

БОЛЕЗНИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ И АЛКОГОЛЬНОГО ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ

П.П. Огурцов, Т.С. Поликарпова

Кафедра госпитальной терапии
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

И.В. Гармаш, О.С. Аришева

Кафедра факультетской терапии
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

А.Е. Гущин

Лаборатория молекулярной диагностики и эпидемиологии инфекций
органов репродукции ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
ул. Новогиреевская, д. 3а, Москва, Россия, 11123

Е.В. Тарасенко, Г.И. Мясина

Кафедра биологии и общей генетики
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

Работа предпринята с целью выявления биологических факторов, влияющих на развитие алкогольного цирроза печени (АЦП). Основными генами-кандидатами повышенного риска алкогольной болезни печени считаются гены алкогольметаболизирующих ферментов, кодирующие изоформы алкоголь- и альдегиддегидрогеназ, обладающих различной скоростью окисления этанола и ацетальдегида. Обсуждается значение полиморфизма генов ангиотензиногена на развитие алкогольной зависимости (алкоголизма).

Целью нашей работы было изучение влияния полиморфизма гена АДГ2 и *t 174m* гена ангиотензина AGT на развитие алкогольной зависимости и алкогольного поражения печени. Установлено, что аллель АДГ2-2 встречается чаще среди больных алкогольным циррозом печени, чем в популяции (16% vs. 7%; $p < 0,05$). Среди лиц, злоупотребляющих алкоголем (декомпенсированный цирроз печени и алкогольная зависимость без цирроза, $n = 98$), аллель *m* гена *agt* (*t 174m*), встречается достоверно чаще (15,8%), чем в популяции (6,7%, $n = 52$; $p = 0,04$). Наибольшее увеличение частоты аллеля *m* по сравнению с популяцией наблюдалось в подгруппе с АЦП (17,3%, $n = 49$; $p = 0,035$). При сравнении клинико-лабораторных показателей больных АЦП установлено, что аллельный полиморфизм *t174m* гена *agt* не влияет на течение и клиническую картину АЦП, за исключением уровня гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТ), активность которой повышена у гомозигот *tt*.

Ключевые слова: алкогольный цирроз печени, алкогольная зависимость, алкогольдегидрогеназа, ренин-ангиотензиновая система, полиморфизм гена ангиотензиногена.

Основными генами-кандидатами повышенного риска алкогольной болезни печени считаются гены алкогольметаболизирующих ферментов, кодирующие изоформы алкогольдегидрогеназ (ADH) и альдегиддегидрогеназ (ALDH), отвечающие за 80% окисления алкоголя в организме человека [7, 10, 11]. Аллельные изоформы этих ферментов ADH 2 и ALDH 2 обладают различной скоростью окисления этанола и ацетальдегида, который играет важную роль в специфическом поражении печени [8]. Однако имеющиеся в литературных источниках данные о влиянии изоформ алкогольметаболизирующих ферментов на течение и прогноз алкогольной болезни печени достаточно противоречивы, поэтому данная проблема требует дальнейшего изучения.

Наибольшее влияние на метаболизм этанола и, соответственно, риск развития алкогольной патологии, способны оказывать алкогольдегидрогеназы. Существует 4 класса алкогольдегидрогеназ, однако их роль в метаболизме этанола в организме человека не одинакова. Их аллельные изоформы *adh* 2-2 и *aldh* 2-2 обладают аномальной активностью, которая приводит к накоплению в организме высокотоксичного ацетальдегида при поступлении экзогенного алкоголя [3]. Изоформа ADH 2-2 обладает ферментативной активностью, в 40 раз превышающей *in vitro* активность ADH 2-1. Аллельная форма *adh* 2-2 (кодирующая субъединицу β 2) отличается от остальных заменой одного нуклеотида в третьем экзоне, что приводит к появлению остатка His47 вместо Arg47.

Распространение вариантов *adh* неоднородно в разных популяциях: аллель *adh* 2-2 часто встречается в странах Северо-восточной Азии (частота — до 60—80%), редко — в западно-европейской популяции (до 4%) и практически отсутствует среди африканцев [9]. В России генотипы *adh* изучались в популяции коренных жителей Чукотки и других коренных жителей Сибири. Отмечалась низкая частота *adh* 2-2 среди приполярных монголоидов 2—3% (чукчи, сибирские эскимосы). Среди российских континентальных монголоидов частота *adh* 2-2 составила 25—26% (буряты, алтайцы), что соответствует его частоте среди населения Восточной Азии [2]. В Московской популяции частота *adh* 2-2 составляет 7%, что ближе к частоте этого аллеля в Европейских популяциях [15].

Плохая переносимость алкоголя возникает независимо от того, какой именно фермент аномален — ADH или ALDH, либо оба фермента одновременно. Особенно высокая скорость накопления токсичного ацетальдегида при приеме экзогенного этанола наблюдается у носителей *adh* 2-2, обладающих одновременно геном неактивной алкогольдегидрогеназы — ALDH 2-2. При этом в отношении роли аллеля *adh* 2-2 в развитии алкогольного цирроза печени данные противоречивы. По данным большинства исследований, частота *adh* 2-2 в группе пациентов с алкогольным циррозом увеличивается, по некоторым данным — уменьшается [3, 6, 13, 14].

В последнее время внимание исследователей также сосредоточено на изучении роли ренин-ангиотензиновой системы (РАС) в развитии алкоголизма и его органных осложнений. Ангиотензин II — это цитокин, имеющий не только вазоконстрикторные свойства. Он является стимулятором синтеза коллагена звездчатыми

клетками печени, влияет на питьевое поведение млекопитающих [4, 5]. В эксперименте на животных были получены данные о прямой зависимости потребления алкоголя от уровня ангиотензиногена [1]. Различные генетические варианты ангиотензиногена (*AGT*) определяют разную физиологическую активность ангиотензина-П. Полиморфизмы *t174m* *m235t* гена *AGT* являются маркерами гипертонии и инфарктов миокарда. В литературе представлены данные о влиянии полиморфизмов гена *AGT* на скорость прогрессии фиброза печени у больных с хронической HCV-инфекцией [12]. Однако данные о роли полиморфизмов гена ангиотензиногена в становлении алкогольной зависимости и развитии алкогольной болезни печени у человека в литературных источниках отсутствуют.

Цель исследования — изучить влияние полиморфизмов АДГ2, *t174m* и *m254T* гена ангиотензина *AGT* на риск развития алкогольной зависимости и алкогольного поражения печени.

Материалы и методы. Обследовано 150 человек московской популяции: 98 злоупотребляющих алкоголем (54 пациента с алкогольной зависимостью без цирроза и 44 больных алкогольным циррозом печени) и группа контроля — 52 человека без алкогольной зависимости и цирроза печени.

Всем больным проводилась клиничко-лабораторное обследование для оценки поражения печени. Исследовались уровень билирубина, активность ГГТ, трансаминаз, общий анализ крови. У больных циррозом печени оценивалось клиническое течение, тяжелые осложнения (кровотечение из варикозно-расширенных вен пищевода, гепаторенальный синдром, энцефалопатия и др.) и выживаемость больных по методу Каплана—Майера. ДНК выделяли из эритроцитов периферической крови. Аллели генов АДГ и АТГ идентифицировали с помощью ПДРФ-анализа продуктов ПЦР. Соответствие частот аллелей и генотипов равновесию Харди—Вайнберга проверяли по критерию χ^2 . Для оценки связи количественных признаков с генетическим полиморфизмом использовали метод однофакторного дисперсного анализа. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета программ SPSS 13.0

Результаты исследования показали, что аллель *adh* 2-2 встречался в группе алкогольного цирроза печени чаще (16%), чем в популяции (16% vs 7%; $p < 0,05$). В группе злоупотребляющих алкоголем лиц без цирроза эта частота составила 4%. Несмотря на более тяжелое течение алкогольного цирроза у больных с гетерозиготным генотипом АДН 2 (*adh* 2-^{1/2}) аллельный полиморфизм *adh* 2 на стадии цирроза печени (ЦП) не имел решающего прогностического значения для выживаемости.

Среди лиц, злоупотребляющих алкоголем (декомпенсированный цирроз печени и алкогольная зависимость без цирроза, $n = 98$), аллель *m* гена *agt* (*t174m*) встречается достоверно чаще (15,8%), чем в популяции (6,7%, $n = 52$; $p = 0,04$). Наибольшее увеличение частоты аллеля *m* по сравнению с популяцией наблюдалось в подгруппе с АЦП (17,3%, $n = 49$; $p = 0,035$). При сравнении клиничко-лабораторных показателей больных АЦП установлено, что аллельный полиморфизм *t174m* гена *agt* не влияет на течение и клиническую картину АЦП, за исключением

уровня ГГТ, активность которой повышена у гомозигот *tt*. При исследовании частоты аллеля *t* гена *agt (m235t)* среди всех вошедших в исследование 150 больных наблюдалось равномерное его распределение как среди здоровых лиц московской популяции, так и в группах алкогольной зависимости и алкогольного цирроза печени. В то же время течение и клиническая картина АЦП имела ряд особенностей в зависимости от полиморфизма *agt m235t*. Так, у пациентов, гомозиготных по аллелю *m* ($n = 10$), по сравнению с гомозиготным генотипом *tt* ($n = 12$), достоверно чаще развивался острый алкогольный гепатит. Кроме того, на момент госпитализации в стационар наблюдалась более выраженная желтуха с последующим нарастанием уровня билирубина.

В нашем исследовании среди больных с АЦП наиболее многочисленной была группа с генотипом *adh 2-1/1*, в которой влияние полиморфизма *t174m* гена *agt* оказалось существенным. Так, при наличии гомозиготного генотипа *tt* ($n = 23$) течение ЦП более часто осложнялось развитием желудочно-кишечного кровотечения (56,5% и 16,7%; $p = 0,03$) по сравнению с носительством *adh 2-1/1* и гетерозиготного генотипа *tm* гена *agt* ($n = 12$). Кроме того, у данной группы пациентов были более выражены признаки воспалительного синдрома в виде повышения активности аспарагиновой аминотрансферазы (АСТ) и ускоренного СОЭ, а также более высокая активность ГГТ. При этом уровень ГГТ в большей степени определялся гомозиготным генотипом *adh 2-1/1*.

Выводы. Аллель *adh 2-2* является биологическим фактором риска алкогольного цирроза печени. В исследованной популяции среди больных алкогольным циррозом печени его частота выше (16%), чем в популяции (7%). В группе злоупотребляющих алкоголем лиц без цирроза эта частота составила 4%. В московской популяции полиморфизм гена *agt (t174m)* влияет на становление алкогольной зависимости и формирование алкогольной болезни печени. Течение алкогольного цирроза печени имеет ряд особенностей при различных генотипах *agt* и их сочетаниях с аллельными вариантами *adh 2*. Однако эти данные для московской популяции получены впервые на небольшом количестве больных и требуют дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Котов А.В., Толыго С.М., Пестова Е.И., Обухова М.Ф. Алкогольная мотивации у крыс: дифференцированное участие ангиотензинов // Экспериментальная наркология. — 2004. — № 6. — С. 37—44.
- [2] Курилович С.А., Авксентюк А.В., Сегал и др. Молекулярно-генетические исследования в популяции коренных жителей Чукотки // Вести РАМН. — 1994. — № 2. — С. 28—30.
- [3] Alcohol in health and disease / Ed. Agarwal D.P., Seitz H.K. — New York; Basel: Dekker, 2001. — 632 p.
- [4] Bataller R. et al. Activated human hepatic stellate cell express the rennin-angiotensin system and synthesize angiotensin II // Gastroenterology. — 2003. — Vol. 125. — P. 117—125.
- [5] Bataller R. et al. Prolonger infusion of angiotensin II into normal rat induces stellate cell activation and proinflammatory events in liver // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. — 2003. — Vol. 285. — P. G642—G651.

- [6] Chao Y.C., Young T.H., Tang H.S., Hsu C.T. Alcoholism and alcoholic organ damage and genetic polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes in Chinese patients // *Hepatology*. — 1997. — Vol. 25. — P. 112—117.
- [7] Cichoż-Lach H., Partycka J., Nesina I., Celinski K., Słomka M., Wojciorowski J. Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase gene polymorphism in alcohol liver cirrhosis and alcohol chronic pancreatitis among Polish individuals // *Scand J Gastroenterol*. — 2007. — Vol. 42(4). — P. 493—498.
- [8] Ethanol and the Liver Mechanisms and Management // Ed. by D.I.N. Sherman, V. Preedy, R.R. Watson. — N.Y.: Taylor & Francis, 2002. — 689 p.
- [9] Goedde H.W., Agarwal D.P., Fritze G. et al. Distribution of ADH2 and ALDH 2 genotypes in different population // *Hum. Genet*. — 1992. — Vol. 88. — P. 344—346.
- [10] Higuchi S., Muramatsu T., Matsushita S. et al. Polymorphisms of ethanol-oxidizing enzymes in alcoholics with inactive ALDH 2 // *Hum. Genet*. — 1996. — Vol. 97. — P. 431—434.
- [11] Lieber C.S. Medical disorders of alcoholism // *N. Engl. J. Med*. — 1995. — Vol. 333. — P. 1058.
- [12] Smirne C., Fabris C., Toniutto P., Caldera F. Angiotensin converting enzyme gene II) polymorphism and liver fibrosis in chronic hepatitis C // *Journal of Hepatology, Supplement*. — 2006. — Vol. 44, N 2. — P. S205—S206.
- [13] Garcia-Martin E., Martinez C., Serrador M., Alonso Navarro H., Navacerrada F., Agundez J.A., Jimenez-Jimenez F.J. Alcohol dehydrogenase 2 genotype and risk for migraine // *Headache*. — 2010. — 50(1). — P. 85—91.
- [14] Kang T.S., Woo S.W., Park H.J., Roh X. Comparison of genetic polymorphisms of CYP2E1, ADH2, and ALDH2 genes involved in alcohol metabolism in Koreans and four other ethnic groups // *J Clin Pharm Ther*. — 2009. — Apr; 34(2). — P. 225—30.
- [15] Русакова О.С., Гармаш И.В., Гушин А.Е., Тарасенко Е.В., Мазурчик Н.В., Огурцов П.П., Моисеев В.С. Алкогольный цирроз печени и генетический полиморфизм алкогольдегидрогеназы (АДН2) и ангиотензиногена (Т174М, М235Т) // *Клиническая фармакология и терапия*. — 2006. — Т. 15. — № 5. — С. 31—33.

THE BIOLOGICAL FACTORS INFLUENCE ALCOHOLIC LIVER DISEASE PROGRESSION

**P.P. Ogurtsov, I.V. Garmash, E.V. Tarasenko,
G.I. Myandina, O.S. Arisheva, T.S. Polikarpova**

Department of Hospital Medicine and Department of Biology
and General Genetics Medical faculty
Peoples Friendship University of Russia
Miklukino-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198

A.E. Guschin

Laboratory of Molecular diagnosis and epidemiology of infectious
reproductive organs FBUN Epidemiology Research Institute
Novogireevskaya str., 3a, Moscow, Russia, 111123

The aim of our study was to detect the genetic factors which cause the predisposition for alcoholic liver damage. The main candidate genes of high risk are isoforms of *adh* and *aldh* genes which are responsible for different rate of alcohol metabolism and oxidation of ethanol and acetaldehyde. Our results demonstrated that allelic variant *adh2-2* is in a higher frequency in patients with alcoholic liver damage than in a population (16% vs. 7%; $p < 0,05$).

The polymorphism *t174m* of angiotensinogen gene AGT was studied as risk factor of alcoholic liver damage. The allelic variant *m* of angiotensinogen gene AGT is more frequent (15,8%) in patients with alcoholic liver cirrhosis and alcohol abuse without cirrhosis ($n = 98$) than in a population (6,7%, $n = 52$; $p = 0,04$). the greater frequency of allele *m* was in a group with alcoholic liver cirrhosis (17,3%; $p = 0,058$). Our data provides the evidence that polymorphism *t174m* of AGT gene does not influence the progression (clinical picture) of alcoholic liver cirrhosis, except the level of GGT, which is increased in patients with homozygous genotype *tt*.

Key words: alcoholic liver cirrhosis, alcoholdehydrogenase, polymorphism *adh2*, polymorphism *t174m*, angiotensinogen gene AGT, the renin-angiotensin system.

REFERENCES

- [1] Kotov A.V., Tolpygo S.M., Pevtsova E.I., Obukhov M.F. Alcohol motivation in rats: differential participation of angiotensin // *Experimental drug and alcohol abuse*. — 2004. — № 6. — P. 37—44.
- [2] Kurylovich S.A., Avksentyuk A.V., Segal et al. Molecular genetic studies in aborigine populations of Chukotka // *News of RAMS*. — 1994. — N 2. — P. 28—30.
- [3] Alcohol in health and disease / Ed. D.R. Agarwal, Seitz N. — New York; Basel: Dekker, 2001. — 632 p.
- [4] Bataller R. et al. Activated human hepatic stellate cell express the rennin-angiotensin system and synthesize angiotensin II // *Gastroenterology*. — 2003. — Vol. 125. — P. 117—125.
- [5] Bataller R. et al. Prolonger infusion of angiotensin II into normal rat induces stellate cell activation and proinflammatory events in liver // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* — 2003. — Vol. 285. — P. G642—G651.
- [6] Chao Y.S., Young T.N., Tang N.S., Hsu S.T. Alcoholism and alcoholic organ damage and genetic polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes in Chinese patients // *Hepatology*. — 1997. — Vol. 25. — P. 112—117.
- [7] Cichoz-Lach H., Partyka J., Nesina I., Celinski K., Slomka M., Wojciorowski J. Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase gene polymorphism in alcohol liver cirrhosis and alcohol chronic pancreatitis among Polish individuals // *Scand J Gastroenterol.* — 2007. — Vol. 42 (4). — P. 493—498.
- [8] Ethanol and the Liver Mechanisms and Management // Ed. by D.I.N. Sherman, Charles Preedy, R.R. Watson. — N.Y.: Taylor & Francis, 2002. — 689 p.
- [9] Goedde N.W., Agarwal D.R., Fritze G. et al. Distribution of ADH2 and ALDH2 genotypes in different population // *Hum. Genet.* — 1992. — Vol. 88. — P. 344—346.
- [10] Higuchi S., Muramatsu T., Matsushita S. et al. Polymorphisms of ethanol-oxidizing enzymes in alcoholics with inactive ALDH2 // *Hum. Genet.* — 1996. — Vol. 97. — P. 431—434.
- [11] Lieber C.S. Medical disorders of alcoholism // *N. Engl. J. Med.* — 1995. — Vol. 333. — P. 1058.
- [12] Smirne S., Fabris C., Toninato R., Calzera F. Angiotensin converting enzyme gene and polymorphism and liver fibrosis in chronic hepatitis C // *Journal of Hepatology, Supplement*. — 2006. — Vol. 44. — N 2. — P. S205—S206.
- [13] Garcia-Martin E., Martinez C., Serrador M., Alonso Navarro H., Navacerrada F., Agundez J.A., Jimenez-Jimenez F.J. Alcohol dehydrogenase 2 genotype and risk for migraine // *Headache*. — 2010. — 50 (1). — P. 85—91.
- [14] Kang T.S., Woo S.W., Park H.J., Lee Y., Roh X. Comparison of genetic polymorphisms of SUR2E1, ADH2, and ALDH2 genes involved in alcohol metabolism in Koreans and four ethnic groups // *J Clin Pharm Ther.* — 2009. — Apr; 34 (2). — P. 225—230.
- [15] Rusakova O.S., Garmash I.V., Gushin A.E., Tarasenko E.V., Mazurchik N.V., Ogurtsov P.P., Moiseev V.S. Alcoholic cirrhosis of the liver and the genetic polymorphisms of alcohol dehydrogenase (AD1A) and angiotensinogen (T174M, M235T) // *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. — 2006. — Vol. 15. — N 5. — P. 31.