

УДК 575.162:575.167:57.024

ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПА ПО ГЕНУ АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗЫ *ADH1B* НА УРОВЕНЬ БИОМАРКЕРА ЗЛОУПОТРЕБЛЕНИЯ АЛКОГОЛЕМ CDT

© 2024 г. А. А. Ким¹, А. С. Гуреев¹, А. В. Рубанович^{1, *}, С. А. Боринская^{1, **}

¹Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

*e-mail: rubanovich@vigg.ru

**e-mail: borinskaya@vigg.ru

Поступила в редакцию 30.07.2024 г.

После доработки 20.08.2024 г.

Принята к публикации 30.08.2024 г.

Проблема злоупотребления алкоголем актуальна для общественного здравоохранения и связана с сокращением продолжительности жизни, многочисленными заболеваниями, социальными и экономическими проблемами. Методы выявления индивидов, злоупотребляющих алкоголем, необходимы в клинической практике для определения стратегий профилактики и лечения и востребованы в судебно-медицинской экспертизе. Получение сведений путем опроса часто ведет к занижению доз потребляемого алкоголя, поэтому необходимы объективные лабораторные методы диагностики хронического злоупотребления алкоголем и острых алкогольных эксцессов. Одним из наиболее специфичных биомаркеров злоупотребления алкоголем является углевод-дефицитный трансферрин (CDT), представляющий собой изоформы трансферрина с пониженным количеством сиаловых остатков. CDT образуется за счет нарушения гликозилирования продуктами метаболизма этанола. Основной путь окисления экзогенного этанола — преобразование его в ацетальдегид под действием фермента алкогольдегидрогеназы *ADH1B*. В данном исследовании впервые показано, что у носителей аллеля *ADH1B*48His* (rs1229984) гена алкогольдегидрогеназы, ведущего к образованию ацетальдегида в более высоких концентрациях, повышен уровень CDT по сравнению с индивидами, не имеющими этого аллеля, при одинаковом уровне потребления алкоголя. Этот эффект необходимо учитывать в клинической и судебно-медицинской практике, а также в исследованиях эффектов потребления алкоголя с применением менделевской рандомизации по полиморфному локусу rs1229984.

Ключевые слова: биомаркеры злоупотребления алкоголем, углевод-дефицитный трансферрин, CDT, алкогольдегидрогеназа, ген *ADH1B*.

DOI: 10.31857/S0016675824120125 **EDN:** VZRIDW

Злоупотребление алкоголем порождает многочисленные социальные и экономические проблемы и представляет серьезную проблему общественного здравоохранения. В России это одна из основных причин снижения продолжительности жизни, особенно заметного у мужчин трудоспособного возраста [1, 2].

Определение индивидуального уровня потребления алкоголя необходимо при лечении алкогольной зависимости, при решении о возврате прав, изъятых за вождение в нетрезвом виде, перед некоторыми хирургическими операциями и в ряде других медицинских вмешательств, а также востребовано судебной медициной и криминалистической экспертизой. Уровень потребления, определенный путем опроса респондентов, не является достоверным. Показано, что при опросе респонденты занижают количество потребляемого

алкоголя более чем в два раза [3, 4]. Объективные данные об уровне потребления могут быть получены при использовании биомаркеров, отражающих количество алкоголя, потребленного за тот или иной период. К прямым биомаркерам относится содержание этанола в крови, выдыхаемом воздухе и моче, а также продукты метаболизма алкоголя, такие как ацетальдегид (составляет 95–98% среди метаболитов этанола), этилглюкуронид (< 0.2%), этилсульфат (< 0.1%), фосфатидилэтанол и другие. Однако время, в течение которого можно обнаружить их следы в биологических жидкостях, составляет немногим более суток после потребления умеренных доз алкоголя, и только фосфатидилэтанол может быть обнаружен на протяжении более длительного времени [5]. Наиболее часто используемые непрямые биомаркеры злоупотребления алкоголем — ферменты печени

аланин-аминотрансфераза (ALT), аспарагин-аминотрансфераза (AST), гамма-глутамил трансфераза (GGT, более специфичен, чем первые два), средний объем эритроцитов (MCV) и углевод-дефицитный трансферрин (CDT) [5]. Указанные биомаркеры имеют повышенный уровень при злоупотреблении алкоголем, который сохраняется на протяжении недель. Но их повышение может быть вызвано и иными причинами, такими как панкреатит, холецистит, цирроз печени, вирусные гепатиты, анемия и ряд других заболеваний, а также прием некоторых лекарственных препаратов.

Из перечисленных биомаркеров наибольшей чувствительностью и специфичностью обладает биомаркер CDT, определяемый стандартно в сыворотке крови [6]. Трансферрин переносит железо и является гликопротеидом, имеющим два сайта N-гликозилирования, олигосахариды в которых несут в преобладающей изоформе трансферрина 4 сиаловых остатка. Злоупотребление алкоголем приводит к нарушению гликозилирования и снижению количества сиаловых остатков на трансферрине с образованием углевод-дефицитных изоформ (CDT). CDT был случайно открыт в 1976 г. неврологом Х. Стиблер при обследовании пациентов, часть из которых злоупотребляла алкоголем и имела измененную структуру трансферрина — меньшее количество сиаловых остатков [7]. В норме в сыворотке крови преобладает тетрасиалотрансферрин (~80%) в сочетании с другими изоформами — пентасиало- (~14%), трисиало- (~4%), дисиало- (~1%) и гексасиалотрансферрин (~1%) [8].

Как было показано, при потреблении алкоголя на уровне 40–60 г в день в течение 1–2 недель происходит нарушение гликозилирования, и трансферрин теряет сиализацию, образуя углевод-дефицитные изоформы с двумя сиаловыми остатками, реже с другим количеством вплоть до полного отсутствия (асиалотрансферрин) [5, 9, 10]. Нарушение сиализации трансферрина связано с ингибированием ферментов, участвующих в гликозилировании этанолом и продуктами его метаболизма, в первую очередь ацетальдегидом [11, 12]. Повышение уровня CDT, согласно ряду работ, выше 1.3% указывает на злоупотребление алкоголем [6, 13]. Однако рабочая группа по стандартизации измерения CDT при Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины (IFCC WG-CDT) указывает, что верхней границей нормы следует считать 1.7% CDT [10].

Экзогенный этанол метаболизируется в основном алкогольдегидрогеназой ADH1B. Замена нуклеотида в полиморфном локусе rs1229984 гена *ADH1B* соответствует двум аллелям, определяющим различия в активности фермента и скорости образования ацетальдегида. Аллель *ADH1B*48Arg* (rs1229984-G) преобладает у индивидов

европейского происхождения, тогда как аллель *ADH1B*48His* (rs1229984-A), определяющий более высокую активность фермента и образование ацетальдегида в более высоких концентрациях, распространен в Восточной и Юго-Восточной Азии [14]. Частота аллеля *ADH1B*48His* у русских составляет 5–7%, а частота носителей этого аллеля, соответственно, 10–12% [14]. Мы предположили, что более высокие концентрации ацетальдегида у носителей аллеля *ADH1B*48His* могут влиять на уровень образования CDT, модулируя влияние потребляемого этанола.

В настоящей статье мы проверили эту гипотезу и подтвердили ее, сравнив уровень CDT у русских мужчин — носителей разных аллелей, с известным уровнем потребления алкоголя. Носители аллеля *ADH1B*48His* имеют повышенный уровень CDT по сравнению с теми, кто этого аллеля не имеет, при одинаковом уровне потребления алкоголя. Такой эффект показан впервые.

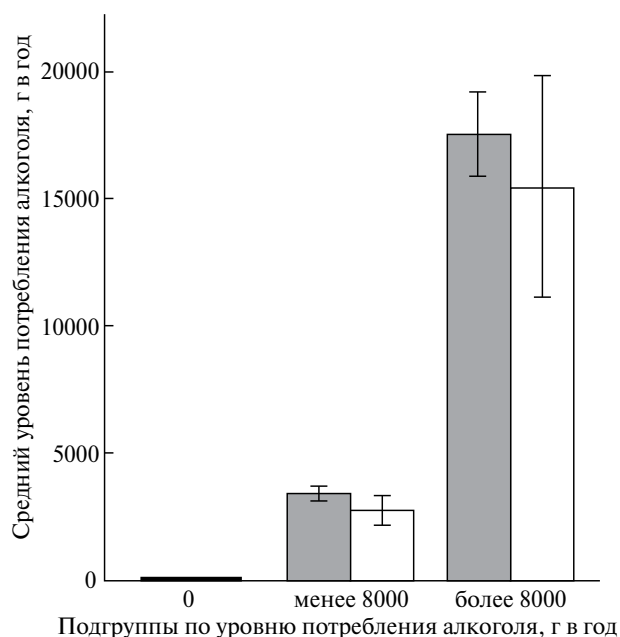
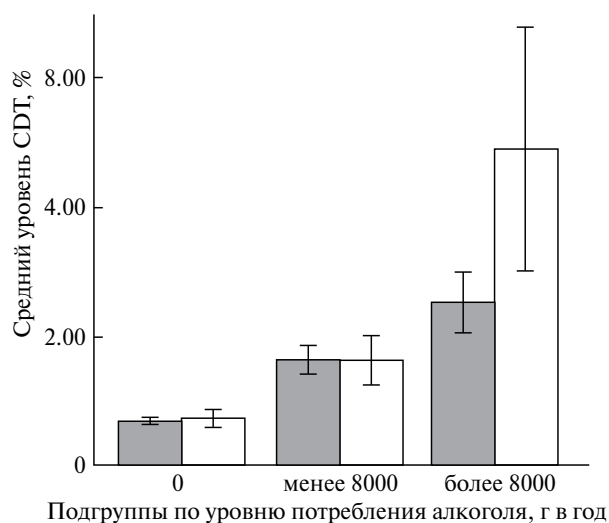
Материалом для анализа послужили данные Ижевского исследования семей [1, 2] об уровне CDT у 642 русских мужчин [15] в возрасте от 22 до 59 лет с известными генотипами по полиморфизму rs1229984 гена *ADH1B* [16, 17]. Статистические вычисления и визуализация данных проводились с использованием пакета программ SPSS v.19. Для сравнений различий количественных признаков в подгруппах использовалась непараметрическая статистика Манна — Уитни. Разброс данных на рисунках охарактеризован удвоенной ошибкой среднего (\pm SE).

Средний уровень CDT равномерно возрастает в подгруппах с увеличивающимся уровнем потребления алкоголя. Корреляция по Пирсону для выборки в целом составила 0.298 при $p < 0.0001$. Для носителей аллеля *ADH1B*48His* эта корреляция была существенно выше: 0.601 при $p < 0.0001$. В исследованной выборке (642 русских мужчин) 68 человек (10.6%) являются гетерозиготными носителями аллеля *ADH1B*48His*. Мужчины-носители аллеля *ADH1B*48His* потребляют алкоголь в среднем на 17–20% меньше, чем обладатели генотипа *ADH1B*Arg/Arg* (из-за неприятных симптомов, связанных с повышенным уровнем ацетальдегида после приема алкоголя) [16]. Для оценки уровня CDT в подгруппах с разным уровнем потребления выборка была разделена на три подгруппы — трезвенники (не потребляли алкоголь в течение года перед исследованием), потреблявшие менее 8000 г в год в пересчете на этанол (эквивалентно потреблению одной бутылки водки в неделю) и потреблявшие более 8000 г этанола в год (табл. 1).

На рис. 1 представлен уровень потребления алкоголя обладателями разных генотипов по гену *ADH1B* в изученной выборке, на рис. 2 — уровень CDT в тех же подгруппах. Носители аллеля

Табл. 1. Распределение мужчин в подгруппах по уровню потребления алкоголя

Уровень потребления алкоголя, г в год	Генотип по <i>ADH1B</i> (%)		Всего
	<i>Arg/Arg</i>	<i>Arg/His</i>	
0	76 (91.6)	7 (8.4)	83
Менее 8000	329 (88.4)	43 (11.6)	372
Более 8000	169 (90.4)	18 (9.6)	187
Всего:	574 (89.4)	68 (10.6)	642

Рис. 1. Уровень потребления алкоголя в зависимости от генотипа. Серые столбики — носители генотипа *ADH1B*Arg/Arg*, белые — *ADH1B*Arg/His*.Рис. 2. Уровень CDT в зависимости от генотипа по *ADH1B* в подгруппах с разным уровнем потребления алкоголя. Серые столбики — носители генотипа *ADH1B*Arg/Arg*, белые — *ADH1B*Arg/His*.

*ADH1B*48His* в подгруппе трезвенников имеют незначимо более высокий уровень CDT, чем обладатели генотипа *Arg/Arg* — 0.70 и 0.61 соответственно. В подгруппе потребляющих менее 8000 г в год носители аллеля *ADH1B*48His* потребляют в среднем на 20% алкоголя меньше (2741 г в год), чем не имеющие этого аллеля мужчины (3398 г в год). Эти различия в нашей выборке статистически незначимы. Согласно опубликованным данным по 56 исследованиям носители аллеля *ADH1B*48His* потребляют в среднем на 17.2% алкоголя меньше (95%ДИ 15.6–18.9%), чем не имеющие этого аллеля [17]. Поэтому можно полагать, что различия не случайны, а отражают общую тенденцию, не достигая статистической значимости из-за недостаточного размера выборки. В нашей выборке эти различия не были значимыми из-за недостаточной мощности теста (для мощности 80% необходим общий объем выборки 2880 человек). Однако средний уровень CDT (1.60 и 1.59%) одинаков у носителей обоих генотипов.

В подгруппе с высоким уровнем потребления алкоголя носители аллеля *ADH1B*48His* потребляют в среднем на 12% меньше алкоголя (15452 г в год), чем те, у кого этого аллеля нет (17557 г в год). Однако уровень CDT у носителей аллеля *ADH1B*48His* и в этой подгруппе почти в два раза выше — 4.88%, по сравнению с 2.51% у не имеющих данного аллеля ($p = 0.003$ по критерию Манна — Уитни). Полученные данные указывают, что у носителей данного аллеля завышен уровень CDT, причем тем больше, чем выше уровень потребления алкоголя. Аллель *ADH1B*48His* не является редким — доля его носителей составляет среди русских 10–12%, в населении Кавказа — 20–25%, а в Южной Сибири (алтайцы, тувинцы, буряты) — до 40–50% [14]. Поэтому повышенный уровень CDT у носителей аллеля *ADH1B*48His* необходимо учитывать в экспертной и клинической практике.

Таким образом, в проведенном нами исследовании впервые показано, что уровень используемого в клинической и судебно-медицинской практике биомаркера злоупотребления алкоголем CDT у мужчин-носителей аллеля *ADH1B*48His* гена алкогольдегидрогеназы повышен по сравнению с теми, кто не имеет этого аллеля. Повышение тем больше, чем выше доза потребляемого алкоголя.

Можно предполагать, что эффект опосредован нарушением гликозилирования из-за более высокой концентрации ацетальдегида, образующегося у носителей аллеля *ADH1B*48His* после приема алкоголя. В результате при определении уровня CDT у носителей данного аллеля, не злоупотребляющих алкоголем, могут быть получены ложнопозитивные результаты и ошибочно диагностировано злоупотребление. Этот эффект необходимо учитывать не только в клинической практике и судебно-медицинской экспертизе, но и в исследованиях, в которых влияние потребления алкоголя на здоровье и поведение изучается с применением менделевской рандомизации по полиморфному локусу *rs1229984 ADH1B*48His*.

Метод менделевской рандомизации используется в обсервационных эпидемиологических исследованиях для формирования рандомизированных выборок, отличающихся только по изучаемому параметру [18, 19]. В качестве инструмента рандомизации используется выделение подгрупп по генетическим вариантам, тесно связанным с изучаемым фактором. Проблемой таких исследований является множество конфаундеров, связанных с образом жизни и иными параметрами, которые приводят к тому, что рандомизированные подгруппы, например, с разным потреблением алкоголя отличаются не только уровнем потребления, но и социально-экономическим статусом и многими другими характеристиками, что затрудняет выявление причинно-следственных связей.

Для исследования влияния алкоголя на здоровье и поведение в качестве инструмента рандомизации используют варианты гена алкогольдегидрогеназы, так как надежно показано сниженное потребление алкоголя у носителей аллеля *ADH1B*48His* [17, 20]. Эффект влияния генотипа по *ADH1B* на уровень CDT при высоком уровне потребления алкоголя обнаружен нами впервые и требует подтверждения на независимой сформированных выборках большего объема с разным уровнем потребления алкоголя. Если бы аллель *ADH1B*48His* воздействовал на уровень CDT только путем снижения количества потребляемого алкоголя, то у носителей этого аллеля уровень CDT был бы ниже, чем у не имеющих его индивидов. Но нарушение гликозилирования под действием усиленного образования ацетальдегида после приема этанола дает более сильный эффект, чем снижение уровня потребления алкоголя, в результате итоговый эффект оказывается противоположным; и уровень CDT у носителей аллеля *ADH1B*48His* повышен. Нарушение гликозилирования под действием ацетальдегида касается не только трансферрина, но и иных гликопротеинов, например, аполипопротеина Е [11], и может затрагивать различные процессы. Обнаруженный нами эффект повышения уровня CDT у носителей аллеля *ADH1B*48His* имеет

фундаментальное значение для исследований влияния алкоголя на здоровье и другие фенотипические признаки, а также важен для применения в клинической и судебно-медицинской практике при выявлении лиц, злоупотребляющих алкоголем.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 122022600161-3).

Исследование одобрено Этическим комитетом Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН 15.07.2024, протокол № 23.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие. Все обследованные — совершеннолетние.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреев Е.М., Кирьянов Н.А., Леон Д. и др. Злоупотребление алкоголем и преждевременная смертность в России на примере Ижевска // Наркология. 2008. № 7. С. 38–52.
2. Leon D.A., Saburova L., Tomkins S. et al. Hazardous alcohol drinking and premature mortality in Russia: A population based case-control study // Lancet. 2007. V. 369. № 9578. P. 2001–2009. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60941-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60941-6)
3. Midanik L.T. Validity of self-reported alcohol use: A literature review and assessment // Br. J. Addict. 1988. V. 83. № 9. P. 1019–1030. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.1988.tb00526.x>
4. Немцов А.В., Андриенко Ю.В. Самоотчеты населения России о потреблении алкоголя // Наркология. 2007. № 5. С. 58–61.
5. Jones A.W. Brief history of the alcohol biomarkers CDT, EtG, EtS, 5-HTOL, and Peth // Drug Test Anal. 2024. V. 16. № 6. P. 570–587. <https://doi.org/10.1002/dta.3584>
6. Брюн Е.А., Мяжкова М.А., Сокольников Е.И. и др. Методика диагностического тестирования на предмет хронического злоупотребления алкоголем. Методические рекомендации. № 16. М.: 2011. 40 с.
7. Stibler H., Kjellin K.G. Isoelectric focusing and electrophoresis of the CSF proteins in tremor of different origins // J. Neurol. Sci. 1976. V. 30. P. 269–285. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(76\)90133-7](https://doi.org/10.1016/0022-510x(76)90133-7)

8. Bergström J.P., Helander A. Influence of alcohol use, ethnicity, age, gender, BMI, and smoking on the serum transferrin glycoform pattern: Implications for use of carbohydrate-deficient transferrin (CDT) as alcohol biomarker // Clin. Chim. Acta. 2008. V. 388. № 1–2. P. 59–67.
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2007.10.011>
9. Stibler H. Carbohydrate-deficient transferrin in serum: A new marker of potentially harmful alcohol consumption reviewed // Clin. Chem. 1991. V. 37. № 12. P. 2029–2037.
10. Helander A., Wielders J., Anton R. et al. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Working Group on Standardisation of Carbohydrate-Deficient Transferrin (IFCC WG-CDT). Reprint of standardisation and use of the alcohol biomarker carbohydrate-deficient transferrin (CDT) // Clin. Chim. Acta. 2017. V. 467. P. 15–20.
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2017.03.018>
11. Lakshman M.R., Rao M.N., Marmillot P. Alcohol and molecular regulation of protein glycosylation and function // Alcohol. 1999. V. 19. № 3. P. 239–247.
[https://doi.org/10.1016/s0741-8329\(99\)00041-5](https://doi.org/10.1016/s0741-8329(99)00041-5)
12. Flahaut C., Michalski J.C., Danel T. et al. The effects of ethanol on the glycosylation of human transferrin // Glycobiology. 2003. V. 13. № 3. P. 191–198.
<https://doi.org/10.1093/glycob/cwg016>
13. Bortolotti F., Sorio D., Bertaso A., Tagliaro F. Analytical and diagnostic aspects of carbohydrate deficient transferrin (CDT): A critical review over years 2007–2017 // J. Pharmaceutical and Biomed. An. 2018. V. 147. P. 2–12.
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.09.006>
14. Borinskaya S., Kal'ina N., Marusin A. et al. Distribution of alcohol dehydrogenase *ADH1B**47His allele in Eurasia // Am. J. Hum. Genet. 2009. V. 84. № 1. P. 89–92.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2008.12.007>
15. McDonald H., Borinskaya S., Kiryanov N. et al. Comparative performance of biomarkers of alcohol consumption in a population sample of working-aged men in Russia: The Izhevsk Family Study // Addiction. 2013. V. 108. № 9. P. 1579–1589.
<https://doi.org/10.1111/add.12251>
16. Боринская С.А., Ким А.А., Рубанович А.В., Янковский Н.К. Влияние аллелей гена *ADH1B* и уровня образования на характер потребления алкоголя у российских мужчин // Acta Naturae. 2013. Т. 5. № 3 (18). С. 103–110.
17. Holmes M.V., Dale C.E., Zuccolo L. et al. Association between alcohol and cardiovascular disease: Mendelian randomisation analysis based on individual participant data // BMJ. 2014. V. 349. P. 1–16.
<https://doi.org/10.1136/bmj.g4164>
18. Sanderson E., Glymour M.M., Holmes M.V. et al. Mendelian randomization // Nat. Rev. Meth. Primers. 2022. V. 2. P. 6.
doi: 10.1038/s43586-021-00092-5
19. Skrivankova V.W., Richmond R.C., Woolf B.A. et al. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology using mendelian randomisation (STROBE-MR): Explanation and elaboration. BMJ. 2021. V. 375.
doi:10.1136/bmj.n2233
20. Jennings M.V., Martínez-Magaña J.J., Courchesne-Krak N.S. et al. A phenome-wide association and Mendelian randomisation study of alcohol use variants in a diverse cohort comprising over 3 million individuals // EBioMedicine. 2024. V. 103.
doi: 10.1016/j.ebiom.2024.105086

Effect of Genotype at *ADH1B* Alcoholdehydrogenase Gene on Level of CDT Alcohol Abuse Marker

A. A. Kim¹, A. S. Gureev¹, A. V. Rubanovich^{1, *}, S. A. Borinskaya^{1, **}

¹*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia*

**e-mail: rubanovich@vigg.ru*

***e-mail: borinskaya@vigg.ru*

Alcohol abuse poses an important challenge to public health and is associated with a shorter lifespan, numerous disorders, and social and economic problems. Methods to identify heavy drinkers are necessary for choosing the prevention and treatment strategies in medicine and are in demand in forensics. Alcohol consumption is often underestimated in self-reported data, and objective laboratory tests are therefore essential to employ in diagnosing chronic alcohol abuse and acute alcoholic excess. Carbohydrate-deficient transferrin (CDT) is one of the most specific biomarkers of alcohol abuse. CDT is a set of transferrin isoforms with a lower content of sialic acid residues and is found when glycosylation is impaired by ethanol metabolites. Oxidation of exogenous ethanol to acetaldehyde by alcohol dehydrogenase 1B (*ADH1B*) is a major pathway of ethanol metabolism. This study showed for the first time that carriers of the allele *ADH1B*48His* (rs1229984), which determines acetaldehyde production to higher concentrations, have greater CDT levels as compared with noncarriers, alcohol consumption being the same. The difference should be taken into account in medicine, forensics, and studies where Mendelian randomization with respect to the polymorphic locus rs1229984 is performed to address the effects of drinking alcohol.

Keywords: alcohol abuse biomarkers, carbohydrate-deficient transferrin, CDT, alcohol dehydrogenase, *ADH1B* gene.