

EWA CZECH¹, MAREK HARTLEB²

Polimorfizm genetyczny dehydrogenazy alkoholowej – znaczenie patofizjologiczne

Genetic Polymorphism of Alcohol Dehydrogenase – Pathophysiologic Implications

¹ Katedra i Zakład Diagnostyki Izotopowej Śl. AM w Katowicach

² Katedra i Klinika Gastroenterologii Śl. AM w Katowicach

Streszczenie

Wątrobowa dehydrogenaza alkoholowa (ADH) ma decydujące znaczenie w metabolizmie tlenowym etanolu. Kliniczna ekspresja choroby alkoholowej zależy w dużej mierze od ADH, której aktywność znajduje się pod kontrolą hormonów płciowych i czynników genetycznych. ADH występuje w postaci ponad 20 izoenzymów, które ze względu na różnice strukturalne i czynnościowe podzielono na 5 klas. Genetyczny polimorfizm ADH dotyczy u ludzi genów klasy I – ADH₂ oraz ADH₃ – i ma istotny wpływ na występowanie poalkoholowych objawów naczynioruchowych, hepatotoksyczność alkoholu, a także na ryzyko karcynogenezy, uzależnienia od alkoholu oraz uszkodzenia płodu u matek pijących alkohol w ciąży (*Adv. Clin. Exp. Med.* 2003, 12, 6, 801–809).

Słowa kluczowe: dehydrogenaza alkoholowa, polimorfizm genetyczny, alkoholizm.

Abstract

Hepatic alcohol dehydrogenase (ADH) plays a principal role in oxidative metabolism of ethanol. Clinical expression of alcoholic liver disease depends in great degree upon ADH activity which is under control of sex hormones and genetic factors. ADH is known to occur in over 20 isoforms which have been divided into 5 classes, according to their variable structural and functional characteristics. In humans the genetic polymorphism regards ADH₂ and ADH₃ (class I) and has an important influence on incidence of postalcoholic vasoreactive symptoms, severity of alcohol hepatotoxicity and risk of carcinogenesis, alcohol addiction or fetal injury in women drinking alcohol in pregnancy (*Adv. Clin. Exp. Med.* 2003, 12, 6, 801–809).

Key words: alcohol dehydrogenase, genetic polymorphism, alcoholism.

Polimorfizm genetyczny ADH

Dehydrogenaza alkoholowa (ADH) ma największy udział w biotransformacji alkoholu etylowego. Jest polimorficznym metaloenzymem zależnym od dinukleotydu nikotynamidoadenyloвого (NAD⁺), zawierającym dwa atomy cynku, jeden strukturalny, a drugi w centrum katalitycznym. Obecność ADH potwierdzono w wielu narządach i tkankach człowieka (tab. 1), ale aż 90% tego enzymu znajduje się w cytoplazmie hepatocytów. Z tego powodu wątroba nie tylko

odgrywa podstawową rolę w tlenowym metabolizmie etanolu, lecz jest także narządem najbardziej narażonym na toksyczne działanie metabolitów alkoholu. W odróżnieniu od układu mikrosomalnego MEOS i ADH żołądkowej [8], wątrobowa dehydrogenaza wykazuje stały poziom aktywności, niezależnie od ilości spożywanego alkoholu.

Ostatnio przeprowadzone badania wskazują, iż aktywność wątrobowej ADH jest większa u samic niż samców szczurów i myszy, których kastracja prowadzi do wzrostu aktywności ADH. Obserwacja ta wyraźnie dowodzi, że aktywność metabolizmu tlenowego alkoholu jest kontrolo-

Tabela 1. Lokalizacja ADH w narządach i tkankach człowieka [wg 40]**Table 1.** Localization of ADH in human organs and tissues [40]

Narząd (Organ)	Rodzaj komórek (Type of cells)
Wątroba (Liver)	hepatocyty (hepatocytes)
Żołądek (Stomach)	komórki – komórki wytwarzające śluz (mucous produced cells)
Dwunastnica i jelito cienkie (Duodenum and small bowel)	enterocyty (enterocytes)
Jelito grube i proste (Large bowel)	komórki nabłonkowe (epithelial cells)
Nerka (Kidney)	komórki nabłonkowe kanalików (canalicular epithelium)
Mózg (Brain)	neurony i astrocyty (neurons and astrocytes)
Móżdżek (Cerebellum)	komórki Purkiniego i astrocyty (Purkinje cells and astrocytes)
Podwzgórze (Hypothalamus)	neurony (neurons)
Trzustka (Pancreas)	komórki wysepek Langerhansa (Langerhans islet cells)
Nadnercza (Suprarenal glands)	kora i rdzeń (cortex and medulla)
Jądra (Testicles)	komórki nabłonka kanalików nasiennych i komórki Leydiga (epithelium of seminal ductules and Leydig cells)
Prostata i najądrze (Prostate and epididymis)	komórki nabłonkowe ((epithelium)
Mięsień sercowy (Myocardium)	miocyty – bardzo małe ilości enzymu (myocytes – small amounts of enzymes)
Macica i jajniki (Uterus and ovaries)	miocyty i nabłonek – bardzo małe ilości enzymu (myocytes and epithelium – small amounts of enzymes)

wana przez hormony płciowe. Hamujący wpływ androgenów na metabolizm etanolu prawdopodobnie polega na zwiększonej degradacji ADH wskutek zdolności testosteronu do uwalniania proteolitycznych enzymów lizosomalnych oraz pobudzania procesu ubikwitynacji [26]. Przeciwny wpływ na aktywność ADH ma β -estradiol, lecz mechanizmy tego działania są słabo poznane. Wyższa aktywność wątrobowej ADH u kobiet jest odpowiedzialna za nadprodukcję aldehydu octowego. Zjawisko to tłumaczy niższy próg hepatotoksyczności alkoholu u kobiet niż mężczyzn. W przeciwieństwie do enzymu wątrobowego aktywność żołądkowej ADH jest ponad dwukrotnie większa u mężczyzn niż u kobiet [18, 30]. Mimo że żołądkowa ADH stanowi zaledwie 0,3–0,4% zasobów wątrobowych, to strategicznie ważna lokalizacja izoenzymu żołądkowego decyduje o jego dużym znaczeniu biologicznym. Obecność ADH w śluzówce żołądka ma znaczenie hepatoprotekcyjne, ponieważ 10–30% dawki alkoholu może być metabolizowane przedwątrobowo. Mniejszy efekt „*pierwszego przejścia*” etanolu stanowi więc u kobiet kolejny czynnik ryzyka uszkodzenia wątroby. Udział żołądkowej ADH zależy też od czynników dietetycznych. Posiłek bogaty w tłuszcz zmniejsza bowiem opróżnianie żołądkowe i przedłuża kontakt alkoholu ze śluzówką żołądka. U chorych z przewlekłym zapaleniem błony śluzowej żołądka oraz u osób zażywających kwas acetylosalicylowy lub leki z grupy antagonistów receptorów H_2 -histaminowych, stę-

żenie etanolu we krwi osiąga wyższe stężenia z powodu mniejszej aktywności ADH w ścianie żołądka [29].

Rodzina genów ADH koduje enzymy, które mogą metabolizować nie tylko etanol, lecz także metanol, retinol i inne alifatyczne alkohole oraz hydroksysteroidy i produkty peroksydacji lipidów [1]. Strukturalnie ADH jest dimerem białkowym składającym się z dwóch podjednostek o masie 80 kD. ADH u ludzi występuje w postaci ponad 20 izoenzymów, które ze względu na różnice strukturalne i czynnościowe podzielono na 5 klas [1, 11]. U innych kręgowców wykazano istnienie trzech dodatkowych klas ADH, tj. klasy VI u gryzoni [43], klasy VII u kurcząt [19] oraz klasy VIII u żab [31]. Nie znaleziono dotychczas żadnego gatunku, który miałby jednocześnie wszystkie klasy ADH [8]. We właściwościach enzymatycznych ADH istnieją istotne różnice międzygatunkowe (tab. 2), które należy uwzględnić w interpretacji badań eksperymentalnych na zwierzętach. Charakterystykę poszczególnych klas ADH u ludzi przedstawiono w tabeli 3. Klasom przyporządkowano 7 *loci* genowych pochodzących z asocjacji różnych typów podjednostek.

W badaniach eksperymentalnych często wykorzystuje się związki hamujące aktywność poszczególnych izoenzymów [24]. Dla dehydrogenaz utleniających alkohole o krótkim łańcuchu węglowym, podstawowym inhibitorem jest pirazol i jego pochodna – 4-metylopirazol. Inhibitory te hamują znacznie słabiej izoenzymy klasy II,

Tabela 2. Porównanie właściwości wątrobowej ADH u człowieka i szczura [44]**Table 2.** Comparison of properties of hepatic ADH in man and rat [44]

Właściwości ADH (ADH properties)	Człowiek (Man)	Szczur (Rat)
Izoenzym (Isoenzyme)	klasa I i klasa II (małe ilości) (class I and class II – small amounts)	klasa I (podobne do ADH ₃) (class I; similar to ADH ₃)
Aktywność przy pH 7,4 U/g tkanki (Activity at pH 7,4 U/g tissue)	1,54 ± 0,17	1 ± 0,15
Aktywność przy pH 10,5 U/g tkanki (Activity at pH 10,5 U/g tissue)	6,24 ± 0,56	2,72 ± 0,21
K _m przy pH 10,5 nmol/l (K _m at pH 10,5 nmol/l)	2,10 ± 0,36	1,02 ± 0,25
V _{max} U/g tkanki (V _{max} U/g tissue)	7,70 ± 0,7	2,96 ± 0,43
Inhibicja pirazolowa (Pyrazole inhibition)	wysoka czułość niezależna od wzrostu zasadowego pH (high sensitivity not influenced by raised alkaline pH)	wysoka czułość zależna od wzrostu zasadowego pH (high sensitivity influenced by raised alkaline pH)

Tabela 3. Charakterystyka genetyczna ludzkiej ADH**Table 3.** Genetic characteristics of human ADH

Klasa (Class)	Lokalizacja chromosomalna (Chromosomal location)	Gen* (Gene)	Allele* (Alleles)	Białko (Peptide)	Dimery izoenzymów (Dimeric isoenzymes)		
I	4q22	ADH ₁	ADH1A	ADH1	ADH1A	α	αα, αβ ₁ , αβ ₂ , αγ ₁ , αγ ₂
I	4q22	ADH ₂	ADH1B	ADH2*1	ADH1B*1	β ₁	β ₁ β ₁ , β ₁ β ₂ , β ₁ γ ₁ , β ₁ γ ₂
I				ADH2*2	ADH1B*2	β ₂	β ₂ β ₂ , β ₂ γ ₁ , β ₂ γ ₂
I				ADH2*3	ADH1B*3	β ₃	β ₃ β ₃
I	4q22	ADH ₃	ADH1C	ADH3*1	ADH1C*1	γ ₁	γ ₁ γ ₁ , γ ₁ γ ₂
I				ADH3*2	ADH1C*2	γ ₂	γ ₂ γ ₂
II	4q21-25	ADH ₄	ADH2	ADH4	ADH2	π	ππ
III	4q21-25	ADH ₅	ADH3	ADH5	ADH3	χ	χχ
IV	4q23-24	ADH ₆	ADH4	ADH7	ADH4	σ	σσ lub μμ
V	4q21-25	ADH ₇	ADH5	ADH6	ADH5	?	??

* Alternatywna nomenklatura dla rodziny genów ADH (alternative nomenclature of the ADH gene family) [11].

Tabela 4. Inhibitory ADH**Table 4.** Inhibitors of ADH

Związek chemiczny (Substance)	Hamowany izoenzym (Inhibited isoenzyme)	Piśmiennictwo (References)
4 metylopirazol (4-metyl pyrazole)	klasa I, II (class I, II)	[16]
1,10 fenantrolina (1,10 phenanthroline)	klasa I, II, III (class I, II, III)	[10,16]
N-cyklopentyl-N-cyklobutyloformamid (N-cyclopentyl-N-cyclobutyloformamide)	klasa Iα (class Iα)	[33]
N-benzylformamid (N-benzylformamide)	końska ADH, klasa Iβ ₁ (horse ADH, class Iβ ₁)	[33]
N-1-metyloheptyloformamid (N-1-methyloheptyloformamide)	klasa II, γ ₂ (class II, γ ₂)	[33]
N-heptyloformamid (N-heptyloformamide) Ro 15-4513	klasa IV, klasa Iβ ₁ (class IV, class Iβ ₁) końska wątrobowa ADH (horse liver ADH)	[33]
Cymetydyna (Cimetidine)	klasa I, IV, CYP2E1 (class I, IV, CYP2E1)	[18]
Ranitydyna (Ranitidine)	klasa IV(class IV)	[18]

a na aktywność ADH klasy III nie mają żadnego wpływu. W tabeli 4 przedstawiono inhibitory poszczególnych klas ADH.

Występowanie charakterystycznych izoenzymów ADH u ludzi jest ściśle związane z czynnikami genetycznymi. U Japończyków i mieszkańców Tajwanu występuje polimorfizm w obrębie alleli ADH2, lecz homozygotyczność w obrębie ADH3. Przedstawiciele rasy kaukaskiej wykazują względną homozygotyczność w obrębie ADH2, ale prezentują heterozygotyczność w ADH3. Częstość występowania izoenzymu ADH3 jest mniejsza u przedstawicieli rasy kaukaskiej niż orientalnej [21]. U przedstawicieli rasy kaukaskiej najczęściej występującym izoenzymem jest ADH1, a u ludności orientalnej i afrykańskiej dominuje izoenzym ADH2. Podjednostkę β_2 izoenzymu ADH2 stwierdza się tylko u 5–10% Anglików, 9–14% Niemców i 20% Szwajcarów, u przedstawicieli rasy orientalnej natomiast jej częstość występowania szacuje się na około 85% [1].

Klasa I

Do ADH klasy I zaliczono homo- i heterodimery podjednostek białkowych typu α , β , γ – kodowanych przez trzy strukturalnie odmienne *loci* genowe ADH₁–ADH₃. Wartość K_m tych izoenzymów wynosi < 4 mM, dlatego odgrywają główną rolę w metabolizmie alkoholi o krótkich łańcuchach węglowych, szczególnie etanolu. Podjednostki ADH klasy I są zbudowane z 374 aminokwasów, a strukturalne różnice jakościowe nie przekraczają 10% aminokwasów. Podjednostka α różni się od podjednostki β 24 aminokwasami, a od podjednostki γ 20 aminokwasami. Wszystkie podjednostki różnią się między sobą tylko w 3 pozycjach sekwencyjnych aminokwasów, tj. 143, 319 i 327. Badania sekwencji aminokwasów ADH w wątrobach przedstawicieli rasy kaukaskiej i orientalnej ujawniły, że atypowe podjednostki kodowane przez *loci* ADH₂ nie wykazują różnic, poza jednym aminokwasem w pozycji 47, w której arginina z łańcucha β_1 jest podstawiona w łańcuchu β_2 histydyną. Ta niewielka różnica ma jednak istotny wpływ na właściwości enzymatyczne ADH, które dotyczą m.in. obniżenia optimum pH reakcji i zwiększenia ilości obrotów enzymu. W łańcuchu izoenzymu β_3 stwierdza się w pozycji 369 zamiast cysteiny argininę [29]. Analiza sekwencji podjednostek, γ_1 i γ_2 wykazała różnice w pozycjach 271 (arginina/glicyna) i 349 (izoleucyna/walina). Tylko w klasie I izoenzymy ADH mogą być utworzone w 3 wariantach podjednostek, tj. homodimerów kodowanych przez swoiste alle-

le jednego *loci* ($\alpha\alpha$, $\beta\beta$, $\gamma\gamma$), heterodimerów kodowanych przez strukturalnie odmienne *loci* ($\alpha\beta$, $\alpha\gamma$) oraz heterodimerów kodowanych przez różne allele tego samego *loci* ($\beta_1\beta_2$, $\gamma_1\gamma_2$) [9]. Aktywność katalityczna homodimerów β_2 ADH₂*2 jest około 40 razy większa od homodimerów β_1 ADH₂*1, podczas gdy aktywność homodimerów γ_1 ADH₃*1 jest tylko dwukrotnie wyższa od γ_2 ADH₃*2. Dotychczas nie stwierdzono u ludzi polimorfizmu podjednostki α .

Klasa II

ADH klasy II jest kodowana przez gen ADH₄. Izoenzym ten zbudowany z podjednostek π , wykazuje wysoką aktywność enzymatyczną przy utlenianiu alkoholi alifatycznych o długich łańcuchach węglowych oraz alkoholi aromatycznych (K_m 18–24 mM). Białko π jest zbudowane z 391 aminokwasów i u ludzi, w odróżnieniu od niektórych gatunków zwierząt, nie wykazuje polimorfizmu. ADH tej klasy jest mało wrażliwa na inhibicję przez pirazol, stąd nazwa podjednostki π (pi, pyrazole insensitive).

Klasa III

ADH klasy III, kodowana przez gen ADH₅ jest zbudowana z 373 aminokwasów. Izoenzym ten nie bierze udziału w utlenianiu etanolu i retinolu [11]. Z powodu wysokiej wartości K_m > 3 M utlenia głównie alkohole o dłuższych od etanolu łańcuchach węglowych i ω -kwasy hydroksytłuszczowe. Podjednostki $\chi\chi$ ADH klasy III nie wykazują polimorfizmu.

Wykazano, że ADH klasy III i glutationozależna dehydrogenaza formaldehydowa są tymi samymi enzymami [20]. Biologicznie ważne znaczenie tej klasy ADH polega na tym, iż izoenzym ten jest obecny we wszystkich tkankach ssaków w ewolucyjnie niezmienionej formie. ADH klasy III wykazuje funkcje protekcyjne w stosunku do DNA, chroniąc go przed działaniem formaldehydu, który jest produktem ubocznym metabolizmu aminokwasów oraz puryn/pirymidyn [23]. Formaldehyd jest ponadto naturalnym składnikiem owoców, miodu, kawy i innych produktów spożywczych. W komórkach formaldehyd reaguje z glutationem (GSH), wyczerpując jego zasoby i zmniejszając komórkowy potencjał antyoksydacyjny. ADH klasy III bierze udział w odbudowywaniu GSH poprzez katalizowanie utleniania spontanicznie powstałego adduktu – S-hydroksyme-

tylo-GSH do S-formylo-GSH. Związek ten jest następnie zredukowany do GSH i mrówczanu [39]. Ostatnio odkryto inną ważną rolę ADH klasy III, która polega na kontroli wewnątrzkomórkowego stężenia S-nitrozo-GSH i procesu S-nitrozylacji białek [22].

Klasa IV

ADH klasy IV (sigma, podjednostki $\sigma\sigma$ lub $\mu\mu$) jest izoenzymem zbudowanym z 374 aminokwasów, znajdującym się głównie w błonie śluzowej żołądka, a także w niewielkich ilościach w skórze, ścianie naczyń krwionośnych oraz jądrach i najądrzach. Izoenzymu tego nie stwierdzono w wątrobie [8]. ADH klasy IV jest kodowany przez gen ADH_7 , zlokalizowany na ludzkim chromosomie 4q23 – q24 w pobliżu innych genów ADH. Fakt ten wskazuje na filogenetyczne pokrewieństwo ADH klasy IV z innymi dehydrogenazami alkoholowymi. Żołądkowa ADH wykazuje w stosunku do etanolu umiarkowaną aktywność, która jest większa u mężczyzn niż u kobiet [30]. W śluzówce trzonu żołądka aktywność ADH klasy IV jest u mężczyzn ponad 100-krotnie wyższa od aktywności ADH klasy I i 400-krotnie od aktywności ADH klasy II [18].

Klasa V

ADH klasy V jest ostatnio odkrytym izoenzymem, który znajduje się w wątrobie i błonie śluzowej żołądka. Enzym ten jest kodowany przez gen ADH_6 , który nie został jeszcze dokładnie opisany [1]. Ekspresję enzymatyczną ADH klasy V stwierdzono również w bakterii jelitowych *Escherichia coli*.

Analiza DNA z hybryd zawierających fragmenty ludzkiego chromosomu 4 wykazała, że wszystkie klasy genów ADH są zlokalizowane na długim ramieniu chromosomu 4 między 4q21 i 4q25. Krótkołańcuchowe alkohole, jak etanol i metanol, są przede wszystkim utleniane przez izoenzymy klasy I, a tylko w małym stopniu przez izoenzymy klasy II i III.

Porównanie sekwencji aminokwasów ADH u różnych gatunków kręgowców wskazuje na istnienie wspólnego prekursora, którym najprawdopodobniej jest ADH klasy III, należąca do rodziny średnio-łańcuchowej dehydrogenazy/reduktazy [11]. Obecność ADH klasy III stwierdza się zarówno w organizmach wyższych, jak i w roślinach, drożdżach i bakteriiach.

Znaczenie polimorfizmu ADH w procesach patologicznych

Hipotezę o wpływie polimorfizmu ADH w patogenezie choroby alkoholowej wysunął jako pierwszy Stomatoyannopoulos w 1975 r. [37]. Spośród występujących u ludzi 7 genów ADH, polimorfizm dotyczy wyłącznie genów ADH_2 i ADH_3 , ale różnice czynnościowe dotyczące odpowiednich izoenzymów ADH łącznie z polimorfizmem dehydrogenazy aldehydu octowego sprawiają, że reakcja na spożycie etanolu i objawy choroby alkoholowej są u poszczególnych osób mało przewidywalne i charakteryzuje je duża zmienność międzyosobnicza [17].

Poalkoholowe czerwienienie twarzy

Poalkoholowe czerwienienie twarzy (facial flushing) jest następstwem nadmiaru aldehydu octowego we krwi. Przyczyną nagromadzenia we krwi tego związku już po niewielkiej ilości spożytego alkoholu może być przyspieszony metabolizm etanolu i/lub niedobór dehydrogenazy aldehydu octowego (ALDH).

Poalkoholowe czerwienienie twarzy wiązano początkowo wyłącznie z występowaniem polimorficznej formy $ALDH_2^*1$, która odpowiada za bardzo wolną eliminację aldehydu octowego. Nie jest to jednak jedyna przyczyna czerwienienia twarzy, bowiem reakcję taką obserwuje się także u osobników z prawidłowymi izoformami ALDH. Badania Shibuya et al. [36] opublikowane w 1983 r. wykazały, że w populacji Azjatów istnieje związek między czerwienieniem twarzy po spożyciu alkoholu a obecnością alleli ADH_2^*2 . Poalkoholowe czerwienienie twarzy występuje u 8–12% Japończyków oraz u 35–45% Tajwańczyków z genotypem $ADH_2^*2/*2$ i $ADH_2^*1/*2$ [7,38]. Takeshita et al. [38] nie obserwowali natomiast tego zjawiska u Japończyków z genotypem $ADH_2^*1/*1$. W badaniach japońskich u ponad 90% osób dotkniętych poalkoholowym czerwienieniem twarzy stwierdza się obecność tzw. superaktywnej formy ADH_2 , kodowanej przez $ADH_2^*2/*2$ lub $ADH_2^*1/*2$ [34]. Aktywność katalityczna tego izoenzymu *in vivo* jest 10–20 razy większa niż u osobników z $ADH_2^*1/*1$ [41]. Superaktywna forma ADH_2 jest więc odpowiedzialna za występowanie po spożyciu nawet niewielkiej ilości etanolu bardzo wysokich stężeń aldehydu octowego nie tylko w wątrobie, ale również we krwi.

Uważa się, że w grupach etnicznych mających homozygotyczne genotypy ADH^*2 i $ALDH^*2$ brak

poalkoholowego czerwienienia twarzy może być wynikiem obecności rzadko występującej formy ADH3*2. Wśród przedstawicieli rasy kaukaskiej występowanie polimorfizmu ADH2 jest marginalne, czerwienienie twarzy natomiast obserwuje się u osobników z postacią ADH3 tego enzymu. U mężczyzn objaw ten jest związany głównie z obecnością allelu ADH3*1, a u kobiet zarówno z ADH3*1, jak i z ADH3*2. U kobiet duży wpływ na występowanie poalkoholowego czerwienienia twarzy przypisuje się żeńskim hormonom płciowym.

U wielu osobników populacji azjatyckiej występuje niedobór aktywności ALDH2, który jest spowodowany pojedynczą mutacją punktową w genie kodującym ten enzym [15]. U około 8% Japończyków z takim profilem enzymatycznym z przyczyn nadal niezrozumiałych nie dochodzi do poalkoholowego czerwienienia twarzy. Brak sygnału ostrzegawczego w postaci reakcji naczynioruchowych, jakimi są czerwienienie twarzy oraz przyspieszenie tętna, może sprzyjać rozwojowi alkoholowej choroby wątroby i chorób nowotworowych. Jednoczesna obecność formy nieaktywnej ALDH i superaktywnej ADH2 zwiększa wybitnie ryzyko alkoholowego uszkodzenia wątroby na skutek kumulacji w tym narządzie aldehydu octowego, który oprócz właściwości cytotoksycznych, zwiększa wytwarzanie tkanki włóknistej i uruchamia mechanizmy autoimmunologiczne.

Alkoholowa choroba wątroby

U 10–20% ludzi uzależnionych od alkoholu rozwija się marskość wątroby, u 5% przewlekłe zapalenie trzustki, a u 1% obie te choroby jednocześnie. Badania osobników rasy kaukaskiej wykazały istnienie wyraźnej zależności między marskością wątroby i genotypem ADH. Porównanie zdrowych dawców krwi z chorymi na alkoholową marskość wątroby wykazało u tych ostatnich ponad 40% wzrost częstości występowania ADH3*2/*2 i 8% ADH2*1/*1 [14]. U alkoholików bez istotnego uszkodzenia wątroby profil genetyczny prezentował pośredni wzorzec między osobami niepijącymi alkoholu i pijącymi z alkoholową marskością wątroby [3,13]. Osobnicy z genotypami ADH2*1/*1 [14], ADH2*3/*3 [32] oraz ADH3*2/*2 [12] mają mniej aktywne formy enzymatyczne, co może być przyczyną wolniejszego powstawania aldehydu octowego i mniej nasilonych efektów toksycznych nadużywania alkoholu [4]. Występowanie powyższych form ADH jest też prawdopodobnie przyczyną aktywacji innych szlaków metabolicznych etanolu, np. CYP2E1 lub

przemiany beztlenowej, co pozwala na spożywanie większych ilości alkoholu bez towarzyszących objawów mózgowych. W populacji Japończyków częstość występowania alleli ADH3*2 jest bardzo mała, dlatego polimorfizm ADH nie ma w tym kraju tak wyraźnego znaczenia w patogenezie alkoholowej choroby wątroby. W krajach azjatyckich znacznie większe znaczenie przypisuje się polimorfizmowi ALDH2 [12], a badania przeprowadzone wśród Chińczyków sugerują, że genem decydującym o skłonności do alkoholizmu jest ALDH2*1 [5].

Choroby nowotworowe

Podstawowym czynnikiem karcinogennym u osób uzależnionych od alkoholu wydaje się aldehyd octowy. U alkoholików z nowotworami okrężnicy lub odbytnicy stwierdzono zwiększoną częstość występowania alleli ADH3*1 w porównaniu do alkoholików bez patologii jelita grubego. Wątrobowy izoenzym ADH3*1 jest również związany ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia raka sutka, jamy ustnej i przełyku [6,34]. Aktywność izoenzymu ADH3*1 w zakresie przekształcania etanolu do aldehydu octowego jest dwukrotnie większa niż ADH3*2. W badaniu japońskim stwierdzono zwiększoną zapadalność na nowotwory górnych dróg oddechowych u alkoholików z obecnością genotypu ADH2*1 [42], ale rola ADH2 w procesie karcinogenezy pozostaje niejasna. Ryzyko choroby nowotworowej jelita grubego może być także związane z miejscowym metabolizmem etanolu. Seitz et al. [34], badając fenotypy ADH jelitowej błony śluzowej, stwierdzili u alkoholików z gruczolakorakami i gruczolakami jelita grubego obecność ADH klasy IV ($\sigma\sigma$), podczas gdy izoenzym ten nie występował u osób ze zdrowym jelitem. W przypadku raka jelita grubego źródłem zagrożenia nowotworowego może być nie tylko ADH znajdująca się w błonie śluzowej jelita, lecz także ADH bakterii jelitowych.

Płodowy zespół alkoholowy

U około 10% kobiet pijących regularnie alkohol w czasie ciąży pojawia się tzw. płodowy zespół alkoholowy (fetal alcohol syndrome – FAS). Zespół ten charakteryzuje się wadami rozwojowymi u płodu w obrębie ośrodkowego układu nerwowego i twarzoczaszki, niskim wzrostem oraz zaburzeniami rozwoju umysłowego. W wieku późniejszym dzieci z FAS są nadpobudliwe, niedojrzałe emocjonalnie oraz wykazują zaburzenia koncentracji uwagi i pamięci. Badania epidemiologiczne

logiczne wskazują, że dodatkowymi czynnikami podwyższonego ryzyka wystąpienia zespołu FAS jest afroamerykańska przynależność etniczna, ciąża mnoga oraz zaawansowany wiek ciężarnej.

Badania eksperymentalne dowodzą, że stopień mikrocefali u płodów koreluje z wielkością maksymalnych stężeń etanolu we krwi [2]. Jeżeli szczytowe stężenie etanolu ma decydujące znaczenie dla teratogenności alkoholu u ludzi, to polimorfizm ADH może być istotnym czynnikiem sprzyjającym lub utrudniającym wystąpienie zespołu FAS. Badania genetyczne płodów matek czarnej ludności Kapsztadu ujawniły w zespole FAS małą częstość występowania allelu ADH2*2 w porównaniu do płodów, u których zespół ten nie występował. Fakt ten wskazuje na protekcyjne znaczenie obecności ADH2*2 u płodów narażonych na wysokie stężenia etanolu [14]. Innym genetycznym czynnikiem protekcyjnym, jak wykazują badania amerykańskie, jest obecność allelu ADH2*3 [25]. U ciężarnych spożywających regularnie alkohol obecność allelu ADH2*3 wpływa korzystnie zarówno na szybkość wewnątrzmacicznego wzrostu płodu, jak i na neurologiczny rozwój noworodka. W warunkach wysokiego stężenia etanolu we krwi izoenzym ADH2*3, jako znacznie aktywniejszy od izoenzymu ADH2*1, nie dopuszcza do wysokich stężeń etanolu we krwi płodu [25]. Allel ADH2*3 występuje u 25% ludności afroamerykańskiej [32], czyli znacznie częściej niż u białych Amerykanów i Europejczyków (0–3%) [29] oraz populacji chińskiej. Wynika z tego, co potwierdzają epidemiologiczne badania amerykańskie, że płody białych matek są, w porównaniu do płodów matek czarnoskórych, bardziej wrażliwe na teratogenne działanie etanolu.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że ADH jest najważniejszym enzymem w tlenowym metabolizmie etanolu, a szybkość przemiany alkoholu do silnie toksycznego aldehydu octowego jest procesem zależnym od aktywności ADH. Badania ostatnich lat ujawniają nowe aspekty kliniczne polimorfizmu genetycznego ADH i/lub ALDH, który ma decydujący wpływ na stężenia wątrobo-

Tabela 5. Częstość występowania alleli ADH2*2 i ADH3*1 w różnych populacjach

Table 5. Incidence rates of alleles ADH2*2 and ADH3*1 in different populations

Populacja (Population)	ADH2*2	ADH3*1	Piśmiennictwo (References)
Japończycy (Japanese)	0,75	0,94	[13]
Malaje (Malays)	0,59	–	[13]
Chińczycy (Chinese)	0,73	0,95	[4, 5]
Aborygeni Tajwańscy (Taiwanese Aborigines)	0,78	0,97	[13]
Polacy, Warszawa (Poles, Warsaw)	0,057	0,60	[21]
Polacy, Kraków (Poles, Cracov)	0,015	0,55	[3]
Hiszpanie (Spaniards)	0,054	0,53	[3]
Francuzi (French)	0,000	0,61	[3]
Niemcy (Germans)	0,012	0,48	[3]
Szwedzi (Swedes)	0,038	0,63	[3]
Żydzi ogółem (Jewish total)	0,21	–	[27]
Żydzi aszkenazyjscy (Ashkenazic Jewish)	0,31	–	[35]
Rosjanie (Russians)	0,41	–	[28]

we i pozawątrobowe aldehydu octowego po spożyciu etanolu. Chociaż polimorfizm ADH jest w dużym stopniu zdeterminowany przez czynniki etniczne (tab. 5), to w obrębie jednej populacji aktywność metabolizmu etanolu może podlegać dużemu zróżnicowaniu. Należy sądzić, że specjalistyczne leczenie i poradnictwo będzie w przyszłości opierało się na znajomości indywidualnego genotypu ADH.

Piśmiennictwo

- [1] **Agarwal D.:** Genetic polymorphism of alcohol metabolizing enzymes. *Pathol. Biol.* 2001, 49, 703–709.
- [2] **Bonthius D., Goodlett C., West J.:** Blood alcohol concentration and severity of microencephaly in neonatal rats depend on the pattern of alcohol administration. *Alcohol* 1988, 209–214.
- [3] **Borra E., Coutelle C., Roseli A., Fernandez-Muixi F., Broch M., Crosas B., Hjelmqvist L., Lorenzo A., Gutierrez C., Santos M., Szczepanek M., Heiling M., Quatrocchi P., Farres J., Vidal F., Richard C., Mach T., Bogal J., Jornvall H., Seitz H., Couzigou P., Pares X.:** Genetic polymorphism of alcohol dehydrogenase in Europeans: the ADH2*2 allele decreases the risk for alcoholism and is associated with ADH3*1. *Hepatology* 2000, 31, 984–989.
- [4] **Chao Y.-C., Liou S.-R., Chung Y.-Y., Tang H.-S., Hsu C.-T., Li T.-K., Yin S.-J.:** Polymorphism of alcohol and aldehyde dehydrogenase genes and alcoholic cirrhosis in Chinese patients. *Hepatology* 1994, 19, 360–366.

- [5] **Chao Y.-C., Young T.-H., Tang H.-S., Hsu C.-T.:** Alcoholism and alcoholic organ damage and genetic polymorphism of alcohol metabolising enzymes in Chinese patients. *Hepatology* 1997, 25, 112–117.
- [6] **Chen J., Ma J., Stampfer J., Hines L., Selhub J., Hunter D.:** Alcohol dehydrogenase 3 genotype is not predictive for risk of colorectal cancer. *Cancer Epidem. Biomark. Prevent.* 2001, 10, 1303–1304.
- [7] **Chen W., Chen C.-C., Cheng A.:** Self-report of flushing and genotypes of ALDH2, ADH2 and ADH3 among Taiwanese Han. *Alcohol Clin. Res.* 1998, 22, 1048–1052.
- [8] **Chrostek L., Szczepura D., Szmitkowski M., Jelski W., Wierchowski J.:** Alcohol and aldehyde dehydrogenase activity in the stomach and small intestine of rats poisoned with methanol. *Hum. Exper. Toxicol.* 2001, 20, 255–258.
- [9] **Chrostek L., Szmitkowski M.:** Dehydrogenaza alkoholowa – polimorfizm, właściwości oraz udział w metabolizmie etanolu. *Post. Hig. Med. Dośw.* 1992, 46, 403–415.
- [10] **Dawidek-Pietryka K., Dudka J., Szczepaniak S.:** Inhibicja dehydrogenazy alkoholowej przez wybrane związki w reakcji z metanolem i glikolem etylenowym. *Bromatol. Chem. Toksykol.* 2000, 33, 155–160.
- [11] **Duester G., Farres J., Felder M., Holmes R., Höög J.-O., Pares X., Plapp B., Yin S.-J., Jörnvall H.:** Recommended nomenclature for the vertebrate alcohol dehydrogenases gene family. *Biochem. Pharmacol.* 1999, 58, 389–395.
- [12] **Enomoto N., Takase S., Takada N., Takada A.:** Alcoholic liver disease in heterozygotes of mutant and normal aldehyde dehydrogenase-2 genes. *Hepatology* 1991, 13, 1071–1075.
- [13] **Eriksson P., Fukunaga T., Sarkola T., Chen W., Chen C., Ju J., Cheng A., Yamamoto H., Kohlenberg-Müller K., Kimura M., Murayama M., Matsushita S., Kashima H., Higuchi S., Carr L., Vijonen D., Brooke T., Stewart T., Foroud T., Li T.-K., Whitfield J.:** Functional relevance of human ADH polymorphism. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2001, 25, 157S–163S.
- [14] **Frenzer A., Butler W., Norton J., Wilson J., Apte M., Pirola R., Ryan P., Roberts-Thomson J.:** Polymorphism in alcohol-metabolizing enzymes, glutathione S-transferases and apolipoprotein E and susceptibility to alcohol-induced cirrhosis and chronic pancreatitis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2002, 17, 177–182.
- [15] **Garver E., Tu G., Cao Q., Aini M., Zhou F., Israel Y.:** Eliciting the low-activity aldehyde dehydrogenase Asian phenotype by an antisense mechanism results in an aversion to ethanol. *J. Exp. Med.* 2001, 194, 571–580.
- [16] **Haber P., Apte M., Applegate T., Norton I., Korsten M., Pirola R., Wilson J.:** Metabolism of ethanol by rat pancreatic acinar cells. *J. Lab. Clin. Med.* 1998, 132, 294–302.
- [17] **Harada S., Agarwal D., Nomura F., Higuchi S.:** Metabolic and ethnic determinants of alcohol drinking habits and vulnerability to alcohol-related disorder. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2001, 25, 71S–75S.
- [18] **Jelski W., Chrostek L., Szmitkowski M., Laszewicz W.:** Activity of class I, II, III, and IV alcohol dehydrogenase isoenzymes in human gastric mucosa. *Digest. Disease Sci.* 2002, 47, 1554–1557.
- [19] **Kedishivili N., Gough W., Chernoff E., Hurley T., Stone C., Bowman K., Popov K., Bosron W., Li T.-K.:** cDNA sequence and catalytic properties of chick embryo alcohol dehydrogenases that oxidizes retinol and 3 β ,5 α -hydroxysteroids. *J. Biol. Chem.* 1997, 272, 7494–7500.
- [20] **Koivusalo M., Bauman M., Uotila L.:** Evidence for the identity of glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase. *FEBS Lett.* 1989, 257, 105–109.
- [21] **Kwast M.:** Polimorfizm dehydrogenazy alkoholowej w populacji mieszkańców Warszawy. *Pol. Tyg. Lek.* 1983, 38, 1561–1564.
- [22] **Liu L., Hausladen A., Que L., Heitman J., Stamler S.:** A metabolic enzyme for S-nitrosothiol conserved from bacteria to humans. *Nature* 2001, 410, 490–494.
- [23] **Maly P., Crotet V., Toranell M., Sasse D.:** Intrahepatic distribution of human glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase. *Histochem. Cell Biol.* 2001, 116, 465–469.
- [24] **Matsumoto H., Fukui Y.:** Pharmacokinetics of ethanol: a review of the methodology. *Addict. Biol.* 2002, 7, 5–14.
- [25] **McCarver D., Thomasson H., Martier S., Sokol R., Li T.-K.:** Alcohol dehydrogenase-2*3 allele protects against alcohol-related birth defects among African Americans. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997, 283, 1095–1101.
- [26] **Mezey E., Rennie-Tankersley L., Potter J.:** Liver alcohol dehydrogenase is degraded by the ubiquitin-proteasome pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001, 285, 644–648.
- [27] **Neumark Y., Friedlander Y., Thomasson H., Li T.-K.:** Association of ADH2*2 allele with reduced ethanol consumption in Jewish men in Israel. *J. Stud. Alcohol* 1998, 59, 133–139.
- [28] **Ogurtsov P., Garmash I., Miandina G., Guschin A., Itkes A., Moiseev V.:** Alcohol dehydrogenase ADH2-1 and ADH2-2 allelic isoform in the Russian population correlate with type of alcoholic disease. *Addict. Biol.* 2001, 6, 377–383.
- [29] **Osier M., Paktis A., Soodyall H., Comas D., Goldman D., Odunsi A., Okonofua F., Parnas J., Schultz L., Bertranpetit J., Bonne-Tamir B., Lu R., Kidd J., Kidd K.:** A global perspective on genetic variation at the ADH genes reveals unusual patterns of linkage disequilibrium and diversity. *Am. J. Hum. Genet.* 2002, 71, 84–99.
- [30] **Parlesak A., Billinger M., Bode C., Bode J.:** Gastric alcohol dehydrogenase activity in man: influence of gender, sex, alcohol consumption and smoking in a Caucasian population. *Alcohol Alcohol.* 2002, 4, 388–393.
- [31] **Peralba J., Cederlund E., Crosas B., Moreno A., Julia P., Martinez S., Persson B., Farres J., Pares X., Jörnvall H.:** Structural enzymatic properties of gastric NADP(H)-dependent and retinal-active alcohol dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 26021–26026.
- [32] **Poupon R., Nalpas B., Coutelle Ch., Fleury B., Couzigou P., Huguieret D.:** Polymorphism of alcohol dehydrogenase, alcohol and aldehyde dehydrogenase activities; implication in alcoholic cirrhosis in white patients. *Hepatology* 1992, 15, 1017–1022.

- [33] **Schindler J., Berst K., Plapp B.:** Inhibition of human alcohol dehydrogenase by formamides. *J. Med. Chem.* 1998, 41, 1696–1701.
- [34] **Seitz H., Matsuzaki S., Yokoyama A., Homann N., Väkeväinen S., Wang X.:** Alcohol and cancer. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2001, 25, 137S–143S.
- [35] **Shea S., Wall T., Carr L., Li T.:** ADH2 and alcohol-related phenotypes in Ashkenazic Jewish American college students. *Behav. Genet.* 2001, 31, 231–239.
- [36] **Shibuya A., Yasunami M., Yoshida A.:** Genotypes of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase loci in Japanese alcohol flushers and nonflushers. *Hum. Genet.* 1989, 82, 14–16.
- [37] **Stamatoyannopoulos G., Chen S.-H., Fukui M.:** Liver alcohol dehydrogenase in Japanese: High population frequency of atypical form and its possible role in alcohol sensitivity. *Am. J. Hum. Genet.* 1975, 27, 789–796.
- [38] **Takeshita T., Mao X.-Q., Morimoto K.:** The contribution of polymorphism in the alcohol dehydrogenase 36 subunit to alcohol sensitivity in a Japanese population. *Hum. Genet.* 1996, 97, 409–413.
- [39] **Teng S., Beard K., Pourahmad J., Moridani M., Easson E., Poon R., O'Brien P.:** The formaldehyde metabolic detoxification enzyme systems and molecular cytotoxic mechanism in isolated rat hepatocytes. *Chem. Biol. Interact.* 2001, 130–132, 285–296.
- [40] **von Wartburg J., Buchler R.:** Alcoholism and aldehydism: new biomedical concepts. *Lab. Invest.* 1984, 50, 5–13.
- [41] **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, 16, 479–486.
- [42] **Yokoyama A., Muramatsu T., Ohmori T., Matushita S., Yoshimizu H., Higuchi S., Yokoyama T., Muruyama K., Ishii H.:** Alcohol and aldehyde gene polymorphism influence susceptibility to esophageal cancer in Japanese alcoholics. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 1999, 23, 1705–1710.
- [43] **Zheng Y.-W., Bey M., Liu H., Felder M.:** Molecular basis of the alcohol dehydrogenase-negative deer mouse (evidence for deletion of the gene for I enzyme and identification of a possible new enzyme class). *J. Biol. Chem.* 1993, 268, 24933–24939.
- [44] **Zorzano A., Herrera E.:** Differences in kinetic characteristics and in sensitivity to inhibitors between human and rat liver alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase. *Gen. Pharmacol.* 1990, 21, 697–702.

Adres do korespondencji:

Ewa Czech
Katedra i Zakład Diagnostyki Izotopowej Śl. AM w Katowicach
ul. Medyków 18
40-752 Katowice

Praca wpłynęła do Redakcji: 4.03.2003 r.

Po recenzji: 18.04.2003 r.

Zaakceptowano do druku: 18.04.2003 r.

Received: 4.03.2003

Revised: 18.04.2003

Accepted: 18.04.2003