

Γονίδια και (κοινά) μονοπάτια που συμμετέχουν στην εξάρτηση από φαρμακευτικές ουσίες

Chuan-Yun Li, Xizeng Mao, Liping Wei
 PLoS Comput Biol 2008, 4(1): e2. doi:10.1371/journal.pcbi.0040002

Ελεύθερη απόδοση στα ελληνικά: ΦΩΤΗΣ ΒΛΑΣΤΟΣ
 Πνευμονολόγος, Επιμελητής Α', ΚΑΑ-ΝΝΘΑ

Η εξάρτηση από φαρμακευτικές ουσίες είναι παγκοσμίως ένα σοβαρό κοινωνικό πρόβλημα (κοκαΐνη, αλκοόλη, νικοτίνη, οπιοειδή). Διάφορες τεχνολογικές εφαρμογές έχουν αποκαλύψει ότι μια ποικιλία γονιδίων και μονοπατιών συμμετέχουν στην εξάρτηση. Ωστόσο, καθεμία τεχνολογική εφαρμογή έχει τους περιορισμούς της. Η παρούσα ανασκόπηση ανέλυσε 2.343 δεδομένα, δημοσιευμένα σε έγκυρα επιστημονικά περιοδικά μεταξύ 1976 και 2006, τα οποία συνδέουν γονίδια και χρωματοσωματικές περιοχές με την εξάρτηση, με στρατηγικές ενός γονιδίου, μικροσυστοιχίες (microarray), πρωτεομική (proteomics) ή γενετικές μελέτες. Ταυτοποιήθηκαν 1.500 γονίδια σχετιζόμενα με την ανθρώπινη εξάρτηση και αναπτύχθηκε η KARG (<http://karg.cbi.pku.edu.cn>), η πρώτη μοριακή βάση δεδομένων για γονίδια σχετιζόμενα με την εξάρτηση. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε μετα-ανάληψη που περιλάμβανε 396 γονίδια για τα οποία υπήρχαν τουλάχιστον δύο ανεξάρτητες αναφορές, γεγονός που επέτρεψε την ταυτοποίηση 18 μοριακών μονοπατιών, που καλύπτουν τόσο προ- όσο και μετα-μεταγραφικά ενδοκυτταρικά γεγονότα. Πέντε μοριακά μονοπάτια εμφανίστηκαν ενεργά και στους τέσσερις τύπους των εξαρτησιογόνων ουσιών, γεγονός που τα καθιστά κοινά μονοπάτια των επιβραβευτικών και εξαρτησιογόνων δράσεων, συμπεριλαμβανομένων των δύο νεότερων, του μονοπατιού GnRH και του "gap junction". Τέλος, συνδέθηκαν τα κοινά μονοπάτια σε ένα υποθετικό μοριακό δίκτυο της εξάρτησης. Παρατηρήθηκε ότι ταχείς και βραδείς θετικοί κύκλοι ανάδρασης (feedback loops) διασυνδέονται μέσω του CAMKII, γεγονός που μπορεί να παράσχει στοιχεία ικανά να εξηγήσουν τη μη αναστρέψιμη φύση της εξάρτησης.

Εισαγωγή

Η εξάρτηση από φαρμακευτικές ουσίες ορίζεται σαν «απώλεια του ελέγχου της χρήσης μιας ουσίας, ή η παρορμητική αναζήτηση και λήψη της ουσίας παρά τις αρνητικές συνέπειες για την υγεία του ατόμου». Πρόκειται για ένα σοβαρότατο κοινωνικό πρόβλημα, παγκοσμίως¹. Υπολογίζεται ότι οι γενετικοί παράγοντες συμμετέχουν κατά 40%–60% στην επιρρέπεια προς την εξάρτηση από μια ουσία, ενώ οι περιβαλλοντικοί παράγοντες συμπληρώνουν το σχετικό υπόστρωμα².

Ποιά είναι τα γονίδια και τα μονοπάτια που προδιαθέτουν στην εξάρτηση; Υπάρχει κοινό μοριακό μονοπάτι που ενεργοποιείται για την εξάρτηση σε διάφορες τοξικές ουσίες; Υπάρχει κάποιο δίκτυο που θα μπορούσε να ερμηνεύσει τις ανθεκτικές και ενίοτε μη αναστρέψιμες μοριακές και δομικές μεταβολές μετά την εξάρτηση; Πρόκειται για σημαντικά ερωτήματα που πρέπει να απαντηθούν ώστε



να κατανοηθεί και να αντιμετωπισθεί η εξάρτηση από τις ουσίες.

Γνωρίζοντας τα γονίδια και τις σχετικές χρωματοσωματικές περιοχές που συμμετέχουν στην εξάρτηση, θα μπορούσαμε να κάνουμε το πρώτο βήμα. Κατά τις προηγούμενες δεκαετίες, εφαρμόστηκαν διάφορες τεχνολογίες ώστε να

βρεθούν αυτά τα γονίδια και οι χρωματοσωματικές περιοχές. Για παράδειγμα, σε μελέτες βασισμένες σε επιστημονικές υποθέσεις, γονίδια σε διαφορετικές περιοχές του εγκεφάλου επιλεκτικά εκφράστηκαν, ανεστάλησαν ή εξαφανίστηκαν με τη χρήση των πειραματόζων knock-out³. Οι νεότερες τεχνολογίες με αυξημένη ευαισθησία και μαζική απόδοση όπως οι μικροσυστοιχίες και η πρωτεομική, έχουν ταυτοποιήσει υποψήφια γονίδια και πρωτεΐνες, η έκφραση των οποίων μεταβάλλεται σημαντικά σε διάφορα στάδια της εξάρτησης^{4,5}.

Εντέλει, γενετικές μελέτες, όπως οι μελέτες "animal Quantitative Trait Locus (QTL)", μελέτες γενετικής συσχέτισης (genetic linkage), και μελέτες πληθυσμιακών συσχετίσεων ταυτοποίησαν χρωματοσωματικές περιοχές που θα μπορούσαν να συμβάλουν στην ευαισθητοποίηση του εξαρτημένου ατόμου⁶⁻⁸. Ωστόσο, καθώς η εξάρτηση εμπλέκει ένα ευρύ φάσμα γονιδίων και ⇨



ΠΙΝΑΚΑΣ 1. ΚΟΙΝΑ ΜΟΡΙΑΚΑ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΠΟΥ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΕΙΔΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΕΞΑΡΤΗΣΗΣ

| Addictive Drugs | | Cocaine | Alcohol | Opioids | Nicotine |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| Neuroactive ligand – receptor interaction | p-Value | 5.39E-05 | 3.24E-02 | 2.68E-03 | 7.79E-03 |
| | Q-Value | 1.8E-04 | 0.05 | 0.01 | 0.04 |
| Long – term potentiation | p-Value | 3.21E-08 | 8.28E-03 | 1.05E-02 | 8.84E-03 |
| | Q-Value | 2.8E-07 | 0.03 | 0.03 | 0.04 |
| GnRH signaling pathway | p-Value | 2.84E-05 | 3.93E-04 | 4.67E-03 | 1.72E-02 |
| | Q- Value | 1.2E-04 | 3.6E-03 | 0.02 | 0.05 |
| MAPK signaling pathway | p-Value | 1.28E-04 | 2.97E-04 | 7.34E-05 | 1.10E-02 |
| | Q-Value | 3.7E-04 | 3.6E-03 | 5.2E-04 | 0.04 |
| Gap junctions | p-Value | 1.93E-08 | 3.11E-03 | 3.30E-03 | 5.85E-03 |
| | Q- Value | 2.87E-07 | 0.01 | 0.01 | 0.03 |

πολύπλοκων μηχανισμών, κάθε τεχνολογία και μελέτη ενδέχεται να παρέχει ένα περιορισμένο και αμφισβητούμενο συμπέρασμα^{3,9-14}. Υπάρχει ανάγκη συνδυασμού δεδομένων^{3,15,16}. Η προκύπτουσα λίστα γονιδίων, κατά προτίμηση σε μορφή βάσης δεδομένων με πρόσθετες λειτουργικές πληροφορίες, θα ήταν μια πολύτιμη πηγή για την επιστημονική κοινότητα. Η συστηματική και στατιστική ανάλυση των γονιδίων και των σχετικών μονοπατιών, ίσως μας δώσει μια πληρέστερη εικόνα των μοριακών μηχανισμών της εξάρτησης.

Αν και τα διάφορα εξαρτησιογόνα φάρμακα έχουν διαφορετικές φαρμακολογικές δράσεις, υπάρχουν επίσης και ομοιότητες μετά από οξεία και χρόνια έκθεση, όπως η άμεση επιβράβευση και τα αρνητικά συναισθήματα σε περίπτωση απόσυρσης από τη λήψη της ουσίας¹⁷. Πρόσφατα τέθηκε η ερώτηση: «Υπάρχει κοινό μοριακό μονοπάτι για την εξάρτηση;».

Η εξακρίβωση κοινών μοριακών μονοπατιών, που ενεργοποιούνται τόσο στην επιβραβευτική όσο και στην εξαρτησιογόνα δράση των ουσιών, μπορεί να βοηθήσει στην ανάπτυξη αποτελεσματικών θεραπειών για ένα ευρύ φάσμα εξαρτητικών διαταραχών¹⁷. Πολλά κοινά διακριτά μονοπάτια έχουν προταθεί¹⁷. Ωστόσο, δεν έχουν μελετηθεί συστηματικά και στατιστικά. Οι συμπεριφορολογικές ανωμαλίες – κλειδιά που συνδέονται με την εξάρτηση είναι ανθεκτικές στον χρόνο, με σταθερές και μη αναστρέψιμες μοριακές και δομικές μεταβολές στον εγκέφαλο που προκαλούν ένα είδος «μοριακού και δομικού switch», από την ελεγχόμενη λήψη ενός

φαρμάκου στην παρορμητική κατάχρησή του¹⁸.

Έχει προταθεί ότι η πρόοδος στην εξάρτηση μπορεί να περιλαμβάνει θετικούς κύκλους ανάδρασης (positive feedback loops), που είναι γνωστό ότι μετατρέπουν συνεχείς διαδικασίες σε ασυνεχείς και αναστρέψιμες διαδικασίες σε μη αναστρέψιμες¹⁹. Από τη στιγμή που δομείται ένα κοινό μοριακό δίκτυο εξάρτησης, μπορούμε να αναζητήσουμε θετικούς αναδραστικούς κύκλους στο δίκτυο και να μελετήσουμε τη σύζευξη μεταξύ των κύκλων. Αυτή η μελέτη θα μπορούσε να ερμηνεύσει τη συμπεριφορά των δικτύων και τη διαδικασία της εξάρτησης.

Αποτελέσματα

Οι πλέον αξιόπιστες βάσεις δεδομένων για γονίδια σχετιζόμενα με την εξάρτηση μέχρι σήμερα

Καθώς οι πληροφορίες διαχέονται στη βιβλιογραφία, ανασκοπήσαμε περισσότερες από 1.000 δημοσιεύσεις σε έγκυρα περιοδικά που εμφανίσθηκαν μεταξύ 1976 και 2006, συνδέοντας γονίδια και χρωματοσωματικές περιοχές με την εξάρτηση.

Συνολικά, συγκεντρώσαμε 2.343 αναφορές που συνδέουν 1.500 ανθρώπινα γονίδια με την εξάρτηση. Καταστρώσαμε μια βάση δεδομένων, την Knowledgebase of Addiction-Related Genes (KARG), η οποία είναι προσβάσιμη στην ηλεκτρονική διεύθυνση <http://karg.cbi.pku.edu.cn>.

Η επιφάνεια εργασίας του δικτυακού τόπου παρέχει τη δυνατότητα αναζήτησης χρωματοσωμάτων ή μονοπατιών, καθώς και προχωρημένης αναζήτη-

σης επί τη βάση ονομασίας γονιδίου, οργανισμού, τύπου της εξαρτησιογόνου ουσίας, τεχνολογικής πλατφόρμας, περιοχής πρωτεΐνης, και/ή PUBMED ID, και αναζήτησης αλληλουχίας με "BLAST similarity"²⁰. Όλα τα δεδομένα έχουν ελεύθερη πρόσβαση και διατίθενται για αποθήκευση σε προσωπικούς υπολογιστές (<http://karg.cbi.pku.edu.cn/download.php>).

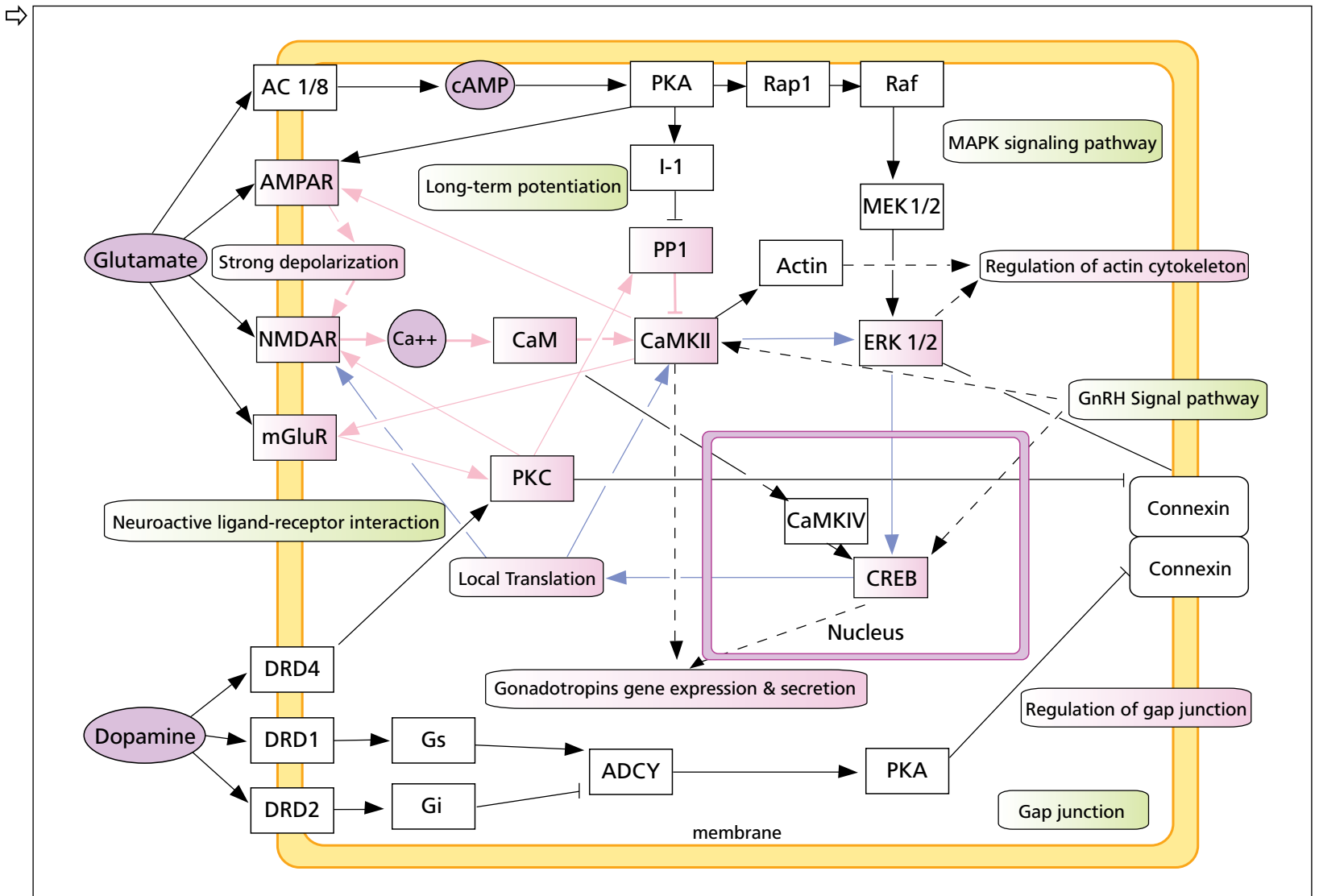
Στατιστικά ενισχυμένα μονοπάτια σε γονίδια σχετιζόμενα με την εξάρτηση

Αναλύθηκαν λεπτομερώς 396 γονίδια τα οποία υποστηρίζονταν από δύο ή περισσότερες δημοσιεύσεις. Βρέθηκε ότι 18 μονοπάτια ήταν στατιστικά σημαντικά ενισχυμένα στα γονίδια που σχετιζονταν με την εξάρτηση σε σύγκριση με το σύνολο του γονιδιώματος, συμπεριλαμβανομένων τόσο μεταβολικών μονοπατιών όσο και μονοπατιών μεταγωγής σήματος.

Αυτά τα μονοπάτια θα μπορούσαν να διακριθούν σε δύο κατηγορίες:

A. προ-μεταγραφικά γεγονότα, εξάρτησης από ουσίες, συμπεριλαμβανομένου του διαλόγου μεταξύ της μεταγωγής σήματος μέσω του μονοπατιού MAPK, του μονοπατιού της ινσουλίνης, και του μονοπατιού του ασβεστίου, τα οποία μοιράζονται ιδιότητες με μακροπρόθεσμη ενίσχυση και

B. μετα-μεταγραφικά γεγονότα, όπως η ρύθμιση της γλυκόλυσης, η ρύθμιση του κυτταροσκελετού της ακτίνης και η απόπτωση, τα οποία έχουν από κοινού στοιχεία με μια σειρά από νευροεκφυλιστικές διαταραχές, όπως



Σχήμα 1. Υποθετικά κοινά μοριακά μονοπάτια της φαρμακευτικής εξάρτησης. Το δίκτυο σχεδιάστηκε βάσει των μονοπατιών που ταυτοποιήθηκαν από τη μελέτη και στοιχεία αλληλεπίδρασης των πρωτεϊνών. Τα γονίδια της εξάρτησης αναπαρίστανται σαν λευκά τετράγωνα, ενώ οι νευροδιαβιβαστικές ουσίες και οι δευτερογενείς διαβιβαστές υπογραμμίζονται με ιώδες χρώμα. Τα κοινά μονοπάτια σημαίνονται με πράσινο χρώμα. Σχετικές λειτουργικές δράσεις όπως «ρύθμιση του κυτταροσκελετού», «ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου», «ρύθμιση του δεσμωσωματίου» και «γονιδιακή έκφραση και έκκριση γοναδοτροπινών» σημαίνονται με πορφυρό χρώμα. Αρκετοί θετικοί αναδραστικοί κύκλοι ταυτοποιήθηκαν στο δίκτυο. Οι ταχείς θετικοί αναδραστικοί κύκλοι σημαίνονται με ερυθρές γραμμές και οι βραδείς με κυανές γραμμές.

η νόσος του Huntington και η πηλγία μυατροφική σκλήρυνση.

Κοινά μοριακά μονοπάτια της εξάρτησης από φαρμακευτικές ουσίες

Εφόσον συγκεντρώθηκαν μεταδεδομένα που συσχετίζαν γονίδια και εξάρτηση κυρίως με τη φύση της εξαρτησιογόνου ουσίας, είχαμε την δυνατότητα να διατυπώσουμε στη συνέχεια το ερώτημα που σχετίζεται με τα μονοπάτια που ενεργοποιούνται σε κάθε εξάρτηση και με τα τυχόν κοινά μονοπάτια της εξάρτησης. Ταυτοποιήθηκαν πέντε μονοπάτια που ενεργοποιούνται και στα τέσσερα είδη της εξάρτησης. Τρία από τα μονοπάτια συνδέθηκαν με συμπεριφορά εξάρτησης σε παλαιότερες μελέτες και επιβεβαιώθηκαν στατιστικά στην

παρούσα εργασία. Για παράδειγμα, η «μακροχρόνια ενίσχυση» συνδέθηκε με τις επαγόμενες από την εξάρτηση προσαρμογές στην γλουταμινεργική διαβίβαση και στη συναπτική πλαστικότητα²¹. Ιδιαίτερα, ένα κομβικό στοιχείο σ' αυτό το μονοπάτι, το CaMKII, έχει αναφερθεί ότι ρυθμίζει την επέκταση του νευρίτη και το σχηματισμό της σύναψης μέσω της ρύθμισης του κυτταροσκελετού της ακτίνης²², γεγονός που θα μπορούσε να ερμηνεύσει τις μορφολογικές μεταβολές που πυροδοτούνται από τα εξαρτησιογόνα φάρμακα¹⁷.

Αυτό το μονοπάτι θεωρήθηκε επίσης σαν ένα μοριακό κύκλωμα - κλειδί, που εξασφαλίζει το σύστημα μνήμης, υπογραμμίζοντας έτσι τους πιθανούς κοινούς μηχανισμούς μεταξύ φαρμα-

κευτικής εξάρτησης και τα συστήματα εκμάθησης και μνήμης²³. Το «μονοπάτι μεταγωγής σήματος MAPK» αποτελεί ένα άλλο παράδειγμα, καθώς παλαιότερες μελέτες έχουν αναδείξει το ρόλο του για τη ρύθμιση της συναπτικής πλαστικότητας που σχετίζεται με τις μακροχρόνιες μεταβολές τόσο στη λειτουργία της μνήμης όσο και στις εξαρτησιογόνες ιδιότητες²⁴. Σημειώνεται ότι δύο άλλα κοινά μονοπάτια που ταυτοποιήθηκαν με την παρούσα εργασία δεν είχαν προηγουμένως συνδεθεί άμεσα με την εξάρτηση. Το «μονοπάτι μεταγωγής σήματος GnRH» αναφέρθηκε ότι ενεργοποιεί τη γονιδιακή έκφραση και την έκκριση γοναδοτροπινών και ότι ρυθμίζει τα μονοπάτια του stress στον άξονα υποθάλαμος - υπόφυση - γονά-

⇒ δεσ καθώς επίσης και την αναπαραγωγή των θηλαστικών²⁵. Είναι λογικό να υποθέσει κανείς ότι το μονοπάτι αυτό μπορεί επίσης να εμπλέκεται στη ρύθμιση ορισμένων συναισθηματικών εκδηλώσεων της εξάρτησης, όπως η αγχώδης αναζήτηση της ουσίας. Ένα άλλο κοινό μονοπάτι που ταυτοποιήθηκε από την παρούσα εργασία, το μονοπάτι "Gap junctions", μπορεί να ρυθμίζεται άμεσα από τρεις κινάσες σχετιζόμενες με την εξάρτηση στο μονοπάτι PKA, PKC και ERK της «μακροπρόθεσμης ενίσχυσης». Εφόσον τα gap junctions δεν είναι μόνο ένας σημαντικός τύπος σύνδεσης των νευρογαγγλιακών κυττάρων, αλλά επίσης η προεξάρχουσα ομάδα ηλεκτρικών συνάψεων στον εγκέφαλο²⁶, αυτή η ρύθμιση ενδέχεται να εμπλέκει μια δυναμική μεταβολή της διακυτταρικής επικοινωνίας στην εξάρτηση. Θα ήταν ενδιαφέρον να ερευνηθούν οι ρόλοι αυτών των μονοπατιών σε μελλοντικές πειραματικές μελέτες. Το μονοπάτι είναι εξ ορισμού μια υποκειμενική έννοια, ενώ τα αληθινά συστήματα είναι δυναμικά και περιλαμβάνουν μια ευρύτατη επικοινωνία μεταξύ των λειτουργικών δομικών μονάδων.

Συνδέοντας τα κοινά μονοπάτια με επιπρόσθετες αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνών, κατασκευάσαμε ένα υποθετικό κοινό μοριακό δίκτυο για την εξάρτηση από φαρμακευτικές ουσίες (πίνακας 1).

Θετικοί αναδραστικοί κύκλοι στο δίκτυο

Από το δίκτυο των κοινών μονοπατιών ταυτοποιήσαμε τέσσερις θετικούς αναδραστικούς κύκλους, που φαίνονται στο σχήμα 1. Παρατηρήσαμε επίσης ότι συνδέονται μεταξύ τους μέσω του CAMKII (Σχήμα 1). Δύο από αυτούς τους κύκλους θετικής ανάδρασης εμπλέκονται στη μεταγωγή σήματος και θα μπορούσαν να θεωρηθούν «ταχείς» κύκλοι, ενώ οι υπόλοιποι δύο κύκλοι εμπλέκονται στη μεταγραφή και στη μετάφραση και θα μπορούσαν να θεωρηθούν «βραδείς». Έχει αναφερθεί σε δώδεκα συστήματα, όπως η ωρίμανση των ωοκυττάρων του μικροοργανισμού *Xenopus*, ότι η σύζευξη ταχέων και βραδέων θετικών αναδραστικών κύκλων θα μπορούσε να παράγει μια στροφή με κρίσιμο ρόλο σε ασυνεχείς και μη αναστρέψιμες βιολογικές διαδικασίες, χαρακτηριστικά συμβατά με την εξάρτηση^{27,29}. Είναι επίσης γνωστό ότι η

ενεργοποίηση του CAMKII παίζει ρόλο κλειδί για την ανάπτυξη και τη διατήρηση της κατάστασης εξάρτησης^{30,31}. Η καταστροφή της δενδριτικής μετάφρασης του CaMKII υποθήκευσε τη σταθεροποίηση της συναπτικής πλαστικότητας και της μνήμης^{32,33}. Αυτά τα στοιχεία, συνεκτιμούμενα, υποδηλώνουν ότι οι ταχείς και οι βραδείς θετικοί αναδραστικοί κύκλοι που συνδέονται μέσω του CAMKII μπορεί να είναι σημαντικοί για την ανάπτυξη και τη διαιώνιση της εξάρτησης και ίσως παρέχουν μια συστηματική εξήγηση για ορισμένα από τα χαρακτηριστικά της εξάρτησης.

Βιβλιογραφία

- Nestler EJ (2001). Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci* 2: 119–128.
- Uhl GR (2004). Molecular genetic underpinnings of human substance abuse vulnerability: likely contributions to understanding addiction as a mnemonic process. *Neuropharmacology* 47 (Supplement 1): 140–147.
- Goldman D, Orosz G, Ducci F (2005). The genetics of addictions: uncovering the genes. *Nat Rev Genet* 6: 521–532.
- Nestler EJ (2001). Psychogenomics: opportunities for understanding addiction. *J Neurosci* 21: 8324–8327.
- Williams K, Wu T, Colangelo C, Nairn AC (2004). Recent advances in neuroproteomics and potential application to studies of drug addiction. *Neuropharmacology* 47 (Supplement 1): 148–166.
- Uhl GR (2006). Molecular genetics of addiction vulnerability. *NeuroRx* 3: 295–301.
- Uhl GR, Liu QR, Naiman D (2002). Substance abuse vulnerability loci: converging genome scanning data. *Trends Genet* 18: 420–425.
- Liu QR, Drgon T, Walther D, Johnson C, Poleskaya O, et al. (2005). Pooled association genome scanning: validation and use to identify addiction vulnerability loci in two samples. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 11864–11869.
- Kislinger T, Cox B, Kannan A, Chung C, Hu P, et al. (2006). Global survey of organ and organelle protein expression in mouse: combined proteomic and transcriptomic profiling. *Cell* 125: 173–186.
- Zhu H, Bilgin M, Snyder M (2003). Proteomics. *Annu Rev Biochem* 72: 783–812.
- Lubec G, Krapfenbauer K, Fountoulakis M (2003). Proteomics in brain research: potentials and limitations. *Prog Neurobiol* 69: 193–211.
- Becker M, Schindler J, Nothwang HG (2006). Neuroproteomics — the tasks lying ahead. *Electrophoresis* 27: 2819–2829.
- Rhodes JS, Crabbe JC (2005). Gene expression induced by drugs of abuse. *Curr Opin Pharmacol* 5: 26–33.
- Fountoulakis M (2004). Application of proteomics technologies in the investigation of the brain. *Mass Spectrom Rev* 23: 231–258.
- Nestler EJ (2000). Genes and addiction. *Nat Genet* 26: 277–281.
- Nestler EJ, Landsman D (2001). Learning about addiction from the genome. *Nature* 409: 834–835.
- Nestler EJ (2005). Is there a common molecular pathway for addiction? *Nat Neurosci* 8: 1445–1449.
- Spanagel R, Heilig M (2005). Addiction and its brain science. *Addiction* 100: 1813–1822.
- Ferrell JE, Xiong W (2001). Bistability in cell signaling: How to make continuous processes discontinuous, and reversible processes irreversible. *Chaos* 11: 227–236.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ (1990). Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215: 403–410.
- Jones S, Bonci A (2005). Synaptic plasticity and drug addiction. *Curr Opin Pharmacol* 5: 20–25.
- Fink CC, Bayer KU, Myers JW, Ferrell JE Jr, Schulman H, et al. (2003). Selective regulation of neurite extension and synapse formation by the beta but not the alpha isoform of CaMKII. *Neuron* 39: 283–297.
- Blitzer RD, Iyengar R, Landau EM (2005). Postsynaptic signaling networks: cellular cogwheels underlying long-term plasticity. *Biol Psychiatry* 57: 113–119.
- Wang JQ, Fibuch EE, Mao L (2007). Regulation of mitochondrial-activated protein kinases by glutamate receptors. *J Neurochem* 100: 1–11.
- Tilbrook AJ, Turner AJ, Clarke JJ (2002). Stress and reproduction: central mechanisms and sex differences in non-rodent species. *Stress* 5: 83–100.
- Rela L, Szczupak L (2004). Gap junctions: their importance for the dynamics of neural circuits. *Mol Neurobiol* 30: 341–357.
- Brandman O, Ferrell JE Jr, Li R, Meyer T (2005). Interlinked fast and slow positive feedback loops drive reliable cell decisions. *Science* 310: 496–498.
- Wedlich-Soldner R, Wai SC, Schmidt T, Li R (2004). Robust cell polarity is a dynamic state established by coupling transport and GTPase signaling. *J Cell Biol* 166: 889–900.
- Abrieu A, Doree M, Fisher D (2001). The interplay between cyclin-B-Cdc2 kinase (MPF) and MAP kinase during maturation of oocytes. *J Cell Sci* 114: 257–267.
- Noda Y, Nabeshima T (2004). Opiate physical dependence and N-methyl-D-aspartate receptors. *Eur J Pharmacol* 500: 121–128.
- Tang L, Shukla PK, Wang LX, Wang ZJ (2006). Reversal of morphine antinociceptive tolerance and dependence by the acute supraspinal inhibition of Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II. *J Pharmacol Exp Ther* 317: 901–909.
- Miller S, Yasuda M, Coats JK, Jones Y, Martone ME, et al. (2002). Disruption of dendritic translation of CaMKIIalpha impairs stabilization of synaptic plasticity and memory consolidation. *Neuron* 36: 507–519.
- Valjent E, Corbille AG, Bertran-Gonzalez J, Herve D, Girault JA (2006). Inhibition of ERK pathway or protein synthesis during reexposure to drugs of abuse erases previously learned place preference. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 2932–2937.
- Lamprecht R, LeDoux J (2004). Structural plasticity and memory. *Nat Rev Neurosci* 5: 45–54.
- Chao J, Nestler EJ (2004). Molecular neurobiology of drug addiction. *Annu Rev Med* 55: 113–132.
- Poon HF, Abdullah L, Mullan MA, Mullan MJ, Crawford FC (2006). Cocaine-induced oxidative stress precedes cell death in human neuronal progenitor cells. *Neurochem Int* 50: 69–73.
- Cadet JL, Jayanthi S, Deng X (2005). Methamphetamine-induced neuronal apoptosis involves the activation of multiple death pathways. *Review. Neurotox Res* 8: 199–206.
- Farber NB, Olney JW (2003). Drugs of abuse that cause developing neurons to commit suicide. *Brain Res Dev Brain Res* 147: 37–45.
- Euskirchen G, Royce TE, Bertone P, Martone R, Rinn JL, et al. (2004). CREB binds to multiple loci on human chromosome 22. *Mol Cell Biol* 24: 3804–3814.
- Johnson C, Drgon T, Liu QR, Walther D, Edenberg H, et al. (2006). Pooled association genome scanning for alcohol dependence using 104,268 SNPs: Validation and use to identify alcoholism vulnerability loci in unrelated individuals from the collaborative study on the genetics of alcoholism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 141B: 844–853.
- Wheeler DL, Barrett T, Benson DA, Bryant SH, Canese K, et al. (2006). Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Res* 34: D173–D180.
- Mao X, Cai T, Olyarchuk JG, Wei L (2005). Automated genome annotation and pathway identification using the KEGG Orthology (KO) as a controlled vocabulary. *Bioinformatics* 21: 3787–3793.
- Wu J, Mao X, Cai T, Luo J, Wei L (2006). KOBAS server: a web-based platform for automated annotation and pathway identification. *Nucleic Acids Res* 34: W720–W724.
- Shi YH, Zhu SW, Mao XZ, Feng JX, Qin YM, et al. (2006). Transcriptome profiling, molecular biological, and physiological studies reveal a major role for ethylene in cotton fiber cell elongation. *Plant Cell* 18: 651–664.
- Kanehisa M, Goto S, Hattori M, Aoki-Kinoshita KF, Itoh M, et al. (2006). From genomics to chemical genomics: new developments in KEGG. *Nucleic Acids Res* 34: D354–D357.
- Alfarano C, Andrade CE, Anthony K, Bahroos N, Bajec M, et al. (2005). The Biomolecular Interaction Network Database and related tools 2005 update. *Nucleic Acids Res* 33: D418–D424.
- Hooper SD, Bork P (2005). Medusa: a simple tool for interaction graph analysis. *Bioinformatics* 21: 4432–4433.
- Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, et al. (2000). Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nat Genet* 25: 25–29.
- Mulder NJ, Apweiler R, Attwood TK, Bairoch A, Bateman A, et al. (2005). InterPro, progress and status in 2005. *Nucleic Acids Res* 33: D201–D205.