

Анализ ассоциаций полиморфных маркеров генов фермента моноаминоксидазы с риском развития хронического алкоголизма в Республике Саха (Якутия) *

ГАРЕЕВА А.Э.¹
КАЗАНЦЕВА А.В.¹
КУЛИЧКИН С.С.²
ФЕДОРОВА С.А.²
ХУСНУТДИНОВА Э.К.¹

к.м.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека; e-mail: annagareeva@yandex.ru
к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека; e-mail: kazantsa@mail.ru
к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики; e-mail: ysc@sakha.ru
д.б.н., зав. лабораторией молекулярной генетики; e-mail: ysc@sakha.ru
д.б.н., профессор, зав. лабораторией молекулярной генетики человека; e-mail: ekkh@anrb.ru

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, 455054, Уфа, пр. Октября, 71; тел./факс (347)235-60-88

² Якутский научный центр Комплексных медицинских проблем Сибирского отделения РАН, 677019, Якутск, Сергеляхское шоссе, 4; тел./факс (4112) 32-19-81

*Цель настоящей работы состояла в исследовании полиморфных маркеров 1460C>T (EcoRV) и LPR гена моноаминоксидазы А (MAOA) в двух коренных этнических популяциях из Республики Саха (Якутия) и полиморфного маркера rs1799836 гена MAOB в популяции якутов из РС(Я). Гемизиготный генотип MAOA*L является протективным (OR=0,07), а генотип MAOA*H полиморфного маркера LPR гена MAOA — маркером риска (OR=14,4) в отношении развития хронического алкоголизма у мужчин эвенкийской этнической принадлежности. Аллель MAOA*T полиморфного локуса 1460C>T является маркером риска для женщин, в целом, а аллель MAOA*C — протективным маркером для совокупной выборки женщин из Республики Саха (Якутия). Протективным маркером при развитии алкоголизма как среди якутов (OR=0,0005), так и в объединенной выборке (якуты и эвенки) (OR=0,0005) является редкий в группе больных гаплотип MAOA*H*T.*

Ключевые слова: хронический алкоголизм, ген моноаминоксидазы А (MAOA), ген моноаминоксидазы В (MAOB), генетический маркер риска, генетический маркер устойчивости

Введение

В основе формирования алкоголизма наряду с социальными важную роль играют и генетические факторы, которые отражают индивидуальные особенности деятельности нейромедиаторных систем и ферментов метаболизма алкоголя [13, 14, 38].

Среди инактивирующих ферментов для серотонина наиболее активным является моноаминоксидаза (MAO), для дофамина — MAO и катехол-О-метилтрансфераза (КОМТ). Предполагается, что алкоголь и продукты его метаболизма действуют, с одной стороны, как либераторы мозговых биогенных аминов, а с другой, — как ингибиторы инактивирующих ферментов. Моноаминоксидаза (MAO) относится к классу митохондриальных флавинодержущих ферментов. Существует два типа MAO, различающихся по их субстратной и ингибиторной специфичности, MAOA и

MAOB — оба катализируют реакцию дезаминирования различных нейротрансмиттеров и ксенобиотических аминов в ЦНС и периферической нервной системе, причем в катехоламинергических нейронах обнаружены более высокие уровни MAOA [36].

Нами исследованы полиморфные маркеры 1460C>T (EcoRV) и LPR гена MAOA в двух коренных этнических популяциях из Республики Саха (Якутия) — РС(Я) и полиморфный маркер rs1799836 гена MAOB в популяции якутов из РС(Я).

Полиморфный локус 1460C>T гена MAOA, расположен на коротком плече X хромосомы в области p11.23-11.4 [20]. Являясь основным ферментом обмена катехоламинов и серотонина, моноаминоксидаза определяет индивидуальные особенности деятельности нейромедиаторных систем и участвует в развитии пси-

* Работа выполнена при поддержке грантов Российского гуманитарного научного фонда (№ 08-06-00579а, 09-06-95601а/Э) и государственного контракта № 02.527.11.0006 «Сравнительное популяционно-генетическое изучение широко распространенных мультифакториальных заболеваний в популяциях ЕУ/АС и России»; программы Президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине», 2011 г.; ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 гг.» гос. контракт с Минобрнауки, П601 от 18.05.2010; ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 гг.» гос. контракт с Минобрнауки 16.512.11.2032.

хических заболеваний [26]. Было показано, что взаимодействие генов *MAOA* и альдегиддегидрогеназы *ALDH2* ассоциируется с антисоциальным поведением больных алкоголизмом китайцев из Тайваня [19].

Полиморфный локус варьирующих tandemных повторов (*VNTR*), расположен в промоторной области гена *MAOA*, с числом копий от 3 до 5 (длина одной копии повтора — 30 пар оснований). Аллельные ассоциации были описаны между полиморфными локусами гена *MAOA* и алкогольной и наркотической зависимостью в четырех независимых исследованиях [16]. Транскрипционная эффективность аллеля, содержащего 3 повтора, более чем в 3 раза ниже, чем у аллелей, содержащих 4 и 5 повторов [29, 30].

Данные исследования, а также результаты изучения трансгенных животных позволяют предположить, что ген *MAOA* является вероятным геном-кандидатом антисоциального поведения и склонности к алкоголизму [12].

Полиморфный маркер *rs1799836* в гене *MAOB* (*Xp11.23-11.4*), находящийся в интроне 13 и представляющий замену *A* на *G*, является высокоинформативным маркером при изучении аддиктивных расстройств [4]. Было показано, что аллель *MAOB*G* обладает повышенной транскрипционной активностью *in vitro* по сравнению с аллелем *MAOB*A* [10, 11]. Противоположные результаты были получены другой группой ученых [27].

Пациенты и методы исследования

В исследование были включены 106 якутов и 35 эвенков (мужчины и женщины, средний возраст: $43,4 \pm 13,4$ года) с диагнозом *хронический алкоголизм II стадии (ХА)*, находившиеся на стационарном лечении в Якутском республиканском наркологическом диспансере (ЯРНД) с 2000 по 2007 гг. Диагноз был поставлен в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10, 1994).

Контрольную группу составили 109 якутов и 47 эвенков, сопоставимые по полу и возрасту группе больных, не состоявших на учете у психиатра или нарколога и отрицавшие злоупотребление алкоголем. Этническую принадлежность определяли путем опроса, преимущественно до 3-го поколения.

Все лица были проинформированы о характере проводимого научного исследования и подписали информированное согласие на забор крови и использование генетического материала.

Материал был собран в ходе экспедиционных выездов в сельские районы РС(Я).

Молекулярно-генетические исследования популяций якутов и эвенков РС(Я) по мтДНК, Y-хро-

мосоме и некоторым аутосомным микросателлитным локусам показали низкий уровень генетических различий между субпопуляциями [5, 6]. Изученные популяции можно рассматривать как относительно гомогенные, что позволяет оперировать малыми количествами выборок.

Выделение ДНК проводили методом фенольно-хлороформной экстракции из цельной венозной крови [24].

Анализ полиморфного маркера *VNTR* гена *MAOA* осуществляли методом ПЦР, полиморфных маркеров *rs1137070* гена *MAOA* и *rs1799836* гена *MAOB* — ПЦР/ПДФ-анализом [39] с последующим электрофорезом в 7%-ном полиакриламидном геле.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета прикладных программ: MS Office Excel 2003 [Microsoft], Statistica v.6.0. [StatSoft], BIOSTAT [2]. При попарном сравнении частот аллелей и генотипов в группах больных и контроля использовался критерий χ^2 (p) для таблиц сопряженности 2x2 с поправкой Йейтса на непрерывность.

Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя соотношения шансов Odds Ratio (OR) [31].

Конструирование гаплотипических блоков, анализ гаплотипов и оценка неравновесия по сцеплению между двумя и более полиморфными маркерами проводилась с использованием программы Haploview v.4.1. [7].

При обнаружении статистически значимых различий в распределении частот гаплотипов был проведен дальнейший анализ с целью выявления гаплотипа, за счет которого было обусловлено это различие с помощью программы SISA Table (<http://www.quantitativeskills.com>).

Результаты и обсуждение

Анализ ассоциаций полиморфного маркера *1460C>T* гена фермента *MAOA* с ХА в Республике Саха (Якутия)

Поскольку ген *MAOA* расположен на X хромосоме и таким образом представлен разным числом аллелей у мужчин и женщин, в нашем исследовании мы проводили анализ распределения частот генотипов и аллелей с учетом половой принадлежности.

Результаты распределения частот гемизиготных генотипов полиморфного маркера *1460C>T* гена *MAOA* в изученных группах здоровых и больных алкоголизмом мужчин из РС(Я), представлены в табл. 1.

В изученных выборках распределение частот гемизиготных генотипов по полиморфному локусу *1460C>T* гена *MAOA* соответствовало распределению Харди—Вайнберга.

Различия в распределении частот аллелей между группами якутов и эвенков оказались статистически не достоверны ($\chi^2=0,148$; $p=0,746$).

При проведении сравнительного анализа по распределению частот гемизиготных генотипов полиморфного маркера *1460C>T* гена *MAOA* в изученных группах с некоторыми популяциями России и мира статистически значимые различия были выявлены между популяцией якутов и русских ($\chi^2=5,147$; $p=0,023$), а также татар ($\chi^2=4,408$; $p=0,36$) из Волго-Уральского региона, кроме того, изученные нами популяции якутов и эвенков статистически достоверно отличались от популяции китайцев из Тайваня ($\chi^2=20,008$; $p<0,001$) (табл. 2).

Достоверных различий в распределении частот гемизиготных генотипов между группами больных алкоголизмом якутов и эвенков не обнаружено ($\chi^2=0,012$; $p=0,914$).

Попарное сравнение больных ХА мужчин и здоровых лиц якутов и эвенков по этнической принадлежности, не выявило статистически значимых различий.

Различия в распределении частот гемизиготных генотипов по полиморфному локусу *EcoRV* гена *MAOA* между группами больных ХА и здоровых мужчин без учета этнической принадлежности из РС(Я) оказались статистически не достоверны ($\chi^2=2,96$; $p=0,115$; $df=2$).

Результаты распределения частот генотипов и аллелей полиморфного маркера *1460C>T* гена *MAOA* в изученных группах здоровых и больных алкоголизмом женщин из РС(Я) представлены в табл. 3.

При сравнении распределения частот генотипов и аллелей между группами здоровых женщин якутской и эвенкийской этнической принадлежности статистически значимых различий выявлено не было ($\chi^2=0,35$; $p=0,375$ и $\chi^2=1,61$; $p=0,236$).

Анализ распределения частот генотипов и аллелей между больными ХА женщинами якутской и эвенкийской этнической принадлежности достоверных различий не показал ($\chi^2=0,20$; $p=1,000$ и $\chi^2=0,13$; $p=1,000$).

Попарное сравнение групп больных ХА женщин якутской и эвенкийской этнической принадлежности с соответствующей группой контроля из РС(Я) не выявило достоверных различий ни по распределению частот генотипов, ни по распределению частот аллелей.

Анализ распределения частот генотипов в объединенных группах здоровых и больных ХА женщин из РС(Я) выявил статистически значимые различия ($\chi^2=6,34$; $p=0,043$) за счет частоты генотипа *MAOA*С/*С*, которая у здоровых женщин составила 21,95%, в то время как в группе больных данный генотип обнаружен не был, однако, различия в распределении частот по генотипу *MAOA*С/*С* между группами оказались статистически не значимыми ($\chi^2=3,29$; $p=0,062$).

Таблица 1

Распределение частот гемизиготных генотипов полиморфного маркера *1460C>T* гена *MAOA* в выборках мужчин, больных ХА, и индивидов контрольных групп различной этнической принадлежности

Аллель	Якуты (больные)	Якуты (контроль)	Эвенки (больные)	Эвенки (контроль)	Больные (в целом)	Контроль (в целом)
*C	56 (0,6)	43 (0,72)	14 (0,64)	10 (0,77)	70 (0,6)	53 (0,73)
χ^2 (p); OR (95%CI)	1,84 (0,175)		0,19 (0,658)		2,45 (0,115)	
*T	38 (0,4)	17 (0,28)	8 (0,36)	3 (0,23)	46 (0,4)	20 (0,27)
χ^2 (p); OR (95%CI)	1,84 (0,175)		0,19 (0,658)		2,45 (0,115)	
N	94	60	21	13	116	73

Таблица 2

Распределение частот гемизиготных генотипов полиморфного маркера *1460C>T* гена *MAOA* в двух этнических группах мужчин из РС(Я) и в группах мужчин из некоторых популяций России и мира

Популяция	Генотип		2N	Ссылка
	*T	*C		
Якуты	17; 28,33	43; 71,67	120	Собственные результаты
Эвенки	3; 23,08	10; 76,92	26	Собственные результаты
Башкиры	32; 33,33	64; 66,67	192	Горбунова, 2002
Русские	43; 48,31	46; 51,69	178	Горбунова, 2002
Татары	43; 46,74	49; 53,26	184	Горбунова, 2002
Китайцы из Тайваня	125; 62,19	76; 37,81	402	Huang, 2007

Примечание. Указано абсолютное количество (частота; %)

При проведении анализа распределения частот аллелей по полиморфному локусу $1460C>T$ гена *MAOA* без учета этнической принадлежности в контрольной группе частота аллеля *MAOA*С* была достоверно выше таковой в группе больных ХА женщин ($\chi^2=3,87$; $p=0,049$; $OR=0,43$; $95\%CI\ 0,2-0,94$), а частота аллеля *MAOA*T* в контрольной выборке была достоверно ниже таковой у женщин, страдающих ХА ($\chi^2=3,87$; $p=0,049$; $OR=2,35$; $95\%CI\ 1,07-5,15$).

Результаты проведенных исследований данного полиморфного локуса крайне противоречивы: было показано, что аллель *MAOA*T* является аллелем риска у мужчин с острым алкогольным психозом башкирской этнической принадлежности [3]. Многие исследователи подчеркивают значительную ассоциацию низкого уровня активности моноаминоксидазы А с некоторыми психическими состояниями, в том числе, алкоголизмом [15, 32].

Следовательно, можно предположить, что мутация, приводящая к вырезанию 32 пар оснований, затрудняет выполнение дальнейших матричных процессов и изменяет белок — белковые взаимодействия. Показана ассоциация между аллелями, обуславливающими низкую активность *MAOA*, и аффективными заболеваниями [21], навязчивыми состояниями у женщин [8]. Аллели, обуславливающие низкую активность *MAOA*, ассоциированы с задержкой умственного развития, импульсивным агрессивным поведением и другими поведенческими и неврологическими нарушениями, а также ранним развитием алкоголизма [15]. Однако в работе L. Du с соавторами (2002 г.) показана ассоциация аллеля полиморфного локуса $1460C>T$, обуславливающего более высокую активность *MAOA*, с суицидами при депрессии, причем данная ассоциация выявлена только у мужчин

($OR=3,1$). Имеются данные, не подтверждающие вовлеченность данного полиморфного маркера гена *MAOA* в развитие антисоциальных расстройств личности [22] и агрессивным поведением [1].

Эксперименты в культуре клеток и на целом ряде животных объектов показали значительную ассоциацию аллелей гена *MAOA* и уровня активности фермента. Предполагается, что этот полиморфизм может являться маркером структурных изменений в гене *MAOA*, определяющих нарушение регуляции генной экспрессии. Более того, мутации в гене *MAOA* могут лежать в основе индивидуальной чувствительности к алкоголю, поскольку была обнаружена корреляция измененных форм гена *MAOA* с алкоголизмом среди европейцев, американцев [32] и китайцев [16]. Многие исследователи подчеркивают значительную ассоциацию низкого уровня активности *MAOA* с некоторыми психиатрическими состояниями.

Возможно, что характер выявляемых у человека ассоциаций между геном *MAOA* и алкоголизмом зависит от характеристик выборки — возраста, диагноза, этнической принадлежности обследованных лиц. Кроме того, как известно, данный ген характеризуется значительным числом полиморфных локусов, ряд из которых оказывает непосредственное влияние на экспрессию *MAOA* [32, 35]. Различные полиморфные локусы могут оказаться прогностически значимыми для риска развития алкоголизма в разных обследованных группах. Таким образом, дальнейшие исследования ассоциации гена *MAOA* с алкоголизмом в обследованных нами группах, могли бы оказаться полезными.

На основе анализа полученных данных мы можем заключить, что аллель *MAOA*T* полиморфного локуса $1460C>T$ является маркером риска для женщин в целом, а аллель *MAOA*С* — протективным маркером для совокупной выборки женщин из РС(Я).

Таблица 3

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта $1460C>T$ гена *MAOA* в выборках женщин, больных ХА, и в контрольных группах различной этнической принадлежности

Генотип, аллель	Якуты (больные)	Якуты (контроль)	Эвенки (больные)	Эвенки (контроль)	Больные (в целом)	Контроль (в целом)
<i>*C/*C</i>	0	5 (0,36)	0	4 (0,15)	0	9 (0,22)
χ^2 (p); OR (95%CI)	0,99 (0,320)		0,64 (0,424)		3,29 (0,069)	
<i>*C/*T</i>	4 (0,57)	5 (0,36)	8 (0,47)	13 (0,48)	12 (0,5)	18 (0,44)
χ^2 (p); OR (95%CI)	0,12 (0,729)		0,03 (0,862)		0,03 (0,870)	
<i>*T/*T</i>	3 (0,43)	4 (0,28)	9 (0,53)	10 (0,37)	12 (0,5)	14 (0,34)
χ^2 (p); OR (95%CI)	0,02 (0,887)		0,41 (0,520)		0,86 (0,354)	
N	7	14	17	27	24	41
<i>*C</i>	4 (0,28)	15 (0,54)	8 (0,24)	21 (0,4)	12 (0,25)	36 (0,44)
χ^2 (p); OR (95%CI)	1,45 (0,228)		1,59 (0,207)		3,87 (0,049); 0,43 (0,2 — 0,94)	
<i>*T</i>	10 (0,72)	13 (0,46)	26 (0,76)	33 (0,6)	36 (0,75)	46 (0,56)
χ^2 (p); OR (95%CI)	1,45 (0,228)		1,59 (0,207)		3,87 (0,049); 2,35 (1,07 — 5,15)	

Анализ ассоциаций полиморфного маркера *LPR* гена *MAOA* с ХА в Республике Саха (Якутия)

Результаты, полученные при изучении полиморфного локуса *LPR* гена *MAOA* в группах больных алкоголизмом мужчин и здоровых лиц из РС(Я), приведены в табл. 4.

В изученных выборках распределение частот гемизиготных генотипов по полиморфному локусу *LPR* гена *MAOA* соответствовало распределению Харди—Вайнберга.

Гемизиготные генотипы обозначены *MAOA*L* и *MAOA*H*, что соответствует количеству копий повтора длиной 30 пар оснований (3 и 4 повтора соответственно).

Анализ распределения частот гемизиготных генотипов с учетом этнической принадлежности выявил, что различия в распределении частот гемизиготных генотипов полиморфного локуса *LPR* гена *MAOA* между контрольными выборками якутов и эвенков статистически не достоверны ($\chi^2=0,40$; $p=0,755$), тогда как между выборками больных ХА якутов и эвенков по этнической принадлежности наблюдались достоверные различия ($\chi^2=7,45$; $p=0,007$).

При проведении сравнительного анализа в распределении частот гемизиготных генотипов различных популяций из Волго-Уральского региона с популяциями якутов и эвенков были выявлены достоверно значимые различия между популяцией якутов и русскими ($\chi^2=77,22$; $p<0,001$), татарами ($\chi^2=88,15$; $p<0,001$) и башкирами ($\chi^2=82,94$; $p<0,001$), а также между эвенками и русскими ($\chi^2=39,51$; $p<0,001$), татарами ($\chi^2=51,434$; $p<0,001$) и башкирами ($\chi^2=39,94$; $p<0,001$).

При сравнении с данными литературы выявлены достоверно значимые различия в распределении частот гемизиготных генотипов между популяцией китайцев из Тайваня [17] и якутами из РС(Я) ($\chi^2=7,18$; $p=0,007$). Характер распределения частот аллелей в популяциях немцев [23] не отличался от такового в популяциях якутов ($\chi^2=1,28$; $p=0,257$) и эвенков ($\chi^2=0,92$; $p=0,335$) из РС(Я).

Полученные данные говорят о генетической неоднородности выборок различных этнических принадлежностей по полиморфному локусу *LPR* гена *MAOA* (табл. 5).

В объединенных выборках мужчин, больных алкоголизмом, и здоровых индивидов распределение частот гемизиготных генотипов данного полиморфного маркера было практически одинаковым (табл. 4).

Таблица 4

Распределение частот гемизиготных генотипов полиморфного маркера *LPR* гена *MAOA* в выборках мужчин, больных алкоголизмом, и индивидов контрольных групп различной этнической принадлежности

Генотип, аллель	Якуты (больные)	Якуты (контроль)	Эвенки (больные)	Эвенки (контроль)
*L	43 (0,48)	31 (0,44)	1 (0,1)	6 (0,55)
χ^2 (p); OR (95%CI)	0,08 (0,779)		4,27 (0,038); 14,4 (1,36—152,53)	
*H	47 (0,52)	39 (0,56)	12 (0,9)	5 (0,45)
χ^2 (p); OR (95%CI)	0,08 (0,779)		4,27 (0,038); 14,4 (1,36—152,53)	
N	90	70	13	11

Таблица 5

Распределение частот гемизиготных генотипов полиморфного маркера *LPR* гена *MAOA* у мужчин в двух этнических группах из Республики Саха (Якутия) и в некоторых популяциях России и мира

Популяция	Генотип			2N	Ссылка
	*2R	*3R	*4R		
Якуты	0; 0	31; 44,29	39; 55,71	140	Собственные результаты
Эвенки	0; 0	6; 54,55	5; 45,45	22	Собственные результаты
Башкиры	44; 45,83	51; 53,12	1; 1,04	192	Горбунова, 2002
Татары	43; 41,75	60; 58,25	0; 0	186	Горбунова, 2002
Русские	30; 32,61	61; 66,3	1; 1,09	184	Горбунова, 2002
Немцы	0; 0	47; 35,07	87; 64,93	268	Marziniak, 2004
Китайцы из Тайваня	0; 0	129; 63,55	74; 36,45	406	Huang, 2007

Примечание. Указано абсолютное количество (частота; %)

В выборках больных с учетом этнической принадлежности частота гемизиготного генотипа *MAOA*H* была достоверно выше у эвенков, чем у якутов ($\chi^2=5,91$; $p=0,015$).

А попарное сравнение мужчин, страдающих алкоголизмом, и контроля с учетом этнической принадлежности показало достоверные различия между выборками эвенков ($\chi^2 = 6,33$; $p = 0,025$), обусловленные достоверным снижением частоты гемизиготного генотипа *MAOA*L* (7,69% относительно 54,55% у здоровых; $\chi^2 = 4,27$; $p = 0,038$; OR = 0,07; 95%CI 0,01—0,74) и достоверным повышением гемизиготного генотипа *MAOA*H* у больных ($\chi^2 = 4,27$; $p = 0,038$; OR = 14,4; 95%CI 58,27—113,52).

Результаты распределения частот генотипов и аллелей полиморфного маркера *LPR* гена *MAOA* в изученных группах здоровых и больных алкоголизмом женщин из РС(Я), представлены в табл. 6.

При сравнении распределения частот генотипов и аллелей между группами здоровых женщин якутской и эвенкийской этнической принадлежности статистически значимых различий выявлено не было ($\chi^2=2,40$; $p=0,30$ и $\chi^2=2,17$; $p=0,14$).

Попарное сравнение групп больных алкоголизмом женщин якутской и эвенкийской этнической принадлежности с соответствующими группами контроля из РС(Я) не выявило достоверных различий ни по распределению частот генотипов, ни по распределению частот аллелей.

При анализе распределения частот генотипов и аллелей без учета этнической принадлежности больных алкоголизмом женщин и здоровых из РС(Я) не было выявлено достоверных различий в распределении частот генотипов и аллелей между группами больных ХА и контрольной выборкой.

Результаты проведенных исследований данного полиморфного локуса крайне противоречивы: было показано, что аллель *MAOA*H* является протективным для развития алкоголизма у мужчин татарской этнической принадлежности из Волго-Уральского региона, а аллель *MAOA*L* является аллелем риска развития алкоголизма у русских (OR=1,50) и татар (OR=1,77) [3]. Была показана ассоциация аллеля *MAOA*H* с риском развития антисоциального поведения, развитием алкоголизма и импульсивным поведением у финнов [37], а также с тяжелым течением метамфетаминового психоза у японцев [25], агрессивным антисоциальным поведением у женщин-алкоголиков [12].

Было показано, что взаимодействие функционального полиморфного локуса *VNTR* гена *MAOA* и уровня тестостерона ассоциировано с антисоциальным поведением у европейцев [33]. Кроме того, была показана ассоциация данного полиморфного локуса с психическими расстройствами у европейцев [9], с биполярным расстройством у китайцев [17], с нарушениями личностных черт [18]. Напротив, S.Huang с соавторами не обнаружили ассоциации данного полиморфного локуса с большим депрессивным расстройством [17].

Полученные нами результаты указывают на вовлечение моноаминоксидазы А в патогенез алкоголизма и позволяют сделать выводы, что гемизиготный генотип *MAOA*L* является протективным (OR=0,07), а генотип *MAOA*H* — маркером риска (OR=14,4) в отношении развития ХА у мужчин эвенкийской этнической принадлежности.

Таблица 6

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта *LPR* гена *MAOA* в выборках женщин, больных ХА, и в контрольных группах различной этнической принадлежности

Генотип, аллель	Якуты (больные)	Якуты (контроль)	Эвенки (больные)	Эвенки (контроль)	Больные (в целом)	Контроль (в целом)
<i>*L/*L</i>	2 (0,33)	4 (0,25)	9 (0,64)	5 (0,56)	11 (0,55)	9 (0,36)
χ^2 (p); OR (95%CI)	0,001 (0,949)		0,001 (0,984)		0,95 (0,330)	
<i>*L/*H</i>	4 (0,67)	5 (0,31)	4 (0,29)	2 (0,22)	8 (0,4)	7 (0,28)
χ^2 (p); OR (95%CI)	0,64 (0,424)		0,02 (0,882)		0,28 (0,595)	
<i>*H/*H</i>	0	7 (0,44)	1 (0,07)	2 (0,22)	1 (0,05)	9 (0,36)
χ^2 (p); OR (95%CI)	1,46 (0,227)		0,17 (0,679)		4,51 (0,033)	
N	6	16	14	9	20	25
<i>*L</i>	8 (0,67)	13 (0,4)	22 (0,79)	12 (0,67)	30 (0,75)	25 (0,5)
χ^2 (p); OR (95%CI)	1,44 (0,229)		0,88 (0,348)		4,84 (0,027)	
<i>*H</i>	4 (0,33)	19 (0,6)	6 (0,21)	6 (0,33)	10 (0,25)	25 (0,5)
χ^2 (p); OR (95%CI)	1,44 (0,299)		0,88 (0,348)		4,84 (0,027)	

Анализ ассоциаций полиморфного маркера *rs1799836* гена фермента моноаминоксидазы В (МАОВ) с ХА в группе мужчин якутской этнической принадлежности из Республики Саха (Якутия)

Результаты оценки распределения частот гемизиготных генотипов полиморфного локуса *rs1799836* в интроне 13 гена МАОВ в группах мужчин больных алкоголизмом и здоровых лиц представлены в табл. 7.

В изученных выборках распределение частот гемизиготных генотипов по полиморфному локусу *rs1799836* гена МАОВ соответствовало распределению Харди—Вайнберга.

При сравнении с литературными данными выявлены достоверно значимые различия в распределении частот гемизиготных генотипов между якутами из РС(Я), популяцией китайцев из Сингапура [34] ($\chi^2=90,58$; $p<0,001$) и чукчами из Чукотского автономного округа России ($\chi^2=90,58$; $p=0,043$) (табл. 8).

Сравнительный анализ распределения частот гемизиготных генотипов полиморфного локуса *rs1799836* в интроне 13 гена МАОВ между группой больных ХА и здоровых доноров не выявил достоверных различий.

Результаты ранее проведенных исследований данного полиморфного локуса крайне противоречивы: было обнаружено, что аллель МАОВ*А приводит к формированию низкоактивного тромбоцитарного фермента МАОВ [11], который ассоциирован с такими чертами личности, как импульсивность, поиск новых ощущений и экстраверсия [28]. Данные качества могут рассматриваться как промежуточные фенотипы

предрасположенности к алкоголизму. Исследования Costa с соавторами показали, что табакокурение ингибирует активность МАОВ *in vivo* и *in vitro*, т.е. сниженная активность МАОВ может служить фактором риска развития табакозависимости. Аллель МАОВ*А в сочетании с аллелем DRD2*B12 полиморфного локуса *TaqIB* повышают риск развития зависимости от курения у мужчин [10]. В то же время, проведенные исследования полиморфного локуса *rs1799836* гена МАОВ в некоторых популяциях мира не подтверждают ассоциацию данного маркера с зависимостью от психоактивных веществ [27, 34].

На основе анализа полученных данных мы можем заключить, что полиморфный локус *rs1799836* гена МАОВ не связан с риском развития алкоголизма в обследованных нами группах мужчин якутской этнической принадлежности.

Анализ ассоциации гаплотипов гена МАОА, составленных на основе полиморфных маркеров *1460C>T* и *MAOA-LPR*, с ХА в популяциях якутов и эвенков Республики Саха (Якутия)

Поскольку статистически значимых различий в распределении частот генотипов и аллелей полиморфных локусов *1460C>T* и *MAOA-LPR* в гене МАОА между контрольными группами якутов и эвенков выявлено не было, то анализ неравновесия по сцеплению и последующий анализ гаплотипов был проведен отдельно как в группе якутов, так и в объединенной группе (якуты и эвенки). При оценке частот гаплотипов генов МАОА и МАОВ было выявлено

Таблица 7

Распределение частот гемизиготных генотипов полиморфного варианта *rs6651806* гена МАОВ в выборках мужчин, больных ХА, и индивидов контрольной группы якутской этнической принадлежности

Генотип, аллель		Якуты (больные)	Якуты (контроль)
*А		80 (0,77)	84 (0,84)
	χ^2 (p); OR (95%CI)	1,20 (0,272)	
*G		24 (0,23)	16 (0,16)
	χ^2 (p); OR (95%CI)	1,20 (0,272)	
N		104	100

Таблица 8

Распределение частот гемизиготных генотипов полиморфного маркера *rs6651806* гена МАОВ у мужчин якутской этнической принадлежности из Республики Саха (Якутия) и в некоторых популяциях мира

Популяция	Аллель		2N	Ссылка
	*А	*G		
Якуты	84; 84,0	16; 16,0	140	Собственные результаты
Чукчи	18; 64,29	10; 35,71	56	Фасхутдинова, 2008
Китайцы из Сингапура	30; 21,13	112; 78,87	284	Тан, 2003
Примечание. Указано абсолютное количество (частота; %)				

но наличие неравновесия по сцеплению ($D' > 0,3$) во всех группах только между маркерами $1460C > T$ и $MAOA-LPR$ в гене $MAOA$, в то время как неравновесия по сцеплению между локусами $EcoRV$ в гене $MAOA$ и $A > G$ в интроне 13 ($rs1799836$) гена $MAOB$, $MAOA-LPR$ в гене $MAOA$ и $A > G$ в интроне 13 ($rs1799836$) гена $MAOB$ обнаружено не было. В табл. 9 представлены показатели неравновесия по сцеплению (D') между маркерами $1460C > T$ и $MAOA-LPR$ в гене $MAOA$ и частоты гаплотипов в данных группах

Из представленных результатов видно, что во всех группах наиболее часто встречались гаплотипы $MAOA*L*T$ и $MAOA*H*C$. В результате анализа гаплотипов гена $MAOA$ были выявлены различия в распределении частот гаплотипов между больными алкоголизмом и здоровыми донорами как среди якутов ($\chi^2=39,26$; $df=3$; $p < 0,0001$), так и в объединенной выборке (якуты и эвенки) ($\chi^2=40,30$; $df=3$; $p < 0,0001$). Дальнейший анализ множественных сравнений показал, что протективным маркером при развитии алкоголизма как среди якутов ($\chi^2=11,41$; $p=0,0005$; $OR=0,0005$; $95\%CI 0,44-0,37$), так и в объединенной выборке (якуты и эвенки) ($\chi^2=13,96$; $p=0,0008$; $OR=0,0005$; $95\%CI 0,46-0,30$) является редкий в группе больных гаплотип $MAOA*H*T$.

Заключение

Результаты, полученные при исследовании полиморфных маркеров $1460C > T$ ($EcoRV$) и LPR гена $MAOA$ в двух коренных этнических популяциях из РС(Я) и полиморфного маркера $rs1799836$ гена $MAOB$ в популяции якутов из РС(Я), указывают на

вовлечение моноаминоксидазы А в патогенез алкоголизма и позволяют сделать следующие выводы:

1) гемизиготный генотип $MAOA*L$ является протективным ($OR=0,07$), а генотип $MAOA*H$ полиморфного маркера LPR гена $MAOA$ является маркером риска ($OR=14,4$) в отношении развития хронического алкоголизма у мужчин эвенкийской этнической принадлежности.

2) аллель $MAOA*T$ полиморфного локуса $1460C > T$ является маркером риска для женщин, в целом, а аллель $MAOA*C$ — протективным маркером для совокупной выборки женщин из РС(Я).

3) анализ множественных сравнений показал, что протективным маркером при развитии алкоголизма как среди якутов ($OR=0,0005$), так и в объединенной выборке (якуты и эвенки) ($OR=0,0005$) является редкий в группе больных гаплотип $MAOA*H*T$.

Полученные результаты несколько противоречат данным, полученным различными группами исследователей. По нашему мнению, противоречивость обусловлена влиянием множества факторов, включающих величину выборок, гендерные, возрастные, этнические различия, а также различия в факторах окружающей среды.

Список литературы

1. Гайсина Д.А. Анализ ассоциаций генов нейромедиаторных систем с агрессивным поведением человека: Дисс. на соискание ученой степени к.биол.н. — Уфа, 2004. — 180 с.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. под ред. Н.Е. Бузикашвили и Д.В. Самойлова. — М.: Практика, 1999. — 460 с.
3. Горбунова Е.В. Исследование ряда генов — кандидатов с острым алкогольным психозом: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.биол.н. — 2002. — 24 с.
4. Фасхутдинова Г.Г., Куличкин С.С., Матвеева Н.П. и др. Анализ полиморфизма генов дофаминергической системы у больных алкоголизмом, якутов и чукчей по этнической принадлежности // Медицинская генетика. — 2008. — №4. — С. 3—8.

Таблица 9

Частоты гаплотипов гена $MAOA$, состоящего из полиморфных маркеров $1460C > T$ и $MAOA-LPR$ соответственно у больных ХА и в контрольной группе индивидов якутской этнической принадлежности и в совокупных выборках

Гаплотип	Якуты		Якуты + Эвенки	
	Больные (N=96)	Контроль (N=86)	Больные (N=123)	Контроль (N=106)
	$D'=1,000$	$D'=0,448$	$D'=0,533$	$D'=0,981$
*L*T	0,407	0,268	0,409	0,331
*H*C	0,515	0,468	0,504	0,433
*L*C	0,077	0,132	0,083	0,113
*H*T	0,000 ^a	0,132	0,004 ^b	0,123
χ^2 (p)	39,26 (<0,0001)		40,30 (<0,0001)	

Примечание. Жирным шрифтом выделены наиболее часто встречаемые гаплотипы; ^a — выявлены статистически значимые различия в распределении частот гаплотипов между группой больных алкоголизмом и здоровыми донорами ($\chi^2=11,41$; $p=0,0005$; $OR=0,0005$; $95\%CI 0,44-0,37$); ^b — выявлены статистически значимые различия в распределении частот гаплотипов между группой больных алкоголизмом и здоровыми донорами ($\chi^2=13,96$; $p=0,0008$; $OR=0,0005$; $95\%CI 0,46-0,30$)

5. Федорова С.А. Генетические портреты народов Республики Саха (Якутия): анализ линий мтДНК и Y-хромосомы. — Якутск: Изд-во ЯНЦ СО РАН, 2008. — 235 с.
6. Федорова С.А. Этногеномика коренных народов Республики Саха (Якутия): Автореф. дисс. на соискание ученой степени д.биол.н. — М., 2008. — 49 с.
7. Barrett J.C., Fry B., Maller J., Daly M.J. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps // *Bioinformatics*. — 2005. — Jan. 15. — Vol. 21(2). — P. 263—265.
8. Camarena B., Cruz C., de la Fuente J.R., Nicolini H. A higher frequency of a low activity-related allele of the MAO-A gene in females with obsessive-compulsive disorder // *Psychiatric Genetics*. — 1998. — Vol. 8(4). — P. 255—258.
9. Contini V., Margues G.Z., Garcia C. et al. MAO A-VNTR polymorphism in a Brazilian Sample: Further support for the association with impulsive behaviors and alcohol dependence // *Am. J. Med. Genet. Part B (Neuropsychiatr. Genet.)*. — 2006. — Vol. 141B. — P. 305—308.
10. Costa-Mallen P., Costa L.G., Checkoway H. Genotype combinations for monoamine oxidase-B intron 13 polymorphism and dopamine D2 receptor Taq1B polymorphism are associated with ever-smoking status among men // *Neurosci. Lett.* — 2005. — Vol. 385(2). — P. 158—162.
11. Garpenstrand H., Ekblom E., Forslund K. et al. Platelet monoamine oxidase activity is related to MAO A intron 13 genotype // *J. Neurol. Transm.* — 2000. — Vol. 107. — P. 523—530.
12. Gokturk C., Schultze S., Nilsson K.W. et al. Serotonin transporter (5-HTTLPR) and monoamine oxidase (MAOA) promoter polymorphisms in women with severe alcoholism // *Arch. Womens Ment. Health*. — 2008. — Vol. 5(6). — P. 347—355.
13. Goldman D., Oroszi G., Ducci F. The genetics of addictions: uncovering the genes // *Nature reviews. Genetics*. — 2005. — Vol. 6. — P. 521—532.
14. Hiroi N., Agatsuma S. Genetic susceptibility to substance dependence // *Molecular Psychiatry*. — 2005. — Vol. 10. — P. 336—344.
15. Hotamisligi G.S., Breakfield X.O. Human monoamine oxidase A determines levels of enzyme activity // *Am. J. Hum. Genet.* — 1991. — Vol. 49. — P. 383—392.
16. Hsu Y.-P.P., Loh E.W., Chen W.J. et al. Association of monoamine oxidase A alleles with alcoholism among males Chinese in Taiwan // *Am. J. Psychiatr.* — 1996. — Vol. 153. — P. 1209—1211.
17. Huang S.Y., Lin W.W., Wan F.J., Chang A.J. et al. Monoamine oxidase-A polymorphisms might modify the association between the dopamine D2 receptor gene and alcohol dependence // *J. Psychiatry Neurosci.* — 2007. — Vol. 32(3). — P. 185—192.
18. Jacob C., Muller J., Schmidt M. et al. Personality disorders are associated with allelic variation of MAO A activity // *Neuropsychopharmacology*. — 2005. — Vol. 30. — P. 1711—1718.
19. Lee S., Hahn C., Lee J. et al. MAO A-uVNTR polymorphism may modify the protective effect of aldh2 gene against alcohol dependence in antisocial personality disorder // *Alcoholism: clinical and experimental research*. — 2009. — Vol. 33 (№6).
20. Levy E.R., Powell J.F., Buckle V.J. et al. Localization of human monoamine oxidase-A gene to Xp11.23-11.4 by in situ hybridization: implications for Norrie disease // *Genomics*. — 1989. — Vol. 5(2). — P. 368—370.
21. Lim L.C.C., Powell J.F., Sham P. et al. Evidence for Du L., Faludi G., Palkovits M. et al. High activity-related allele of MAO-A gene associated with depressed suicide in males // *Neuroreport*. — 2002. — Vol. 13(9). — P. 1195—1198.
22. Lu R.-B., Ko H.-C., Chang F.M. et al. No association between alcoholism and multiple polymorphisms at the dopamine D2 receptor gene (DRD2) in three distinct Taiwanese populations // *Biol. Psychiatry*. — 1996. — Vol. 39. — P. 419—429.
23. Marziniak M., Mossner R., Benninghoff J. et al. Association analysis of the functional monoamine oxidase A gene promoter polymorphism in migraine // *J. Neural Transm.* — 2004. — Vol. 111(5). — P. 603—612.
24. Mathew C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA // *Methods in Molecular Biology* / Ed. J.M. Walker. — N.Y.: London: Human Press, 1984. — Vol. 2. — P. 31—34.
25. Nakamura K., Sekine Y., Takei N. et al. An association study of monoamine oxidase A (MAOA) gene polymorphism in methamphetamine psychosis // *Neurosci. Lett.* — 2009. — Vol. 455(2). — P. 120—123.
26. Parsian A., Cloninger C.R., Sinha R., Zhang Z.H. Functional variation in promoter region of monoamine oxidase A and subtypes of alcoholism: haplotype analysis // *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* — 2003. — Vol. 117B(1). — P. 46—50.
27. Pivac N., Knezevic J., Mustapic M. et al. The lack of association between monoamine oxidase (MAO) intron 13 polymorphism and platelet MAO-B activity among men // *Life Sci.* — 2006. — Vol. 79(1). — P. 45—49.
28. Ruchkin V.V., Kuposov R.A., af Klinteberg B. et al. Platelet MAO-B, personality, and psychopathology // *J. Abnorm. Psychol.* — 2005. — Vol. 114(3). — P. 477—482.
29. Sabol S.Z., Nelson M.L., Fisher C. et al. A genetic association for cigarette smoking behavior // *Health Psychol.* — 1999. — Vol. 18(1). — P. 7—13.
30. Samochowiec J., Kucharska-Mazur J., Grzywacz A. et al. Family-based and case-control study of DRD2, DAT, 5HTT, COMT genes polymorphisms in alcohol dependence // *Neurosci. Lett.* — 2006. — Vol. 410(1). — P. 1—5.
31. Schlesselman J. Case-control studies. Design, conduct, analysis. — New York: Oxford: Oxford University Press, 1982. — P. 58—96.
32. Shin J.C., Chen K. MAO-A and -B gene knock-out mice exhibit distinctly different behavior // *Neurobiology (Bp)*. — 1999. — Vol. 7(2). — P. 235—246.
33. Sjoberg R., Ducci F., Barr C.S. et al. A non-additive interaction of a functional MAO A-VNTR and testosterone predicts antisocial behavior // *Neuropsychopharmacology*. — 2008. — Vol. 33(2). — P. 425—430.
34. Tan E.K., Chai A., Lum S.Y. et al. Monoamine oxidase B polymorphism, cigarette smoking and risk of Parkinson's disease: a study in an Asian population // *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* — 2003. — Vol. 120B(1). — P. 58—62.
35. Thompson J., Thomas N., Singleton A. et al. D2 dopamine receptor gene (DRD2) Taq1 A polymorphism: reduced dopamine D2 receptor binding in the human striatum associated with the A1 allele // *Pharmacogenetics*. — 1997. — Vol. 7(6). — P. 479—484.
36. Thorpe L.W., Westlund K.N., Kochersperger L.M. et al. Immunocytochemical localization of monoamine oxidase A and B in human peripheral tissues and brain // *J. Histochem. Cytochem.* — 1987. — Vol. 35. — P. 23—32.
37. Tikkanen R., Sjoberg R.L., Ducci F. et al. Effects of MAOA-genotype, alcohol consumption, and aging on violent behavior // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* — 2009. — Vol. 33(3). — P. 428—423.
38. Tyndale R.F. Genetics of alcohol and tobacco use in humans // *Ann. Med.* — 2003. — Vol. 35(2). — P. 94—121.
39. Vandenberg D.J., Persico A.M., Hawkins A.L. et al. Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR // *Genomics*. — 1992. — Vol. 14. — P. 1104—1106.

**ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF POLYMORPHIC MARKERS
OF THE GENE ENZYME MONOAMINE OXIDASE WITH THE RISK OF CHRONIC ALCOHOLISM
IN REPUBLIC SAKHA (YAKUTIA)****GAREEVA A.E.**

PhD, Department of Human Genomics, Institute of Biochemistry and Genetics,
Ufa Scientific Center of Russian Academy of Sciences,
Ufa, 450054, Pr. Oktyabrya, 71; tel./fax (347)235-60-88, e-mail: annagareeva@yandex.ru

KAZANTSEVA A.V.

PhD, Department of Human Genomics, Institute of Biochemistry and Genetics,
Ufa Scientific Center of Russian Academy of Sciences,
Ufa, 450054, Pr. Oktyabrya, 71; tel./fax (347) 235-60-88, e-mail: kazantsa@mail.ru

KULICHKIN S.S.

PhD, Department of Molecular Genetics,
Yakut Scientific Center complex medical problems of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences,
Yakutsk, 677019, Sergelyakhskoe shosse 4, tel./fax (4112) 32-19-81, e-mail: ysc@sakha.ru

FEDOROVA S.A.

PhD, Head of Department of Molecular Genetics,
Yakut Scientific Center complex medical problems of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences,
Yakutsk, 677019, Sergelyakhskoe shosse 4, tel./fax (4112) 32-19-81, e-mail: ysc@sakha.ru

KHUSNUTDINOVA E.K.

Prof. Head of Department of Human Genomics, Institute of Biochemistry and Genetics,
Ufa Scientific Center of Russian Academy of Sciences,
Ufa, 450054, Pr. Oktyabrya, 71; tel./fax (347)235-60-88, e-mail: ekkh@anrb.ru

The present study aimed to carry out analysis of association of polymorphic loci *1460C>T* (*EcoRV*) and *LPR* of monoamine oxidase gene (*MAOA*) with alcoholism in two indigenous ethnic populations from Sakha Republic (Yakutia) and of polymorphic locus *rs1799836* гена *MAOB* in Yakut populations from SR (Ya). It was found that hemizygous genotype *MAOA*L* is a protective marker to alcoholism (OR=0,07) and hemizygous genotype *MAOA*H* of polymorphic locus *LPR* of *MAOA* gene in opposite associated with alcoholism in males of Evenkian ethnicity (OR=14,4). Allele *MAOA*T* of polymorphic locus *1460C>T* is associated with alcoholism, while *MAOA*C* is a protective marker in the whole female sample from Sakha Republic (Yakutia). Haplotype analysis revealed that haplotype *MAOA*H*T* is a marker of resistance to alcoholism in Yakuts (OR=0,0005) and in the whole sample of Yakuts and Evenki (OR=0,0005) from Sakha Republic (Yakutia).

Key words: alcoholism, monoamine oxidase A gene (*MAOA*), monoamine oxidase B gene (*MAOB*), genetic risk marker, genetic marker of resistance