

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В МЕТАБОЛИЗМЕ ЭТАНОЛА, У ЛИЦ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ КАРДИОВАСКУЛЯРНОГО РИСКА

Новиков Д.Г., Индутный А.В., Ходосевич А.А., Горбунова Л.В., Борзенок Г.А., Самусева Н.Л.

ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Омск, e-mail: novikov.dm.omsk@gmail.com

Цель исследования: оценить распространенность и значимость определения полиморфизма генов ферментов, участвующих в метаболизме этанола, у лиц с различным уровнем кардиоваскулярного риска. Проведено генотипирование ферментов биотрансформации этанола - алкогольдегидрогеназы I, альдегиддегидрогеназы 2, цитохром P450 2E1 у лиц с разным уровнем кардиоваскулярного риска, проживающих на территории Западной Сибири (Омский регион). Установлено, что носительство аллеля ADH1B*47Arg ассоциировано с повышенным риском чрезмерного потребления спиртных напитков, а носительство аллеля ADH1B*47His и генотипа ADH1B*47His/His несет протективный эффект в отношении потребления этанола. Исследование полиморфизмов генов CYP2E1 и ALDH2 показало, что носительство аллеля CYP2E1*1293C у жителей Западной Сибири не ассоциировано с высоким потреблением спиртных напитков, а аллель ALDH2*487Lys не встречался на данной территории. Исследованные полиморфные гены ферментов биотрансформации этанола не были ассоциированы с уровнем кардиоваскулярного риска, что не дает возможности выделения групп повышенного сердечно-сосудистого риска на основе генетической предрасположенности к чрезмерному потреблению спиртных напитков.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, кардиоваскулярный риск, факторы риска злоупотребления алкоголем.

GENE POLYMORPHISM OF ENZYMES INVOLVED IN THE METABOLISM OF ETHANOL IN PEOPLE WITH DIFFERENT CARDIOVASCULAR RISK LEVELS

Novikov D.G., Indutny A.V., Khodosevich A.A., Gorbunova L.V., Borzenok G.A., Samuseva N.L.

Omsk State Medical University Ministry of Public Health, Omsk, e-mail: novikov.dm.omsk@gmail.com

To evaluate the prevalence and significance of determining gene polymorphism of enzymes involved in the metabolism of ethanol, in individuals with different cardiovascular risk levels. In subjects with different levels of cardiovascular risk living in the territory of Western Siberia (Omsk region) ethanol biotransformation enzymes - alcohol dehydrogenase I, aldehyde dehydrogenase 2, cytochrome P450 2E1 were genotyping. It has been established that the carriers of the allele ADH1B * 47Arg associated with an increased risk of excessive alcohol consumption, and allele carrier ADH1B * 47His and genotype ADH1B * 47His / His carries a protective effect on high ethanol consumption. The study of polymorphisms of genes CYP2E1 and ALDH2 showed that allele carriers of CYP2E1 * 1293C at inhabitants of Western Siberia is not associated with a high intake of alcoholic beverages, and allele ALDH2 * 487Lys not met in a given population. Studied polymorphic genes of enzymes of biotransformation of ethanol were not associated with the level of cardiovascular risk, which makes it impossible to identify groups of high cardiovascular risk based on genetic predisposition to the excessive consumption of alcoholic beverages.

Keywords: genetic polymorphism, cardiovascular risk, alcohol abuse risk factors.

В течение последних десятилетий сердечно-сосудистые заболевания сохраняют ведущее место в общей структуре причин смертности и инвалидизации трудоспособного населения [1]. Среди причин высокой смертности значительное место занимает отсутствие достаточно эффективных прогностических мероприятий по выявлению и коррекции многочисленных факторов, способствующих развитию и прогрессированию кардиоваскулярной патологии. К числу распространенных социально-бытовых факторов

кардиоваскулярного риска можно отнести хроническую алкогольную интоксикацию [2; 3]. Возникновение и характер течения алкоголизма зависят от многих факторов как биологической, так и социальной природы. Следует отметить, что ни один из них не является достаточной причиной или единственным условием возникновения алкоголизма. Подверженность злоупотреблению алкоголем проявляется как вероятность развития заболевания, которая детерминирована всей совокупностью внешних и внутренних факторов. Среди многочисленных факторов может рассматриваться различие в индивидуальных спектрах ферментов биотрансформации этанола, таких как алкогольдегидрогеназа, альдегиддегидрогеназа и цитохром P4502E1 [5]. Полиморфизм вышеперечисленных генов может обуславливать индивидуальные особенности биотрансформации этанола и, как следствие, обуславливать различный уровень его употребления.

Цель исследования: оценить распространенность и значимость определения полиморфизма генов ферментов, участвующих в метаболизме этанола, у лиц с различным уровнем кардиоваскулярного риска.

Материал и методы

В исследовании приняли участие 85 пациентов в возрасте от 45 до 60 лет, обратившихся за лабораторно-медицинскими услугами в Академический центр лабораторной диагностики Омского государственного медицинского университета. От всех пациентов было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Все участники исследования отвечали на вопросы специально разработанной анкеты (состоящей из комбинации модифицированных опросников AUDIT, CAGE, содержащих вопросы о наиболее распространенных алкогольных напитках), позволяющей выявить проблемное употребление спиртных напитков, выявить факторы риска реализации крупных кардиоваскулярных событий на основе алгоритма SCORE и собрать сведения, необходимые для корректной интерпретации лабораторной информации (касающиеся вопросов реализации преаналитического этапа лабораторного исследования).

В зависимости от количества и кратности потребления алкоголя все пациенты были разделены на 2 группы:

- группа НП, пациенты, употребляющие алкоголь в небольшом количестве - 1 раз в месяц или реже в количестве 1–2 drink за один прием (1 drink соответствует 10 г абсолютного спирта);

- группа УиВП, пациенты с умеренным потреблением спиртных напитков (2–4 раза в месяц в количестве 3–6 drink за один прием) и высоким потреблением алкоголя (2–3 раза в неделю в количестве >7 drink за один прием).

Общее количество участников исследования в группе НП составило 51 человек, в группе УиВП – 34 человека.

У пациентов проводили взятие образцов крови с соблюдением актуальных требований к реализации преаналитического этапа лабораторного исследования. С использованием биохимического анализатора Konelab 20 (ThermoFisher Scientific, Финляндия) определяли концентрацию холестерина тест-системой компании Human, Германия.

По результатам анкетирования и определения уровня общего холестерина у участников исследования рассчитывали суммарный кардиоваскулярный риск по шкале SCORE для стран с высоким риском сердечно-сосудистых заболеваний.

Полиморфизм генов ферментов, участвующих в биотрансформации этанола, исследовали методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции с помощью диагностических наборов реагентов «SNP-экспресс» («Литех», г. Москва). Исследовали полиморфные локусы генов алкогольдегидрогеназы I (ADH1B Arg47His, rs1229984), альдегиддегидрогеназы 2 (ALDH2 Glu487Lys, rs671), микросомальной монооксигеназы - цитохрома P450 2E1 (CYP2E1 G1293C, rs3813867). Регистрацию результатов гелевого электрофореза проводили с помощью устройства гель-документирования BioVision (Vilber Lourmat, Франция).

Статистическую обработку полученных данных проводили стандартными методами с помощью пакета STATISTICA 8.0.360.0. Различия между значениями показателей в сравниваемых группах оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Для определения риска высокого употребления алкоголя у носителей определенных аллелей и генотипов вычисляли отношение шансов (OR) с доверительным интервалом (CI). Для вычисления данных показателей использовали online калькулятор (Helmholtz Center, Munich).

Результаты и обсуждение

При анализе полиморфного локуса ADH1B было выявлено, что в группе НП гомозиготный по аллелю ADH1B*47Arg генотип встречался реже, чем в группе пациентов УиВП: у 80,4% и 94,1% обследуемых, соответственно (табл. 1). Гетерозиготный генотип в группе умеренно и высокопьющих пациентов встречался реже (5,9%) по сравнению с группой НП (15,7%). Гомозиготный по полиморфному аллелю генотип (ADH1*47His) встречался только в группе НП у 3,9%. ADH I является основным ферментом печени, катализирующим окисление большей части поступившего в организм этанола до ацетальдегида. Фенотипические особенности носительства аллелей ADH I достаточно хорошо изучены в европейских популяциях [5]. Известно, что ADH I, содержащая His

(аллель ADH1B*47His), в 100 раз более активна, чем вариант, несущий Arg (аллель ADH1B*47Arg), и способствует более быстрому окислению этанола до ацетальдегида [5].

Таблица 1

Результаты генотипирования полиморфных локусов генов биотрансформации этанола

Генотипы и аллели	Частота, %	
	Группа НП, n= 34	Группа УиВП, n= 51
ADH1B		
Arg/Arg	80,4	94,1
Arg/His	15,7	5,9
His/His	3,9	0
Arg	88,3	97,0
His	11,7	3,0
ALDH2		
Glu/Glu	100	100
Glu/Lys	0	0
Lys/Lys	0	0
Glu	100	100
Lys	0	0
CYP2E1		
G/G	94,1	82,4
G/C	5,9	17,6
C/C	0	0
G	97,0	91,2
C	3,0	8,8

Полученные значения отношения шансов и доверительного интервала для полиморфного аллеля ADH1B*47His в популяции жителей Западной Сибири свидетельствуют о наличии протективного эффекта данного аллеля в отношении чрезмерного потребления спиртных напитков ($p=0,040$) и согласуются с данными Tolstrup J.S. et al., показавшими протективный эффект данного аллеля в популяциях Северной Европы [8]. Вероятно, протективный эффект носительства полиморфного аллеля ADH1B*47His связан с авersiveй реакцией организма на прием этанола вследствие быстрого образования ацетальдегида [5].

Наоборот, значения отношения шансов и доверительного интервала для полиморфного аллеля ADH1B*47Arg свидетельствуют о наличии ассоциации данного аллеля с риском высокого и чрезмерного потребления спиртных напитков (табл. 2).

Таблица 2

Значения отношения шансов (OR) с доверительным интервалом (CI) для генотипов и аллелей гена ADH1B и CYP2E1

Аллель риска	Генотип/аллель	показатели		
		OR	CI	p
ADH1B				
His	[Arg]<->[His]	0,227	[0,049-1,050]	0,040
	[Arg Arg]<->[Arg His]	0,680	[0,024-19,340]	0,488
	[Arg Arg]<->[His His]	0,255	[0,012-5,506]	0,216
Arg	[His]<->[Arg]	4,400	[0,952-20,326]	0,040
	[His His]<->[Arg His]	3,122	[0,620-15,728]	0,151
	[His His]<->[Arg Arg]	3,916	[0,182-84,425]	0,216
CYP2E1				
C	[G]<->[C]	3,194	[0,668-15,263]	0,202
	[GG]<->[GC]	3,429	[0,692-16,977]	0,113
	[GG]<->[CC]	0,765	[0,015-39,574]	1,0
G	[C]<->[G]	0,313	[0,066-1,497]	0,202
	[CC]<->[GC]	3,800	[0,059-243,506]	1,0
	[CC]<->[GG]	1,308	[0,025-67,674]	1,0

Частота аллеля ADH1B*His в различных популяциях варьирует от более 70% у коренных народов Юго-Восточной Азии до 5–7% и ниже у народов Европы. У коренных народов Африки и Америки этот аллель практически отсутствует [6]. У жителей Западной Сибири встречается гомозиготный генотип по аллелю ADH1*47His у лиц, не употребляющих этанол или употребляющих в небольших количествах. По данным, опубликованным Borinskaya et al., в 2009 году данный генотип не был обнаружен у жителей Сибири, считающих себя русскими [5], что не согласуется с данными, полученными нами. В то же время Borinskaya et al. отмечают, что у других народностей, проживающих на территории Западной и Восточной Сибири (сибирские татары, тувинцы, буряты), данный генотип встречается. Ряд исследователей предполагает, что частота аллеля ADH1B*His возросла под действием позитивного отбора [6].

При исследовании ацетальдегиддегидрогеназы 2 (ALDH2) установлено, что у всех участников исследования как группы НП, так и группы УиВП встречается только генотип ALDH2*Glu/Glu (табл. 1). Фермент, образующийся у гомозиготного индивида по аллелю ALDH2*487Glu, обладает максимальной активностью, в результате образующийся токсичный ацетальдегид очень быстро превращается в нетоксичный ацетат. Генотип ALDH2*Lys/Lys ассоциирован с возникновением сильнейшей аверсивной реакции после принятия этанола, вследствие повышенного уровня ацетальдегида, считается протективным к развитию зависимости от алкоголя [4]. Вопреки ожиданиям, в исследуемой когорте данный генотип не встречался (табл. 1), что более характерно для европейских популяций. Тогда как некоторые авторы отмечают, что в азиатских популяциях, в том числе среди выходцев из Юго-Восточной Азии, проживающих в Соединенных Штатах Америки, данный генотип достаточно широко распространен, с чем и связан меньший уровень потребления алкоголя среди данной группы лиц [9].

Роль цитохрома P450 2E1 (CYP2E1) в метаболизме этанола невелика, но существенно возрастает при избыточном его потреблении [4]. Роль CYP2E1 в адаптации организма к высоким концентрациям этанола связана со способностью катализировать последовательное окисление этанола в ацетальдегид и ацетат. В печени людей, злоупотребляющих алкоголем, обнаружено одновременное повышение уровня CYP2E1 и его мРНК. Предполагают, что малые дозы алкоголя повышают уровень CYP2E1 вследствие посттрансляционной стабилизации его молекулы, в то время как высокие дозы усиливают экспрессию CYP2E1 на уровне транскрипции [7].

В исследованной выборке пациентов гомозиготный генотип по аллелю CYP2E1*1293C, характеризующийся высокой транскрипционной и ферментативной активностью, не встречался. Однако гетерозиготный генотип встречался чаще в группе УиВП по сравнению с группой НП: в 15,8% и 5,9% соответственно (табл. 1). По некоторым данным [6], носительство CYP2E1*1293C ассоциировано с высоким риском злоупотребления алкоголем. В исследуемой выборке значения отношения шансов для данного полиморфного аллеля статистически незначимы на уровне значимости 5% (табл. 2).

В группе НП сердечно-сосудистый риск по шкале SCORE у 31,0% пациентов был оценен как низкий (<1%), у 65,1% - как умеренный ($\geq 1\%$ и <5%), у 3,9% - как высокий ($\geq 5\%$). Высокий риск по шкале SCORE был у 2 пациентов мужского пола в возрасте 63 и 65 лет, не употребляющих спиртные напитки. Высокий сердечно-сосудистый риск у данных пациентов был связан с особенностями возрастной стратификации по шкале SCORE, при которой в возрастных группах старше 60 лет риск смерти от сердечно-сосудистых событий априори считается высоким. В группе УиВП у 86,7% участников исследования риск оценен как

низкий, а у 13,3% как умеренный. Различий в распространенности полиморфных аллелей генов ADH1B Arg47His, ALDH2 Glu487Lys, CYP2E1 G1293C между группами пациентов с различным уровнем кардиоваскулярного риска выявлено не было ($p < 0,05$).

Заключение

Таким образом, с повышенным риском чрезмерного потребления алкоголя у населения юга Западной Сибири (Омский регион) ассоциировано носительство аллеля ADH1B*47Arg, а носительство аллеля ADH1B*47His и генотипа ADH1B*47His/His несет протективный эффект в отношении потребления этанола. Исследование полиморфизма генов CYP2E1 и ALDH2 показало, что носительство аллеля CYP2E1*1293C у жителей Западной Сибири не ассоциировано с высоким потреблением спиртных напитков, а аллель ALDH2*487Lys не встречался в данной популяции. Исследованные полиморфные гены ферментов биотрансформации этанола не были ассоциированы с уровнем кардиоваскулярного риска, что не дает возможности выделения групп повышенного риска на основе генетической предрасположенности к чрезмерному потреблению спиртных напитков.

Исследование проведено на базе центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России в рамках государственного задания Минздрава России по теме «Особенности реализации крупных кардиоваскулярных событий при злоупотреблении алкоголем: патохимические механизмы; клинико-лабораторные критерии риска, диагностики, мониторинга и прогноза развития патологии у жителей Западной Сибири» (регистрационный номер НИОКР: 115031760044).

Список литературы

1. Бритов А.Н. Национальные рекомендации по кардиоваскулярной профилактике / А.Н. Бритов, Ю.М. Поздняков // Приложение 2 к журналу «Кардиоваскулярная терапия и профилактика». – 2011. – Т. 10. – № 6. - С. 1-64.
2. Доценко Э.А. Смена парадигмы гиполипидемической терапии: от гиперхолестеринемии к высокому сердечно-сосудистому риску / Э.А. Доценко, М.В. Шолкова, Д.П. Саливончик // Медицинские новости. – 2015. – № 5. – С. 9–13.
3. Индутный А.В., Новиков Д.Г., Ходосевич А.А., Горбунова Л.В., Борзенко Г.А., Трофимович Н.А. Оценка кардиоваскулярного риска при различном уровне потребления алкоголя // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 2. - URL: http://www.science-education.ru/article_view?id=24386 (дата обращения: 22.04.2016).
4. Чоговадзе А.Г. Ассоциация полиморфизмов генов ADH1B, ALDH2 И CYP2E1 с развитием алкогольной зависимости и алкогольного цирроза печени / А.Г. Чоговадзе, Э.В. Генерозов, В.В. Николаева и др. // Наркология. – 2011. – Т. 10, № 1 (109). – С. 50-56.

5. Borinskaya S.A. The impact of ADH1B alleles and educational status on levels and modes of alcohol consumption in russian male individuals / S.A. Borinskaya, A.A. Kim, A.V. Rubanovich, N.K. Yankovsky // *Acta Naturae*. – 2013. – Vol. 5, № 3 (18). – P. 99-106.
6. Li H. Geographically separate increases in the frequency of the derived ADH1B*47His allele in eastern and western Asia / H. Li, N. Mukherjee, U. Soundararajan, Z. Tarnok, C. Barta, S. Khaliq, A. Mohyuddin, S.L. Kajuna, S.Q. Mehdi, J.R. Kidd, K.K. Kidd // *American journal of human genetics*. – 2007. – Vol. 81, № 4. – P. 842-846.
7. Sun F. Association of genetic polymorphisms of alcohol-metabolizing enzymes with excessive alcohol consumption in Japanese men / F. Sun, I. Tsuritani, R. Honda, Z.-Y. Ma, Y. Yamada // *Human genetics*. – 1999. - № 105. – P. 295-300.
8. Tolstrup J.S. Alcohol intake, alcohol dehydrogenase genotypes, and liver damage and disease in the Danish general population / J.S. Tolstrup, M. Grønbaek, A. Tybjaerg-Hansen, B.G. Nordestgaard // *The American journal of gastroenterology*. – 2009. – Vol. 104, № 9. – P. 2182-2188.
9. Wall T.L. Hangover symptoms in Asian Americans with variations in the aldehyde dehydrogenase (ALDH2) gene / T.L. Wall, S.M. Horn, M.L. Johnson, T.L. Smith, L.G. Carr // *Journal of studies on alcohol*. – 2000. – Vol. 61, № 1. – P. 13-17.