

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Γενετικοί πολυμορφισμοί στην παθογένεια της αλκοολικής νόσου του ήπατος

Η κατάχρηση της αιθανόλης είναι μείζον κοινωνικό και κλινικό πρόβλημα, με ποσοστό των χρηστών να αναπτύσσει αλκοολική νόσο του ήπατος (ΑΝΗ). Η συχνότητα και η σοβαρότητα της ΑΝΗ σε χρόνιους χρήστες συσχετίζεται με περιβαλλοντικούς παράγοντες και ειδικά με την ποσότητα της κατανάλωσης οινοπνεύματος. Εκτός από την άμεση βλάβη στο ήπαρ που προκαλεί η κατάχρηση της αλκοόλης μέσω της στεάτωσης, αρκετοί παράγοντες έχουν ενοχοποιηθεί ως αίτια στην παθογένεια και την εξέλιξη της ΑΝΗ, καθώς και στην ατομική ευπάθεια του χρήστη σε αυτή. Το οξειδωτικό stress, η παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου (ROS) και η έκκριση κυτταροκινών, κυρίως του παράγοντα νέκρωσης του όγκου-α (TNF-α), είναι παράγοντες που οδηγούν σε φλεγμονή, ίνωση και, τελικά, σε κίρρωση του ήπατος. Η εξέλιξη των μοριακών τεχνικών παρέχει πλέον τη δυνατότητα να απομονωθεί και να καταστεί κατανοητή η δομή και η σχέση των γονιδίων που εμπλέκονται στην παθογένεια της ΑΝΗ. Πράγματι, έχουν ανακαλυφθεί γονίδια που επηρεάζουν την ανάπτυξη της στεατοηπατίτιδας, το οξειδωτικό stress, την ενδοτοξική απάντηση του Toll-like receptor-4 (TLR-4) και τη δραστηριότητα των κυτταροκινών. Έτσι, η χρόνια έκθεση στο οινοπνευμα οδηγεί σε συνεχή ενεργοποίηση των γονιδίων TLR-4 και glycosyl-phosphatidylinositol-anchored (CD14) μέσω ενδοτοξινών και ακολούθως σε απελευθέρωση κυτταροκινών, καταλήγοντας σε χρόνια φλεγμονή και ηπατοκυτταρική βλάβη. Επίσης, έχουν ανακαλυφθεί γονίδια που επηρεάζουν την εξέλιξη σε ίνωση-κίρρωση και σε ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκίνου. Κατανοώντας τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς της ΑΝΗ, ίσως θα διαφωτιστεί μελλοντικά η ανάπτυξη αποτελεσματικών θεραπευτικών μεθόδων της ΑΝΗ. Σκοπός της παρούσας ανασκόπησης είναι η παρουσίαση των σύγχρονων εξελίξεων στην ανάδειξη γονιδιακών πολυμορφισμών που καθορίζουν την παθογένεια και τη φυσική ιστορία της ΑΝΗ.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το ποσοστό των ατόμων που κάνουν κατάχρηση αιθανόλης αυξάνει. Η κατάχρηση αιθανόλης αποτελεί πλέον, σε παγκόσμιο επίπεδο, μείζον κοινωνικό και κλινικό πρόβλημα. Η αλκοολική νόσος του ήπατος (ΑΝΗ, alcoholic liver disease [ALD]) είναι από τις κύριες αιτίες της χρόνιας ηπατικής νόσου και ευθύνεται για το 50% των θανάτων από τελικού σταδίου ηπατική νόσο στις δυτικές χώρες.¹ Η ΑΝΗ επίσης αποτελεί τη δεύτερη συχνότερη ένδειξη για μεταμόσχευση ήπατος (μετά από την ιογενή ηπατίτιδα) στις Ηνωμένες Πολιτείες και στην Ευρώπη. Χωρίς τη μεταμόσχευση ήπατος, η πενταετής επιβίωση σε ασθενείς με ΑΝΗ είναι πολύ χαμηλή (23%), ενώ με τη μεταμόσχευση του ήπατος αυξάνει στο 88%.² Η συχνότητα της αλκοολικής ηπατοπάθειας αυξάνεται συνεχώς και στην Ελλάδα.³

Για την ανάπτυξη αλκοολικής κίρρωσης του ήπατος απαιτείται χρόνια κατάχρηση (καθημερινή χρήση αιθυλικής αλκοόλης >20–40 g στις γυναίκες και 40–60 g στους άνδρες, για 10–20 χρόνια). Οι περισσότεροι από τους ασθενείς δεν είναι εξαρτημένοι («αλκοολικοί»), αλλά συχνά κάνουν αυξημένη χρήση στο πλαίσιο της καθημερινής κοινωνικής ζωής. Ωστόσο, δοθέντος ότι η πλειοψηφία των ασθενών με κατάχρηση αιθυλικής αλκοόλης αναπτύσσει ηπατική στεάτωση, περιορισμένο μόνο ποσοστό παρουσιάζει πιο προχωρημένες βλάβες του ήπατος όπως ίνωση, κίρρωση ή και ηπατοκυτταρικό καρκίνο. Μελέτες βιοψιών του ήπατος σε πότες αποκάλυψαν κυρίως στεατοηπατίτιδα σε ποσοστό 20–30%, ενώ στο 10% βρέθηκε κίρρωση ήπατος.⁴ Η παρουσία και η σοβαρότητα της αλκοολικής ηπατοπάθειας εξαρτάται από την ποσότητα της αιθανόλης που καταναλώνεται. Όμως, βρέθηκαν σημαντικές διαφορές

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2012, 29(4):399–409
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2012, 29(4):399–409

Β. Νέζη,
Λ. Βασιλιεβα,
Μ. Deutsch,
Σ.Π. Ντουράκης

Β΄ Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική,
Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο
Αθηνών «Ιπποκράτειο», Αθήνα

The genetics of alcoholic liver
disease

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Αλκοολική νόσος ήπατος
Γονίδια
Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου
Κυτταροκίνες
Λιποπολυσακχαρίτες
Οξειδωτικό stress
Παράγοντας νέκρωσης του όγκου
Πολυμορφισμοί

Υποβλήθηκε 28.11.2011
Εγκρίθηκε 11.12.2011

σε ασθενείς ακόμη και μετά από παρόμοια ποσότητα και διάρκεια κατανάλωσης αιθανόλης.^{5,6}

Επομένως, άλλοι παράγοντες μπορεί να έχουν σημαντική επίδραση και συμβάλλουν στην ατομική ευαισθησία στο οινόπνευμα, όπως το φύλο, οι χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες,⁷ η δίαιτα και κάποιοι περιβαλλοντικοί παράγοντες.⁸ Δύο σύμφωνες μελέτες που διεξήχθησαν στις αρχές της δεκαετίας του 1980 υποστηρίζουν ότι κάποιοι γενετικοί παράγοντες είναι εξ ίσου ή περισσότερο σημαντικοί.⁹ Αυτές οι μελέτες έχουν παρακινήσει την έρευνα για γονίδια που πιθανόν να σχετίζονται με την ευαισθησία στην αλκοολική ηπατοπάθεια.

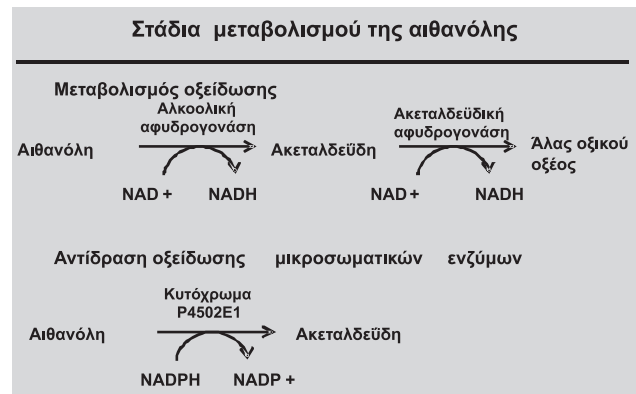
Η παρούσα ανασκόπηση αναφέρεται στις απαντήσεις των ερωτημάτων: γιατί μόνο ένας στους 10 που κάνουν κατάχρηση αιθυλικής αλκοόλης αποθνήσκει από κίρρωση του ήπατος; Τι ρόλο διαδραματίζει το γενετικό υπόστρωμα;

2. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ

Η αλκοόλη οξειδώνεται σχεδόν αποκλειστικά (κατά >90%) στο ήπαρ προς ακεταλδεΐδη, οξικό (acetate), καθώς και σε CO₂+H₂O. Η σχετική αντίδραση λαμβάνει χώρα στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων και καταλύεται από την αλκοολική αφυδρογονάση (alcohol dehydrogenase, ADH).¹⁰ Η ακεταλδεΐδη που παράγεται, μεταβολίζεται σε άλας του οξικού οξέος (acetate).¹¹ Η αντίδραση αυτή λαμβάνει χώρα στα μιτοχόνδρια και καταλύεται από την ακεταλδεΐδική αφυδρογονάση (acetaldehyde dehydrogenase, ALDH).¹² Ο μεταβολισμός της αιθανόλης απεικονίζεται στην εικόνα 1.

Γονίδια που σχετίζονται με τις μορφές του ενζύμου της ADH διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της ηπατικής βλάβης. Ως παράδειγμα αναφέρεται η μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε κινεζικό πληθυσμό. Διαπιστώθηκε ότι στους Κινέζους με έλλειψη του ισοενζύμου ALDH2¹³ (το οποίο εμποδίζει τη συσσώρευση της ακεταλδεΐδης) η κατανάλωση οινόπνευματος οδήγησε σε ραγδαία ηπατική βλάβη, σε αντίθεση με αυτούς που είχαν το ισοένζυμο.¹⁴ Επίσης, στους ασθενείς με έλλειψη του ισοενζύμου ALDH2¹³ η αλκοόλη παρουσιάζει πολύ χαμηλή απέκκριση με την αναπνοή (1–5%) και τα ούρα (<1%). Η οξείδωση πραγματοποιείται στην οδό της ADH (η κύρια οδός σε υγιή άτομα), στα μικροσωμάτια (σύστημα κυτοχρώματος P450) και στην οδό της καταλάσης (<2% του μεταβολισμού της αλκοόλης). Η οδός οξείδωσης της αλκοόλης στο μικροσωματικό σύστημα του P450 (MEOS-CYP2E1) ενεργοποιείται σε υψηλά επίπεδα αλκοόλης και σε χρόνιους χρήστες.¹⁵

Οι παράγοντες που συμβάλλουν στην παθογένεια της ANH αναφέρονται στον πίνακα 1.



Εικόνα 1. Μεταβολισμός της αιθανόλης (τροποποιημένο).¹²

NAD+: Nicotinamide adenine dinucleotide, νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο· NADP+: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο· NADPH: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο· NADH: Nicotinamide adenine dinucleotide, νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο.

Η κατανάλωση οινόπνευματος προκαλεί στεάτωση και καθιστά το κύτταρο ευαίσθητο στο οξειδωτικό stress διά μέσου πολλαπλών μηχανισμών, όπως υποξία,¹⁶ μετατροπή του δισθενούς σιδήρου σε τρισθενή (που είναι ισχυρός παράγοντας γένεσης ελευθέρων ριζών οξυγόνου)¹⁷ και αναστολή του 26S πρωτεοσώματος (proteosome) σε ηπατοκύτταρα.¹⁸

Το οξειδωτικό stress είναι σημαντικός παράγοντας της παθογένειας ANH και δρα προκαλώντας την καταστροφή μεμβρανών.¹³ Το 1966, ο DiLuzio ήταν ο πρώτος που περιέγραψε τη λιποειδική υπεροξειδωση μετά από χρόνια έκθεση στην αλκοόλη.¹⁹ Οι μελέτες σε πειραματικά μοντέλα αλκοολικής νόσου ήπατος καθιέρωσαν σαφή συσχέτιση μεταξύ του οξειδωτικού stress και της ηπατοκυτταρικής βλάβης.²⁰ Το οξειδωτικό stress οφείλεται στην αύξηση της παραγωγής των αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS/reactive nitrogen species, RNS).²¹ Τα ROS/RNS προκαλούν κυτταρική βλάβη διά μέσου της χημικής τροποποίησης ή της βλάβης των βιολογικών μορίων.²² Στην προσπάθεια να εξουδετερώσουν το οξειδωτικό stress, εκπονήθηκαν διπλές-τυφλές, ελεγχόμενες με εικονικό φάρμακο, τυχαιοποιημένες μελέτες με την εφαρμογή της βιταμίνης E (1.000 IU) σε ασθενείς με ήπια έως μέτρια αλκοολική ηπατίτιδα²³ σε συνδυασμό με προσθήκη κορτικοστεροειδών ή και χωρίς, σε ασθενείς με βαριά αλκοολική ηπατίτιδα.²⁴ Οι συγγραφείς διαπίστωσαν ότι, αν και η θεραπεία βελτίωσε τα επίπεδα του υαλουρονικού οξέος πλάσματος στην πρώτη περίπτωση, δεν πρόσφερε όμως κλινικώς σημαντικά αποτελέσματα και στις δύο μελέτες. Επομένως, η θεραπεία με τη βιταμίνη E απέτυχε. Ίσως στο μέλλον να βρεθούν νέες αντιοξειδω-

Πίνακας 1. Παράγοντες που συμβάλλουν στην παθογένεια της αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος (τροποποιημένο).^{12,13,87}

Άμεση επίδραση της αλκοόλης	Στεάτωση, υποξία, μετατροπή του δισθενούς σιδήρου σε τρισθενή
Οξειδωτικό stress	Καταστροφή μεμβρανών
Έλλειψη γλουταθειόνης	Δυσαρμονία της αντιοξειδωτικής άμυνας
Παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου	Κυτταρική βλάβη διά μέσου της χημικής τροποποίησης ή της βλάβης των βιολογικών μορίων
Έκκριση κυτταροκινών (κυρίως του TNF-α)	Φλεγμονή
Φλεγμονώδης αντίδραση	Αποτέλεσμα δράσης εντεροτοξίνης που μεταφέρεται από τον εντερικό αυλό προς την πυλαία φλέβα
Ενεργοποίηση αστεροειδών κυττάρων	Ίνωση
Υποσιτισμός	Μειωμένα επίπεδα βασικών αντιοξειδωτικών μορίων
Έλλειψη ψευδαργύρου	Προκαλείται από το οξειδωτικό stress και ενεργοποιείται από την ενδοτοξίνη του TLR-4 και TNF-α
Ανοσολογικοί μηχανισμοί έναντι νεο-αντιγόνων	

TNF-α: Tumor necrosis factor α, παράγοντας νέκρωσης του όγκου α, TLR-4: Toll-like receptor-4

τικές θεραπείες, οι οποίες θα παρέμβουν στο μονοπάτι του οξειδωτικού stress.

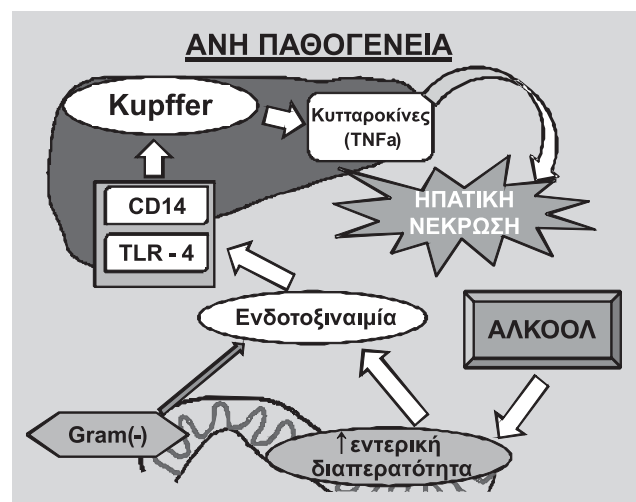
Επίσης, άτομα που κάνουν κατάχρηση αιθανόλης έχουν συχνά χαμηλότερα επίπεδα των βασικών αντιοξειδωτικών μορίων.²⁵ Αυτό οφείλεται σε διάφορους παράγοντες, όπως διατροφικές ελλείψεις λόγω διατροφικής υποκατάστασης των ημερήσιων θερμιδικών αναγκών με την αλκοόλη (έως και 50%).²⁶

Η έκκριση κυτταροκινών, κυρίως του παράγοντα νέκρωσης του όγκου (tumor necrosis factor, TNF-α), αποτελεί άλλον σημαντικό παράγοντα της παθογένειας ANH. Πρόσφατα κλινικά και επιδημιολογικά δεδομένα δείχνουν ότι φλεγμονώδεις αντιδράσεις της έμφυτης ανοσίας εμπλέκονται στην παθογένεση της ANH, ενώ αρκετές μελέτες αποκαλύπτουν τη σχέση μεταξύ της αλκοολικής ηπατοπάθειας και των πολυμορφισμών γονιδίων που κωδικοποιούν προφλεγμονώδεις²⁷ ή αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες.²⁸

Η φλεγμονή στην ANH αναπτύσσεται ως απάντηση στα αυξημένα επίπεδα στον ορό ενδοτοξινών (λιποπολυσακχαρίτες, lipopolysaccharide [LPS]) προερχόμενων από το κυτταρικό τοίχωμα των gram-αρνητικών εντεροβακτηρίδιων. Αυξημένα επίπεδα ενδοτοξινών, φαινόμενο που παρατηρείται σε αλκοολική νόσο ήπατος, οφείλονται σε υπερανάπτυξη gram-αρνητικών βακτηρίων στο έντερο, σε αύξηση της εντερικής διαπερατότητας και στη διαταραγμένη ηπατική κάθαρση της ενδοτοξίνης.²⁹ Ενδοτοξιναιμία έχει τεκμηριωθεί σε αλκοολικούς ασθενείς και σε πειραματόζωα που τους χορηγήθηκε αγωγή με αλκοόλη ως αποτέλεσμα εντεροβακτηριακής υπερανάπτυξης, αυξημένης διαπερατότητας του εντερικού τείχους και μειωμένης φαγοκυτταρικής δραστηριότητας. Επίσης, η κατάχρηση οινοπνεύματος αυξάνει την έκφραση της CD14 (glycosyl-phosphatidylinositol-anchored) μεμβρανικής πρωτεΐνης στην επιφάνεια των κυττάρων Kupffer (είναι τα

μακροφάγα που κατοικούν στο ήπαρ).³⁰ Οι LPS, συνδεδεμένοι με την πρωτεΐνη που δεσμεύει λιποπολυσακχαρίτες (lipopolysaccharide binding protein, LBP), αντιδρούν με τη CD14. Ωστόσο, η CD14 δεν έχει ενδοκυτταρικό χώρο αλλά σηματοδοτεί μέσω ενός άλλου LPS υποδοχέα, του Toll-like receptor-4 (TLR-4) ο οποίος ενεργοποιείται από το LPS-LBP-CD14 σύμπλεγμα, προκαλώντας την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών (εικ. 2).

Ο TLR-4 διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη και στην εξέλιξη της αλκοολικής νόσου του ήπατος.³¹ Η χρόνια έκθεση στο οινόπνευμα οδηγεί σε συνεχή ενεργοποίηση των TLR-4 και CD14 μέσω ενδοτοξίνης και ακολούθως απελευθέρωση κυτταροκινών, καταλήγοντας σε χρόνια φλεγμονή με συνεχόμενη ηπατοκυτταρική βλάβη. Άλλες τοξίνες που προέρχονται από τα βακτήρια και μπορούν να επηρεάσουν



Εικόνα 2. Παθογένεια της αλκοολικής νόσου του ήπατος (ANH) (τροποποιημένο).¹²

TNF-α: Tumor necrosis factor α, παράγοντας νέκρωσης του όγκου α· CD14: Glycosyl-phosphatidylinositol-anchored· TLR-4: Toll-like receptor-4.

την ενεργοποίηση του TLR-4 και την παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών είναι η πεπτιδογλυκάνη και η flagellin.

Σχεδόν το 50% των διατροφικών αναγκών σε άτομα που κάνουν κατάχρηση αιθανόλης προσλαμβάνονται από το οινόπνευμα. Έτσι, συχνά είναι ανεπαρκής η πρόσληψη πρωτεϊνών και ιχνοστοιχείων. Είναι πολύ σημαντικό ότι η βαρύτητα της ηπατικής νόσου σχετίζεται με τον υποσιτισμό.³² Στην πολυκεντρική μελέτη των Cabré et al, σε ασθενείς με βαριά ANH,³³ η θνησιμότητα στον πρώτο χρόνο ήταν σημαντικά χαμηλότερη στους ασθενείς που λάμβαναν εντερική διατροφή σε σχέση με αυτούς που έλαβαν θεραπεία με γλυκοκορτικοειδή, κυρίως εξ αιτίας των λιγότερων επιπλοκών από τις λοιμώξεις. Οι ασθενείς με κίρρωση παρουσιάζουν πρόωμη έναρξη της γλυκονογένεσης μετά από νηστεία μικρής διάρκειας. Η αντιδραστική στην αιτία επιτάχυνση του μεταβολισμού μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση των πρωτεϊνικών απαιτήσεων και εξάντληση των μυών. Πρόσφατη τυχαιοποιημένη μελέτη ανέδειξε ότι κατανάλωση γεύματος κατά τις νυκτερινές ώρες βελτιώνει τη γενική κατάσταση των ασθενών με κίρρωση ήπατος.³⁴

Ο ψευδάργυρος είναι απαραίτητο ιχνοστοιχείο που συμμετέχει στην κυτταρική λειτουργία. Η έλλειψη ψευδαργύρου αποτελεί συχνή επιπλοκή της ANH. Οι εκδηλώσεις της ανεπάρκειας ψευδαργύρου που εκδηλώνονται στους ασθενείς με ANH περιλαμβάνουν αλλοιώσεις του δέρματος, ανορεξία, κατάθλιψη, βραδεία επούλωση, υπογοναδισμό, διαταραχές της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος, μειωμένη νυκτερινή όραση και κατάθλιψη. Πρόσφατα αποδείχθηκε ότι η ανεπάρκεια ψευδαργύρου προκαλείται από το οξειδωτικό stress και ενεργοποιείται από την ενδοτοξίνη του TLR-4 και TNF- α .³⁵

3. ΓΟΝΙΔΙΑΚΟΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ

Η ταχεία ανάπτυξη των τεχνικών μοριακής βιολογίας επιτρέπει τη μελέτη των γονιδίων που εμπλέκονται σε διάφορα στάδια της παθογένειας της ANH.

Στο εν λόγω κεφάλαιο γίνεται προσπάθεια να απαντηθεί το καυτό ερώτημα, εάν η γενετική προδιάθεση καθορίζει την ανάπτυξη της ηπατικής νόσου στα άτομα που κάνουν κατάχρηση της αλκοόλης, αναλύοντας βήμα-βήμα τα γονίδια που εμπλέκονται σε κάθε στάδιο της παθογένειας της ANH.

3.1. Γονίδια που επηρεάζουν την ανάπτυξη της στεατοηπατίτιδας

3.1.1. *Γονίδια που επηρεάζουν το οξειδωτικό stress.* Όπως προαναφέρθηκε, το οξειδωτικό stress διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της ανάπτυξης ANH. Είναι

όμως όλοι οι άνθρωποι το ίδιο ευαίσθητοι στο οξειδωτικό stress που προκαλείται από τη δράση της αλκοόλης; Ποια είναι τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για την εξουδετέρωση του οξειδωτικού stress; Έχουν διεξαχθεί αρκετές μελέτες στην προσπάθεια να αποσαφηνιστεί ο ρόλος του γενετικού υποστρώματος και των γονιδιακών πολυμορφισμών;

Οι γενετικοί τροποποιητές του οξειδωτικού stress διαιρούνται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: σε αυτούς που κωδικοποιούν πρωτεΐνες οι οποίες εμπλέκονται στη γένεση των ROS και σε εκείνους που μεσολαβούν στην κυτταρική αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού. Ο μηχανισμός της επίδρασης κάθε ομάδας και τα γονίδια που εμπλέκονται, απεικονίζονται αναλυτικά στον πίνακα 2.

Τα γονίδια της πρώτης ομάδας, που τροποποιούν το μεταβολισμό της αλκοόλης, επηρεάζουν επίσης τη συσσώρευση των ενδιάμεσων τοξικών προϊόντων μεταβολισμού και ως εκ τούτου, δυνητικά, θα μπορούσαν να επηρεάσουν την εξέλιξη της ANH. Τα στοιχεία είναι αντικρουόμενα: ενώ μεγάλη μετα-ανάλυση υποστηρίζει ότι η μεταφορά του ADH*2 αλληλομόρφου συνδέεται με την ανάπτυξη ANH,³⁶ σε μελέτες σε Καυκάσιους ασθενείς δεν βρέθηκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ πολυμορφισμών των γονιδίων της ADH και της αλδεϋδης της αφυδρογονάσης (ALDH) και της ανάπτυξης ANH. Εν τούτοις, οι εν λόγω μελέτες είναι περιορισμένες λόγω του χαμηλού επιπέδου (<5%) του ADH*2 στους Καυκάσιους ασθενείς.^{37,38,42}

Άλλο γονίδιο που εμπλέκεται στο μεταβολισμό της αιθανόλης και είναι υπεύθυνο για το 10% του μεταβολισμού της είναι το γονίδιο 2E του κυτοχρώματος P450 (cytochrome P450 2E gene, CYP2E). Το κυτόχρωμα P450 αποτελεί σημαντική πηγή των ROS. Όμως, δεν βρέθηκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών του γονιδίου του κυτοχρώματος P450 2E1 (cytochrome P450 2E1 gene, CYP2E1) ούτε με το οινόπνευμα ούτε με την ANH.³⁹⁻⁴²

Επίσης, στην πρώτη ομάδα ανήκουν τα γονίδια τα οποία κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη γένεση των ROS, χωρίς να συμμετάσχουν στο μεταβολισμό της αλκοόλης, όπως το γονίδιο της αιμοχρωμάτωσης (hemochromatosis, HFE). Δεδομένου ότι η εναπόθεση σιδήρου στο ήπαρ προάγει το οξειδωτικό stress, το HFE είναι υποψήφιο γονίδιο για συμμετοχή στην παθογένεια της ANH και της μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος (MAANH, non alcoholic fatty liver disease [NAFLD]). Τα αποδεικτικά στοιχεία για το ρόλο της αιμοχρωμάτωσης HFE στη MAANH είναι αντικρουόμενα.⁴²⁻⁴⁶ Σ' ό,τι αφορά στην ANH, σε συγκριτική μελέτη με >400 ασθενείς και μάρτυρες, δεν βρέθηκαν αποδεικτικά στοιχεία της συσχέτισης C282Y και H63D στη μετάλλαξη της HFE με τη σοβαρότητα της νόσου,⁴⁷ σε αντίθεση με τη MAANH.⁴⁸ Η πλέον πρόσφατη

Πίνακας 2. Γονίδια που επηρεάζουν το οξειδωτικό stress (τροποποιημένο).⁸⁷

Γονίδια που επηρεάζουν το οξειδωτικό stress			
Πρώτη ομάδα		Δεύτερη ομάδα (κοινή για ANH και MAΛNH)	
Κωδικοποίηση πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη γένεση ROS		Μεσολάβηση στην κυτταρική αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού	
Ειδική για δεδομένη αιτιολογία (κωδικοποίηση των ενζύμων που μεταβολίζουν την αλκοόλη)	Ανεξάρτητα από την αιτιολογία		
Κωδικοποίηση ενζύμων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό της αλκοόλης	Ευαισθητοποίηση ηπατοκυττάρων σε βλάβη από οξειδωτικό stress	Επίδραση στην κύρια οδό των μιτοχονδριακών ROS	Επίδραση στη μείωση των αντιοξειδωτικών αποθηκών της γλουταθειόνης
ADH: ADH1B*2 ADH1B*3 ADH1C*1 ADH2*1 ADH2*2 ADH3*2 ALDH: ALDH2*2 CYP2E	HFE	SOD2	GCLC GCLM

ROS: Reactive oxygen species, ελεύθερες ρίζες οξυγόνου· ADH: Alcohol dehydrogenase, γονίδιο της αλκοολικής αφυδρογονάσης· ALDH: Aldehyde dehydrogenase, γονίδιο της αλδευδικής αφυδρογονάσης· CYP2E: Cytochrome P450 2E gene, γονίδιο του κυτοχρώματος P450 2E· HFE: Hemochromatosis, γονίδιο αιμοχρωμάτωσης· GCLC: Glutamate-cysteine ligase/γ-glutamylcysteine, γονίδιο που κωδικοποιεί τη σύνθεση της πρώτης υπομονάδας της γλουταμινο-κυστεϊνικής λιγάσης/συνθετάσης· GCLM: Glutamate-cysteine ligase/γ-glutamylcysteine, γονίδιο που κωδικοποιεί τη σύνθεση της δεύτερης υπομονάδας της γλουταμινο-κυστεϊνικής λιγάσης/συνθετάσης· SOD2: Manganese superoxide dismutase, γονίδιο μαγγανίου-εξαρτώμενο από τη δισμουτάση του υπεροξειδίου· ANH: Αλκοολική νόσος ήπατος· MAΛNH: Μη αλκοολική λιπώδης νόσος ήπατος.

μελέτη επιβεβαίωσε την υπερφόρτωση με σίδηρο των ασθενών που κάνουν κατάχρηση αιθυλικής αλκοόλης. Μάλιστα, η υπερφόρτωση αυτή ήταν πιο σοβαρή στην υποομάδα ασθενών με ANH και οι συγκεκριμένοι ασθενείς παρουσίασαν περισσότερο αυξημένη συχνότητα της μετάλλαξης H63D HFE.⁴⁹

Τα γονίδια της δεύτερης ομάδας κωδικοποιούν τα ένζυμα που εξουδετερώνουν τις ROS. Οι ROS έχουν ζωτική σημασία για την ανάπτυξη της ηπατικής βλάβης που προκαλείται από το οινόπνευμα. Γι' αυτόν το λόγο υπάρχει γραμμή άμυνας, την οποία αντιπροσωπεύουν τα αντιοξειδωτικά ένζυμα που εξουδετερώνουν τις ROS. Τέτοιο ένζυμο είναι η γλουταθειόνη-S-τρανσφεράση (glutathione-S-transferases, GST) και η μαγγανιο-εξαρτώμενη δισμουτάση του υπεροξειδίου (manganese superoxide dismutase, SOD). Παρά την αυξημένη ροή των ελεύθερων λιπαρών οξέων (free fatty acids, FFA) στα ηπατοκύτταρα, που συναντάται στη MAΛNH, η μιτοχονδριακή β- και η εξωμιτοχονδριακή β- και ω-οξείδωση των λιπαρών οξέων είναι οι κύριες πηγές της ROS. Μια αντικατάσταση αλανίνης σε βαλίνη στη θέση 16 (A16T) της μιτοχονδριακής SOD2 στοχεύει στην ακόλουθη αύξηση της MnSOD δραστηριότητας, η οποία προκαλεί αυξημένη παραγωγή υπεροξειδίου και συνεπώς στην κυτταρική βλάβη. Αυτός ο πολυμορφισμός έχει συσχετιστεί με προχωρημένη ηπατική ίνωση σε MAΛNH.^{50,51} Ο ίδιος πολυμορφισμός συσχετίστηκε επίσης με προχωρημένη ANH.⁵² Ωστόσο, το εύρημα αυτό δεν επιβεβαιώθηκε σε

δεύτερη μεγαλύτερη μελέτη.⁵³ Πρόσφατη μελέτη υποστήριξε ακόμη ότι η συνύπαρξη του A16T πολυμορφισμού με έναν πολυμορφισμό της SOD2 συνδέεται επίσης με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε στάδιο αλκοολικής κίρρωσης ήπατος. Και αυτό όμως το εύρημα απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση.⁵⁴

Το δεύτερο ένζυμο που συμμετέχει στην εξουδετέρωση των ROS είναι η GST, που καταλύει τη σύζευξη της μειωμένης γλουταθειόνης σε ξενοβιοτικές ουσίες. Από τα πολλά ισόενζυμα της GST τα πλέον μελετημένα είναι δύο, τα οποία κωδικοποιούν τα γονίδια GCLC και GCLM. Μελέτες σε ποντίκια έχουν δείξει ότι η απουσία του GCLC προκαλεί στεάτωση και ηπατική ανεπάρκεια.⁵⁵ Πρόσφατη μελέτη της MAΛNH στη Βραζιλία εξέτασε την επίδραση του C-129T γονιδιακού πολυμορφισμού, ο οποίος αφορά στο GCLC γονίδιο. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι οι φορείς των μεταλλαγμένων γονιδίων υπερεμφανίζουν στεατοηπατίτιδα σε σύγκριση με τους ασθενείς με απλή στεάτωση.⁵⁶ Αρκετές μελέτες έχουν ασχοληθεί με τις επιδράσεις του γονότυπου για ποικιλία διαφορετικών ισομορφών GST, συμπεριλαμβανομένων των GSTM1 και GSTT1. Οι μελέτες αυτές στην ANH εξακολουθούν να παρουσιάζουν ενδιαφέρον, παρά τα αντιφατικά συμπεράσματα.^{57,58} Alpha-class GSTs μπορεί να έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την ANH, επειδή συμβάλλουν στην αποτοξίνωση των 4-hydroxynonenal (4-HNE), ενός προϊόντος της υπεροξειδωσίας των λιπιδίων λόγω οξειδωτικού stress.⁵⁹

Συμπερασματικά, τα γονίδια συμβάλλουν σημαντικά στην επίδραση του οξειδωτικού stress, επειδή κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη γένεση των ελευθέρων ριζών οξυγόνου (που είναι ο σημαντικότερος βλαπτικός παράγοντας) και μεσολαβούν στην κυτταρική αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού. Όμως, οι μελέτες των γονιδιακών πολυμορφισμών παρουσιάζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα. Η συνεχιζόμενη έρευνα θα καθορίσει το ρόλο τους στο μέλλον.

3.1.2. Γονίδια που επηρεάζουν την ενδοτοξική απάντηση και τον TLR-4. Τα σύγχρονα δεδομένα υποστηρίζουν το ρόλο της ενδοτοξιναιμίας στην απελευθέρωση των κυτταροκινών στην παθογένεια της ANH. Ο CD14 είναι λιποπολυσακχαριτικός υποδοχέας που εκφράζεται σε μονοκύτταρα, μακροφάγα, ουδετερόφιλα και ενισχύει τον ενδοτοξινικό TLR-4. Σε ανθρώπους, πολυμορφισμοί του γονιδίου CD14 έχουν συσχετιστεί με την εξέλιξη σε προχωρημένη ANH,^{60,61} αλλά τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα.⁶² Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου TLR-4 αυξάνουν την ευαισθησία στην ενδοτοξίνη σε ανθρώπους,⁶³ αλλά η συσχέτισή τους με την εξέλιξη της ANH παραμένει ασαφής.³⁵ Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι η ενεργοποίηση των TLR-4 από ενδοτοξιναιμία έχει ως αποτέλεσμα τη βαθμιαία ενίσχυση του μοριακού προσαρμογέα MyD88 (myeloid differentiation primary response gene – πρωτεΐνη, η οποία στους ανθρώπους κωδικοποιείται από το γονίδιο MyD88) και του Toll/ιντερλευκίνη-1 υποδοχέα που βρίσκεται στην περιοχή TIR (ο οποίος περιέχει προσαρμογέα που επάγει την ιντερφερόνη β, TRIF). Το καθένα γονίδιο (MyD88 και TRIF) αποτελεί ξεχωριστό μονοπάτι ενεργοποίησης των TLR-4, σημαντικό για την ανάπτυξη της ANH.⁶⁴

Τα δεδομένα για το ρόλο των πολυμορφισμών των TLR-4 και CD14 ενισχύονται από τις μελέτες στους ασθενείς με ΜΑΛΝΗ, στην οποία τα τελευταία χρόνια υπάρχει επίσης μεγάλο ενδιαφέρον για το ρόλο της εντερικής χλωρίδας στην παθογένειά της. Η μετάλλαξη στο TLR-4 συσχετίστηκε με την παθογένεια της ΜΑΛΝΗ σε ποντίκια,⁶⁵ αλλά αυτό δεν επιβεβαιώθηκε σε άλλες μελέτες.^{62,63} Ο ρόλος των πολυμορφισμών του TLR-4 για την ηπατοκυτταρική βλάβη επιβεβαιώθηκε επίσης από τη μελέτη σε ασθενείς με ηπατίτιδα C (hepatitis C virus, HCV), όπου οι πολυμορφισμοί rs4986791 και rs4986790 του TLR-4 συσχετίστηκαν με ίνωση.^{66,67} Σ' ό,τι αφορά στο γονίδιο CD14, αναφέρθηκε συσχέτιση της ανάπτυξης ΜΑΛΝΗ με πολυμορφισμό του CD14 (αντικατάσταση της κυτοσίνης σε θυμίνη στη θέση 159 στην προκινητική περιοχή).⁶⁸

Έτσι, φαίνεται ότι τα γονίδια TLR-4 και CD14 διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη και στην εξέλιξη της ANH. Όμως, τα αποτελέσματα αρκετών μελετών είναι

αντιφατικά και η συνεχιζόμενη έρευνα αναμένεται ότι θα αποσαφηνίσει το πεδίο.

3.1.3. Γονίδια που επηρεάζουν τη δραστηριότητα των κυτταροκινών. Η δράση των κυτταροκινών συνδέεται στενά με την παθογένεια της ANH. Υπάρχει όμως γενετικό υπόστρωμα, το οποίο είναι υπεύθυνο για τη διαφορετική απελευθέρωσή τους στα άτομα που τελικά θα παρουσιάζουν ηπατική βλάβη; Αναμφίβολα, πιο πειστική γενετική συσχέτιση με την ANH έχει αναφερθεί για την ιντερλευκίνη-10 (interleukin-10, IL-10). Η IL-10 είναι κλασική αντιφλεγμονώδης κυτταροκίνη, με πολλαπλές δράσεις, όπως (α) αναστολή του βοηθητικού κυττάρου CD4+T, του μακροφάγου και του κυτταροτοξικού CD8+T-helper κυττάρου, (β) μείωση της τάξης II HLA/B7 (human leukocyte antigen) έκφρασης του αντιγόνου-παρόντος κυττάρου, και (γ) καταστολή του αστεροειδούς ηπατικού κυττάρου με εναπόθεση κολλαγόνου. Η αντικατάσταση κυτοσίνης σε αδενίνη στη θέση 627 συνδέεται με μειωμένη παραγωγή της IL-10. Η μεταφορά του A αλληλομόρφου συνδέθηκε στενά με εμφάνιση της ANH σε μελέτη που διεξήχθη σε >500 χρήστες, με ή χωρίς προχωρημένη νόσο του ήπατος.⁶⁹ Η μείωση της IL-10 ευνοεί τη μεσολάβηση του ενδιάμεσου ανοσοιακού συστήματος που οδηγεί σε ενεργοποίηση των αστεροειδών ηπατικών κυττάρων και ίνωση. Ο πολυμορφισμός 627 της IL-10 που σχετίζεται με την ανάπτυξη ANH ανευρέθηκε πιο συχνά σε Ισπανούς (43%) σε σχέση με τους υπόλοιπους Ευρωπαίους (23%).⁷⁰ Πολυμορφισμοί στο γονίδιο IL-1β έχουν σχέση με κληρονομική ευπάθεια για ανάπτυξη ANH σε ιαπωνική μελέτη.⁷¹ Ο TNF-α καθώς και άλλες κυτταροκίνες διαδραματίζουν τόσο σημαντικό ρόλο στην πορεία της αλκοολικής στεατοηπατίτιδας (ΑΣΗ), που έχουν προταθεί ήδη θεραπείες με αντικυτταροκίνες.⁷² Επίσης, αδύναμη συσχέτιση έχει αναφερθεί ανάμεσα σε αλκοολική ηπατίτιδα και πολυμορφισμό του TNF-α, όταν συμβαίνει αντικατάσταση της γουανίνης σε αδενosίνη στη θέση 238A στην προκινητική περιοχή.^{73,74} Πρόσφατη μετα-ανάλυση εξέτασε το ρόλο πολυμορφισμών TNF-α-238A και TNF-α-308A στην ANH και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι μόνο το TNF-α-238A σχετίζεται σημαντικά με τον κίνδυνο ανάπτυξης αλκοολικής κίρρωσης ήπατος.⁷⁵ Ο ίδιος πολυμορφισμός έχει συνδεθεί με μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα (ΜΑΣΗ, non alcoholic steatohepatitis, NASH).⁷⁶ Σε Ιάπωνες ασθενείς ελέγχθηκε πολυμορφισμός ενός νουκλεοτιδίου (single nucleotide polymorphism, SNPs) σε TNF-α και αναλύθηκαν τα επίπεδα του TNF υποδοχέα-2 στον ορό. Τα επίπεδα του TNF υποδοχέα-2 ήταν σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς με ΜΑΣΗ απ' ό,τι σε ασθενείς με απλή στεάτωση ή υγιείς μάρτυρες.⁷⁷

Συμπερασματικά, οι γενετικοί πολυμορφισμοί των γονιδίων των κυτταροκινών (ιδίως των IL-10 και TNF-α) έχουν

μελετηθεί αρκετά και υπάρχει ισχυρή συσχέτισή τους με την ανάπτυξη της ANH.

3.2. Γονίδια που επηρεάζουν την εξέλιξη της νόσου και την εξέλιξη σε ίνωση

Η πλειοψηφία των ερευνών στην ηπατική ινογένεση έχει διεξαχθεί σε ομάδες ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C. Ωστόσο, η ενεργοποίηση των αστεροειδών κυττάρων και η εναπόθεση κολλαγόνου έχουν κοινή πορεία στην ανάπτυξη της χρόνιας ηπατικής βλάβης, περιλαμβάνοντας και την ANH.⁷⁸ Οι σχετικές μελέτες έχουν εστιάσει στο μετατρέπτικό αυξητικό παράγοντα (TGF)-β1 (transforming growth factor) του συνδετικού ιστού, τη μεταλλοπρωτεΐνωση 3, PPARα, DDX5, CPT1A και διάφορες ινογενετικές λιποκυτταροκίνες, περιλαμβανομένης της αγγειοτασίνης II. Ο πολυμορφισμός του TGF-β1 στην ιογενή ηπατίτιδα σχετίστηκε με τον παράγοντα πήξης V Leiden.⁷⁹ Έχει προταθεί ότι πολυμορφισμοί που σχετίζονται με την ενεργοποίηση της πηκτικότητας⁸⁰ μπορούν επίσης να επηρεάσουν την ινογένεση στη ΜΑΛΝΗ. Ο πυρηνικός παράγοντας NF-κΒ των κ-ελαφρών-αλύσεων (nuclear factor kappa-light-chain, NF-κΒ), ενισχύοντας την ενεργοποίηση των Β κυττάρων, αυξάνει την επιβίωση των ηπατικών μυοϊνοβλαστών και την ηπατική ινογένεση. Η αγγειοτασίνη II ενεργοποιεί την κινάση ΙκΒ (IkB kinase, IKK).⁸¹ Σ' ό,τι αφορά στην ANH, ο πολυμορφισμός -94ins/del NFKB1 συνδέθηκε με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης κίρρωσης από κατάχρηση αιθυλικής αλκοόλης.⁸²

Ο παράγοντας Kruppel (KLF) 6 σχετίστηκε με την ενεργοποίηση των αστεροειδών κυττάρων.⁸³ Η έκφραση του KLF6 είναι αυξημένη σε μοντέλα ποντικών με ΜΑΣΗ και ρυθμίζει την έκφραση αρκετών γονιδίων-κλειδιών που μεσολαβούν στην ινογένεση, συμβάλλοντας στην προχωρημένη ίνωση ασθενών με ΜΑΛΝΗ.⁸⁴

Στην περίπτωση της TGFβ1, ο πολυμορφισμός (R25P), που αποτελεί παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση ίνωσης στην ηπατίτιδα C, δεν βρέθηκε να συσχετίζεται σημαντικά με ANH.⁸⁵ Επίσης, δεν ανευρέθηκε συσχέτιση του πολυμορφισμού MMP3 της TGFβ1 σε ασθενείς με κατάχρηση αιθανόλης με την ανάπτυξη ίνωσης.⁸⁶ Ωστόσο, σε αρκετές μελέτες χρησιμοποιήθηκαν παλαιότερες τεχνικές. Συνεπώς, οι γενετικές μεταβολές που μελετήθηκαν μπορεί να μην

είναι λειτουργικά σημαντικές.⁸⁷

Παρά την πληθώρα των μελετών, αναπάντητο προς το παρόν παραμένει το ερώτημα: γιατί μόνο ένας από τους 10 που κάνουν κατάχρηση της αλκοόλης θα παρουσιάσει κίρρωση του ήπατος; Ίσως, με την πάροδο των ετών και την ανάπτυξη νέων μεθόδων να βρεθεί η απάντηση.

3.3. Γονίδια που προδιαθέτουν στην ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος

Η ανάπτυξη του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (ΗΚΚ) αποτελεί την πλέον σοβαρή, αλλά απρόβλεπτη επιπλοκή της ANH. Γενετικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του ΗΚΚ σε ασθενείς με ANH περιλαμβάνουν πολυμορφισμούς της μυελοϋπεροξειδάσης, της δισμουτάσης SOD και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης. Ομοίως, πολυμορφισμός C677T SNP της μεθυλενοτετραϋδροφυλικής αναγωγάσης (methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR) συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΗΚΚ σε αλκοολική κίρρωση. Τα τελευταία χρόνια έχει υπάρξει μεγάλη πρόοδος στην κατεύθυνση της κατανόησης και της αποσαφήνισης των μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται στη διαδικασία της καρκινογένεσης στην ANH.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παθογένεια της ANH είναι πολύπλοκη, καθώς γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες καθορίζουν το γονότυπο και το φαινότυπο των ασθενειών. Οι παράγοντες κυμαίνονται σημαντικά ανάμεσα στους πληθυσμούς και εξαρτώνται από το γονιδιακό προφίλ και τους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Έτσι, τα τελευταία χρόνια έχει υπάρξει μεγάλη πρόοδος στην κατεύθυνση της κατανόησης και της αποσαφήνισης των μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται στην παθογένεια της ANH, ιδίως του ρόλου των γονιδιακών πολυμορφισμών των γονιδίων των κυτταροκινών και των γονιδίων TRL-4 και CD14. Με τη σύγχρονη δυνατότητα ταυτόχρονης μελέτης πολλών γονιδίων με το σύστημα μικροστοιχείων είναι βέβαιο ότι το θέμα της γενετικής προδιάθεσης σε ANH θα φωτιστεί περισσότερο τα επόμενα χρόνια.

ABSTRACT

The genetics of alcoholic liver disease

V. NEZI, L. VASILIEVA, M. DEUTSCH, S.P. DOURAKIS

Second Department of Internal Medicine, "Hippokration" General Hospital, University of Athens, Medical School, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2012, 29(4):399–409

Ethanol abuse is a major social and clinical problem. A proportion of chronic drinkers develop alcoholic liver disease (ALD), the incidence and severity of which is correlated with certain environmental factors and in particular with the quantity of alcohol consumed. In addition to direct damage to the liver, through steatosis, caused by excessive alcohol consumption, many other factors are considered to contribute to the pathogenesis and evolution of ALD and to the individual susceptibility to alcohol. Oxidative stress, generation of radical oxygen species (ROS), and secretion of cytokines, mainly of tumor necrosis factor α (TNF- α), are factors that lead to inflammation, fibrosis and ultimately cirrhosis of the liver. Current molecular biology methodology enables the isolation of genes and has contributed to the understanding of the structure and the relationships of genes involved in the pathogenesis of ALD. There is convincing documentation of the involvement of specific genes in the development of steatohepatitis, oxidative stress, the endotoxic response of Toll-like receptor-4 (TLR-4) and the activity of cytokines. It is known that chronic ethanol exposure leads to continuous endotoxin mediated TLR-4 and glycosyl-phosphatidylinositol-anchored (CD14) gene activation and subsequent cytokine release, resulting in chronic inflammation and hepatocellular damage. Other genes have been identified which affect the evolution of early damage to fibrosis-cirrhosis and to the development of hepatocellular carcinoma. Better understanding of the pathophysiological mechanisms of ALD may lead to the formulation of novel effective forms of treatment in the future. This review presents developments in the manifestation of gene polymorphisms which regulate the pathogenesis and the natural history of ALD.

Key words: Alcoholic liver disease, Cytokines, Gene, Lipopolysaccharide, Oxidative stress, Polymorphism, Reactive oxygen species, Toll-like receptor 4, Tumor necrosis factor α

Βιβλιογραφία

1. VARMA V, WEBB K, MIRZA DF. Liver transplantation for alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2010, 16:4377–4393
2. PFITZMANN R, SCHWENZER J, RAYES N, SEEHOFER D, NEUHAUS R, NÜSSLER NC. Long-term survival and predictors of relapse after orthotopic liver transplantation for alcoholic liver disease. *Liver Transpl* 2007, 13:197–205
3. ΝΤΟΥΡΑΚΗΣ ΣΠ. Αλκοολική και μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος. Στο: *Κλινική Ηπατολογία*. Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδη, Αθήνα, 2005:183–206
4. BELLENTANI S, SACCOGIO G, COSTA G, TIRIBELLI C, MANENTI F, SODDE M ET AL. Drinking habits as cofactors of risk for alcohol induced liver damage. The Dionysos Study Group. *Gut* 1997, 41:845–850
5. BECKER U, DEIS A, SØRENSEN TI, GRØNBAEK M, BORCH-JOHNSEN K, MÜLLER CF ET AL. Prediction of risk of liver disease by alcohol intake, sex, and age: A prospective population study. *Hepatology* 1996, 23:1025–1029
6. BARRIO E, TOMÉ S, RODRÍGUEZ I, GUDE F, SÁNCHEZ-LEIRA J, PÉREZ-BECERRA E ET AL. Liver disease in heavy drinkers with and without alcohol withdrawal syndrome. *Alcohol Clin Exp Res* 2004, 28:131–136
7. PARÉS A, BARRERA JM, CABALLERÍA J, ERCILLA G, BRUGUERA M, CABALLERÍA L ET AL. Hepatitis C virus antibodies in chronic alcoholic patients: Association with severity of liver injury. *Hepatology* 1990, 12:1295–1299
8. RAYNARD B, BALIAN A, FALLIK D, CAPRON F, BEDOSSA P, CHAPUT JC ET AL. Risk factors of fibrosis in alcohol-induced liver disease. *Hepatology* 2002, 35:635–638
9. HRUBEC Z, OMENN GS. Evidence of genetic predisposition to alcoholic cirrhosis and psychosis: Twin concordances for alcoholism and its biological end points by zygosity among male veterans. *Alcohol Clin Exp Res* 1981, 5:207–215
10. KAPLOWITZ N, THAN TA, SHINOHARA M, JI C. Endoplasmic reticulum stress and liver injury. *Semin Liver Dis* 2007, 27:367–377
11. LIEBER CS. Biochemical factors in alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis* 1993, 13:136–153
12. SAUK J, FRIEDMAN SL. *Pathogenesis of alcoholic liver disease*. UpToDate 2011
13. BORSON WF, EHRIG T, LI TK. Genetic factors in alcohol metabolism and alcoholism. *Semin Liver Dis* 1993, 13:126–135
14. ENOMOTO N, TAKASE S, YASUHARA M, TAKADA A. Acetaldehyde metabolism in different aldehyde dehydrogenase-2 genotypes. *Alcohol Clin Exp Res* 1991, 15:141–144
15. ΝΤΟΥΡΑΚΗΣ ΣΠ. Σύγχρονες απόψεις στη διάγνωση και τη

- θεραπεία της αλκοολικής ηπατίτιδας. *Αρχ Ελλ Ιατρ* 2010, 27:767–775
16. TRIBBLE DL, JONES DP. Oxygen dependence of oxidative stress. Rate of NADPH supply for maintaining the GSH pool during hypoxia. *Biochem Pharmacol* 1990, 39:729–736
 17. SHAW S, JAYATILLEKE E, LIEBER CS. Lipid peroxidation as a mechanism of alcoholic liver injury: Role of iron mobilization and microsomal induction. *Alcohol* 1988, 5:135–140
 18. BARDAG-GORCE F, YUAN QX, LI J, FRENCH BA, FANG C, INGELMAN-SUNDBERG M ET AL. The effect of ethanol-induced cytochrome p4502E1 on the inhibition of proteasome activity by alcohol. *Biochem Biophys Res Commun* 2000, 279:23–29
 19. BEIER JI, ARTEEL GE, McCLAIN CJ. Advances in alcoholic liver disease. *Curr Gastroenterol Rep* 2011, 13:56–64
 20. ARTEEL GE. Oxidants and antioxidants in alcohol-induced liver disease. *Gastroenterology* 2003, 124:778–790
 21. SIES H. Biochemistry of oxidative stress. *Angew Chem Int Ed Engl* 1986, 25:1058–1071
 22. HOEK JB, PASTORINO JG. Ethanol, oxidative stress, and cytokine-induced liver cell injury. *Alcohol* 2002, 27:63–68
 23. MEZEY E, POTTER JJ, RENNIE-TANKERSLEY L, CABALLERIA J, PARES A. A randomized placebo controlled trial of vitamin E for alcoholic hepatitis. *J Hepatol* 2004, 40:40–46
 24. STEWART S, PRINCE M, BASSENDINE M, HUDSON M, JAMES O, JONES D ET AL. A randomized trial of antioxidant therapy alone or with corticosteroids in acute alcoholic hepatitis. *J Hepatol* 2007, 47:277–283
 25. LIEBER CS. Alcohol: Its metabolism and interaction with nutrients. *Annu Rev Nutr* 2000, 20:395–430
 26. BUJANDA L. The effects of alcohol consumption upon the gastrointestinal tract. *Am J Gastroenterol* 2000, 95:3374–3382
 27. GROVE J, DALY AK, BASSENDINE MF, DAY CP. Association of a tumor necrosis factor promoter polymorphism with susceptibility to alcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1997, 26:143–146
 28. GROVE J, DALY AK, BASSENDINE MF, GILVARRY E, DAY CP. Interleukin 10 promoter region polymorphisms and susceptibility to advanced alcoholic liver disease. *Gut* 2000, 46:540–545
 29. PUROHIT V, BODE JC, BODE C, BRENNER DA, CHOUDHRY MA, HAMILTON F ET AL. Alcohol, intestinal bacterial growth, intestinal permeability to endotoxin, and medical consequences: Summary of a symposium. *Alcohol* 2008, 42:349–361
 30. LUKKARI TA, JÄRVELÄINEN HA, OINONEN T, KETTUNEN E, LINDROS KO. Short-term ethanol exposure increases the expression of Kupffer cell CD14 receptor and lipopolysaccharide binding protein in rat liver. *Alcohol Alcohol* 1999, 34:311–319
 31. GUSTOTT, LEMMERS A, MORENO C, NAGY N, QUERTINMONT E, NICAISE C ET AL. Differential liver sensitization to toll-like receptor pathways in mice with alcoholic fatty liver. *Hepatology* 2006, 43:989–1000
 32. MENDENHALL CL, MORITZ TE, ROSELLE GA, MORGAN TR, NEMCHAUSKY BA, TAMBURRO CH ET AL. A study of oral nutritional support with oxandrolone in malnourished patients with alcoholic hepatitis: Results of a Department of Veterans Affairs cooperative study. *Hepatology* 1993, 17:564–576
 33. CABRÉ E, RODRÍGUEZ-IGLESIAS P, CABALLERÍA J, QUER JC, SÁNCHEZ-LOMBRAÑA JL, PARÉS A ET AL. Short- and long-term outcome of severe alcohol-induced hepatitis treated with steroids or enteral nutrition: A multicenter randomized trial. *Hepatology* 2000, 32:36–42
 34. PLANK LD, GANE EJ, PENG S, MUTHU C, MATHUR S, GILLANDERS L ET AL. Nocturnal nutritional supplementation improves total body protein status of patients with liver cirrhosis: A randomized 12-month trial. *Hepatology* 2008, 48:557–566
 35. ZHONG W, McCLAIN CJ, CAVE M, KANG YJ, ZHOU Z. The role of zinc deficiency in alcohol-induced intestinal barrier dysfunction. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010, 298:G625–G633
 36. ZINTZARAS E, STEFANIDIS I, SANTOS M, VIDAL F. Do alcohol-metabolizing enzyme gene polymorphisms increase the risk of alcoholism and alcoholic liver disease? *Hepatology* 2006, 43:352–361
 37. YAMAUCHI M, MAEZAWA Y, MIZUHARA Y, OHATA M, HIRAKAWA J, NAKAJIMA H ET AL. Polymorphisms in alcohol metabolizing enzyme genes and alcoholic cirrhosis in Japanese patients: A multivariate analysis. *Hepatology* 1995, 22:1136–1142
 38. TANAKA F, SHIRATORI Y, YOKOSUKA O, IMAZEKI F, TSUKADA Y, OMAITA M. High incidence of ADH2*1/ALDH2*1 genes among Japanese alcohol dependents and patients with alcoholic liver disease. *Hepatology* 1996, 23:234–239
 39. STICKEL F, OSTERREICHER CH. The role of genetic polymorphisms in alcoholic liver disease. *Alcohol Alcohol* 2006, 41:209–224
 40. VIDAL F, LORENZO A, AUGUET T, OLONA M, BROCH M, GUTIÉRREZ C ET AL. Genetic polymorphisms of ADH2, ADH3, CYP4502E1 Dra-I and Pst-I, and ALDH2 in Spanish men: Lack of association with alcoholism and alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2004, 41:744–750
 41. WONG NA, RAE F, SIMPSON KJ, MURRAY GD, HARRISON DJ. 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, 53:88–93
 42. MACHADO M, CORTEZ-PINTO H. Are genes really important in alcoholic liver disease? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008, 20:1244–1248
 43. NELSON JE, BHATTACHARYA R, LINDOR KD, CHALASANI N, RAAKA S, HEATHCOTE EJ ET AL. HFE C282Y mutations are associated with advanced hepatic fibrosis in Caucasians with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2007, 46:723–729
 44. BUGIANESI E, MANZINI P, D'ANTICO S, VANNI E, LONGO F, LEONE N ET AL. Relative contribution of iron burden, HFE mutations, and insulin resistance to fibrosis in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology* 2004, 39:179–187
 45. VALENTI L, FRACANZANI AL, BUGIANESI E, DONGIOVANNI P, GALMOZZI E, VANNI E ET AL. HFE genotype, parenchymal iron accumulation, and liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2010, 138:905–912
 46. RASZEJA-WYSZOMIRSKA J, KURZAWSKI G, LAWNICZAK M, MIEZYNSKA-KURTYCZ J, LUBINSKI J. Nonalcoholic fatty liver disease and HFE gene mutations: A Polish study. *World J Gastroenterol* 2010, 16:2531–2536
 47. GROVE J, DALY AK, BURT AD, GUZAIL M, JAMES OF, BASSENDINE MF ET AL. Heterozygotes for HFE mutations have no increased risk

- of advanced alcoholic liver disease. *Gut* 1998, 43:262–266
48. GEORGE DK, GOLDWURM S, McDONALD GA, COWLEY LL, WALKER NI, WARD PJ ET AL. Increased hepatic iron concentration in nonalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. *Gastroenterology* 1998, 114:311–318
 49. MACHADO MV, RAVASCO P, MARTINS A, ALMEIDA MR, CAMILO ME, CORTEZ-PINTO H. Iron homeostasis and H63D mutations in alcoholics with and without liver disease. *World J Gastroenterol* 2009, 15:106–111
 50. NAMIKAWA C, SHU-PING Z, VYSELAAR JR, NOZAKI Y, NEMOTO Y, ONO M ET AL. Polymorphisms of microsomal triglyceride transfer protein gene and manganese superoxide dismutase gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2004, 40:781–786
 51. NOBILIV, DALY AK, AL-SERRI A, LEATHART JB, DAY CP. The mitochondrial superoxide dismutase 2 (SOD2) targeting sequence polymorphism is associated with fibrotic NAFLD: Consistent evidence from case-control and intra-familial allelic association studies. *Hepatology* 2007, 46:760A
 52. DEGOUL F, SUTTON A, MANSOURI A, CEPANEC C, DEGOTT C, FROMENTY B ET AL. Homozygosity for alanine in the mitochondrial targeting sequence of superoxide dismutase and risk for severe alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 2001, 120:1468–1474
 53. STEWART SF, LEATHART JB, CHEN Y, DALY AK, ROLLA R, VAY D ET AL. Valine-alanine manganese superoxide dismutase polymorphism is not associated with alcohol-induced oxidative stress or liver fibrosis. *Hepatology* 2002, 36:1355–1360
 54. NAHON P, SUTTON A, RUFAT P, ZIOL M, AKOUCHE H, LAGUILLIER C ET AL. Myeloperoxidase and superoxide dismutase 2 polymorphisms comodule the risk of hepatocellular carcinoma and death in alcoholic cirrhosis. *Hepatology* 2009, 50:1484–1493
 55. BUCH S, SCHAFFMAYER C, VÖLZKE H, BECKER C, FRANKE A, VON ELLERBERSTEIN H ET AL. A genome-wide association scan identifies the hepatic cholesterol transporter ABCG8 as a susceptibility factor for human gallstone disease. *Nat Genet* 2007, 39:995–999
 56. OLIVEIRA CP, STEFANO JT, CAVALEIRO AM, ZANELLA FORTES MA, VIEIRA SM, RODRIGUES LIMA VM ET AL. Association of polymorphisms of glutamate-cystein ligase and microsomal triglyceride transfer protein genes in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2010, 25:357–361
 57. LADERO JM, MARTÍNEZ C, GARCÍA-MARTIN E, FERNÁNDEZ-ARQUERO M, LÓPEZ-ALONSO G, DE LA CONCHA EG ET AL. Polymorphisms of the glutathione S-transferases mu-1 (GSTM1) and theta-1 (GSTT1) and the risk of advanced alcoholic liver disease. *Scand J Gastroenterol* 2005, 40:348–353
 58. BRIND AM, HURLSTONE A, EDRISINGHE D, GILMORE I, FISHER N, PIRMOHAMED M ET AL. The role of polymorphisms of glutathione S-transferases GSTM1, M3, P1, T1 and A1 in susceptibility to alcoholic liver disease. *Alcohol Alcohol* 2004, 39:478–483
 59. HUBATSCH I, RIDDERSTRÖ MM, MANNERVIK B. Human glutathione transferase A4-4: An alpha class enzyme with high catalytic efficiency in the conjugation of 4-hydroxynonenal and other genotoxic products of lipid peroxidation. *Biochem J* 1998, 330:175–179
 60. JÄRVELÄINEN HA, ORPANA A, PEROLA M, SAVOLAINEN VT, KARHUNEN PJ, LINDROS KO. Promoter polymorphism of the CD14 endotoxin receptor gene as a risk factor for alcoholic liver disease. *Hepatology* 2001, 33:1148–1153
 61. CAMPOS J, GONZALEZ-QUINTELA A, QUINTEIRO C, GUDE F, PEREZ LF, TORRE JA ET AL. The -159C/T polymorphism in the promoter region of the CD14 gene is associated with advanced liver disease and higher serum levels of acute-phase proteins in heavy drinkers. *Alcohol Clin Exp Res* 2005, 29:1206–1213
 62. LEATHART J, DAY C, DALY A. No association between functional SNPs in the endotoxin receptors CD14 and TLR-4 and alcoholic liver disease (ALD): Is endotoxin important in the pathogenesis of ALD in humans? *Hepatology* 2001, 34:459
 63. ARBOUR NC, LORENZ E, SCHUTTE BC, ZABNER J, KLINE JN, JONES M ET AL. TLR-4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet* 2000, 25:187–191
 64. SZABO G, BALA S. Alcoholic liver disease and the gut-liver axis. *World J Gastroenterol* 2010, 16:1321–1329
 65. SPRUSS A, KANURI G, WAGNERBERGER S, HAUB S, BISCHOFF SC, BERGHEIM I. Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology* 2009, 50:1094–1104
 66. GUO J, LOKE J, ZHENG F, HONG F, YEA S, FUKATA M ET AL. Functional linkage of cirrhosis predictive single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptor 4 to hepatic stellate cell responses. *Hepatology* 2009, 49:960–968
 67. HUANG H, SHIFFMAN ML, FRIEDMAN S, VENKATESH R, BZOWEJ N, ABAR OT ET AL. A 7 gene signature identifies the risk of developing cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2007, 46:297–306
 68. DAY CP, LEATHART J, McTERNAN P, MATHEW C, DALY A. Genetic evidence for a role of gut flora in the pathogenesis of NASH in humans. *Hepatology* 2006, 44:261
 69. GROVE J, DALY AK, BASSENDINE MF, GILVARRY E, DAY CP. Interleukin 10 promoter region polymorphisms and susceptibility to advanced alcoholic liver disease. *Gut* 2000, 46:540–545
 70. LAZARUS R, KLIMECKI WT, PALMER LJ, KWIATKOWSKI DJ, SILVERMAN EK, BROWN A ET AL. Single nucleotide polymorphisms in the interleukin-10 gene: Differences in frequencies, linkage disequilibrium patterns, and haplotypes in three United States ethnic groups. *Genomics* 2002, 80:223–228
 71. TAKAMATSU M, YAMAUCHI M, MAEZAWA Y, SAITO S, MAEYAMA S, UCHIKOSHI T. Genetic polymorphisms of interleukin-1beta in association with the development of alcoholic liver disease in Japanese patients. *Am J Gastroenterol* 2000, 95:1305–1311
 72. McCLAIN C, HILL D, SCHMIDT J, DIEHL AM. Cytokines and alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis* 1993, 13:170–182
 73. GROVE J, DALY AK, BASSENDINE MF, DAY CP. Association of a tumor necrosis factor promoter polymorphism with susceptibility to alcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1997, 26:143–146
 74. PASTOR IJ, LASO FJ, ROMERO A, GONZÁLEZ-SARMIENTO R. -238 G>A polymorphism of tumor necrosis factor alpha gene (TNFA) is associated with alcoholic liver cirrhosis in alcoholic Spanish men. *Alcohol Clin Exp Res* 2005, 29:1928–1931
 75. MARCOS M, GÓMEZ-MUNUERA M, PASTOR I, GONZÁLEZ-SARMIENTO R, LASO FJ. Tumor necrosis factor polymorphisms and alcoholic liver disease: A HuGE review and meta-analysis. *Am*

- J Epidemiol* 2009, 170:948–956
76. VALENTI L, FRACANZANI AL, DONGIOVANNI P, SANTORELLI G, BRANCHI A, TAIOLI E ET AL. Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002, 122:274–280
77. TOKUSHIGE K, TAKAKURA M, TSUCHIYA-MATSUSHITA N, TANIAI M, HASHIMOTO E, SHIRATORI K. Influence of TNF gene polymorphisms in Japanese patients with NASH and simple steatosis. *J Hepatol* 2007, 46:1104–1110
78. BATALLER R, NORTH KE, BRENNER DA. Genetic polymorphisms and the progression of liver fibrosis: A critical appraisal. *Hepatology* 2003, 37:493–503
79. ANSTEE QM, WRIGHT M, GOLDIN R, THURSZ MR. Parenchymal extinction: Coagulation and hepatic fibrogenesis. *Clin Liver Dis* 2009, 13:117–126
80. MARTINELLI A, KNAPP S, ANSTEE Q, WORKU M, TOMMASI A, ZUCOLOTO S ET AL. Effect of a thrombin receptor (protease-activated receptor 1, PAR-1) gene polymorphism in chronic hepatitis C liver fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2008, 23:1403–1409
81. OAKLEY F, TEOH V, CHING-A-SUE G, BATALLER R, COLMENERO J, JONSSON JR ET AL. Angiotensin II activates I kappaB kinase phosphorylation of RelA at Ser 536 to promote myofibroblast survival and liver fibrosis. *Gastroenterology* 2009, 136:2334–2344.e1
82. MARCOS M, PASTOR I, GONZÁLEZ-SARMIENTO R, LASO FJ. A functional polymorphism of the NFKB1 gene increases the risk for alcoholic liver cirrhosis in patients with alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 2009, 33:1857–1862
83. RATZIU V, LALAZAR A, WONG L, DANG Q, COLLINS C, SHAULIAN E ET AL. Zf9, a Kruppel-like transcription factor up-regulated *in vivo* during early hepatic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, 95:9500–9505
84. STÄRKEL P, SEMPOUX C, LECLERCQ I, HERIN M, DEBY C, DESAGER JP ET AL. Oxidative stress, KLF6 and transforming growth factor-beta up-regulation differentiate non-alcoholic steatohepatitis progressing to fibrosis from uncomplicated steatosis in rats. *J Hepatol* 2003, 39:538–546
85. OSTERREICHER CH, HALANGK J, BERG T, PATSENKER E, HOMANN N, HELLERBRAND C ET AL. Evaluation of the transforming growth factor beta1 codon 25 (Arg-->Pro) polymorphism in alcoholic liver disease. *Cytokine* 2008, 42:18–23
86. STICKEL F, OSTERREICHER CH, HALANGK J, BERGT, HOMANN N, HELLERBRAND C ET AL. No role of matrix metalloproteinase-3 genetic promoter polymorphism 1171 as a risk factor for cirrhosis in alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res* 2008, 32:959–965
87. BASHIR R, DAY CP, JAMES OF, O'GILVIE DJ, SYKES B, BASSENDINE MF. No evidence for involvement of type 1 collagen structural genes in "genetic predisposition" to alcoholic cirrhosis. *J Hepatol* 1992, 16:316–319

Corresponding author:

S.P. Dourakis, 28 Achaia street, GR-115 23 Athens, Greece
e-mail: spdour@med.uoa.gr

.....