

УДК 575.113.[1-3,5];575.174.015.3

## МЕЖГЕННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ В УВЕЛИЧЕНИИ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ

Е. В. СНЫТКОВ<sup>1)</sup>, В. Н. КИПЕНЬ<sup>2)</sup>, А. В. КАЗАЧОК<sup>3)</sup>, С. Б. МЕЛЬНОВ<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова БГУ,  
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь

<sup>2)</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларусь,  
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

<sup>3)</sup>Минский областной клинический центр «Психиатрия – наркология»,  
ул. П. Бровки, 7, 220013, г. Минск, Беларусь

Представлены результаты молекулярно-генетического анализа 13 полиморфных вариантов генов, по данным полигеномного поиска ассоциаций (GWAS) связанных с развитием аддиктивных состояний, в группе лиц с алкогольной зависимостью ( $n = 142$ ) и группе сравнения ( $n = 211$ ). Основной метод генотипирования – полимеразная цепная реакция (ПЦР) с последующим высокоразрешающим плавлением ампликона (HRM) и кластеризацией профилей плавления, результаты плавления валидированы с использованием метода полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ). В итоге установлено, что однонуклеотидными полиморфизмами, ассоциированными с повышенной вероятностью развития алкогольной зависимости, являются генотип GG (rs7085104, AS3MT); генотип GG (rs7590720, PECR); аллель C (rs11191580, NT5C2); аллель T (rs17504622); аллель A (rs73229090, EPHX2); аллель A (rs1109501, MUC7).

**Ключевые слова:** алкогольная зависимость; предрасположенность; однонуклеотидный полиморфизм; ПЦР; высокочувствительный анализ кривых плавления; межгенное взаимодействие.

**Благодарность.** Исследование частично поддержано грантом Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (№ гос. регистрации 20151043 от 04.05.2015 г.).

### Образец цитирования:

Снытков ЕВ, Кипень ВН, Казачок АВ, Мельнов СБ. Межгенные взаимодействия и генетический полиморфизм в увеличении вероятности развития алкогольной зависимости. Журнал Белорусского государственного университета. Биология. 2021;1:92–105.

<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-1-92-105>

### For citation:

Snytkov EV, Kipen VN, Kazachok AV, Melnov SB. Intergenic interactions and genetic polymorphism in increasing the probability of alcoholic dependence. Journal of the Belarusian State University. Biology. 2021;1:92–105. Russian.  
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-1-92-105>

### Авторы:

**Евгений Владимирович Снытков** – преподаватель кафедры общей биологии и генетики факультета экологической медицины.

**Вячеслав Николаевич Кипень** – кандидат биологических наук; старший научный сотрудник лаборатории генетической и клеточной инженерии.

**Александр Викторович Казачок** – врач-психиатр-нарколог, заведующий организационно-методическим консультативным отделом.

**Сергей Борисович Мельнов** – доктор биологических наук, профессор; профессор кафедры экологической медицины и радиобиологии факультета экологической медицины.

### Authors:

**Evgenii V. Snytkov**, lecturer at the department of general biology and genetics, faculty of environmental medicine.  
[evsnytkov@gmail.com](mailto:evsnytkov@gmail.com)

**Vyacheslav N. Kipen**, PhD (biology); senior researcher at the laboratory of genetic and cellular engineering.  
[v.kipen@igc.by](mailto:v.kipen@igc.by)

**Aleksandr V. Kazachok**, psychiatrist-narcologist, head of the organizational and methodological advisory department.  
[kazachok@tut.by](mailto:kazachok@tut.by)

**Sergei B. Melnov**, doctor of science (biology), full professor; professor at the department of environmental medicine and radiobiology, faculty of environmental medicine.  
[sbmelnov@gmail.com](mailto:sbmelnov@gmail.com)

## INTERGENIC INTERACTIONS AND GENETIC POLYMORPHISM IN INCREASING THE PROBABILITY OF ALCOHOLIC DEPENDENCE

E. V. SNYTKOV<sup>a</sup>, V. N. KIPEN<sup>b</sup>, A. V. KAZACHOK<sup>c</sup>, S. B. MELNOV<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*International Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University,  
23/1 Daūhabrodskaja Street, Minsk 220070, Belarus*

<sup>b</sup>*Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus,  
27 Akademicheskaya Street, Minsk 220072, Belarus*

<sup>c</sup>*Minsk Regional Clinical Center «Psychiatry – Narcology»,  
7 P. Broiūki Street, Minsk 220013, Belarus*

*Corresponding author: E. V. Snytkov (evsnytkov@gmail.com)*

The results of molecular genetic analysis of 13 polymorphic variants of genes, according to the data of genome-wide association studies (GWAS) associated with the development of addictive states, in the group of persons with alcohol dependence ( $n = 142$ ) and in the comparison group ( $n = 211$ ) are presented. The main genotyping method is polymerase chain reaction (PCR) followed by high resolution melting (HRM) and clustering of melting profiles; the melting results are validated using the restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method. As a result, single nucleotide polymorphisms associated with an increased likelihood of alcohol dependence are genotype GG (rs7085104, *AS3MT*); genotype GG (rs7590720, *PECR*); allele C (rs11191580, *NT5C2*); allele T (rs17504622); allele A (rs73229090, *EPHX2*); allele A (rs1109501, *MUC7*).

**Keywords:** alcohol dependence; predisposition; single nucleotide polymorphism; PCR; high resolution melting curve analysis; intergenic interaction.

**Acknowledgements.** This study was partially supported by a grant from the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (state registration No. 20151043 dated 04.05.2015).

### Введение

Синдром алкогольной зависимости (алкоголизм, САЗ, код по Международной классификации болезней – F10) – хроническое состояние, характеризующееся пристрастием к алкоголю с психической и физиологической зависимостью от него. При этом синдром алкогольной зависимости имеет ряд социальных проявлений (повышение смертности, снижение уровня жизни людей, уменьшение налоговых отчислений, падение производительности труда, рост числа непреднамеренных травм, дорожно-транспортных происшествий, суицидов, случаев криминального поведения и др.).

Известно, что алкоголь способствует увеличению риска смерти от сопутствующих заболеваний, таких как цирроз печени, рак, сердечно-сосудистые заболевания. По данным Всемирной организации здравоохранения<sup>1</sup> (ВОЗ), тенденции потребления алкоголя и связанная с этим смертность в Европейском регионе с 1990 по 2014 г. показывают, что за этот период (25 лет) смертность, связанная с алкоголем, увеличилась на 4 %. Число смертельных исходов от сердечно-сосудистых заболеваний (исключая ишемическую болезнь сердца) и травм пропорционально выше в Центрально-Восточной и Восточной Европе вследствие общего высокого уровня потребления алкоголя в сочетании с эпизодами употребления спиртных напитков в больших количествах [1].

Также стоит отметить, что в Европейском регионе доля уровня заболеваемости и преждевременной смертности, обусловленных алкоголизмом, является самой высокой в мире. Установлено, что риск смерти от хронического заболевания, связанного с употреблением алкоголя, линейно возрастает с увеличением количества потребленного алкоголя в соответствии с моделью *доза – эффект*. По данным ВОЗ, в начале XX в. коэффициент смертности, ассоциированной с алкоголем, на 100 тыс. человек в масштабах Европейского союза составлял 57 для мужчин и 15 для женщин. Вместе с тем региональные уровни смертности варьировали в широких пределах: от 129 для мужчин и 27 для женщин на 100 тыс. человек в Центрально-Восточной и Восточной Европе до 30 для мужчин и 10 для женщин (самый низкий уровень) в Южной Европе. Причиной подавляющего большинства смертельных исходов и увечий, связанных с алкоголизмом, является транспортный травматизм, второе место (со значительным отставанием) занимает насилие [1].

В Республике Беларусь ведется статистический учет случаев развития алкогольной зависимости и употребления алкоголя на душу населения. По данным Национального статистического комитета

<sup>1</sup>См.: <https://www.who.int/ru>.

Республики Беларусь, в последнее десятилетие уровень заболеваемости алкоголизмом и алкогольными психозами постепенно снижается. Стоит отметить, что это снижение не является результатом сокращения численности населения, так как количество пациентов с впервые установленным диагнозом на 100 тыс. человек уменьшается с 2010 г.

В настоящее время дискутируются две основные гипотезы: первая – генетический фактор развития алкогольной зависимости обусловлен совокупным влиянием множества низко- и среднепенетрантных генов, каждый из которых обладает незначительным эффектом по отдельности; вторая – наибольший вклад в развитие алкогольной зависимости вносит немногочисленная группа высокопенетрантных генов. Известно, что у людей, родители которых имели проблемы с контролем употребления алкоголя, риск развития алкоголизма заметно выше [2], поэтому, на наш взгляд, генетические и экологические факторы риска одинаково важны в развитии алкоголизма.

Алкогольная зависимость у одного из членов семьи является сильным предиктором алкоголизма и у других членов семьи с положительной корреляционной связью. Это обусловлено более ранним началом употребления алкоголя [3] и более тяжелой симптоматикой алкоголизма [4].

В настоящий момент общеизвестными генами, полиморфные локусы которых связаны с развитием алкогольной зависимости, являются *ADH1B* и *ALDH2*. У людей более 90 % поглощенного алкоголя удаляется путем метаболического разложения, которое в основном происходит в печени (гепатоцитах). Генетические полиморфизмы p.His48Arg (*ADH1B*) и p.Glu504Lys (*ALDH2*) оказывают сильное влияние на метаболизм алкоголя. Скорость окисления этианола увеличивается при носительстве аллеля His (*ADH1B*) и уменьшается при наличии аллеля Lys (*ALDH2*), который кодирует неактивную форму фермента, что приводит к повышению уровня ацетальдегида после употребления алкоголя из-за более медленной скорости его метаболизма. В европеоидных популяциях почти нет гетерозигот этих связанных с алкоголем полиморфизмов [5]. Установлено, что полиморфизм гена *ADH1B* оказывает большое влияние на ряд признаков, в том числе алкогольную зависимость [6] и рак желудочно-кишечного тракта [7–10]. Влияние полиморфизма гена *ALDH2* во многом зависит от расовой или этнической группы. Так, например, было показано, что патологический генотип более распространен среди азиатов, чем среди европейцев или афроамериканцев [11]. Данный факт, несомненно, диктует необходимость выявления дополнительных генов, полиморфизм которых связан с развитием алкоголизма вне зависимости от расовой либо этнической группы.

В постгеномную эру все больше исследований направлено на полногеномный поиск ассоциаций (*genome-wide association studies*, GWAS) генетических маркеров с развитием алкоголизма [12; 13].

В связи с этим определение и оценка частоты распространенности рискаассоциированных аллелей потенциальных генов-кандидатов, влияющих на формирование алкогольной зависимости, представляются весьма актуальной задачей. Таким образом, цель настоящего исследования – оценить частоту распространенности генотипов и аллелей для ряда полиморфных вариантов генов, по данным GWAS предположительно ассоциированных с повышенной вероятностью развития аддиктивных зависимостей.

## Материалы и методы исследования

Данное исследование проведено по типу *случай – контроль*. В него были включены 353 добровольца, постоянно проживающих на территории Республики Беларусь, для 142 из которых клинически установлена алкогольная зависимость (основная группа), в то время как 211 человек не имели пристрастия к спиртосодержащим веществам (группа сравнения). По основным демографическим критериям (пол, возраст, социальный статус и пр.) группа сравнения соответствовала основной группе.

После проведения разъяснительной беседы и получения добровольного согласия в письменной форме у всех испытуемых был осуществлен забор биологического материала (буккального эпителия) на тампон-зонд. ДНК выделяли стандартным двухэтапным методом фенольно-хлороформной экстракции [14]. Идентификацию генотипа в исследуемых полиморфных сайтах проводили с использованием технологии плавления ампликона высокого разрешения (*high resolution melting*, HRM) на термоциклире CFX96 Touch (*Bio-Rad*, США) в режиме реального времени по следующему протоколу: 1) стадия амплификации (95 °C, 2 мин); 2) денатурация ДНК (95 °C, 10 с), отжиг праймеров (60 °C, 30 с), элонгация (72 °C, 30 с) – 40 циклов; 3) стадия плавления ампликона (95 °C в течение 30 с, 60 °C на протяжении 1 мин, затем повышение температуры от 65 до 95 °C (температурный инкремент +0,2 °C) со считыванием флуоресцентного сигнала в течение 10 с на каждом этапе). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в объеме 20 мкл с использованием реагента Precision Melt Supermix for High Resolution Melt (HRM) Analysis (*Bio-Rad*) в 3-кратной повторности согласно рекомендации производителя, количество геномной ДНК на реакцию составляло 30–50 нг, концентрация праймеров была 200–400 нмоль/л. Для анализа результатов аллельной кластеризации применяли программное обеспечение *Precision Melt*

*Analysis™ v.1.3 (Bio-Rad)*. Корректность определения генотипа контролировали с помощью метода полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ).

Праймеры смоделированы с использованием инструмента Primer-BLAST<sup>2</sup> (*National Center for Biotechnology Information*, США), в котором реализованы алгоритмы Primer3 и BLAST. Характеристика исследованных полиморфизмов представлена в табл. 1.

Таблица 1

Структура праймеров для амплификации фрагментов в полиморфных сайтах генов

Table 1

The structure of primers for amplification of fragments in polymorphic gene sites

| Полиморфизм (ген)                | Последовательность олигонуклеотидов                                      | Рестриктаза* |
|----------------------------------|--|--------------|
| rs6902771 ( <i>ESR1</i> )        | F: 5'-AGTGCCATGAAAAACAAAGTATAAGGG-3'<br>R: 5'-CTCCCTCATCAAATCAAGTCCCC-3' | RsaI         |
| rs7085104 ( <i>AS3MT</i> )       | F: 5'-TTGGTCTCCGTTTGGTGATGTA-3'<br>R: 5'-TCCATCTTCTTCAGTGTGCAGTT-3'      | MspI         |
| rs7590720 ( <i>PECR</i> )        | F: 5'-ATCCA AAAA TAGCCTAGAGATTGGC-3'<br>R: 5'-ATGCTACGTCAAAACTAGCGA-3'   | DdeI         |
| rs11191580 ( <i>NT5C2</i> )      | F: 5'-TGT TTTCC TTATGGG CTTGC-3'<br>R: 5'-TTTGCC CTCTCAAAAAGCAC-3'       | TspRI        |
| rs17504622                       | F: 5'-AGTAACATCCAACGGCTCACAG-3'<br>R: 5'-GGGCATGGCAGCTCTAAGGAG-3'        | AluI         |
| rs56205728 ( <i>BUB1B-PAK6</i> ) | F: 5'-CAACAGGAAACATCTCCAAGACA-3'<br>R: 5'-TTATATGCTAATTGGGGTTAGCG-3'     | AciI         |
| rs73229090 ( <i>EPHX2</i> )      | F: 5'-CTCCAGTCCCAGCCCTATTATG-3'<br>R: 5'-TGCTAATCCCCTCCCATCGC-3'         | DpnI         |
| rs237238 ( <i>HIP1</i> )         | F: 5'-AGCCACTTACAAGTTGTCACGTC-3'<br>R: 5'-AGGCAACCTGCAGATGAGTGAC-3'      | MspI         |
| rs1109501 ( <i>MUC7</i> )        | F: 5'-TGGCTTTAACACCGTAAGAACAA-3'<br>R: 5'-AATGGTACCTTCTTGTGTGCC-3'       | AciI         |
| rs2007044 ( <i>CACNA1C</i> )     | F: 5'-CAGGTAGGAGCAGTCGGTG-3'<br>R: 5'-GCAAAGTGGAAGTGAAAATGGAAC-3'        | AciI         |
| rs2273500 ( <i>CHRNA4</i> )      | F: 5'-GGGCTGATGGCGAAAAGCAC-3'<br>R: 5'-GTCTTGCCCCCACCTTGA-3'             | AluI         |
| rs3735025 ( <i>DGKI</i> )        | F: 5'-ACCTAAAATGGGGCTCCTCTCAC-3'<br>R: 5'-TTGGAATGTTGCACAGAGGCTAAT-3'    | AluI         |
| rs4356203 ( <i>PIK3C2A</i> )     | F: 5'-TTTCCTCAGCCTAGAGGTGACA-3'<br>R: 5'-CAACCCTACTCTAAGGGTCC-3'         | HhaI         |

\*Все использованные рестриктазы произведены компанией *New England Biolabs* (США).

Для нахождения различий между номинальными показателями применяли метод  $\chi^2$ -квадрат. Уровень статистической значимости *p* при множественных сравнениях вычисляли экспериментально для каждого конкретного случая (сравнения) в процессе моделирования в пакете *SPSS v.20* (IBM, США). При этом использовали точный критерий Фишера, основанный на пермутации (*permutation*): уровень *p* рассчитывается по формулам комбинаторной теории вероятностей. Анализ ассоциации генотипов и аллелей с риском развития заболевания проводили путем вычисления показателя отношения шансов (ОШ) для каждого анализируемого полиморфного сайта (с расчетом 95 % доверительного интервала (ДИ)). Статистическую обработку данных выполняли с помощью пакета *SPSS v.20*.

Анализ межгенных взаимодействий проводили биоинформационским методом многофакторного сокращения размерности (*multifactor dimensionality reduction*, MDR) с применением размещенного в открытом доступе программного обеспечения *MDR v.3.0.2*. В процессе моделирования были использованы

<sup>2</sup>См.: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>.

высококонсервативные настройки поиска конфигурации модели, которые позволили однозначно дифференцировать наличие либо отсутствие статистически значимых эффектов: количество атрибутов (*attribute count range*) – от 1 до  $n$  (где  $n$  – количество переменных в модели); воспроизводимость модели (*cross-validation count*) – 100; анализ топ-моделей (*track top models*) – 1000; поиск конфигурации модели (*search method configuration*) – всесторонний (*exhaustive*); метод сравнения (*ambiguous cell analysis*) – точный тест Фишера (*Fisher's exact test*); классификация ячеек (*ambiguous cell assignment*) – неклассифицированные (*unclassified*). Математической базой данной программы является непараметрический кластерный анализ для обнаружения и описания нелинейного типа взаимодействия между дискретными генетическими атрибутами.

### Результаты и их обсуждение

**Распределение генотипов и аллелей исследуемых полиморфных вариантов генов.** Нами изучено распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов *ESR1*, *AS3MT*, *PECR*, *NT5C2*, *BUB1B-PAK6*, *EPHX2*, *HIP1*, *MUC7*, *CACNA1C*, *CHRNA4*, *DGKI* и *PIK3C2A* у лиц, страдающих алкогольной зависимостью, и у представителей группы сравнения (табл. 2).

Все полиморфные локусы были выбраны на основании данных информационной базы GWAS Catalog<sup>3</sup>. В работу вошли локусы, для которых уровень значимости  $p < 1 \cdot 10^{-6}$ . Также в непосредственной близости от этих локусов отсутствовали другие полиморфизмы, что является необходимым условием для проведения HRM-анализа, а расчетная разница в температурах плавления для различных аллелей была наибольшей (на основании расчетов в Oligonucleotide Properties Calculator<sup>4</sup>).

Таблица 2

Результат генотипирования по исследуемым полиморфизмам

Table 2

Result of genotyping for the studied polymorphisms

| Полиморфизм (ген)             | Генотип или аллель | Группа сравнения | Основная группа | $p$    | ОШ (95 % ДИ)     |
|-------------------------------|--------------------|------------------|-----------------|--------|------------------|
| rs6902771<br>( <i>ESR1</i> )  | C/C                | 68 (32,2 %)      | 27 (19,0 %)     | 0,0110 | 0,49 (0,30–0,82) |
|                               | C/T                | 88 (41,7 %)      | 79 (55,6 %)     |        | 1,75 (1,14–2,69) |
|                               | T/T                | 55 (26,1 %)      | 36 (25,4 %)     |        | 0,96 (0,59–1,57) |
|                               | CC                 | 68 (32,2 %)      | 36 (25,4 %)     | 0,1910 | 0,49 (0,30–0,82) |
|                               | CT/TT              | 143 (67,8 %)     | 106 (74,6 %)    |        | 2,03 (1,22–3,37) |
|                               | CC/CT              | 156 (73,9 %)     | 115 (81,0 %)    | 0,1570 | 1,04 (0,64–1,69) |
|                               | TT                 | 55 (26,1 %)      | 27 (19,0 %)     |        | 0,96 (0,59–1,57) |
|                               | Аллель C           | 224 (53,1 %)     | 133 (46,8 %)    | 0,1040 | 0,78 (0,58–1,05) |
|                               | Аллель T           | 198 (46,9 %)     | 151 (53,2 %)    |        | 1,28 (0,95–1,74) |
| rs7085104<br>( <i>AS3MT</i> ) | A/A                | 86 (40,8 %)      | 56 (39,4 %)     | 0,1080 | 0,95 (0,61–1,46) |
|                               | A/G                | 94 (44,5 %)      | 53 (37,4 %)     |        | 0,74 (0,48–1,15) |
|                               | G/G                | 31 (14,7 %)      | 33 (23,2 %)     |        | 1,76 (1,02–3,03) |
|                               | AA                 | 86 (40,8 %)      | 56 (39,4 %)     | 0,8260 | 0,95 (0,61–1,46) |
|                               | AG/GG              | 125 (59,2 %)     | 86 (60,6 %)     |        | 1,06 (0,68–1,63) |
|                               | AA/AG              | 180 (53,3 %)     | 109 (76,8 %)    | 0,0490 | 0,57 (0,33–0,98) |
|                               | GG                 | 31 (14,7 %)      | 33 (23,2 %)     |        | 1,76 (1,02–3,03) |
|                               | Аллель A           | 266 (63,0 %)     | 165 (58,1 %)    | 0,1880 | 0,81 (0,60–1,11) |
|                               | Аллель G           | 156 (37,0 %)     | 119 (41,9 %)    |        | 1,23 (0,90–1,67) |

<sup>3</sup>См.: <https://www.ebi.ac.uk/gwas/>.

<sup>4</sup>См.: <http://biotools.nubic.northwestern.edu/OligoCalc.html>.

Продолжение табл. 2  
Continuation table 2

| Полиморфизм<br>(ген)                | Генотип<br>или аллель | Группа сравнения | Основная группа | <i>p</i> | ОШ (95 % ДИ)        |
|-------------------------------------|-----------------------|------------------|-----------------|----------|---------------------|
| rs7590720<br>( <i>PECR</i> )        | A/A                   | 109 (51,7 %)     | 74 (52,1 %)     | 0,0150   | 1,02 (0,67–1,56)    |
|                                     | A/G                   | 87 (41,2 %)      | 45 (31,7 %)     |          | 0,66 (0,42–1,03)    |
|                                     | G/G                   | 15 (7,1 %)       | 23 (16,2 %)     |          | 2,53 (1,27–5,03)    |
|                                     | AA                    | 109 (51,7 %)     | 74 (52,1 %)     | 1,0000   | 1,02 (0,67–1,56)    |
|                                     | AG/GG                 | 102 (48,3 %)     | 68 (47,9 %)     |          | 0,98 (0,64–1,50)    |
|                                     | AA/AG                 | 196 (92,9 %)     | 119 (83,8 %)    | 0,0080   | 0,40 (0,20–0,79)    |
|                                     | GG                    | 15 (7,1 %)       | 23 (16,2 %)     |          | 2,53 (1,27–5,03)    |
|                                     | Аллель A              | 305 (72,3 %)     | 193 (67,9 %)    | 0,2180   | 0,81 (0,59–1,13)    |
|                                     | Аллель G              | 117 (27,7 %)     | 91 (32,1 %)     |          | 1,23 (0,89–1,71)    |
| rs11191580<br>( <i>NT5C2</i> )      | C/C                   | 0 (0,0 %)        | 3 (2,1 %)       | 0,0060   | 10,61 (0,54–207,06) |
|                                     | C/T                   | 35 (16,6 %)      | 37 (26,1 %)     |          | 1,77 (1,05–2,99)    |
|                                     | T/T                   | 176 (83,4 %)     | 102 (71,8 %)    |          | 0,51 (0,30–0,85)    |
|                                     | CC                    | 0 (0,0 %)        | 3 (2,1 %)       | 0,0640   | 10,61 (0,54–207,06) |
|                                     | CT/TT                 | 211 (100,0 %)    | 139 (97,9 %)    |          | 0,09 (0,01–1,84)    |
|                                     | CC/CT                 | 35 (16,6 %)      | 40 (28,2 %)     | 0,0120   | 1,97 (1,18–3,30)    |
|                                     | TT                    | 176 (83,4 %)     | 102 (71,8 %)    |          | 0,51 (0,30–0,85)    |
|                                     | Аллель C              | 35 (8,3 %)       | 43 (15,2 %)     | 0,0050   | 1,97 (1,23–3,17)    |
|                                     | Аллель T              | 387 (91,7 %)     | 241 (84,8 %)    |          | 0,51 (0,32–0,81)    |
| rs17504622                          | C/C                   | 191 (90,5 %)     | 103 (72,5 %)    | <0,0001  | 0,28 (0,15–0,50)    |
|                                     | C/T                   | 16 (7,6 %)       | 26 (18,3 %)     |          | 2,73 (1,41–5,31)    |
|                                     | T/T                   | 4 (1,9 %)        | 13 (9,2 %)      |          | 5,22 (1,66–16,34)   |
|                                     | CC                    | 191 (90,5 %)     | 103 (72,5 %)    | <0,0001  | 0,28 (0,15–0,50)    |
|                                     | CT/TT                 | 20 (9,5 %)       | 39 (27,5 %)     |          | 3,62 (2,00–6,52)    |
|                                     | CC/CT                 | 207 (98,1 %)     | 129 (90,8 %)    | 0,0040   | 0,19 (0,06–0,60)    |
|                                     | TT                    | 4 (1,9 %)        | 13 (9,2 %)      |          | 5,22 (1,66–16,34)   |
|                                     | Аллель C              | 398 (94,3 %)     | 232 (81,7 %)    | <0,0001  | 0,27 (0,16–0,45)    |
|                                     | Аллель T              | 24 (5,7 %)       | 52 (18,3 %)     |          | 3,72 (2,23–6,19)    |
| rs56205728<br>( <i>BUB1B-PAK6</i> ) | A/A                   | 30 (14,2 %)      | 29 (20,4 %)     | 0,0610   | 1,55 (0,88–2,72)    |
|                                     | A/G                   | 72 (34,1 %)      | 57 (40,2 %)     |          | 1,29 (0,83–2,01)    |
|                                     | G/G                   | 109 (51,7 %)     | 56 (39,4 %)     |          | 0,61 (0,40–0,94)    |
|                                     | AA/AG                 | 102 (48,3 %)     | 86 (60,6 %)     | 0,0290   | 1,64 (1,07–2,53)    |
|                                     | GG                    | 109 (51,7 %)     | 56 (39,4 %)     |          | 0,61 (0,40–0,94)    |
|                                     | AA                    | 30 (14,2 %)      | 29 (20,4 %)     | 0,1460   | 1,55 (0,88–2,72)    |
|                                     | AG/GG                 | 181 (85,8 %)     | 113 (79,6 %)    |          | 0,65 (0,37–1,13)    |
|                                     | Аллель A              | 132 (31,3 %)     | 115 (40,5 %)    | 0,0100   | 1,49 (1,09–2,05)    |
|                                     | Аллель G              | 290 (68,7 %)     | 169 (59,5 %)    |          | 0,67 (0,49–0,92)    |

Продолжение табл. 2  
 Continuation table 2

| Полиморфизм (ген)               | Генотип или аллель | Группа сравнения | Основная группа | <i>p</i> | ОШ (95 % ДИ)        |
|---------------------------------|--------------------|------------------|-----------------|----------|---------------------|
| rs73229090<br>( <i>EPHX2</i> )  | A/A                | 0 (0,0 %)        | 12 (8,5 %)      | <0,0001  | 40,52 (2,38–690,13) |
|                                 | A/C                | 38 (18,0 %)      | 32 (22,5 %)     |          | 1,32 (0,78–2,24)    |
|                                 | C/C                | 173 (82,0 %)     | 98 (69,0 %)     |          | 0,49 (0,30–0,81)    |
|                                 | AA                 | 0 (0,0 %)        | 12 (8,5 %)      | <0,0001  | 40,52 (2,38–690,13) |
|                                 | AC/CC              | 211 (100,0 %)    | 130 (91,5 %)    |          | 0,02 (0,01–0,42)    |
|                                 | AA/AC              | 38 (18,0 %)      | 44 (31,0 %)     | 0,0070   | 2,04 (1,24–3,37)    |
|                                 | CC                 | 173 (82,0 %)     | 98 (69,0 %)     |          | 0,49 (0,30–0,81)    |
|                                 | Аллель А           | 38 (9,0 %)       | 56 (19,7 %)     | <0,0001  | 2,48 (1,59–3,87)    |
|                                 | Аллель С           | 384 (91,0 %)     | 228 (80,3 %)    |          | 0,40 (0,26–0,63)    |
| rs237238<br>( <i>HIP1</i> )     | A/A                | 165 (78,2 %)     | 118 (83,1 %)    | 0,4110   | 1,37 (0,79–2,37)    |
|                                 | A/G                | 44 (20,9 %)      | 24 (16,9 %)     |          | 0,77 (0,45–1,34)    |
|                                 | G/G                | 2 (0,9 %)        | 0 (0,0 %)       |          | 0,29 (0,01–6,17)    |
|                                 | AA                 | 165 (78,2 %)     | 118 (83,1 %)    | 0,2790   | 1,37 (0,79–2,37)    |
|                                 | AG/GG              | 46 (21,8 %)      | 24 (16,9 %)     |          | 0,73 (0,42–1,26)    |
|                                 | AA/AG              | 209 (99,1 %)     | 142 (100,0 %)   | 0,5180   | 3,40 (0,16–71,37)   |
|                                 | GG                 | 2 (0,9 %)        | 0 (0,0 %)       |          | 0,29 (0,01–6,17)    |
|                                 | Аллель А           | 374 (88,6 %)     | 260 (91,5 %)    | 0,2090   | 1,39 (0,83–2,33)    |
|                                 | Аллель G           | 48 (11,4 %)      | 24 (8,5 %)      |          | 0,72 (0,43–1,20)    |
| rs1109501<br>( <i>MUC7</i> )    | A/A                | 13 (6,2 %)       | 26 (18,3 %)     | <0,0001  | 3,41 (1,69–6,90)    |
|                                 | A/G                | 81 (38,3 %)      | 60 (42,3 %)     |          | 1,17 (0,76–1,81)    |
|                                 | G/G                | 117 (55,5 %)     | 56 (39,4 %)     |          | 0,52 (0,34–0,81)    |
|                                 | AA/AG              | 94 (44,5 %)      | 86 (60,6 %)     | 0,0030   | 1,91 (1,24–2,95)    |
|                                 | GG                 | 117 (55,5 %)     | 56 (39,4 %)     |          | 0,52 (0,34–0,81)    |
|                                 | AA                 | 13 (6,2 %)       | 26 (18,3 %)     | <0,0001  | 3,41 (1,69–6,90)    |
|                                 | AG/GG              | 198 (93,8 %)     | 116 (81,7 %)    |          | 0,29 (0,14–0,59)    |
|                                 | Аллель А           | 107 (25,4 %)     | 112 (39,5 %)    | <0,0001  | 1,92 (1,39–2,65)    |
|                                 | Аллель G           | 315 (74,6 %)     | 172 (60,5 %)    |          | 0,52 (0,38–0,72)    |
| rs2007044<br>( <i>CACNA1C</i> ) | A/A                | 89 (42,2 %)      | 56 (39,4 %)     | 0,0020   | 0,89 (0,58–1,38)    |
|                                 | A/G                | 66 (31,3 %)      | 67 (47,2 %)     |          | 1,96 (1,26–3,05)    |
|                                 | G/G                | 56 (26,5 %)      | 19 (13,4 %)     |          | 0,43 (0,24–0,76)    |
|                                 | AA                 | 89 (42,2 %)      | 56 (39,4 %)     | 0,6590   | 0,89 (0,58–1,38)    |
|                                 | AG/GG              | 122 (57,8 %)     | 86 (60,6 %)     |          | 1,12 (0,73–1,73)    |
|                                 | AA/AG              | 155 (73,5 %)     | 123 (86,6 %)    | 0,0030   | 2,34 (1,32–4,14)    |
|                                 | GG                 | 56 (26,5 %)      | 19 (13,4 %)     |          | 0,43 (0,24–0,76)    |
|                                 | Аллель А           | 244 (57,8 %)     | 179 (63,0 %)    | 0,1670   | 1,24 (0,91–1,69)    |
|                                 | Аллель G           | 178 (42,2 %)     | 105 (37,0 %)    |          | 0,80 (0,59–1,10)    |

Окончание табл. 2  
Ending table 2

| Полиморфизм<br>(ген)            | Генотип<br>или аллель | Группа сравнения    | Основная группа     | <i>p</i> | ОШ (95 % ДИ)            |
|---------------------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|----------|-------------------------|
| rs2273500<br>( <i>CHRNA4</i> )  | C/C                   | 4 (1,9 %)           | 4 (2,8 %)           | 0,0730   | 1,50 (0,37–6,10)        |
|                                 | C/T                   | 77 (36,5 %)         | 36 (25,4 %)         |          | 0,59 (0,37–0,95)        |
|                                 | T/T                   | 130 (61,6 %)        | 102 (71,8 %)        |          | 1,59 (1,00–2,51)        |
|                                 | CC                    | 4 (1,9 %)           | 4 (2,8 %)           | 0,7190   | 1,50 (0,37–6,10)        |
|                                 | CT/TT                 | 207 (98,1 %)        | 138 (97,2 %)        |          | 0,67 (0,16–2,71)        |
|                                 | CC/CT                 | 81 (38,4 %)         | 40 (28,2 %)         | 0,0520   | 0,63 (0,40–1,00)        |
|                                 | TT                    | 130 (61,6 %)        | 102 (71,8 %)        |          | 1,59 (1,00–2,51)        |
|                                 | Аллель С              | 85 (20,1 %)         | 44 (15,5 %)         | 0,1170   | 0,73 (0,49–1,08)        |
|                                 | Аллель Т              | 337 (79,9 %)        | 240 (84,5 %)        |          | 1,38 (0,92–2,05)        |
| rs3735025<br>( <i>DGKI</i> )    | C/C                   | 37 (17,5 %)         | 23 (16,2 %)         | 0,1390   | 0,91 (0,51–1,61)        |
|                                 | C/T                   | 85 (40,3 %)         | 72 (50,7 %)         |          | 1,52 (0,99–2,34)        |
|                                 | T/T                   | 89 (42,2 %)         | 47 (33,1 %)         |          | 0,68 (0,44–1,06)        |
|                                 | CC                    | 37 (17,5 %)         | 23 (16,2 %)         | 0,7740   | 0,91 (0,51–1,61)        |
|                                 | CT/TT                 | 174 (82,5 %)        | 119 (83,8 %)        |          | 1,10 (0,62–1,95)        |
|                                 | CC/CT                 | 122 (57,8 %)        | 95 (66,9 %)         | 0,0950   | 1,47 (0,95–2,30)        |
|                                 | TT                    | 89 (42,2 %)         | 47 (33,1 %)         |          | 0,68 (0,44–1,06)        |
|                                 | Аллель С              | 159 (37,7 %)        | 118 (41,5 %)        | 0,3020   | 1,18 (0,86–1,60)        |
|                                 | Аллель Т              | 263 (62,3 %)        | 166 (58,5 %)        |          | 0,85 (0,63–1,16)        |
| rs4356203<br>( <i>PIK3C2A</i> ) | A/A                   | <b>65 (30,8 %)</b>  | <b>31 (21,8 %)</b>  | 0,0040   | <b>0,63 (0,38–1,03)</b> |
|                                 | A/G                   | <b>99 (46,9 %)</b>  | <b>92 (64,8 %)</b>  |          | <b>2,08 (1,34–3,23)</b> |
|                                 | G/G                   | <b>47 (22,3 %)</b>  | <b>19 (13,4 %)</b>  |          | <b>0,54 (0,30–0,96)</b> |
|                                 | AA                    | 65 (30,8 %)         | 31 (21,8 %)         | 0,0680   | 0,63 (0,38–1,03)        |
|                                 | AG/GG                 | 146 (69,2 %)        | 111 (78,2 %)        |          | 1,59 (0,97–2,61)        |
|                                 | <b>AA/AG</b>          | <b>164 (77,7 %)</b> | <b>123 (86,6 %)</b> | 0,0380   | <b>1,86 (1,04–3,32)</b> |
|                                 | <b>GG</b>             | <b>47 (22,3 %)</b>  | <b>19 (13,4 %)</b>  |          | <b>0,54 (0,30–0,96)</b> |
|                                 | Аллель A              | 229 (54,3 %)        | 154 (54,2 %)        | 0,9920   | 1,0 (0,74–1,35)         |
|                                 | Аллель G              | 193 (45,7 %)        | 130 (45,8 %)        |          | 1,0 (0,74–1,35)         |

Примечание. Полужирным шрифтом выделены маркеры, определяющие различия между группами.

В результате наибольший вклад в увеличение риска развития алкогольной зависимости из числа исследованных внесли полиморфные варианты rs17504622, rs73229090 (*EPHX2*) и rs1109501 (*MUC7*). Так, полиморфный вариант rs17504622 был ассоциирован с повышенной вероятностью развития алкогольной зависимости: рискаassoциированным оказался генотип ТТ – ОШ = 5,22 (95 % ДИ = 1,66–16,34), протективный эффект выявлен для генотипа СС – ОШ = 0,28 (95 % ДИ = 0,15–0,50). При анализе рецессивной модели наследования показано, что генотипы СС/СТ в совокупности имеют протективный эффект – ОШ = 0,19 (95 % ДИ = 0,06–0,60). Статистически значимые различия между двумя группами отмечены и по полиморфному варианту rs73229090 (*EPHX2*): рискаassoциированным является генотип АА – ОШ = 40,52 (95 % ДИ = 2,38–690,13), протективный эффект имеет генотип СС – ОШ = 0,49 (95 % ДИ = 0,30–0,81). Полиморфный вариант rs1109501 (*MUC7*) также оказался связан с повышенной вероятностью развития алкоголизма: рискаassoциированным выступает генотип АА – ОШ = 3,41 (95 % ДИ = 1,69–6,90), протективным эффектом обладает генотип GG – ОШ = 0,52 (95 % ДИ = 0,34–0,81).

Статистически значимые различия в пределах сравниваемых групп определены и для полиморфизмов в генах *PECR*, *NT5C2* и *AS3MT*, рискассоциированными оказались как раз морные аллели или генотипы. Для полиморфного варианта rs7590720 (*PECR*) ассоциированным с повышенной вероятностью развития алкоголизма является генотип GG – ОШ = 2,53 (95 % ДИ = 1,27–5,03). Для полиморфизма rs11191580 (*NT5C2*) рискассоциированным выступает генотип CC – ОШ = 10,61 (95 % ДИ = 0,54–207,06), а протективный эффект показан для генотипа TT – ОШ = 0,51 (95 % ДИ = 0,30–0,85). Для полиморфного варианта rs7085104 (*AS3MT*) ассоциированным с повышенной вероятностью развития алкоголизма является генотип GG – ОШ = 1,76 (95 % ДИ = 1,02–3,03).

Для полиморфных вариантов в генах *ESR1*, *CACNA1C*, *PIK3C2A* и *BUB1B-PAK6* также найдены различия в пределах сравниваемых групп, однако последующая интерпретация затруднена ввиду ассоциации с повышенной вероятностью развития алкоголизма именно гетерозиготных генотипов или генотипов с высокой частотой распространенности в исследуемых группах. Так, анализ полиморфизма rs6902771 (*ESR1*) показал наличие статистически значимых различий в распределении частот генотипов между группами: генотип С/Т ассоциирован с повышенной вероятностью развития алкогольной зависимости – ОШ = 1,75 (95 % ДИ = 1,14–2,69), генотип С/С имеет протективный эффект – ОШ = 0,49 (95 % ДИ = 0,30–0,82). Полиморфные варианты rs2007044 (*CACNA1C*) и rs4356203 (*PIK3C2A*) ассоциированы с повышенной вероятностью развития алкогольной зависимости при наличии генотипа А/G – ОШ = 1,96 (95 % ДИ = 1,26–3,05) и ОШ = 2,08 (95 % ДИ = 1,34–3,23) соответственно. Для полиморфизма rs56205728 (*BUB1B-PAK6*) неблагоприятной аллелью является А – ОШ = 1,49 (95 % ДИ = 1,09–2,05).

Анализ полиморфных вариантов rs237238 (*HIP1*), rs2273500 (*CHRNA4*) и rs3735025 (*DGKI*) не выявил статистически значимых различий в распределении генотипов между основной группой и группой сравнения.

**Взаимодействие исследуемых полиморфных вариантов генов у лиц с алкогольной зависимостью.** Моделирование взаимодействия исследуемых полиморфных вариантов генов было проведено с учетом всей полученной в процессе молекулярно-генетического анализа информации. Преимуществом использованного MDR-анализа является возможность оценить совокупные взаимодействия, ассоциированные с формированием мультифакториального фенотипа. Дерево кластеризации, отражающее характер взаимодействия полиморфных вариантов при алкогольной зависимости, представлено на рис. 1. В результате моделирования получены два кластера, при этом в каждом из них выделены два субкластера. Кластер 1: субкластер 1.1 – rs17504622 и rs2007044 (*CACNA1C*); субкластер 1.2 – rs6902771 (*ESR1*), rs7085104 (*AS3MT*), rs11191580 (*NT5C2*), rs1109501 (*MUC7*), rs7590720 (*PECR*) и rs73229090 (*EPHX2*). Кластер 2: субкластер 2.1 – rs56205728 (*BUB1B-PAK6*) и rs3735025 (*DGKI*); субкластер 2.2 – rs237238 (*HIP1*), rs2273500 (*CHRNA4*) и rs4356203 (*PIK3C2A*).

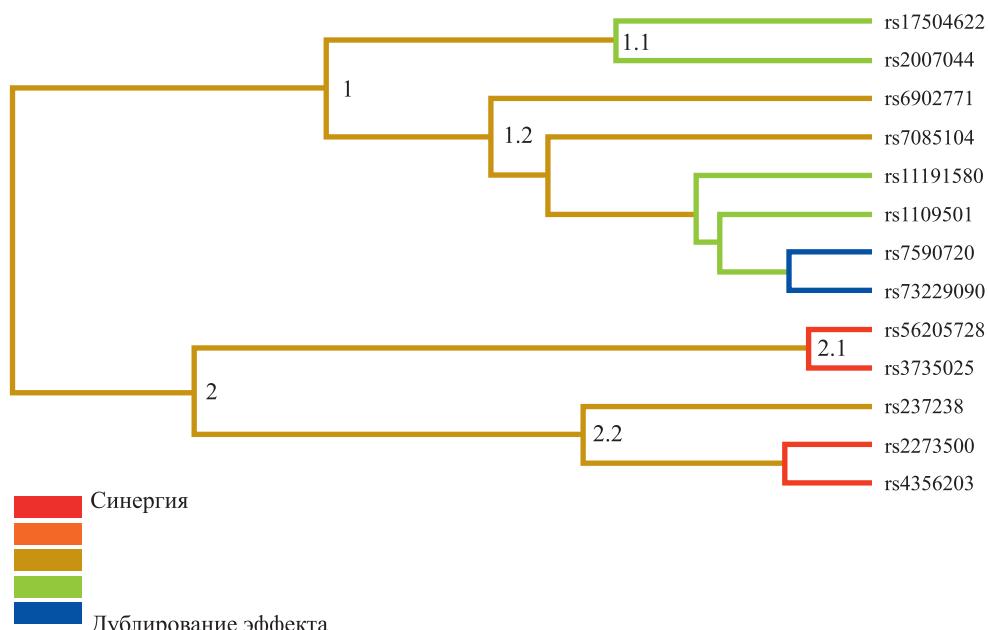


Рис. 1. Взаимодействия полиморфных вариантов генов в увеличении вероятности развития алкогольной зависимости

Fig. 1. Interaction of polymorphic variants of genes in increasing the likelihood of developing alcohol dependence

Анализ дерева кластеризации позволяет сделать следующие заключения:

- для взаимодействия полиморфных локусов rs56205728 (*BUB1B-PAK6*) и rs3735025 (*DGKI*), а также rs2273500 (*CHRNA4*) и rs4356203 (*PIK3C2A*) характерен синергический эффект (линии красного цвета);
- взаимодействие полиморфных локусов rs7590720 (*PECR*) и rs73229090 (*EPHX2*) имеет аддитивный эффект (линия синего цвета);
- все остальные взаимодействия являются нейтральными.

Результаты моделирования межгеновых взаимодействий позволили определить две статистически значимые модели, ассоциированные с повышенной вероятностью развития алкогольной зависимости. Модель № 1 включает три полиморфизма: rs4356203 (*PIK3C2A*), генотипы AA, AG и GG; rs73229090 (*EPHX2*), генотипы AA, AC и CC; rs2273500 (*CHRNA4*), генотипы CC, CT и TT. Модель № 2 также включает три полиморфизма: rs1109501 (*MUC7*), генотипы AA, AG и GG; rs7085104 (*AS3MT*), генотипы AA, AG и GG; rs17504622, генотипы CC, CT и TT.

Сбалансированная точность предсказания для модели № 1 составила 73,39 %, чувствительность – 84,47 %, специфичность – 71,23 %, воспроизводимость – 100/100 (рис. 2). Для модели № 2 сбалансированная точность предсказания была равна 67,48 %, чувствительность – 64,81 %, специфичность – 93,24 %, воспроизводимость – 100/100 (рис. 3).

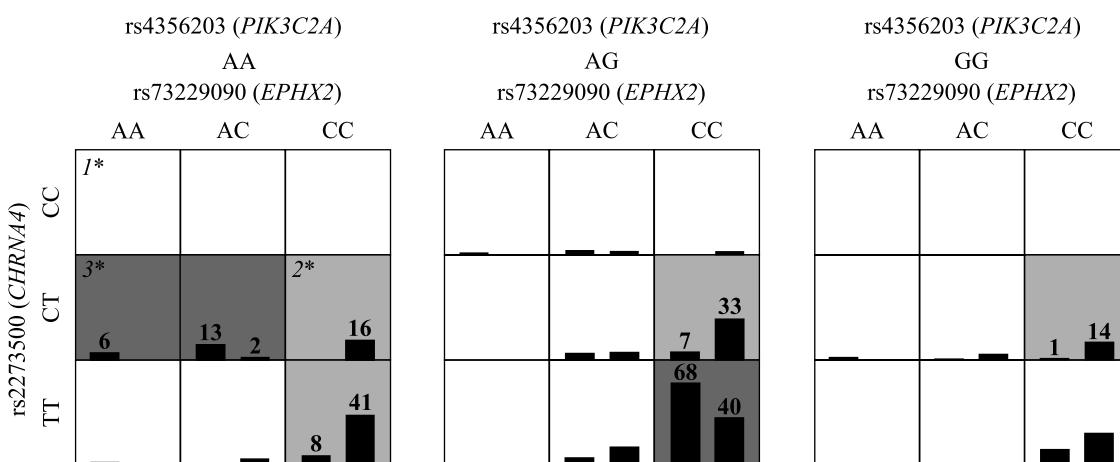


Рис. 2. Комбинации генотипов в рамках модели № 1 для полиморфных вариантов rs4356203 (*PIK3C2A*), rs73229090 (*EPHX2*) и rs2273500 (*CHRNA4*) при алкогольной зависимости:

1\* (белый цвет) – различия между частотой встречаемости генотипа в основной группе и группе сравнения статистически незначимы; 2\* (светло-серый цвет) – сочетание генотипов, связанное с низким риском развития алкогольной зависимости (протективный эффект); 3\* (темно-серый цвет) – сочетание генотипов, связанное с высоким риском развития алкогольной зависимости (патогенетический эффект)

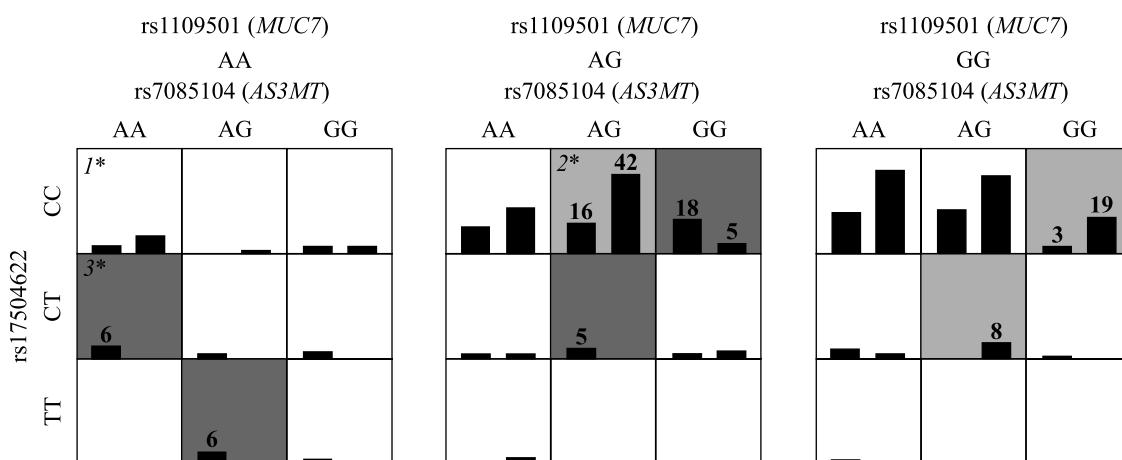
Fig. 2. Combinations of genotypes within the framework of model No. 1 for polymorphic variants rs4356203 (*PIK3C2A*), rs73229090 (*EPHX2*) and rs2273500 (*CHRNA4*) in alcohol dependence:

1\* (white color) – differences between the frequency of occurrence of the genotype in the main group and the comparison group are statistically insignificant;

2\* (light gray color) – a combination of genotypes, associated with a low risk of alcohol dependence (protective effect); 3\* (dark gray color) – a combination of genotypes, associated with a high risk of alcohol dependence (pathogenetic effect)

В рамках модели № 1 ассоциированными с повышенной вероятностью развития алкогольной зависимости генотипами являются AA (rs4356203, *PIK3C2A*), AA/AC (rs73229090, *EPHX2*), CT (rs2273500, *CHRNA4*) – ОШ = 16,29 (95 % ДИ = 3,70–71,66),  $p = 0,000\,2$ ; AG (rs4356203, *PIK3C2A*), CC (rs73229090, *EPHX2*), TT (rs2273500, *CHRNA4*) – ОШ = 5,15 (95 % ДИ = 2,98–8,89),  $p < 0,000\,1$ . В то же время протективный эффект показан при наличии генотипов AA (rs4356203, *PIK3C2A*), CC (rs73229090, *EPHX2*), CT/TT (rs2273500, *CHRNA4*) – ОШ = 0,13 (95 % ДИ = 0,06–0,29),  $p = 0,002\,1$ ; GG (rs4356203, *PIK3C2A*), CC (rs73229090, *EPHX2*), CT (rs2273500, *CHRNA4*) – ОШ = 0,09 (95 % ДИ = 0,01–0,71),  $p = 0,022\,5$ .

В рамках модели № 2 ассоциированными с выраженной повышенной вероятностью развития алкогольной зависимости генотипами являются AG (rs1109501, *MUC7*), GG (rs7085104, *AS3MT*), CC (rs17504622) – ОШ = 6,90 (95 % ДИ = 2,37–20,11),  $p = 0,000\,4$ . Протективный эффект показан при наличии генотипов AG (rs1109501, *MUC7*), AG (rs7085104, *AS3MT*), CC (rs17504622) – ОШ = 0,32 (95 % ДИ = 0,15–0,67),  $p = 0,002\,7$ ; GG (rs1109501, *MUC7*), GG (rs7085104, *AS3MT*), CC (rs17504622) – ОШ = 0,17 (95 % ДИ = 0,05–0,62),  $p = 0,007\,1$ .



*Рис. 3.* Комбинации генотипов в рамках модели № 2 для полиморфных вариантов rs1109501 (*MUC7*), rs7085104 (*AS3MT*) и rs17504622 при алкогольной зависимости:  
 1\* (белый цвет) – различия между частотой встречаемости генотипа в основной группе и группе сравнения статистически незначимы; 2\* (светло-серый цвет) – сочетание генотипов, связанное с низким риском развития алкогольной зависимости (протективный эффект);  
 3\* (темно-серый цвет) – сочетание генотипов, связанное с высоким риском развития алкогольной зависимости (патогенетический эффект)

*Fig. 3.* Combinations of genotypes within model No. 2 for polymorphic variants rs1109501 (*MUC7*), rs7085104 (*AS3MT*) and rs17504622 for alcohol dependence:  
 1\* (white color) – differences between the frequency of occurrence of the genotype in the main group and the comparison group are statistically insignificant;  
 2\* (light gray color) – a combination of genotypes, associated with a low risk of alcohol dependence (protective effect);  
 3\* (dark gray color) – a combination of genotypes, associated with a high risk of alcohol dependence (pathogenetic effect)

### Роль полиморфизма анализируемых генов в контексте развития аддиктивных расстройств.

Полиморфный локус rs17504622 не входит в кодирующую последовательность какого-либо гена, однако он находится в регуляторной области гена *GRIA1* (glutamate receptor, ionotropic, AMPA1 (alpha1), GeneID: 2890). Рецепторы глутамата являются преобладающими рецепторами возбуждающих нейротрансмиттеров в головном мозге млекопитающих и активируются при различных нормальных нейрофизиологических процессах. Ген *GRIA1* регулирует активность рецепторов нейромедиаторов, участвующих в регуляции постсинаптической концентрации ионов кальция, обуславливает рецепторную, а также глутаматергическую передачу сигнала. Поскольку глутамат является одним из важнейших нейромедиаторов, можно предположить, что данный фактор способен оказывать значительное влияние на развитие различных нарушений высшей нервной деятельности, в том числе и аддиктивных форм поведения. На текущий момент известно, что полиморфный вариант rs17504622 ассоциирован с шизофренией [15], аллель риска – Т.

Ген *EPHX2* (epoxide hydrolase 2, GeneID: 2053) кодирует эпоксидгидролазу 2, принимает участие в метаболизме ксенобиотиков, разлагая потенциально токсичные эпоксиды. В научной литературе имеются многочисленные сообщения о связи полиморфизма rs73229090 с увеличенным риском развития шизофрении [16–19].

Ген *MUC7* (mucin 7, secreted, GeneID: 4589) кодирует слюнnyй муцин, который выполняет защитную функцию, способствует удалению бактерий из полости рта и помогает пережевыванию, речеобразованию и глотанию [20; 21]. В литературе имеются данные о связи полиморфного локуса rs1109501 данного гена с развитием алкогольной зависимости [12]. В контексте определения роли гена *MUC7* в развитии алкоголизма стоит также упомянуть и о протеогликанах, они могут влиять на активность и стабильность сигнальных молекул в цитоплазме клеток [22; 23]. Из вышесказанного следует, что полиморфные варианты гена *MUC7*, в частности rs1109501, способны оказывать влияние на образование гликолипидов и протеогликанов, молекулы которых задействованы в передаче сигналов и формировании нервной ткани, модифицируя тем самым риск развития алкогольной зависимости.

Ген *PECR* (peroxisomal *trans*-2-enoyl-CoA reductase, GeneID: 55825) кодирует белок, участвующий в удлинении цепей жирных кислот, а также в фитоловом метаболическом процессе. Фитол и его метаболиты активируют факторы транскрипции PPAR-альфа [24] и ретиноидный X-рецептор (RXR) [25].

PPAR-альфа, также известный как NR1C1 (подсемейство ядерных рецепторов 1, группа С, субъединица 1) – это фактор транскрипции и главный регулятор липидного обмена в печени [26]. Ретиноидный X-рецептор действует как фактор транскрипции и является регулятором работы многих транскрипционных факторов [27; 28]. Кроме того, белок PECR связывается с белками семейства нейролигинов, которые отвечают за клеточную адгезию на постсинаптической мемbrane и обеспечивают образование и поддержание синапсов между нейронами, влияют на свойства нейронных сетей, определяя синаптические функции, и опосредуют передачу сигналов, рекрутируя и стабилизируя ключевые синаптические компоненты [29]. В рамках GWAS было выявлено, что полиморфный локус rs7590720, в частности аллель G этого гена, ассоциирован с повышенной вероятностью развития алкогольной зависимости [30]. Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод о том, что нарушения работы данного гена могут приводить как к снижению эффективности метаболизма спирта в печени, так и к нарушению передачи синаптических импульсов и снижению ощущения удовлетворения при употреблении алкоголя.

Ген *NT5C2* (5'-nucleotidase, cytosolic II, GeneID: 22978) кодирует гидrolазу, которая играет важную роль в клеточном метаболизме пуринов, действуя в первую очередь на инозин-5'-монофосфат и другие пуриновые нуклеотиды. Продукт данного гена принимает участие в процессах обмена аденоцина, метаболизма инозина монофосфата, катаболизма пуриновых нуклеотидов. В многочисленных исследованиях GWAS было показано, что изучаемый нами полиморфный локус тесно связан с такими заболеваниями, как шизофрения [31–33], синдром дефицита внимания с гиперактивностью, расстройствами аутистического спектра [32].

Ген *AS3MT* (arsenite methyltransferase, GeneID: 57412) катализирует перенос метильной группы от S-аденоцил-L-метионина в трехвалентный мышьяк и играет важную роль в метаболизме мышьяка [34]. Известно, что токсичность последнего связана с дисфункцией центральной нервной системы (ЦНС) и развитием психопатических состояний [35; 36]. Изучение полиморфизма данного гена является перспективным для поиска причин развития нарушений высшей нервной деятельности и аддиктивного поведения (в том числе и наркомании), учитывая наличие доказательств его ассоциации с шизофренией и аффективными расстройствами [15; 37]. Поскольку мышьяк способен оказывать токсическое действие на ЦНС, можно предположить, что нарушение регуляции метаболизма мышьяка опосредует связь между полиморфным локусом rs7085104 гена *AS3MT* и наркотической зависимостью.

Ген *ESR1* (estrogen receptor 1, GeneID: 2099) кодирует рецептор эстрогена – фактор транскрипции, активируемый лигандом и состоящий из нескольких доменов, важных для связывания гормонов, ДНК и активации транскрипции. Белок локализуется в ядре, где он может образовывать гомодимер или гетеродимер с рецептором эстрогена 2. Эстроген и его рецепторы необходимы для полового развития и репродуктивной функции, также он отвечает за рост скелета и нормальное функционирование сердечно-сосудистой и нервной систем. По данным базы UniProtKB<sup>5</sup>, этот белок способен селективно и нековалентно взаимодействовать с определенной нуклеотидной последовательностью двухцепочечной ДНК (мотивом) в регуляторной области для модуляции транскрипции генов, а также с хроматином эукариотического ядра во время интерфазы [38]. В работе [30] показано, что полиморфизм rs6902771, в частности аллель С, ассоциирован с повышенной вероятностью развития алкоголизма. Данное наблюдение косвенно подтверждается результатами настоящего исследования: генотип С/Т определен как повышающий вероятность развития этого заболевания.

Ген *CACNA1C* (calcium voltage-gated channel subunit alpha1 C, GeneID: 775) кодирует субъединицу альфа-1 потенциалзависимого кальциевого канала. Белок CACNA1C необходим для сокращения гладкомышечных клеток кровеносных сосудов, кишечника, а также для нормального регулирования артериального давления [39]. Кроме того, белок CACNA1C играет важную роль в регулировании потенциалзависимого притока кальция, который, в свою очередь, модулирует передачу сигналов, включая регуляцию некоторых зависимых от кальция генов, таких как нейротрофический фактор головного мозга [40]. Известно, что полиморфизм rs2007044 влияет на эффективность связывания фактора транскрипции и изменяет промоторную активность гена *CACNA1C* [41]. Эти факты подтверждают связь полиморфных локусов гена *CACNA1C* с нарушениями высшей нервной деятельности, в том числе с различными формами аддиктивного поведения, например алкогольной зависимостью.

Ген *PIK3C2A* (phosphatidylinositol-4-phosphate 3-kinase catalytic subunit type 2 alpha, GeneID: 5286) кодирует киназу, которая играет важную роль в сигнальных путях, участвующих в пролиферации клеток, онкогенной трансформации, выживании и миграции клеток, внутриклеточном перемещении белков. По данным UniProtKB, белок селективно и нековалентно взаимодействует с АТФ и катализирует выделение энергии путем превращения АТФ в АДФ. Было показано, что полиморфный вариант rs4356203 связан с шизофренией [32; 42] и биполярным расстройством [42].

<sup>5</sup>См.: <https://www.uniprot.org/>.

## Заключение

Каждая популяция характеризуется своим специфическим набором генотипов и особым соотношением частот встречаемости различных аллелей генов. Проведенный анализ частоты распространения генотипов и аллелей по полиморфным вариантам генов *ESR1*, *AS3MT*, *PECR*, *NT5C2*, *BUB1B-PAK6*, *EPHX2*, *HIP1*, *MUC7*, *CACNA1C*, *CHRNA4*, *DGKI* и *PIK3C2A* позволил определить их вклад в увеличение вероятности возникновения алкогольной зависимости среди жителей Республики Беларусь. Генетическими маркерами, ассоциированными с повышенной вероятностью развития алкогольной зависимости, являются генотип GG (rs7085104, *AS3MT*) – ОШ = 1,76 (95 % ДИ = 1,02–3,03); генотип GG (rs7590720, *PECR*) – ОШ = 2,53 (95 % ДИ = 1,27–5,03); аллель C (rs11191580, *NT5C2*) – ОШ = 1,97 (95 % ДИ = 1,23–3,17); аллель T (rs17504622) – ОШ = 3,72 (95 % ДИ = 2,23–6,19); аллель A (rs73229090, *EPHX2*) – ОШ = 2,48 (95 % ДИ = 1,59–3,87); аллель A (rs1109501, *MUC7*) – ОШ = 1,92 (95 % ДИ = 1,39–2,65).

Анализ, направленный на оценку модификации вероятности развития алкогольной зависимости при одновременном носительстве полиморфных вариантов исследованных генов, показал, что при одновременном наличии генотипов AA (rs4356203, *PIK3C2A*), AA/AC (rs73229090, *EPHX2*), CT (rs2273500, *CHRNA4*); AG (rs4356203, *PIK3C2A*), CC (rs73229090, *EPHX2*), TT (rs2273500, *CHRNA4*); AG (rs1109501, *MUC7*), GG (rs7085104, *AS3MT*), CC (rs17504622) вероятность развития заболевания возрастает более чем в 5 раз – ОШ = 16,29 (95 % ДИ = 3,70–71,66), ОШ = 5,15 (95 % ДИ = 2,98–8,89) и ОШ = 6,90 (95 % ДИ = 2,37–20,11) соответственно.

Представленные в настоящей работе данные демонстрируют важность исследований по оценке значимости совместного вклада ряда независимых или взаимодействующих генов систем метаболизма, регуляции и клеточного транспорта для выявления возможной совокупности маркеров предрасположенности к алкогольной зависимости. Для ряда рассмотренных полиморфизмов имеется связь с шизофренией, алкоголизмом, расстройствами аутистического спектра. Следовательно, полученные нами результаты будут способствовать дальнейшему поиску и анализу общих генетических компонент для аддиктивных заболеваний, включая алкогольную зависимость.

## Библиографические ссылки / References

1. Shield KD, Rylett M, Rehm J. *Public health successes and missed opportunities. Trends in alcohol consumption and attributable mortality in the WHO European Region, 1990–2014*. Copenhagen: World Health Organization Regional Office for Europe; 2016. 88 p.
2. Kumar R, Kumar KJ, Benegal V. Trait impulsivity in alcohol-naïve offspring at high risk for alcoholism. *Indian Journal of Psychological Medicine*. 2018;40(6):547–555. DOI: 10.4103/IJPSYM.IJPSYM\_92\_18.
3. Dawson DA. The link between family history and early onset alcoholism: earlier initiation of drinking or more rapid development of dependence? *Journal of Studies on Alcohol*. 2000;61(5):637–646. DOI: 10.15288/jsa.2000.61.637.
4. Moss HB, Chen CM, Yi H-Y. Subtypes of alcohol dependence in a nationally representative sample. *Drug and Alcohol Dependence*. 2007;91(2–3):149–158. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2007.05.016.
5. Brennan P, Lewis S, Hashibe M, Bell DA, Boffetta P, Bouchardy C, et al. Pooled analysis of alcohol dehydrogenase genotypes and head and neck cancer: a HuGE review. *American Journal of Epidemiology*. 2004;159(1):1–16. DOI: 10.1093/aje/kwh003.
6. Gelernter J, Kranzler HR, Sherva R, Almasy L, Koesterer R, Smith AH, et al. Genome-wide association study of alcohol dependence: significant findings in African- and European-Americans including novel risk loci. *Molecular Psychiatry*. 2014;19(1):41–49. DOI: 10.1038/mp.2013.145.
7. McKay JD, Truong T, Gaborieau V, Chabrier A, Chuang S-C, Byrnes G, et al. Genome-wide association study of upper aerodigestive tract cancers conducted within the INHANCE consortium. *PLOS Genetics*. 2011;7(3):e1001333. DOI: 10.1371/journal.pgen.1001333.
8. Chen Wu, Kraft P, Kan Zhai, Jiang Chang, Zhaoming Wang, Yun Li, et al. Genome-wide association analyses of esophageal squamous cell carcinoma in Chinese identify multiple susceptibility loci and gene-environment interactions. *Nature Genetics*. 2012;44(10):1090–1097. DOI: 10.1038/ng.2411.
9. Holmes MV, Dale CE, Zuccolo L, Silverwood RJ, Yiran Guo, Zheng Ye, et al. Association between alcohol and cardiovascular disease: Mendelian randomisation analysis based on individual participant data. *BMJ*. 2014;349:g4164. DOI: 10.1136/bmj.g4164.
10. Silverwood RJ, Holmes MV, Dale CE, Lawlor DA, Whittaker JC, Smith GD, et al. Testing for non-linear causal effects using a binary genotype in a Mendelian randomization study: application to alcohol and cardiovascular traits. *International Journal of Epidemiology*. 2014;43(6):1781–1790. DOI: 10.1093/ije/dyu187.
11. Wall TL, Luczak SE, Hiller-Sturmholz S. Biology, genetics, and environment: underlying factors influencing alcohol metabolism. *Alcohol Research: Current Reviews*. 2016;38(1):59–68.
12. Heath AC, Whitfield JB, Martin NG, Pergadia ML, Goate AM, Lind PA, et al. Quantitative-trait genome-wide association study of alcoholism risk in the community: findings and implications. *Biological Psychiatry*. 2011;70(6):513–518. DOI: 10.1016/j.biopsych.2011.02.028.
13. Edwards AC, Deak JD, Gizer IR, Lai D, Chatzinakos C, Wilhelmsen KP, et al. Meta-analysis of genetic influences on initial alcohol sensitivity. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*. 2018;42(12):2349–2359. DOI: 10.1111/acer.13896.
14. Sambrook J, Russel DW, editors. *Molecular cloning: a laboratory manual. Volume 1. Chapter 1. Plasmids and their usefulness in molecular cloning*. 3<sup>rd</sup> edition. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001. p. 1.1–1.170.

15. Ripke S, O'Dushlaine C, Chambert K, Moran JL, Kähler AK, Akterin S, et al. Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. *Nature Genetics*. 2013;45(10):1150–1159. DOI: 10.1038/ng.2742.
16. Ohi K, Shimada T, Yasuyama T, Uehara T, Kawasaki Y. Variability of 128 schizophrenia-associated gene variants across distinct ethnic populations. *Translational Psychiatry*. 2017;7(1):e988. DOI: 10.1038/tp.2016.260.
17. Addepalli A, Kalyani S, Singh M, Bandyopadhyay D, Mohan KN. Correction: CalPen (Calculator of Penetrance), a web-based tool to estimate penetrance in complex genetic disorders. *PLOS ONE*. 2020;15(6):e0228156. DOI: 10.1371/journal.pone.0235547.
18. Wang Q, Chen R, Cheng F, Wei Q, Ji Y, Yang H, et al. Bayesian framework that integrates multi-omics data and gene networks predicts risk genes from schizophrenia GWAS data. *Nature Neuroscience*. 2019;22(5):691–699. DOI: 10.1038/s41593-019-0382-7.
19. Pouget JG, Gonçalves VF; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium; Spain SL, Finucane HK, Raychaudhuri S, et al. Genome-wide association studies suggest limited immune gene enrichment in schizophrenia compared to 5 autoimmune diseases. *Schizophrenia Bulletin*. 2016;42(5):1176–1184. DOI: 10.1093/schbul/sbw059.
20. Reddy M, Levine M, Paranchych W. Low-molecular-mass human salivary mucin, MG2: structure and binding of *Pseudomonas aeruginosa*. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1993;4(3):315–323. DOI: 10.1177/10454411930040030901.
21. Kirkbride HJ, Bolscher JG, Nazmi K, Vinall LE, Nash MW, Moss FM, et al. Genetic polymorphism of MUC7: allele frequencies and association with asthma. *European Journal of Human Genetics*. 2001;9(5):347–354. DOI: 10.1038/sj.ejhg.5200642.
22. Ibrahim SA, Gadalla R, El-Ghonaimy EA, Samir O, Mohamed HT, Hassan H, et al. Syndecan-1 is a novel molecular marker for triple negative inflammatory breast cancer and modulates the cancer stem cell phenotype via the IL-6/STAT3, Notch and EGFR signaling pathways. *Molecular Cancer*. 2017;16(1):57. DOI: 10.1186/s12943-017-0621-z.
23. Ibrahim SA, Hassan H, Vilardo L, Kumar SK, Kumar AV, Kelsch R, et al. Syndecan-1 (CD138) modulates triple-negative breast cancer stem cell properties via regulation of LRP-6 and IL-6-mediated STAT3 signaling. *PLOS ONE*. 2013;8(12):e85737. DOI: 10.1371/journal.pone.0085737.
24. Gloerich J, van Vlies N, Jansen GA, Denis S, Ruiter JPN, van Werkhoven MA, et al. Phytol-enriched diet induces changes in fatty acid metabolism in mice both via PPAR $\alpha$ -dependent and -independent pathways. *Journal of Lipid Research*. 2005;46(4):716–726. DOI: 10.1194/jlr.M400337-JLR200.
25. Kitareewan S, Burka LT, Tomer KB, Parker CE, Deterding LJ, Stevens RD, et al. Phytol metabolites are circulating dietary factors that activate the nuclear receptor RXR. *Molecular Biology of the Cell*. 1996;7(8):1153–1317. DOI: 10.1091/mbc.7.8.1153.
26. Grabacka M, Pierzchalska M, Dean M, Reiss K. Regulation of ketone body metabolism and the role of PPAR $\alpha$ . *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(12):2093. DOI: 10.3390/ijms17122093.
27. Santos NC, Kim KH. Activity of retinoic acid receptor-alpha is directly regulated at its protein kinase A sites in response to follicle-stimulating hormone signaling. *Endocrinology*. 2010;151(5):2361–2372. DOI: 10.1210/en.2009-1338.
28. Chen H, Lin R, Schiltz RL, Chakravarti D, Nash A, Nagy L, et al. Nuclear receptor coactivator ACTR is a novel histone acetyltransferase and forms a multimeric activation complex with P/CAF and CBP/p300. *Cell*. 1997;90(3):569–580. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80516-4.
29. Gerhard D. Neuroscience. 5<sup>th</sup> edition. By Dale Purves, George Augustine, David Fitzpatrick, William Hall, Anthony-Samuel LaMantia, and Leonard White. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.; 2012. 759 p. US \$112.95 Hardcover. ISBN: 978-0878936953. *The Yale Journal of Biology and Medicine*. 2013;86(1):113–114.
30. Treutlein J, Cichon S, Ridinger M, Wodarz N. Genome-wide association study of alcohol dependence. *Archives of General Psychiatry*. 2009;66(7):773–784. DOI: 10.1001/archgenpsychiatry.2009.83.
31. Bergen SE, O'Dushlaine CT, Ripke S, Lee PH, Ruderfer DM, Akterin S. Genome-wide association study in a Swedish population yields support for greater CNV and MHC involvement in schizophrenia compared with bipolar disorder. *Molecular Psychiatry*. 2012;17(9):880–886. DOI: 10.1038/mp.2012.73.
32. The Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study (GWAS) Consortium. Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nature Genetics*. 2011;43(10):969–976. DOI: 10.1038/ng.940.
33. Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet*. 2013;381(9875):1371–1379. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)62129-1.
34. Sumi D, Himeno S. Role of arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase in arsenic metabolism and toxicity. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2012;35(11):1870–1875. DOI: 10.1248/bpb.b212015.
35. Tyler CR, Allan AM. Effects of arsenic exposure on neurological and cognitive dysfunction in human and rodent studies: a review. *Current Environmental Health Reports*. 2014;1(2):132–147. DOI: 10.1007/s40572-014-0012-1.
36. Ratnaike RN. Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgraduate Medical Journal*. 2003;79(933):391–396. DOI: 10.1136/pmj.79.933.391.
37. Li L, Chang H, Peng T, Li M, Xiao X. Evidence of AS3MT d2d3-associated variants within 10q24.32-33 in the genetic risk of major affective disorders. *Molecular Neuropsychiatry*. 2016;2(4):213–218. DOI: 10.1159/000452998.
38. Mondal T, Rasmussen M, Pandey GK, Isaksson A, Kanduri C. Characterization of the RNA content of chromatin. *Genome Research*. 2010;20(7):899–907. DOI: 10.1101/gr.103473.109.
39. Nystoriak MA, Nieves-Cintrón M, Patriarchi T, Buonarati OR, Prada MP, Morotti S, et al. Ser1928 phosphorylation by PKA stimulates the L-type Ca<sup>2+</sup> channel CaV1.2 and vasoconstriction during acute hyperglycemia and diabetes. *Science Signaling*. 2017;10(463):eaaf9647. DOI: 10.1126/scisignal.aaf9647.
40. Pinton P, Ferrari D, Magalhães P, Schulze-Osthoff K, Di Virgilio F, Pozzan T, et al. Reduced loading of intracellular Ca<sup>2+</sup> stores and downregulation of capacitative Ca<sup>2+</sup> influx in Bcl-2-overexpressing cells. *The Journal of Cell Biology*. 2000;148(5):857–862. DOI: 10.1083/jcb.148.5.857.
41. Fanfan Zheng, Yanling Zhang, Wuxiang Xie, Wenqiang Li, Chao Jin, Weifeng Mi. Further evidence for genetic association of CACNA1C and schizophrenia: new risk loci in a Han Chinese population and a meta-analysis. *Schizophrenia Research*. 2014;152(1):105–110. DOI: 10.1016/j.schres.2013.12.003.
42. Ruderfer DM, Fanous AH, Ripke S, McQuillin A, Amdur RL, Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, et al. Polygenic dissection of diagnosis and clinical dimensions of bipolar disorder and schizophrenia. *Molecular Psychiatry*. 2014;19(9):1017–1024. DOI: 10.1038/mp.2013.138.