

Aus der Medizinischen Klinik I
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. H. L. Fehm

**Die Rolle der Alkoholdehydrogenase 1C und ihrer genetischen
Polymorphismen in der Entstehung von Ösophaguskarzinom,
Pankreatitis und Leberzirrhose**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck

-Aus der Medizinischen Fakultät-

vorgelegt von

Arne Jacobs

aus Essen

Lübeck 2006

1. Berichtstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Nils Homann

2. Berichtstatter: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Michael Duchrow

Tag der mündlichen Prüfung: 07.03.2007

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 07.03.2007

gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach

-Dekan der medizinischen Fakultät-

<u>Inhaltsverzeichnis:</u>	Seite
1. Einleitung:	1
1.1 Epidemiologie	1
1.1.1 Ethanolassoziierte Folgekrankheiten	1
1.1.2 Die alkoholassoziierte Pankreatitis	3
1.1.3 Die alkoholassoziierte Leberzirrhose	4
1.1.4 Das alkoholassoziierte Ösophaguskarzinom	4
1.2 Pathogenese der alkoholassoziierten Organschäden	6
1.2.1 Alkoholaufnahme	6
1.2.2 Alkoholmetabolismus	7
1.2.3 Pathomechanismen durch Alkohol	8
1.2.4 Pathomechanismen durch Azetaldehyd	9
1.3 Genetischer Polymorphismus der Alkoholdehydrogenase (ADH) 1C	11
1.4 Fragestellung:	15
2. Material und Methoden:	16
2.1. Studienkollektiv und allgemeine Einschlusskriterien	16
2.1.1 Die alkoholassoziierte Pankreatitis	17
2.1.2 Die alkoholassoziierte Leberzirrhose	17
2.1.3 Das alkoholassoziierte Ösophaguskarzinom	18
2.1.4 Die Alkoholkrankheit	18
2.1.5 Kollektiv zur Evaluation der Genfrequenz	18
2.1.6 Fragebogen	18
2.1.7 Die PCR- (Polymerase-Kettenreaktion)-RFLP (Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus)- Analyse	19
2.1.8 Statistik	20

3. Ergebnisse:	22
4. Diskussion:	30
4.1.1 Azetaldehyd und die ethyltoxische Pankreatitis	30
4.1.2 Azetaldehyd und die ethyltoxische Leberzirrhose	32
4.1.3 Azetaldehyd und das ethyltoxische Ösophaguskarzinom	34
4.2 Vergleich mit anderen Studien	36
5. Zusammenfassung:	41
6. Literaturverzeichnis	43
7. Veröffentlichungen	57
8. Danksagung	58
9. Curriculum Vitae	59

Abkürzungsverzeichnis

ADH	Alkoholdehydrogenase
ALDH	Aldehyddehydrogenase
OR	Odds Ratio
CT	Computertomographie
MRT	Magnetresonanztomographie
ERCP	Endoskopische retrograde Cholangio-Pankreatikoskopie
MRCPC	Magnetresonanz-Cholangiopankreatikographie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
BP	Basenpaare
SLA	Soluble Liver Antigen
ANA	Antinukleäre Antikörper
AMA	Antimitochondriale Antikörper
pANCA	Anticytoplasmatische Antikörper
LKM	Liver-kidney-mitochondrial antibodies
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Ile	Isoleucin
Val	Valin
Ssp1	Spore-specific-protein
NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Hydroeen
NADPH	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotidphosphat
CYP2E1	Cytochrom-P-450-Oxygenase 2E1
TGF-Alpha	Tumor-Growth-Faktor-Alpha
HNO	Hals-Nasen-Ohren

Die Rolle der Alkoholdehydrogenase 1C und ihrer genetischen Polymorphismen in der Entstehung von Ösophaguskarzinom, Pankreatitis und Leberzirrhose.

1. Einleitung:

1.1 Epidemiologie:

In Deutschland gibt es circa 2,5 Millionen Alkoholranke, die behandlungsbedürftig sind und mehr als neun Millionen Bundesbürger, die einen riskanten Alkoholmissbrauch betreiben. Jährlich sterben etwa 40.000 Menschen an den Folgen übermäßigen Alkoholkonsums.

Bis zu 75% der Alkoholiker, die zur stationären Entwöhnung kommen, leiden an Alkoholfolgekrankheiten und bei 29% der Männer und 9% der Frauen, die in ein allgemeines Krankenhaus eingeliefert werden, liegt eine Alkoholfolgekrankheit vor. Besonders betroffen sind Erwachsene im mittleren Alter (35-55 Jahre) (1).

Neben den psychosozialen Problemen, die aus chronischem Alkoholabusus entstehen können, gibt es aber auch eine Vielzahl organischer Leiden, die mit Alkoholmissbrauch in Verbindung stehen. Dabei sind Faktoren wie die Dauer des Abusus sowie die Menge, Reinheit und Höhe des Alkohol-Anteils am Getränk wichtig (2;3).

1.1.1 Ethanolassozierte Folgekrankheiten

Ethanolassozierte Folgekrankheiten betreffen nahezu alle Organsysteme des Körpers und werden daher auch in fast allen Fachgebieten angetroffen.

Im neurologisch-psychiatrischen Bereich sind insbesondere das Delirium tremens, Krampfanfälle, Alkoholdemenz, Polyneuropathie, Wernicke und Korsakow-Enzephalopathie zu nennen. In der Orthopädie zählt man Krankheiten wie die Osteoporose und die Epiphyseolysis capitis femoris, in der Hämatologie beispielsweise die perniziöse Anämie dazu.

Da die Organe des gastrointestinalen Trakts besonders betroffen sind, werden diese ausführlicher dargestellt.

Im oberen Gastrointestinaltrakt haben Motilitätsstörungen wie der Nussknacker-Ösophagus aber auch die Refluxösophagitis, das Mallory-Weiss- und das Boerhave-Syndrom häufig chronischen Alkoholabusus als gemeinsame Ursache(3).

Im Magen steigert Alkohol die Säureproduktion, wodurch eine erosive Gastritis entstehen kann(4).

Alkohol ist auch einer der bedeutendsten Risikofaktoren für die Entstehung eines Karzinoms.

Das Risiko ein Krebsleiden im oberen gastrointestinalen Trakt zu entwickeln, variiert innerhalb der anatomischen Lokalisationen. Dazu lieferten zahlreiche Studien valide Ergebnisse (5-7). Demnach ist das Risiko im Hypopharynx und in der Speiseröhre ein alkoholtoxisches Karzinom zu entwickeln besonders hoch, im Gegensatz zum Kehlkopf oder den Lippen (8;9). Insbesondere auf das ethanolassoziierte Krebsrisiko in der Speiseröhre wird nachfolgend noch im Detail eingegangen.

Eine direkte karzinogene Wirkung auf das der Speiseröhre direkt nachgeschaltete Organ, den Magen, konnte trotz mehrerer Studien nicht nachgewiesen werden (10;11).

Im Vergleich dazu ist das ethanolassoziierte Krebsrisiko im unteren Gastrointestinalbereich, in Kolon und Rektum, zwar relativ niedrig, aber dennoch signifikant erhöht (12;13).

Inzwischen postulieren Studien ebenfalls Zusammenhänge zwischen chronischem Alkoholabusus und der Entstehung von Mammakarzinomen (14-16).

Neben der Rolle in der Entstehung von Malignomen im oberen gastrointestinalen Trakt hat Alkohol auch einen besonders schädigenden Einfluss auf zwei weitere Organsysteme des Körpers: Die Leber und das Pankreas.

Da die Leber als Entgiftungsorgan quantitativ am stärksten am Alkoholmetabolismus beteiligt ist, steigt hier das Risiko alkoholassoziierter Schäden, darunter auch das Risiko des hepatozellulären Karzinoms, mit zunehmender Alkoholmenge deutlich an. Im Vergleich mit den erwähnten Karzinomen im Hypopharynx und Ösophagus ist diese Risikosteigerung aber eher als moderat anzusehen (17). Epidemiologisch am bedeutendsten scheint hier eher die Leberzirrhose als Alkoholfolgeerkrankung zu sein.

Die chronische Pankreatitis ist als eine häufige Folge von Alkoholmissbrauch im klinischen Alltag bereits bekannt; eine Erhöhung des Krebsrisikos konnte hier durch Alkohol noch nicht nachgewiesen werden.

Es existieren zahlreiche, gut validierte Studien zur alkoholischen Schädigung im Gastrointestinaltrakt. Die aktuelle Studienlage zum alkoholtoxischen Ösophaguskarzinom,

der alkoholtoxischen Leberzirrhose und der chronischen alkoholtoxischen Pankreatitis wird nachfolgend im Detail erläutert (18;19).

1.1.2 Die alkoholassoziierte Pankreatitis

Alkohol ist der wichtigste Risikofaktor für das Entstehen einer chronischen Pankreatitis. Der exokrine Anteil des Pankreas produziert zahlreiche Enzyme, deren Aufgabe unter anderem die Aufspaltung schwer verdaubarer Nahrungsbestandteile ist. Bei regelrechter Funktion werden die Enzyme inaktiv produziert und erst im Magen und Darm aktiviert, um eine Selbstverdauung des Pankreasgewebes zu verhindern. Geschieht dies nun bereits verfrüht im Ausführungsgang oder noch gravierender im Pankreas selbst, führt dies unter Umständen zu schwersten Kolloquationsnekrosen und einem Vollbild einer Pankreatitis. Diese äußert sich typischerweise in gürtelförmigen epigastrischen Beschwerden, Fieber und allgemeinen Krankheitszeichen. In einem Großteil der Fälle wird zuerst die exokrine Funktion des Pankreas gestört, was zu Durchfällen und Ernährungsstörungen führt. Bei Fortbestehen der Noxe kann noch eine endokrine Störung folgen, sodass sich ein manifester Diabetes mellitus entwickeln kann. Der Erkrankungsgipfel liegt bei ca. 40 Jahren.

Die Klinik der betroffenen Patienten kann auch sehr diskret verlaufen, sodass es nicht verwundert, dass bei Autopsien sehr häufig nebenbefundlich krankheitsspezifische Veränderungen für eine chronische Pankreatitis gefunden werden, sodass man von einer hohen Dunkelziffer ausgehen muss (3).

Ein chronischer Alkoholkonsum von mehr als 60 Gramm bei Männern und 20 Gramm bei Frauen konnte nach mehreren Studien als Schwellendosis für eine Pankreatitis festgelegt werden. Eine direkte lineare Dosis-Wirkungs-Beziehung wie bei den Lebererkrankungen existiert hier allerdings nicht.

Dosis- aber auch geschlechtsabhängig ist auch die Latenz vom Beginn des Abusus bis zur Erkrankung, die im Durchschnitt 10-20 Jahre beträgt. Demnach ist täglicher Alkoholkonsum von mehr als 200g/d signifikant gefährlicher und verkürzt zusätzlich die Zeitspanne bis zum Ausbruch der Krankheit (20).

Frauen haben, wie auch bei der Leberzirrhose, ein höheres Risiko und erkranken schneller, was auf eine allgemein erhöhte Anfälligkeit für alkoholtoxische Zellschädigungen zurückgeführt wird (21).

Die Tatsache, dass unter Berücksichtigung aller prädisponierenden Faktoren in nur lediglich 3-8% der Fälle mit Alkoholabusus über der postulierten Schwellendosis eine

alkohol-induzierte Pankreatitis entsteht, weist auf eine bedeutende Rolle weiterer Einflüsse, beispielsweise genetischer Faktoren, in der Genese der chronischen alkoholischen Pankreatitis hin (22).

1.1.3 Die alkoholassoziierte Leberzirrhose

Als wichtigstes Entgiftungsorgan für Alkohol ist die Leber dieser Noxe besonders ausgesetzt. Über eine schrittweise Erkrankungssequenz entwickelt sich bei übermäßigem Alkoholkonsum über eine Fettleber und konsekutiver Entzündung mit Fibrose das Vollbild einer Leberzirrhose.

Es ergibt sich eine signifikante Risikosteigerung für eine fortgeschrittene Lebererkrankung bei täglichem Alkoholkonsum von 60 Gramm bei Männern und 20 Gramm bei Frauen, wobei eine lineare Dosis-Wirkungskurve existiert zwischen der Menge konsumierten Alkohols und der Wahrscheinlichkeit eine Leberzirrhose zu entwickeln (23-26).

Als Folge davon tritt bei weiblichen Alkoholkranken schon bei vergleichsweise niedrigeren Alkoholmengen ein relevanter Leberschaden auf.

Es wurden zahlreiche Prädispositionsfaktoren für die Entwicklung einer Leberzirrhose gefunden. So können Vorerkrankungen wie eine Hepatitis C oder auch die schon die Gabe von Vitamin A oder β -Karotin zu toxischen oder sogar kanzerogenen Stoffwechselprodukten führen und so die Gefahr der Entstehung einer Leberzirrhose bzw. des Leberzellkarzinoms erhöhen (27).

In Analogie zur chronischen Pankreatitis gibt es allerdings auch für die Leberzirrhose Hinweise, die eine relevante Rolle genetischer Faktoren in der Genese der Leberzirrhose nahe legen, da auch hier nur ein relativ geringer Teil der Patienten, welche die oben angeführte kritische Alkoholmenge überschreiten, eine Leberzirrhose entwickeln.

1.1.4 Das alkoholassoziierte Ösophaguskarzinom

Seit Anfang des 19. Jahrhunderts Lamu darlegen konnte, dass Absinth-Konsumenten überdurchschnittlich häufig an Speiseröhrenkrebs erkrankten, wird Alkohol als ein wesentlicher Genesefaktor angesehen (28).

Diese angeführte Beobachtung wurde durch eine Vielzahl an Studien belegt (18;29;30).

Inzwischen steht fest, dass eine positive Korrelation zwischen der Menge und der Art des konsumierten Alkohols und der Genese eines Karzinoms im Ösophagus existiert, wobei das Risiko bei Konsumenten von „hartem Alkohol“ am höchsten ist (2;31).

Beispielsweise erhöht ein durchschnittlicher täglicher Konsum von 80 Gramm Alkohol pro Tag das relative Risiko für Speiseröhrenkrebs um den Faktor 18 gegenüber der Normalbevölkerung (8).

Dieses Risiko ist durch einen häufig zusätzlich betriebenen Nikotinabusus noch steigerbar, da dieser synergistisch wirkt (1;9;20;31).

Die Noxen Alkohol und Rauchen unterliegen beide jede für sich einer Dosis-Wirkungs-Beziehung. Eine französische Studie konnte belegen, dass das relative Risiko für Ösophaguskarzinome bei einem Konsum von 20 Zigaretten/Tag mit einer relativen Risikosteigerung um den Faktor 5 vergesellschaftet ist und dass ein Konsum von mehr als 80 Gramm Alkohol/Tag den Faktor bereits auf 18 erhöht. Kombiniert man diese beiden Noxen wirken sie nicht nur additiv, sondern multiplikativ mit einer Steigerung um den Faktor 44 (8;32).

Exzessiver Alkoholmissbrauch zusammen mit langjährigem Rauchen kann daher das Risiko für ein Ösophaguskarzinom im Extremfall um das 130-fache gegenüber der Normalbevölkerung steigern (8;18;29;30).

Bei Fortführung und Intensivierung des Nikotinabusus zeigt sich jedoch, dass das relative Risiko ab einer gewissen Menge nicht mehr ansteigt, also sättigbar ist. Dem Risikoanstieg bei Alkoholmissbrauch konnte eine vergleichbare Sättigung nicht nachgewiesen werden.

Dort zeigte sich auch noch bei Steigerungen im ohnehin schon hochrisikohaften Bereich von über 160 Gramm/Tag ein weiterer Anstieg des relativen Risikos (9).

Bei Personen, die länger als 10 Jahre nicht mehr geraucht haben, sinkt das Risiko hingegen wieder signifikant ab (31).

Ein weiterer Faktor, der das Auftreten von Karzinomen des oberen Gastrointestinaltrakts beeinflusst, ist die geographische Lage. Besonders offensichtlich wird dies am Beispiel von Puerto Rico.

Puerto Rico ist das Land mit der höchsten Rate an Karzinomerkrankten im Larynx- und Pharynx. Neben genetischen Faktoren vermutet man, dass besondere Trinkgewohnheiten, Fehl/Unterernährung oder andere Begleitumstände hier eine wichtige Rolle spielen (2).

Alle oben geschilderten Korrelationen existieren allerdings in der Form hauptsächlich für das Plattenepithelkarzinom. Die Rolle des Alkohols bei der Genese des Adenokarzinoms wird kontrovers diskutiert (33).

Man vermutet eher eine multifaktorielle Ätiologie, basierend vor allem auf einer Barrettmetaplasie nach chronischem Reflux, wobei Alkohol eine relaxierende Wirkung auf

den gastro-ösophagealen Sphinkter ausübt, und somit eine chronische Refluxösophagitis begründen kann. Durch die Chronizität dieser Entzündung bedingt, bildet sich dann die zuvor genannte Metaplasie aus, die zur malignen Entartung führen kann. Die Rolle des Alkohols wird demnach eher in der Begünstigung des Reflux durch Senkung des unteren Sphinktertonus gesehen (17).

1.2 Pathogenese der alkoholtoxischen Organschäden

Die Pathogenese der alkoholtoxischen Organschäden ist äußerst vielschichtig.

Sie umfasst direkte und indirekte Mechanismen, teils wirkt Alkohol auch nur als ein Kofaktor.

In letzter Zeit gibt es zunehmende Evidenz, dass insbesondere der Alkoholmetabolismus und die Wirkungen dieser Metaboliten auf den Organismus von entscheidender Bedeutung sind. Im Folgenden werden Physiologie und Pathophysiologie von Alkoholaufnahme und Stoffwechsel dargestellt.

1.2.1 Alkoholaufnahme

Alkohol wird teilweise bereits im Mundraum, aber größtenteils im Magen-Darm-Trakt absorbiert. Dabei wird im Magen nur ein sehr geringer Anteil des Alkohols aufgenommen, der Hauptort der Resorption geschieht anschließend im Dünndarm.

Die Absorption des Ethanol hängt vor allem von der Dauer des Kontakts mit der Schleimhaut ab. Die Dauer der Magen-Darm-Passage und die Resorption wird vom Geschlecht, Alter, Medikamenten, genetischen Faktoren, aufgenommener Nahrung, Vorerkrankungen (z.B. chronisch atrophischer Gastritis) und der Art des Alkohols beeinflusst (14;17;34).

Beispielsweise hemmt hochprozentiger Alkohol die Motilität des Magens und ein Gehalt unter 10% fördert diese (34;35).

Anschließend gelangt der Alkohol über die Pfortader in die Leber, wo ein Großteil (>90%) des Alkoholstoffwechsels stattfindet.

1.2.2 Alkoholmetabolismus

Alkohol wird auf drei verschiedenen Stoffwechselwegen metabolisiert. Diese werden nachfolgend im Einzelnen erläutert.

1. Der quantitativ bedeutendste unter ihnen ist der Abbau mittels der zytosolischen, in insgesamt fünf Klassen und sieben Isoenzymen vorkommenden, Alkoholdehydrogenase (ADH, siehe Abkürzungsverzeichnis), mit deren Hilfe Ethanol unter NAD⁺ Verbrauch zu Azetaldehyd oxidiert wird.

Der größte Anteil der ADH befindet sich in der Leber, aber auch viele andere Gewebe besitzen die Fähigkeit ADH zu exprimieren (siehe Tab.1)(36).



2. Der zweite Weg führt über das MEOS, das mikrosomale Ethanol-oxidierende- System, zum Azetaldehyd. Dieses System besteht im Wesentlichen aus Cytochrom P450 2 E1, einer mikrosomalen NADPH/H⁺ verbrauchenden, mischfunktionellen Oxygenase. Diese ist durch chronischen Alkoholabusus induzierbar und kann dadurch bis zu 10% des Gesamtumsatzes ausmachen. Dies wird durch eine reaktive Proliferation des glatten endoplasmatischen Retikulums ermöglicht, wodurch aber auch eine Bildung relevanter Mengen zytotoxischer Radikale wie auch eine Aktivierung von Prokarzinogenen begünstigt wird (14;34;37;38).



3. Ein dritter Weg führt über eine Wasserstoffperoxyd- verbrauchende peroxisomale Katalase.



Dieser Stoffwechselweg spielt aber nur eine untergeordnete Rolle (39).

Das über alle drei Stoffwechselwege produzierte hochreaktive Azetaldehyd wird schließlich durch die Aldehyddehydrogenase (ALDH, siehe Abkürzungsverzeichnis) in das ungefährliche Acetat überführt (36;40).



Im Nachfolgenden werden pathophysiologische Mechanismen von Alkohol und seinem ersten Metabolit Azetaldehyd genauer erläutert.

1.2.3 Pathomechanismen durch Alkohol

Chronischer Alkoholkonsum schädigt nahezu den gesamten Organismus. Direkte wie auch indirekte Mechanismen sind daran beteiligt.

So sind chronisch Alkohol Kranke oft fehlerernährt. Im Extremfall werden bei ihnen durch Alkohol mehr als 90% des täglichen Energiebedarfs gedeckt. Durch Mangelernährung kommt es zur Unterversorgung mit zahlreichen Spurenelementen wie Zink und Selen sowie Vitaminen wie beispielsweise A, C, E und Folsäure (3;13;41).

Diese Mangelernährung schwächt unter anderem die Immunabwehr und macht den Körper empfänglicher für karzinogene Noxen.

Zudem werden zusammen mit vielen alkoholischen Getränken andere bekannte karzinogene Stoffe aufgenommen. So sind beispielsweise Nitrosamine, polyzyklische Kohlenwasserstoffe und sogar Asbest in bedeutsamen Konzentrationen in Whisky und Bier gefunden worden (34;40).

Neben einer vermehrten Aufnahme karzinogener Stoffe beeinflusst Alkohol auch deren Entgiftung. So wird der Abbau von karzinogenen Nitrosaminen über die Dimethylnitrosamin-Demethylase durch Alkohol in der Leber gehemmt, was zu einer Umverteilung in sensible extrahepatische Gewebe wie beispielsweise dem Ösophagus führt (18;30). Tierexperimentell konnte ein dadurch begründeter Anstieg von Malignomen im oberen Gastrointestinaltrakt beobachtet werden (42;43).

Alkohol fungiert auch als Lösungsmittel für schädliche, organische Stoffe. Zigarettenrauch enthält beispielsweise Karzinogene, die normalerweise nur schwer resorbiert werden. Zusammen mit Alkohol als Lösungsmittel wird die Aufnahme allerdings sehr erleichtert (44).

Chronischer Alkoholmissbrauch führt zu einer Induktion des bereits erwähnten Stoffwechselsystems MEOS, der mischfunktionellen Oxygenase Cytochrom P450 2E1. Neben dem physiologischen Vorteil der Bewältigung größerer Mengen Alkohols ist damit aber auch ein beschleunigter Metabolismus einer Vielzahl an Medikamenten verbunden. Diese können teilweise ihre Wirkung nicht voll entfalten bzw. es können Abbauprodukte in erheblich höherem Maß anfallen als üblich. Dabei kann es unter Umständen zur Bildung von äußerst reaktiven, freien Hydroxyäthyl-Radikalen kommen. Diese wurden mit einer Vielzahl an pathophysiologischen Prozessen in Verbindung gebracht (38).

Des Weiteren benötigen verschiedene Prokarzinogene die Unterstützung von CYP2E1 zu ihrer weiteren Aktivierung zum endgültigen Karzinogen. Durch eine vermehrte Induktion von CYP2E1 durch Alkohol kann dies weitaus effizienter geschehen (37;45;46).

Neben diesen systemischen Effekten kann Alkohol auch lokal schädlich wirken. Direkter Schleimhautkontakt mit Alkohol löst eine Entzündung mit konsekutiver Schädigung des Epithels aus, was wiederum einen Regenerationsanreiz darstellt (47).

Als Konsequenz steigt die Mitoserate und als Folge dessen auch die Wahrscheinlichkeit, dass Ablesefehler und Mutationen auftreten. Das Epithel ist zudem vulnerabler gegenüber kanzerogenen Substanzen und die Resorption ansonsten schwer resorbierbarer Substanzen wird erleichtert (14;48).

Andere kanzerogene Stoffe wie polyzyklische Kohlenstoffe, die extrem lipophil sind, werden erst durch Alkohol lösbar gemacht und dann über die Schleimhaut aufgenommen(44).

Auffallend ist trotz dieser zahlreichen beschriebenen Mechanismen jedoch, dass Alkohol trotz hoher Dosierung ohne chemischen Tumorpromotor und Initiator keine kanzerogene Wirkung im Tiermodell hat(43;49;50).

Daher wurde von der IARC (International Agency for Research on Cancer) postuliert, dass Alkohol oder alkoholische Getränke nicht als karzinogen für Tiere einzustufen sind(44).

In letzter Zeit mehrt sich zudem die Evidenz dafür, dass ein Großteil der kanzerogenen Potenz von Alkohol durch seinen Metaboliten Azetaldehyd vermittelt wird.

1.2.4 Pathomechanismen durch Azetaldehyd

Inhalationsstudien an Hamstern und Ratten konnten belegen, dass mit Azetaldehyd, als erstem Alkoholmetaboliten, sowie mit Dimethylnitrosaminen behandelte Goldhamster gegenüber einer Kontrollgruppe eine erhöhte Rate an Rhinitis, Wachstumsstörungen, sowie an Läsionen des Epithels an der Nasenschleimhaut und Trachea mit Hyper- und Metaplasie und sogar Nasopharyngealkarzinomen aufwiesen(44;51-56).

Inzwischen ist Azetaldehyd als toxisches, mutagenes, teratogenes und kanzerogenes Agens identifiziert worden(2;19;29;40;57-62).

Die dafür zugrunde liegenden Mechanismen sind noch nicht vollständig geklärt.

Ein grundlegender Pathomechanismus des Azetaldehyds ist es, stabile Quervernetzungen in Form von kovalenten Bindungen innerhalb der DNA-Stränge zu produzieren.

Dadurch kommt es zu Ablesefehlern in der Replikationsphase der DNA, sodass es zu Veränderungen der Morphologie und Funktion von Zellen kommen kann, oder zur Aktivierung von Onkogenen bzw. Deaktivierung von Tumorsuppressorgenen(63).

Mittlerweile ist ein stabiles DNA-Addukt, das N2-Ethylguanodin, welches durch Azetaldehyd induziert wird, *in vivo* und *in vitro* nachgewiesen worden(63-65).

Zudem kann es auch zu stabilen Protein-Addukten kommen, die als Neoantigene Anreize für das Immunsystem darstellen. Dies führt zu einer Produktion von spezifischen Antikörpern und zu einer allgemeinen inflammatorischen Stimulation des Immunsystems, die zytotoxische Reaktionen zur Folge haben können (46;66).

Azetaldehyd führt auch zu einer Hemmung von DNA- Reparaturmechanismen.

Studien konnten inzwischen belegen, dass Azetaldehyd direkt DNA-Reparaturmechanismen durch die O⁶- Methylguanin-Transferase verhindern kann (58;64;67). Dieses Enzym repariert gewöhnlich DNA-Quervernetzungen, die durch verschiedenste Alkylantien entstanden sind.

Azetaldehyd senkt zudem nachweislich den Folsäurespiegel (68).

Folsäure und Methionin werden zur Regulation von Genexpressionen benötigt und ein durch Azetaldehyd induzierter Mangel wurde bereits in Zusammenhang mit dem Kolonkarzinom gebracht (13).

Zudem konnte gezeigt werden, dass Azetaldehyd zytotoxische Radikale bildet, die zu Lipidperoxidationen führen können, welche die DNA binden können. Freie Radikale führen zu Ablesefehlern und Mutationen und können so zu Malignomen im Atmungs- und Verdauungstrakt führen. Im Tierexperiment konnte dies wiederholt gezeigt werden (53;56-58;69;70).

Auf welche Weise Polymorphismen der alkoholabbauenden Enzyme das ethanolassoziierte Organrisiko beeinflussen können, wird nachfolgend erklärt.

1.3 Genetischer Polymorphismus der Alkoholdehydrogenase 1C

Wie bereits in Kapitel 1.2.2 erwähnt, existieren von der für die Entstehung von Azetaldehyd wichtigen ADH fünf Klassen und sieben Isoenzyme. Dabei wurde der Schwerpunkt dieser Arbeit auf die erste Klasse und die Polymorphismen der ADH1C gelegt. Obwohl 93% der Basensequenzen innerhalb der ADH1-Isoenzyme identisch sind, unterscheidet sich ihre Substratspezifität zum Teil erheblich. Durch die genaue Aufspaltung der Isoenzymstruktur konnte gezeigt werden, dass die Substratbindungsstellen im Durchschnitt nur zu 60 % identisch sind, woraus sich verschiedene kinetische Eigenschaften für bestimmte Enzymaktivitäten ableiten lassen (71). Im Fall des ADH1C Polymorphismus gibt es an zwei Positionen einen Austausch von Aminosäuren. An Position 349 wurde Isoleucin durch Valin und an Position 271 Arginin durch Glutamin ersetzt (72;73). Von der ALDH, die wesentlich an der Entgiftung von Alkohol beteiligt ist, existieren 5 Klassen mit 5 Isoenzymen, ein Polymorphismus ist nur für die ALDH2 bekannt. Zur besseren Übersicht sind in Tabelle 1 die Klassen und Isoenzyme sowie die Polymorphismen der ADH und ALDH aufgeführt.

Tabelle 1: Polymorphismen und Expression im Gewebe der ADH und ALDH:

Klasse	Allel	Enzyme	Gastrointestinale Lokalisation	Km (mM)
I	ADH1A	$\alpha\alpha$	In fast allen Geweben,	4,2
	ADH1B*1	$\beta1\beta1$	am häufigsten in der Leber,	0,5
	ADH1B*2	$\beta2\beta2$	Im GI-Trakt, Blutgefäßen,	1
	ADH1B*3	$\beta3\beta3$	Pankreas, Lunge, Haut, Muskel,	36
	ADH1C*1	$\gamma1\gamma1$	endokrine Zellen	1
	ADH1C*2	$\gamma2\gamma2$		<1
II	ADH4	$\pi\pi$	Leber	34
III	ADH5	$\chi\chi$	Alle Gewebe, (kaum am Alkoholmetabolismus beteiligt)	n.s.
IV	ADH7	$\sigma\sigma$	GI-Mukosa	37
V	ADH6		Magen	unbekannt
I	ALDH2*1	$\beta1\beta1$	Cytosol	low km for Azetaldehyd
	ALDH2*2	$\beta2\beta2$	Mitochondrium	high km for Azetaldehyd
II, III,IV V	ALDH		Cytosol und Mitochondrium	Isoenzyme bekannt, und jedoch quantitativ irrelevanter Anteil an der Azetaldehyd- oxidation

n.s.= nicht sättigbar Quelle: (74-77).

Die Polymorphismen der alkoholmetabolisierenden Enzyme können auf zwei Wegen zur Akkumulation von Azetaldehyd führen. Zum einen kann es zur fehlenden Detoxifikation von Azetaldehyd durch ineffizienten ALDH-vermittelten Metabolismus kommen, zum anderen kann es zur vermehrten Anflut von Azetaldehyd durch eine ADH vermittelte rasche Produktion kommen.

Ein Beispiel für die Bedeutung einer solchen Akkumulation von Azetaldehyd durch ineffiziente ALDH Entgiftung ist die Homozygotie des *ALDH2*2* Gens bei Asiaten.

Normalerweise kann die ALDH aufgrund ihrer niedrigen K_m für Azetaldehyd extrem schnell, auch bei sehr niedrigen Substrat-Konzentrationen, das toxische Agens Azetaldehyd in Azetat überführen (74).

Die homozygote $ALDH2^*2$ Variante weist aber eine sehr viel höhere K_m auf. Personen aus dem asiatischen Raum, die diese Variante aufweisen, vertragen daher sehr wenig bis überhaupt keinen Alkohol. Hier akkumuliert sehr rasch hochreaktives Azetaldehyd. Daraus ergibt sich ein besonders schweres Nebenwirkungsprofil nach Alkoholkonsum mit starker Hautrötung, Übelkeit, Erbrechen, Vasodilatation und Tachykardie („Flushing“). Diesen Genotyp stellen ca. 1% dieser Bevölkerungsgruppe. Dies wirkt sich als protektiver Faktor gegen Alkoholismus aus, da die Betroffenen aus Angst vor den Nebenwirkungen meist völlig Alkohol-abstinent leben (78;79).

Heterozygote „Flushers“ (ein Allel mit $ALDH2^*1$ und eines mit $ALDH2^*2$, 50% der ostasiatischen Bevölkerung), also Menschen mit nur einem aktiven Allel, welches für die $ALDH2^*2$ codiert, sind nicht ganz so stark eingeschränkt (80;81).

Diese Menschen können sich an die übermäßig starken Nebenwirkungen gewöhnen und sind unter Umständen kaum mehr als die übrige Bevölkerung im Alkoholkonsum eingeschränkt.

Durch die langsamere ALDH2 akkumuliert Azetaldehyd dennoch weiterhin. Dies hat sich in vielen Studien als ein bedeutender Risikofaktor für ein Karzinom des oberen gastrointestinalen Trakts herauskristallisiert (80;82-84).

Dieser genetische Polymorphismus betrifft vorwiegend den asiatischen Raum, in Europa geht die Allelfrequenz der $ALDH2^*2$ gegen Null, weshalb nach anderen Erklärungsmodellen weitergesucht werden muss (81).

Auf der Seite der Azetaldehyd-Produktion sind die wesentlichen geschwindigkeitsbestimmenden Faktoren die Isoenzyme der ADH und ihre Polymorphismen.

Bestimmte Polymorphismen der ADH1B wurden in der asiatischen Bevölkerung bereits mit der Entstehung von Karzinomen des oberen Gastrointestinaltrakts in Verbindung gebracht.

Da diese Polymorphismen in der europäischen Bevölkerung aber praktisch ebenfalls nicht existent sind, sind diese in den hier vertretenen ethnischen Populationen ohne Bedeutung (85).

Polymorphismen der ADH1C (349 Ile/Val) unterscheiden sich deutlich in ihrer Kinetik (V_{max}), wobei man eine langsame Variante ($ADH1C^*2-2$), von einer schnellen

(ADH1C*1-1) unterscheiden kann. Das schnelle Enzym ADH1C*1-1, oxidiert Alkohol zu Azetaldehyd bis zu 2,5-mal so schnell wie das langsamere ADH1C*1-2 oder ADH1C*2-2 Enzym. Das führt zu einer Akkumulation von hochreaktivem Azetaldehyd (2;86). Die heterozygote Form der ADH1C beinhaltet ein Allel *ADH1C*1* und ein *ADH1C*2* Allel. Dieser Polymorphismus codiert ein Dimer und kann als reines Homodimer ($\gamma1\gamma1$; $\gamma2\gamma2$), oder auch als Heterodimer ($\gamma1\gamma2$) auftreten. Die Umsatzgeschwindigkeit der heterozygoten Form für Azetaldehyd liegt im Bereich zwischen der der beiden Homozygoten.

Der Gedanke liegt nahe, dass diese intrazelluläre Anhäufung von Azetaldehyd einen schädlichen Einfluss auf den Organismus und insbesondere auf die direkt durch Alkoholkonsum mehr beanspruchten Organe, Ösophagus, Leber sowie Pankreas, ausüben könnte, als der geregelte Abbau durch das langsamere ADH1C*1-2 oder ADH1C*2-2. Die Tatsache, dass nun einige Menschen, die regelmäßigen Alkoholkonsum betreiben, erkranken (8-20%) und andere wiederum nicht, könnte also unter Umständen eine genetische Ursache haben.

Zur Bedeutung von Polymorphismen der ADH1C sind bereits sieben Studien durchgeführt worden, wobei zwei der sieben Studien eine Assoziation mit einem erhöhten Krebsrisiko im HNO Bereich ergaben, während fünf Studien dies nicht belegen konnten. Studien zum Ösophaguskarzinom sind bisher nicht durchgeführt worden. Auch existieren keine Vergleichsdaten zu Patienten die einen konstant hohen Alkoholmissbrauch betreiben.

1.4 Fragestellung

Aus den in der Einleitung aufgeführten Aussagen ergibt sich zusammenfassend folgende Fragestellung, der in dieser Arbeit nachgegangen wurde:

- Sind Polymorphismen der ADH1C als ein signifikanter Risikofaktor für die Entstehung alkoholassoziierter Folgeerkrankungen wie die alkoholtoxische Leberzirrhose, die Pankreatitis und das Ösophaguskarzinom anzusehen?

2. Material und Methoden

2.1. Studienkollektiv und allgemeine Einschlusskriterien

Die Studie umfasste insgesamt 837 Probanden mit insgesamt 631 Patienten und 206 Kontrollprobanden. Es handelte sich um insgesamt 607 Probanden männlichen und 230 weiblichen Geschlechts. Die Patienten und Probanden wurden aus dem Uniklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck (n=742), dem Krankenhaus Salem, Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Heidelberg (n=57) sowie aus der Universität Erlangen (n=38) rekrutiert. Nur Daten von Patienten mit folgenden Krankheitsbildern wurden gesucht: Ethanolassozierte, chronische Pankreatitis (n=117), ethanolassozierte Leberzirrhose (n=217), ethanolassoziertes Ösophaguskarzinom (n=123) sowie chronischer Alkoholabusus (n=174) ohne eine der eben angeführten Erkrankungen. Bei all diesen Gruppen war ein obligates Einschlusskriterium ein Alkoholabusus von mindestens 40 Gramm/Tag. Dieses Studiendesign wurde gewählt, um den Einfluss der ADH1C auf die jeweiligen Erkrankungen nur in einem stark Alkoholtrinkenden Kollektiv zu untersuchen. Zusätzlich wurde ein weiteres Kollektiv untersucht, welches sich aus gesunden Kontrollen (n=48) und Erkrankten ohne alkoholassozierte Erkrankungen (n=158) zusammensetzte. Dieses Kollektiv musste einen täglichen durchschnittlichen Alkoholkonsum von unter 20 Gramm/Tag vorweisen können. Zudem wurde diese Gruppe lediglich zur Evaluierung der Allelfrequenz im untersuchten Kollektiv herangezogen. Ein statistischer Vergleich zu den oben angeführten ethanolassozierten Erkrankungen erfolgte nicht, da in dieser Arbeit nur der Unterschied innerhalb von Probanden mit Alkoholabusus untersucht werden sollte. Als allgemeine Einschlusskriterien galten ein Mindestalter der Probanden/ Patienten von über 18 Jahren und ihre Einverständnissfähigkeit. Allgemeine Ausschlusskriterien waren: Kontraindikationen gegen eine Blutentnahme, Alter unter 18 Jahre oder fehlende Einverständnissfähigkeit.

Die folgenden speziellen Ein- und Ausschlusskriterien mussten jeweils erfüllt werden, um in die jeweilige Gruppe eingeschlossen zu werden:

2.1.1 Die alkoholassozierte Pankreatitis

Die alkoholtoxische Pankreatitis wurde klinisch und mithilfe von Blutwerten und bildgebender Befunde diagnostiziert. Typische klinische Zeichen und ein mehr als 2-fach erhöhter Anstieg der Lipase über den Normbereich waren obligat. Alle Probanden mussten zudem Zeichen der chronischen Pankreatitis in zumindest einem der folgenden bildgebenden Verfahren aufweisen: Abdominelle Sonographie, endoskopischer Ultraschall, ERCP, CT, MRT oder MRCP. Als Hinweise auf eine chronische Pankreatitis wurden dabei das Vorliegen von typischen Zeichen wie Pankreasfibrose, Gangveränderungen, intraparenchymatöse Verkalkungen oder Pankreassteine gewertet. Insgesamt 117 Probanden erfüllten dieses Kriterium.

2.1.2 Die alkoholassozierte Leberzirrhose

Für die Diagnose einer ethyltoxischen Leberzirrhose mussten die Patienten sonographisch eindeutige Kriterien einer Zirrhose aufweisen. Patienten, die an einer viralen (positiver Titer für Hepatitis B und/oder C) oder autoimmunen Hepatitis (pathologische Titer für SLA, ANA, AMA, pANCA und LKM) erkrankt waren, wurden ausgeschlossen. Außerdem wurden diejenigen Patienten, bei denen der durch die entsprechenden laborchemischen Hinweise begründete Verdacht auf eine Leberschädigung anderer Genese bestand (Hämochromatose, erhöhtes Ferritin, hohe Transferrinsättigung, M. Wilson, erhöhte Kupferkonzentration im 24h Sammelurin) von der Studie ausgeschlossen.

Bei der Leberzirrhose nutzten wir die Kriterien des Child-Pughes Index zur Diagnose und gleichzeitig zur Einteilung des Schweregrades.

Patienten mit einer Child A Zirrhose wurden nur nach Komplikationen wie beispielsweise Ösophagusvarizen oder einem eindeutigen histologischen Befund in die Studie mit eingeschlossen. Ansonsten war eine histologische Validierung nicht notwendig.

Insgesamt 217 Probanden erfüllten dieses Kriterium. Es gab 16 Patienten, die sowohl an einer ethyltoxischen Pankreatitis als auch an einer ethyltoxischen Leberzirrhose litten. Diese wurden als eine eigene Gruppe behandelt und ebenfalls zu statistischen Berechnungen nicht mit herangezogen.

2.1.3 Das alkoholassoziierte Ösophaguskarzinom

Die Diagnose des Ösophaguskarzinoms musste im Rahmen einer Ösophagogastroskopie histologisch gesichert sein, unterschieden wurden Adenokarzinome (n=33) von Plattenepithelkarzinomen (n=90). Zur Diagnose eines Adenokarzinoms musste entweder ein Barrett-Ösophagus vorliegen oder der Hauptanteil des Tumors im Ösophagus lokalisiert sein. Histologisch durfte sich kein Anhaltspunkt für ein Magenkarzinom (Siegelringzellen) ergeben. Insgesamt blieben demnach 123 Probanden übrig, welche diese Kriterien erfüllten.

2.1.4 Die Alkoholkrankheit

Dieses Kollektiv bestand aus alkoholkranken Patienten, die an keiner der ebengenannten Erkrankungen oder an sonstigen Malignomen zu diesem Zeitpunkt gelitten haben. Der tägliche Alkoholkonsum musste eine Schwellendosis von 60 Gramm/Tag überschreiten. Die für diese Studie relevanten Erkrankungen wurden entweder klinisch, labortechnisch oder mit bildgebenden Verfahren ausgeschlossen. Insgesamt 174 Probanden erfüllten dieses Kriterium.

2.1.5 Kollektiv zur Evaluation der Genfrequenz

Hier wurden sowohl Freiwillige ohne Erkrankung (n=48) als auch Krankenhauspatienten ohne ethanolassoziierte Erkrankungen (n=158) eingeschlossen, wobei als Ausschlusskriterien ein bekanntes Malignom, Erkrankungen mit eindeutig genetischem Hintergrund und fehlendes Einverständnis angesehen wurden. Der selbstberichtete, durchschnittliche, tägliche Alkoholkonsum musste unter 20 Gramm/Tag liegen. Insgesamt 206 Probanden erfüllten diese Kriterien.

2.1.6 Fragebogen

Die Patienten und Probanden wurden in standardisierter Form nach der durchschnittlich täglich getrunkenen Menge Alkohols in einem definierten Zeitraum gefragt. Die angegebenen Getränke wurden in konsumierten Gramm Alkohol/Tag umgerechnet. Ähnlich wurde mit dem Erfassen der Rauchgewohnheiten verfahren. Gefragt wurde nach dem durchschnittlichen Konsum in Form von Menge und Art der Rauchware, sowie nach der Dauer dieses Konsums.

Studienteilnehmer, die länger als ein Jahr zum Zeitpunkt der Erfassung nicht mehr geraucht haben, wurden zur Gruppe der Ex-Raucher gezählt. Alle Patienten mussten über

Studie und Design aufgeklärt werden und ihr Einverständnis geben. Das Studienprotokoll wurde mit dem Ethikvotum mit dem Aktenzeichen: 02-097 am 12.09.2002 genehmigt, auch lagen Ethikvoten der kooperierenden Universitäten Heidelberg und Erlangen vor.

2.1.7 Die PCR- (Polymerase-Kettenreaktion)-RFLP (Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus)- Analyse

Den Probanden wurden 10 ml EDTA Blut entnommen und bis zur Bearbeitung bei minus 80 Grad gelagert.

Die DNA wurde mithilfe des QIAamp DNA Kits nach Herstelleranweisungen (Firma Qiagen, Deutschland) aus dem Vollblut extrahiert. Die Genotypisierung erfolgte mittels PCR/RFLP-Analyse, wie bereits beschrieben (69) mit folgenden Bedingungen:

Für die PCR wurde Taq DNA-Polymerase (Platinum, Life Technologies) eingesetzt; die Amplifikation erfolgte in 36 Zyklen mit jeweils einem Denaturierungsschritt von 30 Sekunden bei 94°C, einem Hybridisierungsschritt zur Bindung der Primer an das Templat von 30 Sekunden bei 55°C, und einer Synthesephase von 30 Sekunden bei 72°C; abschließend folgte eine 2minütige Synthesephase bei wiederum 72°C. Die Sequenzen und Positionen der hierbei verwendeten Primer lauteten wie folgt:

Vorwärtsprimer *ADH1C*ex8F, AATAATTATTTTCAGGCTTTAAGAGTAAATATTCTGTCCCC, Rückwärtsprimer *ADH1C*ex8R, AATCTACCTCTTTCCAGAGC. Die NCBI accession number für die *ADH1C* lautet NP_000660. Aus diesem Nukleotidaustausch resultiert eine Schnittstelle für das Restriktionsenzym *Ssp* I (AATATT), in der sich die beiden untersuchten Allele der *ADH1C* voneinander unterscheiden. Als interne Kontrolle für den Restriktionsverdau wurde über zwei Nukleotidaustausche im Vorwärtsprimer eine zusätzliche *Ssp* I-Schnittstelle in das PCR-Produkt eingeführt (unterstrichene Basen im Vorwärtsprimer). So gelang uns eine Auftrennung dieser Polymorphismen in der anschließenden Gel-Elektrophorese wie folgt:

Das gewonnene 162bp große Fragment wurde mit der Restriktionsendonuklease *Ssp* I (5Unit) für 2h geschnitten und die resultierenden DNA-Fragmente auf einem 3%gen Metaphor-Agarosegel aufgetragen und mit Ethidiumbromid gefärbt. Aus der durch den Vorwärtsprimer eingeführten Schnittstelle ergibt sich jeweils ein 31bp-Fragment, das allerdings aufgrund seiner geringen Größe nicht immer sichtbar war. Patienten mit *ADH1C**1-1 zeigen ein 68, ein 63 und das inkonstant auftretende interne 31 bp Kontrollfragment, Patienten mit *ADH1C**1-2 zeigen alle vier Fragmente, im Einzelnen ein 131, 68, 63 und das 31 bp Fragment. Patienten mit *ADH1C**2-2 weisen nur ein 131 bp und

das Kontrollfragment auf. Alle ADH-Genotypen wurden von zwei unabhängigen Untersuchern festgelegt (siehe Abb. 1).

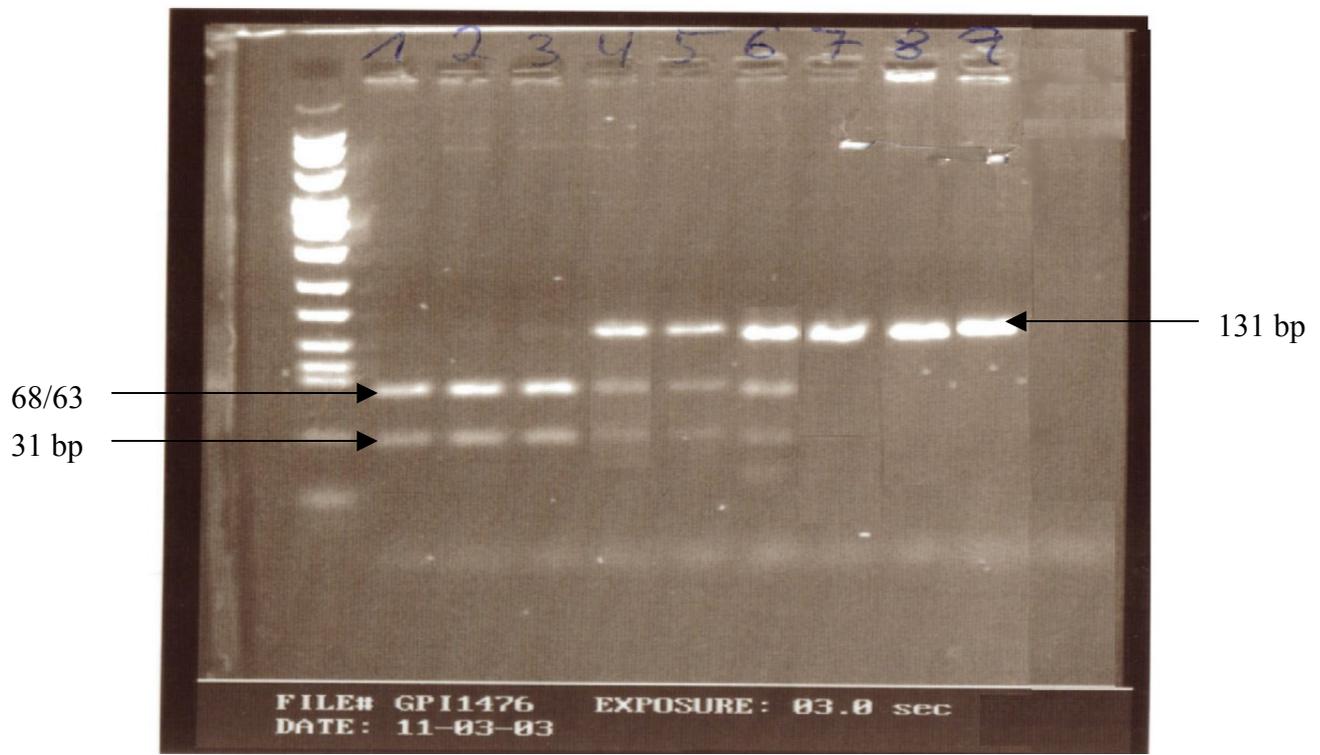


Abb.1 ADH1C Genotypisierung mittels PCR-RFLP Methode: Unbeschriftet (ungeschnittenes PCR Produkt); Linie 1-3 ADH1C*1-1; Linie 4-6 ADH1C*1-2; Linie 7-9 ADH1C*2-2 Genotyp.

2.2 Statistik

Die Auswertung erfolgte für jeden Gruppenvergleich in zwei Schritten. Im ersten wurde ein logistisches Regressionsmodell zur Vorhersage der Gruppenzugehörigkeit anhand der erhobenen Risikofaktoren Alter, Alkoholkonsum, Geschlecht, Rauchstatus, Zigarettenkonsum und Herkunft entwickelt. Um den Zusammenhang zwischen den stetigen Variablen Alter und Alkohol zu modellieren, wurden Fractional Polynomials verwendet. Mit einer schrittweisen Rückwärts-Selektion wurden alle einzelnen Variablen sowie alle Zweifach-Interaktionen untersucht und aus dem Modell ausgeschlossen, wenn der p-Wert größer als 0.01 war.

Im zweiten Auswertungsschritt wurde überprüft, ob die Variable ADH zusätzlich zu den Risikofaktoren einen Vorhersagebeitrag liefert. Dazu wurde sie den resultierenden Modellen hinzugefügt.

Die Umformung der Daten durch fractional polynomials wurde immer dann notwendig, wenn man mehrere kontinuierliche Variablen (Alter, Geschlecht, Gewicht) in einem multiplen Regressionsmodell als Gerade darstellen will und dabei nicht möchte, dass die einzelnen Effekte ihre eigene Aussagekraft verlieren, indem sie zusammengelegt werden. Die Erstellung einer Geraden ist dann nicht mehr möglich, wenn das Diagramm teilweise aus kontinuierlichen und auch nicht-kontinuierlichen Daten zusammengesetzt ist. In diesem Fall würden einem Wert unter Umständen mehrere andere Werte zugeordnet werden. Das Ergebnis wäre beispielsweise eine Parabel. Zur Umformung werden verschiedene Rechenoperationen benötigt, unter anderem werden die Daten logarithmiert und die Vorzeichen angeglichen. Dies nennt man das Modellieren zu fractional-polynomials (87;88). Für die tabellarische Darstellung unserer Ergebnisse wurden einerseits die Genotypfrequenzen als auch die Allelfrequenzen angegeben. Die Genotypfrequenz spiegelt dabei die Häufigkeit des Auftretens eines Gens in einer Bevölkerung wider, die Allelfrequenz hingegen die relative Häufigkeit der untersuchten Allele. Sie wird berechnet indem man die Anzahl der untersuchten Allele mit der Anzahl aller Allele vergleicht.

3. Ergebnisse:

In den einzelnen Gruppen zeigten sich folgende klinische Daten (**Tabelle 1**). Da die Gruppe der Kontrollprobanden zum Teil schlecht charakterisiert war (gesunde Patienten und hospitalisierte Patienten) und zum anderen der Anteil der aktiven Raucher und Trinker als auch das Alter signifikant unterschiedlich waren, wurde diese Gruppe nicht in die statistischen Berechnungen einbezogen, sondern lediglich als Vergleichskollektiv zur Bestimmung der Allelfrequenz in einer Normalbevölkerung genutzt.

Tabelle 1:

Klinische Daten der verschiedenen Patientengruppen. Die Werte für Alter und Alkohol sind als Mittelwerte \pm einer Standardabweichung angegeben. (alkoholassoziiert=alk.)

	Alter	Alkohol	Raucher			Geschlecht	
	Jahre	(g/Tag)	Ja	Ex-	Nein	männl.	weibl.
Alk. Pankreatitis (n=117)	49.1 \pm 10.5	134 \pm 132	89 (76.1%)	4 (3.4%)	24 (20.5%)	98 (83.7%)	19 (16.3%)
Alk. Leberzirrhose (n=217)	57 \pm 11.6	119 \pm 81	116 (53.5%)	15 (6.9%)	86 (39.6%)	143 (65.9%)	74 (34.1%)
Alk. Pankreatitis und Leberzirrhose (n=16)	52.6 \pm 11.8	150 \pm 124	7 (41.2%)	7 (41.2%)	3 (17.6%)	13 (76.5%)	4 (23.5%)
Alk. Ösophaguskarzinom (n=123)	62.9 \pm 9.6	118 \pm 93	89 (72.3%)	22 (17.9%)	12 (9.8%)	100 (81.3%)	23 (18.7%)
Alkoholranke (n=174)	52.5 \pm 11.6	164 \pm 130	118 (67.8%)	8 (4.6%)	48 (27.6%)	135 (77.4%)	39 (22.4%)
Kontrollen (n=206)	45.3 \pm 19.9	14 \pm 7	58 (28.1%)	17 (8.3%)	131 (63.6%)	100 (48.5%)	106 (51.5%)

Die Allelfrequenz und die Verteilung der Genotypen sind in **Tabelle 2** aufgelistet.

Tabelle 2:
Allelfrequenz und Verteilung des Genotyps der ADH1C in den verschiedenen Patientengruppen (in absoluten Zahlen und Prozent)

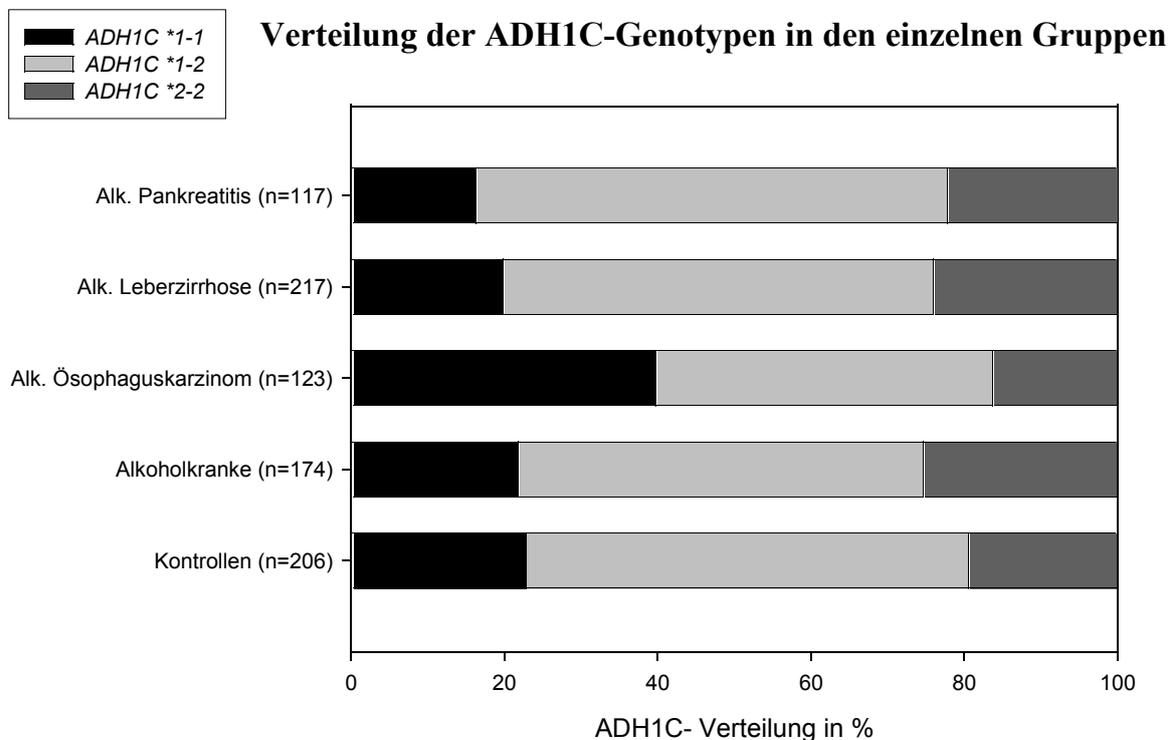
ADH1C	Genotypus			Allelfrequenz	
	*1-1	*1-2	*2-2	*1-1	*2-2
Alk. Pankreatitis (n=117)	19 (16.3%)	72 (61.5%)	26 (22.2%)	47%	53%
Alk. Leberzirrhose (n=217)	43 (19.8%)	122 (56.2%)	52 (24%)	47.9%	52.1%
Alk. Pankreatitis und Leberzirrhose (n=17)	3 (17.6%)	12 (70.6%)	2 (16.7%)	52.9%	47.1%
Alk. Ösophaguskarzinom (n=123)	49 (39.8%)	54 (43.9%)	20 (16.3%)	61.8%	38.2%
Alkoholranke (n=174)	38 (21.8%)	92 (52.9%)	44 (25.3%)	48.3%	51.7%
Kontrollen (n=206)	47 (22.8%)	119 (57.8%)	40 (19.4%)	51.7%	48.3%

Ziel der statistischen Berechnungen war es, Zusammenhänge zwischen Erkrankungsrisiko und verschiedenen kontinuierlichen Variablen der Patienten zu ermitteln. Dabei konnten einige Kollektive mit einfachen bzw. multiplen Regressionsmodellen verglichen werden, da dort lineare Zusammenhänge vorlagen. Bei anderen Subgruppen mussten die Daten zuerst zum direkten Vergleich linearer und nichtlinearer Daten mittels fractional polynomials modelliert werden, wie im Statistikeil des Kapitels „Material und Methoden“ bereits kurz beschrieben.

Als kontinuierliche Variablen wurden klinische Daten der Patienteneigenschaften, wie Alter, Geschlecht, Alkohol und Nikotinkonsum herangezogen (**Tabelle 1**). Schließlich wurde die Genotypverteilung und die Allelfrequenz der *ADH1C* bei den verschiedenen Kollektiven betrachtet (**Tabelle 2**). Es stellte sich bei Betrachtung der Verteilung und der Allelfrequenz heraus, dass die benignen Erkrankungen untereinander keine auffälligen Verteilungsmuster zeigten. Hingegen fielen signifikante Unterschiede zwischen den

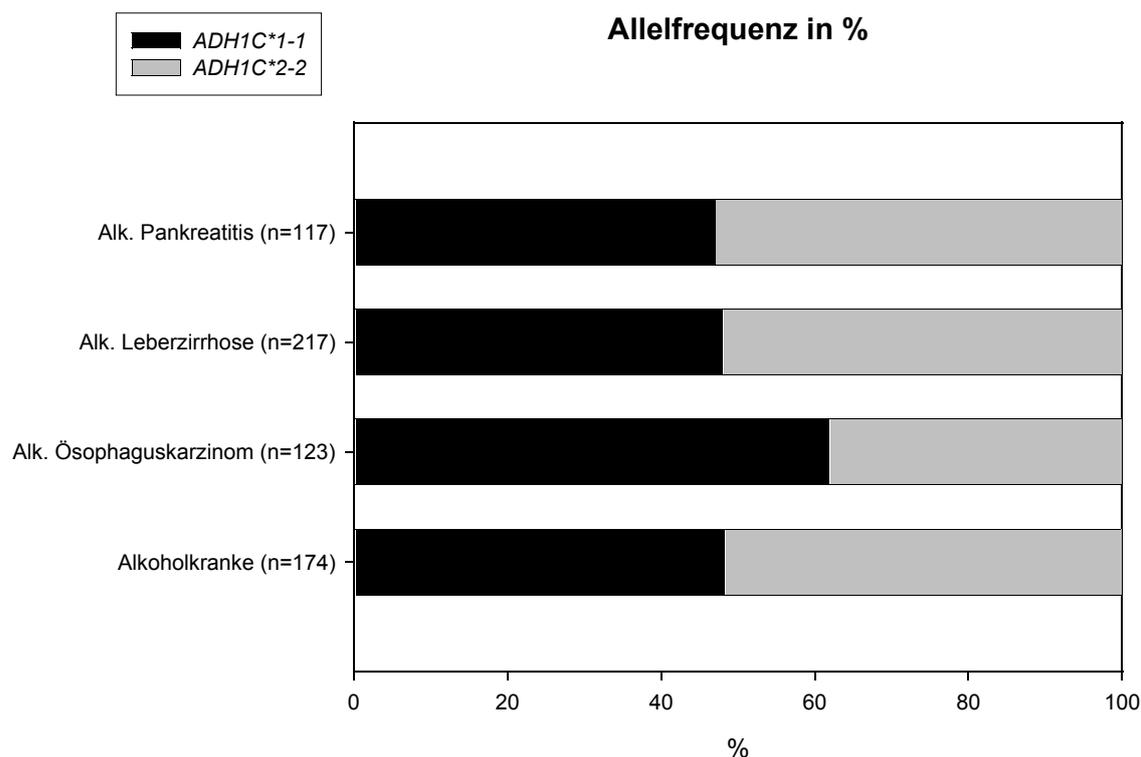
benignen alkoholassoziierten Krankheiten und dem Kollektiv mit Ösophaguskarzinomen auf (siehe Diagramm 1 und 2).

Diagramm 1:



<i>ADH1C</i>	Alk. Pankreatitis		Alk. Leberzirrhose		Alk. Ösophaguskarzinom		Alkoholranke	
	n=117	in %	n=217	in %	n=123	in %	n=174	in %
1C*1-1	19	(16.2)	43	(19.8)	49	(39.8)	38	(21.8)
1C*1-2	72	(61.5)	122	(56.2)	54	(43.9)	92	(52.9)
1C*2-2	26	(22.2)	52	(24.0)	20	(16.3)	44	25.3

Diagramm 2:



Allelfrequenzen	<i>ADH1C*1-1</i> in %	<i>ADH1C*2-2</i> in %
Alk. Pankreatitis	47	53
Alk. Leberzirrhose	47.9	52,1
Alk. Ösophaguskarzinom	61.8	38,2
Alkoholranke	48.3	51,7

Um diese Differenzen genauer spezifizieren zu können, wurden die Gruppen gezielt einzeln und später zusammen dem Kollektiv mit Ösophaguskarzinomen gegenübergestellt. Zuerst wurde die Gruppe mit ADH1C*1-1 gegenüber der mit ADH1C*1-2 und der ADH1C*2-2 in einem linearen Modell untersucht. Anschließend wurden die Patienten, die homozygot für die ADH1C*1-1 sind und somit das Enzym exprimieren, dessen Umsatzrate gegenüber der langsameren Variante um das 2.5-fache erhöht ist, in einem binären Vergleich untersucht (84). Das bedeutet, die Kollektive mit 1C*1-2 und 1C*2-2 wurden zu einer Einheit zusammengefasst und gemeinsam der Gruppe mit dem Allel 1C*1-1 gegenübergestellt.

Danach wurden wieder die Kollektive zuerst einzeln, später gemeinsam mit dem

Ösophaguskarzinom verglichen. Im Vergleich der Patienten mit ethyltoxischer Pankreatitis und denen mit Ösophaguskarzinomen fanden sich nun signifikantere Unterschiede sowohl im linearen Modell, welches der Verteilung der Allelfrequenzen entspricht, als auch im binären Modell, wobei der ADH1C*1-1 Polymorphismus im Kollektiv der Ösophaguskarzinome auffallend häufig auftrat. Die Odds Ratio (OR, siehe Abkürzungsverzeichnis) belegte im linearen Modell eine Erhöhung des relativen Risikos um den Faktor 2,23 bei einem p-Wert von 0,0015 (0,15%) und einem 95% Konfidenzintervall von 1,36 – 3,67. Im binären Modell war eine Erhöhung des relativen Risikos um den Faktor 4,61 bei einem p-Wert von 0,0002 (0,02%) und einem 95% Konfidenzintervall von 2,06-10,27 festzustellen.

Im direkten Vergleich der beiden Kollektive ethyltoxischer Leberzirrhose mit ethyltoxischem Ösophaguskarzinom waren die gefundenen Werte ähnlich (lineares Modell OR 1,81, p-Wert 0,0018 (0,18%), 95% Konfidenzintervall {1,25–2,63}; binäres Modell OR 2,96, p-Wert 0,0001 (0,01%), 95% Konfidenzintervall {1,69-5,17}).

Ähnlich verhielt es sich beim Vergleich zwischen der Gruppe mit Alkoholkranken und der mit ethyltoxischem Ösophaguskarzinom (lineares Modell OR 1,75, p-Wert 0,0048 (0,48%), 95% Konfidenzintervall {1,19 –2,59}; binäres Modell OR 2,45, p-Wert 0,0029 (0,29%), 95% Konfidenzintervall {1,38–4,21}).

Betrachtete man alle benignen alkoholassozierten Erkrankungen zusammen im Vergleich mit dem ethyltoxischen Ösophaguskarzinom, so bestätigten sich diese Ergebnisse. Demnach betrug im linearen Modell die OR 1,9 ($p < 0,0001$ (0,01%), 95% Konfidenzintervall {1,37–2,64}), und im binären Modell OR 2,93 ($p < 0,0001$ (0,01%), 95% Konfidenzintervall {1,84–4,67}).

Nach diesen Ergebnissen besteht für die Träger des ADH1C*1-1 Polymorphismus, die einen Alkoholkonsum von mehr als 40 Gramm/Tag betreiben, offensichtlich ein ca. 2,5 bis 4,6-fach erhöhtes Risiko an einem Ösophaguskarzinom erkranken. Diese Ergebnisse sind tabellarisch in Tabelle 3 und 4 zusammengefasst. Die in Diagramm 1 und 2 offensichtlichen Unterschiede vom Ösophaguskarzinom gegenüber den anderen Erkrankungen sind somit alle hochsignifikant. Zwischen den einzelnen benignen Erkrankungen fanden sich keine signifikanten Unterschiede.

Innerhalb unseres Ösophaguskarzinom-Kollektivs war für eine aussagekräftige statistische Analyse die Menge an Patienten mit Adenokarzinomen nicht ausreichend. Daher wurde keine histologisch getrennte Berechnung durchgeführt.

Allerdings verliefen die Verteilungsmuster der Polymorphismen bei Patienten mit Plattenepithel und Adenokarzinom sehr ähnlich. Bei einer Anzahl von $n=90$ Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom waren regelrechte Berechnungen wie oben bereits angeführt möglich. Auch in dieser reduzierten Zahl besaß dieses Kollektiv allein eine signifikant erhöhte Allelfrequenz für das Isoenzym ADH1C*1-1.

Im direkten Vergleich der einzelnen Gruppen untereinander zeigten sich weitere Faktoren, die unterschiedlich waren. So fand sich bei Patienten mit alkoholischer Pankreatitis und denen mit Ösophaguskarzinom sich ein direkter linearer Zusammenhang mit dem Alter der Patienten (p -Wert $<0,0001$ ($<0,01\%$); OR 1,137; 95% Konfidenzintervall: [1,10;1,17]).

Beim Vergleich des Kollektivs mit einer ethyltoxischen Leberzirrhose gegenüber dem mit einem Ösophaguskarzinom wurden ebenfalls signifikante Variablen entdeckt, die mittels fractional polynomials umgewandelt wurden und dann direkte Zusammenhänge zwischen dem Alter, dem Geschlecht und dem Nikotinkonsum belegten (siehe Kapitel „Material und Methoden, Statistik“).

Daraus konnten wir ableiten, dass alte, männliche und rauchende Patienten mit einer höheren Wahrscheinlichkeit an einem ethyltoxischen Ösophaguskarzinom erkranken als an einer ethyltoxischen Leberzirrhose (Alter: OR 0,57, p -Wert $<0,0001$ ($<0,01\%$), 95% Konfidenzintervall {0,46-0,72}, Rauchen: OR 0,58, p -Wert $<0,0001$ ($<0,01\%$) 95% Konfidenzintervall {0,46-0,74}, Geschlecht OR 0,41, p -Wert 0,0022 (0,22%) 95% Konfidenzintervall {0,23-0,73}).

Im direkten Vergleich der Gruppe der Alkoholkranken mit dem Kollektiv der Ösophaguskarzinompatienten wurden ebenfalls fractional polynomials verwendet und es fiel auf, dass ein erhöhtes Lebensalter auch hier die Entwicklung eines Ösophaguskarzinoms begünstigt (Alter: OR=0,45 p -Wert $<0,0001$ ($<0,01\%$), 95% Konfidenzintervall {0,36-0,57}).

Analog dazu haben wir alle benignen, ethanolassozierten Erkrankungen dem Kollektiv der Malignen gegenübergestellt. Das Ergebnis war unverändert. Diese Stabilität betont die Signifikanz und Validität dieser Unterschiede in den Variablen der verschiedenen Patientenuntergruppen. Hauptaufgabe dieser Studie war es aber herauszufinden, ob die genetischen Polymorphismen der ADH1C einen zusätzlichen Einfluss haben auf die Entwicklung ethanoltoxischer Erkrankungen. Oben angeführte Daten bezüglich der signifikanten Unterschiede im Verteilungsmuster der Polymorphismen der ADH1C waren (wie im Statistikeil erwähnt) jeweils multivariater Natur, so dass die oben angeführten

Unterschiede bezüglich Alter und Nikotin dieses Ergebnis nicht beeinflusst haben. Somit konnten wir erstmals zeigen, dass die ADH1C*1-1 unter starken Trinkern unter Berücksichtigung aller angeführten Variablen einen signifikanten, eigenen Risikofaktor darstellt, an einem Ösophaguskarzinom zu erkranken.

Tabelle 3:
Zusammenstellung der genetischen Unterschiede der benignen alkoholassozierten (alk.) Erkrankungen und dem Ösophaguskarzinom (binärer Vergleich, Standard error=S.E.)

Alk. Pankreatitis vs. alk. Ösophaguskarzinom				
ADH1C*1-1	S.E.	p-Wert (%)	OR	95% Konfidenzintervall
	0,41	0,0002 (0,02)	4,61	2,07-10,27
Alk. Leberzirrhose vs. alk. Ösophaguskarzinom				
ADH1C*1-1	S.E.	p-Wert (%)	OR	95% Konfidenzintervall
	0,29	0,0001 (0,01)	2,96	1,69-5,18
Alkoholranke vs. alk. Ösophaguskarzinom				
ADH1C*1-1	S.E.	p-Wert (%)	OR	95% Konfidenzintervall
	0,301	0,0029 (0,29)	2,45	1,36-4,42
Alle benignen alkoholassozierten Erkrankungen vs. alk. Ösophaguskarzinom				
ADH1C*1-1	S.E.	p-Wert (%)	OR	95% Konfidenzintervall
	0,24	<0,0001 (<0,01)	2,93	1,84-4,67

Tabelle 4:
Zusammenstellung der genetischen Unterschiede der benignen alkoholassozierten (alk.) Erkrankungen und dem Ösophaguskarzinom (linearer Vergleich, Standard error=S.E.)

Alk. Pankreatitis vs. alk. Ösophaguskarzinom				
ADH1C*1-1	S.E.	p-Wert (%)	OR	95% Konfidenzintervall
	0,25	0,0015 (0,15)	2,23	1,36-3,67
Alk. Leberzirrhose vs. alk. Ösophaguskarzinom				
ADH1C*1-1	S.E.	p-Wert (%)	OR	95% Konfidenzintervall
	0,19	0,0018 (0,18)	1,81	1,25-2,63
Alkoholranke vs. alk. Ösophaguskarzinom				
ADH1C*1-1	S.E.	p-Wert (%)	OR	95% Konfidenzintervall
	0,2	0,0048 (0,48)	1,76	1,19-2,59
Alle benignen alkoholassozierten Erkrankungen vs. alk. Ösophaguskarzinom				
ADH1C*1-1	S.E.	p-Wert (%)	OR	95% Konfidenzintervall
	0,17	<0,0001 (<0,01)	1,90	1,37-2,64

4. Diskussion:

Chronischer Alkoholabusus ist verantwortlich für eine Vielzahl von Erkrankungen. Die Mechanismen, mit denen dieser übermäßige Konsum den Organismus schädigt, sind jedoch noch immer weitgehend unklar. Aus den in der Einleitung aufgeführten Erläuterungen ergibt sich eine zunehmende Evidenz dafür, dass ein Großteil der ethanoltoxischen Pathogenese zu einem beträchtlichen Anteil durch Azetaldehyd, dem ersten Metabolit von Alkohol, vermittelt wird. Dies betrifft vorwiegend Pathomechanismen für die alkoholassoziierte Karzinogenese, die Daten für alkoholassoziierte, benigne Erkrankungen sind weniger überzeugend.

Wir konnten in der vorliegenden Arbeit zeigen, dass der schnell metabolisierende Typ der ADH1C, die ADH1C*1-1, die aufgrund ihrer erhöhten Umsatzgeschwindigkeit zu einer intrazellulären Akkumulation von Azetaldehyd führen kann, mit dem Auftreten eines ethanoltoxischen Ösophaguskarzinoms assoziiert ist.

Diese Hypothese soll in den nachfolgenden Kapiteln im Kontext der bisherigen Studien und den gängigen pathogenetischen Modellen der einzelnen untersuchten alkoholassoziierten Erkrankungen dargestellt und unter besonderer Berücksichtigung der Rolle von Azetaldehyd diskutiert werden.

4.1.1 Azetaldehyd und die ethyltoxische Pankreatitis

Es existieren drei Haupttheorien zur Pathogenese der alkoholischen Pankreatitis.

Die sogenannte „Big-duct“- und „Small-duct“-Theorie, die eine Obstruktion der Ausführungsgänge des Pankreas als ursächlich beschreibt, sowie eine Theorie, welche einen direkt toxischen Effekt durch Alkohol auf das Gewebe des Pankreas als Genese postuliert.

Die meisten Theorien gehen davon aus, dass die proteolytischen Enzyme, wie Trypsin, Elastase, Chymotrypsin und Lipase verfrüht aktiviert werden und zur Autolyse des Pankreasgewebes führen.

Die Frage wie und wo genau innerhalb des Pankreas diese zu frühe Aktivierung nun geschehen kann, ist jedoch ungeklärt.

Ältere Erklärungsmodelle der alkoholischen Pankreatitis machten einen Verschluss kleiner Gänge durch Präzipitationen von Proteinen (Small-duct-Theorie) bzw. einen Verschluss der großen Gänge mittels Pankreassteinen (Big-duct-Theorie) dafür verantwortlich (89-92).

Diese Theorien gelten inzwischen eher als veraltet.

Man konzentriert sich nun vielmehr auf die Rolle der Toxizität des Alkohols, des Alkoholmetabolismus, sowie des ersten Metaboliten, Azetaldehyd. Es fanden sich gravierende Veränderungen im oxidativen Zellstoffwechsel der Azinuszellen des Pankreas, welche ADH exprimieren. Dort entsteht durch eine zu große Menge metabolisierten Alkohols oxidativer Stress durch ein Ungleichgewicht an Anti-Oxidantien und Radikalen bzw. reaktiven Sauerstoffmetaboliten, wodurch Zellmembranen und DNA angegriffen werden können (91;93).

Zusätzlich führt dies zu einer erniedrigten NAD/NADH Ratio, welches das Redox-Potential einer Zelle reduziert. Daraufhin werden mehr anaerobe Prozesse durchgeführt (Produktion von Laktat in der Glykolyse) und viele Veränderungen des intrazellulären Milieus herbeigeführt.

Weitere Studien fanden heraus, dass nicht nur die Azinuszellen dazu befähigt sind ADH zu exprimieren, sondern dass auch die Pankreas Stammzellen, die letztendlich für die Fibrosierung des Pankreas verantwortlich sind, ebenfalls ADH produzieren (94).

Wilson et al konnten dennoch keinen Zusammenhang zwischen der alkoholtoxischen Pankreatitis und den Polymorphismen der ADH1C beschreiben. Auch der ebenfalls untersuchte non-oxidative Stoffwechselweg über die CYP2E1 war nach deren Meinung nicht signifikant an der Genese beteiligt.

Stattdessen erhoben sie den Verdacht auf einen zusätzlichen non-oxidativen Abbauweg, der Fettsäureacyl-ester-Synthasen und deren Polymorphismen umfasst (93).

Andere Theorien beinhalten Zusammenhänge zwischen Cholecystokinin und einer inflammatorischen Start-Sequenz, die zu einer Selbstverdauung und Fibrosierung mit den oben angeführten Verdauungs-Enzymen führt (95).

Saluja et al fanden passend dazu heraus, dass eine wiederholte Stimulation durch Alkohol den Plasma Cholezystokinin-Spiegel erhöht (96).

Vermutungen über Infektionen mit Coxsackie Viren oder Mutationen am CFTR- Gen-Lokus (Cystische Fibrose-Transmembran-Conductor-Gen) sind ebenfalls momentan Gegenstand der Forschungsbemühungen, eine Ursache für die ethanolassoziierte Pankreatitis zu finden (29;97).

Inzwischen gibt es damit eine ganze Reihe unterschiedlichster Erklärungsmodelle. Dies zeigt auch die Komplexität der chronischen alkoholischen Pankreatitis. Möglicherweise ist nicht ein einzelner Prozess, sondern eine Vielzahl für die Genese verantwortlich.

Ob ein einzelner davon dabei eine besondere Rolle spielt, ist aber weiterhin unklar (90;91;98). Zusammenfassend ist die Pathogenese der alkoholischen Pankreatitis vielschichtig und Azetaldehyd scheint nur ein Bestandteil unter vielen zu sein.

4.1.2 Azetaldehyd und die ethyltoxische Leberzirrhose

Die Entwicklung einer alkoholischen Leberzirrhose ist ein komplexer Prozess in dem NADH und NADPH verbrauchende Prozesse eine wesentliche Rolle spielen.

Diese werden im Zitratzyklus, in der Glukoneogenese und in der Fettsäureoxidation hergestellt (19).

Diese Produktion unterliegt der in der Biochemie häufig angewendeten Produkthemmung, das heißt, das fertige Produkt hemmt seine eigene Herstellung durch die dafür nötigen Substrate.

Alkohol greift insofern ungünstig in diesen Regelkreis ein, als dass bei seinem Abbau vermehrt NADH und NADPH gebildet wird. Die daraus resultierende Anflut an NADH und NADPH überlastet den Hepatozyten und initiiert eine Drosselung der Glukoneogenese des Citratcyclus. Besonders interessant in Hinsicht auf die Entwicklung einer Fettleber ist die zusätzliche Absenkung der β -Oxidation von Fettsäuren, verbunden mit einer gesteigerten Triglycerid-Produktion. Zusätzlich werden vermehrt Chylomikronen im Darm aufgenommen und die Lipoproteinsekretion vermindert. Dies begünstigt die Entwicklung einer Fettleber (34;37;99;100).

Durch das gesteigerte Angebot an NADH wird die Produktion von Laktat aus Pyruvat im Rahmen einer vermehrten Glykolyse erhöht. Bedingt durch das vermehrte Laktat werden wiederum Stammzellen zu Myofibroblasten umgewandelt, die Kollagen produzieren, was zur Fibrose führt (19).

Dies geschieht vornehmlich an Orten, die eine erhöhte NADH/NAD⁺ Ratio und eine erhöhte Stoffwechselaktivität aufweisen.

In der Leber beginnt deshalb die Fibrosierung perivenulär an den Zentralvenen, die schließlich zur Zirrhose führt (101).

Die exakten Mechanismen mit deren Hilfe Alkohol nun die Leber schädigt, sind noch nicht genau bekannt. Sie basieren aber wohl auf dem metabolischen Prozess zur Entgiftung des Alkohols, der ein Ungleichgewicht zwischen Oxidations- und Reduktionsmitteln und die Bildung von freien Radikalen herbeiführt. Diese werden zum einen durch die bereits

erwähnte CYP2E1, als auch durch die Glutathion-S-Transferase oder Apolipoprotein E erzeugt (22).

Alkohol schädigt auf mehreren Wegen den Hepatozyten. Dabei geht man von einer direkt schädigenden Wirkung sowie von einer durch Alkohol verbundenen Induktion der CYP2E1 aus. Dies könnte nach Lieber gleichzeitig als Erklärungsmodell für die Hepatotoxizität einiger CYP2E1 induzierender Xenobiotika dienen (19).

Damit einhergehend verändert sich auch das intrazelluläre Milieu mit der Ausbildung einer Laktatazidose als Folge.

Zusätzlich werden metabolische Veränderungen herbeigeführt, welche zu einer Hyperuricämie, Hyper- oder Hypoglykämie, Ketose und durch Veränderung des Fettstoffwechsels zu einer Fettleber führt. Bei anhaltender Konfrontation mit der Noxe Alkohol mündet diese schließlich in einer Fibrose.

In der Übersichtsarbeit von Brooks von 1997 wurden die hierauf bezogenen durchgeführten Studien näher untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass unter anderem auch Azetaldehyd aufgrund seiner bekannten hochreaktiven Eigenschaften als potentiell direkt schädigendes Agens möglich wäre (58).

Eine solche direkt toxische Schädigung durch Azetaldehyd konnte jedoch tierexperimentell noch nicht belegt werden (102).

Neuere Studien distanzieren sich hingegen von der direkt toxischen Rolle des Azetaldehyds in der Genese der alkoholischen Leberzirrhose. Der Grund dafür mag in den kontroversen Ergebnissen der bisherigen statistischen Studien liegen, die schließlich keine einheitliche Schlussfolgerung zulassen (22;103;104).

Neuere Theorien beziehen auch die Mangan Superoxid-Dismutase ein. Dieses Enzym wird für verschiedenste DNA Reparaturvorgänge benötigt und eine Aktivitätsminderung führt zu einer Zunahme von Ablesefehlern mit konsekutiven DNA Schädigungen. Degoul et al fanden heraus, dass es zumindest einen statistischen Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer genetischen Variation der codierenden Sequenz für die Mangan-Superoxid-Dismutase und einer fortgeschrittenen alkoholtoxischen Leberschädigung gibt.

Dies belegt, dass ein Zusammenhang zwischen vermehrtem oxidativem Stress und einer fortgeschrittenen ethyltoxischen Lebererkrankung existiert. Grund dafür ist eine Homozygotie für Alanin im codierenden Abschnitt der Dismutase. Dadurch bedingt wird

das Enzym verringert exprimiert und die Fähigkeit oxidierende Radikale zu beseitigen abgeschwächt (105).

Neuere Studien berichten von Verknüpfungen zwischen TGF-Alpha und der ethyltoxischen Leberzirrhose. Diese Ergebnisse müssen aber erst durch weiterführende klinische und tierexperimentelle Studien bestätigt werden (106).

Zusammenfassend scheinen in Analogie zur Pathogenese der alkoholischen Pankreatitis hier eine Vielzahl an Prozessen an der alkoholischen Leberschädigung beteiligt zu sein. Auch hier finden sich Belege dafür, dass Azetaldehyd nur ein Faktor unter vielen anderen zu sein scheint (107).

4.1.3 Azetaldehyd und das ethyltoxische Ösophaguskarzinom

Bei der Entstehung des Ösophaguskarzinoms spielen sowohl lokale als auch systemische Prozesse eine wichtige Rolle.

Durch direkten Kontakt der Mukosa mit Ethanol gehen Zellen zugrunde, da Ethanol ab einer Konzentration von 20% direkt zellschädigend ist, was zu einer erhöhten Regenerationsrate mit Hyperproliferation und Mutationen führt (108-110).

Längere Hyperproliferationen, wie sie aus einem chronischen Alkoholkonsum resultieren würden, stellen eine bekannte Präkanzerose dar (111).

Zudem kommt es in der Schleimhaut des Ösophagus nach Alkoholkonsum zu einer Enzyminduktion der mischfunktionellen Oxygenase Cytochrom P450 2E1, was zu einer Bildung von freien Radikalen führt. Dies wurde bereits im Tiermodell von Eskelson et al als ein karzinogener Mechanismus beschrieben. In seiner Studie wurde nachgewiesen, dass chronischer Alkoholkonsum die durch N-Nitrosomethylbenzamin (NMBA) induzierbare Karzinogenese steigert und dies wiederum durch Hinzugabe eines geeigneten Radikalfängers unterbunden werden kann (51).

Im Gegensatz zur Leberzirrhose und der Pankreatitis gibt es allerdings überzeugende experimentelle Evidenz dafür, dass ein Großteil der schädlichen und im Tiermodell belegten karzinogenen Wirkung von Alkohol nicht durch diesen selbst, sondern durch seinen Metaboliten Azetaldehyd vermittelt wird.

Nach Alkoholgabe können insbesondere im oberen Gastrointestinaltrakt sowohl intraluminal als auch intrazellulär hohe Spiegel von Azetaldehyd entstehen. Dieser lokale Konzentrationsanstieg wird dabei durch mehrere Faktoren hervorgerufen.

4. Diskussion

- 35 -

In der Studie von Feron et al zur Feststellung der Toxizität und Rolle des Azetaldehyds in Malignomen des Atemtrakts wurde im Rauch von Zigaretten Azetaldehyd in relativ hohen Konzentrationen gefunden. Dies wird als eine sehr wichtige Ursache für die Zytotoxizität des Zigarettenrauches gehalten (56).

Eine weitere Möglichkeit der lokalen Azetaldehydakkumulation wird in einer ungleichmäßigen ADH/ALDH-Expression der Gewebe gesehen. Dazu existieren ebenfalls bereits Studien, deren Ergebnisse belegen, dass die enzymatische Aktivität und phänotypische Ausprägung tatsächlich differiert. Dabei fällt auf, dass die ADH im Ösophagus in viermal höherer phänotypischer Ausprägung, und die ALDH nur zu 1/5 ihrer Expression, verglichen mit der im Magen vorliegt. Daraus lässt sich ableiten, dass es bereits dadurch zu einer Anreicherung von Azetaldehyd in diesem Bereich kommen kann (75;112;113).

Zudem haben Homann et al. eine lokale mikrobielle Produktion von Azetaldehyd im menschlichen Speichel und Darm beschrieben, die eine zusätzliche Akkumulation von Azetaldehyd verursacht (109;114).

Ein weiterer Punkt ist der bereits mehrfach erwähnte genetische Polymorphismus der ADH und ALDH. Insbesondere die defiziente ALDH2, die zu einer hohen Akkumulation von Azetaldehyd nach Alkoholabusus führt, ist einer der stärksten Risikofaktoren, das Krebsrisiko im Ösophagus nach Alkoholgabe zu steigern.

Zusammenfassend gibt es umfassende Evidenz dafür, dass Azetaldehyd einen sehr wesentlichen pathogenetischen Mechanismus in der alkoholassozierten Karzinogenese darstellt.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass Patienten mit der ADH1C1, dem schnell metabolisierenden Polymorphismus der ADH, im Vergleich zu den anderen untersuchten Kollektiven ein erhöhtes Risiko für ein Ösophaguskarzinom aufweisen. Studien für das Ösophaguskarzinom existierten bisher noch nicht, allerdings wurden bisher acht Studien an den ätiologisch verwandten Tumoren des HNO-Traktes durchgeführt, wobei in sechs dieser Studien kein Zusammenhang nachweisbar war. Im nächsten Kapitel werden wir diese und andere Studien zur alkoholischen Pankreatitis und Leberzirrhose mit unserer Arbeit vergleichen.

4.2 Vergleich mit anderen Studien

Zur Klärung der Rolle der ADH1C und ihrer Varianten in der Entstehung von alkoholassozierten Krankheiten sind eine Vielzahl an Studien durchgeführt worden. Einige davon, die sich mit der alkoholtoxischen Leberzirrhose beschäftigten, postulieren einen Zusammenhang zwischen einem genetischen Polymorphismus der ADH1C bzw. der ALDH2 mit der Bildung freier Radikale und einer konsekutiven Leberschädigung bei Alkoholikern (22). Nach der Studie von Frenzer prädisponiert die ADH1C*2-2 zu einer ethyltoxischen Leberzirrhose. In der Studie von Kim wird dies nicht mehr nachvollzogen (115).

Limitierend für die Aussagefähigkeit beider Studien ist aber deren auffallend niedrige Patientenzahl, von n=57 (bei Frenzer), bzw. n=22 (bei Kim). Zudem würde eine Metabolisation über die langsame ADH1C*2-2 eher einen niedrigen Azetaldehydspiegel bedingen. Frenzer vermutet, dass eine Umstrukturierung im Sinne von Stoffwechsel-Kollateralkreisläufen die CYP2E1 stärker miteinbeziehen würde und dies zusätzlich als Ursache für die Entwicklung der alkoholischen Leberzirrhose anzusehen sei (22;115).

Die größte Studie, die sich mit dieser Fragestellung beschäftigt hat, ist die von Borrás.

In dieser Multicenter-Studie, die über 800 Individuen einschloss, wurde alkoholkranken Europäern aus verschiedenen Ländern Blutproben entnommen und ihr ADH Genotyp bestimmt. Speziell auf die Frage, ob eine alkoholtoxische Leberzirrhose mit dem Polymorphismus ADH1C*1-1 assoziiert ist, konnte hier genau eingegangen werden. Das Ergebnis belegte, dass auch bei einer genügend großen Zahl an Probanden keine signifikante Häufung an Krankheitsfällen bei Trägern der ADH1C*1-1 zu finden war (104).

Dies lässt die Rolle der ADH bei der Genese der alkoholischen Leberzirrhose eher kleiner erscheinen.

Genetische Polymorphismen der ADH und der CYP2E1 wurden auch für die Genese der ethyltoxischen Pankreatitis verantwortlich gemacht und wurden daraufhin untersucht (115).

Die Ergebnisse der Wilson Studie von 2003, von Kim 2004 sowie der Frenzer Studie von 2002 erbrachten ähnlich wie unsere Untersuchungen der genetischen Polymorphismen keine signifikante Verteilung der Allelfrequenz der ADH1C oder einer ihrer Isoenzyme bei Patienten mit einer alkoholischen Pankreatitis (22;93;115).

4. Diskussion

- 37 -

Jedoch ist die Pathogenese bei diesen Erkrankungen noch uneindeutiger als bei den malignen Erkrankungen, weshalb dort auch noch erheblicher Forschungsbedarf besteht. Nach der derzeitigen Studienlage gibt es zusammenfassend keine Evidenz dafür, dass ADH1C-Polymorphismen das Erkrankungsrisiko bei den benignen ethylasoziierten Erkrankungen verändern (22;93).

In Einklang dazu konnten wir in unserer Studie bei den benignen ethyltoxischen Erkrankungen auch keine signifikanten Unterschiede in der ADH Verteilung feststellen.

Daher wird in dieser Diskussion vermehrt den Studien mehr Aufmerksamkeit gewidmet, die sich mit den Zusammenhängen zwischen einem Malignom und der Rolle der ADH1C*1-1 beschäftigt haben und die benignen alkoholassozierten Erkrankungen außen vor ließen.

In der Studie von Freudenheim wurde nach einer Rolle der ADH1C in der Entstehung des Mammakarzinoms gesucht (116). Es wurde hier die Verteilung der ADH1C-Polymorphismen in einem Kollektiv untersucht, welches einen ähnlich hohen Alkoholkonsum wie in unserer Studie betrieben hat.

Dort wurde der ADH1C*1-1 eine signifikante Rolle in der Karzinogenese zugeschrieben.

In der Studie von Harty (2) und Coutelle fanden sich ähnliche Ergebnisse wie bei uns (26). Hierin wurde eine ähnliche positive Korrelation der ADH1C*1-1 mit einem Karzinom im oberen GI-Trakt beobachtet. Außerdem wurde dort das Kontrollkollektiv ebenfalls aus Patienten gebildet, die eine erhebliche Menge Alkohol (mehr als 100 Gramm/Tag) über mindestens zehn Jahre getrunken haben.

Die Anzahl der Patienten, die in dieser Studie untersucht wurde war leider relativ gering (n=39). Inzwischen weiß man auch, dass es regionale Unterschiede in der genetischen Verteilung der ADH gibt, sodass die Aussagekraft einiger Studien teilweise dadurch erheblich gelitten hat. Coutelles Studie fand in Frankreich statt, Harty führte eine Studie in Puerto Rico durch. Ein Land mit der höchsten Rate an Larynx und Pharynxkarzinomen auf der Welt. Harty konnte zeigen, dass auch die Art und Menge des konsumierten Alkohols in der Genese der untersuchten Malignome eine Rolle spielen. Es fiel auf, dass insbesondere bei sehr stark trinkenden Patienten eine Steigerung des relativen Risikos zu verzeichnen war. Dieser Trend konnte auch in der Studie von Peters nachvollzogen werden (117).

Peters sammelte Daten von 599 Patienten mit Karzinomen im Kopf und Halsbereich und untersuchte mögliche Zusammenhänge zur ADH1C*1-1. Es fand sich zwar keine

4. Diskussion

- 38 -

signifikant häufigere Ausprägung der schneller metabolisierenden ADH bei diesen Patienten, aber ein eindeutiger Anstieg des relativen Risikos bei Konsum von mehr als 30 Getränken pro Woche.

Diesen Ergebnissen stehen mehrere Studien entgegen, die eine begünstigende Rolle der ADH1C*1-1 bei der Entstehung von alkoholischen Karzinomen im oberen Gastrointestinal Trakt nicht nachvollziehen konnten (25;69;118-120).

Mehrere Faktoren sind dafür verantwortlich, dass diese widersprüchlichen Ergebnisse entstanden sind.

In der Bouchardy Studie wurden Patienten mit Pharyngealkarzinom und Patienten mit Laryngealkarzinom mit einer Kontrollgruppe verglichen, die vollkommen abstinent von Alkohol waren.

Es muss hervorgehoben werden, dass die Frequenzen der ADH1C-Polymorphsimen bereits in der Kontrollgruppe sehr untypisch verteilt waren und signifikante Differenzen in den untersuchten kranken Kollektiven kaum mehr möglich waren. Die Anzahl der Kontrollpatienten mit dem Genotyp *IC*1-1* war ungleich höher als in anderen, sie glich beinahe der Allelfrequenz unserer Krebspatienten. Zudem wurden Patienten mit Lebererkrankungen von der Studie ausgenommen, obwohl diese Erkrankungen sehr häufig mit chronischem Alkoholabusus assoziiert sind. Gleichzeitig mussten die Patienten einen Nikotinabusus vorweisen können, um aufgenommen zu werden.

Die genetischen Polymorphismen der ADH1C*1-1 werden innerhalb Europas verschieden häufig exprimiert. In Südfrankreich, wo diese Studie die meisten ihrer Daten erhoben hat, ist bereits eine Häufung der ADH1C*1-1 Allelfrequenz beschrieben, sodass sich ein neuer Schwerpunkt nur erschwert nachweisen ließ.

Ähnliches könnte auch auf die Studie von Olshan, die in North Carolina beziehungsweise für die Studie von Sturgis, die in Texas durchgeführt wurde, zutreffen (69;119).

Die ethnische Zusammensetzung der North Carolina Studie ist nicht genau spezifiziert, aber es scheint sich dort um ein stark gemischtes Kollektiv zu handeln. Beiden Studien ist jedoch gemein, dass sie eine relativ hohe ADH1C*1-1 Frequenz in der Gruppe der an Larynx- bzw. Pharynx-karzinom erkrankten Personen aufweisen (62%, bzw. 57,4%).

Schwartz hat in seine Studie nur eine relativ geringe Anzahl an chronisch Alkohol trinkenden Patienten aufgenommen, nur sehr wenige (15,3%) tranken mehr als 26.3 Gramm Alkohol/Tag, sodass ein direkter Vergleich nicht sehr repräsentativ ist (120).

4. Diskussion

- 39 -

Sturgis konnte leider gar keine Information hinsichtlich des Trinkverhaltens seiner Patienten angeben. Zusätzlich wurde der synergistische Effekt des gleichzeitigen Nikotinkonsums in diesen Studien überhaupt nicht beachtet.

In einer Meta-Analyse, durchgeführt von Brennan wurde jedoch eine interessante Entdeckung gemacht, die alle bisherigen Studien miteinander verband.

Trotz aller Unterschiede hinsichtlich des Studiendesigns konnte gezeigt werden, dass ab einer gewissen täglich konsumierten Alkoholmenge die *ADH1C*1-1* einen signifikanten Effekt brachte. Zwar fielen einige Studien wieder heraus, da zum Teil ungenügend präzise Angaben hinsichtlich des Alkoholkonsums der beteiligten Personen gemacht wurden, dennoch gab es insgesamt genug Informationen, um eine positive Korrelation mit der *ADH1C*1-1* und dem Auftreten eines HNO-Karzinoms ab einem Schwellenwert von 60 Gramm Alkohol/Tag belegen zu können (121). Dies stützt unser gewähltes Konzept, nach dem wir nur eine stark Alkohol konsumierende Population in unser Kollektiv mit Karzinom-Patienten aufgenommen und untersucht haben. Mit einem mittleren täglichen Alkoholkonsum zwischen 100 und 140 Gramm/Tag prädisponiert die *ADH1C*1-1* Verteilung demnach für ein Ösophaguskarzinom. Dieses gewählte Design unterscheidet unsere Arbeit beträchtlich von den vorbeschriebenen Studien. Man kann sagen, dass die meisten Studien Vergleiche mit nicht-alkoholkranken Kontrollen durchführten. Dabei sind gerade Alkoholranke ohne begleitende ethanoltoxische Krankheiten in einer Studie, in der es um alkoholassoziierte Krankheiten geht, unserer Meinung nach die Entscheidende.

Möglicherweise führt die 2.5-fach erhöhte Umsetzungsgeschwindigkeit von Alkohol zu Azetaldehyd durch die *ADH1C*1-1* nur bei entsprechend hohem Alkoholkonsum zur Erhöhung des relativen Risikos. Dies könnte den Unterschied zwischen den Studien von Harty und unserer sowie den dargestellten anderen Studien erklären.

Zusätzlich fällt bereits auf, dass alle bisherigen Studien das Ösophaguskarzinom nicht miteinbezogen haben. Unsere Arbeit ist die weltweit erste, die die Rolle von *ADH1C*-Polymorphismen bei Ösophaguskarzinomen an Kaukasiern untersucht hat.

Dazu kommt, dass die Meinung bezüglich der Bedeutung des Azetaldehyds an der Entstehung des Adenokarzinoms nicht einheitlich ist. Hierzu gibt es weltweit ebenfalls noch keine Arbeiten. Wir haben uns in unserer Studie auf die seltenen, eindeutig ethyltoxischen Adenokarzinome beschränkt, die nach chronischem Alkoholkonsum von über 40 Gramm entstanden sind. Trotz der begrenzten Fallzahl von $n=30$ ist in unserer Studie bereits eine erhöhte Frequenz des Allels *ADH1C*1-1* beobachtet worden, die vergleichbar zu den Patienten mit Plattenepithelkarzinom war. Ein statistischer Vergleich

4. Diskussion

- 40 -

mit anderen Untergruppen war aufgrund der Fallzahl hier leider nicht möglich, aber die Vermutung, dass eine Akkumulation des Azetaldehyds, bedingt durch eine Expression der schnellen Variante der ADH eine begünstigende Rolle in der Entstehung eines Adenokarzinoms spielt, scheint gerechtfertigt zu sein.

5. Zusammenfassung

In Deutschland betreiben circa 9 Millionen Menschen einen riskanten Alkoholabusus von mehr als 40 Gramm reinen Alkohol pro Tag für Männer und 20 Gramm pro Tag für Frauen. Weshalb hiervon nur ca. 2,5 Millionen einen alkoholassozierten Organschaden entwickeln, ist unklar, zum Teil wird eine unterschiedliche genetische Suszeptibilität gegenüber Alkohol diskutiert. Auch sind die genauen Pathomechanismen, die zu diesen Erkrankungen führen, nur zum Teil verstanden. Alkohol als chemische Substanz ist hieran offensichtlich nur teilweise beteiligt. Der erste Metabolit von Alkohol, Azetaldehyd, wird in der kaukasischen Bevölkerung im Wesentlichen durch die ADH 1C produziert. Azetaldehyd besitzt eine Vielzahl an zelltoxischen und insbesondere karzinogenen Eigenschaften, sodass vermutlich ein Teil des ethyltoxischen Organschadens auf Azetaldehyd zurückzuführen ist.

Von der ADH1C existiert ein genetischer Polymorphismus mit den beiden Allelen *ADH1C*1-1* und *ADH1C*2-2*, wobei die homozygote Variante *ADH1C*1-1* eine um das ca. 2,5-fach höhere Vmax aufweist, woraus eine Akkumulation des hochreaktiven Azetaldehyds resultieren kann.

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob der genetische Polymorphismus der ADH1C mit der Entstehung der alkoholassozierten Leberzirrhose, Pankreatitis oder dem Ösophaguskarzinom assoziiert ist.

Dazu wurden Blutproben und Daten von 217 Patienten mit einer Leberzirrhose, 117 mit Pankreatitis und 123 mit Ösophaguskarzinom rekrutiert. Das besondere an dem Studiendesign war, dass als obligates Einschlusskriterium ein Alkoholabusus von mindestens 40 Gramm reinem Alkohol am Tag bestehen musste, als Kontrolle dienten 174 Patienten, die chronischen Alkoholabusus betrieben haben, jedoch zum Zeitpunkt der Erfassung nicht an einer der untersuchten ethanolassozierten Krankheiten litten. Von allen Personen wurde ein strukturierter Fragebogen bezüglich Alter, Geschlecht und Alkohol- und Nikotinkonsum, ausgefüllt, die Untersuchung des *ADH1C* Genotyps erfolgte mittels einer Polymerase-Ketten-Reaktion und anschließender Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus- Analyse aus Vollblut.

Innerhalb unseres Kollektivs zeigt sich dabei eine Allelfrequenz für die *ADH1C*1-1*, die für Patienten mit Leberzirrhose (Allelfrequenz *ADH1C*1-1*=47,9%), Pankreatitis (47%) und Alkoholikern ohne Organschaden (48,3%) ähnlich war, während diese beim Ösophaguskarzinom deutlich höher ausfiel (61,8%). Dabei verhielten sich die Chancenverhältnisse der benignen alkoholassozierten Erkrankungen einzeln

(alkoholtoxische (alk.) Pankreatitis versus alk. Ösophaguskarzinom OR=4,61 bei 95% Konfidenzintervall von 2,07-10,27 und $p=0,0002$ (0,02%), alk. Leberzirrhose versus alk. Ösophaguskarzinom OR=2,96 bei 95% Konfidenzintervall von 1,69-5,18 und $p=0,0001$ (0,01%), Alkoholranke versus alk. Ösophaguskarzinom OR=2,45 bei 95% Konfidenzintervall von 1,36-4,42 und $p=0,0029$ (0,29%)) wie auch gemeinsam (alle Kollektive mit benignen Erkrankungen versus alk. Ösophaguskarzinom OR = 2,93 bei 95% Konfidenzintervall von 1,84-4,67 und $p<0,0001$ (<0,01%)) im Vergleich mit dem alkoholassozierten Ösophaguskarzinom ähnlich. Dies ist vor allem auf eine höhere Anzahl an Patienten, die homozygot für *ADH1C*1-1* in der Gruppe der an ethanoltoxischen Ösophaguskarzinom-Erkrankten sind, zurückzuführen. Die Ergebnisse der statistischen Berechnungen stammen aus multivariaten Analysen. Bereits bekannte schädigende Noxen wie Alkohol, Rauchen, erhöhtes Lebensalter wurden in die Berechnung der ADH Chancenverhältnisse miteinbezogen, sodass die gefundenen Assoziationen zur *ADH1C*1-1* und dem Ösophaguskarzinom nicht rein singulär durch die größere Anzahl an *ADH1C*1-1* Patienten entstand. Eine univariate Berechnung unter Betrachtung der ADH ohne die anderen Faktoren (alle Patienten gleich alt, kein Alkoholkonsum, kein Nikotinkonsum) würde Verhältnisse voraussetzen, die in der Realität nur eine kleine Population berücksichtigte.

Daraus resultiert für Patienten mit einem Ösophaguskarzinom ein Chancenverhältnis vom 2,9-4,6 zu 1 für Patienten mit einer Homozygotie für die *ADH1C*1-1* gegenüber Patienten mit einer benignen alkoholassozierten Erkrankung.

Die Theorie, dass eine Azetaldehydakkumulation durch die Expression der schnell metabolisierenden ADH-Variante eine Präkanzerose darstellt, ist nicht neu. Es existieren bereits mehrere Studien, die diese Hypothese untersuchten. Aufgrund von methodischen Unterschieden im Studiendesign resultierten jedoch zum Teil widersprüchliche Ergebnisse. Relativ konstant war jedoch in allen bisherigen Studien ein leicht erhöhtes Risiko ein Karzinom zu entwickeln bei Patienten beobachtet worden, die im Besitz des *ADH1C*1-1* Genotyps waren und gleichzeitig einen sehr hohen Alkoholkonsum betrieben haben. In unserer Studie war aufgrund des Designs nur eine Aussage zu Patienten mit hohem Alkoholkonsum möglich. Auch wurden erstmals Patienten mit einem Ösophaguskarzinom untersucht. Unsere Daten konnten bei großer Studiengröße dabei erstmalig einen Hinweis erbringen, dass die *ADH1C*1-1* einen signifikanten, moderaten Risikofaktor für die Entwicklung eines Ösophaguskarzinoms unter schweren Trinkern darstellen kann.

6. Literaturverzeichnis:

1. Manfred V.Singer. and Stephan Theyssen. Alkoholassozierte Organschäden. *Dt.Ärzteblatt* 33:A-2109-A-2120, 2001.
2. L. C. Harty, N. E. Caporaso, R. B. Hayes, D. M. Winn, E. Bravo-Otero, W. J. Blot, D. V. Kleinman, L. M. Brown, H. K. Armenian, J. F. Fraumeni, Jr., and P. G. Shields. Alcohol dehydrogenase 3 genotype and risk of oral cavity and pharyngeal cancers. *J.Natl.Cancer Inst.* 89 (22):1698-1705, 1997.
3. H. K. Seitz, C. S. Lieber, and U. A. Simanowski. Handbuch Alkohol; Alkoholismus und alkoholbedingt Folgeschäden. Anonymous. Anonymous. 28;130;321-46;143;322, 2000.
4. E. B. Gottfried, M. A. Korsten, and C. S. Lieber. Alcohol-induced gastric and duodenal lesions in man. *Am.J.Gastroenterol.* 70 (6):587-592, 1978.
5. G. Poschl, F. Stickel, X. D. Wang, and H. K. Seitz. Alcohol and cancer: genetic and nutritional aspects. *Proc.Nutr.Soc.* 63 (1):65-71, 2004.
6. J. M. Elwood, J. C. Pearson, D. H. Skippen, and S. M. Jackson. Alcohol, smoking, social and occupational factors in the aetiology of cancer of the oral cavity, pharynx and larynx. *Int.J.Cancer* 34 (5):603-612, 1984.
7. S. Franceschi, R. Talamini, S. Barra, A. E. Baron, E. Negri, E. Bidoli, D. Serraino, and C. La Vecchia. Smoking and drinking in relation to cancers of the oral cavity, pharynx, larynx, and esophagus in northern Italy. *Cancer Res.* 50 (20):6502-6507, 1990.
8. A. J. Tuyns, J. Esteve, L. Raymond, F. Berrino, E. Benhamou, F. Blanchet, P. Boffetta, P. Crosignani, A. del Moral, W. Lehmann, and . Cancer of the larynx/hypopharynx, tobacco and alcohol: IARC international case-control study in Turin and Varese (Italy), Zaragoza and Navarra (Spain), Geneva (Switzerland) and Calvados (France). *Int.J.Cancer* 41 (4):483-491, 1988.

9. J. Brugere, P. Guenel, A. Leclerc, and J. Rodriguez. Differential effects of tobacco and alcohol in cancer of the larynx, pharynx, and mouth. *Cancer* 57 (2):391-395, 1986.
10. B. D'Avanzo, C. La Vecchia, and S. Franceschi. Alcohol consumption and the risk of gastric cancer. *Nutr.Cancer* 22 (1):57-64, 1994.
11. W. Ye, A. M. Ekstrom, L. E. Hansson, R. Bergstrom, and O. Nyren. Tobacco, alcohol and the risk of gastric cancer by sub-site and histologic type. *Int.J.Cancer* 83 (2):223-229, 1999.
12. A. Yokoyama, T. Muramatsu, T. Ohmori, T. Yokoyama, K. Okuyama, H. Takahashi, Y. Hasegawa, S. Higuchi, K. Maruyama, K. Shirakura, and H. Ishii. Alcohol-related cancers and aldehyde dehydrogenase-2 in Japanese alcoholics. *Carcinogenesis* 19 (8):1383-1387, 1998.
13. E. Giovannucci, E. B. Rimm, A. Ascherio, M. J. Stampfer, G. A. Colditz, and W. C. Willett. Alcohol, low-methionine--low-folate diets, and risk of colon cancer in men. *J.Natl.Cancer Inst.* 87 (4):265-273, 1995.
14. N. Homann and H. K. Seitz. Alkohol und Krebs. *Klinikerzt* 7+8 /25 (Alkohol und Krebs):216-219, 1996.
15. K. W. Singletary. Alcohol and breast cancer: interactions between alcohol and other risk factors. *Alcohol Clin.Exp.Res.* 20 (8 Suppl):57A-61A, 1996.
16. M. P. Longnecker. Alcoholic beverage consumption in relation to risk of breast cancer: meta-analysis and review. *Cancer Causes Control* 5 (1):73-82, 1994.
17. H. K. Seitz, G. Poschl, and U. A. Simanowski. Alcohol and cancer. *Recent Dev.Alcohol* 14:67-95, 1998.
18. W. J. Blot. Alcohol and cancer. *Cancer Res.* 52 (7 Suppl):2119s-2123s, 1992.
19. C. S. Lieber. Hepatic and metabolic effects of ethanol: pathogenesis and prevention. *Ann.Med.* 26 (5):325-330, 1994.

20. Helmut K. Seitz and Nils Homann. Effect of Alcohol on the Orogastrointestinal Tract, the Pancreas and the Liver. In: *International Handbook of Dependence and Problems*, edited by John Wiley and sons, Chichester, N.Y. Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto: 2001, p. 149-166.
21. R. J. Ward and Ch Coutelle. Women and alcohol susceptibility: Could differences in alcohol metabolism predispose women to alcohol-related diseases? *Arch. Women Ment. Health* 6 (4):231-238, 2003.
22. A. Frenzer, W. J. Butler, I. D. Norton, J. S. Wilson, M. V. Apte, R. C. Pirola, P. Ryan, and I. C. Roberts-Thomson. Polymorphism in alcohol-metabolizing enzymes, glutathione S-transferases and apolipoprotein E and susceptibility to alcohol-induced cirrhosis and chronic pancreatitis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 17 (2):177-182, 2002.
23. M. Waluga and M. Hartleb. [Alcoholic liver disease]. *Wiad. Lek.* 56 (1-2):61-70, 2003.
24. W. K. Lelbach. [The liver and environmental poisons]. *Klin. Wochenschr.* 63 (22):1139-1151, 1985.
25. C. Bouchardy, A. Hirvonen, C. Coutelle, P. J. Ward, P. Dayer, and S. Benhamou. Role of alcohol dehydrogenase 3 and cytochrome P-4502E1 genotypes in susceptibility to cancers of the upper aerodigestive tract. *Int. J. Cancer* 87 (5):734-740, 2000.
26. C. Coutelle, P. J. Ward, B. Fleury, P. Quattrocchi, H. Chambrin, A. Iron, P. Couzigou, and A. Cassaigne. Laryngeal and oropharyngeal cancer, and alcohol dehydrogenase 3 and glutathione S-transferase M1 polymorphisms. *Hum. Genet.* 99 (3):319-325, 1997.
27. E. R. Schiff. Hepatitis C and alcohol. *Hepatology* 26 (3 Suppl 1):39S-42S, 1997.
28. L. Lamu. Etude de statistique clinique de 131 cas de cancer de l'oesophage et du cardia. Anonymous. Anonymous. *Arch Mal Appar Dig Mal nutr* 4. 451-456, 1910.

29. Anonymous. Acetaldehyde. *IARC Monogr Eval. Carcinog. Risk Chem. Hum.* 36:101-132, 1985.
30. M. P. Longnecker. Alcohol consumption and risk of cancer in humans: an overview. *Alcohol* 12 (2):87-96, 1995.
31. P. Zambon, R. Talamini, C. La Vecchia, L. Dal Maso, E. Negri, S. Tognazzo, L. Simonato, and S. Franceschi. Smoking, type of alcoholic beverage and squamous-cell oesophageal cancer in northern Italy. *Int.J.Cancer* 86 (1):144-149, 2000.
32. A. J. Tuyns. Oesophageal cancer in non-smoking drinkers and in non-drinking smokers. *Int.J.Cancer* 32 (4):443-444, 1983.
33. G. C. Kabat, S. K. Ng, and E. L. Wynder. Tobacco, alcohol intake, and diet in relation to adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. *Cancer Causes Control* 4 (2):123-132, 1993.
34. Helmut K. Seitz and Nils Homann. Effect of Alcohol on the Orogastrointestinal Tract, the Pancreas and the Liver. In: *International Handbook of Dependence and Problems*, edited by John Wiley and sons, Chichester, N.Y. Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto: 2001, p. 149-166.
35. J. J. Barboriak and R. C. Meade. Effect of alcohol on gastric emptying in man. *Am.J.Clin.Nutr.* 23 (9):1151-1153, 1970.
36. D. W. Crabb, M. Matsumoto, D. Chang, and M. You. Overview of the role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase and their variants in the genesis of alcohol-related pathology. *Proc.Nutr.Soc.* 63 (1):49-63, 2004.
37. C.J: Estler. Pharmakologie und Toxikologie. Schattauer. Anonymous. 5:19-22, 2000.
38. A. A. Caro and A. I. Cederbaum. Oxidative stress, toxicology, and pharmacology of CYP2E1. *Annu.Rev.Pharmacol.Toxicol.* 44:27-42, 2004.

39. R. Kurzinger. [Clinically relevant aspects of ethanol metabolism]. *Z.Gesamte Inn.Med.* 36 (16):538-543, 1981.
40. H. K. Seitz, U. Gartner, G. Egerer, and U. A. Simanowski. Ethanol metabolism in the gastrointestinal tract and its possible consequences. *Alcohol Alcohol Suppl* 2:157-162, 1994.
41. S. Shaw, E. Jayatilleke, V. Herbert, and N. Colman. Cleavage of folates during ethanol metabolism. Role of acetaldehyde/xanthine oxidase-generated superoxide. *Biochem.J.* 257 (1):277-280, 1989.
42. R. Peng, Y. Y. Tu, and C. S. Yang. The induction and competitive inhibition of a high affinity microsomal nitrosodimethylamine demethylase by ethanol. *Carcinogenesis* 3 (12):1457-1461, 1982.
43. P. F. Swann, A. M. Coe, and R. Mace. Ethanol and dimethylnitrosamine and diethylnitrosamine metabolism and disposition in the rat. Possible relevance to the influence of ethanol on human cancer incidence. *Carcinogenesis* 5 (10):1337-1343, 1984.
44. IARC. Alcohol drinking. Biological data relevant to the evaluation of carcinogenic risk to humans. *IARC Monogr Eval.Carcinog.Risks Hum.* 44:101-152, 1988.
45. N. Homann and H. K. Seitz. Alcohols Effect on the Development and Progression of Cancer. *Nutr.Clin.Care* 3/2:83-89, 2000.
46. M. Hoerner, U. J. Behrens, T. M. Worner, I. Blacksberg, L. F. Braly, F. Schaffner, and C. S. Lieber. The role of alcoholism and liver disease in the appearance of serum antibodies against acetaldehyde adducts. *Hepatology* 8 (3):569-574, 1988.
47. J. A. Salo. Ethanol-induced mucosal injury in rabbit oesophagus. *Scand.J.Gastroenterol.* 18 (6):713-721, 1983.
48. N. Homann. Alkohol und Krebs. *Therapeutische Umschau* 57/4:1-5, 2000.

49. M. P. Salaspuro. Alcohol consumption and cancer of the gastrointestinal tract. *Best.Pract.Res.Clin.Gastroenterol.* 17 (4):679-694, 2003.
50. A. J. Wight and G. R. Ogden. Possible mechanisms by which alcohol may influence the development of oral cancer--a review. *Oral Oncol.* 34 (6):441-447, 1998.
51. C. D. Eskelson, O. E. Odeleye, R. R. Watson, D. L. Earnest, and S. I. Mufti. Modulation of cancer growth by vitamin E and alcohol. *Alcohol Alcohol* 28 (1):117-125, 1993.
52. P. Haentjens, A. De Backer, and G. Willems. Effect of an apple brandy from Normandy and of ethanol on epithelial cell proliferation in the esophagus of rats. *Digestion* 37 (3):184-192, 1987.
53. S. I. Mufti, C. D. Eskelson, O. E. Odeleye, and V. Nachiappan. Alcohol-associated generation of oxygen free radicals and tumor promotion. *Alcohol Alcohol* 28 (6):621-628, 1993.
54. R. A. Woutersen, L. M. Appelman, A. Garderen-Hoetmer, and V. J. Feron. Inhalation toxicity of acetaldehyde in rats. III. Carcinogenicity study. *Toxicology* 41 (2):213-231, 1986.
55. Anonymous. Alcohol drinking. Biological data relevant to the evaluation of carcinogenic risk to humans. *IARC Monogr Eval.Carcinog.Risks Hum.* 44:101-152, 1988.
56. V. J. Feron, A. Kruijse, and R. A. Woutersen. Respiratory tract tumours in hamsters exposed to acetaldehyde vapour alone or simultaneously to benzo(a)pyrene or diethylnitrosamine. *Eur.J.Cancer Clin.Oncol.* 18 (1):13-31, 1982.
57. S. N. Wickramasinghe, B. Gardner, and G. Barden. Cytotoxic protein molecules generated as a consequence of ethanol metabolism in vitro and in vivo. *Lancet* 2 (8511):823-826, 1986.

58. P. J. Brooks. DNA damage, DNA repair, and alcohol toxicity--a review. *Alcohol Clin.Exp.Res.* 21 (6):1073-1082, 1997.
59. M. C. Geokas, C. S. Lieber, S. French, and C. H. Halsted. Ethanol, the liver, and the gastrointestinal tract. *Ann.Intern.Med.* 95 (2):198-211, 1981.
60. C. J. Eriksson. The role of acetaldehyde in the actions of alcohol (update 2000). *Alcohol Clin.Exp.Res.* 25 (5 Suppl ISBRA):15S-32S, 2001.
61. G. Obe, R. Jonas, and S. Schmidt. Metabolism of ethanol in vitro produces a compound which induces sister-chromatid exchanges in human peripheral lymphocytes in vitro: acetaldehyde not ethanol is mutagenic. *Mutat.Res.* 174 (1):47-51, 1986.
62. V. L. Dellarco. A mutagenicity assessment of acetaldehyde. *Mutat.Res.* 195 (1):1-20, 1988.
63. J. L. Fang and C. E. Vaca. Development of a ³²P-postlabelling method for the analysis of adducts arising through the reaction of acetaldehyde with 2'-deoxyguanosine-3'-monophosphate and DNA. *Carcinogenesis* 16 (9):2177-2185, 1995.
64. J. L. Fang and C. E. Vaca. Detection of DNA adducts of acetaldehyde in peripheral white blood cells of alcohol abusers. *Carcinogenesis* 18 (4):627-632, 1997.
65. C. E. Vaca, J. A. Nilsson, J. L. Fang, and R. C. Grafstrom. Formation of DNA adducts in human buccal epithelial cells exposed to acetaldehyde and methylglyoxal in vitro. *Chem.Biol.Interact.* 108 (3):197-208, 1998.
66. P. Clot, G. Bellomo, M. Tabone, S. Arico, and E. Albano. Detection of antibodies against proteins modified by hydroxyethyl free radicals in patients with alcoholic cirrhosis. *Gastroenterology* 108 (1):201-207, 1995.
67. N. Espina, V. Lima, C. S. Lieber, and A. J. Garro. In vitro and in vivo inhibitory effect of ethanol and acetaldehyde on O6-methylguanine transferase. *Carcinogenesis* 9 (5):761-766, 1988.

68. S. Shaw, E. Jayatilleke, V. Herbert, and N. Colman. Cleavage of folates during ethanol metabolism. Role of acetaldehyde/xanthine oxidase-generated superoxide. *Biochem.J.* 257 (1):277-280, 1989.
69. A. F. Olshan, M. C. Weissler, M. A. Watson, and D. A. Bell. Risk of head and neck cancer and the alcohol dehydrogenase 3 genotype. *Carcinogenesis* 22 (1):57-61, 2001.
70. G. R. Ogden and A. J. Wight. Aetiology of oral cancer: alcohol. *Br.J.Oral Maxillofac.Surg.* 36 (4):247-251, 1998.
71. M. S. Niederhut, B. J. Gibbons, S. Perez-Miller, and T. D. Hurley. Three-dimensional structures of the three human class I alcohol dehydrogenases. *Protein Sci.* 10 (4):697-706, 2001.
72. L. G. Carr, Y. Xu, W. H. Ho, and H. J. Edenberg. Nucleotide sequence of the ADH2(3) gene encoding the human alcohol dehydrogenase beta 3 subunit. *Alcohol Clin.Exp.Res.* 13 (4):594-596, 1989.
73. J. O. Hoog, L. O. Heden, K. Larsson, H. Jornvall, and H. Bahr-Lindstrom. The gamma 1 and gamma 2 subunits of human liver alcohol dehydrogenase. cDNA structures, two amino acid replacements, and compatibility with changes in the enzymatic properties. *Eur.J.Biochem.* 159 (2):215-218, 1986.
74. S. Harada, D. P. Agarwal, and H. W. Goedde. Isozyme variations in acetaldehyde dehydrogenase (e.c.1.2.1.3) in human tissues. *Hum.Genet.* 44 (2):181-185, 1978.
75. R. J. Haselbeck and G. Duester. Regional restriction of alcohol/retinol dehydrogenases along the mouse gastrointestinal epithelium. *Alcohol Clin.Exp.Res.* 21 (8):1484-1490, 1997.
76. S. Harada, S. Misawa, D. P. Agarwal, and H. W. Goedde. Liver alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase in the Japanese: isozyme variation and its possible role in alcohol intoxication. *Am.J.Hum.Genet.* 32 (1):8-15, 1980.

77. Nils Homann. Alcohol and upper gastrointestinal tract cancer: the role of local acetaldehyde production. *Addiction biology* 6:309-323, 2001.
78. S. Harada, D. P. Agarwal, F. Nomura, and S. Higuchi. Metabolic and ethnic determinants of alcohol drinking habits and vulnerability to alcohol-related disorder. *Alcohol Clin.Exp.Res.* 25 (5 Suppl ISBRA):71S-75S, 2001.
79. S. Higuchi, T. Muramatsu, K. Shigemori, M. Saito, H. Kono, M. C. Dufour, and T. C. Harford. The relationship between low Km aldehyde dehydrogenase phenotype and drinking behavior in Japanese. *J.Stud.Alcohol* 53 (2):170-175, 1992.
80. A. Shibuya, M. Yasunami, and A. Yoshida. Genotype of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase loci in Japanese alcohol flushers and nonflushers. *Hum.Genet.* 82 (1):14-16, 1989.
81. A. Shibuya and A. Yoshida. Frequency of the atypical aldehyde dehydrogenase-2 gene (ALDH2(2)) in Japanese and Caucasians. *Am.J.Hum.Genet.* 43 (5):741-743, 1988.
82. A. Yokoyama, T. Ohmori, T. Muramatsu, S. Higuchi, T. Yokoyama, S. Matsushita, M. Matsumoto, K. Maruyama, M. Hayashida, and H. Ishii. Cancer screening of upper aerodigestive tract in Japanese alcoholics with reference to drinking and smoking habits and aldehyde dehydrogenase-2 genotype. *Int.J.Cancer* 68 (3):313-316, 1996.
83. H. Hori, T. Kawano, M. Endo, and Y. Yuasa. Genetic polymorphisms of tobacco- and alcohol-related metabolizing enzymes and human esophageal squamous cell carcinoma susceptibility. *J.Clin.Gastroenterol.* 25 (4):568-575, 1997.
84. A. Yokoyama, T. Muramatsu, T. Ohmori, T. Yokoyama, K. Okuyama, H. Takahashi, Y. Hasegawa, S. Higuchi, K. Maruyama, K. Shirakura, and H. Ishii. Alcohol-related cancers and aldehyde dehydrogenase-2 in Japanese alcoholics. *Carcinogenesis* 19 (8):1383-1387, 1998.

85. A. Iron, A. Groppi, B. Fleury, J. Begueret, A. Cassaigne, and P. Couzigou. Polymorphism of class I alcohol dehydrogenase in French, Vietnamese and Niger populations: genotyping by PCR amplification and RFLP analysis on dried blood spots. *Ann.Genet.* 35 (3):152-156, 1992.
86. W. F. Bosron and T. K. Li. Genetic polymorphism of human liver alcohol and aldehyde dehydrogenases, and their relationship to alcohol metabolism and alcoholism. *Hepatology* 6 (3):502-510, 1986.
87. P. Royston, G. Ambler, and W. Sauerbrei. The use of fractional polynomials to model continuous risk variables in epidemiology. *Int.J.Epidemiol.* 28 (5):964-974, 1999.
88. P. Royston and W. Sauerbrei. Stability of multivariable fractional polynomial models with selection of variables and transformations: a bootstrap investigation. *Stat.Med.* 22 (4):639-659, 2003.
89. H. Sarles and Z. Berger. Chronic calcifying pancreatitis: epidemiology and current concept of the lithogenesis. *Acta Med.Hung.* 46 (4):225-233, 1989.
90. J. R. Malagelada. The pathophysiology of alcoholic pancreatitis. *Pancreas* 1 (3):270-278, 1986.
91. S. Schenker and R. Montalvo. Alcohol and the pancreas. *Recent Dev.Alcohol* 14:41-65, 1998.
92. H. A. Reber, C. Roberts, and L. W. Way. The pancreatic duct mucosal barrier. *Am.J.Surg.* 137 (1):128-134, 1979.
93. J. S. Wilson and M. V. Apte. Role of alcohol metabolism in alcoholic pancreatitis. *Pancreas* 27 (4):311-315, 2003.
94. M. V. Apte, P. A. Phillips, R. G. Fahmy, S. J. Darby, S. C. Rodgers, G. W. McCaughan, M. A. Korsten, R. C. Pirola, D. Naidoo, and J. S. Wilson. Does alcohol directly stimulate pancreatic fibrogenesis? Studies with rat pancreatic stellate cells. *Gastroenterology* 118 (4):780-794, 2000.

95. S. J. Pandol, I. Gukovsky, A. Satoh, A. Lugea, and A. S. Gukovskaya. Animal and in vitro models of alcoholic pancreatitis: role of cholecystokinin. *Pancreas* 27 (4):297-300, 2003.
96. A. K. Saluja and L. Bhagat. Pathophysiology of alcohol-induced pancreatic injury. *Pancreas* 27 (4):327-331, 2003.
97. D. C. Whitcomb. Genetic predisposition to alcoholic chronic pancreatitis. *Pancreas* 27 (4):321-326, 2003.
98. J. S. Wilson, M. A. Korsten, and R. C. Pirola. Alcohol-induced pancreatic injury (Part I). Unexplained features and ductular theories of pathogenesis. *Int.J.Pancreatol.* 4 (2):109-125, 1989.
99. H. K. Seitz. [Metabolic aspects of alcoholic liver damage: 1984/5 update. 1. Epidemiology and alcohol metabolism]. *Z.Gastroenterol.* 22 (12):669-681, 1984.
100. G.Löffler and P.Petrides. Biochemie und Pathobiochemie. Anonymous. Anonymous. 723, 426-724, 453, 1997.
101. C. S. Lieber. [From alcohol to cirrhosis]. *Presse Med.* 15 (44):2187-2189, 1986.
102. O. Strubelt, M. Younes, T. Urch, H. Breining, and R. Pentz. Hepatotoxicity of acetaldehyde in rats. *Toxicol.Lett.* 39 (1):77-84, 1987.
103. F. Vidal, A. Lorenzo, T. Auguet, M. Olona, M. Broch, C. Gutierrez, C. Aguilar, P. Estupina, M. Santos, and C. Richart. 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.* 41 (5):744-750, 2004.
104. E. Borrás, C. Coutelle, A. Rosell, F. Fernandez-Muixi, M. Broch, B. Crosas, L. Hjelmqvist, A. Lorenzo, C. Gutierrez, M. Santos, M. Szczepanek, M. Heilig, P. Quattrocchi, J. Farres, F. Vidal, C. Richart, T. Mach, J. Bogdal, H. Jornvall, H. K. Seitz, P. Couzigou, and X. Pares. Genetic polymorphism of alcohol dehydrogenase in europeans: the ADH2*2 allele decreases the risk for alcoholism and is associated with ADH3*1. *Hepatology* 31 (4):984-989, 2000.

105. F. Degoul, A. Sutton, A. Mansouri, C. Cepanec, C. Degott, B. Fromenty, M. Beaugrand, D. Valla, and D. Pessayre. Homozygosity for alanine in the mitochondrial targeting sequence of superoxide dismutase and risk for severe alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 120 (6):1468-1474, 2001.
106. J. Kato, Y. Sato, N. Inui, Y. Nakano, R. Takimoto, K. Takada, M. Kobune, G. Kuroiwa, S. Miyake, Y. Kohgo, and Y. Niitsu. Ethanol induces transforming growth factor- α expression in hepatocytes, leading to stimulation of collagen synthesis by hepatic stellate cells. *Alcohol Clin.Exp.Res.* 27 (8 Suppl):58S-63S, 2003.
107. C. P. Day. Who gets alcoholic liver disease: nature or nurture? *J.R.Coll.Physicians Lond* 34 (6):557-562, 2000.
108. H. Maier, H. Weidauer, J. Zoller, H. K. Seitz, M. Flentje, G. Mall, and I. A. Born. Effect of chronic alcohol consumption on the morphology of the oral mucosa. *Alcohol Clin.Exp.Res.* 18 (2):387-391, 1994.
109. N. Homann, H. Jousimies-Somer, K. Jokelainen, R. Heine, and M. Salaspuro. High acetaldehyde levels in saliva after ethanol consumption: methodological aspects and pathogenetic implications. *Carcinogenesis* 18 (9):1739-1743, 1997.
110. J. A. Salo. Ethanol-induced mucosal injury in rabbit oesophagus. *Scand.J.Gastroenterol.* 18 (6):713-721, 1983.
111. D. Albanes and M. Winick. Are cell number and cell proliferation risk factors for cancer? *J.Natl.Cancer Inst.* 80 (10):772-774, 1988.
112. J. Vaglenova, S. E. Martinez, S. Porte, G. Duester, J. Farres, and X. Pares. Expression, localization and potential physiological significance of alcohol dehydrogenase in the gastrointestinal tract. *Eur.J.Biochem.* 270 (12):2652-2662, 2003.

113. S. J. Yin, F. J. Chou, S. F. Chao, S. F. Tsai, C. S. Liao, S. L. Wang, C. W. Wu, and S. C. Lee. Alcohol and aldehyde dehydrogenases in human esophagus: comparison with the stomach enzyme activities. *Alcohol Clin.Exp.Res.* 17 (2):376-381, 1993.
114. F. Moriya and H. Ishizu. Can microorganisms produce alcohol in body cavities of a living person?: a case report. *J.Forensic Sci.* 39 (3):883-888, 1994.
115. M. S. Kim, D. H. Lee, H. S. Kang, H. S. Park, S. Jung, J. W. Lee, K. S. Kwon, P. S. Kim, H. G. Kim, Y. W. Shin, Y. S. Kim, I. Baek, and M. S. Lee. [Genetic polymorphisms of alcohol-metabolizing enzymes and cytokines in patients with alcohol induced pancreatitis and alcoholic liver cirrhosis]. *Korean J.Gastroenterol.* 43 (6):355-363, 2004.
116. J. L. Freudenheim, C. B. Ambrosone, K. B. Moysich, J. E. Vena, S. Graham, J. R. Marshall, P. Muti, R. Laughlin, T. Nemoto, L. C. Harty, G. A. Crits, A. W. Chan, and P. G. Shields. Alcohol dehydrogenase 3 genotype modification of the association of alcohol consumption with breast cancer risk. *Cancer Causes Control* 10 (5):369-377, 1999.
117. E. S. Peters, M. D. McClean, M. Liu, E. A. Eisen, N. Mueller, and K. T. Kelsey. The ADH1C polymorphism modifies the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck associated with alcohol and tobacco use. *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.* 14 (2):476-482, 2005.
118. A. I. Zavras, T. Wu, G. Laskaris, Y. F. Wang, V. Cartsos, J. Segas, D. Lefantzis, K. Joshipura, C. W. Douglass, and S. R. Diehl. Interaction between a single nucleotide polymorphism in the alcohol dehydrogenase 3 gene, alcohol consumption and oral cancer risk. *Int.J.Cancer* 97 (4):526-530, 2002.
119. E. M. Sturgis, K. R. Dahlstrom, Y. Guan, S. A. Eicher, S. S. Strom, M. R. Spitz, and Q. Wei. Alcohol dehydrogenase 3 genotype is not associated with risk of squamous cell carcinoma of the oral cavity and pharynx. *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.* 10 (3):273-275, 2001.

6. Literaturverzeichnis

- 56 -

120. S. M. Schwartz, D. R. Doody, E. D. Fitzgibbons, S. Ricks, P. L. Porter, and C. Chen. Oral squamous cell cancer risk in relation to alcohol consumption and alcohol dehydrogenase-3 genotypes. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 10 (11):1137-1144, 2001.

121. P. Brennan, S. Lewis, M. Hashibe, D. A. Bell, P. Boffetta, C. Bouchardy, N. Caporaso, C. Chen, C. Coutelle, S. R. Diehl, R. B. Hayes, A. F. Olshan, S. M. Schwartz, E. M. Sturgis, Q. Wei, A. I. Zavras, and S. Benhamou. Pooled analysis of alcohol dehydrogenase genotypes and head and neck cancer: a HuGE review. *Am.J.Epidemiol.* 159 (1):1-16, 2004.

7.Veröffentlichungen:

Teilaspekte dieser Inauguraldissertation wurden in diesen Veröffentlichungen berücksichtigt:

International Journal of Cancer IJC-05-1011-RI, 2005 November 14.

“Alcohol Dehydrogenase 1C*1 Allele is a Genetic Marker for Alcohol-Associated Cancer in Heavy Drinkers”

Nils Homann, Felix Stickel, Inke R. König, Arne Jacobs, Klaus Junghanns, Monika Benesova, Detlef Schuppan, Susanne Himsel, Ina Zuber-Jerger, Claus Hellerbrand, Dieter Ludwig, Wolfgang H. Caselmann, Helmut K. Seitz

Alcoholism: Clinical and experimental research Vol. 29 No.5, May 2005

“Mean Corpuscular Volume and ADH1C Genotype in White Patients with Alcohol-Associated Diseases”

Sun, Leimin; Inke R. König; Arne Jacobs; Helmut K. Seitz; Klaus Junghanns; Thomas Wagner; Diether Ludwig; Nils Homann

Nürnberg/ DGVS 2003; Gastroenterology 2003, 41, S. 839, P227

„Der ADH3*1/1 Genotyp ist mit alkoholinduzierten Karzinomen des oberen Gastrointestinaltrakts und dem hepatozellulären Karzinom assoziiert“

Stickel, Felix; Homann, Nils; Benesova, Monika; Zuber-Jerger, Ina; S. Richter; Jacobs, Arne; Schuppan, Detlev; Hellerbrand, Claus; Caselmann, Wolfgang, H.; Blum, H.E. ; Seitz, Helmut K.

Leipzig/ DGVS 2002 Gastroenterology 2002;8,751 P363

„Unterschiede im Genotypus der Alkoholdehydrogenase ADH3-1 in alkoholassozierten Erkrankungen“

Arne Jacobs, Dieter Ludwig, Rolf D. Klingenberg, Monika Benesova, Helmut K. Seitz, Nils Homann

Genf/ UEGW 2002 “Gut” 2002: 51 (Suppl III) A134

“Genotyping of alcohol dehydrogenase 3 in alcoholic pancreatitis, liver cirrhosis and esophageal cancer in caucasians”

Rolf D. Klingenberg, Arne Jacobs, Nils Homann, Monika Benesova, Dieter Ludwig, Helmut K. Seitz

8. Danksagung:

Die vorliegende Arbeit entstand in der Medizinischen Klinik I, Bereich Gastroenterologie, das Universitäts-Klinikums Schleswig-Holstein Campus Lübeck.

Ich danke allen, die mir bei der Erstellung dieser Arbeit geholfen haben.

Besonders danken möchte ich:

Herrn PD Dr. med. Nils Homann für die Überlassung des Themas und für seine Geduld verbunden mit außergewöhnlicher Hilfs- und Diskussionsbereitschaft. Herrn Prof. Dr. med. Diether Ludwig und Herrn Prof. Dr. med. Horst Lorenz Fehm für die Bereitstellung des finanziellen Rahmens dieser Arbeit und die Möglichkeit, in ihrer Klinik die Doktorarbeit zu verfassen.

Herrn Prof. Dr. med. Helmut K. Seitz für die Sammlung und Bereitstellung von Patienten-Daten und deren Blutproben, sowie für besondere Gastfreundschaft sowie Anleitung und Motivation in Heidelberg.

Frau Dr. rer. nat. Inke König für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten.

Zudem Frau Stefanie Wichmann für die Einführung in die Laborarbeit. Frau Heidi Schlichting und Frau Angela Oldörp für die Hilfs- und Organisationsbereitschaft und die Schaffung eines freundlichen und netten Arbeitsklimas.

Insbesondere aber vor allem meiner Verlobten Alexandra Löper sowie meiner Familie und Freunden für die Unterstützung und unaufhörliche Motivation, besonders während der Fertigstellung dieser Arbeit.

9. Curriculum Vitae

PERSÖNLICHE DATEN

Name: Arne Jacobs
Geburtsdatum / Ort: 11.04.1977, Essen

Anschrift: Arne Jacobs
Kahlhorststrasse 18
23562 Lübeck
Tel : 0451/5049208

Familienstand: verlobt

SCHULAUSBILDUNG UND ZIVILDIENTST

Schule: Einschulung 1983 in Falkenstein/Frankfurt a. Main
Besuch eines Gymnasiums in Ahrensburg 1987-1990.
Besuch eines Gymnasiums in Graz/Österreich 1990-95 mit
Maturaabschluss

Zivildienst: Zivildienst vom 1.8.95 bis zum 1.9.96 in der Parkklinik
Manhagen Großhansdorf.

STUDIUM

Beginn des Medizinstudiums am 18.10.96.
Absolvierung Präparationskurs für Fortgeschrittene 1998
Tutor in Physiologie Uni Lübeck 1998
1999 Ärztliche Vorprüfung (Physikum)
2000 1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
2002 2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
2003 3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Famulaturen: Klinik für Anästhesiologie, CA Prof. Dr. med Schmucker,

Curriculum Vitae

- 60 -

Med. II Kardiologie, CA Prof. Dr. med. Katus,

Med. III Pulmologie/Infektiologie, CA Prof. Dr. med. Zabel

Klinik für Chirurgie, CA Prof. Dr. med. Bruch,

Med. I Poliklinik Gastroenterologie, CA Prof. Dr. med. Fehm

PJ-Tertiale:

PJ Chirurgie Kantonsspital Frauenfeld/Schweiz von 10/2002 bis 02/2003, CA Dr. med. Oehy

PJ Innere Medizin, Med I Gastroenterologie von 02/2003 bis 04/2003, CA Prof. Dr. med. Fehm

und

PJ Innere Medizin, Med III Pulmologie/Infektiologie von 04/2002 bis 06/2003, CA Prof. Dr. med. Zabel UKSH-Campus Lübeck

PJ Neurologie, 6/2003 bis 9/2003, CA Prof. Dr. med. Kömpf UKSH-Campus Lübeck

Doktorarbeit:

Von Juni 2001 bis 07.03.2007 bei PD. Dr. med. N. Homann Facharzt Innere Medizin, Gastroenterologische Station Med. I., Universitätsklinikum Schleswig-Holstein- Campus Lübeck,

A.i.P. und Assistenzarzt:

Seit 15.01.2004 A.i.P. und anschließend Assistenzarzt im Psychatrium Neustadt, Neurologie bei CA. Dr. med. Jahnke, Seit 05.05.2005 Assistenzarzt in der Fachklinik Neustadt der Psychatrium- Gruppe, Psychiatrie, CA. Dr. med. Krüger Seit 01.08.2006 Assistenzarzt im DRK-Therapiezentrum Middelburg/Süsel bei CA Dr. med. Dipl. psych. v. Wedel