

Ассоциация полиморфизмов генов *ADH1B*, *ALDH2* и *CYP2E1* с развитием алкогольной зависимости и алкогольного цирроза печени

ЧОГОВАДЗЕ А.Г.¹

аспирант; e-mail: chogowadze@gmail.com

ГЕНЕРОЗОВ Э.В.¹

к.б.н.

НИКОЛАЕВА В.В.²

к.м.н.

ПОПЛЕВЧЕНКОВ К.Н.²

аспирант

ВЕРЕТИНСКАЯ А.Г.²

к.б.н.

АНОХИНА И.П.²

д.м.н., профессор, академик РАМН

ДУДИНА К.Р.³

к.м.н., ассистент кафедры

ЗНОЙКО О.О.³

д.м.н., профессор

МАЕВСКАЯ М.В.⁴

д.м.н., профессор

ВЕДЕРНИКОВА А.В.⁴

к.м.н.

ИВАШКИН В.Т.⁴

д.м.н., профессор, академик РАМН

¹ — ФГУ «НИИФХМ» ФМБА, 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д.1а.

Тел.: (499) 246-4401. Факс: (499) 246-4409. E-mail: info@ripcm.org.ru

² — ННЦ наркологии Росздрава, 119002, Москва, Мал. Могильцевский пер., 3. Тел.: (495) 241-06-03

³ — ГОУ ВПО «МГМСУ Росздрава», кафедра инфекционных болезней и эпидемиологии, 127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20/1. Тел.: 8 (495) 681-65-13. E-mail: msmsu@msmsu.ru

⁴ — 2-я Университетская клиническая больница 1-го МГМУ им. И.М. Сеченова, 119992, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Тел.: 8(499) 248-05-53. E-mail: rektorat@mma.ru

Система метаболизма этанола, регулирующая концентрацию ацетальдегида в плазме крови и печени, включает в себя ферменты алкогольдегидрогеназу 1В, альдегиддегидрогеназу-2 и этанол-индуцируемый цитохром P450 2E1. Полиморфизмы генов, кодирующих эти ферменты (*ADH1B*, *ALDH2*, *CYP2E1*), оказывают влияние на их активность, тем самым изменяя и концентрацию ацетальдегида. Это может увеличить риск развития хронического алкоголизма и алкогольной болезни печени (АБП), в конечном счете приводящей к циррозу печени (ЦП). Полиморфизмы R47H гена *ADH1B*, E504K гена *ALDH2*, TaqI и PstI гена *CYP2E1* были проанализированы в группе из 614 чел., включающей в себя 382 пациента с АБП, 138 больных алкогольным ЦП и 94 здоровых добровольца. Анализ полиморфизмов генов *ADH1B* и *ALDH2* не показал достоверной взаимосвязи с развитием хронического алкоголизма или алкогольного ЦП. Была показана достоверная взаимосвязь аллеля С полиморфизма TaqI гена *CYP2E1* с развитием хронического алкоголизма. Частота аллеля С полиморфизма PstI того же гена была достоверно выше у пациентов с развившимся алкогольным ЦП по сравнению с больными хроническим алкоголизмом, но без ЦП. Полученные данные свидетельствуют о влиянии полиморфизмов TaqI и PstI гена *CYP2E1* на риск развития алкоголизма и ЦП при хроническом злоупотреблении алкоголем. Ключевые слова: алкоголизм, цирроз печени, генетический полиморфизм, метаболизм этанола, цитохром P450 2E1

Введение

Ферменты алкогольдегидрогеназа 1В, альдегиддегидрогеназа-2 [12] и этанол-индуцируемый цитохром P450 2E1 [27] являются важнейшими звеньями системы метаболизма этанола в организме человека [6, 7]. Они катализируют окисление этанола до токсичного ацетальдегида и, далее, до относительно нетоксичного ацетата. Известно, что за развитие большинства симптомов алкогольной интоксикации, таких, как покраснение лица, тахикар-

дия, головная боль, повышенное потоотделение, тошнота и рвота, ответственен наиболее токсичный продукт метаболизма этанола — ацетальдегид [26, 29]. Кроме того, из-за его токсического действия на организм в целом и в частности на печень развивается АБП [3], зачастую переходящая в дальнейшем в ЦП [28]. Структурные полиморфизмы генов ферментов метаболизма этанола: алкогольдегидрогеназы 1В (*ADH1B*), альдегиддегидрогеназы-2 (*ALDH2*) и цитохрома P450 2E1 (*CYP2E1*) могут изменять их

активность, тем самым влияя на концентрацию ацетальдегида в печени и в плазме крови [20, 21, 42]. Эти особенности системы метаболизма этанола определяют индивидуальную переносимость алкоголя и подверженность различным клиническим проявлениям алкогольной интоксикации [23, 24]. Распространенность этих полиморфизмов сильно варьирует в различных этнических группах [17, 37, 38].

Уже опубликовано достаточное количество работ, изучивших связь полиморфизмов генов системы метаболизма этанола с указанными клиническими проявлениями [11]. Так, например, было показано, что полиморфизм E504K гена *ALDH2* приводит к снижению активности фермента, что влечет за собой увеличение концентрации токсичного ацетальдегида в плазме крови и печени [23, 32]. Повышенные концентрации ацетальдегида приводят к большей выраженности клинических эффектов употребления алкоголя и, тем самым, к негативному отношению к приему спиртного. Таким образом, данный полиморфизм можно рассматривать как протективный в отношении развития хронического алкоголизма [14]. К схожим клиническим проявлениям приводит минорный аллель H полиморфизма R47H гена *ADH1B*. Наличие минорного аллеля приводит к увеличению активности фермента и, следовательно, к увеличению концентрации ацетальдегида. Исследования полиморфизмов E504K и R47H были проведены в основном японскими и китайскими учеными ввиду того, что указанные мутантные аллели достаточно часто встречаются в азиатской популяции.

Много работ также посвящено связи полиморфизмов гена *CYP2E1* с развитием хронического алкоголизма и ЦП [15, 30, 31]. Наиболее часто рассматриваемым в этих работах является полиморфизм PstI, находящийся в промоторной области гена и приводящий к увеличению активности фермента. Очень небольшое количество работ посвящено интронному полиморфизму TaqI: в работе британских ученых показана его предположительно протективная роль в отношении развития ЦП [41], в другой работе американские авторы предположили негативное влияние на развитие хронического алкоголизма одного из гаплотипов гена *CYP2E1*, в который входит мутантный аллель TaqI [43].

Были и другие работы, посвященные полиморфизмам генов *ADH1B* и *CYP2E1*, в том числе и российские [1, 8—10], однако часть авторов показала достоверное влияние полиморфизмов этих генов на развитие алкоголизма и ЦП [15, 16, 23, 30], другая часть — опровергла [13, 24, 34]. Кроме того, большинство работ было посвящено лишь одному из двух основных путей метаболизма этанола — либо цитозольному (*ADH1B* и *ALDH2*), либо мик-

росомальному (*CYP2E1*), исследуемые группы пациентов были малы, поэтому выводы о значении этих полиморфизмов в развитии алкоголизма и его тяжелых последствий, таких, как, например, ЦП, остаются противоречивыми и требуют дальнейших исследований.

Таким образом, целью данной работы был комплексный анализ взаимосвязи между четырьмя точечными нуклеотидными полиморфизмами (SNP) генов ферментов, отвечающих за метаболизм этанола — *ADH1B*, *ALDH2*, *CYP2E1*, — и предрасположенностью к хроническому алкоголизму, а также тяжестью течения и степенью прогрессии АБП на выборке европеоидов, проживающих в московском регионе.

Пациенты и методы

Исследуемую выборку составили 520 чел., страдающих алкогольной зависимостью из трех клинических центров: НИЦ наркологии Росздрава, 2-й Университетской клинической больницы 1-го МГМУ им. И.М. Сеченова и кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ГОУ ВПО МГМСУ Росздрава. Из них 138 пациентов имели диагноз *алкогольный цирроз печени*, 382 чел. страдали хроническим алкоголизмом и АБП, однако без признаков тяжелых необратимых повреждений печени. Группу контроля составили 94 здоровых добровольца, не злоупотребляющие алкоголем. Диагноз устанавливали на основании данных физикального обследования, биохимического исследования плазмы крови (уровень билирубина, альбумина, АСТ, АЛТ, ГГТ, ЩФ), ультразвукового исследования брюшной полости. При последующем анализе результатов учитывалось наличие в крови пациентов маркеров вируса гепатита С, больные с признаками HBV и ВИЧ инфекции из исследования исключались. Группы больных хроническим алкоголизмом совпадали по среднему возрасту, суточной дозе и длительности злоупотребления алкоголем.

Для анализа нуклеотидного полиморфизма указанных генов был выбран метод мини-секвенирования с последующей детекцией продуктов реакции на MALDI-TOF (Matrix assisted laser desorption ionization — time of flight) масс-спектрометре [18, 19, 22, 25]. Выделение ДНК из крови проводили с помощью набора «Wizard® Genomic DNA Purification Kit» (Promega, США) согласно инструкции. Реакционная смесь реакции ПЦР-амплификации состояла из 1 µl 10x ПЦР-буфера, 0,4 µl 10x dNTP, по 5 pmol прямого и обратного праймеров (табл. 1), 3,4 µl ddH₂O, 0,04 µl TAQ-pol. К смеси добавляли 5 µl раствора ДНК. Температурный профиль реакции: 94°C 5 мин, 35 циклов: 94°C 30 с, 58°C 10 с,

72°C 20 с, окончательная достройка 72°C 5 мин. Для деактивации оставшихся нуклеотидов в реакционную смесь добавляли 0,1 µl щелочной фосфатазы (Shrimp Alkaline Phosphatase (Fermentas, Канада)), 0,5 µl 1x ПЦР-буфера, 4,4 µl ddH₂O. Температурный профиль реакции: 37°C 30 мин, 85°C 10 мин. Затем проводили реакцию мини-секвенирования. В реакционную смесь добавляли 0,5 µl 10x ПЦР-буфера, 1 pmol каждого ddNTPs, 0,04 µl Termi-pol, 5 pmol олигонуклеотидного зонда (табл. 1), ddH₂O до общего объема смеси 20 µl. Температурный профиль реакции: денатурация — 94°C 5 мин, 35 циклов 94°C 5 с, 55°C 5 с, 72°C 5 с, затем окончательная достройка 72°C 1 мин. Для анализа генотипа использовался MALDI-TOF MS (Autoflex-III™, Bruker Daltonics, Германия): на специальный чип (AnchorChip 400/384, Bruker Daltonics, Германия) наносили матрицу по 0,2 µl, приготовленную из насыщенного раствора 3'-гидроксипиколиновой кислоты (Fluka, США) в 50% ацетонитриле (Merck, США) с добавлением 10 г/л цитрата аммония двухосновного (Fluka, США). Очищенные полимерной смолой образцы в V = 0,2 µl наносили на кристаллы матрицы. МС анализ проводили в линейном режиме, напряжение на мишени 20 kV, на конвертирующем электроде — 17,1 kV.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программных пакетов MS Access 2007 (Microsoft Inc., США), SPSS 15.0 (SPSS Inc., США), Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США), MacChiSquare 1.2.0.0 (Marley W. Watkins). Обработка всех результатов проводилась с помощью критериев χ^2 и точного критерия Фишера, уровень значимости был принят равным 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Цель данной работы — анализ взаимосвязи между исследованными полиморфизмами генов системы метаболизма этанола и предрасположенностью к развитию хронического алкоголизма и ЦП при злоупотреблении алкоголем. При анализе частот распределения полиморфизмов выяснилось, что аллель К полиморфизма E504K гена *ALDH2* встретился только у одного человека в группе больных хроническим алкоголизмом, поэтому статистический анализ по этому полиморфизму не производился и данные ввиду неинформативности не представлены.

Для определения влияния исследуемых полиморфизмов на риск развития хронического алкоголизма с группой контроля сравнивали следующие клинические группы: объединенную группу больных хроническим алкоголизмом без маркеров HCV («Алко-С») и объединенную группу больных хроническим алкоголизмом без учета наличия маркеров HCV («Алко (Общ.)»). Кроме того, рассматривались группы больных хроническим алкоголизмом с различной тяжестью повреждения печени. Анализ проводился как с учетом, так и без учета наличия в крови больных маркеров вируса гепатита С (табл. 2).

Анализ показал отсутствие достоверных различий в распределении частот полиморфизмов *ADH1B*-R47H и *CYP2E1*-PstI между группами больных хроническим алкоголизмом с различной тяжестью АБП и контрольной группой (частоты минорного генотипа GA составили 6,5 и 9,6%, а для генотипа GC — 4,0 и 2,1% для полиморфизмов *ADH1B*-R47H и *CYP2E1*-PstI соответственно). Это ставит под сомнение выводы некоторых авторов [36, 39, 40] относительно значимости данных полиморфизмов в отношении развития заболевания.

Таблица 1

Последовательности олигонуклеотидных праймеров и зондов

Ген	Полиморфизм	Праймер/зонд	Последовательность 5'-3'
<i>ADH1B</i>	R47H	ADH1B_fl	GTAGGGATTAGTAGCAAAACCCCTCAA
		ADH1B_rl	TGTAGTCACCCCTTCTCCAACA
		ADH1B_ep	TGGCTGTAGGAATCTGTC
<i>ALDH2</i>	E504K	ALDH_fl	TTGGTGGCTACAAGATGTCGG
		ALDH_rl	GGTCCCACACTCACAGTTTCTCTC
		ALDH_ep	ACGGGCTGCAGGCATACACT
<i>CYP2E1</i>	TaqI	C2taq_fl	GGGCTTTCATCTTCATTTCTGA
		C2taq_rl	CAAAATGTGGGCTTTCATCTG
		C2taq_ep	CACTAAGCAACTCCTTCAACT
<i>CYP2E1</i>	PstI	c2pst_fl	CAACGCCCTTCTTGGTTC
		c2pst_rl	TCTTCATACAGACCTCTTCCACC
		C2pst_ep	CCCTTCTTGGTTCAGGAGAG

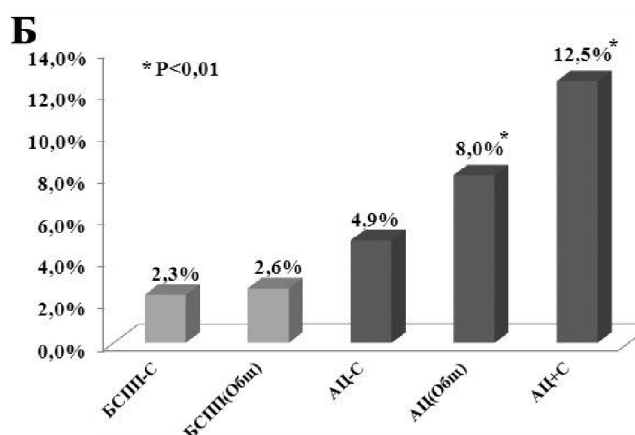
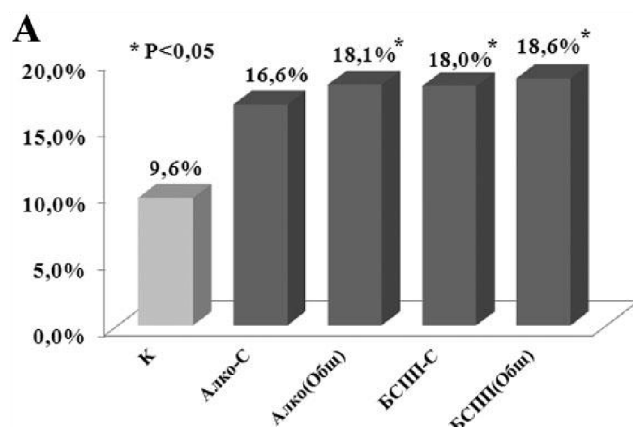
Таблица 2

Распределение генотипов исследуемых полиморфизмов в клинических группах

Группа	N	Генотип (%)					
		<i>ADH1B</i> -R47H		<i>CYP2E1</i> -TaqI		<i>CYP2E1</i> -PstI	
		GG	GA	CC	CG	GG	GC
Контроль (К)	94	85 (90,4)	9 (9,6)	85 (90,4)	9 (9,6)	92 (97,9)	2 (2,1)
Алкогольный цирроз							
Без маркеров HCV (АЦ-С)	82	76 (92,7)	6 (7,3)	73 (89)	9 (11)	78 (95,1)	4 (4,9)
С маркерами HCV (АЦ+С)	56	49 (87,5)	7 (12,5)	42 (75)	14 (25)	49 (87,5)	7 (12,5)
Всего (АЦ (Общ.))	138	125 (90,6)	13 (9,4)	115 (83,3)	23 (16,7)	127 (92)	11 (8)
Без серьезного поражения печени (БСПП):							
БСПП без маркеров HCV (БСПП-С)	345	327 (94,8)	18 (5,2)	283 (82)	62 (18)	337 (97,7)	8 (2,3)
БСПП с маркерами HCV (БСПП+С)	37	34 (91,9)	3 (8,1)	28 (75,7)	9 (24,3)	35 (94,6)	2 (5,4)
Всего (БСПП (Общ.))	382	361 (94,5)	21 (5,5)	311 (81,4)	71 (18,6)	372 (97,4)	10 (2,6)
Больные хроническим алкоголизмом:							
Без маркеров HCV (Алко-С)	427	403 (94,4)	24 (5,6)	356 (83,4)	71 (16,6)	415 (97,2)	12 (2,8)

Анализ частот встречаемости минорного генотипа CG полиморфизма TaqI гена *CYP2E1* у пациентов, больных хроническим алкоголизмом и контрольной группой выявил статистически достоверные различия ($p < 0,05$) в распределении частот этого полиморфизма между группами (рис. А).

Как видно из диаграммы, частота минорного генотипа CG полиморфизма TaqI гена *CYP2E1* оказалась в 2 раза выше в группах больных хроническим алкоголизмом: OR = 2,1 (CI 1,01—4,3; 95%), 2,07 (CI 0,99—4,34; 95%) и 2,16 (CI 1,04—4,5; 95%) для групп «Алко (Общ.)», «БСПП-С» и «БСПП (Общ.)» соответственно. При этом частота минорного генотипа практически не различалась в группах с маркерами HCV и без маркеров HCV, что доказывает значимость данного полиморфизма в отношении развития алкоголизма вне зависимости от вирусного фактора. Достоверно функциональное значение этого интронного полиморфизма на данный момент неизвестно. Скорее всего, он сцеплен с другим полиморфизмом гена *CYP2E1*, непосредственно влияющим на активность фермента [35]. Данный эффект проявляется, скорее всего, вследствие повышения толерантности к алкоголю у носителей минорного аллеля благодаря лучшему метаболизму ацетальдегида и, соответственно, к большим потребляемым дозам алкоголя, что с большей вероятностью приводит к развитию хронического алкоголизма. Существует лишь несколько работ, посвященных данному полиморфизму, например в работе британских ученых показана его про-тективная роль в отношении развития ЦП [41], однако показанная в данном исследовании значимость в отношении развития хронического алкоголизма является неоспоримым предлогом для его более подробного изучения.



Частоты минорных генотипов полиморфизмов гена *CYP2E1*:

А — генотипа CG полиморфизма TaqI в группах больных алкоголизмом и контрольной группе; Б — генотипа GC полиморфизма PstI в группах с различной тяжестью течения АБП

Интересен тот факт, что частота минорного генотипа в группе больных ЦП с маркерами HCV («АЦ+С») оказалась более чем в 2,5 раза больше по сравнению с контрольной группой (25 и 9,6% соответственно; $p < 0,05$).

Для поиска ассоциации рассматриваемых полиморфизмов с риском развития ЦП у больных хроническим алкоголизмом были рассмотрены группы больных с различной тяжестью повреждения печени. При анализе учитывалось наличие в крови маркеров вируса гепатита С [4]. В результате не было найдено никаких достоверных различий в распределении частот генотипов полиморфизма *CYP2E1*-TaqI между сравниваемыми группами. Такие же результаты получены и для полиморфизма *ADH1B*-R47H. Достоверные различия ($p < 0,01$) получены при анализе распределения частот полиморфизма *CYP2E1*-PstI в группах с различной тяжестью течения АБП (рисунок Б). При сравнении группы «АЦ (Общ)» и «БСПП (Общ)» показано более чем трехкратное увеличение частоты полиморфизма в группе с ЦП (OR = 3,2 (CI 1,34—7,8; 95%), $p = 0,006$), что подтверждает выводы некоторых авторов о негативной роли данного полиморфизма в отношении развития алкогольного ЦП [31, 33]. В группе больных смешанным (алкогольным + вирусным) ЦП («АЦ+С») — наиболее клинически тяжелой формой заболевания, разница в частотах была еще больше (OR = 5,3 (CI 1,93—14,6; 95%), $p = 0,002$). При сравнении больных ЦП и легкой формой АБП, в крови которых отсутствуют маркеры HCV (группы «АЦ-С» и «БСПП-С»), было обнаружено более чем двукратное повышение частоты полиморфизма в группе больных с ЦП, однако эта разница ввиду небольшого объема группы с ЦП была недостоверной.

Заключение

Таким образом, несмотря на доказанное значение полиморфизма E504K гена *ALDH2* в отношении развития хронического алкоголизма и ЦП у азиатских народов, в европейской популяции он практически не встречается и потому не обладает диагностической ценностью. Кроме того, нами было показано отсутствие достоверных различий по полиморфизму R47H гена *ADH1B*, несмотря на ряд работ, доказавших связь этого полиморфизма как с развитием алкоголизма, так и с алкогольным ЦП [14, 42], что может быть связано как с небольшим объемом выборки, так и с различиями между московской популяцией и исследованными в зарубежных работах. Кроме того, хроническое злоупотребление алкоголем способствует активации системы микросомального окисления печени, в частности цитохрома p450 2E1 [5], приводя,

тем самым, к уменьшению значения алкогольдегидрогеназы в метаболизме этанола, что также может обуславливать отсутствие достоверных различий по этому полиморфизму и косвенно подтверждается показанными различиями по полиморфизмам гена *CYP2E1*.

Была показана достоверная взаимосвязь полиморфизмов гена *CYP2E1* с риском развития хронического алкоголизма и алкогольного ЦП. Негативная роль полиморфизма TaqI этого гена, скорее всего, связана с повышением толерантности к алкоголю у носителей аллеля G. Это может быть связано как с изменением активности фермента, приводящим к уменьшению концентрации токсичного ацетальдегида, так и с ускорением индукции данного фермента при приеме алкоголя. Протективную роль этого полиморфизма в отношении развития алкогольного ЦП, описанную в ряде работ [2, 41], доказать не удалось. Тем не менее, было доказано негативное влияние на развитие ЦП другого полиморфизма этого гена — PstI. Наличие аллеля C существенно увеличивает риск развития ЦП у больных хроническим алкоголизмом, особенно в сочетании с инфекцией вирусом гепатита С.

Таким образом, было показано влияние полиморфизмов TaqI и PstI гена цитохрома p450 2E1 на риск развития хронического алкоголизма и алкогольного цирроза печени. Исходя из этого, типирование по приведенным полиморфизмам может помочь выявить людей, входящих в группу риска по развитию хронического злоупотребления алкоголем и рассчитать риск развития ЦП в случае развития заболевания.

Список литературы

1. Ведерникова А.В. Особенности лечения больных с заболеваниями печени сочетанной алкогольной и вирусной (HCV) этиологии: Автореферат дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — М., 2006. — 25 с.
2. Ведерникова А.В., Маевская М.В., Ивашкин В.Т. и др. Генетические аспекты алкогольной болезни печени. Результаты исследования // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, гастроэнтерологии, колопроктологии. — 2005. — №XV (Приложение 24).
3. Ивашкин В.Т. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей. 2-е изд-е, испр. и доп. / Под ред. В.Т. Ивашкина. — М.: Изд. дом «М-Вести», 2005. — 536 с.
4. Ивашкин В.Т., Маевская М.В. Алкогольно-вирусные заболевания печени. — М.: Литера, 2007. — 176 с.
5. Маевская М.В. Алкогольная болезнь печени // Consilium medicum. — 2001. — №3 (6). — С. 256—260.
6. Маевская М.В. Клинические особенности алкогольно-вирусных поражений печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, гастроэнтерологии, колопроктологии. — 2004. — №XIV (2). — С. 17—21.
7. Маевская М.В. Хронические диффузные заболевания печени, вызванные алкоголем и вирусами гепатитов В и С: Дисс. на соискание ученой степени д.м.н. — М., 2006. — 200 с.
8. Марусин А.В., Степанов В.А., Спиридонова М.Г. и др. Полиморфизм генов этанол-метаболизирующих ферментов *ADH1B*, *ADH7* и *CYP2E1* и риск развития алкоголизма в

- русской популяции Западно-Сибирского региона // Мед. генетика. — 2006. — №5 (7). — С. 51—56.
9. Русакова О.С., Гармаш И.В., Гушин А.Е. Алкогольный цирроз печени и генетический полиморфизм алкогольдегидрогеназы (АДГ2) и ангиотензиногена (Т174М, М235Т) // Клиническая фармакология и терапия. — 2006. — №5. — С. 31—33.
10. Шангареева З.А., Викторова Т.В., Насыров Х.М. и др. Генетический полиморфизм ферментов метаболизма этанола // Наркология. — 2004. — №3. — С. 36—40.
11. Bataller R., North K.E., Brenner D.A. Genetic polymorphisms and the progression of liver fibrosis: a critical appraisal // Hepatology. — 2003. — №37 (3). — P. 493—503.
12. Bosron W.F., Li T.K. Genetic polymorphism of human liver alcohol and aldehyde dehydrogenases, and their relationship to alcohol metabolism and alcoholism // Hepatology. — 1986. — №6 (3). — P. 502—510.
13. Burim R.V., Canalle R., Martinelli Ade L. et al. Polymorphisms in glutathione S-transferases GSTM1, GSTT1 and GSTP1 and cytochromes P450 CYP2E1 and CYP1A1 and susceptibility to cirrhosis or pancreatitis in alcoholics // Mutagenesis. — 2004. — №19 (4). — P. 291—298.
14. Chen Y.C., Peng G.S., Wang M.F. et al. Polymorphism of ethanol-metabolism genes and alcoholism: correlation of allelic variations with the pharmacokinetic and pharmacodynamic consequences // Chem. Biol. Interact. — 2009. — №178 (1—3). — P. 2—7.
15. Cichoz-Lach H., Partycka J., Nesina I. et al. The influence of genetic polymorphism of CYP2E1 on the development of alcohol liver cirrhosis // Wiad. Lek. — 2006. — №59 (11—12). — P. 757—761.
16. Cichoz-Lach H., Partycka J., Nesina I. et al. Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase gene polymorphism in alcohol liver cirrhosis and alcohol chronic pancreatitis among Polish individuals // Scand. J. Gastroenterol. — 2007. — №42 (4). — P. 493—498.
17. Goedde H.W., Agarwal D.P., Fritze G. et al. Distribution of ADH2 and ALDH2 genotypes in different populations // Hum. Genet. — 1992. — №88 (3). — P. 344—346.
18. Graber J.H., Smith C.L., Cantor C.R. Differential sequencing with mass spectrometry // Genet. Anal. — 1999. — №14 (5—6). — P. 215—219.
19. Griffin T.J., Hall J.G., Prudent J.R. et al. Direct genetic analysis by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1999. — №96 (11). — P. 6301—6306.
20. Harada S., Zhang S. New strategy for detection of ALDH2 mutant // Alcohol Alcohol Suppl. — 1993. — №1A. — P. 11—13.
21. Hayashi S., Watanabe J., Kawajiri K. Genetic polymorphisms in the 5'-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIE1 gene // J. Biochem. — 1991. — №110 (4). — P. 559—565.
22. Jackson P.E., Scholl P.F., Groopman J.D. Mass spectrometry for genotyping: an emerging tool for molecular medicine // Mol. Med. Today. — 2000. — №6 (7). — P. 271—276.
23. Kim M.S., Lee D.H., Kang H.S. et al. Genetic polymorphisms of alcohol-metabolizing enzymes and cytokines in patients with alcohol induced pancreatitis and alcoholic liver cirrhosis // Korean J. Gastroenterol. — 2004. — №43 (6). — P. 355—363.
24. Lee H.C., Lee H.S., Jung S.H. et al. Association between polymorphisms of ethanol-metabolizing enzymes and susceptibility to alcoholic cirrhosis in a Korean male population // J. Korean Med. Sci. — 2001. — №16 (6). — P. 745—750.
25. Li J., Butler J.M., Tan Y. et al. Single nucleotide polymorphism determination using primer extension and time-of-flight mass spectrometry // Electrophoresis. — 1999. — №20 (6). — P. 1258—1265.
26. Lieber C.S. Alcohol and the liver: 1994 update // Gastroenterology. — 1994. — №106 (4). — P. 1085—1105.
27. Lieber C.S. Cytochrome P-4502E1: its physiological and pathological role // Physiol. Rev. — 1997. — №77 (2). — P. 517—544.
28. Mann R.E., Smart R.G., Govoni R. The epidemiology of alcoholic liver disease // Alcohol Res. Health. — 2003. — №27 (3). — P. 209—219.
29. Mizoi Y., Ijiri I., Tatsuno Y. et al. Relationship between facial flushing and blood acetaldehyde levels after alcohol intake // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1979. — №10 (2). — P. 303—311.
30. Monzoni A., Masutti F., Saccoccio G. et al. Genetic determinants of ethanol-induced liver damage // Mol. Med. — 2001. — №7 (4). — P. 255—262.
31. Parsian A., Cloninger C.R., Zhang Z.H. Association studies of polymorphisms of CYP2E1 gene in alcoholics with cirrhosis, antisocial personality, and normal controls // Alcohol Clin. Exp. Res. — 1998. — №22 (4). — P. 888—891.
32. Peng G.S., Yin S.J. Effect of the allelic variants of aldehyde dehydrogenase ALDH2*2 and alcohol dehydrogenase ADH1B*2 on blood acetaldehyde concentrations // Hum. Genomics. — 2009. — №3 (2). — P. 121—127.
33. Plee-Gautier E., Foresto F., Ferrara R. et al. Genetic repeat polymorphism in the regulating region of CYP2E1: frequency and relationship with enzymatic activity in alcoholics // Alcohol Clin. Exp. Res. — 2001. — №25 (6). — P. 800—804.
34. Rodrigo L., Alvarez V., Rodriguez M. et al. N-acetyltransferase-2, glutathione S-transferase M1, alcohol dehydrogenase, and cytochrome P450IIE1 genotypes in alcoholic liver cirrhosis: a case-control study // Scand. J. Gastroenterol. — 1999. — №34 (3). — P. 303—307.
35. Shahabi H.N., Westberg L., Melke J. et al. Cytochrome P450 2E1 gene polymorphisms/haplotypes and Parkinson's disease in a Swedish population // J. Neural Transm. — 2009. — №116 (5). — P. 567—573.
36. Sherva R., Rice J.P., Neuman R.J. et al. Associations and interactions between SNPs in the alcohol metabolizing genes and alcoholism phenotypes in European Americans // Alcohol Clin. Exp. Res. — 2009. — №33 (5). — P. 848—857.
37. Singh S., Fritze G., Fang B.L. et al. Inheritance of mitochondrial aldehyde dehydrogenase: genotyping in Chinese, Japanese and South Korean families reveals dominance of the mutant allele // Hum. Genet. — 1989. — №83 (2). — P. 119—121.
38. Stephens E.A., Taylor J.A., Kaplan N. et al. Ethnic variation in the CYP2E1 gene: polymorphism analysis of 695 African-Americans, European-Americans and Taiwanese // Pharmacogenetics. — 1994. — №4 (4). — P. 185—192.
39. Sun F., Tsuritani I., Honda R. et al. Association of genetic polymorphisms of alcohol-metabolizing enzymes with excessive alcohol consumption in Japanese men // Hum. Genet. — 1999. — №105 (4). — P. 295—300.
40. Toth R., Pocsai Z., Fialat S. et al. ADH1B*2 allele is protective against alcoholism but not chronic liver disease in the Hungarian population // Addiction. — 2010. — №105 (5). — P. 891—896.
41. Wong N.A., Rae F., Simpson K.J. et al. Genetic polymorphisms of cytochrome p4502E1 and susceptibility to alcoholic liver disease and hepatocellular carcinoma in a white population: a study and literature review, including meta-analysis // Mol. Pathol. — 2000. — №53 (2). — P. 88—93.
42. Xu Y.L., Carr L.G., Bosron W.F. et al. Genotyping of human alcohol dehydrogenases at the ADH2 and ADH3 loci following DNA sequence amplification // Genomics. — 1988. — №2 (3). — P. 209—214.
43. Yang M., Tsuang J., Yvonne Wan Y.J. A haplotype analysis of CYP2E1 polymorphisms in relation to alcoholic phenotypes in Mexican Americans // Alcohol Clin. Exp. Res. — 2007. — №31 (12). — P. 1991—2000.

ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS OF GENES *ADH1B*, *ALDH2* AND *CYP2E1* WITH THE DEVELOPMENT OF ALCOHOL DEPENDENCE AND ALCOHOLIC CIRRHOSIS

CHOGOVADZE A.G., GENEROZOV E.V., NIKOLAEVA V.V., VERETINSKAYA A.G., ANOKHINA I.P., DUDINA K.R., ZNOYKO O.O., MAEVSKAYA M.V., VEDERNIKOVA A.V., IVASHKIN V.T.

Alcohol dehydrogenase 1B, aldehyde dehydrogenase-2 and ethanol-induced isozyme cytochrome P450-2E1 are important enzymes for the catalysis of the conversion of ethanol to acetaldehyde and to acetate in humans. Genetic polymorphisms of genes, coding these enzymes (*ADH1B*, *ALDH2*, *CYP2E1*) may influence their activity, thereby changing acetaldehyde accumulation in liver and blood. Therefore, the polymorphism of these genes may relate to excessive alcohol consumption and susceptibility to the alcohol-induced health effects, such as advanced liver disease and liver cirrhosis. DNA samples isolated from 382 patients with alcoholic liver disease, 138 patients with liver cirrhosis and 94 healthy controls were analyzed for genotype of polymorphisms: R47H (*ADH1B*), E504K (*ALDH2*), TaqI and PstI (*CYP2E1*). No association was found between polymorphisms of the genes *ADH1B*, *ALDH2* and susceptibility to heavy alcohol consumption or liver cirrhosis. However, significant association was found between G allele of TaqI polymorphism and susceptibility to heavy alcohol consumption. C Allele frequency of PstI polymorphism was significantly higher in patients with liver cirrhosis than in alcoholic patients without cirrhosis. Our results display an association between the polymorphisms TaqI and PstI of *CYP2E1* gene and susceptibility to alcoholism and liver cirrhosis in alcoholic patients, respective.

Key words: alcoholism, liver cirrhosis, genetic polymorphism, ethanol metabolism, cytochrome p450-2E1