

Сравнительный молекулярно-генетический анализ наследственной отягощенности по алкоголизму у больных героиновой наркоманией и алкоголизмом: полиморфизм HUMTH01-VNTR гена тирозингидроксилазы (TH)

КИБИТОВ А.О.

к.м.н., руководитель лаборатории молекулярной генетики,

Национальный научный центр наркологии (ННЦН) Минздравсоцразвития России, Москва

ВОСКОБОВА Е.Ю.

к.м.н., в.н.с. лаборатории молекулярной генетики, ННЦН Минздравсоцразвития России, Москва

ЧУПРОВА Н.А.

н.с. лаборатории молекулярной генетики, ННЦН Минздравсоцразвития России, Москва;

119002, Москва, Малый Могильцевский пер.д.3, e-mail: druggen@mail.ru

Наследственные факторы играют значительную роль в этиопатогенезе зависимости от психоактивных веществ (ПАВ). Вероятно существование биологической предрасположенности к зависимости от ПАВ, закрепленной на генетическом уровне. Наследственная отягощенность служит наиболее зримым, клинически доступным и анамнестически выявляемым фактором, заставляющим предполагать наличие биологической (генетической) предрасположенности у больного. Нейрохимической основой зависимости от ПАВ считается хроническая дисфункция дофаминовой (ДА) нейротрансмиттерной системы мозга, в первую очередь, затрагивающая систему подкрепления. Ведущая роль в регуляции дофаминовой системы мозга принадлежит тирозингидроксилазе (ТН) — ключевому ферменту биосинтеза катехоламинов. Варианты генетического контроля функционирования тирозингидроксилазы, возможно, вовлечены в механизмы предрасположенности к развитию зависимости от ПАВ.

Целью настоящего ассоциативного исследования стало изучение структуры полиморфного локуса HUMTH01-VNTR в интроне 1 гена ТН у больных алкоголизмом и героиновой наркоманией с различной плотностью семейной отягощенности по наркологическим заболеваниям. Предполагая принципиальное единство механизма патогенеза болезней зависимости, мы рассматривали больных алкоголизмом и героиновой наркоманией в сравнительном аспекте. Были генотипированы образцы ДНК 984 мужчин славянской этнической принадлежности (448 больных алкоголизмом, 255 больных героиновой наркоманией, 281 здорового человека) по полиморфному локусу HUMTH01-VNTR гена ТН с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР). Было проведено изучение семейной истории больных и рассчитана плотность семейной отягощенности каждого больного. Кластер генотипов по полиморфному локусу (6/6+7/9+8/10) оказался связан с высокой плотностью отягощенности по алкоголизму у больных алкоголизмом, и именно за счет этого кластера формируются выявленные нами отличия общей группы больных алкоголизмом, группы отягощенных больных и больных с высокой плотностью отягощенности от контрольной группы. Частота этого же кластера генотипов повышена и у больных героиновой наркоманией, что может служить доказательством генотипической близости когорты пациентов с болезнями зависимости от разных ПАВ. Неотягощенные больные генотипически значительно отличаются от отягощенных, причем паттерн различий обусловлен средней плотностью отягощенности для алкоголизма и одинаков при высокой и средней плотности для наркомании, но варианты аллелей и генотипов специфичны для каждого вида зависимости. Полученные результаты могут служить предпосылкой для обоснованного предположения о возможности использования локуса HUMTH01-VNTR гена ТН как патогенетического маркера наследственной предрасположенности к зависимости как от алкоголя, так и от опиатов.

Ключевые слова: алкоголизм, героиновая наркомания, наследственная отягощенность, генный полиморфизм, тирозингидроксилаза

Введение

Согласно современным представлениям медицинской генетики [3], 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. Мультифакториальный характер этиопатогенеза болезней зависимости предполагает сложное

взаимодействие генетических факторов в виде наследственной предрасположенности и факторов среды, микро- и макросоциального окружения больного, а также определенных черт личности, которые также можно рассматривать как косвенные проявления биологической конституции индивидуума, возможно, нейроэндокринного генеза [2, 10, 27, 29]. Тип наследования предрасположенности к наркологическим заболеваниям описывается олиго- либо полигенными моделями, предполагающими вовлеченность неболь-

шого либо значительного числа генов соответственно, и не подчиняется классическим менделевским принципам [3, 10, 27].

Многие авторы говорят о существовании биологической предрасположенности к зависимости от ПАВ, закрепленной на генетическом уровне [1, 2, 10, 29], однако природа и механизмы наследования предрасположенности остаются неясными. С биологической точки зрения состояние предрасположенности можно описать как комплекс генетически детерминированных особенностей нейрохимических систем мозга, благодаря которым при злоупотреблении ПАВ состояние зависимости развивается очень быстро на фоне высокой первичной мотивации к потреблению ПАВ и протекает злокачественно. Исследования животных «чистых» линий, селекционный отбор которых велся на основе противоположных реакций на ПАВ, обнаружили значительные врожденные особенности функционирования ряда нейрохимических систем у этих животных [10, 19].

Клинические проявления зависимости от ПАВ выступают в качестве сложного фенотипа (фенотипа зависимости), определяемого многовариантным взаимодействием системы генов (генотипическим профилем зависимости), прежде всего ДА нейротрансмиттерной системы [2]. Значительная фенотипическая (клиническая) гетерогенность болезней зависимости от ПАВ [9, 14] в сочетании с генетической гетерогенностью диктует необходимость функционального подхода к поиску генов-кандидатов, вовлеченных в этиопатогенез зависимости.

Нейрохимической основой феномена зависимости от ПАВ считается хроническая дисфункция дофаминовой ДА нейротрансмиттерной системы мозга, в первую очередь затрагивающая систему подкрепления [1, 2, 8, 22]. Предполагается существование центрального патофизиологического механизма становления и поддержания зависимости от ПАВ [1, 22], находящегося под генетическим контролем, который не зависит от конкретного вида ПАВ и обеспечивает глубокие нейрохимические изменения у будущего больного еще до встречи с ПАВ, что и определяет биологическую базу собственно предрасположенности.

Ведущая роль в регуляции дофаминовой системы мозга принадлежит ТН — ключевому ферменту биосинтеза катехоламинов, уровень функционирования которого фактически контролирует нейрохимические процессы в дофаминергических нейронах и структурах мозга, что обуславливает особый интерес к гену этого фермента. Длительные, постепенно развивающиеся изменения дофаминергической нейромедиации, характерные для состояния зависимости от ПАВ, вероятно, обусловлены действием глубинных механизмов длительной регуляции ТН на уровне экспрессии гена. Показано, что особенности транскрипционной

системы гена ТН имеют наследственную природу [22], причем действие ПАВ оказывает неодинаковый эффект на экспрессию гена ТН у животных с различной врожденной реакцией на ПАВ [19]. Ранее мы показали, что у животных врожденная предрасположенность к зависимости от алкоголя ассоциируется с высоким уровнем экспрессии гена ТН в ДА мезолимбической системе мозга [6]. Выявлен факт снижения уровня экспрессии гена ТН в мезолимбической ДА системе мозга под воздействием однократной дозы этанола только у предрасположенных к зависимости животных до уровня «не предрасположенных» к зависимости животных [4]. Хроническое потребление алкоголя вызывает снижение уровня экспрессии гена ТН в ДА нейротрансмиттерной системе мозга, гораздо более выраженное у животных, ставших зависимыми от алкоголя после хронической алкогольной интоксикации [7].

Известно, что большинство изученных ПАВ активно влияет на экспрессию гена ТН, причем наиболее значительные эффекты обнаруживаются в ДА системах, связанных с механизмами подкрепления [22]. В экспериментах *in vitro* показано [12] активирующее влияние этанола на экспрессию гена ТН, выявлены эффекты длительного действия морфина на экспрессию гена ТН в покрывке среднего мозга крыс, опосредованные серьезными изменениями в регуляции важнейшего транскрипционного фактора CREB [23]. Как показали С.А. McClung с соавторами [20], морфиновая зависимость ассоциирована с долговременными изменениями в мозге, которые вовлекают экспрессию генов, прежде всего ТН и белков транспортных систем нейрона, обеспечивающих перенос вновь синтезированных белков из ядра в терминали. Близкие эффекты выявлены при действии героина [30], психостимуляторов [15, 19], седативных средств [23], каннабиноидов [25].

Многие гены содержат вариабельные участки ДНК (полиморфные локусы), структура которых различна в популяции человека. Предполагается, что определенные варианты полиморфизма могут быть связаны с наследственными заболеваниями. Одним из инструментов генетики полигенных заболеваний является метод ассоциативных исследований, направленный 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 клиническими фенотипами заболевания. Выявление подобных различий подтверждает возможную взаимосвязь, или ассоциацию, между определенным видом полиморфизма и заболеванием. Если известно, что вариант полиморфизма изменяет функционирование продукта экспрессии гена (функциональный поли-

морфизм), то положительный результат ассоциативного исследования может служить подтверждением вовлечения гена, несущего полиморфный локус, в этиопатогенез заболевания.

Ген TH, локализованный у человека на хромосоме 11 (11p15.5), содержит высокополиморфный локус (микросателлит) — TCAT тетрануоклеотидный повтор в интроне 1 (HUMTHO1 — VNTR). Локус представляет собой многократные повторы короткой последовательности нуклеотидов вида (TCAT)_n, где n — число повторов. Значения n составляют от 5 до 11, соответственно количеству повторов именуются и аллели (варианты) гена TH по этому локусу — A5, A6... и т.д. до A11. Ряд аллелей — A5, A10, A11 — является редко встречающимися, «минорными». Выделяют также A10-1, или «несовершенный аллель A10», когда в результате делеции одного основания в структуре пятого повтора локус приобретает следующий вид: (TCAT)₄(CAT)(TCAT)₅. Частота аллеля A10 составляет менее 1%, частота же A10-1 у представителей европеоидной расы — одна из наиболее высоких — до 30%, в связи с чем их частоты принято объединять.

Экспериментально доказано, что локус HUMTHO1 — VNTR может регулировать экспрессию гена TH, тем самым изменяя функциональные характеристики работы фермента. Показано, что варианты A10 и A10-1 усиливают транскрипцию гена TH в экспериментах *in vitro* и взаимодействует с белками ядра клетки [21]. Более того, имеется связь между структурой полиморфного локуса и уровнем работы всей катехоламинаовой системы [30], что особенно важно для понимания врожденных особенностей обмена катехоламинаовых нейромедиаторов. Кроме того, описано существование нескольких типов мРНК для TH, возникающих посредством альтернативного сплайсинга и обладающих значительной тканеспецифичностью и различным распределением даже в пределах ДА системы мозга [24].

Варианты генетического контроля функционирования TH, возможно, вовлечены в механизмы предрасположенности к развитию зависимости от ПАВ. По результатам сканирования полного аутосомного генома на предмет генетической связи с алкогольной зависимостью, наибольшее подтверждение отмечено для локуса D11S1984 на хромосоме 11p15, в непосредственной близости к генам ДА рецептора типа 4 (DRD4) и TH [18]. В то же время, роль гена TH в патогенезе зависимости от ПАВ остается неизученной. Работы по изучению ассоциации между алкоголизмом и полиморфизмом гена TH привели к противоречивым результатам [16, 17, 26, 28]. Чаще всего изучалась недифференцированная, общая группа больных в небольшом количестве (20—60 чел.) с диа-

гнозом *алкоголизм* в сравнении с контрольной группой, несмотря на известную клиническую и, вероятно, патогенетическую неоднородность алкоголизма.

В то же время попытки дифференцированно проанализировать больных по критериям наличия алкоголизма у родителей и возраста манифестации болезни дали положительные результаты [13]. По нашим данным, также полученным на небольшой выборке, но с применением клинических критериев оценки тяжести течения заболевания, структура локуса оказалась связана с тяжестью течения алкоголизма [5]. Работ по изучению взаимосвязи полиморфизма HUMTHO1 — VNTR и зависимости от опиатов в доступной литературе мы не обнаружили. Вопрос о связи наследственной отягощенности наркологическими заболеваниями и вариантами полиморфизма гена TH остается неизученным.

Наследственная отягощенность является наиболее зримым, клинически доступным и анамнестически выявляемым фактором, заставляющим предполагать наличие биологической (генетической) предрасположенности у больного. Описаны факты «накопления» алкоголизма в семьях больных, показано повышение риска заболевания алкоголизмом и наркоманиями в семьях с отягощенной наследственностью [2, 11, 29].

На наш взгляд, имеет значение не только формальный факт наличия отягощенности, но и ее количественная оценка — плотность отягощенности (количество случаев наркологических заболеваний в семье пациента) [31]. Клинический анализ выявляет широкий спектр плотности отягощенности у наркологических больных — от одного до девяти больных в семье. Большинство исследований рассматривает отягощенность в узком смысле: как правило, в виде алкоголизма отца, реже — обоих родителей. Однако концепция предрасположенности [3] предполагает анализ поражения семьи в нескольких поколениях. Мы предположили, что в случае связи вариантов полиморфного локуса гена TH с генетической предрасположенностью к болезням зависимости будут наблюдаться накопление либо элиминация определенных аллелей или генотипов в группах больных с отягощенностью, возможно, пропорционально плотности отягощенности. Если выявленные варианты полиморфизма являются патогенетическими маркерами предрасположенности, то сдвиги частот, возможно, окажутся близкими у больных алкоголизмом и героиновой наркоманией.

Целью настоящего ассоциативного исследования стало изучение структуры полиморфного локуса HUMTHO1-VNTR в интроне 1 гена TH у больных алкоголизмом и героиновой наркоманией с различной плотностью семейной отягощенности по наркологическим заболеваниям. Предполагая принципиальное

единство механизма патогенеза болезней зависимости, мы рассматривали больных алкоголизмом и героиновой наркоманией в сравнительном аспекте.

Объект и методы исследования

В исследовании принимали участие стационарные пациенты клиники ННЦ наркологии мужского пола, славянской этнической принадлежности, не родственные между собой. Диагностическую когорту больных алкоголизмом составили 448 пациентов с диагнозом *зависимость от алкоголя 2–3-й стадии* (F-10.2 по МКБ-10), средний возраст — $42,5 \pm 6,2$ года; диагностическая когорта больных наркоманией состояла из 255 пациентов с диагнозом *зависимость от опиатов (героин)* (F-11.2 по МКБ-10), средний возраст — $27,3 \pm 4,4$ года. Лица с верифицированной психопатологией (шизофрения, депрессивные расстройства, суицидальные попытки) были исключены из исследования.

Анализ семейной отягощенности и ее плотности проводили путем опроса больного и его родственников, а также на основании данных анамнеза. Каждая диагностическая когорта пациентов была разделена на группы: FH0 (неотягощенные) и FH (отягощенные). Затем группа отягощенных больных была разбита на подгруппы в зависимости от плотности отягощенности: FH1 (средняя плотность отягощенности: один кровный родственник с наркологической патологией), FH2 (высокая плотность отягощенности: 2 и более кровных родственников с наркологической патологией). Распределение групп больных по плотности семейной отягощенности представлено в табл. 1. У небольшой части пациентов не удалось получить достоверных сведений о семейной отягощенности (группа НД) и они были исключены из дальнейшего анализа.

Среди больных наркоманией доля неотягощенных больных составляет 40%, что достоверно больше, чем среди больных алкоголизмом (31%, $p = 0,02$; $\chi^2 = 6,47$, $df = 1$; OR = 1,57 [CI 95% 1,11; 2,21]). Распределение больных со средней (FH1) и с высокой плотностью отягощенности (FH2) одинаково. Наследственность больных оказалась отягощена в основном алкоголизмом, лишь у пяти больных героиновой наркоманией (2%) выявлены случаи наркомании в семье (у двоих больных — братья, у троих — двоюродные братья).

Контрольную группу составил 281 мужчина славянской этнической принадлежности, средний возраст — $38,5 \pm 7,2$ года, не родственные между собой, не имеющие диагностических признаков наркологической патологии. Участники контрольной группы не изучались с точки зрения семейной отягощенности наркологическими заболеваниями.

Генотипирование образцов ДНК пациентов, полученных из венозной крови путем фенол-хлороформной экстракции, проводили методом ПЦР фрагмента интрона 1 гена TH с последующим анализом в 8%-ном полиакриламидном геле. Характеристика локуса представлена в табл. 2. Условия реакции и дизайн олигонуклеотидных праймеров описаны ранее [5].

Статистическая обработка

В качестве анализируемых показателей использовали частоты встречаемости аллелей и генотипов по полиморфному локусу HUMTH01-VNTR гена TH в контрольной группе и группах пациентов. Для анализа результатов использовалась статистика χ^2 с доверительным интервалом 5%, дающая возможность оценки различий в частоте признака в генеральной совокупности по частотам признака в ограниченных выборках.

При анализе частот генотипов и гаплотипов применялся метод иерархической агломеративной кластеризации частот, позволяющий выделить группы гено-

Таблица 1

Плотность семейной отягощенности в группах больных алкоголизмом и героиновой наркоманией

Группы	Кол-во	FH0	FH	FH1	FH2	Нет данных
Алкоголизм	448 (403)	125 (0,28) (0,31)	278 (0,62) (0,69)	162 (0,36) (0,40)	116 (0,26) (0,29)	45 (0,10)
Героиновая наркомания	255 (205)	82 (0,32) (0,40)	123 (0,48) (0,60)	74 (0,29) (0,36)	49 (0,19) (0,24)	50 (0,20)

Примечание. Указаны абсолютные частоты (число больных) и относительные частоты встречаемости; в скобках — частоты встречаемости среди больных с известной семейной историей (без учета группы НД — нет данных)

Таблица 2

Характеристика изученного полиморфного локуса гена TH

Ген, хромосомный локус	Локализация, локус, ID, обозначение в тексте	Полиморфные аллели
TH 11p15. 5 (geneID:7054)	VNTR: 4 п.н. повторы в интроне 1 гена TH (intron 1 (TCAT) n tetranucleotide repeat HUMTH01-VNTR	Согласно количеству повторов: A6—A11

типов с максимально сходными частотами (кластеры). Используется пошаговый алгоритм кластеризации в пространстве расстояний статистики χ^2 . На первом шаге все генотипы представляют собой отдельные кластеры. На каждом следующем шаге объединяются кластеры с наиболее близкими отношениями частот в двух группах. В результате из большого количества отдельных генотипов выделяется малое число наборов генотипов с приблизительно одинаковым отношением частот. После выделения таких кластеров оценивалась степень их гомогенности по тесту χ^2 . В случае значений P (обозначаемого здесь как P_k) много больше 0,05 (обычно мы использовали $P_k > 0,15$, чтобы полностью исключить возможную гетерогенность внутри кластера) проводилось сравнение кластерных частот с использованием статистики χ^2 и применением поправочного коэффициента Бонферрони для множественных сравнений. Полученные значения P обозначались как P_6 и частоты кластеров признавались различными с доверительным интервалом 5% ($P_6 < 0,05$). Относительный риск (отношение шансов, OR, odds ratio) при сравнении групп больных с контрольной группой или между собой оценивали как вероятность попадания носителя того или иного аллеля/генотипа/гаплотипа в группу больных либо в более «тяжелую» группу с 95%-ным доверительным интервалом (CI 95%).

Результаты и обсуждение

По результатам генотипирования были получены абсолютные и относительные частоты встречаемости аллелей и генотипов по полиморфному локусу HUMTH01-VNTR гена TH в группах сравнения (см. Материалы и методы). Отклонений от равновесия Харди—Вайнберга в диагностических когортах и контрольной группе не выявлено. Частоты аллелей и генотипов в группе контроля не отличались от среднепопуляционных для европейской популяции [16].

На первом этапе сравнивали диагностические когорты пациентов с контрольной группой и между собой, далее внутри когорт проводилось сравнение групп разной плотности отягощенности с контрольной группой, после чего сравнивали неотягощенных пациентов с отягощенными и подгруппами с разной плотностью отягощенности. Дополнительно проводили сравнение подгрупп со средней и высокой плотностью отягощенности между собой. Далее сравнивали группы больных с одинаковой плотностью отягощенности из разных диагностических когорт.

Результаты кластерного анализа частот и достоверность различий представлены в табл. 3—5. Все обсуждаемые различия частот статистически достоверны либо достоверность находится на границе значимости и в этом случае в тексте указано значение P .

Когорта больных алкоголизмом (табл. 3)

Сравнение с группой контроля. В общей когорте больных алкоголизмом повышена частота кластера генотипов (6/6+7/9+8/10) (20%, в контроле — 12%, табл. 3). Среди неотягощенных больных снижена частота кластера аллелей (A8+A9) (23%, в контроле — 32%, табл. 3) и повышена частота кластера генотипов (6/6+7/7+7/9+10/10) (35%, в контроле — 19%, табл. 3).

В группе отягощенных больных повышена частота кластера генотипов (6/6+7/9+8/10) (22 и 12%, табл. 3). Среди больных со средней плотностью отягощенности снижена частота кластера генотипов (6/6+7/7+7/8+8/8+9/10) (15 и 25%, табл. 3). В группе с высокой плотностью отягощенности достоверно повышена частота кластера генотипов (6/6+7/9+8/10) (27 и 12%, табл. 3). Видно, что частота кластера генотипов (6/6+7/9+8/10) достоверно повышена в общей группе, в группе отягощенных и в группе с высокой плотностью отягощенности.

Сравнение групп больных с разной плотностью отягощенности с группой неотягощенных. В группе отягощенных больных повышены частоты кластера аллелей (A8+A9) (32 и 23%, табл. 3) и кластера генотипов (8/9+8/10+9/9) (18 и 4%, табл. 3). В группе со средней плотностью отягощенности повышены частоты кластера аллелей (A8+A9) (32 и 23%, табл. 3) и кластера генотипов (8/9+8/10+9/9) (19 и 4%, табл. 3). Таким образом, отличия общей группы отягощенных и подгруппы со средней плотностью отягощенности от неотягощенных больных совершенно идентичны. Снижение частоты кластера аллелей (A8+A9), наблюдавшееся у неотягощенных больных в сравнении с контролем, сохранилось и в сравнениях с отягощенными больными и с группой со средней плотностью отягощенности.

В группе с высокой плотностью отягощенности значительно повышена частота кластера генотипов (6/7+7/7+7/8+10/10) (19%) по сравнению с группой неотягощенных больных (4%, табл. 3) и кластера генотипов (6/6+6/8+6/9+8/10+9/10) (47%) по сравнению с группой со средней плотностью отягощенности (28%, табл. 3). Выявление различий между группами с высокой и средней плотностью отягощенности может свидетельствовать о высокой степени связи вариантов полиморфного локуса с отягощенностью.

Когорта больных героиновой наркоманией (табл. 4)

Сравнение с группой контроля. В когорте больных наркоманией повышена частота кластера генотипов (6/6+7/9+8/10) (22%, в контроле — 12%,

Результаты кластерного анализа диагностической когорты больных алкоголизмом

Кластеры	Группы сравнения		Достоверность различий (значения P, χ^2 и OR)
Сравнения с контрольной группой			
1. Генотипы	Общая группа (n=448)	Контроль (n=281)	P6=0,009; χ^2 =8,75 (df=1); OR=1,88 [CI 95% 1,23; 2,89]
(6/6+8/10+7/9) Pk=0,76	0,20 (91)	0,12 (33)	
Прочие Pk=0,84	0,80 (357)	0,88 (248)	
2. Аллели	Неотягощенные FH0 (n=250)	Контроль (n=562)	P6=0,016; χ^2 =7,82 (df=1); OR=1,62[CI 95% 1,15; 2,29]
(A8+A9) Pk=0,38	0,23 (57)	0,32 (182)	
Прочие Pk=0,66	0,77 (193)	0,68 (380)	
3. Генотипы	Неотягощенные FH0 (n=125)	Контроль (n=281)	P6=0,001; χ^2 =12,5 (df=1); OR=2,32 [CI 95% 1,45; 3,73]
(6/6+7/7+7/9+10/10) Pk=0,98	0,35 (44)	0,19 (52)	
Прочие Pk=0,4	0,65 (81)	0,81 (229)	
4. Генотипы	Отягощенные FH (n=278)	Контроль (n=281)	P6=0,004; χ^2 =10,16 (df=1); OR=2,08 [CI 95% 1,32; 3,29]
(6/6+7/9+8/10) Pk=0,91	0,22 (61)	0,12 (33)	
Прочие Pk=0,86	0,78 (217)	0,88 (248)	
5. Генотипы	Средняя плотность FH1 (n=162)	Контроль (n=281)	P6=0,026; χ^2 =6,86 (df=1); OR=1,94 [CI 95% 1,17; 3,22]
(6/6+7/7+7/8+8/8+9/10) Pk=0,1	0,15 (24)	0,25 (71)	
Прочие Pk=0,86	0,85 (138)	0,75 (210)	
6. Генотипы	Высокая плотность FH2 (n=116)	Контроль (n=281)	P6=0,0008; χ^2 =13,39 (df=1); OR=2,71 [CI 95% 1,57; 4,68]
(6/6+7/9+8/10) Pk=0,94	0,27 (31)	0,12 (33)	
Прочие Pk=0,73	0,73 (85)	0,88 (248)	
Сравнения групп с разной плотностью отягощенности			
7. Аллели	Неотягощенные FH0 (n=250)	Отягощенные FH (n=556)	P6=0,023; χ^2 =7,09 (df=1); OR=1,59 [CI 95% 1,13; 2,24]
(A8+A9) Pk=0,51	0,23 (57)	0,32 (178)	
Прочие Pk=0,54	0,77 (193)	0,68 (378)	
8. Генотипы	Неотягощенные FH0 (n=125)	Отягощенные FH (n=278)	P6=0,0004; χ^2 =14,57 (df=1); OR=4,91 [CI 95% 1,98; 12,16]
(8/9+8/10+9/9) Pk=0,88	0,04 (5)	0,18 (50)	
Прочие Pk=0,56	0,96 (120)	0,82 (228)	
9. Аллели	Неотягощенные FH0 (n=250)	Средняя плотность FH1 (n=324)	P6=0,03; χ^2 =6,43 (df=1); OR=1,62 [CI 95% 1,11; 2,35]
(A8+A9) Pk=0,67	0,23 (57)	0,32 (105)	
Прочие Pk=0,86	0,77 (193)	0,68 (219)	
10. Генотипы	Неотягощенные FH0 (n=125)	Средняя плотность FH1 (n=162)	P6=0,0003; χ^2 =14,88 (df=1); OR=5,29 [CI 95% 2,07; 13,52]
(8/9+8/10+9/9) Pk=0,78	0,04 (5)	0,19 (31)	
Прочие Pk=0,48	0,96 (120)	0,81 (131)	
11. Генотипы	Неотягощенные FH0 (n=125)	Высокая плотность FH2 (n=116)	P6=0,01; χ^2 =8,11 (df=1); OR=2,42 [CI 95% 1,3; 4,52]
(6/7+7/7+7/8+10/10) Pk=0,66	0,32 (40)	0,16 (18)	
Прочие Pk=0,5	0,68 (85)	0,84 (98)	
12. Генотипы	Средняя плотность FH1 (n=162)	Высокая плотность FH2 (n=116)	P6=0,004; χ^2 =10,49 (df=1); OR=2,27 [CI 95% 1,38; 3,76]
(6/6+6/8+6/9+8/10+9/10) Pk=0,96	0,28 (46)	0,47 (54)	
Прочие Pk=0,72	0,72 (116)	0,53 (62)	
Примечание. Показаны только результаты сравнений, различия в которых статистически достоверны (P<0,05) либо находятся на границе значимости			

Результаты кластерного анализа диагностической когорты больных героиновой наркоманией

Кластеры	Группы сравнения		Достоверность различий (значения P, χ^2 и OR)
Сравнения с контрольной группой			
1. Генотипы	Общая группа (n=255)	Контроль (n=281)	
(6/6+7/9+8/10) Pk=0,76	0,22 (56)	0,12 (33)	P6=0,005; $\chi^2=9,85$ (df=1); OR=2,08 [CI 95% 1,31; 3,32]
Прочие Pk=0,71	0,78 (199)	0,88 (248)	
2. Аллели	Неотягощенные FH0 (n=164)	Контроль (n=562)	
(A6+A10)Pk=0,34	0,65 (107)	0,52 (293)	P6=0,01; $\chi^2=8,57$ (df=1); OR=1,7[CI 95% 1,19; 2,44]
Прочие Pk=0,73	0,35 (57)	0,48 (269)	
3. Генотипы	Неотягощенные FH0 (n=82)	Контроль (n=281)	
(7/7+7/8+8/9+9/9) Pk=0,39	0,05 (4)	0,19 (52)	P6=0,007; $\chi^2=9,4$ (df=1); OR=4,1 [CI 95% 1,51; 11,1]
Прочие Pk=0,73	0,95 (78)	0,81 (229)	
4. Аллели	Отягощенные FH (n=246)	Контроль (n=562)	
(A7+A9) Pk=0,62	0,45 (113)	0,37 (208)	P6=0,057, тренд на границе значимости
Прочие Pk=0,81	0,54 (133)	0,63 (354)	
5. Генотипы	Отягощенные FH (n=123)	Контроль (n=281)	
(6/10+7/8) Pk=0,75	0,08 (10)	0,22 (61)	P6=0,002; $\chi^2=11,45$ (df=1); OR=3,1 [CI 95% 1,55; 6,2]
Прочие Pk=0,83	0,92 (113)	0,78 (220)	
6. Генотипы	Средняя плотность FH1 (n=74)	Контроль (n=281)	
(6/6+6/9+7/9+7/10+8/10+9/9) Pk=0,86	0,64 (47)	0,39 (109)	P6=0,0007; $\chi^2=13,45$ (df=1); OR=2,63 [CI 95% 1,55; 4,45]
Прочие Pk=0,94	0,36 (27)	0,61 (172)	
7. Аллель	Высокая плотность FH2 (n=98)	Контроль (n=562)	
A10	0,18 (18)	0,30 (169)	P6=0,033; $\chi^2=5,72$ (df=1); OR=1,88 [CI 95% 1,1; 3,22]
Прочие Pk=0,64	0,82 (80)	0,70 (393)	
8. Генотипы	Высокая плотность FH2 (n=49)	Контроль (n=281)	
(6/10+7/8+7/10+8/10) Pk=0,46	0,10 (5)	0,36 (101)	P6=0,0008; $\chi^2=13,29$ (df=1); OR=4,71 [CI 95% 1,88; 11,8]
Прочие Pk=0,77	0,90 (44)	0,64 (180)	
Сравнения групп с разной плотностью отягощенности			
9. Аллели	Неотягощенные FH0 (n=164)	Отягощенные FH (n=246)	
(A6+A10) Pk=0,75	0,65 (107)	0,46 (112)	P6=0,0003; $\chi^2=15,37$ (df=1); OR=2,24 [CI 95% 1,49; 3,36]
Прочие Pk=0,83	0,35 (57)	0,54 (134)	
10. Генотипы	Неотягощенные FH0 (n=82)	Отягощенные FH (n=123)	
(6/9+7/9+8/9+9/9) Pk=0,71	0,18 (15)	0,38 (47)	P6=0,003; $\chi^2=10,76$ (df=1); OR=2,93 [CI 95% 1,51; 5,7]
Прочие Pk=0,45	0,82 (67)	0,62 (76)	
11. Аллели	Неотягощенные FH0 (n=164)	Средняя плотность FH1 (n=148)	
(A6+A10) Pk=0,19	0,65 (107)	0,47 (69)	P6=0,003; $\chi^2=10,97$ (df=1); OR=2,14 [CI 95% 1,36; 3,37]
Прочие Pk=0,91	0,35 (57)	0,53 (79)	
12. Генотипы	Неотягощенные FH0 (n=82)	Средняя плотность FH1 (n=74)	
(6/9+7/9+7/10+9/9) Pk=0,88	0,28 (23)	0,50 (37)	P6=0,005; $\chi^2=9,88$ (df=1); OR=2,87 [CI 95% 1,47; 5,62]
Прочие Pk=0,56	0,72 (59)	0,50 (370)	
13. Аллели	Неотягощенные FH0 (n=164)	Высокая плотность FH2 (n=98)	
(A6+A10) Pk=0,20	0,65 (107)	0,45 (44)	P6=0,004; $\chi^2=10,4$ (df=1); OR=2,29 [CI 95% 1,38; 3,81]
Прочие Pk=0,66	0,35 (57)	0,55 (54)	
14. Генотипы	Неотягощенные FH0 (n=82)	Высокая плотность FH2 (n=49)	
(6/10+7/10+8/10) Pk=0,48	0,40 (33)	0,10 (5)	P6=0,001; $\chi^2=12,18$ (df=1); OR=5,11 [CI 95% 1,89; 13,77]
Прочие Pk=0,52	0,60 (49)	0,90 (44)	
15. Генотипы	Средняя плотность FH1 (n=74)	Высокая плотность FH2 (n=49)	
(7/10+8/10)Pk=0,50	0,26 (19)	0,02 (1)	P6=0,002; $\chi^2=11,91$ (df=1); OR=11,27 [CI 95% 2,04; 62,14]
Прочие Pk=0,78	0,74 (55)	0,98 (48)	
Примечание. Показаны только результаты сравнений, различия в которых статистически достоверны (P<0,05) либо находятся на границе значимости			

см. табл. 4). Среди неотягощенных больных повышена частота кластера аллелей (A6+A10) (65%, в контроле — 52%, табл. 4) и, напротив, снижена частота кластера генотипов (7/7+7/8+8/9+9/9) (5%, в контроле — 19%, табл. 4).

В группе отягощенных больных повышена частота кластера аллелей (A7+A9) (45 и 37%, $P=0,057$, тренд на границе значимости, табл. 4) и снижена частота кластера генотипов (6/10+7/8) (8 и 22%, табл. 4).

В группе со средней плотностью отягощенности повышена частота кластера генотипов (6/6+6/9+7/9+7/10+8/10+9/9) (64%; в контроле — 39%, табл. 4). В группе с высокой плотностью отягощенности достоверно снижены частоты аллеля A10 (18 и 30%, табл. 4) и кластера генотипов (6/10+7/8+7/10+8/10) (10 и 36%, табл. 4).

Сравнение групп больных с разной плотностью отягощенности

В группе отягощенных больных по сравнению с неотягощенными снижена частота кластера аллелей (A6+A10) (46 и 65%, табл. 4) и, напротив, повыше-

на частота кластера генотипов (6/9+7/9+8/9+9/9) (38 и 18%, табл. 4).

В группе со средней плотностью отягощенности по сравнению с неотягощенными снижена частота кластера аллелей (A6+A10) (47 и 65%, табл. 4) и повышена частота кластера генотипов (6/9+7/9+7/10+9/9) (50 и 28%, табл. 4).

В группе с высокой плотностью отягощенности по сравнению с неотягощенными больными снижены частоты кластера аллелей (A6+A10) (45 и 65%, табл. 4) и кластера генотипов (6/10+7/10+8/10) (10 и 40%, табл. 4).

В группе с высокой плотностью отягощенности резко снижена частота кластера генотипов (7/10+8/10) (2%) по сравнению с группой со средней плотностью отягощенности (26%, табл. 4).

Сравнение диагностических когорт между собой (табл. 5)

В группе больных алкоголизмом достоверно повышена частота кластера генотипов (6/10+7/9+7/7+10/10+7/8) (39%) по сравнению с группой больных наркоманией (30%, табл. 5).

Таблица 5

Результаты кластерного анализа сравнения диагностических когорт между собой

Кластеры	Группы сравнения		Достоверность различий (значения P, χ^2 и OR)
1. Генотипы	Алкоголизм (n=448)	Наркомания (n=255)	
(6/10+7/9+7/7+10/10+7/8) Pk=0,76	0,39 (176)	0,30 (77)	P6=0,04; χ^2 =5,97 (df=1); OR=1,5 [CI 95% 1,08; 2,08]
Прочие Pk=0,71	0,61 (272)	0,70 (178)	
Неотягощенные больные			
2. Генотипы	Алкоголизм FH0 (n=125)	Наркомания FH0 (n=82)	
(6/10+8/10+9/9) Pk=0,63	0,14 (18)	0,33 (27)	P6=0,004; χ^2 =10,13 (df=1); OR=2,9 [CI 95% 1,48; 5,7]
Прочие Pk=0,43	0,86 (107)	0,67 (55)	
Отягощенные больные			
3. Аллели	Алкоголизм FH (n=556)	Наркомания FH (n=246)	
(A7+A9) Pk=0,70	0,37 (206)	0,46 (113)	P6=0,053; тренд на границе значимости
Прочие Pk=0,98	0,63 (350)	0,54 (133)	
4. Генотипы	Алкоголизм FH (n=278)	Наркомания FH (n=123)	
(6/7+6/10+7/8+8/10+10/10) Pk=0,73	0,41 (113)	0,26 (32)	P6=0,01; χ^2 =8,34 (df=1); OR=1,97 [CI 95% 1,23; 3,14]
Прочие Pk=0,99	0,59 (165)	0,74 (91)	
Средняя плотность отягощенности			
5. Генотипы	Алкоголизм FH1 (n=162)	Наркомания FH1 (n=74)	
(6/7+6/10+8/9) Pk=0,97	0,33 (53)	0,12 (9)	P6=0,002; χ^2 =11,27 (df=1); OR=3,41 [CI 95% 1,6; 7,27]
Прочие Pk=0,99	0,67 (109)	0,88 (65)	
Высокая плотность отягощенности			
6. Генотипы	Алкоголизм FH2 (n=116)	Наркомания FH2 (n=49)	
(6/7+6/8+7/7+8/9+9/9) Pk=0,85	0,16 (18)	0,41 (20)	P6=0,002; χ^2 =11,79 (df=1); OR=3,59 [CI 95% 1,69; 7,61]
Прочие Pk=0,50	0,84 (98)	0,59 (29)	
Примечание. Показаны только результаты сравнений, различия в которых статистически достоверны (P<0,05), либо находятся на границе значимости			

Неотягощенные больные: среди больных алкоголизмом по сравнению с больными наркоманией снижена частота кластера генотипов (6/10+8/10+9/9) (14 и 33%, табл. 5).

Отягощенные больные: среди больных алкоголизмом по сравнению с больными наркоманией снижена частота кластера аллелей (A7+A9) (37 и 46%, $p = 0,053$; тренд на границе значимости, табл. 5.3), повышена частота кластера генотипов (6/7+6/10+7/8+8/10+10/10) (41 и 26%, табл. 5).

Средняя плотность отягощенности: среди больных алкоголизмом по сравнению с больными наркоманией повышена частота кластера генотипов (6/7+6/10+8/9) (33 и 12%, табл. 5).

Высокая плотность отягощенности: среди больных алкоголизмом по сравнению с больными наркоманией снижена частота кластера генотипов (6/7+6/8+7/7+8/9+9/9) (16 и 41%, табл. 5).

Согласно полученным результатам, кластер генотипов по полиморфному локусу (6/6+7/9+8/10) оказался связан с высокой плотностью отягощенности по алкоголизму у больных алкоголизмом и именно за счет этого кластера формируются выявленные нами отличия общей группы больных алкоголизмом, группы отягощенных больных и больных с высокой плотностью отягощенности от контрольной группы. Частота этого же кластера генотипов повышена и у больных героиновой наркоманией, что может служить доказательством генотипической близости когорты пациентов с болезнями зависимости от разных ПАВ. Однако при анализе групп больных наркоманией с разной плотностью отягощенности различия сохраняются только для больных со средней плотностью отягощенности, возможно, по причине меньшей значимости семейной отягощенности для развития наркомании и достоверно иного распределения плотности отягощенности среди больных наркоманией по сравнению с больными алкоголизмом.

Неотягощенные больные генотипически значительно отличаются от отягощенных, причем паттерн различий обусловлен средней плотностью отягощенности для алкоголизма и одинаков в случаях высокой и средней плотности отягощенности для наркомании, но варианты аллелей и генотипов специфичны для каждого вида зависимости: кластер аллелей (A8+A9) и кластер генотипов (8/9+8/10+9/9) для больных алкоголизмом, кластер аллелей (A6+A10) и генотипов (6/9+7/9+8/9+9/9) для больных героиновой наркоманией. В то же время, больные наркоманией с высокой плотностью отягощенности достоверно и значительно отличаются как от неотягощенных больных, так и от больных со

средней плотностью отягощенности по частоте кластера генотипов (7/10+8/10).

С учетом высокополиморфного характера изучаемого локуса, полученные результаты могут служить основанием для обоснованного предположения о возможности использования локуса HUMTH01-VNTR гена TH как патогенетического маркера наследственной предрасположенности к зависимости как от алкоголя, так и от опиатов. Гипотетически влияние вариантов локуса на регуляцию транскрипции гена TH хорошо объясняет возможный механизм формирования состояния биологической предрасположенности к зависимости от ПАВ в рамках дофаминовой гипотезы патогенеза зависимости.

Применение метода кластеризации частот аллелей и генотипов дало возможность выявить ряд значительных сдвигов частот, возможно, связанных с отягощенностью и ее плотностью. В то же время, сравнительный анализ кластеров, изменения частот которых оказались характерны для определенных групп больных, позволил вычленировать ядерные кластеры, вероятно, несущие наибольшую патогенетическую нагрузку, тогда как прочие элементы кластеров в силу небольших частот могут оказаться дополнительными или попасть в кластер случайно. Дальнейшие исследования могут прояснить механизмы накопления одних вариантов локуса и возможную элиминацию других вариантов в семьях с наследственной отягощенностью наркологическими заболеваниями. Возможно, полиморфные варианты локуса могут также быть связаны с определенными клиническими вариантами фенотипа зависимости от ПАВ, обусловленными высоким генетическим риском.

Список литературы

1. Анохина И.П., Веретинская А.Г., Васильева Г.Н., Овчинников И.В. О единстве биологических механизмов индивидуальной предрасположенности к злоупотреблению различными психоактивными веществами // Физиология человека. — 2000. — Т. 26, №6. — С. 76—83.
2. Анохина И.П., Кибитов А.О., Шамакина И.Ю. Генетика зависимости от психоактивных веществ // Наркология. Национальное руководство. — М.: Гэотар-Медиа, 2008. — С. 52—84.
3. Бочков Н.П. Клиническая генетика. — М.: Гэотар-Мед, 2002. — С. 202—226.
4. Кибитов А.О., Анохина И.П. Влияние острого введения алкоголя на уровень мРНК тирозингидроксилазы в мозге мышей с различной врожденной чувствительностью к действию этанола // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2001. — Т. 131, №1. — С. 69—72.
5. Кибитов А.О., Анохина И.П. Структурные особенности гена тирозингидроксилазы у больных с различной тяжестью течения алкоголизма // Вопросы наркологии. — 2002. — №2. — С. 55—65.
6. Кибитов А.О., Анохина И.П. Уровень мРНК тирозингидроксилазы в мозге мышей с различной врожденной чувстви-

- тельностью к действию этанола // *Нейрохимия*. — 2000. — Т. 17, №4. — С. 275—277.
7. Кибитов А.О., Анохина И.П. Уровень экспрессии гена тирозингидроксилазы в мозге крыс с различным потреблением этанола после длительной алкоголизации // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. — 1997. — Т. 124, №7. — С. 63—65.
8. Bowirrat A., Oscar-Berman M. Relationship between dopaminergic neurotransmission, alcoholism, and Reward Deficiency syndrome // *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* — 2005. — Jan 5. — №132B (1). — P. 29—37.
9. Cloninger C.R., Sigvardsson S., Gilligan S.B., von Knorring A.L., Reich T., Bohman M. Genetic heterogeneity and the classification of alcoholism // *Adv. Alcohol Subst. Abuse.* — 1988. — №7(3—4). — P. 3—16.
10. Comings D.E., Blum K. Reward deficiency syndrome: genetic aspects of behavioral disorders // *Prog. Brain Res.* — 2000. — №126. — P. 325—341.
11. Dawson D.A., Harford T.C., Grant B.F. Family history as a predictor of alcohol dependence // *Alcohol Clin. Exp. Res.* — 1992. — Jun. — №16(3). — P. 572—575.
12. Gayer G.G., Gordon A., Miles M.F. Ethanol increases tyrosine hydroxylase gene expression in N1E-115 neuroblastoma cells // *J. Biol. Chem.* — 1991. — Nov. 25, №266(33). — P. 22279—22284.
13. Geijer T., Jonsson E., Neiman J., Persson M.L., Brene S., Gyllander A., Sedvall G., Rydberg U., Wasserman D., Terenius L. Tyrosine hydroxylase and dopamine D4 receptor allelic distribution in Scandinavian chronic alcoholics // *Alcohol Clin. Exp. Res.* — 1997. — Feb. — №21(1). — P. 35—39.
14. Gilligan S.B., Reich T., Cloninger C.R. Etiologic heterogeneity in alcoholism // *Genet. Epidemiol.* — 1987. — №4(6). — P. 395—414.
15. Gomes-da-Silva J., Perez-Rosado A., de Miguel R., Fernandez-Ruiz J., Silva M.C., Tavares M.A. Prenatal exposure to methamphetamine in the rat: ontogeny of tyrosine hydroxylase mRNA expression in mesencephalic dopaminergic neurons // *Ann. NY Acad. Sci.* — 2002. — Jun. — №965. — P. 68—77.
16. Ishiguro H., Arinami T., Saito T., Akazawa S., Enomoto M., Mitushio H., Fujishiro H., Tada K., Akimoto Y., Mifune H., Shiozuka S., Hamaguchi H., Toru M., Shibuya H. Systematic search for variations in the tyrosine hydroxylase gene and their associations with schizophrenia, affective disorders, and alcoholism // *Am. J. Med. Genet.* — 1998. — Sep. 7. — №81(5). — P. 388—396.
17. Lobos E.A., Todd R.D. Cladistic analysis of disease association with tyrosine hydroxylase: application to manic-depressive disease and alcoholism // *Am. J. Med. Genet.* — 1997. — May 31. — №74(3). — P. 289—295.
18. Long J.C., Knowler W.C., Hanson R.L., Robin R.W., Urbanek M., Moore E., Bennett P.H., Goldman D. Evidence for genetic linkage to alcohol dependence on chromosomes 4 and 11 from an autosome-wide scan in an American Indian population // *Am. J. Med. Genet.* — 1998. — May 8. — №81(3). — P. 216—221.
19. Lucas L.R., Angulo J.A., Le Moal M., McEwen B.S., Piazza P.V. Neurochemical characterization of individual vulnerability to addictive drugs in rats // *Eur. J. Neurosci.* — 1998. — Oct. — №10(10). — P. 3153—3163.
20. McClung C.A., Nestler E.J., Zachariou V. Regulation of gene expression by chronic morphine and morphine withdrawal in the locus ceruleus and ventral tegmental area // *J. Neurosci.* — 2005. — Jun 22. — №25(25). — P. 6005—6015.
21. Meloni R., Albanese V., Ravassard P., Treilhou F., Mallet J. A tetranucleotide polymorphic microsatellite, located in the first intron of the tyrosine hydroxylase gene, acts as a transcription regulatory element in vitro // *Hum. Mol. Genet.* — 1998. — Mar. — №7(3). — P. 423—428.
22. Nestler E. Molecular mechanisms of Drug addiction // *J. Neuroscience.* — 1992. — №12(7). — P. 2439—2450.
23. Noda Y., Nabeshima T. Role of catecholaminergic and cyclic AMP systems in psychological dependence on phencyclidine: a study in mutant mice // *Jpn. J. Pharmacol.* — 2000. — Jun. — №83(2). — P. 89—94.
24. O'Malley K.L., Anhalt M.J., Martin B.M., Kelsoe J.R., Winfield S.L., Ginns E.I. Isolation and characterization of the human tyrosine hydroxylase gene: identification of 5-prime alternative splice sites responsible for multiple mRNAs // *Biochemistry.* — 1987. — №26. — P. 6910—6914.
25. Oliva J.M., Uriguen L., Perez-Rial S., Manzanares J. Time course of opioid and cannabinoid gene transcription alterations induced by repeated administration with fluoxetine in the rat brain // *Neuropharmacology.* — 2005. — Oct. — №49(5). — P. 618—626.
26. Parsian A., Zhang Z.H. Human chromosomes 11p15 and 4p12 and alcohol dependence: possible association with the GABRB1 gene // *Am. J. Med. Genet.* — 1999. — Oct 15. — №88(5). — P. 533—538.
27. Rothhammer F., Rothhammer P., Llop E. Genetics of addictive disorders // *Rev. Med. Chil.* — 2000. — Nov. — №128(11). — P. 1279—1282.
28. Sander T., Harms H., Rommelspacher H., Hoehe M., Schmidt L.G. Possible allelic association of a tyrosine hydroxylase polymorphism with vulnerability to alcohol-withdrawal delirium // *Psychiatr. Genet.* — 1998. — Spring. — №8(1). — P. 13—17.
29. Schuckit M.A. Twin studies in substance abuse: An overview // *Twin research. 3. Epidemiological and Clinical studies.* — N.Y.: Alan R. Liss. Inc., 1981. — P. 68—71.
30. Self D.W., McClenahan A.W., Beitner-Johnson D., Terwilliger R.Z., Nestler E.J. Biochemical adaptations in the mesolimbic dopamine system in response to heroin self-administration // *Synapse.* — 1995. — Dec. — №21(4). — P. 312—318.
31. Stoltenberg S.F., Mudd S.A., Blow F.C., Hill E.M. Evaluating measures of family history of alcoholism: density versus dichotomy // *Addiction.* — 1998. — Oct. — №93(10). — P. 1511—1520.
32. Wei J., Ramchand C.N., Hemmings G.P. Possible association of catecholamine turnover with the polymorphic (TCAT)_n repeat in the first intron of the human tyrosine hydroxylase gene // *Life Sci.* — 1997. — №61(14). — P. 1341—1347.

COMPARATIVE MOLECULAR GENETICS ANALYSIS OF A FAMILY HISTORY OF ALCOHOLISM IN ALCOHOL AND HEROIN DEPENDENT PATIENTS: HUMTH01-VNTR POLYMORPHISM IN TYROSINE HYDROXYLASE GENE**KIBITOV A.O.**

MD., PhD, head, molecular genetics laboratory

VOSKOBOEVA E.Yu.

MD., PhD, senior researcher, molecular genetics laboratory

CHUPROVA N.A.

researcher, molecular genetics laboratory

National Research Center on Addiction.

M. Mogyltsevsky per. 3, Moscow, Russia. Phone/fax: +7(499)241-0465, e-mail: druggen@mail.ru

*Genetic factors play the significant role in etiopathogenesis of psychoactive substance dependence and existence of biological predisposition to psychoactive substance dependence on genetic level is possible. Family history is the most visible, clinically available and anamnestically obtained factor forcing to suppose existence of biological (genetic) predisposition in a patient. Chronic dysfunction of brain dopamine (DA) neurotransmitter system first of all affecting the reinforcement system is considered to be the neurochemical background of psychoactive substance dependence. Tyrosine hydroxylase (TH) — the key enzyme of catecholamine biosynthesis and plays the major role in the brain dopamine system regulation. Variants of genetic control of tyrosine hydroxylase functioning are possibly involved in mechanisms of predisposition to development of psychoactive substance dependence. The aim of this association study was to investigate structure of TH gene polymorphism locus HUMTH01-VNTR in intron I in patients with alcohol and heroin dependence with different density of family history of addiction. Assuming existence of common mechanism underlying pathogenesis of addiction diseases we studied groups of patients with alcohol and heroin dependence in comparative aspect. **Methods:** DNA samples from total 984 male subjects of Slavonic origin (448 inpatients with alcohol dependence, 255 inpatients with heroin dependence and 281 controls) were genotyped for TH gene polymorphic locus HUMTH01-VNTR using PCR. Family history of patients was studied and density of family history was calculated for each patient. **Results:** Genotype cluster for polymorphic locus (6/6+7/9+8/10) revealed association with high density of family history of alcoholism in patients with alcohol dependence, and due to this very cluster revealed by us, differences between total group of patients with alcohol dependence, group with positive family history, group with high density of family history and control group are formed. This genotype cluster frequently was increased in patients with heroin dependence also, that may provide evidence of genotypic similarity of cohorts of patients with dependence on different kinds of psychoactive substances. There is significant genotypic difference between patients with negative and positive family history, and pattern of differences is influenced by intermediate density of family history in alcohol dependence and is similar for high and intermediate density in drug addiction; but variants of alleles and genotypes are specific for each kind of addiction. Obtained results may form the basis for reasonable assumption of possibility to use TH gene locus HUMTH01-VNTR as a pathogenetic marker for predisposition to both alcohol and opiate dependence.*

Key words: alcoholism, heroin dependence, family history, gene polymorphism, tyrosine hydroxylase