

ПОЛИМОРФНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ДОФАМИНА DRD4 У ЛИЦ
УПОТРЕБЛЯЮЩИХ И НЕ УПОТРЕБЛЯЮЩИХ СИНТЕТИЧЕСКИЕ КАТИНОНЫ

Азат Раилевич Асадуллин^{1,2}, Владимир Лабирович Юлдашев¹, Иван Владиславович Николаев²,
Эльвина Аслямовна Ахметова^{1,2}, Сирень Алтынович Халиков³

¹Бакирский государственный медицинский университет, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3,
e-mail: droar@yandex.ru, ²Республиканский наркологический диспансер №1 Минздрава РБ,
г. Уфа, ул. Пушкина, д. 119/1, ³Филиал ФГБУЗ «Республиканский наркологический диспансер»
Минздрава РТ – «Альметьевский наркологический диспансер», 423450, РТ, Альметьевский район,
р.п. Нижняя Мактама, ул. Промышленная, д. 1А

Реферат. Было проведено исследование полиморфного варианта VNTR 120 гена DRD4 у 181 пациента страдающих зависимостью от катинонов (F 15) и 168 образцов соматически и психически здоровых лиц контрольной группы, проживающих на территории Республики Башкортостан и Татарстан (Россия). Сравнивали влияние полиморфного варианта VNTR 120 гена DRD4, на риск формирования зависимости от катинонов у больных указанной нозологии и здоровых лиц. Определено, что наиболее частым в обеих исследованных группах является аллель гена DRD4*L (120bp dup). В группе здоровых лиц выявлено статистически значимое увеличение частоты S/*S ($\chi^2=6,79$; $p=0.01$; OR:0,25; CI : 0,08-0,75) VNTR 120 гена DRD4 в сравнении с группой зависимых от наркотиков. Сделан вывод о том, что генетическое влияние в формировании зависимости от синтетических катинонов может быть опосредовано дофаминэргической системой, а в частности влиянием полиморфного варианта VNTR 120 гена DRD4.

Ключевые слова: катиноны, зависимость, рецептор дофамина, DRD4*L.

POLYMORPHIC VARIANTS DRD4 DOPAMINE RECEPTOR
GENE AMONG CONSUMERS AND NON-CONSUMERS OF
SYNTHETIC CATHINONE

Azat R. Asadullin^{1,2}, Vladimir L. Yuldashev¹, Ivan V. Nikolaev²,
Elvina A. Akhmetova^{1,2}, Siren' A. Khalikov³

¹Federal State Educational Institution of Higher Education
Bashkir State Medical University, Ufa, 3 Lenin Street,
e-mail: droar@yandex.ru, ²SBHI Republican Narcological
Dispensary №1 Ministry of Health Republic of Bashkortostan,
Ufa, 119 Pushkin Street, ³FSBHI Republican Narcological
Dispensary №1 Ministry of Health Republic of Tatarstan,
Republic of Tatarstan, Tatarstan, Almetyevsk district, urban
village Lower Maktama, 1a Industrial Street

We have analyzed DRD4 120bp VNTR samples provided by 181 patients suffering from cathinone addiction (case 1) and compared them to the samples taken from 168 somatically and psychologically healthy people (case 2). The analysis showed DRD4*L (120bp dup) as the most common allele in both cases. However, the frequency of the genotype S/*S happened to be statistically more significant in case 1 compared to case 2. Based on this analysis, it could be concluded that the genetic effect on developing an addiction to synthetic cathinone can be mediated via dopaminergic system, in particular by DRD4 120bp VNTR.

Key words: cathinone, addiction, dopamine receptor, DRD4 * L.

Лавинообразное распространение дизайнерских наркотических средств продолжает оставаться одним из самых тревожных психиатрических расстройств во второе десятилетие XXI века [4, 16, 20]. Как отмечает проф. В.Д. Менделевич, последние несколько лет отмечается многократный рост упоминаний в печати о дизайнерских наркотиках и синтетических катинонах в частности, что указывает на крайнюю актуальность изучения данного вопроса. По состоянию на октябрь 2015 г. на консультативном портале раннего предупреждения о новых ПАВ ООН, были размещены данные о 602 конкретных веществах, что на 55% больше, чем в октябре 2014 г., когда было сообщено о 388 веществах [8, 10, 20]. Американская ассоциация The American Association of Poison Control Centers представила информацию (303 сообщения) об отравлениях, связанных с «солями для ванн» в 2010 г. По состоянию на 2011 г. было отмечено 2371 сообщения [18]. Согласно приложению Google Insights, отслеживающее поисковые запросы в одноименном браузере, с 2008 г., вначале в США и Великобритании, впоследствии в Европе, Украине и России, начали в геометрической прогрессии увеличиваться запросы по словам «mefedron», «MDMA» «kat» с достижением максимальной величины к концу 2013 г. [11].

Синтетические катиноны – обширная группа синтетических дизайнерских наркотических веществ. Природные катиноны (норэфедрон) – алкалоиды, впервые выделенные из каты, кустарника семейства Бересклетовых [2]. Листья этого растения обладают стимулирующими эффектами и используется в Странах Ближнего Востока [6]. Следует учесть, что листья ката используются

только в свежем виде, так как по прошествии 3–5 дней психоактивное действие катина инактивируется [17]. Катиноны, ввиду их меньшей стоимости синтеза, зачастую распространяются под видом амфетаминов, и вызывают подобные амфетамину симпатомиметические эффекты, включая тахикардию, гипертонию, психоактивные эффекты эйфории и повышенную тревожность на пике интоксикации [20]. Согласно ряду данных синтетические катиноны, например, меткатинон, использовались в России в качестве антидепрессанта в 1930 и 1940-е годы. В середине 70-х годов, синтетический меткатинон, (известный как «кат» и «джефф») использовался в странах Варшавского договора, преимущественно в СССР, особенно в местах лишения свободы [1, 20]. Другое производное, пировалерона применялось в США, в качестве отпускаемых по рецепту лекарств для лечения синдрома хронической усталости и ожирения, но был снят из-за массовых фактов злоупотребления и формирования ятрогенной зависимости [7, 17].

Распространяются данные наркотические вещества в виде «солей для ванн», пятновыводителей, удобрений либо в виде различных пищевых добавок [2, 20].

Механизм действия синтетических катинонов обусловлен повышением концентрации биогенных аминов в межсинаптическом пространстве, таких как норадреналин, серотонин, и в особенности дофамин [1, 3, 18]. Повышение концентрации в синапсах происходит с помощью двух основных механизмов. Во-первых, катиноны ингибируют активность моноаминных транспортеров, снижая обратный захват моноаминов [1, 22]. Во-вторых, они активируют высвобождение нейромедиаторов непосредственно из рецепторов [18, 21]. Центральная дофаминэргическая система человека признана доминирующей при формировании мотивации потребления ПАВ и играет важную роль в формировании последующей зависимости [1, 2, 8, 13, 18]. Несомненное доминирующее влияние дофаминэргической системы на формирование зависимости от психоактивных веществ, в том числе опиатов, кокаина, никотина, и алкоголя отражено в исследованиях Э.К. Хуснутдиновой, 2012; И.П. Анохиной, 2008; Голимбет В.Е, 2014; Koob&LeMoal, 2001; Lingford-Hughes&Nutt, 2003.

Дофамин действует на процессы мозга, контролирующие движения, эмоции, способность испытывать удовольствие и боль [18, 22, 23]. Регуляция дофамина играет решающую роль в психи-

ческом и физическом здоровье. Неоспоримо участие дофамина в контроле подкрепляющих механизмов мозга, в частности гипоталамических механизмах самостимуляции [5, 20–22, 24].

В настоящее время обнаружена функциональная, биохимическая и фармакологическая гетерогенность дофаминовых рецепторов, которые разделены на D1-подобные (D1 и D5 подтипы) и D2-подобные (D2, D3 и D4 подтипы) семейства рецепторов [17]. Вследствие доминирующего участия дофамина в системе вознаграждения, его генетические полиморфизмы могут повлиять как на формирование патологической тяги к ПАВ [7, 18] и предрасположенности к формированию зависимости от алкоголя и наркотиков [8, 10, 14], так и обладать протективными свойствами [18]. В нашем исследовании мы рассмотрели особенности генетического полиморфизма гена рецептора дофамина D4. Рецепторы D4 широко распространены в ЦНС, а в наибольших концентрациях обнаруживаются в лимбических структурах, таких как передняя кора больших полушарий, гиппокамп, полосатое и миндалевидное тела. Ген D4 человека был впервые клонирован в 1991 г. [7, 9, 23]. Ген рецептора D4 (также обозначается как DRD4) содержит 3 полиморфных экзона [22], состоящий из VNTR полиморфизмов и кодирует белок длиной 387 аминокислотных остатков. VNTR состоит из 48-парных оснований, которые могут повторяться от двух до 11 раз, в тандеме [20, 22]. Наиболее часто встречающиеся варианты DRD4 два, четыре и семь повторов [18]. Так, например присутствие более 7 повторов DRD4*L описывается Hutchison как фактор «сглаживания» реакции организма на алкоголь и предохраняющий от алкогольной зависимости [12]. Shao описывает сниженное влечение к героину у лиц, имеющих 5 и более повторов DRD4*L [19]. Faraoneetal (2001) трактует наличие 7 повторов DRD4*L, как фактор низкой ассоциированности с такими расстройствами поведения как синдром дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ) в частности с такой чертой темперамента, как «рисковое поисковое поведение» [10].

Целью нашего исследования являлся анализ частоты встречаемости полиморфных вариантов генов DRD2 (rs1800497 (11q23.2)) у зависимых и независимых от синтетических катинонов.

Материалы и методы исследования. В исследование были включены 349 образцов ДНК, выделенных фенольно-хлороформным методом

из периферической крови [15]. Для всех исследованных полиморфных вариантов как в контрольной, так и в опытной выборках, распределение частот генотипов данного локуса соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($p < 0,05$).

Опытная группа была представлена этническими татарами (средний возраст – $23,7 \pm 0,8$ года), проходившими стационарное лечение с 2013 по 2016 г. в Республиканском наркологическом диспансере №1 МЗ Республики Башкортостан и Альметьевском наркологическом диспансере МЗ Республики Татарстан, неродственные между собой с диагнозом F15 (Психические и поведенческие расстройства, вызванные употреблением других стимуляторов), в моче которых методом газовой хромато-масс-спектрометрии [20, 21] были обнаружены синтетические катиноны и (или) продукты их метаболизма (a-PVP, MDPV). Критериями исключения были пациенты с верифицированной сопутствующей психопатологией (шизофрения, выраженные травматические повреждения головного мозга, рекуррентные депрессивные расстройства, истинные суицидальные попытки). Контрольная группа (средний возраст – $22,8 \pm 0,6$ года) была представлена не обнаруживающими признаков зависимости мужчинами, тождественными по возрасту, этносу, неродственные между собой, не имеющие диагностических и лабораторных признаков наркологической патологии (с целью исключения наркотизации было проведено исследование мочи на факт отсутствия наркотических веществ). Контрольная группа представляла собой смешанную по социальному и возрастному критерию, куда входили призывники, проходящие врачебно-военную комиссию (ВВК), группа студентов одного из ВУЗов РБ и незаинтересованные добровольцы. Отобранные материалы для генотипирования направлялись в центр Молекулярно-генетических исследований при кафедре генетики Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы» (зав. кафедрой проф. В.А. Вахитов). Генотипирование проводили путем амплификации ДНК, при помощи метода полимеразной цепной реакции с использованием Амплификатора Терцик (ДНК-технологии). Для одного образца ДНК использовали 1,5 мкл смеси «ScreenMix» (5x), 3,5 мкл воды и 2 мкл прямого и обратного праймеров. Электрофорез ДНК проводили в 7% акриламидном геле. Для детекции мутации использовали полимеразу TaqI. Амплификат инкубировали с 1 мкл рестрик-

тазы при температуре 65°C 16 часов. Результаты полимеразной цепной реакции визуализировали в ультрафиолетовом свете трансиллюминатора Vilbert Lourmart TFX-20M. С целью оценки статистической значимости исследуемых выборок различий использовались критерий Пирсона (χ^2) и значение p-уровня ($p > 0,05$). Статистический анализ полученных данных выполняли в программе «Statistica» версии 10.0 (Statsoft Inc., США).

Результаты исследования и их обсуждение. В результате молекулярно-генетического анализа VNTR полиморфизма в 5'-области гена рецептора дофамина DRD4 у больных с диагнозом F15 (Психические и поведенческие расстройства, вызванные употреблением других стимуляторов) и у наркологически здоровых лиц определено, что наиболее частым в обеих исследованных группах является аллель гена рецептора дофамина DRD4*L (120bp dup), что согласуется с литературными данными. В группе контроля выявлено статистически значимое увеличение частоты генотипа *S/*S ($\chi^2=6,79$; $p=0,01$; OR:0,25; CI: 0,08-0,75) VNTR 120 гена DRD4.

Полученные нами результаты исследования генопрофиля этнических татар, проживающих на территории Республик Башкортостан и Татарстан (Россия), подтверждают мнение о том, что генетическое влияние в формировании зависимости от синтетических катинонов может быть опосредовано дофаминэргической системой, в частности особенностями распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта VNTR 120 гена рецептора дофамина DRD4. В группе здоровых лиц выявлено статистически значимое увеличение частоты генотипа *S/*S ($\chi^2=6,79$; $p=0,01$; OR:0,25; CI: 0,08-0,75) VNTR 120 гена рецептора дофамина DRD4. Этот генотип, вероятно, является протективным. Сделано предположение, что носители аллеля A1* рецептора дофамина DRD2 могут быть отнесены к группе риска употребления синтетических катинонов. В то же время, формирование аддикции полигенно и имеет вероятностный характер [1, 3, 5, 9, 16], а не определяется эффектом одного гена. Для более полного раскрытия влияния генетической информации на формирование зависимости требуется продолжить изучение вовлеченных в этот процесс генов кандидатов, таких как рецептор и транспорт дофамина и серотонина, тирозина и других.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анохина И.П., Кибитов А.О., Шамакина И.Ю. Генетика зависимости от психоактивных веществ / Наркология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. С. 56–58.
2. Асадуллин А.Р., Ахметова Э.А., Ненастьева А.Ю. Динамика распространенности синтетических катинонов в Республике Башкортостан. Эпидемиологическая и клиническая картины // Неврологический вестник. 2016. № 4. С. 16–19.
3. Кибитов А. О. Генетика наркологических заболеваний: молекулярно-генетический профиль дофаминовой нейромедиаторной системы при алкоголизме и опийной наркомании // Наркология. 2011. № 9. С. 25–42.
4. Менделевич В.Д. Психотические расстройства в результате употребления наркотиков: современное состояние проблемы // Наркология. 2014. №7. 93–100.
5. Юлдашев В.Л., Асадуллин А.Р., Галеева Е.Х. и др. Особенности распространенности и потребления синтетических дизайнерских наркотических средств на территории Республики Башкортостан // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2016. № 3. С. 69–75.
6. Al-Motarreb A., Al-Habori M., Broadley K. J. Khat chewing, cardiovascular diseases and other internal medical problems: the current situation and directions for future research // Journal of ethnopharmacology. 2010. № 3. P. 540–548.
7. Archer R.P. Fluoromethcathinone, a new substance of abuse // Forensic Science International. 2009. № 1. P. 10–20.
8. Blum K., Sheridan P.J., Wood R.C. et al. Dopamine D2 receptor gene variants: association and linkage studies in impulsive-addictive-compulsive behavior // Pharmacogenetics and Genomics. 1995. №3. P. 121–141.
9. Comings D.E., Gade R., Wu S. et al. Studies of the potential role of the dopamine D1 receptor gene in addictive behaviors // Molecular psychiatry. 1997. № 1. P. 44–56.
10. Faraone S. V. et al. Meta-analysis of the association between the 7-repeat allele of the dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder // American Journal of Psychiatry. 2001. 158. №. 7. P. 1052–1057.
11. Google. Insights for search (2016) <http://www.google.com/insights/search/>. Last accessed 11/02/2017.
12. Hutchison K. E. et al. The DRD4 VNTR polymorphism influences reactivity to smoking cues // Journal of abnormal psychology. 2002. № 1. P. 134.
13. Kelly M.A. Rubinstein M., Phillips T.J. et al. Locomotor activity in D2 dopamine receptor-deficient mice is determined by gene dosage, genetic background, and developmental adaptations // Journal of Neuroscience. 1998. № 9. P. 3470–3479.
14. Lerman C., Jepson C., Wileyto E.P. et al. Role of functional genetic variation in the dopamine D2 receptor (DRD2) in response to bupropion and nicotine replacement therapy for tobacco dependence: results of two randomized clinical trials // Neuropsychopharmacology. 2006. № 1. P. 231–242.

15. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA. Methods molecular biology. N.Y., 1984. Vol. 2. P. 31–34
16. Powell S.B., Lehmann-Masten V.D., Paulus M.P. et al. MDMA ‘ecstasy’ alters hyperactive and perseverative behaviors in dopamine transporter knockout mice // Psychopharmacology (Berlin). 2004. № 173. P. 310–317.
17. Powell S.B., Dargan P.I., Smyllie M. et al. MDMA “ecstasy” alters hyperactive and perseverative behaviors in dopamine transporter knockout mice // Psychopharmacology. 2004. № 3–4. P. 310–317.
18. Room H., Hotel S.B. American Association of Poison Control Centers // Clinical toxicology. 1974. № 4. P. 433–438.
19. Shao C. et al. Dopamine D4 receptor polymorphism modulates cue-elicited heroin craving in Chinese // Psychopharmacology. 2006. №. 2. P. 185–190.
20. Schoots O., Van Tol H.H.M. The human dopamine D4 receptor repeat sequences modulate expression // The pharmacogenomics journal. 2003. № 6. P. 343–348.
21. Strano-Rossi S., Cadwallader A.B., de la Torre X., Botrè F. Toxicological determination and in vitro metabolism of the designer drug methylenedioxypyrovalerone (MPDV) by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry // Rapid Communications in Mass Spectrometry. 2010. № 18. P. 2706–2714.
22. Spiller H.A. Ryan M.L., Weston R.G., Jansen J. Clinical experience with and analytical confirmation of “bath salts” and “legal highs”(synthetic cathinones) in the United States // Clinical toxicology. 2011. № 6. P. 499–505.
23. Van Tol H.H., Wu C.M., Guan H.C. et al. Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population // Nature. 1992. № 358. P. 9.
24. Yamamoto B.K., Spanos L.J. The acute effects of methylenedioxymethamphetamine on dopamine release in the wakebehaving rat // Eur J Pharmacol. 1988. № 148. P. 195–203.

REFERENCES

1. Anokhina I.P., Kibitov A.O., Shamakina I.Yu. In: *Narkologiya: natsional'noe rukovodstvo*. Moscow: GEOTAR-Media, 2008. pp. 56–58. (in Russian)
2. Asadullin A.R., Akhmetova E.A., Nenast'eva A.Yu. *Nevrologicheskii vestnik*. 2016. № 4. pp. 16–19. (in Russian)
3. Kibitov A.O. *Narkologiya*. 2011. № 9. pp. 25–42. (in Russian)
4. Mendelevich V.D. *Psikhoticheskiye rasstroystva v rezul'tate upotrebleniya narkotikov: sovremennoye sostoyaniye problemy*. *Narkologiya*. 2014. №7. 93–100. (in Russian)
5. Yuldashev V.L., Asadullin A.R., Galeeva E.Kh. et al. *Sibirskii vestnik psikiatrii i narkologii*. 2016. № 3. pp. 69–75. (in Russian)

Поступила 15.02.17.