

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 813 377**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/6883 (2008.01)

G16H 50/30 (2008.01)

G16B 20/00 (2009.01)

G16B 30/00 (2009.01)

G16B 40/00 (2009.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.07.2015 PCT/US2015/040054**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.01.2016 WO16007927**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.07.2015 E 15818821 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.05.2020 EP 3167080**

54 Título: **Análisis de riesgo de adición genética para índice de severidad de RDS y kit**

30 Prioridad:

10.07.2014 US 201462023144 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

23.03.2021

73 Titular/es:

**SYNAPTAMINE, INC. (100.0%)
101 Colorado Street Suite 1702
Austin, TX 78701, US**

72 Inventor/es:

BLUM, KENNETH

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 813 377 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Análisis de riesgo de adicción genética para índice de severidad de RDS y kit

5 Campo técnico

Esta divulgación se refiere a métodos y kits para evaluar el índice de severidad para abuso de alcohol, abuso de fármacos y otros síndromes de deficiencia de la recompensa.

10 Antecedentes

En 2013, se observó en Blum 2013, Capítulo 2, Sección, 2.5, p. 39:

15 Cuando casi la mitad de la población de los Estados Unidos se ha entregado a las prácticas de drogas ilegales, cuando nuestros candidatos presidenciales se ven obligados a esquivar la difícil pregunta de su historia pasada relacionada con el uso de fármacos ilegales, y cuando casi todos los estadounidenses han consumido un martini o dos en su ciclo de vida, debe haber una razón, debe haber una necesidad, debe haber una respuesta natural para que los humanos beban a tasas tan altas. Incluso hay una pregunta más convincente que rodea a los millones que buscan novedades de alto riesgo. ¿Por qué millones tienen este impulso innato frente a ponerse en el camino del daño?

20 ¿Por qué millones pagan el precio de sus indiscreciones en nuestras cárceles, hospitales, sillas de ruedas y yacen muertos en nuestros cementerios? ¿Qué precio debemos pagar por la búsqueda de placer o simplemente estar “ELEVADO”? Quizás la respuesta se encuentre dentro de nuestro cerebro. ¿Tal vez está en nuestro genoma?

25 El Síndrome de Deficiencia de la Recompensa (RDS) fue definido por primera vez por el inventor y su laboratorio en 1996 como un supuesto predictor de comportamientos impulsivos y adictivos. [Blum 2000; Blum 1996; Coming 2000]. Véase también la Tabla 1.

Tabla 1: Los comportamientos del síndrome de recompensa deficiente (SDR).

30

Comportamientos aditivos		Comportamientos por impulso		Comportamiento s obsesivos compulsivos	Trastornos de personalidad
Relacionados con sustancias	No relacionados con sustancias	Trastornos del espectro	Impulsivos Disruptivos		
Alcohol	Búsqueda de emociones(novedad)	Déficit de atención e Hiperactividad	Antisocial	Cuerpo Dismórfico	Paranoico
Cannabis	Sadismo Sexual	Síndrome de Tourette y Tic	Conducta	Acaparamiento	Esquizoide
Opioides	Masoquismo Sexual	Autismo	Intermitente Explosivo	Tricotilomanía (tirar del (cabello	Límite
Sedantes/Hipnóticos	Hipersexual		Desafiante	Excoriación (pellizcar la piel)	Esquizotípico
Estimulantes	Juegos de azar		Exhibicionista	Autolesiones No suicidas	Histriónico
Tabaco	Juegos de azar de Internet				Narcisista
Glucosa					Evitante
Comida					Dependiente

35 La molécula de dopamina después de unirse al receptor de dopamina D2 se ha asociado con muchos comportamientos (Dackis and Gold 1985; Di Chiara and Imperato 1988) y el DRD2 se ha denominado como un gen de recompensa [Blum et al 1990; Eisenberg 2007; Hietala I 1994; Hietala II 1994; Volkow 2001; Volkow 2002]. Aunque el gen DRD2 y especialmente el alelo TaqI A1 se han asociado más con los trastornos neuropsiquiátricos en general, en el alcoholismo y otros comportamientos de recompensa por adicción (carbohidratos), también puede estar involucrado en los síntomas del trastorno de personalidad antisocial comórbido (especialmente en niños y adultos con trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) o síndrome de Tourette) y alta búsqueda de novedad.

40 La dopamina se ha denominado la “molécula antiestrés” y/o la “molécula de placer”. [Blum 1990]. Cuando la dopamina se libera en la sinapsis, estimula una cantidad de receptores (D1 - D5), lo que resulta en una mayor sensación de bienestar y reducción del estrés [Picetti 2013]. La vía dopaminérgica mesocorticolímbica juega un papel especialmente importante en la mediación del refuerzo de las recompensas naturales como la comida y el sexo, así como las recompensas no naturales como los fármacos de abuso [Melis 2005]. Las recompensas naturales incluyen la satisfacción de impulsos fisiológicos (por ejemplo, Hambre y reproducción) y las recompensas antinaturales se

45

aprenden e implican la satisfacción de los placeres adquiridos, como las sensaciones hedónicas derivadas del alcohol y otros fármacos, así como de los juegos de azar y otras conductas de riesgo. [Blum 1996; Blum 2013; Blum 2014].

En la discusión del RDS, se hace referencia específicamente a la insensibilidad e ineficiencia en el sistema de recompensa. Puede haber un neurocircuito, neuroanatomía y neurobiología comunes para múltiples adicciones y para varios trastornos psiquiátricos. [Bowirrat 2005]. Debido a antecedentes genéticos específicos e influencias ambientales (epigenéticas), una deficiencia de los receptores D2 puede predisponer a las personas a un alto riesgo de múltiples comportamientos adictivos, impulsivos y compulsivos. Es bien sabido que el alcohol y otros fármacos de abuso, así como la mayoría de los refuerzos positivos (es decir, sexo, comida, juegos de azar, emociones agresivas) provocan la activación y liberación neuronal de dopamina cerebral y la participación de la Na^+/K^+ -ATPasa. La liberación de dopamina puede disminuir los sentimientos negativos y satisfacer los antojos anormales de alcohol, cocaína, heroína y nicotina que, entre otros, están relacionados con una función baja de dopamina. [Rothman 2007].

Al realizar estudios de asociación para los cuales un investigador requiere una muestra de control representativa para un solo diagnóstico psiquiátrico de RDS o para posibles subconjuntos de RDS, existen limitaciones que se relacionan con controles mal tamizados para múltiples comportamientos de RDS y otros trastornos psiquiátricos relacionados. Los comportamientos faltantes que forman parte del subconjunto RDS pueden ser la razón de resultados espurios al genotipar subconjuntos individuales de comportamientos de RDS.

Por ejemplo, un individuo puede no beber o utilizar fármacos, pero puede tener otros comportamientos de RDS como comer en exceso o videojuegos intensivos. En apoyo de esta noción, Blum et al. [Blum 2011] encontró una asociación muy fuerte del alelo del receptor A1 de dopamina D2 (100%) en una Familia (A). Más aún, cada individuo de la Familia B también tiene al menos un alelo dopaminérgico de alto riesgo (100%) (48% portaba el alelo DRD2 A1). Más aún, en la familia B solo tres individuos adultos no tenían comportamientos adictivos. Cuando esto se comparó con los resultados en los que 55 sujetos con RDS portaban el alelo DRD2 A1 al 78.2% con los resultados de Noble 2003 en los que 597 alcohólicos graves (49.3%) portaban el alelo A1, hubo una diferencia significativa entre estos dos grupos ($\chi^2 = 16.9$, $p < 0.001$). Esto demostró que la prevalencia del alelo A1 aumenta con múltiples comportamientos de RDS.

Blum et al (Mol Neurobiol (2014) 50: 765-796) identificaron diez alelos en diez genes que proporcionan la base para una puntuación de riesgo de adicción genética (GARS).

Resumen de la invención

La presente invención satisface la necesidad de clasificar a los pacientes con riesgo genético de comportamiento de búsqueda de fármacos/alcohol antes o al ingresar a programas de dolor y dependencia química residenciales y no residenciales. Esta invención incorpora la utilización de un "análisis alélico", que es un análisis utilizado para determinar la presencia de alelos particulares en el sujeto ensayado. El alcance de la invención está definido por las reivindicaciones adjuntas. En una realización de la presente invención, se ha descubierto que existen al menos once alelos de riesgo asociados con diez genes candidatos. Para determinar la severidad del riesgo, el porcentaje de prevalencia de los alelos de riesgo se determinó mediante análisis alélico y se determinó una puntuación de severidad basada en el porcentaje de estos alelos.

Los polimorfismos genéticos [DRD1 = G; DRD2 = A1; DRD3 = C; DRD4 = C; DAT1 = 9R; DRD4 = 7-11R; HTTLPR = S o L; MAOA = 3.5-5R; COMT = G; OPRM1 = G; y GABRB3 = 181] más asociados con el riesgo de RDS se probaron en 273 sujetos. El porcentaje de prevalencia de los alelos de riesgo se calculó y la severidad se clasificó en 273 sujetos como: Todos los sujetos dieron positivo por severidad de riesgo, 40.4% (tienen 9 o más alelos de riesgo de RDS), 30.9% (7 u 8 alelos de riesgo de RDS) y 28.7 % (6 o menos alelos de riesgo de RDS). Sin controlar la edad o el género utilizando el análisis de χ^2 , se encontró que una asociación predictiva significativa entre individuos con alelos de 7 o más riesgos y el riesgo de severidad del alcohol ($\chi^2 = 8.38$, $df = 1$, $p < 0.004$). Los resultados de la regresión logística mostraron la edad ($b = 0.45$, $S.E. = 0.11$, $\text{Wald } \chi^2 = 15.29$, $df = 1$, $p < 0.001$) y tienen mayor número de alelos de riesgo de RDS ($b = 0.741$, $S.E. = 0.29$, $\text{Wald } \chi^2 = 6.39$, $df = 1$, $p = 0.012$) pronosticaron significativamente las puntuaciones de severidad de alcohol recolectados utilizando la Versión Media del Índice de Severidad de Adicción (ASI-MV).

En general, en un aspecto, la invención presenta un método para obtener una puntuación de riesgo para evaluar la estratificación de una pluralidad de rangos para un riesgo de adicción genética. El método incluye la etapa para obtener una muestra biológica de un sujeto. El método incluye adicionalmente la etapa de realizar un análisis alélico sobre la muestra biológica para determinar la presencia de una pluralidad de alelos predeterminados. Cada uno de los alelos en la pluralidad de alelos predeterminados se asocia con un gen en una pluralidad de genes predeterminados. Hay al menos diez genes en la pluralidad de genes predeterminados. Se presenta al menos un alelo para cada uno de los genes en la pluralidad de genes predeterminados. El método incluye adicionalmente la etapa de asignar un recuento para cada uno de los alelos en la pluralidad de alelos predeterminados que se presentó en la muestra biológica. El método incluye adicionalmente la etapa de determinar una puntuación de riesgo basada en el recuento, en el que la estratificación de la pluralidad de rangos identifica una severidad del riesgo de adicción genética.

Las implementaciones pueden incluir una o más de las siguientes características:

- 5 La pluralidad de alelos predeterminados puede incluir: (a) alelo G del gen DRD1; (b) alelo A1 del gen DRD2; (c) alelo C del gen DRD3; (d) alelo C del gen DRD4; (e) alelo 9R del gen DAT1; (f) alelo 7-11R del gen DRD4; (g) alelo S o L del HTTLPR; (h) alelo 4R del gen MAOA; (i) alelo G del gen COMT; (j) alelo G del gen OPRM1; y (k) alelo 181 del gen GABRB3. Estos alelos predeterminados son los alelos de las SEQ ID NOS 1-8, repetición DAT1 3' 40 bp, repetición DRD4 48 bp en el intrón 3, y GABARB3 (repetición de CA-dinucleótido). En algunos casos, la repetición DAT1 3' 40 bp, repetición DRD4 48 bp en el intrón 3, y GABARB3 (repetición de CA-dinucleótido) son como se divulga en Kirchheiner 2007, Johnson 2008, y Feusner 2001, respectivamente.
- 10 La puntuación de riesgo en un primer rango puede ser indicativa de un riesgo de adicción genética bajo. La puntuación de riesgo en un segundo rango puede ser indicativa de un riesgo de adicción genética moderado. La puntuación de riesgo en el tercer rango puede ser indicativa de un riesgo de adicción genética alto.
- 15 Para el riesgo de adicción genética para fármacos, el alto rango puede ser 4 y superior.
- Para el riesgo de adicción genética para fármacos, el bajo rango puede ser desde 0 hasta 1.
- 20 Para el riesgo de adicción genética para alcohol, el alto rango puede ser 8 y superior.
- Para el riesgo de adicción genética para el alcohol, el bajo rango puede ser desde 0 hasta 3.
- 25 La puntuación de riesgo puede ser la suma de los alelos en la pluralidad de alelos predeterminados encontrados por estar presentes en la muestra biológica.
- La etapa de determinar la puntuación de riesgo no incluye ponderar los resultados del análisis alélico de la muestra biológica.
- 30 La puntuación de riesgo puede identificar la estratificación de un síndrome de deficiencia de la recompensa seleccionado del grupo que consiste en alcohol, psicoestimulantes, marihuana, nicotina, opiáceos, función epigenética inducida por la alteración del receptor de opiáceos, carbohidratos, obesidad, juego, adicción al sexo, agresión, estrés, trastornos de personalidad, y búsqueda de novedad, ADHD, síndrome de Tourette, Autismo, y combinaciones de los mismos.
- 35 En general, en otro aspecto, la invención presenta un método que incluye un análisis genotípico de un panel de genes para identificar una pluralidad de alelos. La pluralidad de alelos incluye: (a) alelo G del gen DRD1; (b) alelo A1 del gen DRD2; (c) alelo C del gen DRD3; (d) alelo C del gen DRD4; (e) alelo 9R del gen DAT1; (f) alelo 7-11R del gen DRD4; (g) alelo S o L del HTTLPR; (h) alelo 4R del gen MAOA; (i) alelo G del gen COMT; (j) alelo G del gen OPRM1; y (k) alelo 181 del gen GABRB3.
- 40 En general, en otro aspecto, la invención presenta un kit para analizar un panel de genes que incluye cebadores para secuenciación (5' a 3') que consisten en (a) alelo G del gen DRD1; (b) alelo A1 del gen DRD2; (c) alelo C del gen DRD3; (d) alelo C del gen DRD4; (e) alelo 9R del gen DAT1; (f) alelo 7-11R del gen DRD4; (g) alelo S o L del HTTLPR; (h) alelo 4R del gen MAOA; (i) alelo G del gen COMT; (j) alelo G del gen OPRM1; y (k) alelo 181 del gen GABRB3.
- 45 En general, en otro aspecto, la divulgación presenta un método para establecer una estratificación de riesgo genético de una pluralidad de rangos para análisis de riesgo de adicción genética. El método incluye la etapa de seleccionar una pluralidad de alelos. Cada uno de los alelos en la pluralidad de alelos se asocia con un gen en una pluralidad de genes. Hay al menos diez genes en la pluralidad de genes. Hay al menos un alelo para cada uno de los genes en la pluralidad de genes. El método incluye adicionalmente la etapa de realizar un análisis alélico utilizando la pluralidad de alelos sobre una pluralidad de sujetos. La pluralidad de sujetos incluye una muestra estadísticamente informativa de sujetos.
- 50 Cada uno de los sujetos en la pluralidad de sujetos tiene una puntuación de riesgo no alélica. La puntuación de riesgo no alélica se ha determinado independiente del análisis alélico. El método incluye adicionalmente la etapa de asignar un recuento para cada uno de los alelos en la pluralidad de alelos predeterminados que se presentó en la muestra biológica. El método incluye adicionalmente la etapa de determinar una puntuación de riesgo alélica para cada sujeto en la pluralidad de sujetos basada en el recuento. El método incluye adicionalmente la etapa de analizar de forma comparativa las puntuaciones de riesgo no alélicas y las puntuaciones de riesgo alélicas. El análisis comparativo resulta en establecer que la puntuación de riesgo alélico predice significativamente la puntuación no alélica de la pluralidad de sujetos. La predicción significativa tiene un valor p de como máximo 0.05.
- 55 Las implementaciones de las invenciones pueden incluir una o más de las siguientes características:
- 60 El valor p puede ser como máximo 0.01.
- 65 Al menos cinco de los alelos en la pluralidad de alelos se pueden seleccionar del grupo que consiste en (a) alelo G del gen DRD1; (b) alelo A1 del gen DRD2; (c) alelo C del gen DRD3; (d) alelo C del gen DRD4; (e) alelo 9R del gen DAT1; (f) alelo 7-11R del gen DRD4; (g) alelo S o L del HTTLPR; (h) alelo 4R del gen MAOA; (i) alelo G del gen COMT; (j) alelo G del gen OPRM1; y (k) alelo 181 del gen GABRB3.

Al menos ocho de los alelos en la pluralidad de alelos se pueden seleccionar del grupo que consiste en (a) alelo G del gen DRD1; (b) alelo A1 del gen DRD2; (c) alelo C del gen DRD3; (d) alelo C del gen DRD4; (e) alelo 9R del gen DAT1; (f) alelo 7-11R del gen DRD4; (g) alelo S o L del HTTLPR; (h) alelo 4R del gen MAOA; (i) alelo G del gen COMT; (j) alelo G del gen OPRM1; y (k) alelo 181 del gen GABRB3.

La etapa de analizar comparativamente puede incluir la utilización de modelos de regresión logística.

La puntuación de riesgo no alélica se puede basar en la estratificación de un síndrome de deficiencia de la recompensa seleccionado del grupo que consiste en alcohol, psicoestimulantes, marihuana, nicotina, opiáceos, función epigenética inducida por la alteración del receptor de opiáceos, carbohidratos, obesidad, juego, adicción al sexo, agresión, estrés, trastornos de personalidad, y búsqueda de novedad, ADHD, síndrome de Tourette, Autismo, y combinaciones de los mismos.

15 Descripción detallada

La presente invención se refiere a métodos y kits para evaluar el índice de severidad del abuso de alcohol, abuso de fármacos y otros síndromes de deficiencia de la recompensa. En términos de un solo subtipo de RDS (tal como el alcoholismo o incluso el abuso de psicoestimulantes), existen problemas al utilizar un único diagnóstico. En cambio, se ha descubierto una nueva estrategia para estudios basados en la población en la que el investigador requiere una muestra de control representativa, eliminando casos confusos del grupo de control que pueden mejorar las posibilidades de encontrar diferencias significativas entre los grupos experimentales y de control. Sin embargo, este enfoque puede correr el riesgo de una "falta de representación" en el grupo de control". Incluso el uso de muestras estratificadas (muestras de ponderación) puede no ser lo suficientemente bueno. Algunos súper controles han sido criticados por el motivo de que sus familiares tendrán tasas de trastornos comórbidos inferiores a las de la población general y pueden producir una coagregación espuria de trastornos dentro de las familias. Este argumento es válido solo si la misma psicopatología que se elimina del grupo de control no se excluye entre los probandos y sus familiares. Esto proporciona la justificación para alentar a otros a comenzar a seleccionar cuidadosamente los controles verdaderos, especialmente cuando se trata de rasgos complejos tales como el RDS.

En el caso de encontrar un fenotipo "puro", especialmente en el ámbito psiquiátrico, se desconoce si la naturaleza realmente esculpió los trastornos psiquiátricos de la misma manera que se ve en el DSM-V. Esto es cierto porque los comportamientos son muy complejos, por lo que los genes específicos para las tendencias de comportamiento (ansiedad, impulsividad, compulsividad, evitación de daños, agresividad, adicción, etc.) solo explican una pequeña contribución de riesgo al fenotipo general. Por lo tanto, debe haber un cambio en el énfasis en el enfoque de "sistemas biológicos", que tenga en cuenta la interrelación de los comportamientos disfuncionales, la naturaleza poligénica de los trastornos psiquiátricos y el entorno (epigenético).

El concepto establecido de RDS se debe considerar para ayudar a definir esta compleja serie de comportamientos y disfunciones moleculares asociadas. Las víctimas de RDS portan genes polimórficos en rutas dopaminérgicas que resultan en la función hipodopaminérgica causada por un número reducido de receptores de dopamina D2, síntesis reducida de dopamina (dopamina beta-hidroxilasa), reducción de la liberación neta de dopamina presináptica, aumento de la depuración sináptica debido a una gran cantidad de sitios de transporte de dopamina y bajas densidades de receptores D2 que los hacen más vulnerables a las actividades adictivas.

La necesidad de un conjunto unificado de síntomas relacionados en el fenotipo afectado es importante no solo para los estudios de asociación basados en la población, sino también para el análisis de vinculación. El concepto de RDS involucra genes compartidos y tendencias de comportamiento que incluyen la dependencia del alcohol, psicoestimulantes, marihuana, nicotina (fumar), opiáceos, función epigenética inducida por la alteración del receptor de opiáceos, carbohidratos (glotonería de azúcar), obesidad, juego patológico, adicción al sexo, agresión, estrés, ciertos trastornos de la personalidad e incluso la búsqueda de novedad. Si bien hay poligénicos involucrados, el tema común en todas estas sustancias y comportamientos es que inducen la liberación de dopamina presináptica en el NAc. Los trastornos del espectro tales como el TDAH, síndrome de Tourette y autismo se incluyen debido a la desregulación de la dopamina.

Un grupo de control tamizado es esencial para descubrir asociaciones basadas en la población en las que la enfermedad en cuestión puede ser muy común. Se sabe que aproximadamente un tercio de la población cumple con los criterios de por vida para los trastornos psiquiátricos comunes de acuerdo con los resultados de la encuesta del Área de Captación Epidemiológica (ECA). Dado que el RDS es un "trastorno poligénico" que involucra múltiples genes y muchos polimorfismos y requiere un número umbral de poligenes, los individuos no afectados en la población también portan algunos de estos genes. El gen del receptor de dopamina D2 (alelo A1) está presente en aproximadamente un tercio de los estadounidenses no seleccionados (29.4 % en 3329 sujetos estudiados hasta 2003). [Blum 2000].

65 Evaluación del riesgo de adicción genética

El solicitante ha descubierto que un comportamiento RDS no específico multifacético se debe considerar como el verdadero fenotipo “recompensa” (endofenotipo) en lugar de un comportamiento RDS de un solo subconjunto, tal como el alcoholismo. Esto puede ser un cambio de paradigma en futuros estudios de asociación y vinculación.

5 Muy pocos comportamientos dependen de un solo gen. Los complejos de genes (poligénicos) impulsan la mayoría de los comportamientos basados en la herencia de las poblaciones, lo que sugiere que los paneles genéticos o algoritmos organizados en índices genéticos, tal como la Evaluación del Riesgo de Adicción Genética, pueden ser clínicamente valiosos para determinar el riesgo. Ciertamente, las funciones anormales de estos sistemas cerebrales se pueden deber a factores genéticos específicos que interactúan con factores ambientales y es probable que la comprensión de las interacciones de estos componentes conduzca a un mejor tratamiento.

Si bien ha habido otros informes que ayudan a establecer el concepto de RDS, hay muchos genes y SNP involucrados en el desarrollo de una verdadera Evaluación del Riesgo de Adicción Genética.

15 Los resultados de esto pueden tener implicaciones directas tanto para el diagnóstico como para el tratamiento objetivo de los comportamientos de RDS al analizar la asociación de estos genes de recompensa y los comportamientos de RDS. Esto destaca la posible participación de al menos la disfunción del receptor D2 como un antecedente genético importante de la adicción como enfermedad, pero no como el único gen de riesgo. De acuerdo con la teoría de los mecanismos neurogenéticos comunes, el Solicitante considera ahora que el RDS es un fenotipo básico que cubre muchos comportamientos de recompensa y trastornos psiquiátricos pertinentes, que incluyen los trastornos del espectro que deberían incluirse en el futuro en el DSM como un marco genético para muchos diagnósticos psiquiátricos. De hecho, la publicación SAGE ha aceptado recientemente el RDS como un trastorno psiquiátrico importante y aparecerá en la Enciclopedia de Psicología Anormal (2015). Los genes de recompensa han sido ampliamente estudiados e incluyen, entre otros, los receptores D1-D5; Transportador de Dopamina (DAT1); receptores de Serotonina 2a/c; transportador de Serotonina (5-HTTLPR); receptor opiáceo Mu (OPRM1); receptor GABA (GABRB3); catecol-o-metiltransferasa (COMT) va1158met; y promotor del gen MAO-A VNTR entre otros. Véase Tabla 2.

Tabla 2: Panel de Análisis de Riesgo de Adicción Genética Avanzada de Genes de Recompensa

Gen del Receptor de Dopamina D1	Gen del Receptor de opiáceo Mu
Gen del Receptor de Dopamina D2	Gen del Receptor GABA-B3
Gen del Receptor de Dopamina D3	Gen PENK
Gen del Receptor de Dopamina D4	Gen de Monoamina Oxidasa A Gen de Catecol-O-Metiltransferasa
Receptor de Serotonina 2a	Red de Genes del Citocromo P450
Gen Transportador De Serotonina	Gen del receptor MNDA

El solicitante ha descubierto que la evaluación utilizando una prueba poligénica para determinar el riesgo genético estratificado de pacientes adictivos que ingresan a las instalaciones de tratamiento sugiere un cambio de paradigma al proporcionar información importante sobre la predisposición de un individuo al RDS en función de una serie de alelos de riesgo. La validación de estos resultados proporciona un impulso para la selección adecuada y cuidadosa de un mapa genético completo para todos los comportamientos adictivos.

Aunque ha habido una plétora de investigaciones sobre muchos polimorfismos de genes de recompensa y riesgo de RDS que incluyen fármacos y alcohol, no ha habido un análisis cuantitativo que revele un método por el cual el recuento de alelos de riesgo resulta en un predictor significativo de la severidad de la adicción. De hecho, ha habido una continua controversia sobre qué pasaría si algún gen candidato predice la severidad. En patentes anteriores (tal como la Patente de Estados Unidos No. 6,955,873, otorgada a Blum y otras solicitudes de patente sugeridas de 32 a cientos de genes).

Se ha descubierto un panel de genes y alelos asociados. Este panel ha demostrado predecir significativamente los resultados clínicos según lo determinado por el instrumento de versión ASI-Media autoinformado. Una prueba de lápiz y papel obligatoria en trece estados de los Estados Unidos y en muchos países del mundo. En comparación con la TABLA 2 anterior (que se refiere a una lista generalizada de genes de recompensa), el panel incluye el análisis de los genes y los alelos correspondientes establecidos en la Tabla 3.

Tabla 3: Panel de Evaluación del Riesgo de Adicción Genética

ID de secuencia No	Gen/Genotipo	Ubicación/Genotipo	Alelo de Riesgo
SEQ ID NO 1	MAOA-uVNTR (3' repetición de 30 bp)	+nnnnn 3' Repetición de 30 par base (R) sobre solo el cromosoma X	3.5-5R
	DAT1 (3' repetición de 40 bp)	+nnnnn 3' Repetición de 40 Par Base (R) ≤ 9R es corta, > 9R es larga	9R

	DRD4 (Intrón 3 con repetición de 48 bp)	+nnnn Intrón 3, Repetición de 48 par base (R) < 7R es corta, >7R es larga	7R+
SEQ ID NO 2	5HTTLPR (43 bp 5' ins/del) + rs25531	+nnnnn 43 par base en inserción/supresión 5'	S o L
SEQ ID NO 3	rs4532, DRD1	+48 A>G	G
SEQ ID NO 4	rs1800497, DRD2 TaqI A1	+nnnnn A>G	A1
SEQ ID NO 5	rs6280, DRD3 (Gly-Ser)	+nnnnn C>T	C
SEQ ID NO 6	rs1800955, DRD4 -521 C/T	-521 C>T	C
SEQ ID NO 7	rs4680, COMT (Val-Met)	+nnnnn A>G	G
SEQ ID NO 8	rs1799971,OPRM1 (Asn-Asg)	+nnnnn A>G	G
	GABRB3 (repetición de CA-dinucleótido)	+nnnn Repetición de CA (171 - 201)	181

Nadie ha informado previamente un análisis centrado en esta combinación de genes y alelos respectivos. De hecho, cualquier cambio en esta lista ha demostrado convertir este análisis en un predictor no significativo.

5 En una realización, el genotipo DAT1 es la repetición DAT1 3' de 40 bp divulgada en Kirchheiner 2007.

En una realización, el genotipo DRD4 es la repetición DRD4 de 48 bp en el intrón 3 divulgada en Johnson 2008.

En una realización, la repetición GABARB3 de CA-dinucleótido se divulga en Feusner 2001.

10

Muestreo

Los participantes se identificaron y se inscribieron en asociación con Inflexxion y ocho centros de tratamiento dispersos geográficamente ubicados en los Estados Unidos. Los ocho centros de tratamiento incluyeron: Addiction Recovery Resource, Catholic Charities of Maine, Center for Psychiatric Medicine, G & G Holistic Addiction Treatment Center, Integrative Life Center, Malibu Beach Recovery Center, y Meadows Edge Recovery Center y centro de tratamiento de Tennessee. De acuerdo con INGENE, LLC (Austin, Texas) y Dominion Diagnostics (North Kingstown, Rhode Islandia), cada centro de tratamiento acordó identificar, autorizar e inscribir a 40 sujetos. Los protocolos de estudio fueron revisados y aprobados por la Universidad de Vermont, la Facultad de Medicina (Burlington, VT) y las Juntas de Revisión Institucional (IRB) de la Fundación PATH (NY). Para la protección del paciente, los datos de genotipado se conformaron a las prácticas estándar de HIPPA y de la Ley de No Discriminación de Información Genética (GINA) exigidos por la ley. Los participantes dieron su consentimiento informado por escrito.

15

20

Questionario y evaluaciones biológicas

25

Los sujetos fueron entrevistados y evaluados por un clínico capacitado para cualquier dependencia de sustancias utilizando una batería estándar de cuestionarios de diagnóstico y pruebas biológicas. Las pruebas en papel y lápiz incluyeron el Cuestionario de Historial de Fármacos y los Cuestionarios de Severidad de Síntomas (73-Stranz y Welsh, 1995), y el Índice de Severidad de Adicción. Las pruebas biológicas incluyeron: pruebas de fármacos en orina, prueba de alcoholímetro y una prueba de CBC basada en sangre. Los datos de uso de alcohol y fármacos se obtuvieron mediante el Índice de Encuesta de Adicción Multi-Media (ASI-MV).

30

Las puntuaciones de severidad se determinaron utilizando un algoritmo patentado desarrollado por Inflexxion. Las puntuaciones en las clasificaciones de severidad podrían variar entre 'sin problema real' (0) a 'problema extremo' (9) e incluyeron preguntas sobre el consumo de fármacos de por vida. Clínicamente, las puntuaciones en las escalas de clasificación de severidad se utilizaron para identificar problemas de consumo de fármacos y planificación del tratamiento. En estos datos, las puntuaciones de severidad de alcohol y fármacos de ASI estaban ligeramente sesgadas hacia la izquierda (Alcohol: asimetría = -0.211, curtosis = -1.473; Fármacos: asimetría = -0.922, curtosis = -0.483), y sugirieron que esta muestra de pacientes tenía un mayor número de sujetos con puntuaciones de alcohol más bajas que altos.

35

40

Recolección de muestras y cadena de custodia

La saliva se recolectó utilizando un proceso mínimamente invasivo que requiere que un sujeto escupa en tubos de recolección suministrados por el Instituto de Genética del Comportamiento (IBG), Universidad de Colorado Boulder, Boulder, Colorado. Los tubos de muestras se etiquetaron con una identificación predefinida y una barra codificada por Dominion Diagnostics para limitar los errores de muestreo. Los sujetos suministraron 2 ml de saliva que se estabilizó utilizando un tampón compuesto por dodecilsulfato de sodio, tampón TRIS-EDTA, pH 8.0 y proteinasa K. Los tubos se almacenaron a temperatura ambiente en cada centro de tratamiento y se enviaron a Dominion Diagnostics después de haber inscrito a 40 sujetos. Luego se enviaron muestras de saliva de patente a AS en IBG para la extracción y aislamiento de ADN utilizando protocolos detallados en otra parte (74-Haberstick et al, 2014).

45

50

Genotipado

Se proporciona un índice de los genes incluidos en el panel de puntuación de riesgo de adicción genética y los polimorfismos de riesgo específico en la TABLA 4. Cada variante genética o polimorfismo se seleccionó en base a RDS y a la contribución conocida a un estado de bajo funcionamiento dopaminérgico o hipodopaminérgico en el circuito de recompensa cerebral.

Tabla 4: Panel de Genotipo de Escala de Riesgo de Adicción Genética

Polimorfismo	Gen	Variantes	Alelo de riesgo
Polimorfismos de un Solo Nucleótido (SNP)			
rs4532	Receptor de Dopamina D1 (DRD1)	A/G	G
rs1800497	Receptor de Dopamina D2 (DRD2)	A1 (A)/A2 (G)	A1
Drs6280	Receptor de Dopamina D3(DRD3)	C/T	C
rs1800955	Receptor de Dopamina D4 (DRD4)	C/T	C
rs4680	Catecol-O-Metiltransferasa (COMT)	A (Met)/G (Val)	G
rs1799971	Receptor opiáceo Mu (OPRM1)	A (Asn40)/G (Asp40)	G
Repeticiones de Secuencia Simple (Repeticiones en Tándem e Inserción/Supresiones de Número Variable)			
3' repetición de 40 pares base	Receptor de transportador de dopamina (DAT1)	9 Repetición (R)	9R

Los ensayos para Amelogenin, MAOA-uVNTR, DRD4, DAT1 y 5HTTLPR [se realizaron en una única reacción de PCR múltiple que consta de dos µl de ADN (20 ng o menos), MgCl₂ 1.8 mM, 180 µM de cada desoxinucleótido (dNTP, NEB), con 7'-deaza-2'-deoxiGTP (deaza-GTP, Roche Applied Science, Indianápolis, Indiana) sustituido por la mitad del dGTP, DMSO al 10 %, cebadores directos (marcados con fluorescencia) e inversos (secuencias y concentraciones en la TABLA 5, una unidad de polimerasa AmpliTaq Gold® (Life Technologies Grand Island, Nueva York) y 1x de tampón PCR II en un volumen total de 20 µl. El ensayo para la repetición del dinucleótido en GABRB3 se analizó por separado en una reacción de PCR que consiste de dos µl de ADN (20 ng o menos), MgCl₂ 2.5 mM, 200 µM de cada desoxinucleótido (dNTP, NEB), cebadores directos (marcados con fluorescencia) e inversos, una unidad de polimerasa AmpliTaq Gold® y 1x tampón PCR II en un volumen total de 20 µl. Las amplificaciones se realizaron utilizando un método de PCR de contacto modificado. [Anchordoquy 2003; Don 1992] Una incubación a 95 °C durante 10 minutos fue seguida por dos ciclos de 95 °C durante 30 s, 65 °C durante 30 s y 72 °C durante 60 s. La temperatura de hibridación disminuyó cada dos ciclos desde 65 °C hasta 57 °C en incrementos de 2 °C (10 ciclos en total), seguido de 30 ciclos de 95 °C durante 30 s, 55 °C durante 30 s y 72 °C durante 60 s, una incubación final de 30 minutos a 72 °C y una retención a 4 °C. Cada placa de 96 pozos incluía estándares de ADN y de no plantilla de genotipo conocido.

Tabla 5: Marcador, Cebador y Rangos de Tamaño Resultante de polimorfismos caracterizados

Gen	Secuencia (5' → 3')	Conc. (nM)	Rango de tamaño (bp)
Amelogenin-F	NED-CCC TGG GCT CTG TAA AGA ATA GTG	300	103, 109
Amelogenin-R	ATC AGA GCT TAA ACT GGG AAG CTG	300	(X, Y)
MAOA-uVNTR-F	6FAM-ACA GCC TGA CCG TGG AGA AG	200	291-381
MAOA-uVNTR-R	GAA CGG ACG CTC CAT TCG GA	200	(2R-5R)
DAT1-F	6FAM-TGT GGT GTA GGG AAC GGC CTG AG	300	200-600
DAT1-R	CTT CCT GGA GGT CAC GGC TCA AGG	300	(3R-13R)
DRD4-F	VIC-GCT CAT GCT GCT GCT CTA CTC GGC	600	279-711
DRD4-R	CTG CGG GTC TGC GGT GGA CTC TGG	600	(2R-11R)
5HTTLPR-F	NED-ATG CCA GCA CCT AAC CCC TAA TGT	600	376, 419-549
5HTTLPR-R	GGA CCG CAA GGT GGG CGG GA	600	(S, L-XL)
5HTTLPR-Hu-F	6FAM-GCA ACC TCC CAG CAA CTC CCT GT	500	138, 181
5HTTLPR-Hu-R	GAG GTG CAG GGG GAT GCT GGA A	500	(S, L)
GABRB3-F	6FAM-CTC TTG TTC CTG TTG CTT TCA ATA CAC	500	171 -201
GABRB3-R	CAC TGT GCT AGT AGA TTC AGC TC	500	

Tabla 6: Secuencias de ciertos polimorfismos utilizados en los métodos de la presente invención

Polimorfismo	Secuencia
MAOA-uVNTR	ACCGGCACCGGCACCACTACCCGCACCACT

rs25531	CTCGCGGCATCCCCCTGCACCCC[A/G] GCATCCCCCTGCAGCCCCCCCAGC
rs4532	GGGGCTCTGACACCCCTCAAGTTCC[C/T] AAGCAGGGAATAGGGGTCAGTCAGA
rs1800497	TGGACGTCCAGCTGGGCGCCTGCCT[C/T] GACCAGCACTTTGAGGATGGCTGTG
rs6280	GCCCCACAGGTGTAGTTCAGGTGGC[C/T] ACTCAGCTGGCTCAGAGATGCCATA
rs1800955	GGGCAGGGGGAGCGGGCGTGGAGGG[C/T] GCGCACGAGGTCGAGGCGAGTCCGC
rs4680	CCAGCGGATGGTGGATTTGCTGGC[A/G] TGAAGGACAAGGTGTGCATGCCTGA
rs1799971	GGTCAACTTGTCCCACTTAGATGGC[A/G] ACCTGTCCGACCCATGCGGTCCGAA

Una descripción del ensayo para rs25531 (A/G) se detalla en otra parte [Haberstick 2014]. Este SNP se ubica en la forma larga del 5HTTLPR y permite la determinación de los alelos L_A y L_G. El sitio 5HTTLPR que contiene el SNP se amplificó en una única reacción de PCR compuesta como se describió anteriormente con los cebadores descritos en Hu 2005. Las condiciones de ciclado fueron una incubación de 95 °C durante 10 min seguido de dos ciclos de 95 °C durante 30 s, 65 °C durante 30 s, y 72 °C durante 60 s, dos ciclos de 95 °C durante 30 s, 63 °C durante 30 s, y 72 °C durante 60 s, 30 ciclos de 95 °C durante 30 s, 61 °C durante 30 s y 72 °C durante 60 s, una incubación final de 30 minutos a 72 °C y una retención a 4 °C. Después de la amplificación por PCR, se incubaron los productos de PCR [Wendland 2006] con cinco unidades de MspI (NEB, Ipswich, Massachusetts) durante 90 minutos a 37 °C. Un fragmento de digestión de restricción de 97 pb es indicativo del alelo L_G. Para la codificación de la puntuación de riesgo de adicción genética, se informaron dos alelos combinados: el S' que consiste en S, y los alelos L_G y L' que consiste en alelos L_A y extralargos. Tenga en cuenta que S' y L' se refieren a contenedores de actividad compuesta y que estos no son alelos individuales per se. Cada placa de 96 pozos incluía estándares de ADN y de no plantilla de genotipo conocido.

Después de la amplificación, los productos de PCR y los digestos de MspI se purificaron por filtración utilizando los kits de limpieza de secuenciación de ADN ZR-96 Zymo Research (Irvine, California) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se combinó una alícuota de productos de PCR con tampón de carga que contenía el estándar de tamaño (Rox1000, Gel Company, San Francisco, California) y se analizó con un Analizador Genético ABI PRISM® 3130xl (Life Technologies) utilizando los protocolos suministrados por la compañía. Los datos fueron analizados con el software Genemapper y los tamaños de alelos resultantes se revisaron independientemente por dos investigadores.

Los ensayos de SNP para TaqIA (rs1800497), COMT va1158met (rs4680), DRD1 (rs4532), DRD3 (rs6280), DRD4-521C/T (rs1800955) y OPRM1 (rs1799971) se realizaron utilizando una nucleasa fluorogénica de 5' (Método Taqman®, ABI, Foster City, California) [Haberstick 2004] en un Sistema de Detección de Secuencia ABI Prism® 7000 a través del modo de discriminación alélica. [Livak 1999].

Las reacciones que contenían 20 ng de ADN se realizaron en reacciones de 15 µl con la Mezcla Maestra de PCR Universal TaqMan® utilizando las condiciones de ciclado estándar. Las concentraciones de cebador y sonda fueron 900 µM y 200 µM, respectivamente. Las secuencias de los cebadores y sondas TaqIA y COMT son sondas se proporcionan en la TABLA 7. Todos los ensayos restantes se ordenaron directamente de Life Technologies. Cada placa de 96 pozos incluía estándares de ADN y de no plantilla de genotipo conocido.

Tabla 7: Secuencias de Sonda y Cebador para Polimorfismos COMT va1158met y DRD2 Taq1A

Gen	Sonda/Cebador	Secuencia (5' → 3')
COMT	Sonda T (met)	VIC-ACCTTGTCTTCATGCCAGCGAAAT-NFGMGB
	Sonda C (val)	FAM-CCTTGTCTTCACGCCAGCGA-NFQMGB
	Cebador Directo	TCGAGATCAACCCCGACTGT
	Cebador Inverso	AACGGGTCAGGCATGCA
DRD2	Sonda T (A1)	VIC-CCTGCCTTGACCAGC-NFQMGB
	Sonda C (A2)	FAM-CTGCCTCGACCAGC-NFQMGB
	Cebador Directo	GTGCAGCTCACTCCATCCT

	Cebador Inverso	GCAACACAGCCATCCTCAAAG
--	-----------------	-----------------------

Análisis estadístico

5 Se realizaron pruebas de media, desviaciones estándar, chi-cuadrado y regresión utilizando SPSS (Versión 21.0). Las pruebas exactas de Fischer se utilizaron para probar si existían diferencias significativas entre las puntuaciones de riesgo de severidad de alcohol y fármacos dicotomizados. Para el alcohol, las puntuaciones iguales o inferiores a la media de 4.65 se consideraron 'bajas' (0), mientras que las puntuaciones por encima a la media se consideraron 'altas' (1). Para las puntuaciones de severidad del fármaco, las puntuaciones en o por debajo de 4 se consideraron 'bajas' (0) mientras que las puntuaciones superiores se consideraron 'altas' (1). Se utilizaron análisis de regresión para
10 examinar la asociación entre la puntuación de riesgo genético y las medidas de puntuación de riesgo de severidad, ajustando por sexo (femenino = 0, masculino = 1) y edad (continua). Sin embargo, las puntuaciones en las escalas de riesgo de severidad de alcohol y fármacos estaban ligeramente sesgadas hacia valores más bajos, se examinó el impacto de las transformaciones de raíz cuadrada y log en la distribución de puntuaciones. En una línea a priori, a los alelos de riesgo se les asignó una puntuación de 1. La puntuación de riesgo genético de un individuo era la suma de
15 todos los alelos de riesgo para ese individuo.

El porcentaje de prevalencia de los alelos de riesgo se calculó y la severidad se clasificó en 273 sujetos como: Todos los sujetos enviaron mensajes de texto positivos para la severidad del riesgo, 40.4 % (que tienen 9 o más alelos de riesgo de RDS), 30.9 % (7 u 8 alelos de riesgo de RDS) y 28.7 % (6 o menos alelos de riesgo de RDS).

20 Se confirmó el equilibrio de Hardy Weinberg (HWE) para cada gen utilizando pruebas de χ^2 .

Ejemplo No 1

25 En una realización de la presente invención, se realizó un análisis para la estratificación del riesgo genético para el Síndrome de Deficiencia de la Recompensa (RDS). Los polimorfismos genéticos [DRD1 = G; DRD2 = A1; DRD3 = C; DRD4 = C; DAT1 = 9R; DRD4 = 7-11R; HTTLPR = S o L; MAOA = 3.5-5R; COMT = G; OPRM1 = G; y GABRB3 = 181] se probaron en 393 participantes (o sujetos) de los cuales 273 de estos sujetos completaron el cuestionario y las evaluaciones biológicas.

30 Sin controlar la edad o el género utilizando el análisis de χ^2 , se encontró una asociación predictiva significativa entre individuos con 7 o más alelos de riesgo y riesgo de severidad del alcohol ($\chi^2 = 8.38$, $df = 1$, $p < 0.004$). Los resultados de la regresión logística mostrados por edad ($b = 0.45$, S.E. = 0.11, Wald $\chi^2 = 15.29$, $df = 1$, $p < 0.001$) y por tener un mayor número de alelos de riesgo de RDS ($b = 0.741$, S.E. = 0.29, Wald $\chi^2 = 6.39$, $df = 1$, $p = 0.012$) pronosticaron
35 significativamente las puntuaciones de severidad de alcohol recolectadas utilizando el Índice de Severidad de Adicción en Versión Media (ASI-MV). Experimentos similares también se lograron para la puntuación de riesgo de severidad ASI-Fármaco (opioides y psicoestimulantes).

40 Un valor p bajo (menor de 0.05) es altamente significativo. Los resultados anteriores fueron particularmente sólidos, ya que los valores de p observados fueron de alrededor de 0.01 y mejores. Esto es indicativo de que existe una relación entre la evaluación de riesgos generada a partir del agrupamiento que se está probando y la severidad del riesgo del grupo investigado.

Ejemplos comparativos (cambio de alelos)

45 Los alelos de este panel probado (o agrupamiento) se evaluaron adicionalmente mediante el cambio de un alelo de riesgo específico en el agrupamiento como se establece en el Ejemplo No. 1. Los datos resultantes revelaron una asociación no significativa con la versión ASI-Media para severidad del alcohol

50 Se descubrió que cuando se evaluó el alelo de riesgo para el MAOA = 3R en lugar del 4R (y manteniendo los otros alelos del agrupamiento iguales que en el ejemplo establecido anteriormente), no se obtuvo asociación significativa ($p = 0.819$).

55 Se obtuvo un hallazgo similar para el alelo de riesgo COMT que cambia de Val/met a met/met (de nuevo manteniendo los otros alelos del agrupamiento iguales que en el ejemplo establecido anteriormente) por lo que no se obtuvo significación en términos de asociación con la severidad del alcohol predicha por la versión ASI-Media ($p = 0.634$).

También se descubrió que se perdió importancia cuando el alelo de riesgo del DAT1 se cambió de 9R a 10R ($p = 0.728$) (manteniendo de nuevo los otros alelos del agrupamiento iguales que en el ejemplo establecido anteriormente).

60 También es importante que el análisis sea predictivo de la severidad del alcohol cuando el sujeto llevaba 8 o más alelos de riesgo. Las pruebas 7; 6; 5; 4; 3; 2 y 1 no predijeron el riesgo. Se obtuvieron hallazgos similares para la predicción de la severidad del fármaco, excepto que el corte fue de 4 o más como predictor.

65 Ejemplos comparativos (ponderación)

En términos de ponderación de los genes y los alelos, el valor de cada alelo de riesgo puede mostrar un riesgo más poderoso por lo cual también se evaluó utilizando el mismo conjunto de datos. La ponderación estándar implica la utilización de supercontroles contra el índice de severidad ASI-Alcohol y el índice de severidad del fármaco. En este método, el problema de los cocientes de probabilidades (OR) resultante se utiliza para determinar el algoritmo apropiado para ponderar cada alelo genético representativo.

Como no se utilizaron supercontroles (comportamientos no RDS en pro y en familia), se evaluaron una serie de genes que parecían ser más importantes para otros en términos de, por ejemplo, recaída y restablecimiento de fármacos.

Por ejemplo, se ha encontrado que el alelo DRD2 A1 está significativamente involucrado en recaídas, mortalidad y hospitalización. Estudios previos que implicaban asociación con comportamientos adictivos habían identificado una importancia con solo A1. En consecuencia, el valor de puntuación para una indicación positiva del alelo DRD2 A1 recibió un valor de 2 (en lugar de una puntuación de 1 como se calificó previamente en el Ejemplo No. 1 para todas las indicaciones positivas de un alelo). Cuando se realizó esta ponderación (y todos los demás alelos permanecieron ponderados con una puntuación de 1 para una indicación positiva), los resultados fueron menos significativos que en el Ejemplo, con un valor p igual a 0.059 ($p = 0.059$). Los valores de P se determinaron como se establece en el análisis χ^2 .

La repetición de esta ponderación solo para el gen/alelo COMT dio como resultado un hallazgo similar ($p = 0.600$). Adicionalmente, repetir esta ponderación solo para el gen DAT1 también mostró que los resultados fueron menos significativos ($p = 0.154$).

Estos datos de análisis comparativos muestran que la ponderación de los resultados del análisis de alelos (es decir, en relación con un alelo con respecto a los otros) no es tan significativa como la combinación de pruebas que se produce dentro del agrupamiento de genes/alelos. Se considera que un análisis con supercontroles puede proporcionar la ponderación de uno o más de los genes/alelos; sin embargo, dicha ponderación no es necesaria. Esto indica además la técnica de recuento de alelos de riesgo sin la necesidad de supercontroles.

Evaluación de puntuación

Por esto, ahora se ha descubierto una cuantificación que realmente muestra un valor predictivo cuando se considera el resultado clínico. Una cosa es evaluar, por ejemplo, el riesgo de fármacos y alcohol utilizando controles de casos en comparación con resultados individuales en términos de polimorfismos genéticos, pero sin una predicción real del riesgo clínico según lo determinado por el ASI como ejemplo, una lista de genes y alelos es simplemente un juego de suposición.

Utilizando el grupo expuesto en la TABLA 3, los sujetos probados se clasificaron en rangos de riesgos de aditivos genéticos bajos, moderados y altos para fármacos y alcohol. Por ejemplo, para este panel de alelos, una puntuación en los rangos de 0 a 1, 2 a 3 y 4 y superiores, corresponde a bajo, moderado y alto para los riesgos de aditivos genéticos para fármacos. Adicionalmente, por ejemplo, para este panel de alelos, una puntuación en los rangos de 0 a 3, 4 a 7 y 8 y superiores, corresponde a bajo, moderado y alto para los riesgos de aditivos genéticos para el alcohol.

Se observa adicionalmente que se pueden normalizar los resultados del análisis de alelos, es decir, dividir la puntuación (o recuento) por la puntuación total posible. Esto proporciona rangos alternativos que se pueden clasificar como de bajo, moderado y alto riesgo en vista de los alelos probados. Dichos rangos serían, por ejemplo, 0 a 0.3, 0.31 a 0.59 y 0.6 a 1, y se clasificarían como de riesgo bajo, moderado y alto para los alelos probados. Es de destacar que dichos rangos no son los mismos que los establecidos anteriormente para los riesgos de aditivos genéticos para los fármacos y el alcohol. Por el contrario, estos proporcionan una métrica en cuanto al porcentaje de estos alelos que un sujeto tiene en el panel, cuyos alelos se han correlacionado con riesgos de aditivos genéticos. Dichos resultados normalizados proporcionan así una métrica de dónde cae el sujeto en un espectro, con un porcentaje más alto que indica que el sujeto tiene una mayor probabilidad de riesgo.

La Tabla 8 muestra los resultados de una prueba de riesgo de adición genética que tienen una puntuación de riesgo y una puntuación de riesgo normalizada indicadas.

Tabla 8: Resultados de la prueba de Puntuación de Riesgo de Adicción Genética

Médico	Muestra	Paciente
Nombre: Dr. X	Tipo de muestra:	Nombre: Paciente Y
Dirección:	Fecha de recolección:	Fecha de nacimiento:
	Tiempo recolectado: Fecha de recepción: Fecha de informe:	ID de acceso: ID de laboratorio: Género:
Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP)		

Gen	Ubicación/ Genotipo	Alelo de Riesgo	Resultado	Recuento de alelos de Riesgo
COMT	+nnnnn A > G	G	G,G	2
DRD1	+48 A > G	G	A,A	0
DRD2	+nnnnn A > G	A	A,A	2
DRD3	+nnnnn C > T	C	C,T	1
DRD4	-521 C > T	C	C,T	1
OPRM1	+nnnnn A > G	G	G,A	1
Repeticiones en Tándem e Inserción/Supresiones de Número Variable				
Gen	Ubicación/ Genotipo	Alelo de Riesgo	Resultado	Recuento de alelos de Riesgo
DAT1	+ nnnnn 3' Repeticiones de 40 pares base (R) ≤ 9R es corto, > 9R es largo	9R	S,L	1
DRD4	+ nnnn Intrón 3, Repeticiones de 48 pares base (R) < 7R es corto, > 7R es largo	> 7, 8, 9, 10 u 11 (R)	S,L	1
5HTTPLPR	+ nnnnn 5' inserción/supresión de 43 pares base	S o L	S',S'	2
MAOA	+ nnnnn 3' Repeticiones de 30 pares base (R) solo sobre el cromosoma X	4R	5R	0
Repeticiones de dinucleótidos				
GABRA3	+ nnnn Repetición de CA (171 - 201)	181	181, 194	1
		Recuento de alelos de riesgo		12 de posibles 22
		Puntuación de riesgo		12
		Puntuación de riesgo normalizado		0.55

Como se ve en la Tabla 8, el recuento de alelos de riesgo se basa en la indicación positiva de los alelos en el panel analizado. Por ejemplo, el análisis alélico de la muestra mostró que para el alelo G del gen COMT, el resultado fue "G, G", que da un recuento de 2. Adicionalmente, el análisis alélico de la muestra mostró que para el alelo G del gen DRD1, el resultado fue "A, A" que da un recuento de 0. También, por ejemplo, el análisis alélico de la muestra mostró que para el alelo C del gen DRD3, los resultados fueron "C, T" que da un recuento de 1. Los recuentos de riesgo obtenidos para cada uno de los alelos probados se sumaron para obtener la puntuación de riesgo que, como se muestra en la muestra de la TABLA 8, fue 12. Como la puntuación de riesgo máximo fue 22 (dado que se probaron 11 alelos), la puntuación normalizada fue de 0.55 (que también se muestra en la Tabla 8).

Dicha puntuación de riesgo de 12 es indicativa de un paciente que tiene un alto riesgo de adicción genética para el alcohol (porque la puntuación de riesgo es superior a 8) y un alto riesgo de adicción genética a los fármacos (porque la puntuación de riesgo es superior a 4). Dicha puntuación de riesgo normalizada de 0.55 (es decir, 55 %) cae en la categoría de ser un riesgo de adicción modesto en la escala normalizada (que es un análisis más conservador). Esto refleja que existen múltiples estratificaciones que se pueden utilizar para determinar los riesgos adictivos genéticos.

La evaluación de los grupos de bajo, moderado y alto riesgo se cuantifica por la puntuación recibida al utilizar el panel de alelos. Si se utilizó un límite de conteo de ocho alelos y superiores, no se obtuvo una predicción significativa utilizando el índice de severidad de alcohol-ASI. Más aún, esto era cierto incluso si el Solicitante se adhirió a un recuento alélico estricto basado en los alelos de riesgo presentados anteriormente como se ve en la Tabla 3. Sin embargo, cuando se utilizó el punto de corte de siete alelos de riesgo, se observaron asociaciones altamente significativas.

El hecho de que haya muchos alelos de riesgo para varios genes de recompensa (especialmente para los opiáceos como solo un ejemplo), fue solo cuando se utilizó un proceso para identificar una combinación adecuada de genes y alelos (que tiene un valor p bajo) que se encontró la relación entre este agrupamiento y la puntuación de riesgo. Es un descubrimiento significativo que no solo se debe seleccionar un grupo apropiado de genes para probar, sino que también se deben utilizar los alelos apropiados de cientos de SNPS.

Mediante este proceso de selección de genes y adicionalmente de selección de alelos para probar para obtener una puntuación que corresponde a rangos de riesgo bajo, moderado y alto observables (con valor p bajo), el Solicitante ha podido crear una prueba útil que se puede aplicar fácil y rápidamente.

Como representante de la dificultad para seleccionar el grupo apropiado de genes y alelos, lo siguiente es indicativo de pruebas para opiáceos.

En términos de, por ejemplo, sensibilidad al dolor, se han estudiado ciertos genes candidatos. Los genes candidatos, tales como aquellos de catecol-O-metiltransferasa, el receptor de melanocortina-1, la guanosina trifosfato ciclohidrolasa y el receptor opioide μ , se han investigado intensamente y se han encontrado asociaciones con la sensibilidad al dolor y con los requisitos analgésicos en estados de dolor agudo y crónico. En contraste, se describirá bien el impacto de las variantes genéticas de las enzimas metabolizadoras de fármacos en la respuesta a la farmacoterapia. Los polimorfismos de las enzimas del citocromo P450 influyen en la eficacia analgésica de la codeína, el tramadol, los antidepresivos tricíclicos y los fármacos antiinflamatorios no esteroideos. Junto con genes candidatos adicionales, son objetivos principales de la investigación en curso para identificar asociaciones entre el perfil genético de un individuo y la respuesta a los fármacos (farmacogenética). Más aún, la sensibilidad y la tolerancia a la morfina se determinaron en 2 cepas de ratones, BALB/cBy y C57BL/6By, sus híbridos F1 recíprocos y siete de sus cepas endogámicas recombinantes. La sensibilidad se estableció con base en la actividad locomotora después de la administración de solución salina, 10 o 20 mg/kg de clorhidrato de morfina, mientras que la tolerancia se estableció de acuerdo con el método de "placa caliente" después de la administración única o repetida de solución salina, 5, 10 o 20 mg/kg de clorhidrato de morfina. Los resultados indican que tanto la sensibilidad como la tolerancia a la morfina dependen del genotipo y su herencia se caracteriza por dominación o dominación parcial.

El tratamiento más común para la dependencia de opioides es la terapia de sustitución con otro opioide como la metadona. La dosificación de metadona es individualizada pero muy variable, y las tasas de retención del programa son bajas debido en parte a una dosificación no óptima que resulta en síntomas de abstinencia y un mayor deseo y uso de heroína. La metadona es un sustrato para el transportador de glicoproteína P, codificado por el gen ABCB1, que regula la exposición del sistema nervioso central. La variabilidad genética de ABCB1 influyó en los requerimientos diarios de dosificación de metadona, de modo que los sujetos que portaban 2 copias del haplotipo de tipo silvestre requirieron dosis más altas en comparación con aquellos con 1 copia y aquellos sin copias (98.3 +/- 10.4, 58.6 +/- 20.9 y 55.4 +/- 26.1 mg/d, respectivamente; P = .029). Adicionalmente, los portadores del haplotipo AGCTT requirieron dosis significativamente más bajas que los no portadores (38.0 +/- 16.8 y 61.3 +/- 24.6 mg/d, respectivamente; P = .04). Aunque la variabilidad genética de ABCB1 no está relacionada con el desarrollo de la dependencia de opioides, la identificación de haplotipos variantes puede, después de realizar estudios prospectivos más amplios, proporcionar a los médicos una herramienta para la individualización de la dosificación de metadona. Los estudios de polimorfismos en el gen del receptor de opioides μ , que codifica el objetivo del receptor de algunos opioides endógenos, heroína, morfina y opioides sintéticos, han contribuido sustancialmente al conocimiento de las influencias genéticas sobre la adicción a los opiáceos y la cocaína. También se han implicado otros genes de los sistemas opioides y monoaminérgicos endógenos, particularmente los genes que codifican la beta-hidroxilasa de dopamina, y los transportadores de dopamina, serotonina y noradrenalina.

Más aún, la inactividad proporcionada genéticamente del citocromo P450 (CYP) 2D6 hace que la codeína sea ineficaz (falta de formación de morfina), disminuye ligeramente la eficacia del tramadol (falta de formación del O-desmetiltramadol activo) y disminuye ligeramente la eliminación de metadona. Las mutaciones de MDR1 a menudo demuestran consecuencias farmacogenéticas, y dado que los opioides se encuentran entre los sustratos de la glicoproteína P, la farmacología de los opioides puede verse afectada por las mutaciones de MDR1. El polimorfismo de un solo nucleótido A118G del gen del receptor opioide μ se ha asociado con una disminución de la potencia de la morfina y el glucurónido de morfina-6, y con una disminución de los efectos analgésicos y una mayor demanda de dosis de alfentanilo en portadores del alelo G118 mutado. Las causas genéticas también pueden desencadenar o modificar las interacciones farmacológicas, lo que a su vez puede alterar la respuesta clínica a la terapia con opioides.

Por ejemplo, al inhibir CYP2D6, la paroxetina aumenta las concentraciones plasmáticas de (R)-metadona en estado estacionario en metabolizadores extensos, pero no pobres de la debrisoquina/esparteína. Hasta ahora, las consecuencias clínicas de la farmacogenética de los opioides se limitan a la codeína, que no debe administrarse a metabolizadores lentos de la debrisoquina/esparteína. Las interacciones farmacológicas precipitadas genéticamente pueden hacer que una dosis estándar de opioides sea tóxica y, por lo tanto, se deben tener en cuenta. Las mutaciones que afectan los receptores de opioides y la percepción/procesamiento del dolor son de interés para el estudio de las acciones de los opioides, pero con la práctica moderna de la administración a demanda de opioides, su utilidad puede limitarse a explicar por qué algunos pacientes necesitan dosis más altas de opioides; sin embargo, el perfil de efectos adversos puede ser modificado por estas mutaciones. No obstante, en un nivel limitado, se puede esperar que la farmacogenética facilite la terapia con opioides individualizada. Se ha demostrado que la variante muOR 304G reduce significativamente la fentanil ED intratecal (50) para la analgesia laboral, lo que sugiere que las mujeres con la variante G pueden responder mejor a los opioides y requieren menos analgésicos. Estos hallazgos para la farmacogenética intratecal de fentanilo pueden tener implicaciones para los pacientes que reciben opioides en otros entornos.

La siguiente es una muestra de genes involucrados en el proceso adictivo que puede ser informativo en relación con la adicción a los opiáceos:

Receptor opioide μ , receptor opioide delta; los receptores metabotrópicos mGluR6 y mGluR8, el receptor nuclear NR4A2 y el criptocromo 1 (tipo fotoliasa), el gen DRD (D1-D5), Dat1, DBH, proenkefalina (PENK) y prodinorfina

(PDYN), CAMKII; GnRH; CYP2D6; BDNF; genes NT-3; genes de la subunidad del receptor GABA en 5q33; GABA (A) gamma2; OPRM1; subunidades alfa de proteína G; OPRK1; alfa2-adrenoceptor; TTC12; ANKK1; NCAM1; ZCRB1; CYP2B6; CYP2C19; CYP2C9; interleucina-2; RGS-R7; Gbeta5; MAO-A; 287 polimorfismo A/G de catecol-O-metiltransferasa; transportador de serotonina; proteína de unión al elemento sensible a Ca²⁺/AMPC; CNR1; ABCB1, P-glicoproteína, UGT2B7 y CREB.

Dichos polimorfismos incluyen un polimorfismo en un gen que codifica un receptor Beta-adrenérgico; un polimorfismo en un gen que codifica una enzima convertidora de angiotensina (ACE); un polimorfismo en un gen que codifica un receptor de angiotensina 11 TI; un polimorfismo en un gen que codifica la proteína de transferencia de éster de colesterilo; un polimorfismo en un gen que codifica un canal de potasio; un polimorfismo en un gen que codifica una enzima de citocromo P-450, opcionalmente CYP2D6; un polimorfismo en un gen que codifica un producto de proteína del oncogén HER2/neu; un polimorfismo del gen C825T; un polimorfismo en el locus del gen APOE); un polimorfismo en el alelo CT o TT del gen del receptor de dopamina D2; un SNP (polimorfismo) designado AA, en la posición de nucleótido -6 del gen ANG; un polimorfismo en un gen que codifica Apo-AI; un polimorfismo en un gen que codifica Tetrahidrofolato Reductasa de Metileno (MTHFR), opcionalmente un polimorfismo C677T; un polimorfismo en el gen del factor de necrosis tumoral (TNF); un polimorfismo en el gen de la proteína de unión al elemento sensible a carbohidrato (ChREBP); un polimorfismo del gen receptor de Leptina; un polimorfismo del gen de los receptores de dopamina D2 (DRD2); un polimorfismo de cualquiera de los genes de dopamina D1, D3, D4, y D5; un polimorfismo del receptor de dopamina D2 seleccionado del grupo que consiste en Ser311cys y TaqIA; un polimorfismo en un gen c-fos; un polimorfismo en el gen cjun; un polimorfismo en el gen c-myc, un polimorfismo en un gen que codifica la Proteína del Elemento Regulador de Esteroles 1 (SREBP-Ic); un polimorfismo en un gen que codifica el gen mitocondrial glicerol -3-fosfato acetiltransferasa (MGPAT); un polimorfismo en un gen que codifica el gen del receptor activado por proliferador de peroxisoma (PPAR-gamma-2); el polimorfismo Prol2Ala del gen PPARgamma; un polimorfismo en un gen que codifica Triptófano 2, 3- Dioxigenasa (TDO2); un polimorfismo en un gen que codifica TCP-I; un polimorfismo en un gen que codifica Mc4R; un polimorfismo en un gen que codifica CART; un polimorfismo en un gen que codifica la interleucina-1 beta; un polimorfismo en un gen que codifica factor de necrosis tumoral alfa; un polimorfismo en un gen que codifica una molécula de adhesión intracelular; un polimorfismo en un gen que codifica la interleucina-8, un polimorfismo en un gen que codifica la interleucina-10; un polimorfismo en un gen que codifica el interferón-alfa; un polimorfismo en un gen que codifica la Proteína Ras y (HLA-DRBI 0404 y OIOLor PTPN22 R620W); el polimorfismo del Receptor de Dopamina D3 Ser9Gly (-205-G/A, - 7685-G/C); un polimorfismo en un gen que codifica Glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa (GFPT1 o GFPT 2), opcionalmente polimorfismos en el exón 14, opcionalmente 1471V, o 3' UTR; o un polimorfismo en un gen que codifica glucosamina 6-P aciltransferasa; un polimorfismo en el alelo proteoglicano Aggrecan 27; un polimorfismo en un gen que codifica 11-beta hidroxisteroide deshidrogenasa tipo 1; un polimorfismo en un gen que codifica la proteína de unión FK506 5; un polimorfismo en un gen que codifica suero/glucosteroide quinasa; un polimorfismo en un gen que codifica triptofano 2,3 dioxigenasa; un polimorfismo en un gen que codifica Mielina; un polimorfismo en un gen que codifica una glucoproteína asociada a mielina, opcionalmente glucoproteína oligodendrocítica de mielina (MOG), opcionalmente un polimorfismo en una repetición de tetranucleótidos TAAA (M0G4), C10991T SNP; un polimorfismo en un gen que codifica Edg2; un polimorfismo en un gen que codifica Fgfr2; un polimorfismo en un gen que codifica Decorina; un polimorfismo en un gen que codifica Brevican; un polimorfismo en un gen que codifica receptores-1 de Neurotensina (NT); un polimorfismo en un gen que codifica receptores-2 de Neurotensina (NT); un polimorfismo en un gen que codifica receptores-3 de Neurotensina (NT); un polimorfismo en un gen que codifica Proenkefalina; un polimorfismo en un gen que codifica prodinorfina, opcionalmente 946C>G; un polimorfismo en un gen que codifica Bdnf (Factor Neurotrófico, opcionalmente BDNF Val66Met y -281 C>A, alelo T del C270T); un polimorfismo en un gen que codifica Sgk (Quinasa regulada por suero y glucosa (SGK 1), opcionalmente intrón 6 de SNP, Exón 8 (CC, CT, TT); un polimorfismo en un gen que codifica Gab1; Id2; un polimorfismo en un gen que codifica COMT; un polimorfismo en un gen que codifica ANKK1; un polimorfismo en un gen que codifica DAT1; un polimorfismo en un gen que codifica DBH; un polimorfismo en un gen que codifica HTT; un polimorfismo en un gen que codifica HTR1A; un polimorfismo en un gen que codifica HTR1D; un polimorfismo en un gen que codifica HTR2A; un polimorfismo en un gen que codifica HTR2C, opcionalmente 5-HT-2A, 5-HT 2B, 5-HT-4, y 5-HT-7); un polimorfismo en un gen que codifica ADRA2A; un polimorfismo en un gen que codifica ADRA2; un polimorfismo en un gen que codifica NET; un polimorfismo en un gen que codifica MAOA; un polimorfismo en un gen que codifica GABRA3; un polimorfismo en un gen que codifica GABRB3; un polimorfismo en un gen que codifica CNR1; un polimorfismo en un gen que codifica CNRA4; un polimorfismo en un gen que codifica NMDAR1; un polimorfismo en un gen que codifica POMC; un polimorfismo en un gen que codifica MGPA; un polimorfismo en un gen que codifica NYP; un polimorfismo en un gen que codifica AgRP; un polimorfismo en un gen que codifica OBR; un polimorfismo en un gen que codifica Mc3R:UCP- 1; un polimorfismo en un gen que codifica GLUT4; un polimorfismo en un gen que codifica PDGS; un polimorfismo en un gen que codifica ALdB; un polimorfismo en un gen que codifica LNC2; un polimorfismo en un gen que codifica E23K Kir6.2; un polimorfismo en un gen que codifica sulfatasa esteroidea (STS); un polimorfismo G82G en PTPN1; el polimorfismo IVS6+G82A; un polimorfismo en un gen que codifica receptor 1de Sulfonilurea; un polimorfismo en un gen que codifica beta(3)-AR Trp64Arg; un polimorfismo en un gen que codifica PC1; un polimorfismo en un gen GHRELIN; un polimorfismo en un gen que codifica FKBP5; un polimorfismo en un gen que codifica un RECEPTOR DE VITAMINA D, opcionalmente BSMI Y FOKI; un polimorfismo en un gen que codifica tirosina fosfatasa linfoide (LYP), opcionalmente un polimorfismo en un gen que codifica gen de la proteína tirosina fosfatasa-22 (PTPN22), y un polimorfismo en un gen que codifica cualquier ATPAsa sodio.

El análisis alélico incluye identificar al menos una mutación que es un polimorfismo seleccionado del grupo que consiste en un polimorfismo (valor Rs de SNP) de un gen que codifica DRD2 (Rsl800497, Rs6278, Rs6276, RslO79594, Rs 6275, Rsl801028, Rsl076560, Rs2283265, RslO79727, RslO76562, Rsl125394, Rs4648318, Rs4274224, Rs7131056, Rs4648317, Rsl799732, Rsl799978; 5HT2A(Rs6314, Rs3742278, Rs6561333, Rsl923886, Rs643627, Rs2770292, Rsl928040, Rs2770304, Rs594242, Rs6313;ANKKI (RS2734849, RS1800497, Rsl1604671, Rs4938016); OPRKI(Rs35160174, Rs35373196, Rs34709943 RS6473797) OPRMI (Rs510769, Rs553202, Rs514980, Rs561720, Rs534673, Rs524731, Rs3823010, Rs3778148, Rs7773995, RS495491, Rsl2333298, Rsl461773, Rsl381376, Rs3778151, Rs506247, Rs563649, Rs9479757, Rs2075572, Rsl0485057, Rs540825, Rs562859, Rs548646, Rs648007, Rs9322447, Rs681243, Rs609148, Rs3798687, Rs648893);COMT (Rs737864, Rs933271, Rs5993882, Rs740603, MTRs4646312, Rsl65722, Rs6269, Rsl7699); SLC6A3 (Rsl2516948, Rsl042098, Rs40184, Rsl1564773, Rsl133767, Rs6876225, Rs3776512, Rs2270912, Rs6347, Rs27048, Rs37022, Rs2042449, Rs464069, Rs463379, Rs403636, Rs2617605, Rsl3189021, Rs6350, Rs2975223, Rs2963238, Rs 11564752 Rs2975226); HTR3B(Rs3758987, Rs2276307, Rs3782025, Rsl672717); NOS3 (Rs891512, Rsl808593, Rs2070744, Rs3918226, Rs7830); PPARG (Rsl801282, Rs2938392, Rsl75542, Rsl7036314, Rsl805192, Rs4684847, Rs2938392, Rs709157, Rs709158, Rsl75542); ChREBP (Rs3812316); FTO (Rs8050136, Rsl421084, Rs9939609, Rsl861868, Rs9937053, Rs9939973, Rs9940128, Rsl558902, RslO852521, Rsl477196, Rsl21980,, Rs7193144, Rsl6945088, Rs8043757, Rs3751812, Rs9923233, Rs9926289, Rsl2597786, Rs7185735, Rs9931164, Rs9941349, Rs7199182, Rs9931494, Rsl7817964, Rs7190492, Rs9930506, Rs9932754, Rs9922609, Rs7204609, Rs8044769, Rsl2149832, Rs6499646, Rsl421090, Rs2302673); TNFAlpha (Rsl799964, Rsl800629, Rs361525, Rsl800610, Rs3093662);MANEA (Rsl133503); LeptinOb (Rs4728096, Rsl2536535, Rs2167270, Rs2278815, Rsl0244329, Rsl763517, Rsl760956, RslO954173); PEMT (Rs4244593, Rs936108); MAO-A (Rs3788862, Rsl465108, Rs909525, Rs2283724, Rsl2843268, Rsl800659, Rs6323, Rsl799835, Rs3027400, Rs979606, Rs979605 Rsl137070); CRH (Rs7209436, Rs4792887, Rsl10402, Rs242924, Rs242941, Rs242940, Rs242939, Rs242938, Rsl73365, Rsl876831, Rsl876828, Rs937, Rs878886 Rs242948) ;ADIPOQ (Rsl7300539, Rs2241766); STS (Rsl2861247); VDR (Rsl7467825, Rs731236, Rsl544410, Rs2229828, Rs2228570, Rs2238136);DBI (Rs3091405, Rs3769664, Rs3769662, Rs956309, Rs8192506); GABRA6 (Rs3811995, Rs3219151, Rs6883829, Rs3811991); GABRB3 (Rs2912582, Rs2081648, Rsl426217, Rs754185, Rs890317, Rs981778, Rs2059574); MTHFR(Rs4846048, Rsl801131, Rsl801133, Rs2066470); MLXIPL[elemento de unión a carbohidrato] (Rs3812316, Rsl7145738); VEGF (Rs2010963, Rs833068, Rs3025000, Rs3025010, Rs3025039, Rs3025053); DRD4 (Rs936460, Rs41298422, Rs3758653, Rs936461, Rsl2720373, Rs747302, Rsl800955, Rs916455, Rs916457, Rs7 124601); CLOCK (Rsl801260, Rs934945, Rsl3033501); Melatonina (cualquier polimorfismo); Orexina (todos los polimorfismos), PENK (RS16920581, RS1437277, RS1975285, RS260998, RS2609997), y CBI (RS1049353).

La pregunta es cuál de todos estos genes dará como resultado la predicción del resultado clínico. Este desafío fue superado por la metodología de la presente invención.

Utilidad de la presente invención

Los métodos y kits de análisis de riesgo adictivo genético divulgados y enseñados en el presente documento tienen muchos beneficios industriales para todo el campo de RDS.

Por ejemplo, estos reducirán/eliminarán las conjeturas relacionadas con la administración de opioides potentes para tratar el dolor agudo y crónico. Al implementar la prueba de análisis de riesgo genético adictivo, que ahora ha demostrado predecir la severidad clínica (alcohol como ejemplo) para la adicción, se verá como un gran avance en el campo de la adicción. De hecho, un grupo focal realizado con Dominion Diagnostics (el desarrollador de la prueba genética) reveló un 100 % de entusiasmo por su utilización en el espacio industrial de la adicción.

Una de las cuestiones principales en el tratamiento de la adicción es la desmentir y negar el rasgo/estado hipodopaminérgico patológico. Con la información proporcionada por el análisis de riesgo genético adictivo, el paciente/individuo podrá alcanzar y comprender su riesgo como si estuviera determinando el riesgo de otras enfermedades crónicas como la diabetes.

Otros beneficios incluyen, pero no se limitan, la determinación de la monitorización médica (medicación de tratamiento) en función de diferentes polimorfismos del gen de recompensa.

Adicionalmente, el desarrollo de la medicina personalizada ya se ha demostrado al dirigir los polimorfismos del gen de recompensa utilizando una variación del análisis de riesgo adictivo genético para la obesidad. De hecho, existe una gran necesidad de comercializar una prueba genética predictiva y un riesgo individual para todos los comportamientos adictivos propuestos en el marco del RDS.

La utilización de la prueba de análisis de riesgo adictivo genético en la práctica clínica debería: (1) reducir la negación; (2) reducir la culpa; (3) reducir la predicción de errónea de la posibilidad de recaída; (4) conducir a objetivos terapéuticos apropiados basados en polimorfismos genéticos conocidos y dosificación de medicamentos; (5) mejorar la selección y evaluación de fármacos; (6) analizar el riesgo del paciente de tolerancia a la medicación para el dolor, dependencia y/o abuso; y (7) mejorar los resultados basados en la necesidad médica.

Se ha demostrado que la asociación significativa de la estratificación del riesgo genético como predictor de las pruebas de ASI. Según el conocimiento del Solicitante, este es el único conjunto de genes y los alelos respectivos proporcionan información basada en el paciente para ayudar al clínico con una herramienta de diagnóstico objetiva basada en la biología para respaldar un nuevo plan de tratamiento.

5

Referencias

- H.C. Anchordoquy et al., "Genotyping of three candidate genes after whole-genome preamplification of DNA collected from buccal cells," *Behav Genet.* 2003, 33(1):73-8 ("Anchordoquy 2003").
- 10 K. Blum et al., "Buprenorphine Response as a Function of Neurogenetic Polymorphic Antecedents: Can Dopamine Genes Affect Clinical Outcomes in Reward Deficiency Syndrome (RDS)" *J Addict Res Ther.*, 2014, 5 pii: 1000 ("Blum 2014").
- K. Blum et al., *Molecular Neurobiology of Addiction Recovery: The 12 Steps Program and Fellowship*, Springer Science & Business Media (2013) ("Blum 2013").
- 15 K. Blum et al., "Generational association studies of dopaminergic genes in reward deficiency syndrome (RDS) subjects: selecting appropriate phenotypes for reward dependence behaviors," *Int J. Environ Public Health*, 2011, 8(12):4425-59 ("Blum 2011").
- K. Blum et al., "Reward deficiency syndrome: a biological model for diagnostics and treatment of impulsive, additive, and compulsive behavior," *J. Psychoactive Drugs*, 2000, 32 Suppl:1-iv, 1-112 ("Blum 2000").
- 20 K. Blum et al., "The D2 dopamine receptor gene as a determinant of reward deficiency syndrome," *J R Soc. Med*, 1996, 89(7):396-400 ("Blum 1996").
- K. Blum K. et al., "Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism," *JAMA*, 1990, 263(15), 2055-2060 ("Blum 1990").
- A. Bowirrat et al., "Relationship Between Dopaminergic Neurotransmission, Alcoholism, and Reward Deficiency Syndrome," *American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)*, 2005 132B:29-37 ("Bowirrat 2005").
- 25 G. Di Chiara et al., "Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats," *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85:5274-5278 ("Di Chiara 1988").
- D.E. Comings et al., "Reward deficiency syndrome: genetic aspects of behavioral disorders," *Prog Brain Res*, 2000, 126:325-41 ("Comings 2000").
- 30 C. Dackis et al., "Neurotransmitter and neuroendocrine abnormalities associated with cocaine use," *Psychiatr Med.*, 1985, 3(4):461-483 ("Dackis 1985").
- R.H. Don et al., "'Touchdown' PCR to circumvent spurious priming during gene amplification," *Nucleic Acids Res.*, 1991, 19(14):4008 ("Don 1992").
- 35 D.T. Eisenberg et al., "Season of birth and dopamine receptor gene associations with impulsivity, sensation seeking and reproductive behaviors," *PLoS One*, 2007, 2:e1216 ("Eisenberg 2007").
- Jamie Feusner et al., "GABAA receptor $\beta 3$ subunit gene and psychiatric morbidity in a post-traumatic stress disorder population," *Psych. Res Volume 2001*, 104(2): 109-117.
- 40 B.C Haberstick, et al., "Simple Sequence Repeats In The National Logitudinal Study Of Adolescent Health: An Ethically Diverse Resource For Genetic Analysis Of Health Behavior," *Behav Genet.*, 2014, 44(5): 487-497 ("Haberstick 2014").
- B.C Haberstick, et al., "Genotyping of three single nucleotide polymorphisms following whole genome preamplification of DNA collected from buccal cells," *Behav Genet.*, 2004, 34:541-547 ("Haberstick 2004").
- J. Hietala et al., "Striatal D2 dopamine receptor binding characteristics in vivo in patients with alcohol dependence," *Psychopharmacology (Berl)*, 1994, 116:285-290 ("Hietala I 1994").
- 45 J. Hietala J et al., "Striatal D2 dopamine receptor characteristics in neuroleptic-naive schizophrenic patients studied with positron emission tomography," *Arch Gen Psychiatry*, 1994, 51:116-123 ("Hietala II 1994").
- X. Hu et al., "An expanded evaluation of the relationship of four alleles to the level of response to alcohol and the alcoholism risk," *Alcohol Clin Exp Res.* 2005, 29(1):8-16 ("Hu 2005").
- 50 K.A. Johnson et al., "Absence of the 7-Repeat Variant of the DRD4 VNTR Is Associated With Drifting Sustained Attention in Children With ADHD But Not In Controls," *American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)*, 2008, 147B:927-937 ("Johnson 2008").
- J. Kircheiner et al., "A 40-basepair VNTR polymorphism in the dopamine transporter (DAT1) gene and the rapid response to antidepressant treatment," *The Pharmacogenomics Journal*, 2007, 7:48-55 ("Kircheiner 2007").
- 55 K.J. Livak, "Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay. Genetic Analysis," *Biomol Eng.*, 1999, 14:143-149 ("Livak 1999").
- M. Melis et al., "The dopamine hypothesis of drug addiction: hypodopaminergic state," *Int Rev Neurobiol*, 2005, 63:101-154 ("Melis 2005").
- E.P. Noble, et al., "D2 dopamine receptor gene in psychiatric and neurologic disorders and its phenotypes," *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2003, 116B(1):103-25 ("Noble 2003").
- 60 R. Picetti et al., "Addiction and stress clues for cocaine pharmacotherapies," *Current Pharmaceutical Designs*, 2013, 18(40), 7065-7080 ("Picetti 2013").
- R. B. Rothman et al., "Dual dopamine/serotonin releasers as potential medications for stimulant and alcohol addictions," *AAPS J*, 2007, 9(1):E1-E10 ("Rothman 2007").
- 65 N.D. Volkow et al., "Role of dopamine, the frontal cortex and memory circuits in drug addiction: insight from imaging studies," *Neurobiol Learn Mem*, 2002, 78:610-24 ("Volkow 2002").

N.D. Volkow, et al., "Low level of brain dopamine D2 receptors in methamphetamine abusers: association with metabolism in the orbitofrontal cortex, Am J Psychiatry, 2001, 158:2015-2021 ("Volkow 2001").
 J.R. Wendland et al., "Simultaneous genotyping of four functional loci of human SLC6A4, with a reappraisal of 5HTTLPR and rs25531," Mol Psychiatr., 2006, 11:224-226 ("Wendland 2006").

5

Listado de secuencias

10

<110> Synamptamine, Inc
 <120> ANÁLISIS DE RIESGO DE ADICIÓN GENÉTICA PARA ÍNDICE DE SEVERIDAD DE RDS

<130> 159416.020002

15

<150> 62/023,144
 <151> 2014-07-10
 <160> 8

20

<170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

25

<400> 1
 accggcaccg gcaccagtac cgcaccagt 30

30

<210> 2
 <211> 2039
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

35

<220>
 <221> característica_misc
 <222> (1193)..(1193)
 <223> n es a, c, g, o t

<400> 2

tctcccgcct ggcgttgccg ctctgaatgc cagcacctaa ccctaagt cctactgca	60
gccctcccag catccccct gcaacctccc agcaactccc tgtaccctc ctaggatcgc	120
tcctgcatcc ccattatcc ccccctcac ccctgcgggc atccccctg cccccccrgc	180
atccccctg cagcccccc agcatctccc ctgcaccccc agcatcccc ctgcagcct	240
tccagcatcc ccctgcacct ctcccaggat ctcccctgca acccccatta tccccctgc	300
accctcgcga gtatcccccc tgcaccccc agcatcccc catgcacccc cggcatcccc	360
cctgcacccc tccagcattc tcttgcacc ctaccagtat tccccgcac cccggcctcc	420
aagcctcccg cccaccttgc ggtccccgcc ctggcgtcta ggtggcacca gaatcccgcg	480
cggactccac ccgctgggag ctgcctcgc ttgccctgg ttgtccagct cagtccctct	540
agacgctcag cccaaccggc cgcacagttt tcaggggta gttcctccaa gtacaagggg	600
cggtggtctc tctggagctg caaactgtc actgctatct ccttccggtc ttctacttcc	660
tatcgttctt ggcctcctct tggggagagg tagagccctc tctttccgc ctccagggaca	720
acccaaagca agtactgcat gtgccctttt taaagtttta aataatttta gcaaaaagga	780

ES 2 813 377 T3

tattaacatt aaatcaattt ttaaactttt tgaaaaaatt atcaaaaacta catgcacatg 840
gttcaaaaaca ataggctcct gctgggcect ttcagataat tcaaattgtc accaggttgg 900
agtgcagtgg ttcgatcacg gctcaactgca gctctgactc ccgggctcag ctgatcctcc 960
acctcagcct cctgagtagc tgggaacaca agcgcgagca accacgcccg gctaattaaa 1020
aaaatttttt ttctagagat ggggtcttgc tgtgttgcct aggctggctt tgaattcctg 1080
ggctcaagca atcctcccgc ctcagcctcc caaagcactg tgctcctttt tgacgcagct 1140
ttgaactgta gctgggtaac aaaatgagaa ccagttcttc attccttcat tgnnggaagtc 1200
tttattgtga gactctgggg acggagagga attagacaag ggcctctaag ctgagctcac 1260
atcccagccg gtcagtcaga taaacgcatg ggtatcgagt actgctaggt cccaggaaga 1320
aagagagagc agctttcggg atggggacga tggggaggtg tccgaggtca agagaaagcg 1380
gcacgagcag acccctgtgt gccgtcctgt gggcgcgggg cggcagggga ggcgcacacc 1440
tgctcctttg tgcagcctcc ccctcccgc aaagttaaag agcaggaaag tcaggattcc 1500
tcgctcggcc ctgcctgcc ggtgtctccg cgctccgctc ctccctgcca gcgtgtgtgt 1560
gtgtcggggg tcctcccct cctggctctg gggctggggc cgcaccccgc cccgtagcgc 1620
ggccccctcc tggcgagcgc aaccccatcc agcgggagcg cggagcccg gccgcgggga 1680
agcattaagt ttattgcct caaagtgacg caaaaattct tcaagagctc tttggcggcg 1740
gctatctaga gatcagacca tgtgagggcc cgcgggtaca aatacggccg cgcggcgcc 1800
cctccgcaca gccagcggcg ccgggtgctt cgagggcgcg aggccagccc gcctgcccag 1860
cccgggacca gcctccscgc gcagcctggc aggtgggtcc gcttttctc tccgcctcga 1920
accacgttt ctttcagac cttcttcccc gcctcgggga gggggataga accgctgcgc 1980
cccaccgccc tgcgaggagg cgaggaggtg catgcgcccc agcgggtgggc gccggtacc 2039

<210> 3
<211> 1001
<212> ADN
<213> Homo sapiens

5

<400> 3

agacaaggtc catgccacac tgatcaggat gaaggtgcc ttgggggtca tctttctctc 60
ataccggaaa gggctggaga tagcccaata cctgtccacg ctgatecacac agaggttgag 120
gatggatgca gtggagcaca tgatgtcaaa ggccaccag atgttacaga aggacccaaa 180
gggccagaag ccagcaatct cagccactgc cttccagggc atgaccagga cggccaccaa 240
gagatctgac acagccaag agatgacaaa gaagttggtc accttgacc gcaggtgtcg 300
gaacctgata acggcagcac agaccagcgt gttccccagg agcgtggaca ggatgagcag 360

ES 2 813 377 T3

cgacaggaaa caggcagtga ggatacgaac agagaagtcc ctctccacca ccagcccagt 420
 cccgtccatg gcagaggtgt tcagagtcct catcttcccta agagaaagca catcaggggc 480
 tctgacaccc ctcaagttcc yaagcagggga ataggggtca gtcagatttc caggagtctt 540
 ccccaccagg cagcactttg cacagccaga ttgcttccct ggagagggc ctcaccaaca 600
 ttccatgaga ggaccgcttg agtggcaatc caagtcaatc cegtggatgg tcactottga 660
 tttctacatc tgtcttctga ctcccttgct gcaggtcact gtcttgggca ccagaaagcc 720
 cctgaattcc ccaaataaag cactggcttt ttagcatatt ctaaateatc aatccagtga 780
 ctctggggcc tetgtctgc tagtcagttg caatcacatt tcggggctgt tgcttttctg 840
 gtggtgacag gagattctcc ctttctgaga ctacagctgaa aatacatgtc ttctcgctcc 900
 tccaagcccc tggctcctca gcagctctcc aaacgcctta aaaagcaaaa ggaaaacaca 960
 cggcttttct ccaagactta agcagatggc atcattactc a 1001

<210> 4
 <211> 1001
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 4

tccaggcgag aggccccaag tagtctaaat ttctttcttt ctttcttttt tatatggagt 60
 ctcgctctgt tgcccaggtt ggagtgacgt ggtgcgatct cggtcactg caacctctgc 120
 ctctggggtt caaggaatc tctgcctca gcctccctgg tagttgggat tacaggcacg 180
 tgccaccata cccagctaaa ttttgtatct ttagcagaga cagggttttg ccatgttggc 240
 caggctggcc tcaaactctt gatatcaggt gatctgcctg cctcagcctc ccaaagtgt 300
 gggattacag acgtgagcca ccacggctgg ccaagttgtc taaatttcca tctcggctcc 360
 tggcttagaa ccaccagag tggccactga cggtccttg cctctagga aggacatgat 420
 gccctgcttt cggtgcgga gggccagttg caggggtgtg cagctcactc catcctggac 480
 gtccagctgg gcgcctgctt ygaccagcac tttgaggatg gctgtgttgc ccttgagggc 540
 ggccaggtgg gcgggtgtcc agcccactt gttgcggggc tggacatttg cgtgatgttc 600
 taggaggttg atgacactca ggaaggtgct cctctggacc gccaggtgga ggggtgtcca 660
 gcctgactgc tctgcagcat tggggtcagc cccacactgc agcagtgtg acaccaccgc 720
 ctctccccg tggcgtgcag ctaggtgcag gggagtccag ttcacagctc caagagcacc 780
 catgtttgag tggctctctg ccagcagatg gatgatctcc aggtggcctt tgtaggctgc 840
 tagatgcagg ggtgtccagc cctggtgggt gggcagctca aggtggctc cgtacctgag 900
 cagcatcttg cagatcaggt atttgccctt ggcagctgca gtgtgcagtg ggcgtagcc 960
 gctctgggtca agggcatcag ggaccgctcc actcttcagc a 1001

ES 2 813 377 T3

<210> 5
 <211> 2203
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 5

```

gtctgccaca gccaggctca ctactaagta gttggtggta gtctgcaggg cccgctcctt      60
cagcacagcc atgcacacca ggccattgcc gaagacgatg gccaggatga gcgcgcagta      120
ggagagggca tagtaggc atgtggggggc ctggctggca cctgtggagt tctctgcccc      180
acaggtgtag ttcaggtggc yactcagctg gctcagagat gccatagccc agagggaggt      240
gcgtgatgcc aaggggcttc ctgtgaggag acagaaaaca atattaataa aatcagactc      300
tttggggctt ggttgcttag ttacattttt ttattttattg catcagcaaa tattttattga      360
gcattttcta tatagtaggc actgtttgta gagttggaga tagagcaatg aacaaaacag      420
ataaaatctt aattccttcc ctttgaaget cccattctag aggagaagac agataataaa      480
caagataaat aaaagatgtg gtgtgttcaa taatgatacg tatattggag acaaatcaga      540
gaggcaggta agtaacgggt gaagattgtg cgtatgtgag tgagtatctg agtataatca      600
ggaactcttc atggagaaat cagcaattga gtcttgacct ggaggagatc aggaagcaga      660
ccatgcagtt atcagatgtg atagcagtct gacagctgag aacaacacgg gccagcagga      720
agggctagca catagaagtc ataggagggg gtctggtgag gctggagcca agtgaggcag      780
gagtagaata ggaggggtgtg aggtagacag attgtgcagg gctattgaaa gtaccatgct      840
tggactctga gtgagatggg aagctgttgc aggattacaa tcccagctct gctgcttctt      900
aactctggga ctttatgcat attactttac ctctctgagc tccagattct tcccatgtaa      960
aatgtgggaa taatgaaacc catctatctt agtccatttt gggttgctat aacagaacac     1020
ctgagtctgg gtaatttata aagagcagaa atttgttgtc tcacagttct gaaggctagg     1080
ggaagacata aggctgtgta cttagggagt aacctgaaa cccaagcaaa agtgactctt     1140
gccccaaact ctagaggagg tgctatagag gagtccactc tggctctctg ctgtggtctc     1200
ggtgtttgtg tctccctaaa ttcatatgta gaaatcctaa tcccataat gatggtatta     1260
ggaggtgggg gtctttgaga ggtgattagg ttatgaggac agagccctca tgaataagat     1320
tagtgctttt ataaaagaga cccagagagc tagctaactc ctttcacat ggaagacat      1380
agtgaaaaga cagccatcta tgaaccagaa agcaggccct caccagacac tgaatcttct     1440
ggtgccttga tcttgactt cccagccttc agaactgtca aaaatagata tctgttgttt     1500
ataaactact cagtttatgg tattttgtga tagcagccca aaaggactaa ggcaccctct     1560
    
```

ES 2 813 377 T3

actggttatg cctctaacct ctatagaatg atgttgtaac ctcccacagt gccaaaggaga 1620
 aggtccacta agtttacaac cctgtctaga ccacactcag ggaattctct acccaactgc 1680
 tcagagcctg tttccaagac atcacgggtc tcattctaaa tctctcactc tgacgggaga 1740
 ctgtgccata aatgtgtagg gttcctgggg ccaagtgggt gctttcagtt agagctcaga 1800
 caaatagatt ctatgtagcc tgagggtggg agagaagagg ccagggtccc tgaagcagat 1860
 taggggtggg ggcccagctt ctctgtatg atcacatddd gtatggaatt ttgaaaggtc 1920
 caggaatctt aaattcaaac ttggccttcc atgttggttac gaagggtgat ttgtcaaggt 1980
 gggaggatga aacatdddac tcaatggctt gttgggttaca acttdaaaat atttaagcat 2040
 ggtacatata gacctttatg ggaactctct cttcaggcct tggcaaaagt agaggctgac 2100
 ttggtggcca gaatttgccc tcaagccagg tatctgtagc tctcccttga ttaggagacc 2160
 ggccaatca tggctgtcat tttgtacctc acttdgaaat gtt 2203

<210> 6
 <211> 1001
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5

<400> 6

tggggtccca cagagtgggt cccccdttda gtgtcttcta ggcccccttag tgacagacta 60
 cagaaaatac ctctcaggtc acaggtcacc cctcttdtggg gaagagtcca tagaattctc 120
 tgctgcgctt tgcaagcact ttctcttctg cacgtdtggga acctaccccg gcctgtctgtg 180
 tcttdtctct ggctcctctg cgagccgaac ctactgtccg gtcccgggac cccctgccc 240
 gggtcagagg ggccctacc tagctcacgg tcttdggccg gagggaatgg aggagggagc 300
 ggggtcgacc gctcagctgt ccgcccagtt tcggaggcgg ccacgcgagg atcaactgtg 360
 caacgggtgg ggcccgctt gaccgtgggt gtccgggggg ctgaggggcca gaggtctcgg 420
 gggggggggc ggggatgag ctaggcctct gcggttgagt cgggcgcgga gtccggggca 480
 gggggagcgg gcgtggagg ygcgcacgag gtcgaggcga gtccgcgggg gaggcgggca 540
 gagectgagc tcaggtdctt ctgcgtctgg cggaacgggc ctgggaggga ggttdtcca 600
 gataccaggt ggactagggt gaggcctcca gggccgggac gcacgcacgg gccgggtagg 660
 atggcgtctg cgtcgatgcc cgcgccttc aggcctgtgt ctggccgcc ctccatcctt 720
 gtccgttdtct cgggtcgcgg accccgcgcg gcgcccggcg atgctggct gcccggtggc 780
 accacctcgc ttcattcccg tctcttdtggg ccgcccatt cgtccacgtg cccgtctctc 840
 cctgcgcaaa attccaagat gagcaatac tgggtcacg gtggagcgc ccggggggccc 900
 cctgagccg gggcgggtc ggggggggac cagggtccgg ccggggcgtg cccgagggga 960
 gggactcccc ggcttgcgac ccggcgttgt ccgcggtgt c 1001

<210> 7

ES 2 813 377 T3

<211> 1001
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 7

```

agagggcagc tctgtgttag gacacactgg ggccagccag gaaggggtgga aaagataggg      60
accagcgtga gcatagaggc taagggacca tgggagctcc aagcgcgctc acagtgggga      120
ccaggtcctg ggggctgggg acaccagga ggtgaaatac ccctccagcg ggtagggagg      180
gtgggcagag gagggccagc ggccaggcat ttgggagggg ctctgtctct ttgggagagg      240
tggggggccg tgccctggga tccaagttcc cctctctcca cctgtgctca cctctcctcc      300
gtccccaacc ctgcacaggc aagatcgtgg acgccgtgat tcaggagcac cagccctccg      360
tgctgctgga gctgggggcc tactgtggct actcagctgt gcgcatggcc cgctgctgt      420
caccaggggc gaggctcacc accatcgaga tcaacccga ctgtgccgcc atcaccagc      480
ggatggtgga ttctgctggc rtgaaggaca aggtgtgcat gcctgacctg ttgtcagacc      540
tggaaaaagg gccggtgtg ggcagggagg gcatgcgcac tttgtctctc ccaccaggtg      600
ttcacaccac gttcactgaa aaccactat caccaggccc ctcagtgett ccagcctgg      660
ggctgaggaa agaccccccc agcagctcag tgagggtctc acagctctgg gtaaactgcc      720
aaggtggcac caggaggggc agggacagag tggggccttg tcatcccaga accctaaaga      780
aaactgatga atgcttgtat ggggtgtgtaa agatggcctc ctgtctgtgt gggcgtgggc      840
actgacaggc gctgtttgat aggtgtgtag ggatggcctc ctgtctgtga ggacgtgggc      900
actgacaggc gctgttccag gtcacccttg tggttggagc gtcccaggac atcatcccc      960
agctgaagaa gaagtatgat gtggacacac tggacatggt c      1001
    
```

10 <210> 8
 <211> 1001
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

```

<400> 8
tgtgtttgca cagaagagtg cccagtgaag agacctactc cttggatcgc tttgcgcaaa      60
atccaccctt ttccctctct cctcccttc cagcctccga atcccgatg gccacgctc      120
ccctcctgca gcggtgcggg gcaggtgatg agcctctgtg aactactaag gtgggagggg      180
gctatacgca gaggagaatg tcagatgctc agctcggctc cctccgctg acgctcctct      240
ctgtctcagc caggactggt ttctgtaaga aacagcagga gctgtggcag cggcgaaagg      300
    
```

ES 2 813 377 T3

aagcggctga ggcgcttggg acccgaaaag tctcgggtgct cctggctacc tcgcacagcg	360
gtgcccggccc ggccgtcagt accatggaca gcagcgtgc ccccacgaac gccagcaatt	420
gcactgatgc cttggcgtae tcaagttgct ccccagcaacc cagccccgggt tccctgggtca	480
acttgtccca cttagatggc racctgtccg acccatgagg tccgaaccgc accgacctgg	540
gcgggagaga cagcctgtgc cctccgaccg gcagtcacct catgatcag gccatcacga	600
tcatggccct ctactccatc gtgtgcgtgg tggggctctt cggaaacttc ctggatcatgt	660
atgtgattgt caggtaaagga aagcggcagg gctccgagcg gagggttcag cggcttaagg	720
gggtacaaag agacacctaa ctcccaaggc tcaatgctgg gcgggaggat gaaagagggg	780
aggtaaactg gggggactct ggaggagacc acggacagtg attgttattt ctatgagaaa	840
acctactttt ctgttttttc ttcaactgat aaagaaagaa ttcaaaattt caggagcaga	900
gaagttgctt tggtaaaagc taaaatgtc taggggtggg gggcggaggg aagctatagc	960
atagacttgg agcgcttccct tatactgagc aaagagggct c	1001

REIVINDICACIONES

1. Un método para obtener una puntuación de riesgo para evaluar la estratificación de una pluralidad de rangos para un riesgo de adicción genética que comprende las etapas de:

5 (a) realizar un análisis alélico sobre una muestra biológica obtenida de un sujeto para determinar la presencia de cada alelo en una pluralidad de alelos predeterminados, en los que

10 (i) cada uno de los alelos en la pluralidad de alelos predeterminados se asocia con un gen en una pluralidad de genes predeterminados,

(ii) hay al menos diez genes en la pluralidad de genes predeterminados, y

(iii) hay al menos un alelo para cada uno de los genes en la pluralidad de genes predeterminados, en la que la pluralidad de alelos predeterminados comprende:

15 (a) alelo G del gen DRD1;

(b) alelo A1 del gen DRD2;

(c) alelo C del gen DRD3;

(d) alelo C del gen DRD4;

20 (e) alelo 9R del gen DAT1;

(f) alelo 7-11R del gen DRD4;

(g) alelo S o L del HTTLPR;

(h) alelo 4R del gen MAOA;

(i) alelo G del gen COMT;

25 (j) alelo G del gen OPRM1; y

(k) alelo 181 del gen GABRB3, en la que los alelos se enumeran en la Tabla 3;

(b) asignar un recuento para cada uno de los alelos en la pluralidad de alelos predeterminados que se presentó en la muestra biológica; y

30 (c) determinar una puntuación de riesgo basada en el recuento, en la que la estratificación de la pluralidad de rangos identifica una severidad del riesgo de adicción genética.

2. El método de la reivindicación 1, en el que la pluralidad de alelos predeterminados consiste en:

35 (a) alelo G del gen DRD1;

(b) alelo A1 del gen DRD2;

(c) alelo C del gen DRD3;

(d) alelo C del gen DRD4;

40 (e) alelo 9R del gen DAT1;

(f) alelo 7-11R del gen DRD4;

(g) alelo S o L del HTTLPR;

(h) alelo 4R del gen MAOA;

(i) alelo G del gen COMT;

45 (j) alelo G del gen OPRM1; y

(k) alelo 181 del gen GABRB3.

3. El método de la reivindicación 1, en el que

50 (i) la puntuación de riesgo en un primer rango es indicativa de un riesgo de adicción genética bajo,

(ii) la puntuación de riesgo en un segundo rango es indicativa de un riesgo de adicción genética moderado,

(iii) la puntuación de riesgo en el tercer rango es indicativa de un riesgo de adicción genética alto.

4. El método de la reivindicación 3, en el que la pluralidad de alelos predeterminados consiste en:

55 (a) alelo G del gen DRD1;

(b) alelo A1 del gen DRD2;

(c) alelo C del gen DRD3;

(d) alelo C del gen DRD4;

60 (e) alelo 9R del gen DAT1;

(f) alelo 7-11R del gen DRD4;

(g) alelo S o L del HTTLPR;

(h) alelo 4R del gen MAOA;

(i) alelo G del gen COMT;

65 (j) alelo G del gen OPRM1; y

(k) alelo 181 del gen GABRB3.

5. El método de la reivindicación 3, en el que, para el riesgo de adicción genética para fármacos, el alto rango es 4 y superior, y opcionalmente el bajo rango es desde 0 hasta 1.
6. El método de la reivindicación 3, en el que, para el riesgo de adicción genética para alcohol, el alto rango es 8 y superior, y opcionalmente el bajo rango es desde 0 hasta 3.
7. El método de la reivindicación 1, en el que
- (a) la puntuación de riesgo es la suma de los alelos en la pluralidad de alelos predeterminados encontrados por estar presentes en la muestra biológica; o
- (b) la etapa de determinar la puntuación de riesgo no incluye ponderar los resultados del análisis alélico de la muestra biológica; o
- (c) la puntuación de riesgo identifica la estratificación de un síndrome de deficiencia de la recompensa seleccionado del grupo que consiste en alcohol, psicoestimulantes, marihuana, nicotina, opiáceos, función epigenética inducida por la alteración del receptor de opiáceos, carbohidratos, obesidad, juego, adicción al sexo, agresión, estrés, trastornos de personalidad, y búsqueda de novedad, ADHD, síndrome de Tourette, Autismo, y combinaciones de los mismos.
8. Un método que comprende un análisis genotípico de un panel de genes para identificar una pluralidad de alelos que comprende:
- (a) alelo G del gen DRD1;
- (b) alelo AI del gen DRD2;
- (c) alelo C del gen DRD3;
- (d) alelo C del gen DRD4;
- (e) alelo 9R del gen DAT1;
- (f) alelo 7-11R del gen DRD4;
- (g) alelo S o L del HTTLPR;
- (h) alelo 4R del gen MAOA;
- (i) alelo G del gen COMT;
- (j) alelo G del gen OPRM1; y
- (k) alelo 181 del gen GABRB3 como se enumera en la Tabla 3.
9. El método de la reivindicación 8, en el que la pluralidad de alelos consiste en:
- (a) alelo G del gen DRD1;
- (b) alelo AI del gen DRD2;
- (c) alelo C del gen DRD3;
- (d) alelo C del gen DRD4;
- (e) alelo 9R del gen DAT1;
- (f) alelo 7-11R del gen DRD4;
- (g) alelo S o L del HTTLPR;
- (h) alelo 4R del gen MAOA;
- (i) alelo G del gen COMT;
- (j) alelo G del gen OPRM1; y
- (k) alelo 181 del gen GABRB3.
10. Un kit para analizar un panel de genes, en el que el kit comprende:
- (a) un cebador de secuenciación (5' a 3') de alelo G del gen DRD1;
- (b) un cebador de secuenciación (5' a 3') de alelo AI del gen DRD2;
- (c) un cebador de secuenciación (5' a 3') de alelo C del gen DRD3;
- (d) un cebador de secuenciación (5' a 3') de alelo C del gen DRD4;
- (e) un cebador de secuenciación (5' a 3') de alelo 9R del gen DAT1;
- (f) un cebador de secuenciación (5' a 3') de alelo 7-11R del gen DRD4;
- (g) un cebador de secuenciación (5' a 3') de alelo S o L del HTTLPR;
- (h) un cebador de secuenciación (5' a 3') de alelo 4R del gen MAOA;
- (i) un cebador de secuenciación (5' a 3') de alelo G del gen COMT;
- (j) un cebador de secuenciación (5' a 3') de alelo G del gen OPRM1; y
- (k) un cebador de secuenciación (5' a 3') de alelo 181 del gen GABRB3, en el que los alelos se enumeran en la Tabla 3.