

© Коллектив авторов, 2016
УДК 616-092

Панченко Л.Ф.^{1,2}, Баронец В.Ю.¹, Наумова Т.А.¹,
Пирожков С.В.³, Теребилина Н.Н.¹, Шойбонов Б.Б.⁴

Роль липопротеин-ассоциированного фермента параоксаназы-1 и его полиморфизмов в патогенезе эндотелиальной дисфункции и развитии соматических осложнений у больных алкоголизмом

¹ — НИИН филиал ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России, Москва

² — ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Россия, Москва

³ — ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

⁴ — ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина», Россия, Москва

Приведен обзор современных данных о роли многофункционального фермента, ассоциированного с липопротеинами высокой плотности — параоксаназы 1 (PON1) в поддержании нормальной эндотелиальной функции путем детоксификации окисленных липопротеинов низкой плотности и тиолактона гомоцистеина. Дополнительный вклад в защиту эндотелия от повреждения вносит органопфосфатазная активность PON1, участвующая в детоксификации табачного дыма. Нарушение антиокислительной активности PON1 способствует дифференцировке моноцитов в макрофаги с последующим развитием воспалительной реакции стенки сосудов. Снижение тиолактоназной активности PON1 сопровождается дефицитом ресинтеза метионина из гомоцистеина, что приводит к гипометилированию ДНК и к сдвигам экспрессии про- и анти-атерогенных генов. Глобальное гипометилирование генома рассматривается как один из трех важнейших механизмов повышенного риска соматических осложнений алкоголизма. Кроме того накопление тиолактона гомоцистеина, проявляющего свойства агониста глутаматергических рецепторов и антагониста дофаминергических рецепторов, служит предпосылкой усиления симптомов алкогольной зависимости. Обзор клинических наблюдений, сфокусированных на генных полиморфизмах PON1, свидетельствует о неодинаковой степени атеропротекторных свойств для трех различных генотипов полиморфизма PON1Q192R.

Ключевые слова: параоксаназа 1; полиморфизм PON1Q192R; окисленные липопротеины низкой плотности; тиолактон гомоцистеина; гипометилирование ДНК; эндотелиальная дисфункция; алкогольная зависимость

Для цитирования: Панченко Л.Ф., Баронец В.Ю., Наумова Т.А., Пирожков С.В., Теребилина Н.Н., Шойбонов Б.Б. Роль липопротеин-ассоциированного фермента параоксаназы-1 и его полиморфизмов в патогенезе эндотелиальной дисфункции и развитии соматических осложнений у больных алкоголизмом. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2016; 60(1): 50—58.

Работа выполнена при поддержке гранта РГНФ 13-06-00279

Panchenko L.F.^{1,2}, Baronets V.Yu.¹, Naumova T.A.¹,
Pyrozkhov S.V.³, Terebilina N.N.¹, Shoibonov B.B.⁴

The role of lipoprotein-associated enzyme paraoxonase 1 and its polymorphisms in the pathogenesis of endothelial dysfunction and somatic complications in patients with alcoholism: Review

¹ — Federal State Budgetary Institution «V.Serbysky Federal Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 119991, Moscow, Kropotkinsky per., 23

² — Federal State Budgetary Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS», 125315, Moscow, the Baltijskaja str., 8

³ — The State Education Institution of Higher Professional Training «The First Sechenov Moscow State Medical University» under Ministry of Health of the Russian Federation, 119991, Moscow, Trubetskaya str., 8, p. 2

⁴ — Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Peoples' Friendship University of Russia», 117198, Moscow, Miklukho-Maklaya str., 6

Для корреспонденции: Наумова Татьяна Александровна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. Биохимии, e-mail: naumova-414@mail.ru

A review of recent data on the role of the multifunctional enzyme, associated with high density lipoproteins — paraoxonase 1 (PON1) in maintaining healthy endothelial function by detoxifying both oxidized low density lipoproteins and homocysteine thiolactone. The additional contribution to the protection of the endothelium against damage makes organophosphatase activity of PON1 involved in the detoxification products of tobacco smoke. The reduction of antioxidant activity of PON1 promotes the differentiation of monocytes into macrophages and the development of inflammation. The reduction of thiolactonase activity of PON1 is accompanied by a decrease of methionine re-synthesis from homocysteine causing DNA-hypomethylation and alteration of the expression patterns of pro- and anti-atherogenic genes. Global hypomethylation of the genome is regarded as one of the three most important mechanisms of the increased risk of somatic complications of alcoholism. The accumulation of homocysteine thiolactone serving agonist of glutamate receptors and antagonist of dopamine receptors is a prerequisite to increased alcohol abuse. Clinical observations focusing on gene polymorphisms of PON indicate that three different genotypes of polymorphism PON1Q192R have unequal degrees atheroprotective properties.

Keywords: *paraoxonase-1; PON1Q192R polymorphism; oxidized low density lipoproteins; homocysteine thiolactone; DNA hypomethylation; endothelial dysfunction; alcohol addiction*

For citation: *Panchenko L.F., Baronets V.Yu., Naumova T., Pyrozhev S.V., Terebilina N.N., Shoibonov B.B. The role of lipoprotein-associated enzyme paraoxonase 1 and its polymorphisms in the pathogenesis of endothelial dysfunction and somatic complications in patients with alcoholism. Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya. 2016; 60(1): 50–58. (in Russian)*

For correspondence: *Naumova T.A., e-mail: naumova-414@mail.ru*

Funding. *The study was supported by Grant of the Russian Science Foundation 13-06-00279.*

В основе широкого спектра патологических состояний, сопровождающих хроническое злоупотребление алкоголем, включая гиперхолестеринемию, гипертензию, атеросклероз, заболевания коронарных артерий, легких, цирроз печени, дисфункцию мозга, лежит эндотелиальная дисфункция [1–3]. Эндотелий включает в себя более 10^{13} эндотелиальных клеток, локализованных во всех тканях организма и генерирующих необходимые для поддержания сосудистого гомеостаза органов вазодилататоры и вазоконстрикторы. Нормально функционирующий эндотелий обеспечивает строго необходимую степень проницаемости сосудистой стенки, предупреждает адгезию и агрегацию тромбоцитов, препятствуя тромбозам, ингибирует избыточную пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, ограничивает адгезию лейкоцитов, предотвращая их инфильтрацию и развитие воспаления. Эндотелиальная дисфункция — один из наиболее ранних маркеров сосудистой патологии. Хотя эндотелиальная дисфункция имеет мультифакториальную природу, одним из ключевых ее механизмов признается нарушение синтеза или биодоступности оксида азота, поскольку именно оксид азота опосредует многие из вышеперечисленных функций здорового эндотелия.

Высказывались предположения о том, что решающую роль в снижении NO-зависимой дилатации сосудов играет окислительный стресс, приводящий к образованию пероксинитрита из оксида азота. Однако эти предположения не подтвердились, поскольку было обнаружено значительное расхождение по времени процессов синтеза оксида азота в макрофагах и эндотелиальных клетках и активации НАДФН-оксидазного пути — главного источника активных

форм кислорода. Кроме того, не удалось выявить положительных эффектов антиоксидантной терапии для предотвращения нарушений NO-зависимой эндотелиальной дилатации [4].

Другой причиной дефицита оксида азота при эндотелиальной дисфункции называлась активация аргиназы, фермента, конкурирующего с синтазой оксида азота (NOS) за общий субстрат — аргинин [5]. Активность аргиназы достоверно повышается в сыворотке и в эндотелиальных клетках больных с сердечной недостаточностью. Однако доля аргинина, расходуемого на синтез оксида азота, в сотни раз меньше концентрации аргинина в эндотелиальных клетках, в связи с чем, дефицит субстрата вряд ли является основной причиной нарушения продукции оксида азота и, вероятнее всего, существуют дополнительные механизмы NO-зависимой дисфункции эндотелия.

В этом отношении привлекает внимание способность липопротеинов высокой плотности (ЛВП), взятых от здоровых людей, стимулировать синтез оксида азота в эндотелиальных клетках [6]. В то же время ЛВП, выделенные у больных с заболеваниями коронарных артерий, не только не активировали, но даже ингибировали активность эндотелиальной NO-синтазы (eNOS), не влияя при этом на продукцию супероксида и активность НАДФН-оксидазы. Стимуляция продукции оксида азота, вызываемая ЛВП здоровых людей, коррелировала с блокирующим эффектом ЛВП на экспрессию молекул эндотелиально-моноцитарной адгезии, с обратным транспортом холестерина из макрофагов и с активностью фермента, входящего в структуру частиц ЛВП — параоксаназы-1 (PON-1). PON-1 (EC 3.1.8.1) — многофункциональный фермент, имеющий несколько

каталитических центров, способных гидролизировать различные субстраты [7]. Первыми из обнаруженных субстратов PON1 были орнанофосфатные яды, один из которых — параксон — и дал название этому ферменту. Позднее были обнаружены арилэстеразная и пероксидазная активности PON1, участвующие в гидролизе перекисей липидов и окисленных ЛНП и определяющие антиоксидантную роль PON1. Однако, судя по кинетическим параметрам PON1 с различными субстратами, наиболее вероятными физиологическими субстратами фермента являются лактоны, прежде всего тиолактон гомоцистеина, гидролизуемые лактоназным каталитическим центром.

Роль лактоназной активности PON1 в эндотелиальной дисфункции

Гомоцистеин (ГЦ) образуется в организме в ходе деметилирования метионина. Метионин в результате взаимодействия с АТФ вначале превращается в SAM (S-аденозил-метионин) — биологический донор метильных групп, а затем деметилирование SAM приводит к образованию ГЦ, который при участии витаминов B12 и фолиевой кислоты может превращаться обратно в метионин, а при участии витамина B6 превращается в цистеин (рис.1).

Однако ГЦ может также метаболизироваться метионил-РНК-синтазой в тиолактон ГЦ, являющийся субстратом PON1. При недостаточной активности PON1, приводящей к блокаде обратного превращения тиолактона в свободный ГЦ, происходит выведение ГЦ из рециклинга метионина. Тем самым созда-

ется дефицит метильных групп, необходимых для реакций метилирования ДНК и белков, в том числе гистоновых.

Метилирование ДНК и гистонов является важным фактором контролирования генной экспрессии. При этом для одних генов метилирование ДНК в промотерных участках сопряжено с блокадой их экспрессии — «молчанием» гена, а гипометилирование, вызванное дефицитом метильных групп, активирует эти в норме «молчащие» гены. К их числу относятся многие гены, ассоциированные с биологическими процессами, лежащими в основе сердечно-сосудистых заболеваний: гены VCAM-1 (молекулы адгезии сосудистых клеток) и ICAM-1 (молекулы межклеточной адгезии), опосредующие миграцию воспалительных клеток из крови во внесосудистое пространство [8, 9, 10], гены воспалительных медиаторов в лейкоцитах [10, 11, 12], гены рецепторов бесконтрольного поступления в макрофаги и эндотелиальные клетки окисленных ЛНП, связанных с атерогенезом стенок аорты [10, 13], гены матриксных металлопротеиназ MMP-1 и MMP-8, определяющих фибротические изменения сосудов [10], ген индуцибельной NOS, также задействованной в повреждении сосудов [14]. С другой стороны, активация гена эндотелиальной NOS, главного защитного фактора эндотелия, требует предварительного метилирования промотерного участка гена, поэтому гипометилирование приводит к супрессии eNOS [6, 9, 15]. Дефицит метильных групп репрессирует также ген FOXO3 — фактора транскрипции, специфичного для популяции T-регуляторных лимфоцитов, отвечающих за лимитирование избыточных воспалительных реакций [16, 17]. Именно воспалительные реакции являются основным механизмом повреждения сосудистой стенки на всех стадиях атеросклероза. Глобальное гипометилирование ДНК может также индуцировать хромосомную нестабильность, приводя к повышенной частоте мутаций.

Аберрантное метилирование ДНК, отмечаемое при сосудистых заболеваниях, коррелирует с гипергомоцистеинемией [11, 15, 18, 19]. Отмечено, что повышение уровня ГЦ и его метаболитов в плазме на каждые 12% относительно нормы, увеличивает риск инфаркта миокарда в 3—4 раза. При этом сравнительный анализ проатерогенных изменений генной экспрессии в сосудистых эндотелиальных клетках человека, индуцируемых различными метаболитами ГЦ, продемонстрировал, что ГЦ-тиолактон модифицирует экспрессию значительно большего количества генов (113 генов) в сравнении с гомоцистеинизированным белком, синтез которого тоже требует предварительного образования тиолактона (47 генов), и ГЦ (30 генов) [10]. Поэтому гидролиз тиолактона гомо-

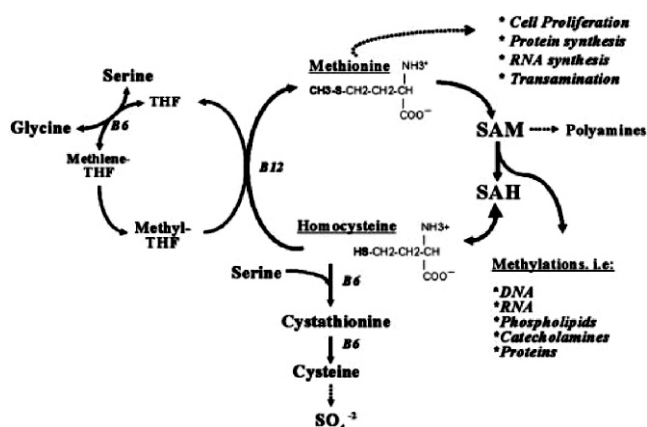


Рис. 1. Пути превращения метионина в гомоцистеин и ресинтеза метионина из гомоцистеина. Сокращения: SAM — S-аденозилметионин, SAH — S-аденозилгомоцистеин, THF — тетрагидрофолат, 5-CH₃-THF — метилтетрагидрофолат, Метилен-THF — метилентетрагидрофолат; MTHFR — метилентетрагидрофолатредуктаза (репродукция из статьи Troen A.M. et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2003; 100(25): 15089-94 [8]).

цистеина при участии PON1 рассматривается как важный механизм защиты от заболеваний коронарных, церебральных и периферических сосудов [20]. Важное место среди факторов, приводящих к гипергомоцистеинемии, занимает хроническое злоупотребление алкоголем [21—24], а глобальное гипометилирование генома входит в первую тройку механизмов повышенного риска соматических осложнений алкоголизма [25, 26] и, кроме того, рассматривается как потенциальный фактор риска алкогольной зависимости, опосредующий эпигенетическую трансформацию глутаматергической нейромедиации [27].

Кроме метилирования ДНК, тиолактон ГЦ ингибирует метилирование белков по аргининовым остаткам, которое опосредует посттрансляционное регулирование активности ферментов [28]. Показано, что гипометилирование аргининовых остатков белков в эндотелиальных клетках приводит к их преждевременному старению и ускоренному апоптозу [29].

Еще один механизм биотоксичности тиолактона ГЦ заключается в индуцируемой им модификации белковой структуры посредством присоединения гомоцистеина к лизинным остаткам белков. «Гомоцистеинизация» вызывает нарушение функции белков или образование токсических, так называемых амилоидоподобных структур. Такие структуры обнаруживаются при атеросклерозе и при болезни Альцгеймера [30]. Примечательно, что хотя тиолактон ГЦ может обнаруживаться в самых различных тканях, тем не менее, PON1 вносит более значительный вклад в метаболизм ГЦ-тиолактона в мозге.

Гомоцистеинизация белков является одним из механизмов снижения активности антиоксидантных ферментов: глутатион-пероксидазы, тиоредоксина и супероксиддисмутазы — и инициации, тем самым, окислительного стресса, показателем чего служит повышенный уровень малонового диальдегида — конечного продукта перекисного окисления липидов у больных с гипергомоцистеинемией, а также окисление незаменимого кофактора NO-синтазы — тетрагидробиоптерина, который поддерживает димерную структуру фермента, необходимую для продукции оксида азота [31]. Дефицит тетрагидробиоптерина способен не просто снижать продукцию оксида азота NO-синтазой, а целиком переключать фермент на продукцию супероксида. Молекула NOS представляет собой в норме димер, состоящий из двух одинаковых мономеров, расположенных таким образом, что НАДФН-редуктазный домен одного мономера локализуется рядом с оксигеназным доменом второго мономера, в результате чего, электроны, освобождающиеся при окислении НАДФН, идут на окисление гуанидиновой группы аргинина, что и приводит к образованию оксида азота. При расщеплении NOS на

отдельные мономеры, в условиях дефицита тетрагидробиоптерина, электроны, освобождающиеся при окислении НАДФН, идут на продукцию супероксида из молекулярного кислорода. Существует предположение, что в большом количестве случаев хронического окислительного стресса основной вклад в продукцию активных форм кислорода вносит не столько активация НАДФН-оксидазы, которая обычно имеет непродолжительный характер, сколько «расщепленная» NO-синтаза. Например, в ответ на инкубацию макрофагов с эндотоксином активность НАДФН-оксидазы достигает максимума в первые минуты после стимуляции, но уже меньше, чем через час, возвращается к обычному низкому уровню. При этом активацию NOS впервые фиксируют через 5 часов, а после 15 часов инкубации с эндотоксином она целиком обеспечивает всю продукцию супероксида макрофагами [32].

Показано, что гомоцистеинизации часто подвергаются также апопротеины, входящие в состав ЛНП [33]. Это индуцирует агрегацию ЛНП и неограниченный захват агрегированных ЛНП макрофагами с превращением последних в «пенистые» клетки [34],

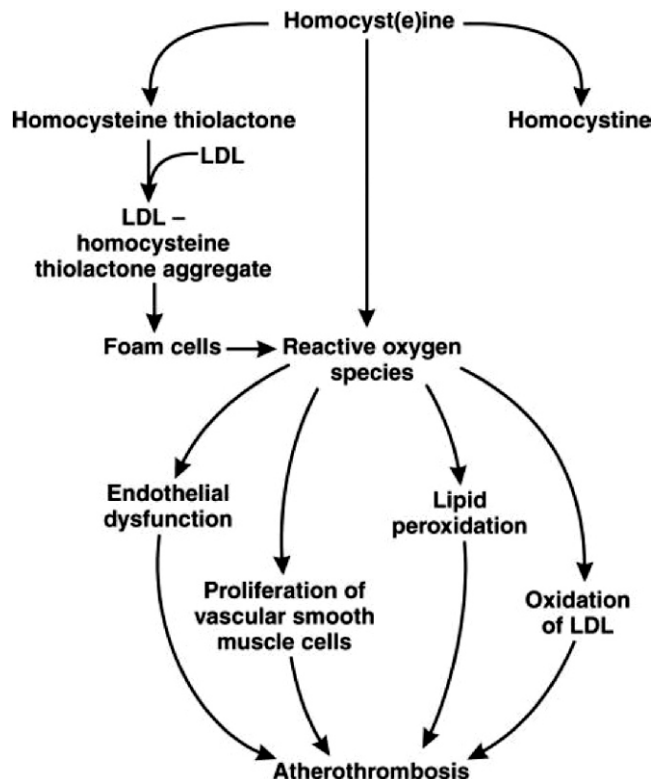


Рис. 2. Схема совместного участия тиолактона гомоцистеина и окисленных ЛНП в атерогенезе и атеротромбозе. Сокращения: LDL — липопротеины низкой плотности (репродукция из статьи Marcus J. et al. Can J Cardiol. 2007; 23(9):707-10 [34]).

служащие индукторами дальнейшего усиления окислительного стресса, эндотелиальной дисфункции и атеротромбоза (рис. 2).

Присоединяясь к лизиновым группам белков организма, тиолактон ГЦ меняет их структуру таким образом, что собственные белки начинают восприниматься иммунокомпетентными клетками как чужеродные, запуская аутоиммунные воспалительные реакции [35].

Повышение уровня ГЦ и его наиболее реакционно-способного метаболита — тиолактона, иммунная активация и окислительный стресс образуют в организме своего рода «порочный круг», наиболее уязвимым звеном которого является активность PON1 (рис. 3).

Решающая роль нарушения активности PON1 в патогенезе заболеваний, связанных с сосудистой патологией, была подтверждена в опубликованном в 2012 г. метаанализе 47 работ, в которых были обследованы 9853 больных с заболеваниями коронарных артерий и 11 408 здоровых лиц, и установлена корреляционная связь между низкой тиолактоназой активностью сывороточной PON1 и высоким риском атеросклероза [36].

Антиатерогенные эффекты PON1, связанные с ее арилестеразной и пероксидазной активностью

Наряду с дефицитом оксида азота, вторым важнейшим индуктором эндотелиальной дисфункции считают окисленные ЛНП (окЛНП). Они служат хемоаттрактантами для макрофагов, активно захватывающих их своими ловушечными (скевенджер)-рецепторами, вызывая резкое усиление воспалительной реакции. окЛНП нарушают популяционный баланс лимфоцитов, увеличивая частоту провоспалительных популяций (особенно наиболее патогенных из них —

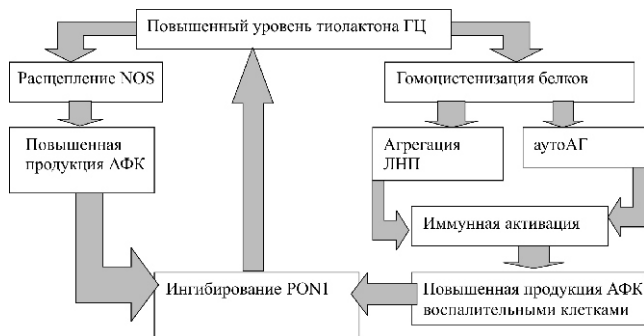


Рис. 3. Взаимная стимуляция повышенного уровня тиолактона гомоцистеина, окислительного стресса и иммунной активации. Сокращения: ГЦ — гомоцистеин, NOS — синтаза оксида азота, АФК — активные формы кислорода, ЛНП — липопротеины низкой плотности, аутоАГ — (ауто-антигены).

Тх17-клеток) и уменьшая частоту Т-регуляторных лимфоцитов, ограничивающих воспаление, угнетают синтез NO тромбоцитами, стимулируя их агрегацию, повышают патологическую экспрессию коллагена эндотелиальными клетками аорты человека [37]. Скевенджер-рецепторы окЛНП имеются и на эндотелиальных клетках: кратковременная экспозиция эндотелиальных клеток с окЛНП запускает их аутофагию, а долговременная — апоптоз.

Помимо прямых токсических эффектов окЛНП на эндотелий и макрофаги, высокий риск сердечно-сосудистых заболеваний, связанный с окЛНП, может опосредоваться модификацией гистонов ацетильными группами этих липопротеинов, например, гистонов, регулирующих экспрессию генов ICAM1- молекулы межклеточной адгезии и антивоспалительного и анти-тромботического белка — тромбомодулина, что приводит к образованию пластинчатого тромба [12].

Известно, что с ЛВП ассоциирован целый ряд белков, обладающих антиоксидантными свойствами, таких, как Apo A1, лецитин:холестерин-ацилтрансфераза, ацетилтрансфераза тромбоцит-активирующего фактора, однако PON1 является доминирующим антиоксидантным ферментом. Инкубация очищенной PON1 с окЛНП приводит к их разрушению. Кроме того, очищенная PON1 способна предотвращать окисление ЛНП [9, 38]. Мыши с выключенным геном PON1 («нокаутированной» PON1) проявляют повышенную чувствительность к атеросклерозу, а ЛВП, полученные от таких мышей, в лучшем случае не оказывают эффекта на окисление ЛНП, а в худшем — даже усиливают его [38, 39]. И наоборот, ЛВП, взятые от мышей с повышенной экспрессией PON1, полностью блокируют окисление ЛНП [40]. Предполагают, что именно PON1 опосредует антиоксидантную активность некоторых природных антиоксидантов, например флавоноидов. Концентрация флавоноидов в организме слишком низка для выполнения ими достаточно эффективной антиоксидантной функции, но зато они способны поддерживать третичную структуру PON1, защищая фермент от ингибирования [41].

Нейропатологические эффекты нарушения активности PON1

Работы на мышах с «нокаутированной» PON1 продемонстрировали, что PON1 регулирует большое количество белков, вовлеченных в нарушения специфических функций мозга (обучения, пластичности), его антиоксидантной защиты, а также связанных с нейродегенеративными заболеваниями, такими, как болезнь Альцгеймера [42—44].

Нарушения метилирования, обусловленные недостаточной способностью PON1 гидролизовать тиолактон ГЦ, который блокирует ресинтез главного донора метильных групп (SAM), коррелируют с галлюцинаторными и депрессивными симптомами у больных шизофренией и одновременно с нарушениями иммунной системы [45—47]. А гомоцистеинизация ГЦ-тиолактоном гистоновых белков создает условия для нарушения репарации ДНК, что в совокупности со снижением ресинтеза метионина и, как следствие этого, дефицитом поставляемых метионином метильных групп для ДНК, может вызывать гибель нейронов (рис. 4).

Обнаружено, что даже незначительное снижение уровня метилирования ДНК (не более 10%), связанное с блокадой рециклинга метионина из тиолактона ГЦ, коррелирует с выраженной депрессивной симптоматикой [48].

Индуктируемое инактивацией PON1 накопление в мозге тиолактона ГЦ считается одним из механизмов гиперстимуляции NMDA-рецепторов, связанной с рядом психических симптомов, в частности с абстинентными алкогольными судорогами [24, 43, 49, 50]. Полагают, что тиолактон ГЦ служит альтернативным агонистом NMDA-рецепторов, однако в период алкогольной интоксикации NMDA-рецепторы заблокированы этанолом, в период же абстиненции этанольная блокада снимается и тиолактон вызывает их гиперстимуляцию.

Кроме того, ГЦ-тиолактон проявляет свойства антагониста дофаминергических нейронов, способствуя тем самым дефициту функции «системы награды» в головном мозге. Данная система имеет отношение к развитию алкогольной и наркотической аддикции [24]. Предполагается также еще один механизм блокирования дофаминовой системы при инактивации PON1. Индуцируемый ингибированием PON1 окислительный стресс приводит к дефициту тетрагидробиоптерина, что, как уже упоминалось выше, блокирует NO-синтезирующую активность. Однако тетрагидробиоптерин является также кофактором ферментов, синтезирующих моноаминные нейромедиаторы: дофамин, адреналин и норадреналин, в результате чего дефицит тетрагидробиоптерина приводит к дефициту моноаминной трансмиссии [51].

Роль полиморфизмов PON1 в атерогенных и нейропатологических эффектах

Как атерогенные, так и нейропатологические эффекты могут определяться не только снижением активности PON1, но и принадлежностью фермента к определенным типам генетических полиморфизмов. Известно более 200 однонуклеотидных полиморфиз-

мов PON1, из которых наиболее распространены полиморфизм в положении 192 (PONQ192R) с заменой глутамина на аргинин и в положении 55 (PONL55M) с заменой аминокислоты лейцин на метионин. Указанные полиморфизмы, в особенности полиморфизм PONQ192R, вносят вклад в межвидовую вариабельность степени риска заболевания, связанных с эндотелиальной дисфункцией.

Обозначения аллелей полиморфизма PONQ192R: Q и R — даны по первым буквам слов «Quiet» — спокойный, слабо реагирующий и «Reactive» — активный, характеризующих различную реакцию параоксоназной активности данных аллелей на солевую стимуляцию. Различия в солевой стимуляции легли в основу наиболее распространенного до последнего времени лабораторного способа генотипирования по данному полиморфизму. Более поздние исследования с применением методов ПЦР подтвердили, что Q-аллель соответствует глутамину, а R-аллель — аргинину. Генотипы QQ, QR и RR различаются не только по степени солевой стимуляции, но и по активности различных каталитических центров [52, 53]. Генотип QQ обладает сравнительно низкой способностью гидролизовать параоксон, но высокой антиоксидантной активностью, тогда как генотип RR, напротив, характеризуется максимальной из трех генотипов параоксоназной активностью и минимальной антиоксидантной. Генотип QR занимает промежуточное положение по активности обоих каталитических центров. Спорным и наименее изученным остается вопрос о соотношенности активности тиолактоназного центра с различными генотипами PONQ192R. По одним данным [52, 53], лица с QQ-генотипом характеризуются достоверно более высокой тиолактоназой активностью, чем носители RR-генотипа, тогда как в других работах [54, 55] средняя лактоназная активность RR-генотипа превышала таковую QQ-генотипа.

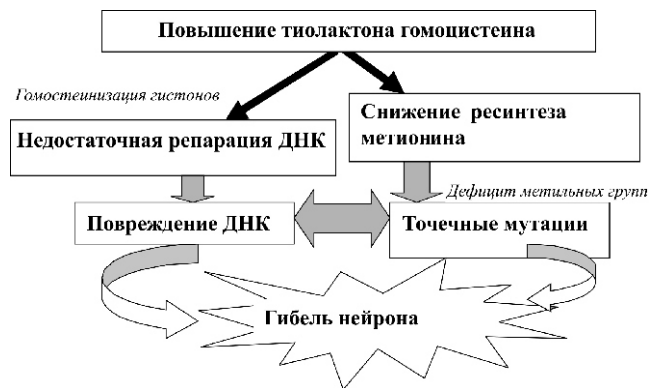


Рис. 4. Роль тиолактона гомоцистеина в повреждении ДНК и обусловленной этим гибели нейронов.

Исследования частотного распределения генотипов QQ-, QR- и RR- в различных популяциях людей выявили достоверную межэтническую вариабельность и вариабельность в отношении предрасположенности к тем или иным заболеваниям. R-аллель более часто встречается у афроамериканцев, а также у жителей Южной, Центральной и Западной Африки, тогда как у европейцев и белых американцев более частым является Q-аллель. Мексиканцы, перуанцы, жители Мозамбика и Эфиопии имеют почти равную частоту Q- и R-аллелей. В большинстве азиатских популяций (японцы, корейцы и китайцы) также отмечена высокая частота R-аллеля [56, 57, 58].

В исследовании Колесниковой Л.И. с соавт. [59], проведенном на территории России в Восточной Сибири, выявлена повышенная частота R-аллеля у бурятской популяции в сравнении с русской популяцией (частотное распределение QQ /QR/RR генотипов в русской популяции составило 35,4% / 56,9% / 7,7%, в бурятской популяции — 20,4% / 62,9% / 16,7%).

Подтверждена также связь между генетическими вариантами полиморфизма PONQ192R и чувствительностью к заболеваниям, в основе которых лежат нарушения антиоксидантного статуса, повышенное окисление ЛНП и гипергомоцистеинемия. Несмотря на то, что результаты, приводимые разными авторами, характеризуются определенной противоречивостью, в большинстве исследований отмечаются протекторные свойства для QQ-генотипа и провоцирующие для RR-генотипа в отношении риска сердечно-сосудистых заболеваний, метаболического синдрома, хронического воспаления [38, 47, 55, 60—64]. В меньшем числе работ обнаружены противоположные эффекты, а именно: защитная роль R-аллеля в снижении риска сосудистых заболеваний [53, 57]. Предполагают, что в последних случаях сказывается влияние специфического генетического фона, то есть наличие перестроек в других генах, способных модифицировать работу PON1, или влияние дополнительных факторов риска эндотелиальной дисфункции.

В частности, в некоторых работах отмечено, что хотя генотип QQ защищает от сосудистой дисфункции и метаболического синдрома, носители этого генотипа обладают повышенным риском развития указанных патологий при условии курения [47]. По всей вероятности, это связано с тем, что органопероксидазный каталитический центр PON1 участвует в детоксикации табачного дыма, а активность этого центра у QQ-генотипа минимальна в сравнении с двумя другими генотипами полиморфизма PONQ192R.

Несмотря на вовлеченность PON1 в метаболизм двух важнейших факторов риска сердечно-сосудистых осложнений алкоголизма, — окисленных ЛНП

и гомоцистеина, — повышение которых у больных алкоголизмом затрагивает многие органы и ткани, в том числе отделы мозга, что дает основания предполагать их вклад и в нервно-психическую составляющую алкогольной болезни, исследования ассоциации этого фермента с алкогольной зависимостью остаются немногочисленными и касаются в основном влияния на активность PON1 умеренного потребления алкоголя. В работах, посвященных изучению активности PON1 у больных алкоголизмом [65, 66], отсутствуют данные о частотном распределении генетических вариантов PON1, без чего трудно оценить степень отклонения активности данного фермента от нормы, различающейся для разных генотипов полиморфизма PONQ192R в 5—9 раз.

Таким образом, накопленные в настоящее время данные говорят об актуальности исследования активности и генетических вариантов PON1 для раннего выявления прогностических маркеров эндотелиальной дисфункции у больных алкоголизмом, для определения наиболее вероятных групп риска и разработки патогенетически обоснованной терапевтической коррекции.

References

1. Bonetti P.O., Lerman L.O., Lerman A. Endothelial dysfunction as marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; 23 (2): 168-75.
2. Vairappan B. Endothelial dysfunction in cirrhosis: Role of inflammation and oxidative stress. *World J. Hepatol.* 2015; 7 (3): 443-59.
3. van Sloten T.T., Schram M.T., Adriaanse M.C., Dekker J.M., Nijpels G., Teerlink T. et al. Endothelial dysfunction is associated with a greater depressive symptom score in a general elderly population: the Hoorn Study. *Psychol. Med.* 2014; 44 (7): 1403-16.
4. Maxwell S., Greig L. Anti-oxidants — a protective role in cardiovascular disease? *Expert. Opin. Pharmacother.* 2001; 2 (11): 1737-50.
5. Pernow J., Jung C. Arginase as a potential target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal? *Cardiovasc. Res.* 2013; 98 (3): 334-43.
6. Besler C., Heinrich K., Rohrer L., Doerries C., Riwan-to M., Shih D.M. et al. Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS-activating pathways in patients with coronary artery disease. *J. Clin. Invest.* 2011; 121 (7): 2693-708.
7. Draganov D.I., La Du B.N. Pharmacogenetics of paraoxanases, a brief review. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2004; 369: 78-88.
8. Troen A.M., Lutgens E., Smith D.E., Rosenberg I.H., Selhub J. The atherogenic effect of excess methionine intake. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100(25): 15089-94.
9. Eren E., Ellidag H.Y., Aydin O., Yilmaz N. Homocysteine, Paraoxonase-1 and Vascular Endothelial Dysfunction: Omnibus viis Romam Pervenitur. *J. Clin. Diagn. Res.* 2014; 8 (9): CE01-4.
10. Gurda D., Handschuh L., Kotkowiak W., Jakubowski H. Homocysteine thiolactone and N-homocysteinylated protein induce pro-atherogenic changes in gene expression in human vascular endothelial cells. *Amino Acids.* 2015; 47(7): 1319-39.

11. Baccarelli A., Wright R., Bollati V., Litonjua A., Zanobetti A., Tarantini L. et al. Ischemic heart disease and stroke in relation to blood DNA methylation. *Epidemiology*. 2010; 21(6): 819-28.
12. Kim Y.R., Kim C.S.I, Naqvi A., Kumar A., Kumar S., Hoffman T.A., Irani K. Epigenetic upregulation of p66shc mediates low-density lipoprotein cholesterol-induced endothelial cell dysfunction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2012; 303 (2): H189-96.
13. Yang X.L., Tian J., Liang Y., Ma C.J., Yang A.N., Wang J. et al. Homocysteine induces blood vessel global hypomethylation mediated by LOX-1. *Genet. Mol. Res.* 2014; 13 (2): 3787-99.
14. Chan G.C., Fish J.E., Mawji I.A., Leung D.D., Rachtlis A.C., Marsden P.A. Epigenetic basis for the transcriptional hyporesponsiveness of the human inducible nitric oxide synthase gene in vascular endothelial cells. *J. Immunol.* 2005; 175 (6): 3846-61.
15. Zhang J.G., Liu J.X., Li Z.H., Wang L.Z., Jiang Y.D., Wang S.R. Dysfunction of endothelial NO system originated from homocysteine-induced aberrant methylation pattern in promoter region of DDAH2 gene. *Chin. Med. J. (Engl)*. 2007; 120 (23): 2132-37.
16. Lu C.X., Xu R.D., Cao M., Wang G., Yan F.Q., Shang S.S. et al. FOXP3 demethylation as a means of identifying quantitative defects in regulatory T cells in acute coronary syndrome. *Atherosclerosis*. 2013; 229 (1): 263-70.
17. Wang L., Liu Y., Beier U.H., Han R., Bhatti T.R., Akimova T., Hancock W.W. et al. Foxp3⁺ T-regulatory cells require DNA methyltransferase 1 expression to prevent development of lethal autoimmunity. *Blood*. 2013; 121 (18): 3631-9.
18. Kubatiev A.A., Alexandrov V.V., Ivanov A.V., Luziannin B.P. The influence of hyperhomocysteinemia on cerebral blood flow according wavelet analysis. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2011; (2): 13-8. (in Russian)
19. Kubatiev A.A., Tomilova E.N., Abramova E.A., Potemkin V.V., Trinity S.Y. The role of hyperhomocysteinemia in the pathogenesis of vascular complications of type 2 diabetes. *Rossiyskiy medicinskiy zhurnal*. 2007; (3): 53-5. (in Russian)
20. Domagaka T.B., Kacinski M., Trzeciak W.H., Mackness B., Mackness M.I., Jakubowski H. The correlation of homocysteine-thiolactonase activity of the paraoxonase (PON1): protein with coronary heart disease status. *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*. 2006; 52 (5): 4-10.
21. Bleich S., Bleich K., Kropp S., Bittermann H.J., Degner D., Sperling W. et al. Moderate alcohol consumption in social drinkers raises plasma homocysteine levels: a contradiction to the 'French Paradox'? *Alcohol Alcohol*. 2001; 36 (3): 189-92.
22. Bleich S., Carl M., Bayerlein K., Reulbach U., Biermann T., Hillemacher T. et al. Evidence of increased homocysteine levels in alcoholism: the Franconian alcoholism research studies (FARS). *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2005; 29 (3): 334-6.
23. Heese P., Linnebank M., Semmler A., Muschler M.A., Heberlein A., Frieling H. et al. Alterations of Homocysteine Serum Levels during Alcohol Withdrawal Are Influenced by Folate and Riboflavin: Results from the German Investigation on Neurobiology in Alcoholism (GINA). *Alcohol and Alcoholism*. 2012; 47 (5): 497-500.
24. Lutz U.C. Alterations in homocysteine metabolism among alcohol dependent patients — clinical, pathobiochemical and genetic aspects. *Curr. Drug Abuse Rev.* 2008; 1 (1): 47-55.
25. Ozen C., Yildiz G., Dagcan A.T., Cevik D., Ors A., Keles U. et al. Genetics and epigenetics of liver cancer. *N. Biotechnol.* 2013; 30 (4): 381-4.
26. Purohit V., Khalsa J., Serrano J. Mechanisms of alcohol-associated cancers: introduction and summary of the symposium. *Alcohol*. 2005; 35 (3): 155-60.
27. Ponomarev I., Wang S., Zhang L., Harris R.A., Mayfield R.D. Gene coexpression networks in human brain identify epigenetic modifications in alcohol dependence. *J. Neurosci.* 2012; 32 (5): 1884-97.
28. Esse R., Rocha M.S., Barroso M., Florindo C., Teerlink T., Kok R.M. et al. Protein arginine methylation is more prone to inhibition by S-adenosylhomocysteine than DNA methylation in vascular endothelial cells. *PLoS One*. 2013; 8 (2): e55483.
29. Polotskaia A., Wang M., Patschan S., Addabbo F., Chen J., Goligorsky M.S. Regulation of arginine methylation in endothelial cells: role in premature senescence and apoptosis. *Cell Cycle*. 2007; 6 (20): 2524-30.
30. Perla-Rajan J., Jakubowski H. Paraoxonase 1 and Homocysteine metabolism. *Amino Acids*. 2012; 43 (4): 1405-17.
31. Antoniadou C., Shirodaria C., Warrick N., Cai S., de Bono J., Lee J. et al. 5-methyltetrahydrofolate rapidly improves endothelial function and decreases superoxide production in human vessels effects on vascular tetrahydrobiopterin availability and endothelial nitric oxide synthase coupling. *Circulation*. 2006; 114 (11): 1193-201.
32. Pekarova M., Lojek A., Martiskova H., Vasicek O., Bino L., Klinke A. et al. New Role for L-Arginine in Regulation of Inducible Nitric-Oxide-Synthase-Derived Superoxide Anion Production in Raw 264.7 Macrophages. *Sci. World J.* 2011; 11: 2443-57.
33. Naruszewicz M., Mirkewicz E., Olszewski A.J., McCully K.S. Thiolation of low-density lipoproteins by homocysteine thiolactone causes increased aggregation and altered interaction with cultured macrophages. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 1994; 4: 70-7.
34. Marcus J., Sarnak M.J., Menon V. Homocysteine lowering and cardiovascular disease risk: lost in translation. *Can J Cardiol.* 2007; 23(9):707-10.
35. Undas A., Perla J., Lacinski M., Trzeciak W.H., Kazmierski R., Jakubowski H. Autoantibodies against N-homocysteinylated proteins in humans: implications for atherosclerosis. *Stroke*. 2004; 35: 1299-304.
36. Wang M., Lang X., Cui S., Zou L., Cao J., Wang S., Wu X. Quantitative assessment of the influence of paraoxonase 1 activity and coronary heart disease risk. *DNA Cell Biol.* 2012; 31(6):975-82.
37. Pirillo A., Norata G.D., Catapano A.L. LOX-1, oxLDL, and atherosclerosis. *Mediators of inflammation*. 2013; 2013: 152786.
38. Mackness B., Turkie W., Mackness M. Paraoxonase-1 (PON1) promoter region polymorphisms, serum PON1 status and coronary heart disease. *Arch. Med. Sci.* 2013; 9 (1): 8-13.
39. Shih D.M., Gu L., Xia Y.R., Navab M., Li W.F., Hama S. et al. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature*. 1998; 394 (6690): 284-7.
40. Tward A., Xia Y.R., Wang X.P., Shi Y.S., Park C., Castellani L.W. et al. Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice. *Circulation*. 2002; 106 (4): 484-90.
41. Atrahimovich D., Vaya J., Khatib S. The effects and mechanism of flavonoid-rePON1 interactions. Structure-activity relationship study. *Bioorg. Med. Chem.* 2013; 21 (11): 3348-55.
42. Borowczyk K., Shih D.M., Jakubowski H. Metabolism and neurotoxicity of homocysteine thiolactone in mice: evidence for a protective role of paraoxonase 1. *J Alzheimers Dis.* 2012; 30(2): 225-31.

43. Suszynska-Zajczyk J., Luczak M., Marczak L., Jakubowski H. Inactivation of the Paraoxonase 1 Gene Affects the Expression of Mouse Brain Proteins Involved in Neurodegeneration. *J. Alzheimers Dis.* 2014; 42 (1): 247-60.
44. Ramesh B.N., Rao T.S., Prakasam A., Sambamurthi K., Rao K.S. J. Neuronutrition and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2010; 19(4): 1123-39.
45. Liu J., Chen J., Ehrlich S., Walton E., White T., Perrone-Bizzozero N. et al. Methylation patterns in whole blood correlate with symptoms in schizophrenia patients. *Schizophrenia Bull.* 2014; 40 (40): 769-76.
46. Mabrouk H., Mechria H., Mechri A., Azizi I., Neffati F., Douki W. et al. Paraoxonase 1 activity and lipid profile in schizophrenic patients. *Asian J Psychiatr.* 2014; 9: 36-40.
47. Bortolasci C.C., Vargas H.O., Souza-Nogueira A., Barbosa D.S., Moreira E.G., Nunes S.O. et al. Lowered plasma paraoxonase (PON)1 activity is a trait marker of major depression and PON1 Q192R gene polymorphism-smoking interactions differentially predict the odds of major depression and bipolar disorder. *J Affect Disord.* 2014; 159: 23-30.
48. Blasco-Fontecilla H., Kebir O., Fananas. Further evidence of DEPDC7 DNA hypomethylation in depression: A study in adult twins. *Eur. Psychiatry.* 2015; 4. pii: S0924-9338(15)00087-5.
49. Bayerlein K., Hillemecher T., Reulbach U., Mugele B., Sperling W., Kornhuber J., Bleich S. et al. Alcoholism-associated hyperhomocysteinemia and previous withdrawal seizures. *Biol. Psychiatry.* 2005; 57(12): 1590-3.
50. Lipton S.A., Kim W.K., Choi Y.B., Kumar S., D'Emilia D.M., Rayudu P.V. et al. Neuro-toxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997; 94 (11): 5923-8.
51. Muller N., Myint A.M., Schwarz M.J. Inflammatory biomarkers and depression. *Neurotox. Res.* 2011; 19: 308-18.
52. Crawford A., Fassett R.G., Geraghty D.P., Kunde D.A., Ball M.J., Robertson I.K., Coombes J.S. Relationships between single nucleotide polymorphisms of antioxidant enzymes and disease. *Gene.* 2012; 501(2): 89-103.
53. Bhattacharyya T., Nicholls S.J., Topol E.J., Zhang R., Yang X., Schmitt D. et al. Relationship of paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphisms and functional activity with systemic oxidative stress and cardiovascular risk. *JAMA.* 2008; 299 911): 1265-76.
54. Billecke S., Draganov D., Counsell R., Stetson P., Watson C., Hsu C., La Du BN. Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab. Dispos.* 2000; 28 (11): 1335-42.
55. McDaniel C.Y., Dail M.B., Wills R.W., Chambers H.W., Chambers J.E. Paraoxonase 1 Polymorphisms Within a Mississippi USA Population as Possible Biomarkers of Enzyme Activities Associated With Disease Susceptibility. *Biochem Genet.* 2014; 52(11-12): 509-23.
56. Gaidukov L., Rosenblat M., Aviram M., Tawfik D.S. The 192R/Q polymorphs of serum paraoxonase PON 1 differ in HDL binding, lipolactonase stimulation, and cholesterol efflux. *J. Lipid Res.* 2006; 47 (11): 2492-502.
57. Jakubowski H., Ambrosius W.T., Pratt J.H. Genetic determinants of homocysteine thiolactonase activity in humans: implications for atherosclerosis. *FEBS Letters.* 2001; 491 (1-2): 35-9.
58. Pejin-Grubisa I. HDL-associated paraoxonase 1 gene polymorphisms as a genetic markers for wide spread diseases. In: Frank S., Kosther G., eds. *Lipoproteins — role in health and diseases.* In Tech. 2012: 431-45.
59. Kolesnikova L.I., Bayrova T.A., Pervushina O.A., Grebyonkina L.A. Association of polymorphism (192) Q> R gene paraoxonase with the lipid profile, components of lipid peroxidation and antioxidant protection in Russian and Buryat populations of Eastern Siberia. *Genetika.* 2015; 51 (2): 236-41. (in Russian)
60. Can Demirdogen B., Turkanoglu A., Bek S., Sanisoglu Y., Demirkaya S., Vural O. et al. Paraoxonase/arylesterase ratio, PON1 192Q/R polymorphism and PON 1 status are associated with increased risk of ischemic stroke. *Clin. Biochem.* 2008; 41 (1-2): 1-9.
61. Litvinov D., Mahini H., Garelnabi M. Antioxidant and Anti-Inflammatory Role of Paraoxonase 1: Implication in Arteriosclerosis Diseases. *N. Am. J. Med. Sci.* 2012; 4 (11): 523-32.
62. Luersen K., Schmelzer C., Boesch-Saadatmandi C., Kohl C., Rimbach G., Doring F. Paraoxonase 1 polymorphism Q192R affects the pro-inflammatory cytokine TNF-alpha in healthy males. *BMC Res. Notes.* 2011; 4: 141.
63. Mahrooz A., Gohari G., Hashemi M.B., Zargari M., Musavi H., Abedini M., Alizadeh A. et al. R-carrying genotypes of serum paraoxonase (PON1) 192 polymorphism and higher activity ratio are related to susceptibility against ischemic stroke. *Mol. Biol. Rep.* 2012; 39 (12): 1177-85.
64. Prakaschandra D.R., Naidoo D. The interaction of common polymorphisms of the lipoprotein lipase and pon1 genes with cardiovascular risk factors in the phoenix community. *Cardiovasc. Res.* 2014; 103 (Suppl 1): S36.
65. Marsillach J., Ferre N., Vila M.C., Lligona A., Mackness B., Mackness M. et al. Serum paraoxonase-1 in chronic alcoholics: relationship with liver disease. *Clin. Biochem.* 2007; 40 (9-10): 645-50.
66. Varatharajulu R., Garige M., Leckey L.C., Gong M., Lakshman M.R. Betaine protects chronic alcohol and omega-3 PUFA-mediated down-regulations of PON1 gene, serum PON1 and homocysteine thiolactonase activities with restoration of liver GSH. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2010; 34 (3): 424-31.

Поступила 10.11.15

Сведения об авторах:

Панченко Леонид Федорович, доктор мед. наук, проф., акад. РАН, зав. лаб. биохимии НИИН — филиала ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П.Сербского» Минздрава РФ, зав. лаб. молекулярных основ болезней зависимости ФГБУН «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Баронец Валерия Юрьевна, ст. науч. сотр. лаб. биохимии, e-mail: biochn@mail.ru

Пирожков Сергей Викторович, доктор мед. наук, проф. каф. патофизиологии

Теребиллина Наталия Николаевна, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. биохимии, e-mail: n.terebilina@mail.ru

Шойбонов Батожаб Батожагалович, канд. хим. наук, вед. науч. сотр. лаб. физиологии мотиваций.