

УДК 575.174:015.03:22+577.151.645:152.1.11

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА ФЕРМЕНТОВ, МЕТАБОЛИЗИРУЮЩИХ ЭТАНОЛ, С РИСКОМ ФОРМИРОВАНИЯ КОРОНАРНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА

© 2007 г. А. В. Марусин, В. А. Степанов, М. Г. Спиридонова,
В. А. Харьков, Я. Р. Пельс, В. П. Пузырев

Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского научного центра
Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, Томск, 634050, e-mail: marussin@img.tsu.ru

Поступила в редакцию 11.01.2006 г.

Окончательный вариант получен 04.04.2006 г.

Изучено распределение аллелей и генотипов двух генов алкогольдегидрогеназ – *ADH1B* (полиморфизм *A/G* (*47His*) в 3-м экзоне), *ADH7* (полиморфизм *G/C* в 5-м интроне) и гена цитохром P450 2E1 (*CYP2E1*, полиморфизмы *G/C* в 5'-фланкирующем регионе и *T/A* в 6-м интроне) в выборках из русской популяции г. Томска: здоровые индивиды ($n = 125$) и больные с диагнозом “ишемическая болезнь сердца и коронарный атеросклероз” (КА, $n = 92$). В контрольной выборке частоты аллелей этих генов удовлетворяют равновесию Харди–Вайнберга и равновесию по сцеплению (гаметическому равновесию) для сочетаний пар генов, за исключением полиморфизмов гена *CYP2E1*, которые сцеплены. В общей контрольной выборке “мутантные” аллели *ADH1B*G* (*+MsI*), *CYP2E1*C2* (*+PstI*) и *CYP2E1*C* (*–DraI*) встречаются с низкой частотой (8.48 ± 1.86 , 1.20 ± 0.69 и $10.00 \pm 1.90\%$ соответственно). Полиморфизм гена *ADH7* характеризуется высоким уровнем гетерозиготности частота аллеля *ADH7*C* (*–StyI*) составила $44.58 \pm 3.21\%$. В группе больных КА обнаружена повышенная частота аллеля *C2* полиморфизма *CYP2E1 PstI* (\approx в 4 раза; $P = 0.043$), которая связана с более высокой транскрипционной и ферментативной активностью ($OR = 4.23$, 95% CI 1.03–20.01). Выявлена близкая к статистически значимой ассоциация генотипа *A1A2* полиморфизма *ADH1B MsI* со сниженным систолическим давлением ($P = 0.068$). Обнаружены эффекты взаимодействующих локусов *ADH7 StyI* и *CYP2E1 DraI* на диастолическое давление ($P = 0.029$) и на содержание липопротеидов высокой плотности ($P = 0.042$), а также влияние генотипа *A1A2* полиморфизма *ADH1B MsI* на пониженное содержание липопротеидов очень низкой плотности ($P = 0.045$), что обусловлено, вероятно, полифункциональностью этих ферментов и вовлеченностью во многие метаболические и свободно-радикальные процессы в организме.

По данным ВОЗ (2003 г.), в современном мире наиболее частой причиной смерти являются неинфекционные болезни. Свыше половины из них обусловлены сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ), включающими гипертензию, ишемическую болезнь сердца, цереброваскулярные заболевания (инсульт), периферические сосудистые заболевания, сердечную недостаточность, ревматизм сердца, врожденные пороки сердца, кардиомиопатию [1].

В течение продолжительного периода времени чрезмерное потребление алкоголя связывали с риском формирования ССЗ. Тем не менее в последнее время появились данные, что умеренное употребление алкоголя оказывает кардиопротекторное действие, в особенности против коронарной болезни сердца и повреждений вследствие ишемии [2]. У человека около 90% поступившего в организм этанола разлагается в печени по окислительному и неокислительному метаболическим путям [3]. Главными ферментами, метаболизирующими этанол, являются алкогольдегидрогеназы (ADH

[К. Ф. 1.1.1.1]), ацетальдегиддегидрогеназы (ALDH [К. Ф. 1.2.1.3]), цитохром P450 класса 2E1 (*CYP2E1* [К. Ф. 1.14.14.1]). Каталаза (CAT [К. Ф. 1.11.1.6]) и синтаза этиловых эфиров жирных кислот (FAEES [К. Ф. 2.3.1.85]) также вовлечены в окисление этанола, но играют меньшую роль [3]. Очевидно, что генетический полиморфизм этих ферментов влияет на скорость метаболизма этанола и заболевания, связанные с неумеренным употреблением алкоголя, а также на факторы, определяющие предрасположенность к ССЗ. Было обнаружено, что у японских мужчин, гомозиготных по аллелю “дикого” типа ADH I класса (*ADH1B*47Ala*; *ADH2*1*), наблюдается более сильная корреляция между артериальным давлением и еженедельным потреблением алкоголя по сравнению с гетеро- и гомозиготами по мутантному аллелю (*ADH1B*47His*; *ADH2*2*). Последние два изоэнзима имеют соответственно в 100 и 200 раз большую способность к окислению этанола по сравнению с гомодимером “дикого” типа [4, 5]. В то же время эти корреляции были сходны

Таблица 1. Полиморфизм генов этанолметаболизирующих ферментов, включенных в исследование

Ген	Хромосомная локализация	Полиморфизм	Мутантный аллель	Функция	Экспрессия	Литературные источники
<i>CYP2E1</i>	10q24.3-qter	-/+ <i>PstI</i> в 5'-UTR (-1293); rs 3813867; <i>G/C</i>	<i>CYP2E1*5B</i> ; <i>C2 (+PstI)</i>	Этанолиндуцибельная микросомальная монооксигеназа, детоксикация ксенобиотиков, окисление этанола	Печень, немного в почках, слизистой оболочке носа, легких, кишечнике и лимфоцитах	10–13
		+/- <i>DraI</i> в 6-м интроне (7632); rs 6413432; <i>T/A</i>	<i>CYP2E1*6</i> ; <i>C (-DraI)</i>			
<i>ADH1B</i>	4q21–23	-/+ <i>MspI</i> в 3-м экзоне; rs 1229984; <i>A/G</i>	<i>ADH1B*47His</i> ; <i>A2 (+MspI)</i>	Окисление этанола и других алифатических и ароматических спиртов	Печень, мало в других тканях	14–18
<i>ADH7</i>	4q21–23	+/- <i>SlyI</i> в 5-м интроне; rs 1154458; <i>G/C</i>	<i>ADH7*B2 (-SlyI)</i>	Окисление ретинола, этанола при высоких его концентрациях, смеси спиртов со средней длиной цепи и ароматических спиртов	Кишечник и пищевод	14, 18–21

по величине для трех генотипов *ALDH2* – гена митохондриальной ацетальдегиддегидрогеназы. Гомо- и гетерозиготные носители мутантных аллелей (*ALDH2*2*) имеют приблизительно в 19 и 6 раз (соответственно) большую концентрацию ацетальдегида, соответственно, по сравнению с гомозиготными носителями аллеля “дикого” типа (*ALDH2*1*). Эти данные, возможно, свидетельствуют, что повышение кровяного давления в большей мере зависит от концентрации этанола, а не ацетальдегида в крови [5]. Hashimoto с соавт. [6] также была выявлена связь генотипов *ADH1B* с вариацией артериального давления, концентрацией триглицеридов и мочевины в сыворотке крови у японцев, употребляющих умеренные или значительные количества алкоголя (>300 г. в неделю), у которых рассматриваемые показатели находились выше 2/3 процентиля (в верхней 1/3 значений вариационных рядов признаков). Таким образом, в этой работе впервые была установлена ассоциация гомозиготных носителей аллеля *ADH1B*47His* с факторами риска развития коронарной болезни сердца [6]. Механизмами, определяющими ассоциацию умеренного потребления алкоголя с пониженным риском коронарной болезни сердца, могут являться благоприятные эффекты этанола на содержание холестерина в липопротеидах высокой и низкой плотности, восприимчивость к инсулину, агрегацию тромбоцитов, коагуляцию крови и фибринолиз. Алкоголь повышает концентрацию субфракции липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), что обеспечивает защиту от коронарной болезни сердца, а также он может оказывать антитромбообразующий

эффект [7]. Однако алкоголь может оказывать и неблагоприятное действие, повышая артериальное давление, концентрацию триглицеридов и мочевины [6].

В работе Whitfield с соавт. [8] не обнаружено эффектов влияния генотипов *ADH1B* и *ADH1C* на потребление алкоголя и на содержание ЛПВП в плазме крови, хотя концентрации всех измеренных компонентов ЛПВП повышались с уровнем потребления алкоголя. В настоящее время не существует достаточных доказательств связи генетического полиморфизма этанолметаболизирующих ферментов с риском развития ССЗ, а также однозначных свидетельств влияния полиморфизма ферментов, метаболизирующих этанол, на изменчивость количественных признаков, определяющих подверженность к этим заболеваниям.

Ферменты цитохром Р-450, в частности *CYP2E1*, представленные в печени и стенке сосудов, способны к окислению липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и, следовательно, вовлечены в атерогенез [8]. Краткая характеристика генов, включенных в настоящее исследование, представлена в табл. 1. В совокупности *ADH* являются полифункциональными ферментами, участвующими в синтезе холестерина, желчных кислот, метаболизме ретиноидов, нейромедиаторов, стероидных гормонов [14]. Семь генов *ADH* образуют кластер протяженностью около 380 тпн, локализованный на четвертой хромосоме в области q21–23 [15]. Полиморфизм *ADH1B*47His* наиболее изучен, связан распространенностью алкоголизма в популяциях и вызываемыми алкоголем заболеваниями [16, 17].

Задача настоящего исследования – оценка риска формирования коронарного атеросклероза в связи с полиморфизмом этанолметаболизирующих ферментов генов *ADH1B*, *ADH7* и *CYP2E1*, а также поиск ассоциаций генотипической изменчивости этих ферментов с артериальным давлением и параметрами липидного обмена в русской популяции Западно-Сибирского региона.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования. Группу больных из г. Томска с диагнозом “ишемическая болезнь сердца и коронарный атеросклероз” (КА), подтвержденным ангиографическим исследованием коронарного русла, составили 80 мужчин и 12 женщин в возрасте от 30 до 70 лет (средний возраст 49.44 ± 0.98 лет). Контрольную группу составили практически здоровые индивиды из г. Томска – 121 мужчина и 4 женщины в возрасте от 20 до 58 лет (41.09 ± 0.70 лет). Группы однородны по этническому составу (>90% – русские).

В контрольной выборке проанализированы следующие количественные признаки: систолическое и диастолическое давление (СД и ДД), содержание в сыворотке крови общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), липопротеидов высокой, низкой и очень низкой плотностей (ЛПВП, ЛПНП и ЛПОНП соответственно). Все показатели, за исключением артериального давления, скорректированы на индекс массы тела (ИМТ). Для статистических расчетов все количественные признаки были протестированы на нормальность распределения и в случае необходимости приведены к нормальному путем логарифмирования. Группа больных КА изучена только по содержанию ОХ и ТГ в сыворотке крови.

Генотипирование полиморфизма *ADH1B*, *ADH7* и *CYP2E1*. Генотипирование четырех однонуклеотидных полиморфизмов *ADH1B*, *ADH7*, *CYP2E1 PstI* и *DraI* (NCBI Assay ID rs1229984, rs1154458, rs3813867 и rs6413432 соответственно) проводили методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) и анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) ампликонов в 2–3%-ных агарозных гелях. Условия ПЦР, структура праймеров описаны ранее [15, 21–23]. Праймеры поставлены ООО “Лаборатория МЕДИГЕН” (г. Новосибирск), ферменты рестрикции – ООО “СибЭнзим” (г. Новосибирск). Полиморфизм $G \rightarrow A$ в 3-м экзоне гена *ADH1B*, приводящий к появлению сайта рестрикции *MspI* и замене *Arg47His*, представлен двумя аллелями: *A1* – “дикий” тип (685 пн) и *A2* – мутантный аллель (443 + 242 пн; +*MspI*; *47His*; *ADH1B*2*). Полиморфизм $C \rightarrow G$ в 5 интроне гена *ADH7*, выявляемый по сайту рестрикции *StyI*, приводит к появлению аллелей *B1* – “дикий” тип (263 + 214 пн) и *B2* – мутантный аллель (477 пн; –*StyI*). Полиморфизм

$G \rightarrow C$ в 5'-фланкирующем регионе гена *CYP2E1* (–1293G > C) регистрируется рестрикцией *PstI* и представлен предковым *C1* (410 пн) и производным *C2* (290 + 120 пн; *CYP2E1*5B*; +*PstI*) аллелями. В 6 интроне гена *CYP2E1* полиморфизм $T \rightarrow A$ (7632T > A) проявляется потерей сайта узнавания рестриктазы *DraI*: аллель “дикого” типа *D* (235 + 351 пн) и *C* – мутантный аллель (686 пн; *CYP2E1*6*; –*DraI*).

Статистический анализ. Соответствие распределений генотипов равновесию Харди–Вайнберга, наблюдаемую и ожидаемую гетерозиготности, сравнение частот аллелей и генотипов, проверку на неравновесие по сцеплению (гаметическое неравновесие) проводили общепринятыми методами популяционной биометрии [24]. Поиск ассоциаций генетической изменчивости с риском развития коронарного атеросклероза проводили путем сравнения частот аллелей в группах больных и контрольной по точному тесту Фишера с двусторонней оценкой достигнутого уровня значимости (*P*) или по критерию χ^2 Пирсона. Различия частот генотипов оценивали с помощью статистики максимума правдоподобия критерия χ^2 (МП χ^2). Также рассчитывали отношение шансов (*OR*) развития заболевания и его 95%-ный доверительный интервал (95% CI). Взаимосвязь генотипической изменчивости этанолметаболизирующих ферментов с количественными признаками оценивали с использованием одно- и двухфакторного дисперсионного анализа. Принят 5%-ный уровень статистической значимости. Все расчеты выполнены в программе “Microsoft Office Excel 2003” и пакете прикладных программ “Statistica 5.5A”.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В обеих группах по всем изученным локусам выполняется равновесие Харди–Вайнберга (табл. 2). Как видно из табл. 2, обе выборки характеризуются низкими значениями частот мутантных аллелей и, следовательно, низким уровнем генетической изменчивости, за исключением полиморфизма *ADH7 StyI*, для которого получены максимальные оценки гетерозиготностей в обеих группах. Частоты “производных” аллелей соответствуют данным, полученным для многих европеоидных популяций [15, 25].

В контрольной группе по всем сочетаниям пар локусов выполняется гаметическое равновесие (равновесие по сцеплению), за исключением полиморфизмов в гене *CYP2E1 PstI* и *DraI*, которые сцеплены и находятся на расстоянии ≈ 8.9 тпн (мера неравновесия *D* равна $+0.006307 \pm 0.006870$; $\chi^2 = 4.76$; *P* = 0.029; коэффициент корреляции между локусами (ρ) равен +0.19451).

Таблица 2. Частоты мутантных аллелей (в %) и показатели генетической изменчивости этанолметаболизирующих ферментов *ADH1B*, *ADH7* и *CYP2E1* в группах контроля и больных коронарным атеросклерозом

Ген/аллель	Выборка	Частота, %	H_{obs}	H_{exp}	χ^2	P	n
<i>ADH1B</i> (+ <i>MslI/A2</i>)	Контроль	8.48 ± 1.86	16.96	15.53	0.96	0.327	112
	КА	4.89 ± 1.59	9.78	9.30	0.24	0.624	92
<i>ADH7</i> (- <i>StyI/B2</i>)	Контроль	44.58 ± 3.21	55.83	49.41	2.03	0.155	120
	КА	45.65 ± 3.67	50.00	49.62	0.01	0.920	92
<i>CYP2E1</i> (- <i>PstI/C2</i>)	Контроль	1.20 ± 0.69	2.40	2.37	0.02	0.892	125
	КА	4.89 ± 1.59	7.61	9.30	3.05	0.081	92
<i>CYP2E1</i> (- <i>DraI/C</i>)	Контроль	10.00 ± 1.90	20.00	18.00	1.54	0.214	125
	КА	8.70 ± 2.08	17.39	15.88	0.83	0.362	92

Примечание. H_{obs} – наблюдаемая гетероизотность, H_{exp} – ожидаемая гетероизотность; χ^2 , P – значения критерия χ^2 и достигнутый уровень значимости соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга; n – объем выборки, КА – коронарный атеросклероз.

Таблица 3. Распределение и частоты генотипов *ADH1B*, *ADH7* и *CYP2E1* в группе больных коронарным атеросклерозом и контроле

Ген	Генотипы	Контроль		КА		χ^2	P
		Число	Частота, %	Число	Частота, %		
<i>ADH1B*</i> (<i>MslI</i>)	<i>A1A1</i>	93	83.04	83	90.22	2.25	0.133
	<i>A1A2</i>	19	16.96	9	9.78		
<i>ADH7</i> (<i>StyI</i>)	<i>B1B1</i>	33	27.50	27	29.35	0.84	0.656
	<i>B1B2</i>	67	55.83	46	50.00		
	<i>B2B2</i>	20	16.67	19	20.65		
<i>CYP2E1</i> (<i>PstI</i>)	<i>C1C1</i>	122	97.60	84	91.30	5.04	0.080
	<i>C1C2</i>	3	2.40	7	7.61		
	<i>C2C2</i>	0	0.00	1	1.09		
<i>CYP2E1*</i> (<i>DraI</i>)	<i>DD</i>	100	80.00	76	82.61	0.24	0.627
	<i>DC</i>	25	20.00	16	17.39		

Примечание. * – гомозигот по мутантному аллелю не обнаружено; χ^2 , P – значения критерия максимума правдоподобия χ^2 и достигнутый уровень значимости различий частот генотипов в группе больных коронарным атеросклерозом (КА) и контроле.

Сравнение частот генотипов контрольной группы и группы больных КА выявило ($P = 0.08$) различие в частотах генотипов по полиморфному варианту *CYP2E1 PstI*. Для других локусов отличий в частотах генотипов между группами не обнаружено (табл. 3).

Обнаружен повышенный риск развития КА у носителей аллеля *C2* полиморфного варианта *CYP2E1 PstI* (табл. 4). Выявлена повышенная частота аллеля *CYP2E1*C2* в группе больных (в 4 раза, или на 3.69%). Тем не менее полученные данные должны быть перепроверены на других популяциях и для других этнических групп, так как нельзя отрицать функциональную значимость изученных полиморфных вариантов для развития атеросклеротических повреждений, а

распространенность мутантных аллелей в других регионах может оказаться высокой.

В табл. 5 представлены результаты однофакторного дисперсионного анализа связи генотипической изменчивости *ADH1B*, *ADH7* и *CYP2E1* с вариацией некоторых количественных признаков, обуславливающих подверженность к ряду ССЗ, в контрольной группе жителей г. Томска. В группе больных КА не выявлено ассоциаций всех изученных генотипов с содержанием триглицеридов и общего холестерина в сыворотке крови. Как видно из табл. 5, выявлена близкая к статистически значимой ассоциация полиморфизма *ADH1B*47His* (*A2) с систолическим давлением (СД; $P < 0.07$). У носителей генотипа *A1A1* ($n = 91$) СД составило в среднем 128.70 мм рт. ст. а у инди-

Таблица 4. Отношение шансов формирования коронарного атеросклероза по полиморфным вариантам этанол-метаболизирующих ферментов генов *ADH1B*, *ADH7* и *CYP2E1*

Ген	Аллель	Число аллелей (%)		χ^2	<i>P</i>	OR (95% CI)
		Контроль	КА			
<i>ADH1B</i> (<i>MspI</i>)	<i>A1</i>	205 (91.52)	175 (95.11)	2.04	0.153	0.55 (0.23–1.33)
	<i>A2</i>	19 (8.48)	9 (4.89)			
<i>ADH7</i> (<i>StyI</i>)	<i>B1</i>	133 (55.42)	100 (54.35)	0.05	0.827	1.02 (0.86–1.21)
	<i>B2</i>	107 (44.58)	84 (45.65)			
<i>CYP2E1</i> (<i>PstI</i>)	<i>C1</i>	247 (98.80)	175 (95.11)	4.09*	0.043	4.23 (1.03–20.01)
	<i>C2</i>	3 (1.20)	9 (4.89)			
<i>CYP2E1</i> (<i>DraI</i>)	<i>D</i>	225 (90.00)	168 (91.30)	0.21	0.646	0.86 (0.42–1.73)
	<i>C</i>	25 (10.00)	16 (8.70)			

Примечание. * χ^2 рассчитан с поправкой Йетса на непрерывность; OR (95% CI) – отношение шансов и 95%-ный доверительный интервал.

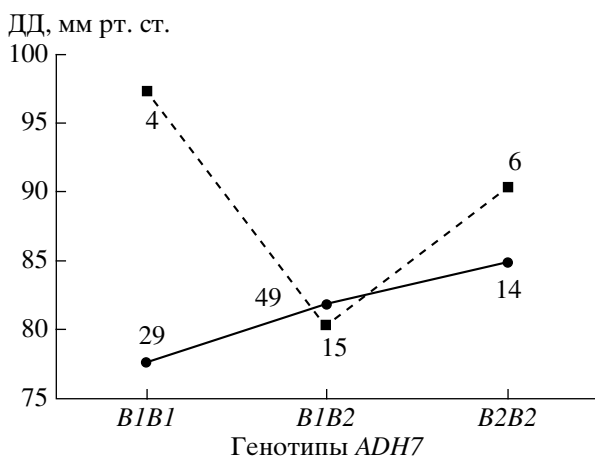
Таблица 5. Однофакторный дисперсионный анализ связи полиморфизма генов *ADH1B*, *ADH7* и *CYP2E1* с возрастом, артериальным давлением, показателями липидного обмена и индексом массы тела в выборке контрольных индивидов г. Томска

Признак	<i>ADH1B</i> (+/ <i>MspI</i>)			<i>ADH7</i> (+/ <i>StyI</i>)			<i>CYP2E1</i> (+/ <i>PstI</i>)			<i>CYP2E1</i> (+/ <i>DraI</i>)		
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>n</i>
Возраст	1.99	0.161	118	1.59	0.207	126	0.02	0.960	130	0.30	0.586	130
ИМТ	0.17	0.683	112	0.78	0.463	120	1.47	0.227	125	0.17	0.677	125
СД	3.39	0.068	110	1.27	0.285	118	0.37	0.545	122	1.43	0.235	123
ДД	2.05	0.155	110	1.53	0.220	118	0.86	0.356	122	1.66	0.200	123
ЛПВП	0.25	0.616	111	0.13	0.879	119	1.05	0.308	124	0.78	0.380	124
ЛПНП	0.64	0.424	111	1.06	0.351	118	0.95	0.331	123	0.00	0.975	124
ЛПОНП	4.10	0.045	112	0.33	0.719	120	0.05	0.821	125	0.13	0.723	125
ОХ	0.04	0.836	112	1.28	0.281	119	1.29	0.258	124	0.04	0.851	125
ТГ	3.68	0.058	112	0.36	0.701	120	0.02	0.892	125	0.19	0.661	125

Примечание. *F*, *P*, *n* – соответственно критерий Фишера для дисперсионного анализа, достигнутый уровень значимости и объем выборки, ИМТ – индекс массы тела; СС, СД – систолическое и диастолическое давление; ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП – липопротеиды высокой, низкой и очень низкой плотности; ОХ – общий холестерин; ТГ – триглицериды.

видов с генотипом *A2A2* ($n = 19$) – 119.95 мм рт. ст. Обнаружено воздействие этого же аллеля на содержание триглицеридов в сыворотке крови, которое также снижено у носителей генотипа *A1A2* ($P < 0.06$; *A1A1* ($n = 93$) : *A1A2* ($n = 19$) – 123.34 : 87.06 мкМ/мл). Выявлено статистически значимое снижение концентрации липопротеидов очень низкой плотности у носителей генотипа *A1A2* ($P < 0.06$; *A1A1* : *A1A2* – 24.67 : 17.41 мкМ/мл).

Saito с соавт. [5] на выборке из 335 случайно отобранных японцев в возрасте 40–69 лет обнаружили более сильную регрессионную зависимость диастолического давления от потребления алкоголя у мужчин с генотипом *A1A1* (8.4%) по сравнению с группой мужчин с генотипами *A1A2* (34.9%) или *A2A2* (56.7%). В этой работе показано, что у индивидов с генотипом *A1A1*, т.е. со способностью окислять этанол в 100 и 200 раз медленнее по сравнению с генотипами *A1A2* и *A2A2*



Совместное действие полиморфных вариантов *ADH7 StyI* и *CYP2E1 DraI* на диастолическое давление (ДД) в контрольной группе ($F = 3.64$, $P = 0.029$, $n = 117$). Сплошная — генотип *DD*, пунктирная линия — *DC* полиморфизма *CYP2E1 DraI*; точки на линиях — средние значения ДД для парных сочетаний соответствующих генотипов; цифрами обозначено число индивидов в подгруппах.

(соответственн) [4], может поддерживаться высокая концентрация этанола в крови длительное время после его приема, а это, в свою очередь, может вызывать повышенное артериальное давление [5].

В работе Yamada с соавт. [26] на выборке 855 японских мужчин среднего возраста не было показано значимого эффекта ассоциации генотипов *ADH1B* и *ALDH2* с артериальным давлением, но обнаружено повышенное артериальное давление у лиц с генотипом *C2C2* по полиморфизму *CYP2E1 PstI*. Однако после выравнивания анализом множественной регрессии генотипических групп по возрасту, индексу массы тела и объему потребляемого алкоголя влияние генотипов *CYP2E1 PstI* на артериальное давление оказалось незначительным. Авторы этого исследования делают вывод об отсутствии связи полиморфизма этанолметаболизирующих ферментов *ADH1B*, *ALDH2* и *CYP2E1* на артериальное давление у японских мужчин [26].

Противоположный эффект влияния *ADH1B* на систолическое давление по отношению к исследованию Saito соавт. [5] показан в работе Hashimoto с соавт. [6], результаты которой сходны с настоящим исследованием. В [6] распространенность генотипа *A2A2* локуса гена *ADH1B* была статистически значимо выше у мужчин, у которых систолическое давление было выше 1/3 вариационного ряда признака (≥ 138 мм рт. ст.), по сравнению с индивидами, имеющими СД в нижних 2/3 вариационного ряда (< 138 мм рт. ст.). Однако Hashimoto с соавт. [6] изучали городских рабочих госпиталей (133 мужчины), без гипертензии, гиперлипидемии и гиперурикемии, но употребляющих

более 300 г этанола в неделю. В последней работе, в противоположность настоящему исследованию, также установлено, что среди индивидов, у которых содержание в сыворотке триглицеридов и мочевой кислоты было выше 2/3 процентилей (в верхней трети вариационных рядов признаков), преобладают мужчины с генотипом *A2A2*, а не с *A1A1*.

Влияние генотипической изменчивости изученных этанолметаболизирующих ферментов на ССЗ и на факторы риска, их формирующие, не исследовалось на европейских популяциях возможно по причине низкой распространенности мутантных аллелей у европейцев.

Механизмы действия этанола на артериальное давление остаются не ясны. В настоящей работе общепринятый 5%-ный уровень статистической значимости связи полиморфизмов *ADH7 StyI*, *CYP2E1 PstI* и *DraI* ни с одним из изученных количественных признаков не преодолен. Однако за исключением генетической вариации *CYP2E1 PstI* можно говорить о 70–80% достоверной вероятности связи изученных полиморфных маркеров как с систолическим, так и с диастолическим давлением (см. табл. 1).

Двухфакторный дисперсионный анализ эффектов взаимодействия парных сочетаний изученных локусов выявил статистически значимый эффект взаимодействия *ADH7 StyI* и *CYP2E1 DraI* на диастолическое давление (рисунок; $F = 3.64$, $P = 0.029$, $n = 117$) и на концентрацию липопротеинов высокой плотности ($F = 3.27$, $P = 0.042$, $n = 118$). Последний факт, как и связь полиморфизма *ADH1B MsII* с изменчивостью содержания триглицеридов и липопротеидов очень низкой плотности, вероятно, обусловлен тем, что АДН окисляют этанол с образованием NADH. Соотношение NADH/NAD увеличивается, что способствует синтезу жирных кислот [27]. Возможно, это связано с многофункциональной ролью ферментов в организме, например с их участием в катаболизме нейромедиаторов [14].

В заключение следует подытожить результаты нашего исследования. Во-первых, мутантные аллели в генах *ADH1B MsII*, *CYP2E1 PstI* и *DraI* встречаются с низкой частотой, что ограничивает их использование в целях молекулярно-генетической диагностики подверженности к ССЗ. Во-вторых, в группе больных коронарным атеросклерозом обнаружена статистически значимо ($P < 0.05$) повышенная (\approx в 4 раза) частота аллеля *C2* полиморфизма *CYP2E1 PstI*, который связан с более высокой транскрипционной и ферментативной активностью, что, Однако не позволяет использовать данный вариант для формирования групп риска подверженности к КА по причине низкой распространенности этого аллеля в Томской популяции ($< 2\%$) и большого разброса 95%-

ного доверительного интервала отношения шансов формирования болезни. В-третьих, обнаружено близкое к статистически значимому влияние генотипа *A1A2* полиморфизма *ADH1B MsII* на снижение систолического давления ($P < 0.07$). В-четвертых, выявленные статистически значимые эффекты взаимодействующих локусов *ADH7 StyI* и *CYP2E1 DraI* на диастолическое давление ($P = 0.029$) и на содержание липопротеидов высокой плотности ($P = 0.042$), а также генотипа *A1A2* полиморфизма *ADH1B MsII* на пониженное содержание липопротеидов очень низкой плотности обусловлены, вероятно, полифункциональностью этих ферментов.

Авторы выражают благодарность Н.В. Каннской за измерение показателей липидного обмена.

Работа была финансово поддержана РФФИ (проект № 05-04-98007-р-объ-а), грантом Президента РФ (МД-88.2003.04), грантами Роснауки (РИ-112/001/128 и РИ-19.0/001/045).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. URL: <http://www.euro.who.int/document/mediacentre/fs0703r.pdf>
2. Lucas D.L., Brown R.A., Wassef M., Giles T.D. Alcohol and cardiovascular system research challenges and opportunities // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005. V. 45. № 12. P. 1916–1924.
3. Agarwal D.P. Genetic polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes // *Pathol. Biol.* 2001. V. 49. № 9. P. 703–709.
4. Yin S.J., Bosron W.F., Magnes L.J., Li T.K. Human liver alcohol dehydrogenase: Purification and kinetic characterization of the beta 2 beta 2, beta 2 beta 1, alpha beta 2, and beta 2 gamma 1 "Oriental" isoenzymes // *Biochemistry.* 1984. V. 23. № 24. P. 5847–5853.
5. Saito K., Yokoyama T., Yoshiike N. et al. Do the ethanol metabolizing enzymes modify the relationship between alcohol consumption and blood pressure? // *J. Hypertens.* 2003. V. 21. № 6. P. 1097–1105.
6. Hashimoto Y., Nakayama T., Futamura A. et al. Relationship between genetic polymorphisms of alcohol-metabolizing enzymes and changes in risk factors for coronary heart disease associated with alcohol consumption // *Clin. Chem.* 2002. V. 48. № 7. P. 1043–1048.
7. Kannel W.B., Ellison R.C. Alcohol and coronary heart disease: The evidence for a protective effect // *Clin. Chem. Acta.* 1996. V. 246. № 1–2. P. 59–76.
8. Whitfield J.B., O'Brien M.E., Nightingale B.N. et al. ADH genotype does not modify the effects of alcohol on high-density lipoprotein // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2003. V. 27. № 3. P. 509–514.
9. Aviram M., Kent U. M., Hollenberg P.F. Microsomal cytochromes P450 catalyze the oxidation of low density lipoprotein // *Atherosclerosis.* 1999. V. 143. № 2. P. 253–260.
10. Ingelman-Sundberg M. Human drug metabolizing cytochrome P450 enzymes: Properties and polymorphisms // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2004. V. 369. P. 89–104.
11. Kolble K. Regional mapping of short tandem repeats on human chromosome 10: Cytochrome P450 gene *CYP2E1*, *D10S196*, *D10S220*, and *D10S225* // *Genomics.* 1993. V. 18. P. 702–704.
12. Watanabe J., Hayashi S., Nakachi K. et al. *PstI* and *RsaI* RFLPs in complete linkage disequilibrium at the *CYP2E1* gene // *Nucl. Acids Res.* 1990. V. 18. P. 7194.
13. Watanabe J., Hayashi S., Kawajiri K. Different regulation and expression of the human *CYP2E1* gene due to *RsaI* polymorphism in the 5' flanking region // *J. Biochem.* 1994. V. 116. P. 321–326.
14. Ашмарин И.П. Алкогольдегидрогеназа млекопитающих – объект молекулярной медицины // *Успехи биол. химии.* 2003. Т. 43. С. 3–18.
15. Osier M.V., Pakstis A.J., Soodyall H. et al. A global perspective on genetic variation at the ADH genes reveals unusual patterns of linkage disequilibrium and diversity // *Am. J. Hum. Genet.* 2002. V. 71. № 1. P. 84–99.
16. Li T.-K., Yin Sh.-J., Crabb D.W. et al. Genetic and environmental influences on alcohol metabolism in humans // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2001. V. 25. № 1. P. 136–144.
17. Lee Sh.-L., Hoo J.-O., Yin Sh.-J. Functionality of allelic variation in human alcohol dehydrogenase gene family: Assessment of a functional window for protection against alcoholism // *Pharmacogenetics.* 2004. V. 14. № 11. P. 725–732.
18. Satre M.A., Zgombic-Knight M., Duester G. The Complete structure of human class IV alcohol dehydrogenase (retinol dehydrogenase) determined from the ADH gene // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. № 22. P. 15606–15612.
19. Yokoyama H., Baraona E., Lieber C.S. Molecular cloning and chromosomal localization of the *ADH7* gene encoding human class IV (sigma) ADH // *Genomics.* 1996. V. 31. P. 243–245.
20. Osier M.V., Lu R.-B., Pakstis A.J. et al. Possible epistatic role of ADH7 in the protection against alcoholism // *Am. J. of Med. Genet. Part B (Neuropsychiatric Genetics).* 2004. V. 126B. № 1. P. 19–22.
21. Lin D.-X., Tang Y.-M., Peng Q. et al. Susceptibility to esophageal cancer and genetic polymorphisms in glutathione S-transferases T1, P1 and M1 and cytochrome P450 2E1 // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1998. V. 7. № 11. P. 1013–1018.
22. Tanaka F., Shiratori Y., Yokosuka O. et al. Polymorphism of alcohol-metabolizing genes affects drinking behavior and alcoholic liver disease in Japanese men // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 1997. V. 21. № 4. P. 596–601.
23. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>
24. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
25. URL: <http://alfred.med.yale.edu/alfred/index.asp>
26. Yamada Y., Sun F., Tsuritani I., Honda R. Genetic differences in ethanol metabolizing enzymes and blood pressure in Japanese alcohol consumers // *J. Hum. Hypertens.* 2002. V. 16. № 7. P. 479–486.
27. Серов В.В. Существует ли алкогольный хронический гепатит? // *Архив патологии.* 1999. Т. 61. № 1. С. 54–56.