

Neurological and neuropsychological effects of low and moderate prenatal alcohol exposure

E. Comasco,¹ J. Rangmar,² U. J. Eriksson³ and L. Orelund¹

¹ Department of Neuroscience, Uppsala University, Uppsala, Sweden

² Department of Psychology, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden

³ Department of Medical Cell Biology, Uppsala University, Uppsala, Sweden and neuropsychological effects of low and moderate prenatal alcohol exposure

Effets neurologiques et neuropsychiques des petites et moyennes expositions prénatales à l'alcool.

RÉSUMÉ

Plusieurs explications peuvent être proposées aux résultats divergents de la recherche sur les troubles du spectre de l'alcoolisation fœtale ou des troubles du développement neurologique liés à l'alcool : le calendrier, la quantité et les modes d'exposition à l'alcool, ainsi que les réponses épigénétiques complexes. Le fond génétique de la progéniture et son interaction avec d'autres signaux environnementaux prénatals et postnatals sont probablement aussi importants. Dans la présente revue, les principaux résultats sur les effets possibles des doses faibles et modérées d'alcool consommées par la mère sur le développement neuropsychologique de la progéniture sont examinés et des mécanismes plausibles sont discutés. Une attention particulière est accordée au système sérotoninergique dans le cadre du développement et dans celui de l'environnement génétique. L'article suggère également des protocoles pour les futures études et rassemble certaines des questions auxquelles il faut répondre dans la pratique clinique. Les résultats contradictoires et la rareté des études sur les effets de l'exposition prénatale à de faibles quantités d'alcool sur le développement neuropsychologique de la progéniture nécessitent de grandes études prospectives, ainsi que des études incluant la neuro-imagerie et l'approche « multi-omique* » pour disséquer quels mécanismes neurobiologiques produisent les phénotypes liés à l'explosion à l'alcool et identifier les biomarqueurs. Enfin, il reste à vérifier s'il existe un seuil de consommation inoffensive d'alcool pendant la grossesse.

Mots clefs : alcool, développement, épigénétique, gène, grossesse, prénatal.

• *Néologisme d'origine anglaise qui se réfère aux domaines d'étude en biologie se terminant par -omique, comme la génomique, la protéomique, la métabolomique...*

Received 24 January 2017, revision requested 17 February 2017,

final revision received 26 April 2017

accepted 27 April 2017 Correspondence: E. Comasco, Department of Neuroscience, Uppsala University, BMC,

Box 593, 751 24 Uppsala, Sweden.

E-mail : erika.comasco@neuro.uu.se

LES TROUBLES DU SPECTRE DE L'ALCOOLISATION FŒTALE

En 1973, lorsque le terme Syndrome d'Alcoolisation Fœtale (SAF) a été introduit, ses critères diagnostiques étaient les suivants : (i) une histoire documentée d'abus d'alcool pendant la grossesse ; (ii) un profil caractéristique d'anomalies faciales ; (iii) un retard de croissance ; et (iv) des anomalies du développement neurologique du SNC¹. Le terme générique (non diagnostique) d'Ensemble des Troubles Causés par l'Alcoolisation Fœtale (ETCAF)^{2,3} est aujourd'hui utilisé pour décrire toutes les présentations cliniques physiques, comportementales, cognitives et psychosociales possibles, allant jusqu'au SAF complet, et qui résultent de l'exposition prénatale à l'alcool⁴. Les appellations qui pourraient être utilisées pour décrire les effets de l'exposition prénatale à l'alcool qui ne répondent pas aux critères du SAF complet ont été suggérées⁵ et récemment mises à jour⁶. Le syndrome partiel d'alcoolisation fœtale (SAFp) a été proposé pour décrire les personnes présentant certains des symptômes, mais pas le syndrome complet. Le terme Anomalies Congénitales Liées à l'Alcool (ACLA) a été suggéré pour décrire les enfants présentant des anomalies structurelles majeures et/ou mineures qui affichent une croissance normale et un développement intellectuel normal. Le terme Troubles Neurologiques du Développement Lié à l'Alcool (TNDLA) a été introduit pour décrire un modèle spécifique de troubles du comportement et une altération du développement cognitif chez des enfants ayant une croissance normale et une apparence physique normale. L'ACLA et le TNDLA ne peuvent être utilisés qu'en présence d'antécédents d'exposition à l'alcool maternel^{5,6}. Pour un nouveau-né affecté par la consommation maternelle d'alcool, le diagnostic ICD-10 (CIM-10 : catégorie P04.3) peut être utilisé⁷.

L'exposition prénatale à l'alcool peut en fait causer un large éventail d'effets physiques, comportementaux, cognitifs et psychosociaux. Un individu atteint de TNDLA peut souffrir de troubles cognitifs et comportementaux identiques à ceux dont souffre un sujet atteint de SAF, mais sans la dysmorphie faciale qu'exige le diagnostic de SAF. Les atteintes neuropsychiques sont aussi variables dans les groupes cliniques des TNDLA ou de l'ETCAF, mais elles impliquent toutes des anomalies du développement^{5,6}. Les effets de l'exposition prénatale à l'alcool qui ne répondent pas aux critères du SAF sont aussi beaucoup plus fréquents que le SAF⁸. Il est donc souhaitable que toutes les présentations cliniques rangées sous l'acronyme ETCAF soient également reconnues, car elles entraînent toutes un lourd fardeau pour l'individu, les familles et la société.

En Suède, la consommation d'alcool est relativement fréquente chez les femmes enceintes (6-30 %) ⁹⁻¹¹, ainsi que dans d'autres pays, comme le Danemark¹², l'Australie¹³, l'Irlande, le Royaume-Uni et la Nouvelle-Zélande¹⁴. Dans la plupart des pays, les directives sanitaires conseillent une abstinence complète d'alcool pendant la grossesse, alors que dans certains pays les directives prétendent que les faibles consommations sont anodines. L'objectif principal de la présente revue est d'explorer si un seuil de sécurité peut être identifié.

Les comportements inappropriés et la déficience intellectuelle associés à l'ETCAF sont plus communément observés chez les enfants de mères qui ont eu un diagnostic de grossesse tardif⁸. Une récente étude suédoise a montré que la majorité des femmes qui consommaient de l'alcool l'année précédant la grossesse ont continué à boire jusqu'au diagnostic de grossesse¹⁰. Dans de tels cas, la consommation en début de grossesse jusqu'au diagnostic implique que le fœtus a été exposé à l'alcool au cours du premier trimestre. En effet, la preuve a été apportée qu'il existe un modèle cohérent de déficiences à long terme des fonctions d'apprentissage et de la mémoire dans la progéniture exposée à des niveaux légers et modérés d'alcool pendant le premier trimestre de la grossesse¹⁵. La question de l'effet de petites quantités d'alcool consommées

occasionnellement pendant la grossesse sur le développement de l'enfant est également pertinente pour les boissons présentées sans alcool, puisque de telles boissons contiennent souvent 0,5 % d'alcool et l'on peut se demander si cette petite quantité d'alcool est réellement anodine pour le fœtus. Cette question découle de l'observation clinique de patients alcooliques sous traitement antabuse qui ont eu une réaction analogue à l'antabuse après avoir bu une boisson dite sans alcool (Jörgen Engel, communication personnelle).

Seules quelques études ont étudié l'évolution à long terme de l'ETCAF. Les personnes ayant un diagnostic de FAS ont des fonctions cognitives et exécutives réduites et un comportement social altéré qui persiste à l'âge adulte¹⁶. Dans une plus grande proportion que leurs pairs, les adultes atteints de SAF avaient reçu des soins éducatifs spéciaux, étaient au chômage, bénéficiaient d'une pension d'invalidité, avaient des taux plus élevés de troubles psychiatriques et avaient reçu des médicaments psychotropes tout au long de la vie¹⁷. Ces résultats indiquent que les effets neuropsychologiques de l'exposition prénatale à l'alcool ne s'améliorent pas avec l'âge. En outre, des observations cliniques montrent que des enfants exposés in utero à des doses d'alcool faibles et modérées avaient des anomalies comportementales, même en l'absence de déficit de croissance et d'anomalies du visage caractéristiques du FAS¹⁸. Des syndromes de déficits d'attention, d'hyperactivité, d'impulsivité, de retard d'apprentissage, de déficit la mémoire (principalement de la mémoire de travail), de mauvaise coordination, de dysfonctionnement des fonctions l'exécutives et de capacités sociales dégradées ont été décrits à plusieurs reprises chez des enfants dont la consommation d'alcool chez la mère la grossesse avait été modérée^{15, 19-22}. Récemment, Day et al²³ ont montré un effet dose-réponse de l'exposition prénatale à l'alcool, pour chacun des trois trimestres séparément, sur les anomalies de comportement autodéclarées chez les descendants âgés de 22 ans, après contrôle de la race, du sexe, de la dépression maternelle, des conflits pendant la grossesse, de l'exposition prénatale à la marijuana, de l'exposition prénatale au tabac et de la consommation de drogues par ces mêmes jeunes adultes. Une autre étude récente a montré la relation causale entre une consommation modérée d'alcool (jusqu'à 6 unités par semaine, sans binge drinking) pendant la grossesse et un risque accru pour les enfants de troubles du comportement précoces et persistants²⁴. Les effets observés chez les enfants exposés à une consommation maternelle modérée d'alcool sont résumés à la figure 1. En ce qui concerne les habitudes de consommation, contrairement à plusieurs études²⁵, Day et al²³ n'ont pas trouvé que l'ivresse pendant la grossesse provoquait plus de problèmes que la consommation régulière. Enfin, une méta-analyse récente suggère que l'exposition prénatale à l'alcool à moins de sept boissons par semaine pourrait être associée de manière préjudiciable au comportement des enfants²².

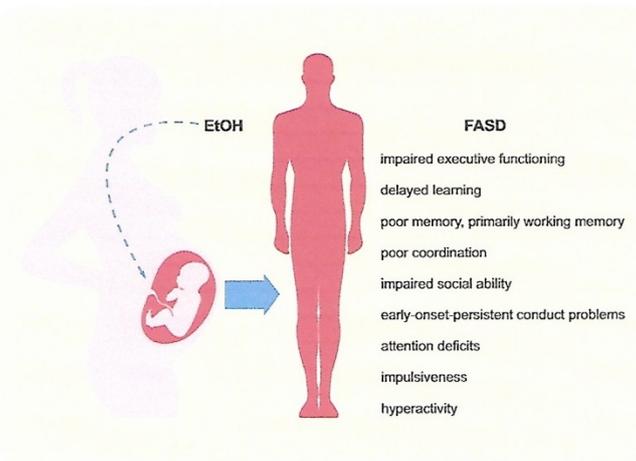


Figure 1 Symptômes psychologiques observés chez les enfants exposés à une consommation maternelle d'alcool modérée.

De plus, contrairement à un grand nombre de rapports sur les effets neuropsychologiques de faibles doses de l'exposition prénatale à l'alcool, quelques études récentes basées sur de grandes populations n'ont trouvé aucune anomalie de comportement associée à une faible exposition prénatale à l'alcool, dans l'enfance²⁶⁻²⁸ ou au milieu de l'enfance²⁹. Deux études danoises^{30, 31} qui ne montraient aucun déficit de l'attention ni des fonctions exécutives chez les enfants exposés à de faibles consommations maternelles d'alcool ont été contestées^{32, 33}. Qui plus est, Kelly et al³⁴ ont rapporté que les garçons et les filles nés après des consommations légères de leurs mères avaient moins de difficultés psychosociales et d'hyperactivité que les enfants de mères non buveuses. Et il existe d'autres descriptions d'effets positifs de faibles consommations maternelles sur le comportement des enfants^{35, 36}. Fait important, la validité des résultats de Kelly et al pourrait être remise en question, en raison du fait que la consommation d'alcool a été rétrospectivement autodéclarée par les mères 9 mois après l'accouchement. Une étude antérieure avait montré que les déclarations maternelles prénatales de consommation pendant la grossesse avaient une plus forte corrélation avec l'évolution neurologique des enfants que les déclarations rétrospectives 13 mois après l'accouchement³⁷. Au total, ces résultats récents, comme les précédents, montrent qu'il est impossible de prévoir le devenir psychomoteur des enfants exposés in utero à de faibles quantités d'alcool^{22, 38-43}.

La situation socioéconomique, l'alimentation, l'exposition aux autres médicaments, l'environnement familial, la personnalité, l'attachement aux aidants naturels et d'autres facteurs psychosociaux également associés à l'ETCAF sont en outre reliés avec les facteurs génétiques. À notre connaissance, ils n'ont jamais été étudiés ensemble, fournissant ainsi une impulsion à mener des études épidémiologiques longitudinales sur le développement neuropsychologique des enfants exposés à l'alcool pendant la vie fœtale. Pour enquêter sur le profil neurocomportemental des enfants exposés à de faibles quantités d'alcool, les facteurs de confusion, tels que les psychopathologies des parents, devraient, par exemple, être pris en considération. En outre, l'accent devrait également être mis sur l'importance du sexe⁴⁴⁻⁴⁷ puisqu'on peut s'attendre à ce que les différences sexuelles ne soient pas exceptionnelles, comme l'indique déjà la différence des effets de l'environnement sur les hommes et les femmes, pour une variété de comportements.

ÉTUDES CHEZ LES RONGEURS

Un certain nombre d'études récentes sur les animaux ont indiqué que l'exposition à des niveaux d'éthanol faibles ou modérés pendant la vie intra-utérine produit des altérations à la fois aiguës et à long terme sur le cerveau en développement. Ainsi, des changements ont été observés dans l'empreinte épigénétique de plusieurs régions du cerveau, dans la fonction d'éléments intra et extracellulaires, ainsi que dans la fonction et la structure des cellules et des réseaux neuronaux dans les cerveaux de la progéniture exposée. En outre, à long terme des changements fonctionnels chez la progéniture concernant l'apprentissage, la mémoire, la coordination motrice, le comportement social, les réponses au stress et la vulnérabilité à l'abus de drogue ont été démontrés. Compte tenu du fait que les rongeurs semblent tolérer des niveaux d'éthanol plus élevés avant que les dommages sur le développement neurologique se produisent (⁴⁸ dans la présente revue), une concentration maternelle d'éthanol dans le sang [blood ethanol concentration] $\text{BEC} \leq 22 \text{ mmol L}^{-1}$ (100 mg dL^{-1}) a été choisie comme indicateur d'une faible exposition et 22 mmol L^{-1} (100 mg dL^{-1}) $< \text{BEC} \leq 44 \text{ mmol L}^{-1}$ (200 mg dL^{-1}) comme une exposition modérée, niveaux qui correspondent approximativement à $\text{BEC} \leq 0,1 \text{ g dL}^{-1}$ (1 pour mille) et $0,1 \text{ g dL}^{-1}$ (1 pour mille) $< \text{BEC} \leq 0,2 \text{ g dL}^{-1}$ (2 pour mille). Il semble évident, que l'exposition à l'éthanol faible à modérée in utero est capable de modifier un grand nombre de

paramètres du développement de l'embryon — et que ces altérations du développement ont des répercussions tout au long de la vie embryonnaire et fœtale, et aussi à l'âge adulte. En outre, sur la base des études expérimentales mentionnées ci-dessous, il n'est pas possible de discerner un seuil d'exposition prénatale à l'éthanol ayant un effet sur la progéniture.

Altérations de la transcription et de l'épigénèse

Les modèles expérimentaux précliniques montrent que l'éthanol induit des effets sur le transcriptome. Un régime d'éthanol liquide (Solution à 5,9 % d'éthanol, pendant la grossesse et l'allaitement, BEC 20 mmol L⁻¹, 92 mg dL⁻¹) chez les rates enceintes est associé à une diminution de l'épaisseur du cortex cérébral du fœtus. Les cellules gliales radiales exprimant les gènes *vimentine*, *nestin*, *S-100b* et *Pax6* ont montré une morphologie anormale, et le nombre de neuroblastes doublecortine-ir dans les zones germinatives était diminué, ce qui peut contribuer à la dysplasie corticale dans la progéniture exposée in utero à l'éthanol⁴⁹. Quatre gènes se sont révélés être différemment exprimés (*Inmt*, *Mia1*, *Slc17a6*, *Tshz2*) dans l'hippocampe de la progéniture masculine adulte de souris enceintes ayant bu de l'éthanol à 10 % de E0 à E8 avec une concentration sanguine d'alcool [blood alcohol concentration] (BAC) à 26 mmol L⁻¹, 120 mg dL⁻¹, chez lesquelles il a été montré en particulier que l'expression du transporteur *Slc17a6* du glutamate était augmenté⁵⁰. Une expression modifiée des gènes *c-fos* et *Arc* a été trouvée dans différentes régions du cortex frontal de rats nouveau-nés exposés à l'éthanol pendant la grossesse (BEC 18 mmol L⁻¹, 83 mg dL⁻¹) par rapport à l'expression chez les sujets contrôles non exposés à l'éthanol^{51, 52}.

Récemment, les effets épigénétiques induits par l'éthanol ont également été signalés dans des modèles expérimentaux. Entre autres, Chen et ses collaborateurs ont trouvé une modification de l'organisation de la méthylation cérébrale dans la région de l'hippocampe de la progéniture murine, à la fois avant et après la naissance, lorsque la mère a été nourrie avec un régime liquide d'éthanol à 4 % pendant la grossesse⁵³. De même, Laufer et al⁵⁴ ont signalé des altérations durables de la méthylation de l'ADN chez la progéniture murine postnatale après que la mère avait reçu des injections sous-cutanées d'éthanol (2,5 g kg⁻¹ poids corporel) pendant deux jours de la gestation, les modifications étant spécifiquement situées dans les régions du génome subissant l'empreinte. Dans la descendance de rats ayant reçu une dose quotidienne d'éthanol per os pendant la grossesse (4,5 g kg⁻¹), des modifications de l'expression des gènes de plusieurs régulateurs de l'épigénome, tels que l'ADN méthyltransférase, ont été trouvées dans l'hippocampe⁵⁵. Des altérations épigénétiques de la méthylation de l'ADN, des modifications des histones de l'ADN et de la biogenèse de micro-ARN tant chez l'animal que chez des modèles in vitro d'ETCAF ont récemment été revues de manière systématique par la réf.⁵⁶. Enfin, des informations complètes ont été présentées concernant les altérations de l'épigénome induites avant la naissance par l'alcool⁵⁷ et les effets profonds sur le transcriptome global (Zhou 2016) dans deux revues récentes.

Altérations cellulaires et intracellulaires

La preuve des effets d'une exposition faible à modérée à l'éthanol pendant la vie prénatale a été démontrée. Dans une étude récente, l'exposition prénatale à l'éthanol (régime liquide de GD 8 à GD 21, BEC 26 mmol L⁻¹, 120 mg dL⁻¹) a provoqué des altérations marquées des taux d'hormones thyroïdiennes dans le cerveau en développement, en particulier dans le cortex frontal (augmentation de l'activité de la déiodase-III et diminution du taux de T3 dans les deux sexes) et dans l'hippocampe (diminution de l'activité de la déiodase-III et augmentation du taux de T3 niveaux chez les mâles seulement). En effet, chez les mâles adultes,

l'hyperproduction de T3 dans l'hippocampe était associée à des anomalies comportementales (labyrinthe de Morris), anomalies non trouvées chez les descendantes femelles adultes. Ces observations ont été faites uniquement dans les descendants adultes de grossesses dont la mère était Sprague Dawley et le géniteur Brown Norvège, et pas dans la progéniture des croisements réciproques, illustrant ainsi l'importance du contexte génétique dans les effets de l'exposition prénatale à l'éthanol, puisque le gène de la déiodinase-III subit une empreinte irrégulière conduisant à une expression préférentielle de l'allèle paternel⁵⁸.

Dans plusieurs études récentes, l'administration d'une double dose d'éthanol (2,8 g kg⁻¹) lors d'une seule journée de gestation chez les souris (jour 7 ou jour 8,5) a provoqué une altération morphologique du visage ressemblant à la dysmorphie faciale du SAF humain (hypoplasie médiale, philtrum altéré, rétrécissement de la fente palpébrale), ainsi que des altérations cérébrales (hétérotopies leptoméningées et altérations du système ventriculaire cérébral). Certes, les niveaux d'éthanol atteints étaient élevés, BAC 75-90 mmol L⁻¹ (346-415 mg dL⁻¹), mais comme l'agression était limitée à quelques heures, ce travail illustre la sensibilité prononcée aux agressions par l'éthanol limitées dans le temps^{59,60}.

Un autre morphogène significatif, l'acide tout-trans-rétinoïque (dénommé atRA)⁶¹, a été évalué au jour 19 de fœtus de souris enceintes nourries pendant la grossesse avec un liquide à 6,5 % d'éthanol (de GD13 à GD19, BEC 30 mmol L⁻¹, 138 mg dL⁻¹). L'étude a démontré des taux de l'atRA dans l'hippocampe et le cortex fœtal⁶² augmentés de 20 à 50 fois, selon la BEC de la mère. En effet, les auteurs rapportent que les niveaux d'atRA dans les embryons exposés à l'éthanol étaient soit inchangés, soit augmentés dans tous les organes fœtaux étudiés (cerveau, foie, testicules, sérum). Ces résultats d'une augmentation du taux d'atRA dans le cerveau des fœtus exposés à l'éthanol sont conformes aux descriptions antérieures des dommages au développement de l'hippocampe fœtal⁶³, d'altérations postnatales du comportement et des fonctions cognitives causées par la vitamine A (Biel Water Maze)⁶⁴⁻⁶⁶. Dans l'ensemble, ces observations indiquent un rôle possible d'un taux élevé de atRA dans la genèse du SAF et de l'ETCAF.

Des cellules souches neurales ont été isolées des zones subventriculaires de souris de 1 à 2 mois auparavant exposées à des niveaux modérés d'éthanol pendant le développement intra-utérin (consommation d'eau à 10 % d'éthanol pendant toute la grossesse, BEC 18 mmol L⁻¹, 83 mg dL⁻¹). Ces cellules souches mises en culture avaient réduit à la fois leur formation de neurosphères et leur différenciation neuronale après retrait des facteurs de croissance⁶⁷. Ainsi, le déficit *in vivo* de la neurogénèse auparavant décrit chez l'adulte après une exposition prénatale à l'éthanol peut être due, au moins en partie, à une persistance de la dysrégulation fonctionnelle des cellules souches neurales. Ces observations illustrent le potentiel nocif d'une consommation modérée d'éthanol sur les composants intracellulaires qui jouent un rôle important dans le développement de la progéniture.

Un déficit de l'activation ERK1/2 [Extracellular signal Regulated Kinase] dépendant du récepteur NMDA [N-Methyl-D-Aspartate] a été démontré dans la région du gyrus denté (DG) de souris adultes nées de mères exposées à un faible taux d'éthanol (liq. 5 % d'éthanol, BEC 17 mmol L⁻¹, 78 mg dL⁻¹) pendant toute la grossesse⁶⁸. Ces résultats complètent les résultats antérieurs sur les déficits d'apprentissage dépendant de l'hippocampe et la diminution de l'appétitude à susciter une potentialisation à long terme (LTP) dans la région DG des animaux adultes ayant subi la même exposition⁶⁹. Ainsi, un déficit prénatal de l'activation d'ERK1/2 induite par une exposition intra-utérine à l'éthanol peut jouer un rôle dans la genèse de défauts cognitifs qui persisteront toute la vie. En outre, des modifications dans l'expression et les motifs

de méthylation des gènes sérotoninergiques ont récemment été signalés par Ngai et ses collaborateurs⁷⁰, qui ont trouvé un accroissement du niveau d'ARNm du transporteur de la sérotonine (noté Slc6a4) dans l'hippocampe de la progéniture de rates exposées à l'éthanol, et une diminution des niveaux d'ARNm de Slc6a4 dans l'hypothalamus de la progéniture de rates exposées à l'éthanol. En outre, les auteurs ont démontré une augmentation générale de l'agencement de la méthylation dans les zones hypothalamiques de la descendance exposée à l'éthanol⁷⁰, ce qui est en accord avec résultats observés chez les singes (voir ci-dessous). Chez les fœtus de souris qui avaient été exposés à une alimentation d'éthanol à 25 % (E7-E13, BEC 9-12 mmol L⁻¹, 41-55 mg dL⁻¹), le niveau de plusieurs neurotransmetteurs (dopamine, noradrénaline, adrénaline, sérotonine et GABA) était diminué dans les cerveaux E13⁵⁷. La preuve d'un impact à long terme de l'éthanol sur le système 5-HT [5-hydroxytryptamine ou sérotonine] de rats femelles a été apportée dans une étude sur des rates enceintes ayant eu un accès libre à une nourriture liquide contenant 36 % d'éthanol de GD1 à GD22, ce qui avait entraîné une diminution du nombre des neurones 5-HT-ir [5-HT immunoréactifs] dans le tronc cérébral de la progéniture adulte ; cet effet avait été modulé par la présence d'ovaires fonctionnels et démontré après une ovariectomie⁷¹. Ces observations illustrent le potentiel de faibles consommations d'éthanol à modifier les composants extracellulaires de la progéniture.

Altération de la prolifération, de la morphologie et de la fonction des neurones et de leurs réseaux

Le tissu de l'hippocampe de rats adultes exposés in utero à l'alcool (régime liquide d'éthanol à 3-5 % de pendant toute la grossesse, BEC 7-17 mmol L⁻¹, 32-78 mg dL⁻¹) affichait une réduction de la potentialisation de la libération d'aspartate dépendante de l'activité, indiquant des anomalies de la plasticité glutamatérgique⁷². La descendance adulte issue de rates Long-Evans ayant consommé environ 3 g kg⁻¹ d'éthanol pendant 4 h tous les jours tout au long de la gestation (pic de BEC à 18 mmol L⁻¹, 83 mg dL⁻¹) avait une induction anormale de la LTP (potentialisation à long terme) dans les cellules granulaires du gyrus dentelé (DG) excitées par une électrode implantée⁷³. À l'âge de 12 semaines, la progéniture de souris qui avaient volontairement consommé de l'éthanol à 10 % pendant la gestation (BEC 26 mmol L⁻¹, 120 mg dL⁻¹) affichaient une altération de la réponse neurogénique à un environnement enrichi (par rapport aux contrôles) dans la zone DG (aucune augmentation de la survie des cellules souches ni de la différenciation neuronale)⁷⁴. Des rates enceintes ayant eu un régime ad libitum d'éthanol liquide à 36 % (BEC 30 mmol L⁻¹, 138 mg dL⁻¹) ont donné naissance à une progéniture qui, à l'âge de 2 mois, comparée à des sujets témoins, avait réduit la génération de nouveaux neurones et de nouvelles cellules gliales dans la zone DG⁷⁵. Des souris adultes de mères ayant été alimentées avec de l'éthanol à 10 % pendant la grossesse (BEC 26 mmol L⁻¹, 120 mg dL⁻¹) démontraient un affaiblissement de leur aptitude à discriminer deux odeurs, défaut associé à un volume considérablement réduit d'ampoules olfactives par rapport aux témoins⁷⁶. De fait, d'autres études ont révélé que l'exposition du fœtus à l'alcool diminuait le nombre de précurseurs des neurones dans la zone sous-épendymaire et le nombre de nouvelles cellules dans les bulbes olfactifs pendant les premières semaines après la naissance⁷⁶.

Après une exposition modérée (éthanol liquide ad libitum pendant toute la grossesse, BEC 30 mmol L⁻¹, 138 mg dL⁻¹) les rats mâles adultes avaient une neurogénèse altérée dans le gyrus dentelé (DG) de l'hippocampe. La neurogénèse hippocampique ne pouvait plus être entravée par le stress de retenue (9 jours, 1 h par jour) chez les rats préalablement exposés à l'éthanol, alors que la neurogénèse était fortement perturbée par le stress de retenue chez les rats témoins⁷⁷. Ces résultats peuvent refléter une plasticité réduite des neurones exposés à l'alcool et établissent un lien avec la morphologie altérée de l'hippocampe chez les rats exposés in utero à l'éthanol.

Dans une étude sur le développement du cervelet chez la progéniture de rates exposées à des niveaux modérés d'éthanol (alimentation liquide comportant 20 % d'éthanol pendant la gestation et l'allaitement, BEC à 15 mmol L⁻¹, 69 mg dL⁻¹), on a constaté que le corps cellulaire et les dendrites des cellules granuleuses étaient augmentés et que les cellules gliales de Bergmann étaient immatures, avec des réponses morphologiques apparemment compensatoires après le retrait de l'éthanol⁷⁸. Il semble que le principal dommage se produise dans les cellules gliales de Bergmann et qu'il entraîne une altération de la maturation des cellules granulaires. Des rats âgés de 1 an qui avaient été exposés tout au long de la gestation à des niveaux d'éthanol modérés (BEC 22-32 mmol L⁻¹, 100-147 mg dL⁻¹) avaient une neurogénèse de l'hippocampe diminuée (différenciation neuronale particulièrement défectueuse)⁷⁹. Ces observations illustrent le pouvoir des expositions prénatales à l'éthanol, petites et modérées, d'altérer la prolifération, la morphologie et les fonctions des cellules neuronales et des réseaux neuronaux chez les descendants, changements remarquables pendant l'âge l'adulte et la vieillesse.

Apprentissage, mémoire, coordination motrice, comportement social et réponse au stress

Les effets à long terme de l'exposition prénatale à l'alcool sur la plasticité synaptique de l'hippocampe et leur importance selon le genre et l'âge ont été revus récemment, et les principaux résultats sont que l'exposition prénatale à l'éthanol augmente le stress oxydatif, modifie l'expression et l'activité de la sous-unité des récepteurs, influence les cascades de signalisation et modifie les facteurs neurotrophiques dérivés du cerveau (BDNF) dans l'hippocampe⁸⁰. La descendance de rates adultes (régime d'éthanol liquide à 3-5 % tout au long de la grossesse, BEC 7-17 mmol L⁻¹, 32-78 mg dL⁻¹) a montré une diminution des performances au test du réservoir d'eau de Morris, illustrant ainsi la capacité des expositions prénatales à l'alcool, faibles à modérées, d'induire des effets durables sur l'apprentissage et la mémoire⁸¹. Des souris NMRI âgées de 1 à 2 mois, dont les mères avaient bu ad libitum tout au long de la grossesse une solution d'éthanol à 18 % (BEC 15 mmol L⁻¹, 69 mg dL⁻¹), avaient une réduction de la coordination motrice et une modification de l'occlusion appropriée des paupières (indiquant un apprentissage moteur déficient). Ces changements ont été liés à la diminution des échanges calciques dépendants du voltage dans les cellules de Purkinje, elle-même causée par la diminution de l'expression (et de l'activité) du c-isoforme de la protéine kinase C. L'exposition prénatale à l'éthanol a ainsi entraîné une réduction de la plasticité des cellules de Purkinje dans le cervelet, avec une augmentation du taux d'activation des cellules de Purkinje, changements compatibles avec l'ataxie et les déficits d'apprentissage moteur observés dans le SAF⁸².

La progéniture mâle âgée de trois à quatre mois, née de rates ayant consommé environ 3 g kg⁻¹ d'éthanol par jour pendant la grossesse (BEC 18 mmol L⁻¹, 83 mg/L⁻¹), montrait des altérations du comportement social (investigations réduites et agressivité accrue) ; altérations moins prononcées chez les femelles⁵¹. De même, l'exposition du fœtus à l'éthanol a entraîné une diminution de la longueur dendritique et de la densité des épines dendritiques dans la région insulaire agranulaire du cortex frontal⁵¹. L'interaction sociale (changements fréquents de compagnon de cage) déclenchait des changements de comportement plus prononcés chez les mâles exposés à l'éthanol que chez les mâles témoins, et les mâles et femelles exposés à l'éthanol n'ont pas montré une augmentation de la densité des épines dendritiques en réponse à l'interaction sociale, comme cela se produit chez les sujets témoins⁵¹.

Dans une étude sur des rats âgés de 80 jours, dont les mères avaient bu ad libitum de l'eau contenant 3 % d'éthanol de GD 15 au jour postnatal 9 (BEC 3.3 mmol L⁻¹, 15 mg dL⁻¹ à GD 20, 8,8 mmol L⁻¹, 41 mg dL⁻¹ à PD9), des déficiences à la fois cognitives et sociocomportementales

ont été observées, altérations attribuées à l'augmentation de la concentration cérébrale en neurostéroïdes⁸³. Une progéniture murine adulte antérieurement exposée à la consommation maternelle volontaire pendant la grossesse (BEC 19-26 mmol L⁻¹, 88-120 mg dL⁻¹) montrait des défaillances dans les tests comportementaux (peur conditionnée, épreuves du labyrinthe)^{69,84}. Des descendants mâles et femelles d'animaux modérément exposés à l'éthanol pendant la grossesse avaient une activité de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HPS) augmentée et une sensibilité au stress accrue⁸⁵. Dans un travail récent, il a été souligné que le l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique (HPG) était altéré chez les rongeurs exposés in utero à l'éthanol⁸⁶. Ces observations illustrent le potentiel nocif des expositions prénatales à l'éthanol, faibles ou modérées, sur l'apprentissage, la mémoire, la coordination motrice, le comportement social et la réponse au stress chez la progéniture adulte.

De plus, l'administration d'ABT-239 (Abbott), antagoniste du récepteur H3 de l'histamine, améliore la mémorisation de l'information acquise par la progéniture adulte de rats exposés in utero à des périodes quotidiennes de 4 heures de consommation maternelle d'alcool (BEC 18 mmol L⁻¹, 83 mg dL⁻¹) pendant la grossesse⁸¹. Cette découverte correspond à la normalisation, induite par l'ABT-239, de la réponse LTP (potentialisation à long terme) à l'impulsion par des électrodes stimulantes implantées dans les cellules granulaires dentées chez le fœtus exposé à l'éthanol⁷³. Ces observations ouvrent la piste d'un éventuel traitement pharmacologique pour bloquer les effets néfastes d'une faible exposition prénatale à l'éthanol.

ÉTUDES CHEZ LES SINGES

Pour diverses raisons, examinées en profondeur par Patten et al.⁸⁷, les primates non humains, nos plus proches ancêtres selon l'évolution, sont considérés comme un « étalon-or » dans les études sur les effets de l'exposition prénatale à l'alcool sur la progéniture. Ceci est souligné par des observations d'effets opposés de l'alcool chez les rongeurs et les humains sur, par exemple, l'expression de DNMT1 [DNA Methyl Transferase 1], enzyme de la méthylation de l'ADN⁸⁸. Le singe vervet de St Kitts est une espèce de primates non humains qui consomme volontiers de l'alcool. Burke et coll.⁸⁹ ont étudié les femelles gravides qui étaient autorisées à boire l'équivalent de trois à cinq boissons standard quatre fois par semaine pendant le troisième trimestre. La densité des neurones du cortex frontal, à l'âge de 20 mois, était réduite d'environ un tiers, avec une réduction de cellules neuronales et une augmentation de la substance blanche⁸⁹. Bien que dans cette observation l'exposition à l'alcool était assez élevée, les résultats indiquent un effet inhibiteur fort et inattendu de l'alcool sur le développement neuronal pendant la vie fœtale. Dans une autre étude, où les singes vervet femelles enceintes étaient exposées à une consommation d'alcool modérée et spontanée pendant le troisième trimestre de la grossesse, les nouveau-nés avaient des réductions significatives du nombre de neurones de l'hippocampe, en particulier dans les couches CA1 et CA3. De plus, cet effet de l'exposition prénatale à l'alcool persistait à l'âge de 2 ans, accompagné d'une réduction d'environ 30 % du volume de l'hippocampe⁹⁰. Dans un rapport récent, l'équipe de Burke et al., en utilisant le même modèle d'exposition prénatale modérée à l'alcool chez le singe vervet, a étudiée la prolifération et le renouvellement postnatal des cellules progénitrices dans les bulbes olfactifs et le gyrus dentelé (DG). En concordance avec leurs résultats antérieurs, une réduction significative du nombre de cellules progénitrices a été trouvée chez les singes nouveau-nés exposés à l'alcool. Comme prévu, le nombre des cellules progénitrices était encore très réduits à l'âge de 2 ans et, de plus, les chiffres ne différaient pas entre les singes exposés et non exposés in utero à l'alcool, démontrant la vulnérabilité spécifique à l'alcoolisation prénatale ou postnatale précoce⁹¹.

Une autre espèce de primate non humaine consommant volontiers de l'alcool est le *Macaca Mulatta*, aussi appelé singe rhésus. Dans un certain nombre d'études sur les singes rhésus, il a été démontré que cette espèce montrait de nombreuses similitudes avec les humains concernant l'exposition à l'alcool, tant en ce qui concerne la structure et la fonction de leurs systèmes sérotoninergique et dopaminergique dans les cerveaux adultes, que le comportement⁹². En outre, compte tenu du rôle neurotrophique de la sérotonine au cours du développement⁹³, les singes rhésus présentent un intérêt particulier pour les études humaines en raison de leur proximité, car ils semblent être les seuls à partager avec l'homme les variantes des gènes du transporteur de la sérotonine (5-HTT)* et de l'enzyme du métabolisme de la monoamine, la monoamine-oxydase A (MAOA)**, qui sont homologues aux variantes de ces gènes chez l'homme (respectivement 5-HTTLPR et MAOAuVNTR)⁹⁴. Les gènes du 5-HTT et de la MAOA portent tous deux un élément polymorphe répétitif dans leurs régions promotrices, et les variantes courtes ('s' pour le 5-HTTLPR et '2R' et '3R' pour le MAOAuVNTR) ont été associés, dans les deux cas, à une activité fonctionnelle inférieure dans les cultures cellulaires⁹⁵⁻⁹⁸. Fait intéressant, la progéniture rhésus qui porte au moins un allèle 5-HTTLPR s s'est avéré considérablement plus sensible aux conditions postnatales d'élevage, à la fois pour les mesures biochimiques et les comportements, que ceux qui sont homozygotes pour l'autre allèle l⁹⁹⁻¹⁰¹.

Kraemer et al.¹⁰² ont montré que l'effet d'un apport modéré [0,6 g kg⁻¹ de poids corporel d'alcool à 6 % (v/v)] un seul jour par semaine aux femelles macaques rhésus enceintes, ce qui correspond à la prise de deux unités de boissons alcoolisées chez une femme de taille moyenne, était beaucoup plus fort pour la progéniture portant l'allèle s du gène 5-HTTLPR en ce qui concerne l'irritabilité néonatale et la réactivité au stress. De plus, une exposition modérée à l'alcool (consommation volontaire de 0,6 g kg⁻¹ de poids corporel d'alcool à 6 % (v/v) une fois par jour) chez les porteurs de l'allèle s du gène 5-HTTLPR au cours du premier trimestre a causé une sous-réactivité à la stimulation tactile¹⁰³. La même équipe de chercheurs a ensuite montré que l'exposition prénatale modérée à l'alcool a entraîné une baisse des niveaux du métabolite 5-HIAA du 5-HT dans le LCR des porteurs de l'allèle s du gène 5-HTTLPR et ont suggéré en conséquence que la progéniture humaine exposée in utero à l'alcool et portant l'allèle s 5-HTTLPR pourrait avoir plus de risque à présenter un TCAF¹⁰⁴. Dans leur dernier rapport, une exposition prénatale modérée à l'alcool (0,6 g kg⁻¹ d'alcool à 6 % v/v une fois par jour) a causé une réponse de sursaut acoustique de plus grande magnitude et une altération de l'inhibition de préimpulsion, toutes deux interprétées comme une perturbation de la régulation sensorimotrice chez la progéniture rhésus examinée à l'âge d'environ 13 ans¹⁰⁵. Le génotype du gène 5-HTTLPR n'a cependant pas été pris en compte dans cette étude. Chez l'homme, une perturbation comportant un déficit du contrôle inhibiteur pourrait prendre une place importante parmi les symptômes inclus dans l'ETCAF et les diagnostics connexes. Une réduction du contrôle inhibiteur pourrait aussi signaler un risque accru d'alcoolisme^{106, 107}.

* La 5-hydroxytryptamine transporter, ou transporteur de la sérotonine est codé par le gène *SLC6A4* localisé en 17q11.2

** Il existe deux isoenzymes de la monoamine-oxydase, MAOA et MAOB. Les gènes *MAOA* et *MAOB* sont situés en Xp11.3. MAOA et MAOB oxydent les neurotransmetteurs dont la régulation est nécessaire au maintien d'un état mental équilibré. L'action de la MAOA s'applique à la sérotonine, la norépinephrine et la dopamine, tandis que celle de la MAOB s'applique à la phényléthylamine. Une faible activité des MAO et les mutations de leurs gènes ont été associées à la violence, la criminalité et les comportements impulsifs (OMIM).

ÉTUDES SUR LES HUMAINS AVEC UN ACCENT SUR LE SYSTÈME SÉROTONINERGIQUE

Plusieurs explications aux résultats contradictoires de la recherche sur l'ETCAF ou le TNDLA pourraient être à portée de main et ont été abordées dans la revue faite par Gray et al.¹⁰⁸ : modèle de consommation d'alcool, quantités ingérées, à quel stade de la grossesse, autres facteurs prédictifs et nombreux phénotypes comportementaux et autres troubles psychiatriques associés.

Compte tenu des résultats qui précèdent (études sur les rongeurs et les primates), il est nécessaire d'associer la définition d'un seuil de consommation d'alcool inoffensif pour la progéniture aux variations biologiques individuelles. Dans l'espèce humaine, la littérature scientifique sur l'influence du génome, seul ou en interaction avec les facteurs psychosociaux, sur la vulnérabilité comportementale et psychiatrique, est vaste. Cependant, on sait peu de chose, quant au risque d'être atteint d'une forme clinique de l'ETCAF, de l'interaction entre le terrain génétique de la progéniture exposée à l'alcool et les facteurs de l'environnement^{24, 109}.

Les similitudes entre les macaques rhésus et les humains, concernant les variations fonctionnelles des protéines 5-HTT et MAOA qui régulent la sérotonine, variations importantes dans le mécanisme des conséquences de l'exposition prénatale à l'alcool chez les primates non humains, rendraient intéressante une recherche semblable sur la génétique de l'ETCAF chez les humains (Schneider et al.¹⁰³). Il a été démontré que les gènes 5-HTTLPR et MAOA-uVNTR avaient tous deux une importance fonctionnelle *in vitro*. Après la naissance, cependant, des modifications épigénétiques pourraient modifier l'activité phénotypique originelle du génotype, comme c'est le cas pour MAOA-uVNTR¹¹⁰, expliquant ainsi les résultats contradictoires si ces différences fonctionnelles persistaient à l'adulte âge. On s'attend à ce que les activités prénatales de 5-HTT et de MAOA reflètent plus étroitement l'activité de ces polymorphismes *in vitro*, et qu'elles soient donc importantes pour les taux prénatals de la sérotonine et les effets sur le développement neurologique¹¹¹⁻¹¹⁶. Le fait de porter les variantes courtes des polymorphismes de 5-HTTLPR et de MAOA-uVNTR pourrait entraîner des niveaux élevés sérotonine prénatale, qui, en raison de son effet inhibiteur sur la croissance des cellules du système nerveux¹¹⁷⁻¹²¹, pourrait aboutir à des circuits régulés par les niveaux prénatals de sérotonine plus faibles ou plus petits^{114, 122}. Cela pourrait impliquer, sans doute en fonction du sexe, un plus grand risque de vulnérabilité à la dépression¹²³⁻¹²⁶ et à l'alcoolisme^{127, 128} ainsi qu'à l'impulsivité et à l'agressivité^{122, 124, 129-133}. Cette notion a récemment été expérimentalement confortée par les études sur les singes rhésus¹¹⁴. En accord avec les études sur les humains^{134, 135}, les singes rhésus qui portaient l'allèle s du gène 5-HTTLPR avaient eu de meilleurs résultats dans une variété de tests neuropsychologiques que les individus homozygotes pour l'allèle l du gène 5-HTTLPR^{114, 136}, ce qui indiquerait qu'un moindre développement des circuits neuronaux fournirait des caractéristiques positives à l'individu. Toutefois, on ne peut considérer pour acquis que cela serait encore le cas si l'activité de certains circuits sérotoninergiques du SNC était ensuite réduite par l'exposition prénatale à l'alcool. À notre connaissance, ces observations chez le singe n'ont pas encore été confirmées chez l'homme¹³⁷.

Le terme de « plasticité », utilisé pour indiquer la capacité du cerveau de chaque individu à s'adapter à l'environnement, avec un pic qui prévaut au cours du développement précoce (avant et après la naissance), est étroitement lié aux gènes du 5-HTT et de la MAOA^{133, 138-141}. Une différence importante entre les effets des enzymes 5-HTT et MAOA est qu'une faible activité de 5-HTT augmente exclusivement le niveau synaptique de la sérotonine, tandis qu'une faible activité de MAOA augmente également les niveaux de la noradrénaline et de la dopamine. Les gènes du 5-HTT et de la MAOA ne sont cependant pas les seuls gènes auxquels a été attribuée une fonction de plasticité même s'ils ont été les plus étudiés jusqu'à présent. Ainsi, le fait de porter la « variante de plasticité » de l'un de ces deux gènes pourrait orienter favorablement les capacités ou les comportements dans un bon environnement psychosocial, et le contraire dans un environnement défavorable. Les résultats d'études humaines, sans se concentrer sur l'alcool, soutiennent une telle notion^{133, 142, 143}. Les données surprenantes, mentionnées plus haut, du meilleur résultat de certains enfants nés de mères qui avaient consommé des quantités modérées d'alcool pendant la grossesse^{35, 36}, pourraient être expliquées de la même façon, en présumant que certains de ces enfants étaient porteurs des « variantes de plasticité » des gènes du 5-HTT

et/ou de la MAOA. Un exemple, qui n'implique pas l'alcool, pourrait être la courbe en forme de J de la délinquance chez les garçons en relation au génotype 5-HTTLPR et à l'environnement psychosocial¹⁴⁴. La plus grande prudence est de mise cependant avant de laisser entendre qu'en général de faibles doses prénatales d'alcool pourraient être bénéfiques, même en présence de « variantes génétiques de plasticité » associées à un bon environnement psychosocial. Dans la logique de l'hypothèse de plasticité, l'adaptation de la mère à sa situation psychosociale, en fonction de son génotype, pourrait à son tour affecter son enfant, en fonction du génotype de celui-ci. Les facteurs environnementaux négatifs pour la mère incluraient le degré élevé de stress, le célibat, la grossesse non désirée, la maltraitance ou l'exposition à la violence et l'appartenance à un groupe socioéconomique désavantagé, tous critères qui par ailleurs sont connus pour être en rapport avec de fortes consommations d'alcool^{145,146}.

En outre, les effets d'épistasie [interaction génétique] entre les variants génétiques doivent être considérés, par exemple entre les gènes du 5-HTT, de la MAOA et du DRD4 [récepteur de la dopamine]¹⁴⁷⁻¹⁴⁹. Les effets d'épistasie entre les variants des gènes du 5-HTT et du BDNF [brain-derived neurotrophic factor] ont également été démontrés à la fois par des expériences chez les animaux¹⁵⁰ et chez l'homme, concernant les états de névrose¹⁵¹. Par exemple, Grabe et al.¹⁵² ont montré que, selon le génotype de BDNF, qui module la plasticité neuronale, l'allèle 5-HTTLPR se montrait des propriétés soit protectrices soit facilitatrices des symptômes dépressifs. Enfin, une étude récente chez des adolescents âgés de 17 à 18 ans a montré que les génotypes 5-HTTLPR, MAOA-uVNTR et BDNF-Val66Met interagissaient non seulement entre eux, mais aussi avec les conflits familiaux et les abus sexuels, qui augmentent la probabilité de délinquance, ou avec une bonne relation parent-enfant, qui la diminuent¹³³. Reste à savoir si l'exposition prénatale à l'alcool pourrait avoir contribué à ces résultats.

L'effet sur le développement du système sérotoninergique du cerveau observé dans la progéniture d'animaux de laboratoire exposés à des quantités d'alcool même faibles pendant la grossesse, suggère que des effets subtils sur la personnalité et le comportement humain sont susceptibles de se produire à la suite d'une consommation d'alcool faible ou modérée pendant la grossesse. Cependant, comme de tels effets subtils pourraient ne pas être assez manifestes pour être considérés comme des troubles de la personnalité ou du comportement qui, par ailleurs, dépendent de l'environnement pour s'exprimer, ils pourraient passer inaperçus dans les enquêtes épidémiologiques.

Effets de l'exposition prénatale à l'alcool sur le transcriptome et l'épigénome humains

Pour bien comprendre par quels mécanismes l'alcoolisation maternelle, en interaction avec des facteurs psychosociaux et biologiques, influence le développement neuropsychologique de sa descendance, il est nécessaire d'identifier les empreintes biologiques qu'une faible exposition prénatale à l'alcool provoque. D'autre part, les biomarqueurs permettraient une détection précoce des enfants à risque et suggéreraient des cibles médicamenteuses potentielles. Le nouveau concept de plasticité phénotypique¹⁵³, impliquant que nos gènes subissent un remodelage en réponse à des facteurs environnementaux, a changé la compréhension du contrôle génétique sur le comportement et la santé mentale^{154, 155}. Des études récentes ont mis en évidence, chez les animaux de laboratoire, les changements nombreux et persistants du transcriptome que provoque une exposition à l'alcool même légère ou modérée. Certains gènes sont connus pour contribuer au développement du système nerveux et l'on peut facilement prévoir qu'ils produisent aussi des troubles cognitifs^{156, 157}. Les mécanismes moléculaires par lesquels l'environnement influence l'expression des gènes, sans modifier les séquences de l'ADN, ont récemment attiré l'attention ; cela a stimulé les efforts de la recherche dans le

domaine de l'épigénétique, qui semble fournir le chaînon manquant entre le patrimoine génétique et son résultat phénotypique sous l'influence de l'environnement^{154, 155, 158, 159}.

Il y a une décennie, Weaver et al.¹⁶⁰ ont montré, chez le rat, que des mécanismes épigénétiques modulaient l'effet du comportement et des soins maternels sur le système de réponse au stress de la progéniture ; cette notion a été plus tard confirmée de façon convainquante¹⁶¹. Apparemment, les études humaines ont commencé à identifier à la naissance les signatures épigénétiques du stress au début de la vie^{162, 163} ainsi que la prédisposition aux troubles psychiatriques, incluant la dépendance à l'alcool¹⁶⁴⁻¹⁶⁶ et la dépression^{166, 167}. En ce qui concerne les signatures épigénétiques des expositions prénatales aux signaux environnementaux, trop peu d'études ont été publiées jusqu'à présent pour en tirer des conclusions. Parmi elles, celle d'Oberlander et al.¹⁶⁸ utilisant les cellules sanguines du cordon ombilical, a rapporté une association entre l'exposition prénatale à la dépression maternelle, la méthylation néonatale du récepteur humain des glucocorticoïdes et la réponse du cortisol au stress chez le nourrisson. Dans une autre étude, une variante du gène codant pour une enzyme impliquée dans la méthylation (MTHFR), en combinaison avec l'humeur dépressive prénatale de la mère, était associée à l'altération de la méthylation du transporteur de la sérotonine (5-HTT) chez les nourrissons à la naissance¹⁶³.

Il semble également pertinent d'impliquer l'épigénétique dans les effets de l'exposition prénatale à l'alcool sur le développement neuropsychologique de la descendance¹⁶⁹⁻¹⁷¹ (figure 2). L'alcool peut agir sur la disponibilité des groupes méthyle dans leur interaction dans les voies métaboliques à un seul carbone*¹⁷². Il est bien connu qu'un obstacle principal à la recherche sur l'épigénétique en psychiatrie est la spécificité des variations épigénétiques dans les cellules et les tissus, ce qui limite la recherche aux échantillons de cerveaux de cadavres. Cependant, l'ADN isolé dans les tissus périphériques semble être une approche pertinente¹⁷³. La preuve a été fournie d'une corrélation des profils de méthylation entre le sang et certaines régions du cerveau, comme le cortex et le cervelet, renforçant l'utilité du sang pour étudier l'épidémiologie épigénétique de phénotypes neurobiologiques complexes¹⁷⁴. Mais la salive, qui dérive de la couche ectodermique comme le cerveau, est de plus en plus utilisée comme source d'ADN et il a été démontré qu'elle était un modèle de méthylation de l'ADN plus proche du cerveau que le sang¹⁷³.

* Par exemple, le CH₃ tétra hydro folate, donneur d'un seul carbone, convertit l'homocystéine en méthionine qui sert à la méthylation de l'ADN

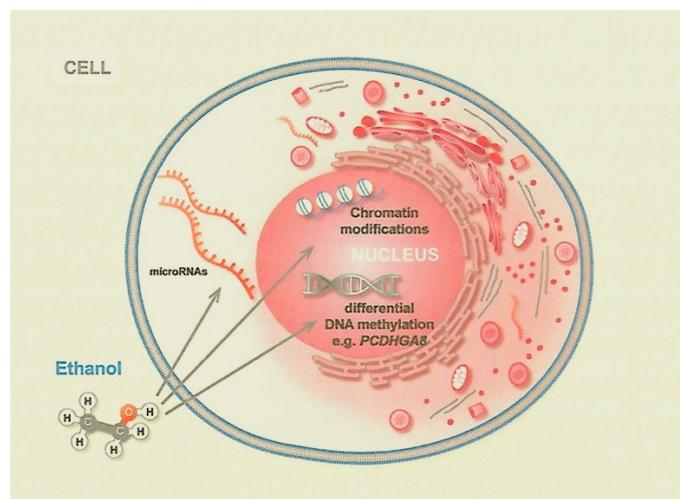


Figure 2 La reprogrammation épigénétique de l'exposition prénatale à l'alcool influence vraisemblablement le développement neurologique de l'enfant. Le profil de méthylation du gène PCDHGA est un candidat potentiel.

À ce jour, deux travaux ont étudié les signatures épigénétiques de l'ETCAF et procurent des résultats partiellement concordants. Dans la plus grande des deux, les enfants et les adolescents atteints de TCAF présentaient des profils de méthylation de l'ADN salivaire à la hausse ou à la baisse dans 658 îlots CpG situés sur 101 régions différemment méthylées, en tenant compte de l'ajustement pour le type de cellule et l'origine ethnique (Chudley et al.)¹⁷⁵. Parmi ceux-ci, seulement 41 avaient des variations de méthylation qui avaient une signification biologique importante, en majorité situées à l'extérieur des îlots CpG ; fait intéressant, les différences étaient observées dans des loci de gènes subissant l'empreinte et qui régulent la croissance et le développement ainsi que sur des loci de gènes impliqués dans les troubles de l'usage des drogues (par exemple, DRD4 [récepteur de la dopamine] et DAT [transporteur de la dopamine])¹⁷⁵. Cette étude et l'autre étude plus petite ont identifié, en plus de plusieurs gènes impliqués dans les processus de neuro-développement et de signalisation synaptique, des loci très impliqués sur le cluster des gènes de la protocadhérine (PCDH) qui codent pour les protéines impliquées dans les interactions cellulaires, dont le locus CpG21117330 sur PCDHGA8 qui a été identifié dans les deux études^{172, 175}. Comparaison intéressante, cette augmentation de la méthylation sur les gènes des protocadhérines associée au TCAF corrobore les résultats antérieurs chez les rongeurs¹⁷². En outre, des îlots CpG dans les voies du calcium, du glutamate et de Hippo* ont été impliqués dans la plus petite étude¹⁷². Toutes ces preuves préliminaires de liens associatifs épigénétiques entre l'exposition prénatale à l'alcool et l'ETCAF sont une invitation à entreprendre, au-delà de la signification statistique, d'autres études pour dévoiler l'importance des mécanismes biologiques. Les modèles épigénétiques et leurs changements dans le temps pourraient expliquer, au moins en partie, la variété des atteintes neuropsychologiques causées par l'exposition prénatale à l'alcool.

* Salvador-Warts-Hippo pathway est une voie de contrôle de la croissance cellulaire

QUESTIONS PRATIQUES

La présente étude vise à encourager la recherche sur rôle du génotype et de l'éducation¹⁷⁶ sur le développement neuropsychologique de l'enfant après une faible exposition prénatale à l'alcool. Une question hautement prioritaire pour les futures études est le fait que les études longitudinales prospectives basées sur la population impliquent des observations répétées et qu'elles sont exposées à des pertes de vue habituellement fréquentes. Cela s'ajoute aux à la sous-déclaration de la consommation d'alcool, à la stigmatisation sociale, ainsi qu'aux biais de rappel, en particulier pour les grossesses imprévues. Pour contourner l'incertitude des déclarations de consommation alcoolique pendant la grossesse, une combinaison d'autodéclarations et de mesures biochimiques est fortement recommandée⁹. Les biomarqueurs qui permettraient de prévoir les effets de l'exposition prénatale à l'alcool sur le développement restent à découvrir¹⁷⁷. Sur cette ligne, Petersson et al.¹⁷⁸ ont montré une relation entre les esters éthyliques d'acides gras (FAEE) dans le méconium et le développement neurologique des nourrissons exposés in utero à une faible quantité d'alcool (0,4-5,2 g semaine⁻¹), mais pas quand la consommation d'alcool a été déclarée par les mères.

Une autre priorité est de bien collecter les descriptions des phénotypes caractéristiques et intermédiaires, afin qu'elles soient en corrélation avec la psychométrie et la neuro-imagerie¹⁷⁹, qui sont vraisemblablement les mesures les plus fiables¹⁸⁰⁻¹⁸³.

Enfin et surtout, la cohérence entre les études de la définition des covariables et des phénotypes (par exemple, la consommation maternelle d'alcool dès la conception et à des termes définis de

la grossesse ; l'environnement éducatif de l'enfant ; le développement somatique et neuropsychologique de l'enfant ; les symptômes et/ou le diagnostic de troubles mentaux chez les parents et l'enfant) aura un impact sur les conclusions méta-analytiques.

Les analyses génétiques nécessitent de grandes populations de plusieurs milliers de sujets ; dans les populations de petite taille, le risque de faux positifs au cours des tests multiples est élevé. Pour évaluer les signatures épigénétiques, les échantillons biologiques doivent être collectés de la naissance à l'âge adulte ; les approches basées sur des hypothèses peuvent être appropriées lorsque la taille de la population est limitée ; néanmoins, le coût constamment en baisse du criblage à haut débit fait que l'analyse du génome entier est de plus en plus accessible. Le bénéfice-risque des futures études repose donc sur la collecte de données solides dont la pertinence permet de répondre aux questions abordées.

L'ensemble des troubles causés par l'alcoolisation fœtale et ses formes infracliniques, telles que les déficits du contrôle des impulsions, de l'orientation spatiale et de l'attention avec hyperactivité (TDAH), représentent un fardeau social pour la société et l'individu. Ce spectre pathologique nécessite une approche multidisciplinaire pour étudier la contribution à la santé mentale humaine de la génétique, de la psychiatrie, de la psychologie et de la sociologie. Ce spectre pathologique donne aussi l'occasion d'enquêter sur l'importance en santé mentale des rapports entre l'inné et l'acquis, question qui n'est plus débattue aujourd'hui.

CONCLUSIONS

Il est démontré que l'abus grave d'alcool pendant la grossesse endommage le développement du cerveau de l'enfant, causant des handicaps évidents tels que la mauvaise mémoire et le déficit d'attention. Cependant, la question de savoir si une faible consommation d'alcool pendant la grossesse pourrait être inoffensive pour l'enfant reste controversée. Les résultats contradictoires des études, dans l'espèce humaine, sur les effets de l'exposition fœtale à de faibles quantités d'alcool sur le développement neuropsychologique, sont un appel à de grandes études prospectives. De plus, la raison pour laquelle les enfants exposés à l'alcool sont différemment affectés reste mal comprise. La neuro-imagerie et les études génétiques et épigénétiques disséquant les fondements biologiques des phénotypes liés à l'exposition à l'alcool sont également indispensables (figure 3). Fait important, les résultats des études précliniques et cliniques interdisent de conclure que la consommation de petites quantités d'alcool pendant la grossesse est inoffensive pour l'enfant.

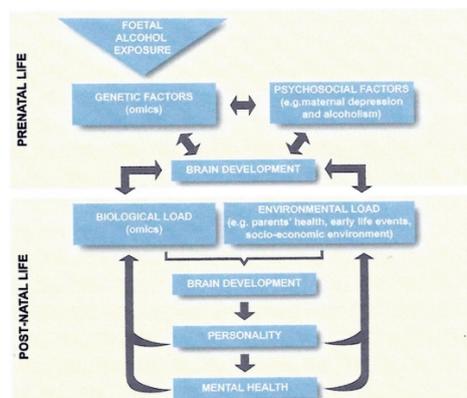


Figure 3 Schéma illustrant les interactions imbriquées entre l'exposition prénatale à l'alcool, les facteurs biologiques (sexuels, génétiques, épigénétiques, transcriptomiques, protéomiques, métaboliques) et les facteurs psychologiques, ainsi que leurs contributions au risque de l'apparition de l'ETCAF ou de ses formes neuropsychiques infracliniques.

Il est nécessaire de répondre à ces questions :

- 1) Est-ce que la consommation maternelle faible ou modérée pendant la grossesse affecte le développement psychosomatique, cognitif et neuropsychologique de l'enfant, et comment ?
- 2) Quel (s) outil (s) de dépistage peut prédire le seuil d'alcool ayant un effet sur l'enfant (biomarqueurs, dossiers médicaux, tests comportementaux, tests cognitifs, questionnaires autodéclarés) ?
- 3) Quel est le rôle de l'épigénome de l'enfant sur son développement neuropsychologique ?
- 4) Comment l'effet de l'exposition fœtale à l'alcool sur le développement est-il régulé par le risque génétique variable de l'enfant et les facteurs environnementaux ?
- 5) Le sexe joue-t-il un rôle dans la présentation et l'évolution des anomalies comportementales et la vulnérabilité aux maladies que provoque l'exposition prénatale à l'alcool ?

Conflict of interest

None.

The study was partially supported by funds from the Swedish Council for Working Life and Social Research (FAS: 2011-0627), and the Alcohol Research Council of the Swedish Alcohol Retailing Monopoly (FO2011-0051) to E.C.; and from the Swedish Research Council (VR: 2009-3640), the Sweden's labour market insurance company (AFA: SA-07:03), and the Alcohol Research Council of the Swedish Alcohol Retailing Monopoly (SRA/CAN: 2008) and Bertil Hallsten's Research Fund to L.O. E.C. is a Marie Skłodowska Curie fellow and received funds from the Swedish Research Council (VR: 2015- 00495) and EU FP7-People-Cofund (INCA 600398). Valuable discussions with Prof. K.W. Nilsson are acknowledged as well as comments of M. Bendre on the MAOA literature.

Traduction française : Alain Fourmaintraux, octobre 2017

References

1. Jones KL, Smith DW : Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet* 302 : 999–1001, 1973.
2. Bertrand J, Floyd LL, Weber MK : Fetal alcohol syndrome prevention team, DoBD, developmental disabilities, NCoBD, developmental disabilities, CfDC, prevention: guidelines for identifying and referring persons with fetal alcohol syndrome. *MMWR Recomm Rep* 54 : 1–14, 2005.
3. Riley EP, Infante MA, Warren KR : Fetal alcohol spectrum disorders: an overview. *Neuropsychol Rev* 21 : 73–80, 2011.
4. Kully-Martens K, Denys K, Treit S, Tamana S, Rasmussen C : A review of social skills deficits in individuals with fetal alcohol spectrum disorders and prenatal alcohol exposure: profiles, mechanisms, and interventions. *Alcohol Clin Exp Res* 36 : 568–576, 2012.
5. Hoyme HE, May PA, Kalberg WO, Koditwakkhu P, Gossage JP, Trujillo PM, Buckley DG, Miller JH, Aragon AS, Khaole N, Viljoen DL, Jones KL, Robinson LK : A practical clinical approach to diagnosis of fetal alcohol spectrum disorders: clarification of the 1996 institute of medicine criteria. *Pediatrics* 115 : 39–47, 2005.
6. Hoyme HE, Kalberg WO, Elliott AJ, Blankenship J, Buckley D, Marais AS, Manning MA, Robinson LK, Adam MP, Abdul-Rahman O, Jewett T, Coles CD, Chambers C, Jones KL, Adnams CM, Shah PE, Riley EP, Charness ME, Warren KR, May PA: Updated clinical guidelines for diagnosing fetal alcohol spectrum disorders. *Pediatrics* 138 : 2016.
7. World Health Organisation. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th Revision (ICD-10). Geneva, WHO, 1992.
8. May PA, Baete A, Russo J, Elliott AJ, Blankenship J, Kalberg WO, Buckley D, Brooks M, Hasken J, Abdul-Rahman O, Adam MP, Robinson LK, Manning M, Hoyme HE : Prevalence and characteristics of fetal alcohol spectrum disorders. *Pediatrics* 134 : 855–866, 2014.
9. Comasco E, Hallberg G, Helander A, Oreland L, Sundelin-Wahlsten V: Alcohol consumption among pregnant women in a Swedish sample and its effects on the newborn outcomes. *Alcohol Clin Exp Res* 36 : 1779–1786, 2012.
10. Skagerstrom J, Alehagen S, Haggstrom-Nordin E, Arestedt K, Nilsen P : Prevalence of alcohol use before and during pregnancy and predictors of drinking during pregnancy: a cross sectional study in Sweden. *BMC Public Health* 13 : 780, 2013.
11. Goransson M, Magnusson A, Bergman H, Rydberg U, Heilig M: Fetus at risk: prevalence of alcohol consumption during pregnancy estimated with a simple screening method in Swedish antenatal clinics. *Addiction* 98 : 1513–1520, 2003.
12. Skogerbo A, Kesmodel US, Denny CH, Kjaersgaard MI, Wimberley T, Landro NI, Mortensen EL : The effects of low to moderate alcohol consumption and binge drinking in early pregnancy on behaviour in 5-year-old children: a prospective cohort study on 1628 children. *BJOG* 120 : 1042–1050, 2013.
13. Hutchinson D, Moore EA, Breen C, Burns L, Mattick RP: Alcohol use in pregnancy: prevalence and predictors in the Longitudinal Study of Australian Children. *Drug Alcohol Rev* 32 : 475–482, 2013.
14. O'Keeffe LM, Kearney PM, McCarthy FP, Khashan AS, Greene RA, North RA, Poston L, McCowan LME, Baker PN, Dekker GA, Walker JJ, Taylor R, Kenny LC : Prevalence and predictors of alcohol use during pregnancy: findings from international multicentre cohort studies. *BMJ Open* 5 : 2015.
15. Willford JA, Richardson GA, Leech SL, Day NL: Verbal and visuospatial learning and memory function in children with moderate prenatal alcohol exposure.

- Alcohol Clin Exp Res 28 : 497–507, 2004.
16. Rangmar J, Sandberg AD, Aronson M, Fahlke C: Cognitive and executive functions, social cognition and sense of coherence in adults with fetal alcohol syndrome. *Nord J Psychiatry* 69 : 472–478, 2015.
 17. Rangmar J, Hjern A, Vinnerljung B, Strömland K, Aronson M, Fahlke C: Psychosocial outcomes of fetal alcohol syndrome in adulthood. *Pediatrics* 135 : e52–e58, 2015.
 18. May PA, Gossage JP, Kalberg WO, Robinson LK, Buckley D, Manning M, Hoyme HE: Prevalence and epidemiologic characteristics of FASD from various research methods with an emphasis on recent in-school studies. *Dev Disabil Res Rev* 15 : 176–192, 2009.
 19. Burden MJ, Jacobson SW, Sokol RJ, Jacobson JL: Effects of prenatal alcohol exposure on attention and working memory at 7.5 years of age. *Alcohol Clin Exp Res* 29 : 443–452, 2005.
 20. Larroque B, Kaminski M, Dehaene P, Subtil D, Delfosse MJ, Querleu D : Moderate prenatal alcohol exposure and psychomotor development at preschool age. *Am J Public Health* 85 : 1654–1661, 1995.
 21. Streissguth AP, Barr HM, Sampson PD: Moderate prenatal alcohol exposure: effects on child IQ and learning problems at age 7 1/2 years. *Alcohol Clin Exp Res* 14 : 662–669, 1990.
 22. Flak AL, Su S, Bertrand J, Denny CH, Kesmodel US, Cogswell ME : The association of mild, moderate, and binge prenatal alcohol exposure and child neuropsychological outcomes: a meta-analysis. *Alcohol Clin Exp Res* 38 : 214–226, 2014.
 23. Day NL, Helsel A, Sonon K, Goldschmidt L: The association between prenatal alcohol exposure and behavior at 22 years of age. *Alcohol Clin Exp Res* 37 : 1171–1178, 2013.
 24. Murray J, Burgess S, Zuccolo L, Hickman M, Gray R, Lewis SJ : Moderate alcohol drinking in pregnancy increases risk for children’s persistent conduct problems: causal effects in a Mendelian randomisation study. *J Child Psychol Psychiatry* 57: 575–584, 2016.
 25. Niccols A: Fetal alcohol syndrome and the developing socio-emotional brain. *Brain Cogn* 65 : 135–142, 2007.
 26. O’Leary CM, Nassar N, Zubrick SR, Kurinczuk JJ, Stanley F, Bower C: Evidence of a complex association between dose, pattern and timing of prenatal alcohol exposure and child behaviour problems. *Addiction* 105 : 74–86, 2009.
 27. Joseph JE, Swearingen JE, Corbly CR, Curry TE Jr, Kelly TH : Influence of estradiol on functional brain organization for working memory. *NeuroImage* 59 : 2923–2931, 2012.
 28. Kesmodel US, Bertrand J, Stovring H, Skarpness B, Denny CH, Mortensen EL, Lifestyle during Pregnancy Study Group: The effect of different alcohol drinking patterns in early to mid pregnancy on the child’s intelligence, attention, and executive function. *BJOG* 119 : 1180–1190, 2012.
 29. Kelly Y, Iacovou M, Quigley MA, Gray R, Wolke D, Kelly J, Sacker A : Light drinking versus abstinence in pregnancy – behavioural and cognitive outcomes in 7-year-old children: a longitudinal cohort study. *BJOG* 120 : 1340–1347, 2013.
 30. Underbjerg M, Kesmodel US, Landro NI, Bakketeig L, Grove J, Wimberley T, Kilburn TR, Svaerke C, Thorsen P, Mortensen EL: The effects of low to moderate alcohol consumption and binge drinking in early pregnancy on selective and sustained attention in 5-year-old children. *BJOG* 119 : 1211–1221, 2012.
 31. Skogerbo A, Kesmodel US, Wimberley T, Stovring H, Bertrand J, Landro NI, Mortensen EL: The effects of low to moderate alcohol consumption and binge drinking in early pregnancy on executive function in 5-year-old children. *BJOG* 119 : 1201–1210, 2012.
 32. Astley S, Grant T : Another perspective on ‘the effect of different alcohol drinking patterns in early to mid pregnancy on the child’s intelligence, attention, and executive function’. *BJOG* 119 : 1672, 2012 ; author reply 1673–1675.
 33. Parker MO, Brennan CH : Low and moderate alcohol consumption during pregnancy: effects on social behaviour and propensity to develop substance abuse in later life. *BJOG* 119 : 1671–1672, 2012 ; author reply 1673–1675.
 34. Kelly YJ, Sacker A, Gray R, Kelly J, Wolke D, Head J, Quigley MA: Light drinking during pregnancy: still no increased risk for socioemotional difficulties or cognitive deficits at 5 years of age? *J Epidemiol Community Health* 66: 41–48, 2012.
 35. Robinson M, Oddy WH, McLean NJ, Jacoby P, Pennell CE, de Klerk NH, Zubrick SR, Stanley FJ, Newnham JP : Low-moderate prenatal alcohol exposure and risk to child behavioural development: a prospective cohort study. *BJOG* 117 : 1139–1150, 2010.
 36. Kelly Y, Sacker A, Gray R, Kelly J, Wolke D, Quigley MA : Light drinking in pregnancy, a risk for behavioural problems and cognitive deficits at 3 years of age? *Int J Epidemiol* 38 : 129–140, 2009.
 37. Jacobson SW, Chiodo LM, Sokol RJ, Jacobson JL: Validity of maternal report of prenatal alcohol, cocaine, and smoking in relation to neurobehavioral outcome. *Pediatrics* 109 : 815–825, 2002.
 38. Todorow M, Moore TE, Koren G : Investigating the effects of low to moderate levels of prenatal alcohol exposure on child behaviour: a critical review. *J Popul Ther Clin Pharmacol* 17 : e323 –e330, 2010.
 39. Foltran F, Gregori D, Franchin L, Verduci E, Giovannini M: Effect of alcohol consumption in prenatal life, childhood, and adolescence on child development. *Nutr Rev* 69 : 642–659, 2011.
 40. Testa M, Quigley BM, Eiden RD : The effects of prenatal alcohol exposure on infant mental development: a meta-analytical review. *Alcohol Alcohol* 38 : 295–304, 2003.
 41. Todorow M, Sakaguchi S, Koren G: Child behaviour following low to moderate maternal drinking in pregnancy. *BJOG* 117 : 1563–1564, 2010 ; author reply 1564–1565.
 42. Jacobson SW, Carter RC, Jacobson JL : Commentary on Day and colleagues: the association between prenatal alcohol exposure and behavior at 22 years of age—adverse effects of risky patterns of drinking among low to moderate alcohol-using pregnant women. *Alcohol Clin Exp Res* 37 : 1069–1073, 2013.
 43. Henderson J, Gray R, Brocklehurst P : Systematic review of effects of low-moderate prenatal alcohol exposure on pregnancy outcome. *BJOG* 114 : 243–252, 2007.
 44. Cahill L: Why sex matters for neuroscience. *Nat Rev Neurosci* 7 : 477–484, 2006.
 45. Kaminsky Z, Wang SC, Petronis A: Complex disease, gender and epigenetics. *Ann Med* 38 : 530–544, 2006.
 46. Liu J, Morgan M, Hutchison K, Calhoun VD : A study of the influence of sex on genome wide methylation. *PLoS ONE* 5 : e10028, 2010. doi : 10.1371/journal.pone.0010028
 47. Toffoletto S, Lanzenberger R, Gingnell M, Sundstrom-Poromaa I, Comasco E : Emotional and cognitive functional imaging of estrogen and progesterone effects in the female human brain: a systematic review. *Psychoneuroendocrinology* 50 : 28–52, 2014.
 48. Gohlke JM, Griffith WC, Faustman EM: Computational models of ethanol-induced neurodevelopmental toxicity across species: implications for risk assessment. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 83 : 1–11, 2008.
 49. Aronne MP, Guadagnoli T, Fontanet P, Evrard SG, Brusco A: Effects of prenatal ethanol exposure on rat brain radial glia and neuroblast migration. *Exp Neurol* 229 : 364–371, 2011.
 50. Zhang CR, Chong S: Gene expression in the mouse brain following early pregnancy exposure to ethanol. *Genom Data* 10 : 107–108, 2016.
 51. Hamilton DA, Akers KG, Rice JP, Johnson TE, Candelaria-Cook FT, Maes LI, Rosenberg M, Valenzuela CF, Savage DD : Prenatal exposure to moderate levels of ethanol alters social behavior in adult rats: relationship

- to structural plasticity and immediate early gene expression in frontal cortex. *Behav Brain Res* 207 : 290–304, 2010.
52. Hamilton DA, Candelaria-Cook FT, Akers KG, Rice JP, Maes LI, Rosenberg M, Valenzuela CF, Savage DD: Patterns of social-experience-related c-fos and Arc expression in the frontal cortices of rats exposed to saccharin or moderate levels of ethanol during prenatal brain development. *Behav Brain Res* 214 : 66–74, 2010.
53. Chen Y, Ozturk NC, Zhou FC: DNA methylation program in developing hippocampus and its alteration by alcohol. *PLoS ONE* 8 : e60503, 2013.
54. Laufer BI, Mantha K, Kleiber ML, Diehl EJ, Addison SM, Singh SM: Long-lasting alterations to DNA methylation and ncRNAs could underlie the effects of fetal alcohol exposure in mice. *Dis Model Mech* 6 : 977–992, 2013.
55. Perkins A, Lehmann C, Lawrence RC, Kelly SJ : Alcohol exposure during development: impact on the epigenome. *Int J Dev Neurosci* 31 : 391–397, 2013.
56. Basavarajappa BS, Subbanna S: Epigenetic mechanisms in developmental alcohol-induced neurobehavioral deficits. *Brain Sci* 6 : 2016.
57. Lo CL, Zhou FC : Environmental alterations of epigenetics prior to the birth. *Int Rev Neurobiol* 115 : 1–49, 2014.
58. Sittig LJ, Shukla PK, Herzing LB, Redei EE: Strain-specific vulnerability to alcohol exposure in utero via hippocampal parent-of-origin expression of deiodinase-III. *FASEB J* 25 : 2313–2324, 2011.
59. O’Leary-Moore SK, Parnell SE, Lipinski RJ, Sulik KK: Magnetic resonance-based imaging in animal models of fetal alcohol spectrum disorder. *Neuropsychol Rev* 21 : 167–185, 2011.
60. Lipinski RJ, Hammond P, O’Leary-Moore SK, Ament JJ, Pecevich SJ, Jiang Y, Budin F, Parnell SE, Suttie M, Godin EA, Everson JL, Dehart DB, Oguz I, Holloway HT, Styner MA, Johnson GA, Sulik KK: Ethanol-induced face-brain dysmorphology patterns are correlative and exposure-stage dependent. *PLoS ONE* 7 : e43067, 2012.
61. Batra NA, Seres-Mailo J, Hanstock C, Seres P, Khudabux J, Bellavance F, Baker G, Allen P, Tibbo P, Hui E, Le Melleo JM: Proton magnetic resonance spectroscopy measurement of brain glutamate levels in premenstrual dysphoric disorder. *Biol Psychiatry* 63 : 1178–1184, 2008.
62. Kane MA, Folias AE, Wang C, Napoli JL : Ethanol elevates physiological all-trans-retinoic acid levels in select loci through altering retinoid metabolism in multiple loci: a potential mechanism of ethanol toxicity. *FASEB J* 24 : 823–832, 2010.
63. Berman RF, Hannigan JH: Effects of prenatal alcohol exposure on the hippocampus: spatial behavior, electrophysiology, and neuroanatomy. *Hippocampus* 10 : 94–110, 2000.
64. Vorhees CV: Some behavioral effects of maternal hypervitaminosis A in rats. *Teratology* 10 : 269–273, 1974.
65. Holson RR, Gazzara RA, Ferguson SA, Ali SF, Laborde JB, Adams J: Gestational retinoic acid exposure: a sensitive period for effects on neonatal mortality and cerebellar development. *Neurotoxicol Teratol* 19 : 335–346, 1997.
66. Holson RR, Gazzara RA, Ferguson SA, Adams J: Behavioral effects of low-dose gestational day 11–13 retinoic acid exposure. *Neurotoxicol Teratol* 19 : 355–362, 1997.
67. Roitbak T, Thomas K, Martin A, Allan A, Cunningham LA : Moderate fetal alcohol exposure impairs neurogenic capacity of murine neural stem cells isolated from the adult subventricular zone. *Exp Neurol* 229 : 522–525, 2011.
68. Samudio-Ruiz SL, Allan AM, Valenzuela CF, Perrone-Bizzozero NI, Caldwell KK: Prenatal ethanol exposure persistently impairs NMDA receptor-dependent activation of extracellular signal-regulated kinase in the mouse dentate gyrus. *J Neurochem* 109 : 1311–1323, 2009.
69. Allan AM, Chynoweth J, Tyler LA, Caldwell KK : A mouse model of prenatal ethanol exposure using a voluntary drinking paradigm. *Alcohol Clin Exp Res* 27 : 2009–2016, 2003.
70. Ngai YF, Sulistyoningrum DC, O’Neill R, Innis SM, Weinberg J, Devlin AM: Prenatal alcohol exposure alters methyl metabolism and programs serotonin transporter and glucocorticoid receptor expression in brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 309 : R613–R622, 2015.
71. Sliwowska JH, Song HJ, Bodnar T, Weinberg J: Prenatal alcohol exposure results in long-term serotonin neuron deficits in female rats: modulatory role of ovarian steroids. *Alcohol Clin Exp Res* 38 : 152–160, 2014.
72. Savage DD, Becher M, de la Torre AJ, Sutherland RJ: Dose-dependent effects of prenatal ethanol exposure on synaptic plasticity and learning in mature offspring. *Alcohol Clin Exp Res* 26 : 1752–1758, 2002.
73. Varaschin RK, Akers KG, Rosenberg MJ, Hamilton DA, Savage DD: Effects of the cognition-enhancing agent ABT-239 on fetal ethanol-induced deficits in dentate gyrus synaptic plasticity. *J Pharmacol Exp Ther* 334 : 191–198, 2010.
74. Choi IY, Allan AM, Cunningham LA: Moderate fetal alcohol exposure impairs the neurogenic response to an enriched environment in adult mice. *Alcohol Clin Exp Res* 29 : 2053–2062, 2005.
75. Uban KA, Sliwowska JH, Lieblich S, Ellis LA, Yu WK, Weinberg J, Galea LA: Prenatal alcohol exposure reduces the proportion of newly produced neurons and glia in the dentate gyrus of the hippocampus in female rats. *Horm Behav* 58 : 835–843, 2010.
76. Akers KG, Kushner SA, Leslie AT, Clarke L, van der Kooy D, Lerch JP, Frankland PW: Fetal alcohol exposure leads to abnormal olfactory bulb development and impaired odor discrimination in adult mice. *Mol Brain* 4 : 29, 2011.
77. Sliwowska JH, Barker JM, Barha CK, Lan N, Weinberg J, Galea LA: Stress-induced suppression of hippocampal neurogenesis in adult male rats is altered by prenatal ethanol exposure. *Stress* 13 : 301–313, 2010.
78. Gonzalez-Burgos I, Alexandre-Gomez M: Cerebellar granule cell and Bergmann glial cell maturation in the rat is disrupted by pre- and post-natal exposure to moderate levels of ethanol. *Int J Dev Neurosci* 23 : 383–388, 2005.
79. Gil-Mohapel J, Titterness AK, Patten AR, Taylor S, Ratzlaff A, Ratzlaff T, Helfer J, Christie BR: Prenatal ethanol exposure differentially affects hippocampal neurogenesis in the adolescent and aged brain. *Neuroscience* 273 : 174–188, 2014.
80. Fontaine CJ, Patten AR, Sickmann HM, Helfer JL, Christie BR : Effects of pre-natal alcohol exposure on hippocampal synaptic plasticity: sex, age and methodological considerations. *Neurosci Biobehav Rev* 64 : 12–34, 2016.
81. Savage DD, Rosenberg MJ, Wolff CR, Akers KG, El-Emawy A, Staples MC, Varaschin RK, Wright CA, Seidel JL, Caldwell KK, Hamilton DA: Effects of a novel cognition-enhancing agent on fetal ethanol-induced learning deficits. *Alcohol Clin Exp Res* 34 : 1793–1802, 2010.
82. Servais L, Hourez R, Bearzatto B, Gall D, Schiffmann SN, Cheron G : Purkinje cell dysfunction and alteration of long-term synaptic plasticity in fetal alcohol syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 : 9858–9863, 2007.
83. Barbaccia ML, Scaccianoce S, Del Bianco P, Campolongo P, Trezza V, Tattoli M, Cuomo V, Steardo L: Cognitive impairment and increased brain neurosteroids in adult rats perinatally exposed to low millimolar blood alcohol concentrations. *Psychoneuroendocrinology* 32 : 931–942, 2007.
84. Brady ML, Allan AM, Caldwell KK: A limited access

- mouse model of prenatal alcohol exposure that produces long-lasting deficits in hippocampal-dependent learning and memory. *Alcohol Clin Exp Res* 36 : 457–466, 2012.
85. Hellemans KG, Verma P, Yoon E, Yu WK, Young AH, Weinberg J: Prenatal alcohol exposure and chronic mild stress differentially alter depressive- and anxiety-like behaviors in male and female offspring. *Alcohol Clin Exp Res* 34 : 633–645, 2010.
86. Gawalek M, Sliwowska JH : Neuronal basis of reproductive dysfunctions associated with diet and alcohol: from the womb to adulthood. *Reprod Biol* 15 : 69–78, 2015.
87. Patten AR, Fontaine CJ, Christie BR : A comparison of the different animal models of fetal alcohol spectrum disorders and their use in studying complex behaviors. *Front Pediatr* 2 : 93, 2014.
88. Tulisiak CT, Harris RA, Ponomarev I: DNA modifications in models of alcohol use disorders. *Alcohol* 60 : 19–30, 2017.
89. Burke MW, Palmour RM, Ervin FR, Ptito M: Neuronal reduction in frontal cortex of primates after prenatal alcohol exposure. *NeuroReport* 20 : 13–17, 2009.
90. Burke MW, Ptito M, Ervin FR, Palmour RM: Hippocampal neuron populations are reduced in vervet monkeys with fetal alcohol exposure. *Dev Psychobiol* 57 : 470–485, 2015.
91. Burke MW, Inyatkin A, Ptito M, Ervin FR, Palmour RM: Prenatal alcohol exposure affects progenitor cell numbers in olfactory bulbs and dentate gyrus of vervet monkeys. *Brain Sci* 6 : 2016.
92. Higley JD, Bennett AJ: Central nervous system serotonin and personality as variables contributing to excessive alcohol consumption in non-human primates. *Alcohol* 34 : 402–418, 1999.
93. Oberlander TF: Fetal serotonin signaling: setting pathways for early childhood development and behavior. *J Adolesc Health* 51 : S9–S16, 2012.
94. Wendland JR, Lesch KP, Newman TK, Timme A, Gachot-Neveu H, Thierry B, Suomi SJ : Differential functional variability of serotonin transporter and monoamine oxidase a genes in macaque species displaying contrasting levels of aggression-related behavior. *Behav Genet* 36 : 163–172, 2006.
95. Heils A, Teufel A, Petri S, Stober G, Riederer P, Bengel D, Lesch KP: Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J Neurochem* 66 : 2621–2624, 1996.
96. Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, Benjamin J, Muller CR, Hamer DH, Murphy DL : Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 274 : 1527–1531, 1996.
97. Sabol SZ, Hu S, Hamer D: A functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter. *Hum Genet* 103 : 273–279, 1998.
98. Deckert J, Catalano M, Syagailo YV, Bosi M, Okladnova O, Di Bella D, Nothen MM, Maffei P, Franke P, Fritze J, Maier W, Propping P, Beckmann H, Bellodi L, Lesch KP: Excess of high activity monoamine oxidase A gene promoter alleles in female patients with panic disorder. *Hum Mol Genet* 8 : 621–624, 1999.
99. Bennett AJ, Lesch KP, Heils A, Long JC, Lorenz JG, Shoaf SE, Champoux M, Suomi SJ, Linnoila MV, Higley JD: Early experience and serotonin transporter gene variation interact to influence primate CNS function. *Mol Psychiatry* 7 : 118–122, 2002.
100. Barr CS, Newman TK, Lindell S, Shannon C, Champoux M, Lesch KP, Suomi SJ, Goldman D, Higley JD: Interaction between serotonin transporter gene variation and rearing condition in alcohol preference and consumption in female primates. *Arch Gen Psychiatry* 61: 1146–1152, 2004.
101. Suomi SJ : Risk, resilience, and gene 9 environment interactions in rhesus monkeys. *Ann N Y Acad Sci* 52–62 : 2006, 1094.
102. Kraemer GW, Moore CF, Newman TK, Barr CS, Schneider ML: Moderate level fetal alcohol exposure and serotonin transporter gene promoter polymorphism affect neonatal temperament and limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation in monkeys. *Biol Psychiatry* 63 : 317–324, 2008.
103. Schneider ML, Moore CF, Larson JA, Barr CS, Dejesus OT, Roberts AD: Timing of moderate level prenatal alcohol exposure influences gene expression of sensory processing behavior in rhesus monkeys. *Front Integr Neurosci* 3 : 30, 2009.
104. Schneider ML, Moore CF, Barr CS, Larson JA, Kraemer GW: Moderate prenatal alcohol exposure and serotonin genotype interact to alter CNS serotonin function in rhesus monkey offspring. *Alcohol Clin Exp Res* 35 : 912–920, 2011.
105. Schneider ML, Larson JA, Rypstat CW, Resch LM, Roberts A, Moore CF : Moderate-level prenatal alcohol exposure enhances acoustic startle magnitude and disrupts prepulse inhibition in adult rhesus monkeys. *Alcohol Clin Exp Res* 37 : 1729–1736, 2013.
106. Grillon C, Sinha R, Ameli R, O'Malley SS : Effects of alcohol on baseline startle and prepulse inhibition in young men at risk for alcoholism and/or anxiety disorders. *J Stud Alcohol* 61 : 46–54, 2000.
107. Cloninger CR: Neurogenetic adaptive mechanisms in alcoholism. *Science* 236 : 410–416, 1987.
108. Gray R, Mukherjee RA, Rutter M : Alcohol consumption during pregnancy and its effects on neurodevelopment: what is known and what remains uncertain. *Addiction* 104 : 1270–1273, 2009.
109. Beaty TH, Ruczinski I, Murray JC, Marazita ML, Munger RG, Hetmanski JB, Murray T, Redett RJ, Fallin MD, Liang KY, Wu T, Patel PJ, Jin SC, Zhang TX, Schwender H, Wu-Chou YH, Chen PK, Chong SS, Cheah F, Yeow V, Ye XQ, Wang H, Huang SZ, Jabs EW, Shi B, Wilcox AJ, Lie RT, Jee SH, Christensen K, Doheny KF, Pugh EW, Ling H, Scott AF : Evidence for gene-environment interaction in a genome wide study of nonsyndromic cleft palate. *Genet Epidemiol* 35 : 469–478, 2011.
110. Shumay E, Logan J, Volkow ND, Fowler JS: Evidence that the methylation state of the monoamine oxidase A (MAOA) gene predicts brain activity of MAO A enzyme in healthy men. *Epigenetics* 7 : 1151–1160, 2012.
111. Wankerl M, Miller R, Kirschbaum C, Hennig J, Stalder T, Alexander N : Effects of genetic and early environmental risk factors for depression on serotonin transporter expression and methylation profiles. *Transl Psychiat* 4 : e402, 2014.
112. Balciuniene J, Emilsson L, Orelund L, Pettersson U, Jazin E: Investigation of the functional effect of monoamine oxidase polymorphisms in human brain. *Hum Genet* 110 : 1–7, 2002.
113. Pinsonneault JK, Papp AC, Sadee W: Allelic mRNA expression of X-linked monoamine oxidase a (MAOA) in human brain: dissection of epigenetic and genetic factors. *Hum Mol Genet* 15 : 2636–2649, 2006.
114. Jedema HP, Gianaros PJ, Greer PJ, Kerr DD, Liu S, Higley JD, Suomi SJ, Olsen AS, Porter JN, Lopresti BJ, Hariri AR, Bradberry CW: Cognitive impact of genetic variation of the serotonin transporter in primates is associated with differences in brain morphology rather than serotonin neurotransmission. *Mol Psychiatry* 15 : 512–522, 446, 2010.
115. Cirulli ET, Goldstein DB: In vitro assays fail to predict in vivo effects of regulatory polymorphisms. *Hum Mol Genet* 16 : 1931–1939, 2007.
116. Fowler JS, Alia-Klein N, Kriplani A, Logan J, Williams B, Zhu W, Craig IW, Telang F, Goldstein R, Volkow ND, Vaska P, Wang GJ: Evidence that brain MAO A activity does not correspond to MAO A genotype in healthy male subjects. *Biol Psychiatry* 62 : 355–358, 2007.
117. Whitaker-Azmitia PM : Behavioral and cellular consequences of increasing serotonergic activity during brain

- development: a role in autism? *Int J Dev Neurosci* 23 : 75–83, 2005.
118. Gaspar P, Cases O, Maroteaux L : The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics. *Nat Rev Neurosci* 4 : 1002–1012, 2003.
119. Pezawas L, Meyer-Lindenberg A, Drabant EM, Verchinski BA, Munoz KE, Kolachana BS, Egan MF, Mattay VS, Hariri AR, Weinberger DR: 5-HTTLPR polymorphism impacts human cingulate-amygdala interactions: a genetic susceptibility mechanism for depression. *Nat Neurosci* 8 : 828–834, 2005.
120. Lesch KP, Meyer J, Glatz K, Flugge G, Hinney A, Hebebrand J, Klauck SM, Poustka A, Poustka F, Bengel D, Mossner R, Riederer P, Heils A : The 5-HT transporter gene-linked polymorphic region (5-HTTLPR) in evolutionary perspective: alternative biallelic variation in rhesus monkeys. *Rapid communication. J Neural Transm* 104 : 1259–1266, 1997.
121. Witteveen JS, Middelman A, van Hulten JA, Martens GJ, Homberg JR, Kolk SM: Lack of serotonin reuptake during brain development alters rostral raphe-prefrontal network formation. *Front Cell Neurosci* 7 : 143, 2013.
122. Nordquist N, Orelund L: Serotonin, genetic variability, behaviour, and psychiatric disorders—a review. *Upsala J Med Sci* 115 : 2–10, 2010.
123. Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington H, McClay J, Mill J, Martin J, Braithwaite A, Poulton R : Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science* 301 : 386–389, 2003.
124. Sjöberg RL, Nilsson KW, Nordquist N, Ohrvik J, Leppert J, Lindström L, Orelund L: Development of depression: sex and the interaction between environment and a promoter polymorphism of the serotonin transporter gene. *Int J Neuropsychopharmacol* 9 : 443–449, 2006.
125. Brummett BH, Boyle SH, Siegler IC, Kuhn CM, Ashley-Koch A, Jonassaint CR, Zuchner S, Collins A, Williams RB: Effects of environmental stress and gender on associations among symptoms of depression and the serotonin transporter gene linked polymorphic region (5-HTTLPR). *Behav Genet* 38 : 34–43, 2008.
126. Wust S, Kumsta R, Treutlein J, Frank J, Entringer S, Schulze TG, Rietschel M: Sex-specific association between the 5-HTT gene-linked polymorphic region and basal cortisol secretion. *Psychoneuroendocrinology* 34 : 972–982, 2009.
127. Todkar A, Nilsson KW, Orelund L, Hodgins S, Comasco E: Serotonin transporter genotype by environment: studies on alcohol use and misuse in non-human and human
128. Feinn R, Nellissery M, Kranzler HR: Meta-analysis of the association of a functional serotonin transporter promoter polymorphism with alcohol dependence. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 133B : 79–84, 2005.
129. Aslund C, Nordquist N, Comasco E, Leppert J, Orelund L, Nilsson KW: Maltreatment, MAOA, and delinquency: sex differences in gene-environment interaction in a large population-based cohort of adolescents. *Behav Genet* 41 : 262–272, 2011.
130. Nilsson KW, Comasco E, Aslund C, Nordquist N, Leppert J, Orelund L: MAOA genotype, family relations and sexual abuse in relation to adolescent alcohol consumption. *Addict Biol* 16 : 347–355, 2011.
131. Orelund L, Nordquist N, Hallman J, Harro J, Nilsson KW: Environment and the serotonergic system. *Eur Psychiatry* 25 : 304–306, 2010.
132. Aslund C, Leppert J, Comasco E, Nordquist N, Orelund L, Nilsson KW: Impact of the interaction between the 5HTTLPR polymorphism and maltreatment on adolescent depression. A population based study. *Behav Genet* 39 : 524–531, 2009.
133. Nilsson KW, Comasco E, Hodgins S, Orelund L, Aslund C: Genotypes do not confer risk for delinquency but rather alter susceptibility to positive and negative environmental factors: gene-environment interactions of BDNF Val66Met, 5-HTTLPR, and MAOA-uVNTR. *Int J Neuropsychopharmacol* 18 : 2014. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyu107>.
134. Roiser JP, Muller U, Clark L, Sahakian BJ: The effects of acute tryptophan depletion and serotonin transporter polymorphism on emotional processing in memory and attention. *Int J Neuropsychopharmacol* 10 : 449–461, 2007.
135. Roiser JP, Rogers RD, Cook LJ, Sahakian BJ: The effect of polymorphism at the serotonin transporter gene on decision-making, memory and executive function in ecstasy users and controls. *Psychopharmacology* 188 : 213–227, 2006.
136. Clauss JA, Avery SN, Blackford JU: The nature of individual differences in inhibited temperament and risk for psychiatric disease: a review and meta-analysis. *Prog Neurobiol* 127–128 : 23–45, 2015.
137. Barr CS: Non-human primate models of alcohol-related phenotypes: the influence of genetic and environmental factors. *Curr Top Behav Neurosci* 13 : 223–249, 2013.
138. Belsky J, Jonassaint C, Pluess M, Stanton M, Brummett B, Williams R: Vulnerability genes or plasticity genes? *Mol Psychiatry* 14 : 746–754, 2009.
139. Nilsson KW, Sjöberg RL, Damberg M, Leppert J, Ohrvik J, Alm PO, Lindström L, Orelund L: Role of monoamine oxidase A genotype and psychosocial factors in male adolescent criminal activity. *Biol Psychiat* 59 : 121–127, 2006.
140. Kiive E, Laas K, Akkermann K, Comasco E, Orelund L, Veidebaum T, Harro J: Mitigating aggressiveness through education? The monoamine oxidase A genotype and mental health in general population. *Acta Neuropsychiatr* 26 : 19–28, 2014.
141. Orelund L, Nilsson K, Damberg M, Hallman J: Monoamine oxidases: activities, genotypes and the shaping of behaviour. *J Neural Transm* 114 : 817–822, 2007.
142. Kochanska G, Kim S, Barry RA, Philibert RA : Children's genotypes interact with maternal responsive care in predicting children's competence: diathesis-stress or differential susceptibility? *Dev Psychopathol* 23 : 605–616, 2011.
143. van Ijzendoorn MH, Belsky J, Bakermans-Kranenburg MJ : Serotonin transporter genotype 5HTTLPR as a marker of differential susceptibility? A meta-analysis of child and adolescent gene-by-environment studies. *Transl Psychiatry* 2 : e147, 2012. <https://doi.org/10.1038/tp.2012.73>.
144. Aslund C, Comasco E, Nordquist N, Leppert J, Orelund L, Nilsson KW: Self-reported family socioeconomic status, the 5-HTTLPR genotype, and delinquent behavior in a community-based adolescent population. *Aggress Behav* 39 : 52–63, 2013.
145. Zelnor I, Koren G: Alcohol consumption among women. *J Popul Ther Clin Pharmacol* 20 : e201–e206, 2013.
146. Skagerstrom J, Chang G, Nilsen P: Predictors of drinking during pregnancy: a systematic review. *J Womens Health* 20 : 901–913, 2011.
147. Belsky J, Beaver KM: Cumulative-genetic plasticity, parenting and adolescent self-regulation. *J Child Psychol Psychiatry* 52 : 619–626, 2011.
148. Simons RL, Lei MK, Stewart EA, Brody GH, Beach SR, Philibert RA, Gibbons FX : Social adversity, genetic variation, street code, and aggression: a genetically informed model of violent behavior. *Youth Violence Juv Justice* 10 : 3–24, 2012.
149. Iofrida C, Palumbo S, Pellegrini S: Molecular genetics and antisocial behavior: where do we stand? *Exp Biol Med* 239 : 1514–1523, 2014.
150. Homberg JR, Molteni R, Calabrese F, Riva MA: The serotonin-BDNF duo: developmental implications for the vulnerability to psychopathology. *Neurosci Biobehav Rev* 43 : 35–47, 2014.
151. Hiio K, Merenakk L, Nordquist N, Parik J, Orelund L, Veidebaum T, Harro J: Effects of serotonin transporter promoter and BDNF Val66Met genotype on personality traits in a population representative sample of adolescents. *Psychiatr Genet* 21 : 261–264, 2011.
152. Grabe HJ, Schwahn C, Mahler J, Appel K, Schulz A,

- Spitzer C, Fenske K, Barnow S, Freyberger HJ, Teumer A, Petersmann A, Biffar R, Roszkopf D, John U, Volzke H: Genetic epistasis between the brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and the 5-HTT promoter polymorphism moderates the susceptibility to depressive disorders after childhood abuse. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 36 : 264–270, 2012.
153. Feinberg AP: Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease. *Nature* 447 : 433–440, 2007.
154. Szyf M: The early life environment and the epigenome. *Biochem Biophys Acta* 1790 : 878–885, 2009.
155. Petronis A: Epigenetics as a unifying principle in the aetiology of complex traits and diseases. *Nature* 465 : 721–727, 2010.
156. Lussier AA, Stepien KA, Neumann SM, Pavlidis P, Kobor MS, Weinberg J: Prenatal alcohol exposure alters steady-state and activated gene expression in the adult rat brain. *Alcohol Clin Exp Res* 39 : 251–261, 2015.
157. Zhou FC: Dissecting FASD through the global transcriptome. *Alcohol Clin Exp Res* 39 : 408–412, 2015.
158. McCarthy MI, Hirschhorn JN : Genome-wide association studies: potential next steps on a genetic journey. *Hum Mol Genet* 17 : R156–R165, 2008.
159. McGowan PO, Szyf M : The epigenetics of social adversity in early life: implications for mental health outcomes. *Neurobiol Dis* 39 : 66–72, 2010.
160. Weaver IC, Cervoni N, Champagne FA, D'Alessio AC, Sharma S, Seckl JR, Dymov S, Szyf M, Meaney MJ: Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci* 7 : 847–854, 2004.
161. Maccari S, Krugers HJ, Morley-Fletcher S, Szyf M, Brunton PJ : The consequences of early-life adversity: neurobiological, behavioural and epigenetic adaptations. *J Neuroendocrinol* 26 : 707–723, 2014.
162. McGowan PO, Sasaki A, D'Alessio AC, Dymov S, Labonte B, Szyf M, Turecki G, Meaney MJ: Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nat Neurosci* 12 : 342–348, 2009.
163. Devlin AM, Brain U, Austin J, Oberlander TF: Prenatal exposure to maternal depressed mood and the MTHFR C677T variant affect SLC6A4 methylation in infants at birth. *PLoS ONE* 5 : e12201, 2010.
164. Bonsch D, Lenz B, Kornhuber J, Bleich S: DNA hypermethylation of the alpha synuclein promoter in patients with alcoholism. *NeuroReport* 16 : 167–170, 2005.
165. Hillemecher T, Frieling H, Hartl T, Wilhelm J, Kornhuber J, Bleich S: Promoter specific methylation of the dopamine transporter gene is altered in alcohol dependence and associated with craving. *J Psychiatr Res* 43 : 388–392, 2009.
166. Philibert RA, Sandhu H, Hollenbeck N, Gunter T, Adams W, Madan A : The relationship of 5HTT (SLC6A4) methylation and genotype on mRNA expression and liability to major depression and alcohol dependence in subjects from the Iowa Adoption Studies. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 147B : 543–549, 2008.
167. Olsson CA, Foley DL, Parkinson-Bates M, Byrnes G, McKenzie M, Patton GC, Morley R, Anney RJ, Craig JM, Saffery R: Prospects for epigenetic research within cohort studies of psychological disorder: a pilot investigation of a peripheral cell marker of epigenetic risk for depression. *Biol Psychol* 83 : 159–165, 2010.
168. Oberlander TF, Weinberg J, Papsdorf M, Grunau R, Misri S, Devlin AM: Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and infant cortisol stress responses. *Epigenetics* 3 : 97–106, 2008.
169. Kobor MS, Weinberg J: Focus on: epigenetics and fetal alcohol spectrum disorders. *Alcohol Res Health* 34 : 29–37, 2011.
170. Resendiz M, Chen Y, Ozturk NC, Zhou FC: Epigenetic medicine and fetal alcohol spectrum disorders. *Epigenomics* 5 : 73–86, 2013.
171. Novakovic B, Saffery R: The importance of the intrauterine environment in shaping the human neonatal epigenome. *Epigenomics* 5 : 1–4, 2013.
172. Laufer BI, Kapalanga J, Castellani CA, Diehl EJ, Yan L, Singh SM: Associative DNA methylation changes in children with prenatal alcohol exposure. *Epigenomics* 7 : 1259–1274, 2015.
173. Smith AK, Kilaru V, Klengel T, Mercer KB, Bradley B, Conneely KN, Ressler KJ, Binder EB: DNA extracted from saliva for methylation studies of psychiatric traits: evidence tissue specificity and relatedness to brain. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 168B : 36–44, 2015.
174. Davies MN, Volta M, Pidsley R, Lunnon K, Dixit A, Lovestone S, Coarfa C, Harris RA, Milosavljevic A, Troakes C, Al-Sarraj S, Dobson R, Schalkwyk LC, Mill J: Functional annotation of the human brain methylome identifies tissue-specific epigenetic variation across brain and blood. *Genome Biol* 13 : R43, 2012.
175. Portales-Casamar E, Lussier AA, Jones MJ, MacIsaac JL, Edgar RD, Mah SM, Barhdadi A, Provost S, Lemieux-Perreault LP, Cynader MS, Chudley AE, Dube MP, Reynolds JN, Pavlidis P, Kobor MS: DNA methylation signature of human fetal alcohol spectrum disorder. *Epigenetics Chromatin* 9 : 25, 2016.
176. Weissman MM, Bland RC, Canino GJ, Greenwald S, Hwu HG, Joyce PR, Karam EG, Lee CK, Lellouch J, Lepine JP, Newman SC, Rubio-Stipec M, Wells JE, Wickramaratne PJ, Wittchen HU, Yeh EK: Prevalence of suicide ideation and suicide attempts in nine countries. *Psychol Med* 29 : 9–17, 1999.
177. Bakhireva LN, Savage DD: Focus on: biomarkers of fetal alcohol exposure and fetal alcohol effects. *Alcohol Res Health* 34 : 56–63, 2011.
178. Peterson J, Kirchner HL, Xue W, Minnes S, Singer LT, Bearer CF: Fatty acid ethyl esters in meconium are associated with poorer neurodevelopmental outcomes to two years of age. *J Pediatr* 152 : 788–792, 2008.
179. Moore EM, Migliorini R, Infante MA, Riley EP: Fetal alcohol spectrum disorders: recent neuroimaging findings. *Curr Dev Disord Rep* 1 : 161–172, 2014.
180. Rasetti R, Weinberger DR: Intermediate phenotypes in psychiatric disorders. *Curr Opin Genet Dev* 21 : 340–348, 2011.
181. Lenzenweger MF: Thinking clearly about the endophenotype-intermediate phenotype-biomarker distinctions in developmental psychopathology research. *Dev Psychopathol* 25 : 1347–1357, 2013.
182. Meyer-Lindenberg A, Weinberger DR: Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 7 : 818–827, 2006.
183. Orelund L, Lagravinese G, Toffoletto S, Nilsson KW, Harro J, Robert Cloninger C, Comasco E: Personality as an intermediate phenotype for genetic dissection of alcohol use disorder. *J Neural Transm*, 2017. [Epub ahead of print] <https://doi.org/10.1007/s00702-016-1672-9>.