

УДК 375.17

ИССЛЕДОВАНИЕ РИСКА ПОДВЕРЖЕННОСТИ АЛКОГОЛИЗМУ КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ ЮГА ЗАПАДНОЙ СИБИРИ ПО ДАННЫМ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

*Н. В. Солопёкин, М. Б. Лавряшина, М. В. Ульянова, Т. А. Толочко,
А. В. Ларионов, А. В. Мейер, В. И. Минина, В. Г. Дружинин*

THE STUDY OF ALCOHOL ADDICTION RISK IN THE INDIGENOUS POPULATION OF SOUTHWEST SIBERIA ACCORDING TO MOLECULAR GENETIC MARKERS

*N. V. Solopekin, M. B. Lavryashina, M. V. Ulyanova, T. A. Tolochko,
A. V. Larionov, A. V. Meyer, V. I. Minina, V. G. Druzhinin*

Исследование проведено при поддержке гранта РГНФ 12-16-42006, администрации Кемеровской области соглашению № 3 от 25.05.2012 и проекта Минобрнауки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг. (шифр: «2012-1.4-12-000-1001-007»).

Изучено распределение частот аллелей и генотипов генов биотрансформации алкоголя: *rs 1229984 ADH1B* (полиморфизм G→A в 3 экзоне, замена Arg47His), *rs 671 ALDH2* (полиморфизм G→A в 12 экзоне, замена Glu487Lys) и *rs 3813867 CYP2E1* (полиморфизм G→C в 5'-регионе) у шорцев Таштагольского района Кемеровской области. Обследовано две группы шорцев (221 человек): группа больных, страдающих хроническим алкоголизмом и группа популяционного контроля. Показано, что характер распределения частот аллелей генов *ADH1B*, *ALDH2* и *CYP2E1* у шорцев группы популяционного контроля в целом соответствует распределению частот у народов Восточной Азии. Выявлены статистически значимые различия между группами «Контроль» и «Больные ХА» по частотам генотипов и аллелей генов *ADH1B* и *CYP2E1*. Отмечено, что гомозиготные генотипы *ADH1B*AA*, *CYP2E1*CC* и *ALDH2*AA* генов биотрансформации алкоголя *ADH1B*, *ALDH2* и *CYP2E1* чаще регистрируются у больных хроническим алкоголизмом по сравнению с группой популяционного контроля (*OR* = 4.81; *OR* = 2.03 и *OR* = 4.18 соответственно).

The distribution of allele and genotype frequencies of alcohol biotransformation genes of *rs 1229984 ADH1B* (G → A polymorphism in exon 3, Arg47His substitution), *rs 671 ALDH2* (G → A polymorphism in exon 12, Glu487Lys substitution) and *rs 3813867 CYP2E1* (G → C polymorphism in the 5' region) was studied in the Shors of Tashtagol, Kemerovo region. The study involved two groups of Shors (221 people total): a group of patients suffering from chronic alcoholism genes and a population control group. The article shows that the distribution of allele frequencies of *ADH1B*, *ALDH2* and *CYP2E1* in the Shors control group generally corresponds to the distribution of frequencies in the peoples of East Asia. Statistically significant differences in the frequencies of *ADH1B* and *CYP2E1* genes genotypes and alleles between the two groups were found. The *ADH1B*AA*, *CYP2E1*CC* and *ALDH2*AA* homozygous genotypes of of *ADH1B*, *ALDH2* and *CYP2E1* alcohol biotransformation genes are more frequently detected in patients with chronic alcoholism than in the control group (*OR* = 4.81; *OR* = 2.03 and *OR* = 4.18, respectively).

Ключевые слова: человек, полиморфизм, алкоголизм, гены биотрансформации алкоголя, шорцы.

Keywords: human, polymorphism, alcoholism, alcohol biotransformation genes, the Shors.

Алкоголизм – острейшая социальная и медицинская проблема международного масштаба. Показатели злоупотребления алкоголем существенно различаются в разных странах. В целом распространенность алкоголизма в мире варьируется от 3 – 5 % у женщин до 10 % у мужчин [8]. Согласно данным официальной статистики в большинстве районов Российской Федерации количество больных алкоголизмом составляет 1000 – 1500 человек на 100 тысяч населения. Известны отличия показателей распространенности алкоголизма в регионах РФ (в Ненецком автономном округе в 2008 году – 5542,0, в Камчатском крае – 2683,2, в Магаданской области – 5097,9, в Чукотском АО – 3990,3, в Ивановской области – 3377,8, в республике Карелия – 2546,9 [9] и среди представителей разных этнических групп [3]. Эти различия могут объясняться как биомедицинскими, так и этнокультурными факторами.

Шорцы – монголоидный тюркоязычный народ, имеющий статус коренного малочисленного народа Севера (КМНС). КМНС – это народы, проживающие

на территориях традиционного расселения своих предков, сохраняющие самобытный уклад жизни, считающиеся в России менее 50 тысяч человек и осознающие себя самостоятельными этническими общностями [Федеральный закон «Об основах государственного регулирования социально-экономического развития Севера Российской Федерации», ст. 1, п. 6]. По данным Всероссийской переписи населения 2010 года общая численность шорцев в Российской Федерации составляла 12 тыс. 888 человек, из них в Кемеровской области проживало 10 тыс. 672 [10].

Численность шорцев согласно переписям населения 1989, 2002 и 2010 годов неуклонно снижается. Если в 1989 году численность шорцев в Российской Федерации составляла 16 тыс. 600 человек, то в 2002 году зафиксировано ее уменьшение на 15,8 % (13 тыс. 975), а по данным на 2010 год шорцев в РФ осталось 12 тыс. 888 человек. То есть за 20 лет демографические потери шорцев составили 3712 – почти четверть населения (22,8 %) [10, 11]. Наблюдается также постепенное исчезновение традиционной шор-

ской культуры. Происходит это в силу нарастания урбанизации (шорцы – один из наиболее урбанизированных народов России, более 80 % представителей данного коренного народа являются городскими жителями), приводящей к интенсификации процессов ассимиляции и аккультурации. Все выше обозначенное негативным образом влияет на шорский этнос, приводя, в том числе, и к росту распространенности алкоголизма в среде шорцев.

Возникновение и характер течения алкоголизма сложным образом зависят от многих факторов как биологической, так и социальной природы. Следует отметить, что ни один из них не является достаточной причиной или единственным условием возникновения алкоголизма [1]. Подверженность хроническому алкоголизму проявляется как вероятность развития заболевания, которая детерминирована всей совокупно-

стью внешних и внутренних факторов. При определении факторов риска заболевания алкоголизмом закономерно встает вопрос о выявлении (выделении) определенных маркеров данного состояния. Среди многочисленных параметров обращает на себя внимание различие в индивидуальных спектрах ферментов метаболизма этанола, таких как алкогольдегидрогеназа, альдегиддегидрогеназа и цитохром P4502E1 (табл. 1). Комбинаторика и полиморфизм вышеперечисленных генов может обуславливать индивидуальную переносимость алкоголя. Поэтому целью настоящей работы было изучение полиморфизма генов биотрансформации этанола *ADH1B*, *ALDH2* и *CYP2E1* у шорцев Таштагольского района Кемеровской области, страдающих алкогольной зависимостью («Больные ХА») и в группе популяционного контроля («Контроль»).

Таблица 1

Гены биотрансформации этанола: хромосомная локализация, биологическая роль, полиморфизм, активность продуктов генов

Фермент, символ	Хромосомная локализация	Биологическая роль	Полиморфизм		Активность продуктов
			мутация	номенклатура	
Алкогольдегидрогеназа, <i>ADH</i>	4q21-q23	Окисление этанола до ацетальдегида	G→A в 3 экзоне, замена Arg47His	<i>ADH1B*47Arg</i> ; <i>ADH1B*1</i> ; <i>G</i>	Нормальная активность фермента
				<i>ADH1B*47His</i> ; <i>ADH1B*2</i> ; <i>A</i>	Высокая активность фермента
Альдегиддегидрогеназа, <i>ALDH</i>	12q24.2	Окисление альдегидов до ацетата	G→A в 12 экзоне, замена Glu487Lys	<i>ALDH2*487Glu</i> ; <i>ALDH2*1</i> ; <i>G</i>	Нормальная активность фермента
				<i>ALDH2*487Lys</i> ; <i>ALDH2*2</i> ; <i>A</i>	Сниженная активность фермента
Цитохром P4502E1, <i>CYP2E1</i>	10q24.3-qter	Окисление этанола до ацетальдегида и ацетата	G→C в 5'-регионе	<i>CYP2E1*Pst1-</i> ; <i>CYP2E1*CI</i> ; <i>G</i>	Нормальный уровень транскрипции
				<i>CYP2E1*Pst1+</i> ; <i>CYP2E1*C2</i> ; <i>C</i>	Высокий уровень транскрипции

Таблица 2

Объемы выборок и половозрастная структура обследованных групп шорцев

Показатели Группы	N	Средний возраст, ($\Sigma \pm \sigma$)	Пределы варьирования
«Больные ХА»	50	38.39 ± 1.58	19 – 54
Мужчины	28	39.00 ± 2.16	19 – 49
Женщины	22	35.78 ± 2.32	27 – 54
«Контроль»	171	13.79 ± 0.31	11 – 18
Мужчины	81	15.82 ± 0.43	12 – 18
Женщины	90	13.93 ± 0.46	11 – 14

Обследованы две группы шорцев. Группа «Больные ХА» включала лиц с установленным диагнозом хронический алкоголизм (ХА) 1 и 2 степени. Диагностика заболевания осуществлялась специалистами МУЗ «Центральная городская больница г. Таштагол». Вторая группа – «Контроль» – была сформирована из шорцев, проживающих в г. Таштагол и Таштагольском районе Кемеровской области и является по сути популяционным контролем. Суммарно обследован

221 человек. Половозрастная структура обследованных групп и объем выборок приведены в таблице 2.

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенные из цельной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Получение образцов крови сопровождалось информированным согласием волонтеров к участию в исследовании, утвержденном Комиссией по Биоэтике Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения выс-

шего профессионального образования «Кемеровский государственный университет». Генотипирование полиморфизмов *rs* 1229984 гена *ADH1B*, *rs* 671 гена *ALDH2* и *rs* 3813867 гена *CYP2E1* проводили методом полимеразной цепной реакции с использованием комплекта реагентов для амплификации «SNP-экспресс» (НПФ «Литех», г. Москва). Результаты амплификации оценивали в 2 % агарозном геле. Для детекции ДНК использовали окраску гелей бромистым этидием с последующей визуализацией ДНК в УФ-свете.

На основе результатов генотипирования рассчитывали аллельные частоты. Сравнение частот аллелей в группах проводили на основании использования критерия χ^2 , частоты генотипов сопоставляли при помощи Т-критерия Стьюдента для выборочной доли. Для оценки риска развития заболевания вычисляли показатель отношения шансов (odds ratio, *OR*) с 95 % доверительными интервалами (confidence interval, *CI*). Величина *OR* = 1 указывает на отсутствие ассоциации (т. е. одинаковую частоту признака у больных и здоровых лиц), *OR* > 1 (положительная ассоциация) оз-

начает, что признак чаще встречается у больных, *OR* < 1 (отрицательная ассоциация) указывает на снижение частоты признака у больных. Доверительный интервал (*CI*) представляет собой интервал значений, в пределах которого с вероятностью 95 % находится ожидаемое значение рассматриваемого параметра – в данном случае, значение *OR*.

Данные, характеризующие распределение частот аллелей генов *ADH1B*, *ALDH2* и *CYP2E1* в обследованных группах шорцев, представлены в таблице 3. Отметим, что частота *ADH1B*47His(A)* *rs* гена 1229984 *ADH1B* у шорцев группы «Контроль» оказалась выше (0.392), чем у таких монголоидных народов Сибири, как алтайцы (0.229), буряты (0.197) [4, с. 89 – 92], и близкой к частоте у монголов (0.389) [6]. Что касается популяционной частоты *ALDH2*487Lys(A)* *rs* гена 671 *ALDH2* и *CYP2E1*PstI⁺(C)* *rs* гена 3813867 *CYP2E1*, то у шорцев группы популяционного контроля она сопоставима с частотами большинства народов Восточной Азии, приведенными в базе ALFRED [12].

Таблица 3

Частоты аллелей *rs* 1229984 *ADH1B*, *rs* 671 *ALDH2* и *rs* 3813867 *CYP2E1* в обследованных группах шорцев Кемеровской области

Группа	<i>ADH1B</i>		<i>ALDH2</i>		<i>CYP2E1</i>	
	<i>G</i>	<i>A</i>	<i>G</i>	<i>A</i>	<i>G</i>	<i>C</i>
«Больные ХА»	0.400*	0.600*	0.490	0.510	0.560***	0.440***
«Контроль»	0.608	0.392	0.623	0.377	0.830	0.170

Примечание: индекс показывает наличие статистически значимых (критерий – χ^2) отличий между группами шорцев (* – $p < 0.05$; *** – $p < 0.001$).

Сравнительный анализ частот аллелей в группе шорцев, страдающих хроническим алкоголизмом, и в группе «Контроль» выявил статистически значимые различия между ними. По *rs* 1229984 *ADH1B* и *rs* 3813867 *CYP2E1* у шорцев группы «Больные ХА» достоверно чаще регистрируются варианты *ADH1B*47His(A)* и *CYP2E1*PstI⁺(C)* ($\chi^2 = 2.44$; $p < 0.05$ и $\chi^2=3.79$; $p < 0.001$ соответственно). Частота аллеля *ALDH2*487Lys(A)* гена *rs* 671 *ALDH2* у шорцев, страдающих хроническим алкоголизмом, оказалась почти в 1.5 раза выше, чем в группе «Контроль», однако, выявленные отличия не являются статистически значимыми.

Сопоставление генотипических частот *rs* 1229984 гена *ADH1B* показало, что в группе шорцев «Больные

ХА» достоверно чаще регистрируется гомозиготный генотип *ADH1B*AA* ($T = 3.59$; $p < 0.001$) по сравнению с группой популяционного контроля (табл. 4). Гомозиготный генотип *ADH1B*GG* и гетерозиготный генотип *ADH1B*GA*, напротив, встречаются чаще в группе «Контроль». Полученное значение показателя отношения шансов ($OR = 0.57$ и 0.47 соответственно) для носителей гомозиготного генотипа *ADH1B*GG* и гетерозиготного генотипа *ADH1B*GA* свидетельствует об отрицательной ассоциации (сниженный риск развития заболевания), а для носителей гомозиготного генотипа *ADH1B*AA*, напротив, выявлена положительная ассоциация ($OR = 4.81$).

Таблица 4

Частоты генотипов *rs* 1229984 *ADH1B* в обследованных группах шорцев

Генотипы	Группы		Показатели			
	«Больные ХА»	«Контроль»	χ^2	<i>P</i>	<i>OR</i>	<i>CI</i>
<i>GG</i>	24.00 ± 12.32	35.67 ± 6.13	21.09	0.00003	0.57	0.28 – 1.17
<i>GA</i>	32.00 ± 11.66	50.29 ± 5.39			0.47	0.24 – 0.90
<i>AA</i>	44.00 ± 10.58***	14.04 ± 7.10			4.81	2.38 – 9.75

Примечание: индекс показывает наличие статистически значимых (Т-критерий) отличий между группами (***) – $p < 0.001$); *OR* – показатель отношения шансов; *CI* – доверительными интервалами.

Частоты генотипов *rs 671 ALDH2* в обследованных группах шорцев

Генотипы	Группы		Показатели			
	«Больные ХА»	«Контроль»	χ^2	P	OR	CI
GG	28.00 ± 12.00	38.01 ± 6.02	7.60	0.02	0.92	0.11 – 0.40
GA	42.00 ± 10.77	48.53 ± 5.48			0.71	1.36 – 5.30
AA	30.00 ± 11.83*	13.46 ± 7.11			2.03	1.74 – 10.04

Примечание: индекс показывает наличие статистически значимых (Т-критерий) отличий между группами (* – $p < 0.05$); OR – показатель отношения шансов; CI – доверительными интервалами.

Таблица 6

Частоты генотипов *rs 3813867 CYP2E1* в обследованных группах шорцев

Генотипы	Группы		Показатели			
	«Больные ХА»	«Контроль»	χ^2	P	OR	CI
GG	36.00 ± 11.31	73.09 ± 3.96*	24.91	0.000004	0.21	0.48 – 1.77
GC	40.00 ± 10.95	19.88 ± 6.84**			2.69	0.37 – 1.34
CC	24.00 ± 12.32	7.03 ± 7.38**			4.18	0.93 – 4.45

Примечание: индекс показывает наличие статистически значимых (Т-критерий) отличий между группами (* – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$); OR – показатель отношения шансов; CI – доверительными интервалами.

Анализ генотипических частот *rs 671* гена *ALDH2* продемонстрировал, что гомозиготный генотип *ALDH2*GG* и гетерозиготный генотип *ALDH2*GA* у шорцев группы популяционного контроля встречаются чаще, чем у шорцев больных алкоголизмом (табл. 5). Частота гомозиготного генотипа *ALDH2*AA* оказалась выше в группе «Больные ХА» ($T = 2.0$, $p < 0.05$). Значение показателя OR у носителей гомозиготного генотипа *ALDH2*AA* свидетельствует об отрицательной ассоциации данного признака с риском развития заболевания, а у носителей гомозиготного генотипа *ALDH2*GG* и гетерозиготного генотипа *ALDH2*GA*, наоборот, отмечена положительная ассоциация ($OR = 2.03$).

Сравнительный анализ частот генотипов *rs 3813867* гена *CYP2E1* также выявил различия между шорцами группы «Контроль» и группы «Больные ХА» (табл. 6). Частота гомозиготного генотипа *CYP2E1*GG* в контрольной группе превышает таковую в группе больных алкоголизмом. Выявленные различия статистически значимы ($T = 2.47$, $p < 0,05$). Что касается частот гетерозиготного генотипа *CYP2E1*GC* и гомозиготного генотипа *CYP2E1*CC*, то они выше среди шорцев группы «Больные ХА» ($T = 2.85$, $p < 0.01$ и $T = 3.21$, $p < 0.01$ соответственно). Расчет показателей отношения шансов развития заболевания иллюстрирует повышенный уровень риска развития алкоголизма у шорцев, носителей гетерозиготного генотипа *CYP2E1*GC* ($OR = 2.69$). Однако самые высокие значения показателя OR выявлены у носителей гомозиготного генотипа *CYP2E1*AA* по гену *CYP2E1* ($OR = 4.81$).

По данным литературы [6, 8] сочетание в геноме человека быстрой формы фермента *ADH1B*47His* или

*CYP2E1*Pst1⁺* и медленной формы *ALDH2*487Lys* приводит к быстрому накоплению в организме токсических продуктов метаболизма этанола (flush-синдром), что должно определять негативную реакцию на алкоголь и, как результат, меньшую предрасположенность к развитию хронического алкоголизма. Однако полученные нами результаты демонстрируют иную картину, что говорит о необходимости продолжения исследования генов биотрансформации алкоголя у шорцев по более широкому спектру маркеров и при более обширной выборке.

В целом проведенное исследование свидетельствует о генетическом своеобразии исследованных групп шорцев по генам *ADH1B*, *ALDH2* и *CYP2E1* и позволяет более детально оценить особенности распределения частот генов биотрансформации этанола у представителей коренного населения юга Западной Сибири в контексте подверженности развития хронического алкоголизма. На основании результатов исследования можно сделать заключение о том, что характер распределения частот генов биотрансформации алкоголя *ADH1B*, *ALDH2* и *CYP2E1* в группе шорцев популяционного контроля в целом соответствует таковому у большинства народов Восточной Азии. Более высокая частота генотипов *ADH1B*47His*, *CYP2E1*Pst1⁺* и *ALDH2*487Lys* генов биотрансформации алкоголя *ADH1B*, *ALDH2* и *CYP2E1* ($OR=4.81$; $OR=2.03$ и $OR=4.18$ соответственно) в группе «Больные ХА» по сравнению с группой «Контроль» отражает повышенный риск развития алкоголизма у шорцев, являющихся носителями данных генотипических вариантов.

Литература

1. Билибин, Д. П. Патофизиология алкогольной болезни и наркоманий / Д. П. Билибин, В. Е. Дворников. – М.: УДН, 1991. – 104 с.
2. Полиморфизм генов алкогольдегидрогеназ в русских популяциях Сибирского региона / А. В. Марусин [и др.] // Мол. Биология. – 2004. – Т. 38. – № 4. – С. 625 – 631.
3. Сухарев, А. В. Этнофункциональная психология: исследования и психотерапия / А. В. Сухарев. – М.: ИЭА РАН, 1998. – 221 с.
4. Distribution of the alcohol dehydrogenase ADH1B*47His allele in Eurasia. Am J Hum Genet / S. Borinskaya [et al.]. – 2009. – № 84. – С. 89 – 92.
5. Lee, Sh-L. Functionality of allelic variation dehydrogenase gene family assessment of a functional window for protection against alcoholism / Sh-L. Lee, Höö J-O., Yip Sh-J // Pharmacogenetics. – 2004. – V. 14. – № 11. – P. 725 – 732.
6. Li, H. Speed WC, Pakstis AJ, Golub EI, Kidd JR, Kidd KK "Ethnic Related Selection for an ADH Class I Variant within East Asia." PLoS ONE / H. Li, S. Gu, X. Cai. – 2008. – № 3. – 1881 p.
7. High incidence of ADH2*1/ALDH2*1 genes among Japanese alcohol dependents and patients with alcoholic liver disease / F. Tanaka [et al.] // Hepatology. – 1996. – V. 23. – № 2. – С. 234 – 239.
8. Режим доступа: <http://alkogolizm.info> (дата обращения: 01.09.2012).
9. Режим доступа: <http://www.luga47region.ru> (дата обращения: 01.09.2012).
10. Режим доступа: <http://www.gks.ru> (дата обращения: 01.09.2012).
11. Режим доступа: <http://www.perepis.2002.ru> (дата обращения: 01.09.2012).
12. Режим доступа: <http://alfred.med.yale.edu/alfred/index.asp> (дата обращения: 01.09.2012).

Информация об авторах:

Солопёкин Николай Валерьевич – аспирант кафедры генетики биологического факультета КемГУ, nikolai_solopeki@mail.ru.

Nicholay V. Solopekin – post-graduate student at the Department of Genetics, Kemerovo State University.

Лавряшина Мария Борисовна – кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики биологического факультета КемГУ, lmb2001@mail.ru.

Mariya B. Lavryashina – Candidate of Biology, Assistant Professor at the Department of Genetics, Kemerovo State University.

Ульянова Марина Владиславовна – кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры генетики биологического факультета КемГУ, ulmar2003@mail.ru.

Marina V. Ulyanova – Candidate of Biology, Senior Lecturer at the Department of Genetics, Kemerovo State University.

Толочко Татьяна Андреевна – старший преподаватель кафедры генетики биологического факультета КемГУ, ttal1956@mail.ru.

Tatyana A. Tolochko – Senior Lecturer at the Department of Genetics, Kemerovo State University.

Ларионов Алексей Викторович – кандидат биологических наук, ассистент кафедры генетики биологического факультета КемГУ, alekseylarionov09@gmail.com.

Alexey V. Larionov – Candidate of Biology, Lecturer at the Department of Genetics of Kemerovo State University.

Мейер Алина Викторовна – аспирантка кафедры генетики биологического факультета КемГУ, shapoalina@yandex.ru.

Alina V. Meyer – post-graduate student at the Department of Genetics, Kemerovo State University.

Минина Варвара Ивановна – кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики биологического факультета КемГУ, заведующая лабораторией цитогенетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института экологии человека СО РАН, vminina@mail.ru.

Varvara I. Minina – Candidate of Biology, Assistant Professor at the Department of Genetics, Kemerovo State University; Head of Cytogenetics Laboratory at the Institute for Human Ecology of the Siberian branch of the RAS.

Дружинин Владимир Геннадьевич – доктор биологических наук, профессор, проректор по НИР КемГУ, druzhinin_vladim@mail.ru.

Vladimir G. Druzhinin – Doctor of Biology, Professor, Vice-Rector for Science of Kemerovo State University; leading researcher at the Institute for Human Ecology of the Siberian branch of the RAS.