

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Министра

Е.Л. Богдан

«04» *января* 2020 г.

Регистрационный № 100-1020

МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ПСИХИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ И РАССТРОЙСТВ
ПОВЕДЕНИЯ, ВЫЗВАННЫХ УПОТРЕБЛЕНИЕМ АЛКОГОЛЯ

инструкция по применению

Учреждения-разработчики: государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр психического здоровья»,
государственное научное учреждение «Институт биоорганической химии
Национальной академии наук Беларуси»

Авторы: к.б.н. Голубева Т.С., к.м.н., доцент Григорьева И.В., д.м.н.,
доцент Докукина Т.В., Макаревич А.С., к.х.н. Гилеп А.А.,
к.х.н. Гайдукевич И.В., к.м.н., доцент Ходжаев А.В.

Минск, 2020

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод лечения психических расстройств и расстройств поведения, вызванных употреблением алкоголя, с учетом генетических маркеров прогрессивности синдрома зависимости от алкоголя, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение синдрома зависимости от алкоголя и употребления алкоголя с вредными последствиями с учётом генотипа SS, SL или LL полиморфизма 5-HTTLPR гена SLC6A4 в стационарных, амбулаторных условиях и/или в условиях отделения дневного пребывания.

Инструкция предназначена для врачей-психиатров-наркологов, врачей-психотерапевтов, других врачей-специалистов, психологов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с алкогольным аддиктивным поведением.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Психические расстройства и расстройства поведения, вызванные употреблением алкоголя: употребление алкоголя с вредными последствиями (F10.1), синдром зависимости от алкоголя (F10.2).

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ

Соответствуют таковым для медицинского применения медицинских изделий, лекарственных средств, необходимых для реализации метода, изложенного в настоящей инструкции.

Ограничением к применению метода могут быть грубые нарушения когнитивной сферы, мешающие контакту с пациентом.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ, МАТЕРИАЛОВ, РЕАКТИВОВ

Отдельный кабинет с двумя креслами, оборудованием для воспроизведения аудио записей.

Лекарственные средства психоаналептического действия.

Медицинские изделия, материалы, реактивов и оборудования для выделения ДНК (таблицы 1-5).

Таблица 1. Оборудование, материалы и реактивы для выделения ДНК

| Наименование | Количество |
|---|------------|
| Ламинарный бокс | 1 |
| Настольная микроцентрифуга | 1 |
| Вортекс | 1 |
| Комплект автоматических дозаторов переменного объема (20-200 мкл; 200-1000 мкл) | 1 |
| Холодильник с морозильной камерой | 1 |
| Настольный термостат для пробирок типа «Эшпендорф» (1,5 мл) | 1 |
| Набор для выделения ДНК из клеток буккального эпителия или из слюны с использованием мини-спин колонок. | 1 |

Таблица 2. Оборудование, материалы для проведения ПЦР и рестрикции

| Наименование оборудования | Количество |
|---|------------|
| Амплификатор с нагревающейся крышкой | 1 |
| Миницентрифуга | 1 |
| Вортекс | 1 |
| Комплект полуавтоматических одноканальных дозаторов переменного объема (0,5-10 мкл; 2-20 мкл; 20-200 мкл; 200-1000 мкл) | 1 |
| Стерильный ламинарный бокс | 1 |
| Хладоэлемент | 1 |

Таблица 3. Реактивы для проведения ПЦР и рестрикции

| Наименование реактива | Назначение |
|---|--|
| Вода milli-Q | |
| 10 кратный буфер для PCR | Смесь реактивов для создания оптимальных условий для работы Taq ДНК-полимеразы |
| 25 mM MgCl ₂ | Источник Mg ²⁺ ионов для работы Taq ДНК-полимеразы |
| Смесь dNTP (дезоксирибонуклеотидтрифосфатов) (концентрация каждого dNTP 2,5 mM) | Мономер для синтеза ДНК |
| Олигонуклеотидные праймеры | «Затравка» для синтеза новой цепочки ДНК |
| Taq ДНК-полимераза (5ед/мкл) | Фермент, осуществляющий синтез ДНК |
| Образец геномной ДНК | Матрица для синтеза ДНК |
| 10 кратный буфер для рестриктазы | Смесь реактивов для создания оптимальных условий для работы рестриктазы |

| | |
|---------------------------------------|---|
| Рестриктаза BstNI, ApaI, AvaII, KpnI, | Эндонуклеазы, осуществляющие расщепление цепочки ДНК в определенных местах для детекции 5-HTTLPR гена SLC6A4. |
|---------------------------------------|---|

Таблица 4. Оборудование для электрофореза

| Наименование оборудования | Количество |
|---|------------|
| рН-метр | 1 |
| Печь СВЧ | 1 |
| Источник питания с постоянным током | 1 |
| Камера для горизонтального/вертикального электрофореза | 1 |
| Форма для заливки геля | 1 |
| Набор пластиковых гребенок | 1 |
| Посуда для приготовления агарозного геля и буферов | |
| Комплект полуавтоматических одноканальных дозаторов переменного объема (0,5-10 мкл; 2-20 мкл; 20-200 мкл; 200-1000 мкл) | 1 |
| Система гель-документации | 1 |

Таблица 5. Реактивы для электрофореза

| Наименование реактива | Назначение |
|---------------------------|---|
| Вода milli-Q | |
| Агароза | компонент агарозного геля |
| Трис-основание | компонент TAE буфера |
| Ледяная уксусная кислота | компонент TAE буфера |
| ЭДТА | компонент TAE буфера, компонент буфера для внесения образца |
| Водный раствор NaOH | компонент TAE буфера |
| Глицерин | компонент буфера для внесения образца |
| Бромфеноловый синий | компонент буфера для внесения образца |
| Маркер молекулярного веса | определение размера фрагментов ДНК |

Расходные материалы: одноразовые нитриловые неопудренные перчатки, наконечники для дозаторов (от 0,5 до 1000 мкл), пробирки типа «Eppendorf» на 1,5 мл, ПЦР-пробирки вместимостью 0,2 мл (отдельные и в стрипах по 8 шт.), штативы для пробирок, стеклянная химическая посуда.

Материал для исследования: геномная ДНК, выделенная из слюны или буккального соскоба.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

1. Определение генотипа SS, SL или LL 5-HTTLPR гена SLC6A4

Для определения полиморфизмов целевых генов необходимо применять метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом длин амплифицированных фрагментов (ПДАФ(AFLP)).

Для амплификации участков ДНК, содержащих полиморфные позиции использовать олигонуклеотидные праймеры, последовательности которых представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Последовательности олигонуклеотидных праймеров для амплификации целевых фрагментов ДНК

| Полиморфизм | Последовательность олигонуклеотидного праймера | |
|-------------------------|--|-------------------------|
| 5-HTTLPR гена SLC6A4 | F | AAggCgTTgCCgCTCTgAATgC |
| | R | gAgggACTgAgCTggACAACCAC |

Реакционная смесь объемом 30 мкл должна содержать: 1х буфер для амплификации, 1 mM MgCl₂, 200 мкМ дНТФ, 0,6мкМ каждого праймера, 1 единицу Taq-ДНК-полимеразы, 7% ДМСО, 10 нг ДНК.

Температурный режим амплификации должен состоять из следующих этапов: 1) 94°C – 10 мин; 2) 32 цикла: 94°C – 30 сек, 65°C – 30 сек, 72°C – 1 мин; 3) 72°C – 10 мин. В результате амплификации получают продукты следующей длины: при SS генотипе - 484 п.н., SL генотипе - 529+484 п.н., LL генотипе - 529 п.н.

2. Проведение электрофореза и визуализация продуктов рестрикции

Разделение продуктов рестрикции 5-HTTLPR гена SLC6A4 рекомендуется проводить методом горизонтального гель-электрофореза в 2% агарозном геле, содержащем бромистый этидий или его аналог. Для приготовления геля смешать 100 мл 1х ТАЕ, 2 г агарозы, 5 мкл бромистого этидия. Нагреть смесь в микроволновой печи до полного

растворения агарозы, остудить до комнатной температуры, залить форму для геля и вставить гребенки для формирования лунок. После застывания геля перенести его в камеру для электрофореза, содержащую 1xTAE. Смешать продукты рестрикции с 5 мкл буфера для внесения образцов и внести по 25 мкл полученной смеси в гель. В первую лунку каждого ряда внести 3 мкл стандарта (кат.№ SM0241, Thermo Fisher Scientific). Электрофорез проводить в течение 60 минут при напряжении 120 V.

Агарозные гели анализировать в проходящем ультрафиолетовом свете с помощью гель-документирующей системы.

Сопоставить полученные данные с приведённым ниже изображением:



SS генотип - 484 п.н.

SL генотип - 529+484 п.н.

LL генотип - 529 п.н.

3. Клиническая значимость результатов

Наличие генотипа SS полиморфизма 5-HTTLPR гена SLC6A4 транспортера серотонина 5-НТТ ассоциировано с поддержанием традиционных, социально-обусловленных мотивов употребления алкоголя, изначально обостренным стремлением к физическому и психологическому удовлетворению от действия алкоголя с переживанием алкогольной эйфории («гедонистическая акцентуация»), повышением коммуникабельности, эмоциональной лабильности, сниженной

способностью переносить стрессовые ситуации, приверженностью к краткосрочным лечебным вмешательствам и нестабильностью выполнения рекомендаций для профилактики рецидива; слабым антидепрессивным эффектом и увеличением выраженности побочных эффектов селективных ингибиторов обратного захвата серотонина. Развитие алкогольной зависимости малопрогрессирующее. Рекомендовано применение последовательных групповых психотерапевтических вмешательств, что обеспечивает высокое качество ремиссии у пациентов с алкогольной зависимостью.

Наличие генотипа SL полиморфизма 5-HTTLPR гена SLC6A4 транспортера серотонина 5-НТТ ассоциировано с поддержанием мотивов гиперактивации поведения со стимулирующим и растормаживающим эффектом алкоголя, желанием усилить эффективность своего поведения, склонностью к гипертимности, насыщению самовосприятия с помощью выпивки, что отражает стремление выйти из состояния скуки, психологической «пустоты», душевного бездействия; наличием компульсивного влечения со сниженной способностью переносить стрессовые ситуации; слабым антидепрессивным эффектом и увеличением выраженности побочных эффектов селективных ингибиторов обратного захвата серотонина. Развитие алкогольной зависимости среднепрогрессирующее. Рекомендовано применение краткосрочных индивидуальных психотерапевтических вмешательств, что повышает приверженность к выполнению рекомендаций и профилактике рецидивов у пациентов с алкогольной зависимостью.

Наличие генотипа LL полиморфизма 5-HTTLPR гена SLC6A4 транспортера серотонина 5-НТТ ассоциировано с доминированием патологических мотиваций потребления алкоголя: аддиктивной – отражающей фиксацию в сознании истинного влечения к алкоголю и

«жажду» алкоголя; самоповреждения – стремлением пить назло себе и другим в качестве протеста, из-за предполагаемой потери перспектив развития в будущем или утратой смысла жизни. Прием алкоголя связан с желанием нейтрализовать негативные эмоциональные переживания. Характерны преморбидные расстройства самосознания (нарушения витальности, идентичности и границ «Я»), незрелая, расщепленная структура преморбидных межличностных отношений (амбитендентный зависимо-отчужденный стиль поведения); анозогнозия, алексетимия и патологическое влечение, агрессивное и аутоагрессивное (суицидальное) поведение. Является достоверным маркером предрасположенности к быстропрогредиентному варианту формирования синдрома зависимости от алкоголя в присутствии социальных и поведенческих факторов. С целью достижения более длительных ремиссий у пациентов с синдромом зависимости от алкоголя рекомендовано при наличии показаний назначение селективных ингибиторов обратного захвата серотонина в сочетании с долгосрочной индивидуальной психотерапией для функционального анализа проблемного поведения, обучения социальным навыкам и техникам преодоления негативного стресса, основанные на принципе осознанности.

Таблица 7 – Лечение лиц с синдромом зависимости от алкоголя с учётом генотипа SS, SL или LL полиморфизма 5-HTTLPR гена SLC6A4

| Генотипы | Структура вмешательств | Рекомендуемые психотерапевтические методы |
|----------|---|---|
| SS | Последовательные групповые психотерапевтические вмешательства | 1. Когнитивно- поведенческая психотерапия: работа с автоматическими мыслями (дневник мыслей), когнитивное переструктурирование, рефокусирование, расслабление и осознанность 2. Методы саморегуляции: тренинг релаксации, формирование стратегии самоконтроля, реакция группового осуждения негативного поведения 3. Методы арт-терапии: образные метафоры, притчи, фильмотерапия |

| | | |
|----|---|--|
| | | 4. Гештальт-терапия: осознание, принятие ответственности, работа с полярностями, техника «пустой стул» |
| SL | Краткосрочные индивидуальные психотерапевтические вмешательства | <p>1. Мотивационное интервью</p> <p>2. Когнитивно- поведенческая психотерапия: идентификация и коррекция дисфункциональных мыслей и иррациональных суждений, формирование позитивного поведения в сочетании с программой жетонного подкрепления</p> <p>4. Методы арт-терапии: направленная визуализация, «кайдзен»</p> <p>5. Эриксоновский гипноз: ресурсный транс, терапевтическая метафора, тройная спираль Милтона-Эриксона</p> <p>6. Нейролингвистическое программирование: смена субмодальностей, реимпринтинг, генератор нового поведения</p> |
| LL | Долгосрочная индивидуальная психотерапия | <p>1. Мотивационное интервью</p> <p>2. Поведенческая психотерапия: обучение социальным навыкам; обучение совладанию с дистрессом; тренинг уверенности; профилактика рецидивов</p> <p>3. Методы угашения нежелательного поведения: тайм-аут</p> <p>4. Десенсибилизация психотравматического опыта с помощью движения глаз</p> <p>5. Релаксационные техники: прогрессивная нервно-мышечная релаксация</p> <p>6. Методы арт-терапии: техника праймингового программирования, оригами, библиотерапия</p> <p>7. Нейролингвистическое программирование: смена субмодальностей, работа с логическими уровнями, шестишаговый рефрейминг, реимпринтинг, переоценка прошлого, работа с противоположностями, генератор нового поведения</p> |

Учёт генотипа SS, SL или LL полиморфизма 5-HTTLPR гена SLC6A4 при лечении возможен только при наличии у пациента описанных выше соответствующих фенотипических проявлений.

ВОЗМОЖНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МЕТОДА И СПОСОБЫ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Ошибки молекулярно-генетических методов:

Получение ложно-положительных результатов может быть обусловлено загрязнением исследуемых образцов инородным биологическим материалом.

Пути устранения:

соблюдение принципов зонирования лаборатории для молекулярно-генетических исследований; использование спецодежды (стерильные перчатки, халат, бахилы, шапочка); использование стерильной одноразовой посуды, расходных материалов и растворов; использование отрицательных (не содержащих ДНК) контрольных образцов в каждой серии исследований; проведение исследования повторно.

Получение ложно-положительных результатов может быть обусловлено снижением или полной утратой активности некоторых компонентов ПЦР-реакции. Путь устранения: использование положительных (с известной последовательностью ДНК) контрольных образцов, лучше гетерозигот, в каждой серии.

Ошибки при проведении лечения:

Проблемы в установлении контакта, отсутствие доверительных отношений с пациентом, неправильное определение мотивации пациента.

Пути устранения:

поддержание терапевтических отношений; создание доверительной, безопасной атмосферы; работа с сопротивлением.