Adulthood: A Systematic Review. <https://doi.org/10.1080/02640414.2019.1627696> 2019, 37, 2253–2262, doi:10.1080/02640414.2019.1627696.
18. Bélanger M, Sabiston CM, Barnett TA, O'Loughlin E, Ward S, Contreras G, O'Loughlin J. Number of Years of Participation in Some, but Not All, Types of Physical Activity during Adolescence Predicts Level of Physical Activity in Adulthood: Results from a 13-Year Study. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity* 2015, 12, 1-8, doi:10.1186/S12966-015-0237-X/FIGURES/2.
19. Kjønniksen L, Torsheim T, Wold B. Tracking of Leisure-Time Physical Activity during Adolescence and Young Adulthood: A 10-Year Longitudinal Study. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity* 2008, 5, 1–11, doi:10.1186/1479-5868-5-69/TABLES/6.
20. Moore LD, Le T, Fan G. DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacology* 2013 38:1 2012, 38, 23–38, doi:10.1038/npp.2012.112.
21. Barrès R, Yan J, Egan B, et al. Acute exercise remodels promoter methylation in human skeletal muscle. *Cell Metab.* 2012;15:405–411.
22. Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet.* 2003; 33 (Suppl):245–254.
23. Lindholm ME, Marabita F, Gomez-Cabrero D, et al. An integrative analysis reveals coordinated reprogramming of the epigenome and the transcriptome in human skeletal muscle after training. *Epigenetics.* 2014b;9:1557–1569.
24. Nitert MD, Dayeh T, Volkov P, et al. Impact of an Exercise Intervention on DNA Methylation in Skeletal Muscle From First-Degree Relatives of Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes.* 2012;61:3322–3332.
25. Barrès R, Osler ME, Yan J, et al. Non-CpG methylation of the PGC-1 α promoter through DNMT3B controls mitochondrial density. *Cell Metab.* 2009;10:189–198.

26. Xiao Y, Word B, Starlard-Davenport A, et al. Age and gender affect DNMT3a and DNMT3b expression in human liver. *Cell Biol Toxicol*. 2008;24:265–272.
27. Tsumagari K, Baribault C, Terragni J, et al. Early de novo DNA methylation and prolonged demethylation in the muscle lineage. *Epigenetics*. 2013;8:317–332.
28. Hadad N, Masser DR, Logan S, et al. Absence of genomic hypomethylation or regulation of cytosine-modifying enzymes with aging in male and female mice. *Epigenetics Chromatin*. 2016;9:30.
29. Davegårdh C, Wedin EH, Broholm C, et al. Sex influences DNA methylation and gene expression in human skeletal muscle myoblasts and myotubes. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10:26.
30. Gerald MC. Effects of (+)-Amphetamine on the Treadmill Endurance Performance of Rats. *Neuropharmacology* 1978, 17, 703–704, doi:10.1016/0028-3908(78)90083-7.
31. Heyes MP, Garnett ES, Coates G. Central Dopaminergic Activity Influences Rats Ability to Exercise. *Life Sciences* 1985, 36, 671–677, doi:10.1016/0024-3205(85)90172-9.
32. Cordeiro LMS, Rabelo PCR, Moraes MM, Teixeira-Coelho F, Coimbra CC, Wanner SP, Soares DD. Physical Exercise-Induced Fatigue: The Role of Serotonergic and Dopaminergic Systems. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas* 2017, 50, doi:10.1590/1414-431X20176432.
33. Abe D, Doi H, Asai T, Kimura M, Wada T, Takahashi Y, Matsumoto T, Shinohara K. Association between COMT Val158Met Polymorphism and Competition Results of Competitive Swimmers. *Journal of Sports Sciences* 2018, 36, 393–397, doi:10.1080/02640414.2017.1309058.
34. Bastos P, Gomes T, Ribeiro L. Catechol-O-Methyltransferase (COMT): An Update on Its Role in Cancer, Neurological and Cardiovascular Diseases. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2017, 173, 1–39, doi:10.1007/112_2017_2.
35. Axelrod J, Tomchick R. Enzymatic O-Methylation of Epinephrine and Other Catechols.
36. Machoy-Mokrzyńska A, Starzyńska-Sadura Z, Dziedziejko V, Safranow K, Kurzawski M, Leźnicka K, Sulżyc-Bielicka V, Jurewicz A, Bohatyrewicz A, Białecka M. Association of COMT Gene Variability with Pain Intensity in Patients after Total Hip Replacement. *Scand J Clin Lab Invest* 2019, 79, 202–207, doi:10.1080/00365513.2019.1576920.
37. Michaelovsky E, Gothelf D, Korostishevsky M, Frisch A, Burg M, Carmel M, Steinberg T, Inbar D, Apter A, Weizman A. Association between a Common Haplotype in the COMT Gene Region and Psychiatric Disorders in Individuals with 22q11.2DS. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 2008, 11, 351–363, doi:10.1017/S1461145707008085.
38. Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H, Moore JM, Roy J, Blumenstiel B, Higgins J, DeFelice M, Lochner A, Faggart M. The Structure of Haplotype Blocks in the Human Genome. *Science* 2002, 296, 2225–2229, doi:10.1126/SCIENCE.1069424.
39. Nackley AG, Shabalina SA, Tchivileva IE, Satterfield K, Korchynskyi O, Makarov SS, Maixner W, Diatchenko L. Human Catechol-O-Methyltransferase Haplotypes Modulate Protein Expression by Altering mRNA Secondary Structure. *Science* 2006, 314, 1930–1933, doi:10.1126/SCIENCE.1131262.

40. Park DJ, Kim SH, Nah SS, Lee JH, Kim SK, Lee YA, Hong SJ, Kim HS, Lee HS, Kim HA. Association between Catechol-O-Methyl Transferase Gene Polymorphisms and Fibromyalgia in a Korean Population: A Case-Control Study. *Eur J Pain* 2016, 20, 1131–1139, doi:10.1002/EJP.837.
41. Chen S, Cai W, Duan S, Gao L, Yang W, Gao Y, Jia C, Zhang H, Li L. Association of COMT Polymorphisms with Multiple Physical Activity-Related Injuries among University Students in China. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2021, 18, doi:10.3390/IJERPH182010828/S1.
42. Hambrick DZ, Campitelli G, Macnamara BN. *The Science of Expertise : Behavioral, Neural, and Genetic Approaches to Complex Skill*; ISBN 9781138204386.
43. Balyi I, Hamilton A. *Key to Success: Long-Term Athlete Development*. Sport Coach (Canberra, Australia). 2000, 10–32.
44. Rees T, Hardy L, Güllich A, Abernethy B, Côté J, Woodman T, Montgomery H, Laing S, Warr C. The Great British Medalists Project: A Review of Current Knowledge on the Development of the World's Best Sporting Talent. *Sports Med* 2016, 46, 1041–1058, doi:10.1007/S40279-016-0476-2.
45. Blijlevens SJE, Elferink-Gemser MT, Wylleman P, Bool K, Visscher C. Psychological Characteristics and Skills of Top-Level Dutch Gymnasts in the Initiation, Development and Mastery Stages of the Athletic Career. *Psychol Sport Exerc* 2018, 38, 202–210, doi:10.1016/J.PSYCHSPORT.2018.07.001.
46. Ahmetov II, Egorova ES, Gabdrakhmanova LJ, Fedotovskaya ON. Genes and Athletic Performance: An Update. *Medicine and Sport Science* 2016, 61, 41–54, doi:10.1159/000445240.
47. Lippi G, Favaloro EJ, Guidi GC. The genetic basis of human athletic performance. Why are psychological components so often overlooked? *J Physiol*. 2008;586(12):3017; author reply 3019–3020. DOI: 10.1113/jphysiol.2008.155887
48. Rimfeld K, Kovas Y, Dale PS, Plomin R. True Grit and Genetics: Predicting Academic Achievement from Personality. *J Pers Soc Psychol* 2016, 111, 780–789, doi:10.1037/PSPP0000089.
49. Plomin R, Deary IJ. Genetics and Intelligence Differences: Five Special Findings. *Mol Psychiatry* 2015, 20, 98–108, doi:10.1038/MP.2014.105.
50. Hornowska E. *Temperamentálne Uwarunkowania Zachowania. Badanie z Wykorzystaniem Kwestionariusza TCI RC Cloninger*; Bogucki Wydawnictwo Naukowe: Poznań, 2003.