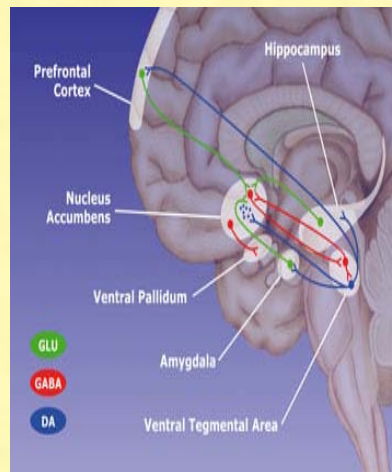


ДНК-диагностика генетического риска развития наркологических заболеваний: результаты ретроспективного фармакогенетического исследования

Кибитов А.О.



Москва 2011

Генетика наркологических заболеваний

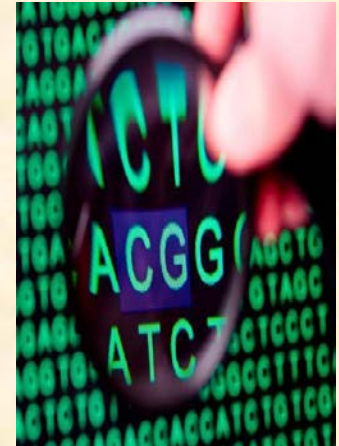
- Потребление ПАВ - необходимое, но не достаточное условие для возникновения зависимости, большое значение имеют индивидуальные биологические, а также личностные и социальные особенности больного.
- Медицинская генетика: зависимость от ПАВ относят к обширному классу болезней с наследственным предрасположением, для которых характерны прогрессивность течения, ремиттирующий характер и нарастание тяжести симптоматики с возрастом больного.
- Данные классической медицинской генетики (семейные исследования, близнецовый метод, метод приемных детей): вклад наследственных факторов в развитие зависимости от ПАВ составляет 40-70%. (Goodwin D.W.1984, Crabbe J.C.,1985).
- С учетом того, что черты личности и характера индивидуума, а также уровни социального функционирования в значительной мере контролируются генетически, роль генетических факторов еще более возрастает и приобретает критическое значение для конкретного человека.

Концепция генетического риска

- Биологическая (генетическая) предрасположенность к зависимости от психоактивных веществ (ПАВ) наследуется и закреплена генетически.
- Среди населения существует категория лиц с врожденной предрасположенностью к развитию наркологических заболеваний - группа высокого индивидуального генетического риска развития болезней зависимости (до 11-15% популяции по разным оценкам).
- Начиная употребление ПАВ, такие индивидуумы очень быстро заболевают и относятся к категории тяжелых больных, часто резистентны к стандартной патогенетической терапии, течение зависимости у них, как правило, безремиссионное с быстрым и неблагоприятным исходом.
- Выявление таких лиц, в том числе методами молекулярно-генетической диагностики, и проведение среди них соответствующих профилактических мероприятий может значительно снизить заболеваемость наркоманиями и алкоголизмом.

Генетический риск и ДНК-диагностика

- Генетический риск- вероятность развития заболевания, обусловленная генетическими факторами.
- Уровень риска- категориальная (ранговая, квазиколичественная) оценка вероятности развития заболевания.
- Генетические маркеры риска- варианты структуры ДНК, носительство которых увеличивает вероятность развития заболевания.
- Реализация риска- возможна при совместном действии генетических, личностных и социальных факторов (мультифакториальность).
- ДНК-диагностика- диагностические тесты и мероприятия, основанные на анализе ДНК индивидуума. В том числе выявление генетических маркеров риска.
- Диагностика признаков генетической предрасположенности к зависимости от ПАВ на самом раннем этапе развития болезни или до начала заболевания, является основной задачей медико-генетического консультирования в наркологии.



Оценка генетического риска: генопрофилирование

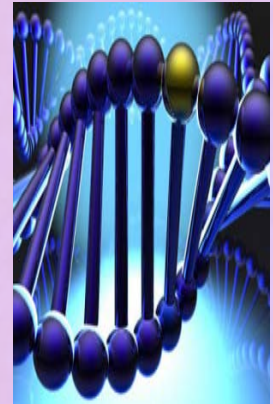
- Сочетание полигенного характера и мультифакториальности болезней зависимости делают методически неверным поиск единственного или главного «гена зависимости»
- Риск развития зависимости от ПАВ является следствием влияния значительного числа генов, каждый из которых вносит свою долю в суммарный риск. Многие из генов-кандидатов, были первоначально постулированы на основе экспериментальных данных.



- В лаборатории молекулярной генетики ННЦ наркологии разработана и развивается концепция молекулярно-генетического профиля (генопрофиля) зависимости от ПАВ, как совокупности полиморфных генетических детерминант (маркеров), наиболее полно описывающих состояние зависимости от ПАВ (Кибитов А.О. Наркология.- 2011- № 9, с.25-42).
- В качестве элементов генопрофиля используются полиморфные маркеры генов системы ДОФАМИНА-основного нейрхимического субстрата этиопатогенеза болезней зависимости от ПАВ (Анохина И.П. 1979-2008).

Молекулярно-генетический профиль (генопрофиль, генотипический полигенный профиль)

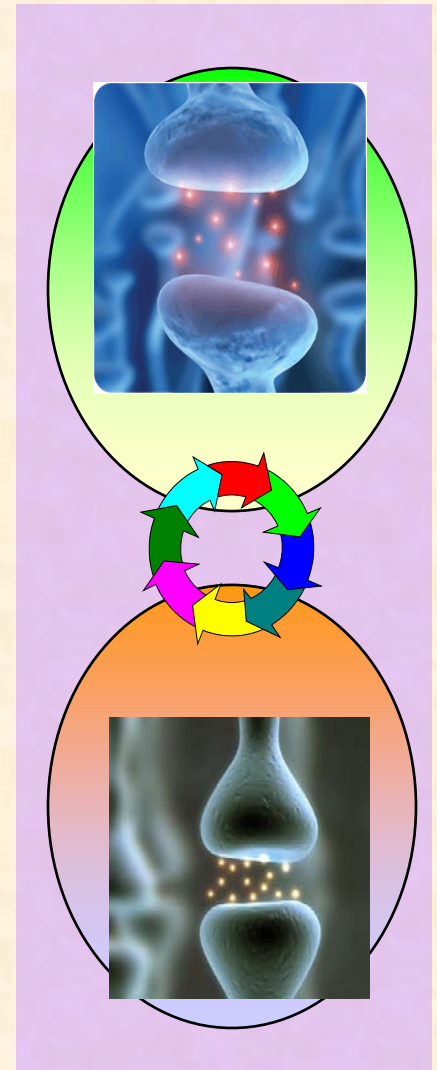
- Генопрофиль: система взаимосвязанных генетических детерминант, совокупность вариантов которых наиболее полно характеризует полигенное заболевание.
- Элементы генопрофиля: полиморфные варианты аллелей, генотипов, гаплотипов по генам, вовлеченным в этиопатогенез заболевания.
- Полиморфизм гена - наличие в гене вариабельных (полиморфных) участков, структура которых различна в популяции и существует в нескольких вариантах. ПРИМЕР: DBH 444 A->G.
- Аллель-вариант последовательности нуклеотидов (один нуклеотид-SNP, несколько-STR, VNTR) на одной из хромосом. ПРИМЕР: аллель A
- Генотип- сочетание аллелей двух хромосом индивидуума. ПРИМЕР: генотип AA(либо- AG,либо-GG) по локусу DBH 444 A->G.
- Гаплотип- сочетание генотипов сразу по нескольким полиморфным локусам одного гена. ПРИМЕР: гаплотип по локусам DBH 444 A->G и -1021 C->T: (AG;CT)



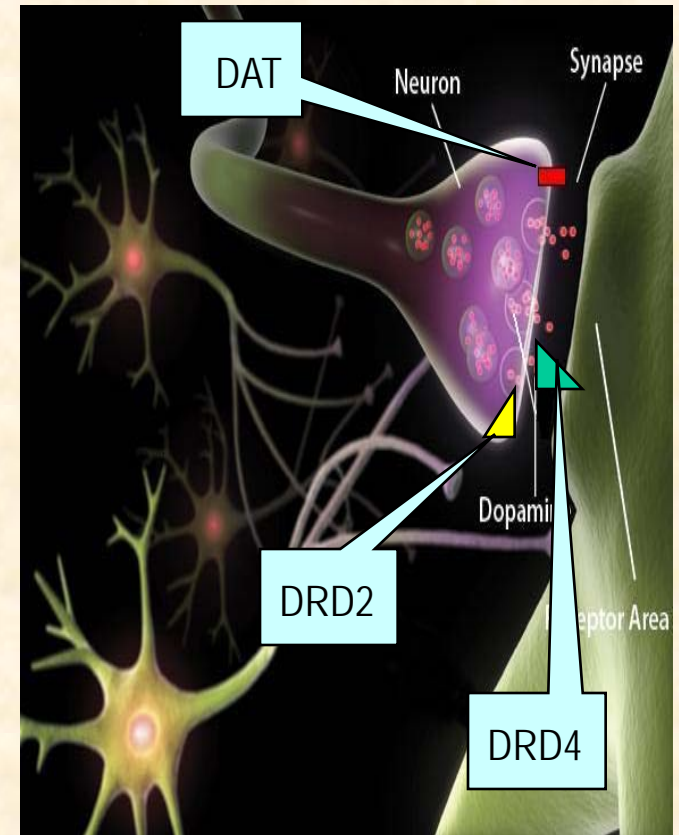
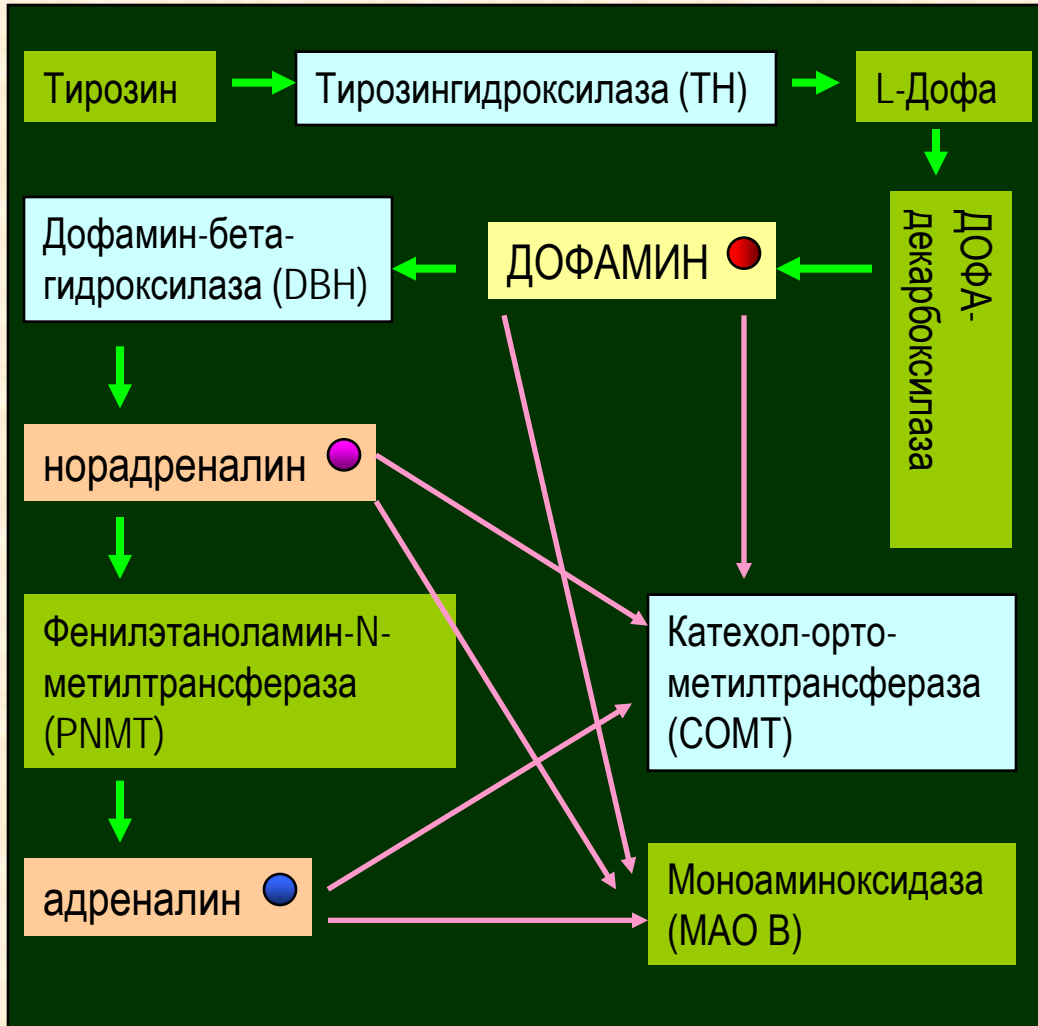
Принципы построения генопрофиля

В нашем исследовании мы включили в генопрофиль шесть основных генов, контролирующих центральную дофаминовую нейромедиацию на нескольких уровнях или звеньях:

- Пресинаптическое рецепторное звено: ген дофаминового рецептора типа 2 (DRD2)
- Постсинаптическое рецепторное звено: ген дофаминового рецептора типа 4 (DRD4)
- Звено синаптического транспорта: ген белка-переносчика дофамина (DAT)
- Биосинтетическое звено: ген фермента тирозингидроксилазы (TH)
- Метаболические звенья: основное - ген фермента дофамин-бета-гидроксилазы (DBH) и дополнительное-ген фермента катехол-орто-метилтрансферазы (COMT).



Дофаминэргическая нейротрансмиссерная система и элементы генопрофиля



Элементы генопрофиля

Базовая гипотеза исследования

- Предрасположенность к зависимости от ПАВ - генетически детерминированный и латентно существующий в популяции комплекс особенностей нейрохимических систем мозга, обеспечивающий при употреблении ПАВ быстрое и развернутое развитие зависимости.
- Предрасположенность проявляется на уровне генома в виде определенных структурных, а, следовательно, и функциональных, особенностей генов, контролирующих дофаминовую нейромедиацию: элементов **специфического молекулярно-генетического профиля (генопрофиля) ДА системы**
- В случае связи генопрофиля с генетической предрасположенностью к болезням зависимости, будет наблюдаться накопление либо элиминация определенных аллелей, генотипов и гаплотипов (элементов генопрофиля-полиморфных локусов) в группах больных наркологическими заболеваниями по сравнению с контрольной группой здоровых лиц.
- В этом случае будет возможным построение молекулярно-генетического профиля болезней зависимости от ПАВ с использованием выявленных элементов. Если выявленные варианты полиморфизма являются патогенетическими маркерами предрасположенности, то сдвиги частот их встречаемости, возможно, окажутся близкими для больных, страдающих зависимостью от разных видов ПАВ, что подтвердит единство этиопатогенеза болезней зависимости.

Ассоциативный метод

- Одним из инструментов генетики полигенных заболеваний (клинической молекулярной генетики болезней предрасположения и, в частности, болезни зависимости от ПАВ), является метод ассоциативных исследований.
- Метод направлен на поиск статистически достоверных различий между частотами встречаемости того или иного варианта полиморфизма в выборках больных по сравнению с контрольной выборкой здоровых субъектов, а также между группами больных с различными клиническим фенотипами заболевания. Выявление подобных различий подтверждает возможную взаимосвязь (или ассоциацию), между определенным видом полиморфизма и заболеванием.
- Ассоциативные исследования взаимосвязи полиморфизма генов DA системы и болезней зависимости от ПАВ привели к противоречивым результатам. Причинами расхождения данных считаются существенные методологические проблемы.

Методологические проблемы

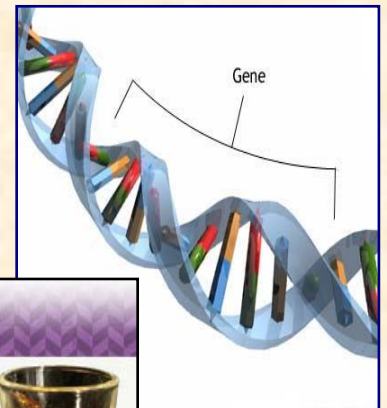
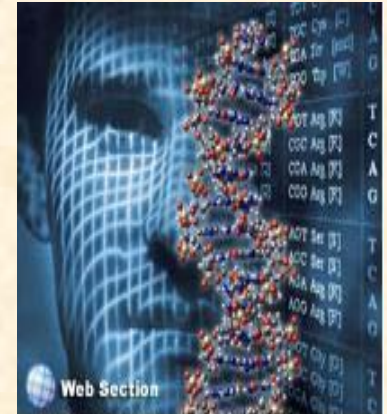
- Объем выборок. Применяемые статистические методы диктуют необходимость набора значительных выборок. Показано, что для достоверной оценки разницы частот встречаемости полиморфных вариантов в 10-15% необходимо сравнение групп с численностью не менее 200-300 человек (Berggren U., et al.2006), а малые группы генерируют случайные результаты, как ложно положительные, так и ложно отрицательные.
- Стратификация популяций и выборок. Стратификация (расслоение, разделение)-эффект, возникающий при наличии сдвига частот изучаемого локуса у разных рас или этнических групп, а также в зависимости от пола. Необходим максимально строгий контроль этнической гомогенности выборок во избежание систематической ошибки. Не контролируемая стратификация по полу может внести вклад в гетерогенность результатов ассоциативных исследований алкоголизма и других видов зависимости от ПАВ (Wodarz N et al..2003). Ряд полиморфизмов генов ДА системы имеет различную частоту у мужчин и женщин в пределах одной этнической группы и эффекты этих вариантов реализуются совершенно различно (Barker JM et al., 2010).

Методологические проблемы

- Максимальная диагностическая гомогенность групп. Наиболее важным представляется клиническая дифференциация выборок: при наборе групп больных часто смешивают употребление, злоупотребление и зависимость, в одной когорте оказываются как относительно легкие амбулаторные, так и тяжелые стационарные больные.
- Несмотря на значительный объем доказательств единства этиопатогенеза зависимости от разных видов ПАВ, алкоголизм и наркомания в ассоциативных исследованиях практически повсеместно рассматриваются отдельно и, часто нет возможности оценки степени сходства/различий этих больных по частотам полиморфных локусов.
- **В нашем исследовании мы постарались мы попытались преодолеть эти ограничения путем набора выборки достаточно большого объема, тщательного контроля этнической однородности, ограничения исследования лицами славянской этнической принадлежности (русскими), ограничения участников исследования мужским полом, включения в исследование только стационарных наркологических больных, параллельного сравнительного анализа больных алкоголизмом и героиновой наркоманией.**

Болезни зависимости от ПАВ как фармакогенетические заболевания

- Фармакогенетика- раздел медицинской генетики, изучающий генетически обусловленные эффекты фармакологических препаратов.
- С фармакогенетических позиций (Correia CT et al., 2010; Brousse G et al., 2010; Hutchison KE et al., 2010) состояние химической зависимости можно описать как своеобразную, генетически обусловленную патологическую реакцию организма, прежде всего нервной системы, на осознанное, регулируемое индивидом самостоятельно, употребление фармакологического агента – ПАВ.
- В этом случае, факт формирования и клинические проявления болезней зависимости правомерно рассматривать как фармакогенетический феномен, а болезни зависимости как **«фармакогенетические заболевания»**.



ЦЕЛЬ и задачи исследования

- ЦЕЛЬ: построение и сравнительный анализ молекулярно-генетического профиля ДА системы (генопрофиля) у больных алкоголизмом и героиновой наркоманией, верификация построения генопрофиля и оценка диагностической эффективности генопрофиля и его элементов.
- Задачи:
- Сформировать генопрофиль на основании теоретических представлений
- Провести сравнительный анализ частот встречаемости элементов генопрофиля между здоровыми (контроль) и больными (диагностические когорты АЛКОГОЛИЗМ и ГЕРОИНОВАЯ НАРКОМАНИЯ)
- Провести сравнительный анализ частот встречаемости элементов генопрофиля между диагностическими когортами АЛКОГОЛИЗМ и ГЕРОИНОВАЯ НАРКОМАНИЯ)

Характеристики и дизайн исследования

- ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ:
- фармакогенетическое ретроспективное сравнительное: изучается эффект воздействия ПАВ на популяционную выборку с двумя вариантами исхода: эффект негативный-развитие зависимости (две когорты пациентов), эффект нейтральный-зависимость не сформировалась (когорта здоровых).
- Ассоциативное типа «случай-контроль» (case-control)
- ДИЗАЙН исследования. Согласно целей исследования, проводилось генотипирование всех участников исследования по 10 полиморфным локусам 6 генов DA системы, включенным в генопрофиль. По результатам генотипирования были рассчитаны частоты аллелей, генотипов и гаплотипов и проведен сравнительный анализ их частот встречаемости между каждой диагностической когортой и контрольной группой, а также между двумя диагностическими когортами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

- ГРУППЫ СРАВНЕНИЯ: В исследовании принимали участие мужчины, этнические русские, не родственные между собой,
- Стационарные пациенты Клиники ННЦ наркологии составили две диагностические когорты: **«алкоголизм»** (448 пациентов с диагнозом "зависимость от алкоголя" 2-3 стадии (F-10.2 по МКБ-10), средний возраст - $37,5 \pm 6,2$ лет) и **«опийная (героиновая) наркомания»** (255 пациента с диагнозом «Зависимость от опиатов (героин)» (F-11.2 по МКБ-10), средний возраст - $27,3 \pm 4,4$ года). Пациенты с верифицированной психопатологией (шизофрения, эндогенные депрессивные расстройства, суицидальные попытки) были исключены из исследования.
- Контрольную группу составили 281 доброволец мужского пола (средний возраст $38,5 \pm 7,2$ лет), не имеющие диагностических признаков наркологической патологии.
- Набор участников диагностических групп и контрольной группы производился в период 2000-2009 гг. Все участники исследования дали информированное согласие на забор крови для генотипирования, исследование одобрено локальным этическим комитетом ННЦ наркологии.
- Большинство участников исследования были жителями г. Москвы и Московской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

- Контроль этнической гомогенности проводили в процессе опроса и по результатам анализа фамилий, имен и отчеств участников.
- Образцы ДНК, полученных из венозной крови, генотипировали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим рестрикционным анализом.
- Статистическая обработка: в качестве анализируемых показателей использовали частоты встречаемости аллелей, генотипов и гаплотипов по полиморфным локусам изученных генов в контрольной группе и диагностических когортах пациентов. Для выявления различий частот использовалась статистика χ^2 с доверительным интервалом 5%. Различия признавались достоверными при итоговых значениях $P < 0,05$. Относительный риск (отношение шансов, OR, odds ratio) при сравнении групп оценивали как вероятность попадания носителя того или иного аллеля /генотипа /гаплотипа в одну из групп сравнения с 95% доверительным интервалом (CI 95%).

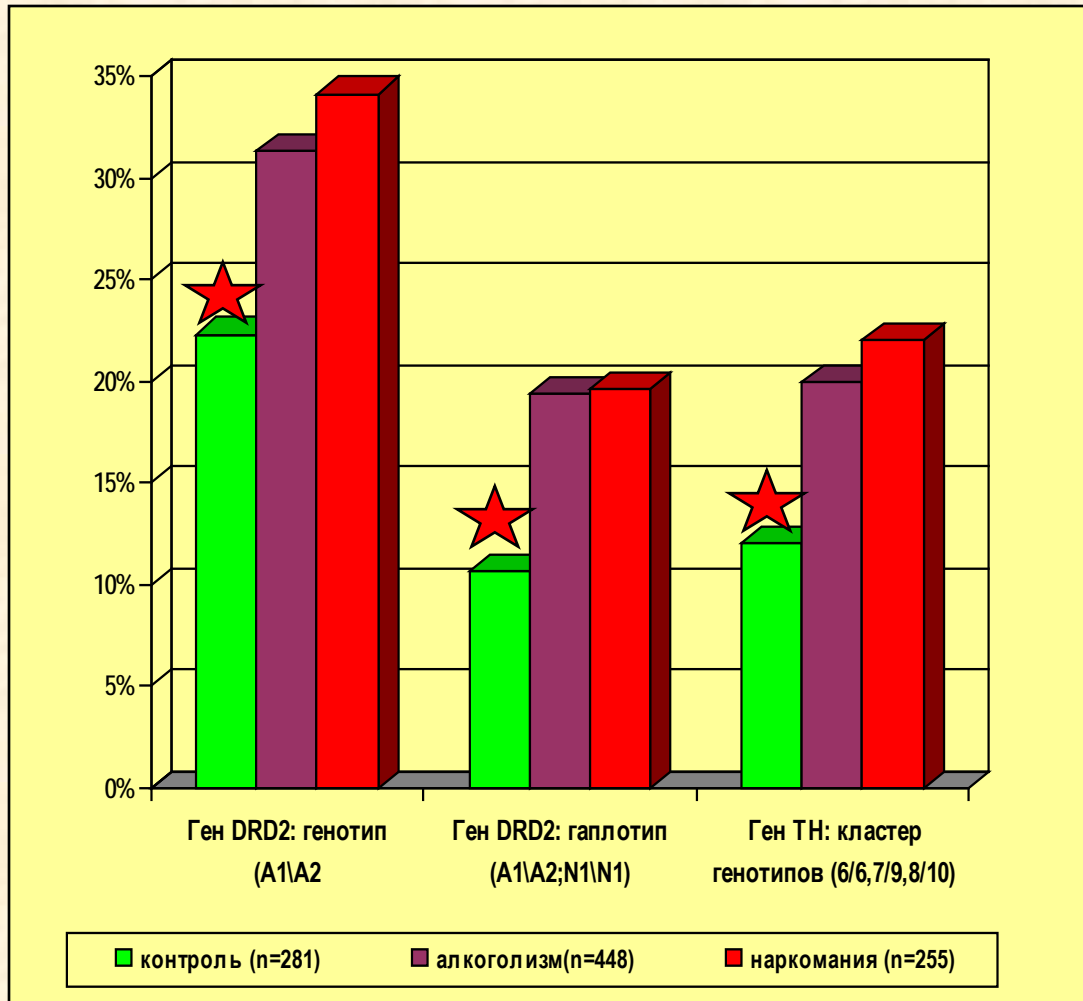
Характеристика элементов генопрофиля ДА системы

Ген, локус	Локализация, тип полиморфизма	Полиморфные аллели
Дофаминовый рецептор типа 2		
DRD2 11q23	SNP в 3'-области	A1,A2
	SNP в экзоне 6\7	N1, N2
Дофаминовый рецептор типа 4		
DRD4 11p15.5	VNTR: 48 н.п повторы в экзоне 3	A2-A11
	VNTR: 120 н.п. повторы в 5'-области	S -1 повтор, L - 2 повтора
Переносчик (транспортер)дофамина		
SLC6A3 (DAT1) 5p15.3	VNTR: 40 н.п. повторы в 3' - области гена.	A7-A11
	SNP в 3' - области :Замена С/Т	С, Т
Дофамин-бета-гидроксилаза		
DBH 9q34	SNP в экзоне 2 гена, 444 А->G	А,G
	SNP в 5'-области , -1021С->Т	С,Т
Катехол-орто-метилтрансфераза		
COMT 22q11.2	SNP в экзоне 3 (gtg->atg)	L (метионин), H (Валин)
Тирозингидроксилаза		
TH 11p15.5	VNTR: 4 н.п повторы в интроне 1	A6-A11

Результаты

- Ген DRD2.
- Выявлены идентичные изменения в диагностических когортах больных, нет различий между когортами: Таq генотип (A1/A2), Таq+NcO гаплотип (A1/A2;N1/N1). Для носителей генотипа (A1/A2) относительный риск алкоголизма (вероятность попасть в группу больных) составляет 1,58 , наркомании- 1,8. Для носителей гаплотипа (A1/A2;N1/N1) значения относительного риска практически одинаковы (для алкоголизма-1,95, для наркомании -1,93). Частота встречаемости генотипа одинакова в группах больных (31% алкоголизм, 34%-наркомания), гаплотипа-(19,7% -наркомания, 19,4%-алкоголизм) и идентична в обеих когортах.
- Ген TH.
- Выявлены идентичные изменения в диагностических когортах больных, нет различий между когортами: кластер генотипов (6/6;7/9;8/10). Для носителей любого из генотипов кластера относительный риск составляет: для алкоголизма - 1,88, для наркомании-2,08. Частота встречаемости кластера генотипов - 20% для алкоголизма, 22% для наркомании.
- Выявленные варианты полиморфизма можно считать достоверными универсальными генетическими маркерами зависимости от ПАВ.

Базовые универсальные генетические маркеры



★ Ген DRD2 Таq генотип (A1/A2)

A: P=0,027; OR=1,58 [CI 95% 1,09; 2,28]

H: P =0,008; OR=1,8 [CI 95% 1,2; 2,69]

★ Ген DRD2 гаплотип (A1/A2; N1/N1)

A: P=0,009; OR=1,95 [CI 95% 1,22; 3,14].

H: P =0,004; OR=1,93 [CI 95% 1,28; 2,91].

★ Ген TH кластер генотипов

(6/6+7/9+8/10)

A: P=0,009, OR=1,88[CI95% 1,23;2,89]).

H:P=0,005, OR=2,08[CI95% 1,31;3,32

Результаты

- Ген DRD4. Выявлены близкие, но не идентичные изменения в когортах больных по частотам кластеров аллелей и генотипов, значительные различия между когортами. **Модифицирующий характер маркера.**
- Ген DAT. Выявлены изменения на уровне тренда только в когорте больных алкоголизмом (аллель A9, генотип (9/10), гаплотип (9/10;CT), хотя достоверных различий между когортами нет. Вероятно, **специфичный маркер алкоголизма.**
- Ген DBH. Выявлены изменения только в когорте больных наркоманией по локусу (-1021): повышена частота аллеля C (OR=1,66), снижение частоты гаплотипа TT (OR=3,65). Имеются различия **между когортами. Вероятно, специфичный маркер наркомании.**
- Ген COMT. Выявлены изменения на уровне тренда только в когорте больных алкоголизмом, хотя достоверных различий между когортами нет. Вероятно, **специфичный, но слабый, маркер алкоголизма.**

Базовый генопрофиль болезней зависимости от ПАВ

	Сравнения с контрольной группой				между когортами	
	Алкоголизм	OR	Наркомания	OR	A vs H	OR
DRD2						
Тaq аллель	-		-		-	
Тaq генотип	A1/A2	1,58	A1/A2	1,8	-	
НсО аллель	-		-		-	
НсО генотип	-		-		-	
Тaq+НсО гаплотип	A1/A2;N1/N1	1,95	A1/A2;N1/N1	1,93	-	
DRD4						
V48 аллель	(A4,A7,A8)	1,46	(A2,A4,A7)	2,0	(A5,A6,A8)	2,37
V48 генотип	-(2/2,2/4,3/4)	1,68	-(3/4,4/8)	2,55	-(2/4)	1,76
V120 аллель	-		S	1,52	L	1,57
V120 генотип	-		-		-(SS)	5,58
V48+V120 гаплотип	-		-		(2/7;SL+3/4;LL+4/7;LL + 4/8;LL)	2,11
DAT						
V40 аллель	A9	тренд	-		-	
V40 генотип	9/10	тренд	-		-	
Msp аллель	-		-		-	
Msp генотип	-		-		-	
V40+Msp гаплотип	9/10;CT	тренд	-		-	

Базовый генопрофиль болезней зависимости от ПАВ (продолжение)

	Сравнения с контрольной группой				между когортами	
	Алкоголизм	OR	Наркомания	OR	A vs H	OR
DBH						
444 аллель	-		-		-	
444 генотип	-		-		-	
-1021 аллель	-		C	1,66	-C	1,84
-1021 генотип	-		-(TT)	3,65	-CC	1,82
444+(-1021) гаплотип	-		-		-	
COMT						
Val/Met аллель	-	-	-		-	
Val/Met генотип	LL	тренд	-		-	
TH						
HUMTH01 VNTR аллель	-		-		-	
HUMTH01 VNTR генотип	(6/6,7/9,8/10)	1,88	(6/6,7/9,8/10)	2,08	-	

ВЫВОДЫ

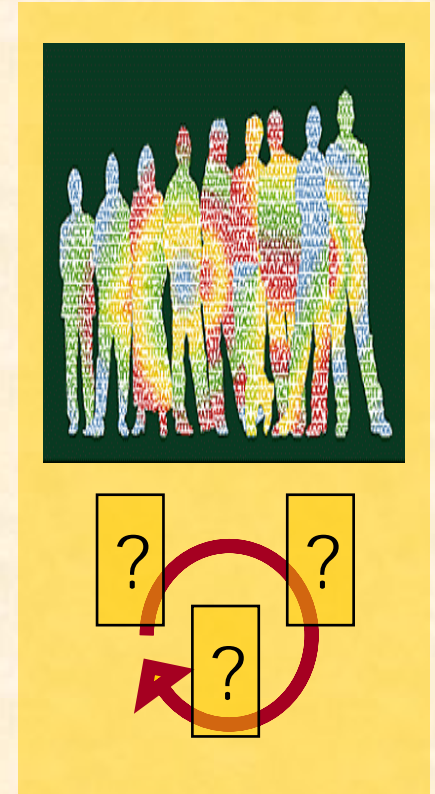
- Построенный нами на основании теоретических представлений генопрофиль болезней зависимости оказался эффективным инструментом молекулярно-генетической диагностики риска зависимости от ПАВ, все элементы генопрофиля оказались связаны с болезнями зависимости, хотя и в разной степени.
- Результаты нашего исследования подтвердили правильность выбора элементов и подчеркивают ведущую роль ДА нейромедиаторной системы в формировании состояния зависимости от ПАВ. Два элемента генопрофиля - полиморфные локусы генов дофаминового рецептора типа 2 (DRD2) и фермента тирозингидроксилазы (TH) проявили универсальность и идентичность для алкоголизма и героиновой наркомании, отдельные элементы генопрофиля сообщают диагностическую специфичность оценке генетического риска.
- Учитывая ведущую роль продуктов этих генов в регуляции ДА системы мозга и в предполагаемых нейрхимических механизмах развития зависимости от ПАВ, можно считать этот факт прямым доказательством существования единого патогенетического механизма наркологических заболеваний.
- Все это делает возможным успешное применение генопрофиля в качестве диагностической системы для оценки как общего, так и специфического (отдельно алкоголизма и героиновой наркомании) генетического риска.

Ограничения исследования

- Ограничение мужским полом:
- наше исследование было сознательно ограничено мужским полом участников, прежде всего в силу большей поражаемости мужского пола наркологическими заболеваниями. Кроме того, характер влияния в системе «гены-личностные факторы-характер и темперамент-подверженность психическим (в т.ч.наркологическим) заболеваниям» не одинакова для мужского и женского пола.
- Ограниченное число генов:
- При построении генопрофиля мы использовали наиболее доказанные и подтвержденные теоретические представления о механизмах этиопатогенеза болезней зависимости от ПАВ. В качестве элементов генопрофиля рассматривались гены и их полиморфные варианты, в наибольшей степени вовлеченные в обеспечение функционирования ДА системы мозга. В тоже время, существует ряд гипотез о значительном, хотя и скорее модулирующем, влиянии других нейрхимических систем и генов, их контролирующих (эндогенные опиоиды, ГАМК, норадреналин, серотонин и т.д.). Изучение этих систем и включение генов контроля над ними в генопрофиль болезней зависимости может быть предметом будущих исследований.

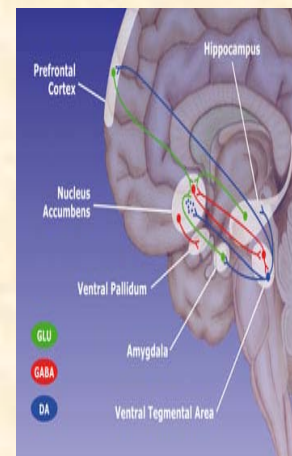
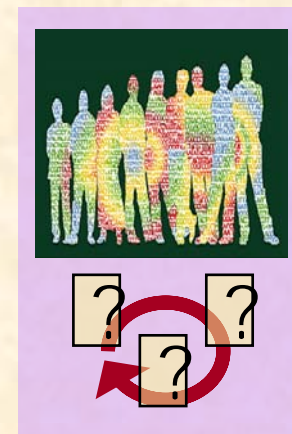
Практическое применение генопрофилирования

- В рамках медико-генетического консультирования необходимо проводить прямое изучение элементов генопрофиля болезней зависимости у конкретного индивидуума- генопрофилирование.
- Генопрофилирование, проводимое в целях ДНК-диагностики, позволяет оценить уровень генетического риска развития заболевания и вклад различных вариантов структуры генов (локусов полиморфизма) в формирование заболевания.
- По результатам генопрофилирования возможна ранговая (квазиколичественная) оценка генетического риска развития зависимости от ПАВ путем построения и анализа индивидуального генопрофиля (ИГП).
- Сравнение ИГП с общим, статистическим генопрофилем зависимости от ПАВ дает возможность оценить индивидуальный генетический риск развития нарколологических заболеваний.





- **ЦЕЛИ и ЗАДАЧИ**
- Верификация и проверка валидности предложенной системы оценки генетического риска
- Изучение характера и распределения уровней (степеней) генетического риска у стационарных наркологических больных
- Изучение связи уровней генетического риска с анамнестическими и клиническими характеристиками больных
- Оценка влияния уровня генетического риска у конкретного больного на клиническую картину заболевания и эффективность комплексной терапии
- **ПЕРСПЕКТИВА: разработка терапевтических программ, специфичных и максимально эффективных для разных уровней генетического риска.**



Массив пациентов и источники данных

- Пациенты, госпитализированные в Клинику ФГУ «ННЦ наркологии» за период июнь-июль 2011г*. Всего: **199 человек, из них 37(18,59%)-женщины.**
- ДИАГНОЗЫ:
- Зависимость от алкоголя 2-3 стадии (F-10.2 по МКБ-10): 157 (78,89%)
- Зависимость от прочих ПАВ (опиаты, каннабиноиды, стимуляторы)-42 (21,11%).
- Анамнестические и клинические данные: анкета пациента (Кибитов А.О., Винникова М.А., 2005-2011гг.)
- Генетические данные: забор венозной крови на генотипирование при поступлении больных.
- Генотипирование (short set): Для генотипирования были выбраны 5 полиморфных локусов 3-х ключевых генов, кодирующих основные элементы ДА системы (дофаминовые рецепторы типов 2 и 4, тирозингидроксилаза). Образцы ДНК, полученные из венозной крови, генотипировали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим рестрикционным анализом.

*- проект предполагает включение в исследование 100% поступивших больных

- ДИЗАЙН: ДВОЙНОЕ СЛЕПОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ:
- на момент проведения ДНК-диагностики (лаб.молекулярной генетики), данные анамнеза и клинические данные не доступны
- на момент заполнения Анкеты пациента (лечащие врачи Клиники) данные ДНК-диагностики не доступны.
- Уровень 1. ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКА ПАЦИЕНТА (генопрофилирование, ДНК-диагностика)
- Уровень2. Анализ связи данных анамнеза с уровнем генетического риска.(состояние: предварительная оценка)
- Уровень3 .Анализ связи клинических данных и эффективности комплексной терапии с уровнем генетического риска. (состояние: набор данных)

Источник данных: оригинальная «Анкета пациента» (Кибитов А.О., Винникова М.А., 2005-2011гг) с включением количественных шкал (VAS, BDS и проч.). Заполняется лечащим врачом по результатам обследования и лечения больного.

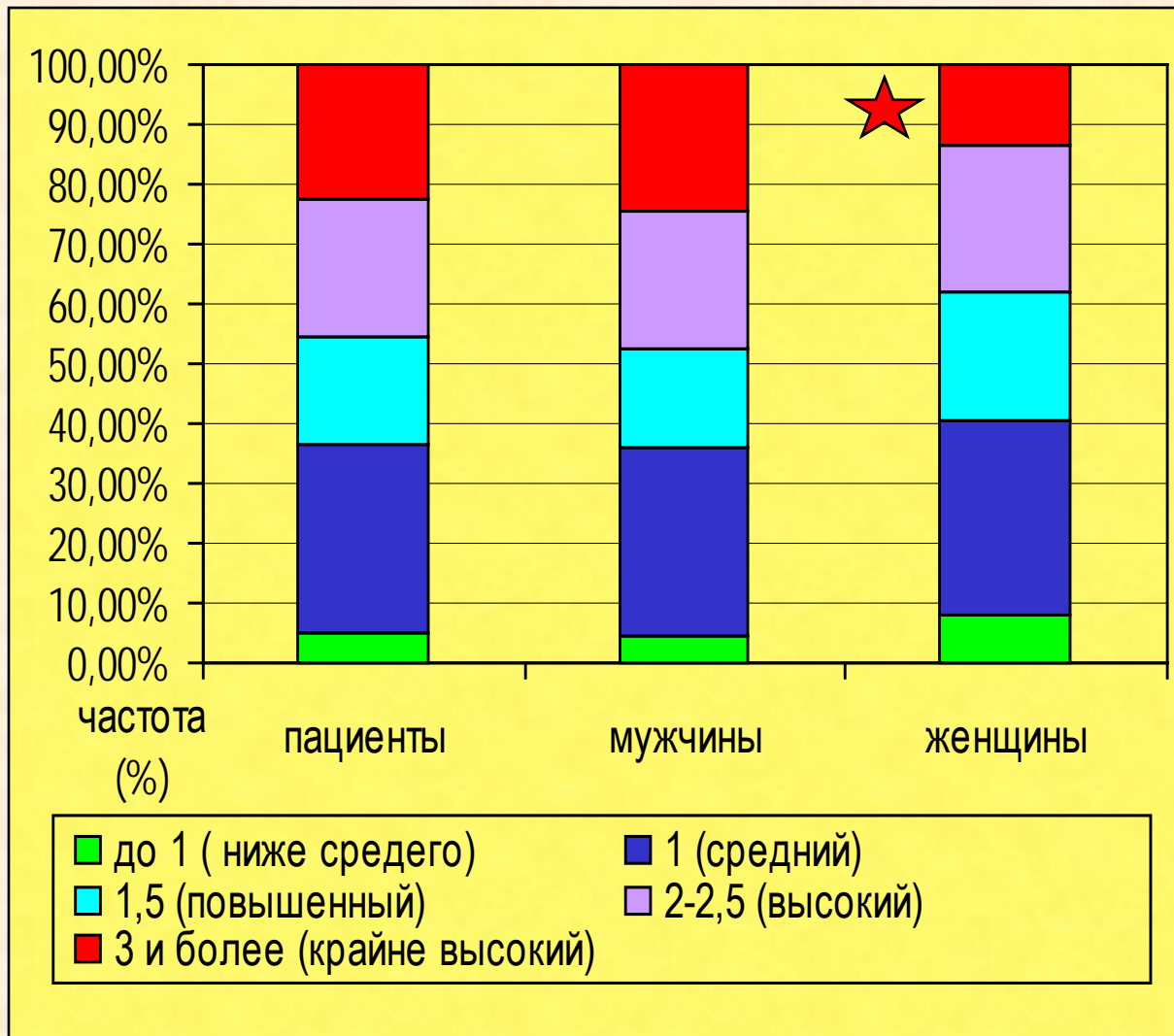
Оценка генетического риска

R – общий генетический риск развития зависимости от ПАВ,
R1- специфический генетический риск алкоголизма,
R2- специфический генетический риск опийной наркомании,
RT – итоговый (результатирующий) балл риска), $RT = R + 0,5 \times (R1 + R2)$.
Расчет итогового балла риска как суммы: баллов общего риска и половина баллов специфического риска.

Оценка уровня риска (RT)	Баллы
Ниже среднего	Менее 1
Средний	1
Повышенный	1,5
Высокий	2-2,5
Крайне высокий	3 и более

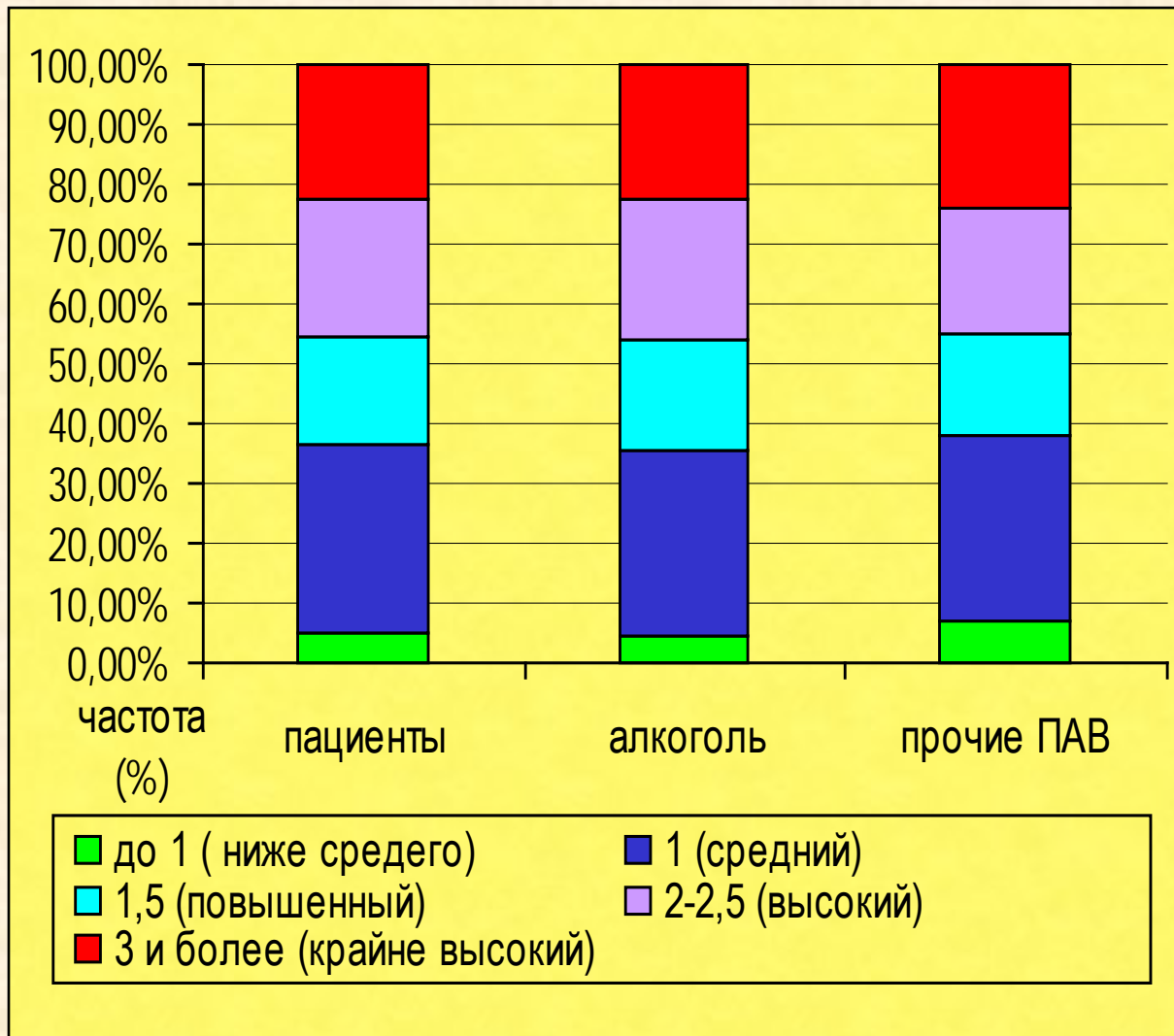
- **МАРКЕРЫ ОБЩЕГО РИСКА:** ген DRD2 (2 локуса) и ген TH
- **МАРКЕРЫ РИСКА АЛКОГОЛИЗМА:** ген DRD4 (1 локус)
- **МАРКЕРЫ РИСКА НАРКОМАНИИ:** ген DRD4 (2 локуса)

Распределение уровней генетического риска в общем массиве пациентов (гендерные различия)



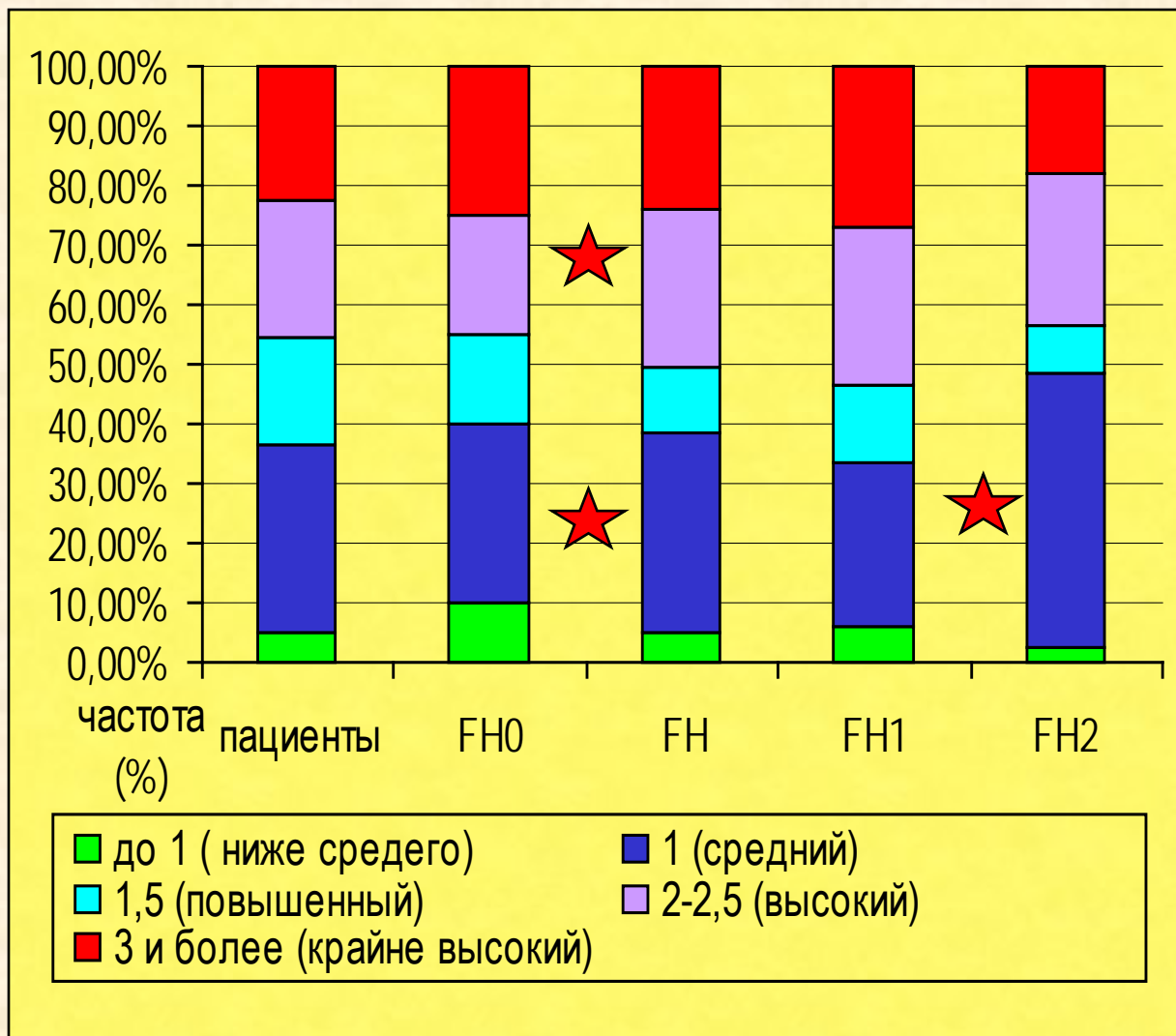
★ У женщин **КРАЙНЕ ВЫСОКИЙ** уровень риска встречается реже. $p=0,027$; $OR=1,38$ [CI 95% 1,07; 2,63].

Распределение уровней генетического риска в общем массиве пациентов (диагнозы)



Распределение уровней риска идентично у больных с разными диагнозами.

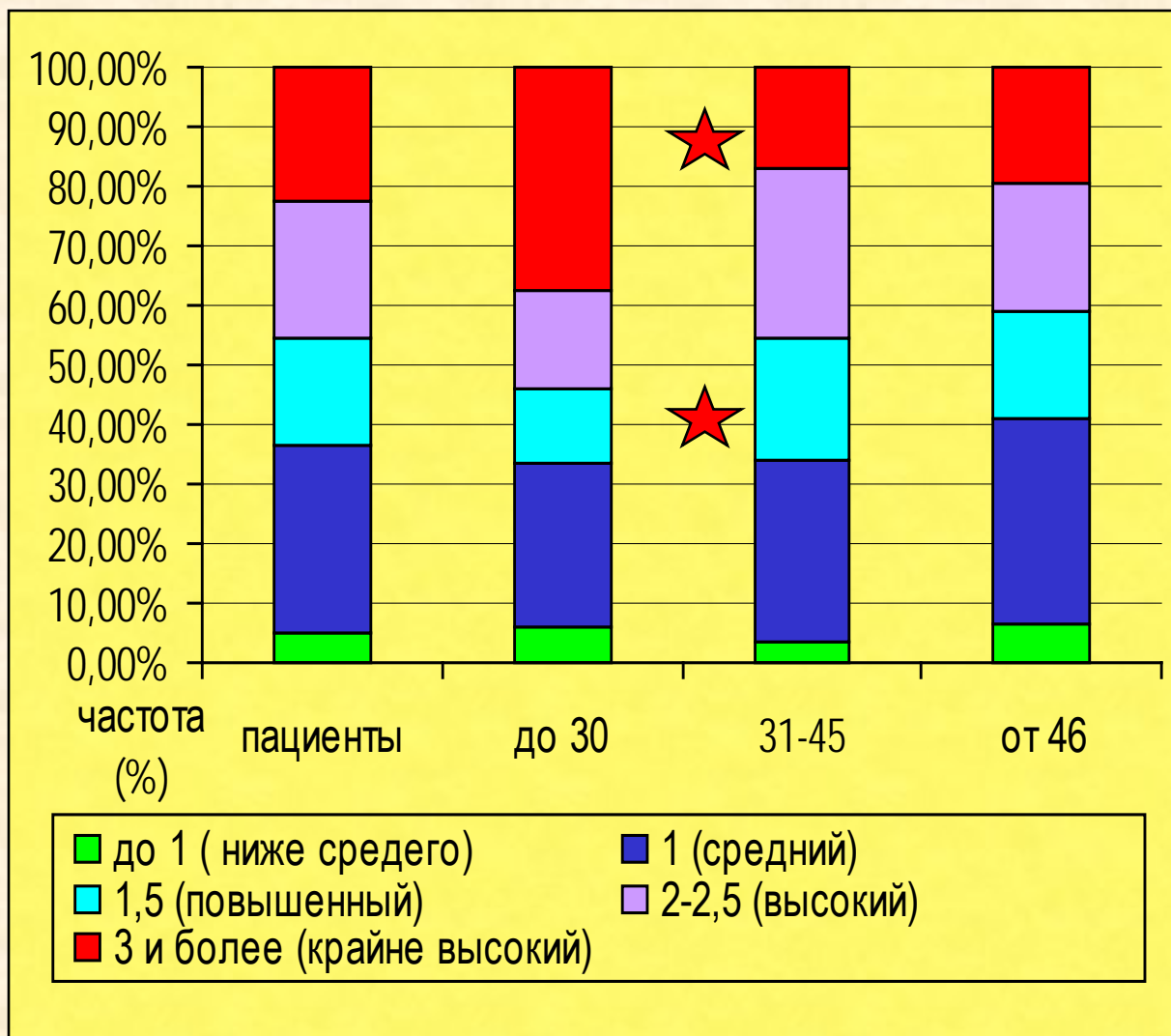
Распределение уровней генетического риска в общем массиве пациентов (семейная отягощенность по наркологическим заболеваниям)



- ★ Наличие отягощенности приводит к увеличению доли ВЫСОКОГО ($p=0,016$) и СРЕДНЕГО ($p = 0,033$) риска.
- ★ Высокая плотность отягощенности (2 и более родственников) приводит к резкому увеличению доли СРЕДНЕГО риска ($p=0,011$) и снижению доли НИЗКОГО риска.

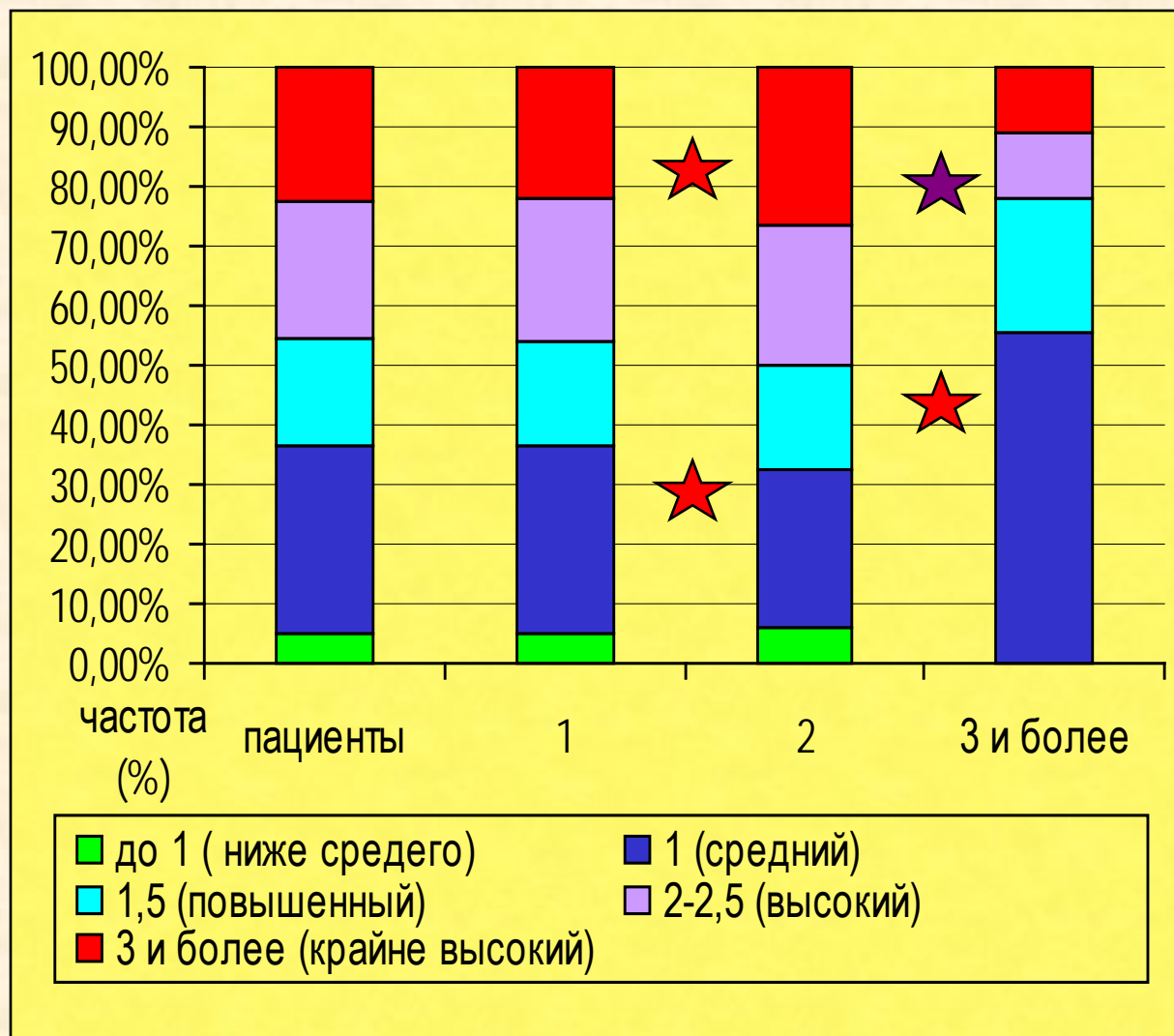
FH0- нет отягощенности
 FH- есть отягощенность
 FH1- средняя степень отягощенности
 FH2- высокая степень отягощенности

Распределение уровней генетического риска в общем массиве пациентов (возраст больных)



У молодых больных высокая доля **КРАЙНЕ ВЫСОКОГО РИСКА** (p=0,006 (средний возраст) и p=0,013 (зрелый возраст) при снижении доли **ПОВЫШЕННОГО РИСКА** (p=0,019 (средний возраст) и p=0,033 (зрелый возраст).

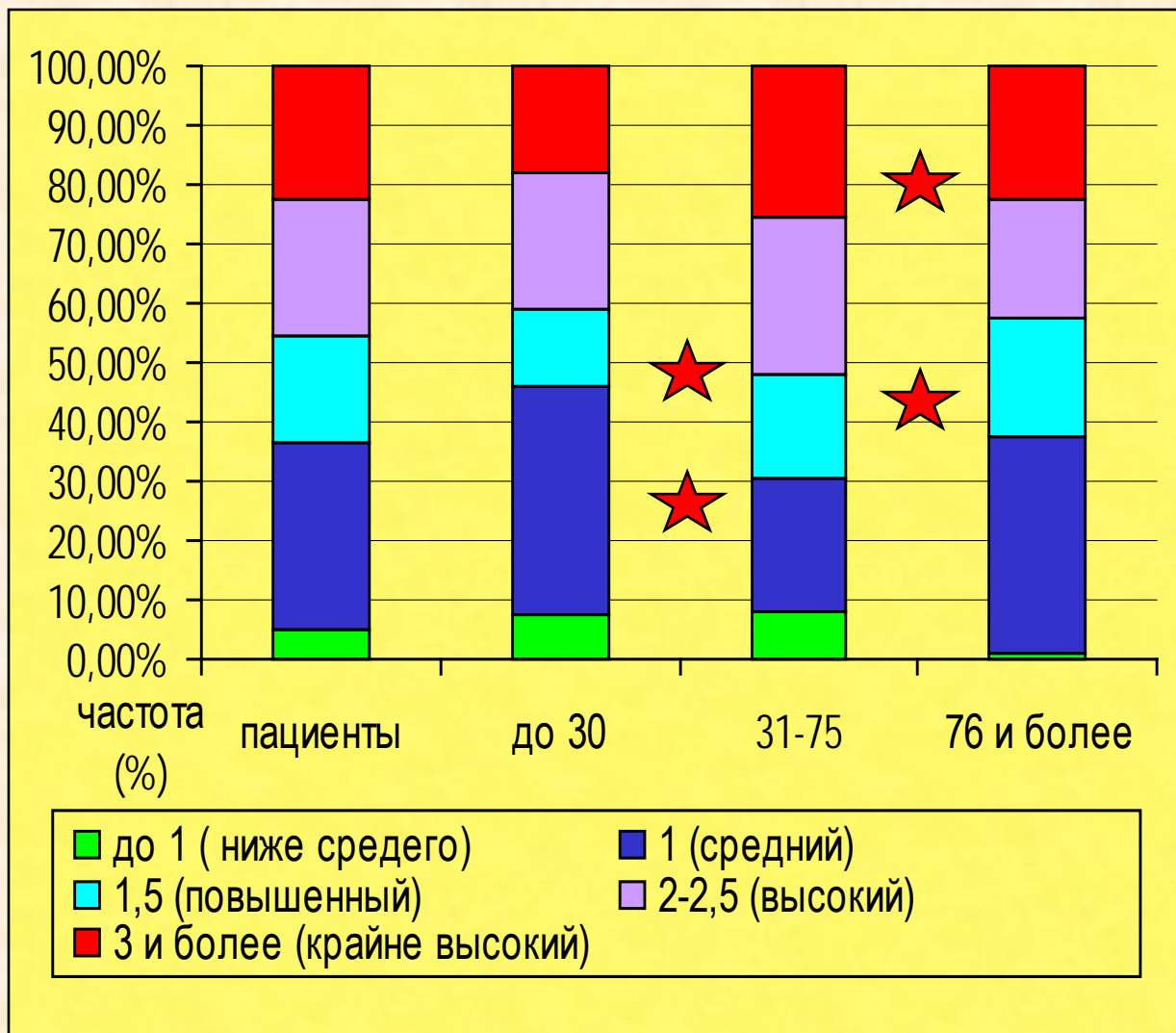
Распределение уровней генетического риска в общем массиве пациентов (сочетанное употребление нескольких ПАВ)



У пациентов, потребляющих 2 вида ПАВ, повышена доля **КРАЙНЕ ВЫСОКОГО РИСКА** ($p=0,026$) и снижена доля **СРЕДНЕГО** риска ($p=0,022$).

У пациентов, потребляющих 3 и более вида ПАВ, максимальная доля **СРЕДНЕГО РИСКА** ($p=0,011$ и $p=0,015$ при снижении долей **ВЫСОКОГО** и **КРАЙНЕ ВЫСОКОГО** риска (тренд)).

Распределение уровней генетического риска в общем массиве пациентов (стартовый балл по шкале VAS)



Рост стартового показателя шкалы VAS пропорционален снижению доли НИЗКОГО РИСКА ($p=0,013$, $p=0,018$), росту доли КРАЙНЕ ВЫСОКОГО РИСКА ($p=0,028$) и ПОВЫШЕННОГО риска ($p=0,032$). СРЕДНИЙ уровень риска связан со СРЕДНИМИ показателями ШКАЛЫ.

Предварительные выводы

- Генопрофилирование как способ оценки генетического риска развития болезней зависимости от ПАВ в рамках ДНК-диагностики успешно **верифицирован** и показал **удовлетворительную валидность**: в двойном слепом исследовании показано, что до 90% стационарных наркологических больных имеют уровень генетического риска не ниже среднего, а до 70%- уровни выше среднего, высокий и крайне высокий, не зависимо от наркологического диагноза и пола.
- АНАМНЕЗ: Уровень генетического риска связан с семейной отягощенностью по наркологическим заболеваниям и ее плотностью, что сообщает оценке риска специфичную валидность.
- КЛИНИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ:
- Уровень генетического риска обратно пропорционально связан с возрастом больных- у молодых пациентов значения риска выше.
- Уровень генетического риска связан с количеством ПАВ, потребляемых сочетанно.
- Уровень генетического риска связан с уровнем патологического влечения при поступлении больного (высокие стартовые показатели шкалы VAS характерны для больных с высокими уровнями генетического риска).

Генопрофилирование: инструкция по применению



БЛАГОДАРНОСТИ

- Коллегам по лаборатории молекулярной генетики ФГУ «ННЦ наркологии»: к.м.н. Воскобоевой Е.Ю., Чупровой Н.А., к.б.н. Бродянскому В.М., к.б.н. Мелькиной О.Е.
- Заведующим клиническими отделениями и врачам Клиники ФГУ «ННЦ наркологии» и лично зам.главного врача Бабичевой Л.П., а также проф. Винниковой М.А. за участие в реализации ПИЛОТНОГО ПРОЕКТА
- Профессору Крупицкому Е.М. за приглашение принять участие в данном симпозиуме

Благодарю за внимание!

КОНТАКТЫ: Национальный научный центр наркологии
Минздравсоцразвития России, Лаборатория молекулярной
генетики. 119002 Москва, М.Могильцевский пер., 3,
(499)241-0465, [e-mail: druggen@mail.ru](mailto:druggen@mail.ru). [www: druggen.ru](http://www.druggen.ru)

