

Increased cancer risk in heavy drinkers  
with the alcohol  
dehydrogenase 1C\*1 allele, possibly due  
to salivary acetaldehyde

J-P Visapää, K Götte, M Benesova, J Li, N Homann, C Conradt, H Inoue, M Tisch,  
K Hörrmann, S Väkeväinen, M Salaspuro, H K Seitz

Tiago Elias Heinen

# Introdução

Diagnóstico de alcoolismo

## 7 Critérios para Dependência de Substância (DSM-IV)

Um padrão mal-adaptativo de uso de substância, levando a prejuízo ou sofrimento clinicamente significativo, manifestado por três (ou mais) dos seguintes critérios, ocorrendo a qualquer momento no mesmo período de 12 meses:

- (1) tolerância
- (2) abstinência
- (3) a substância é freqüentemente consumida em maiores quantidades ou por um período mais longo do que o pretendido
- (4) existe um desejo persistente ou esforços mal-sucedidos no sentido de reduzir ou controlar o uso da substância
- (5) muito tempo é gasto em atividades necessárias para a obtenção da substância, na utilização da substância ou na recuperação de seus efeitos
- (6) importantes atividades sociais, ocupacionais ou recreativas são abandonadas ou reduzidas em virtude do uso da substância
- (7) o uso da substância continua, apesar da consciência de ter um problema físico ou psicológico persistente ou recorrente que tende a ser causado ou exacerbado pela substância

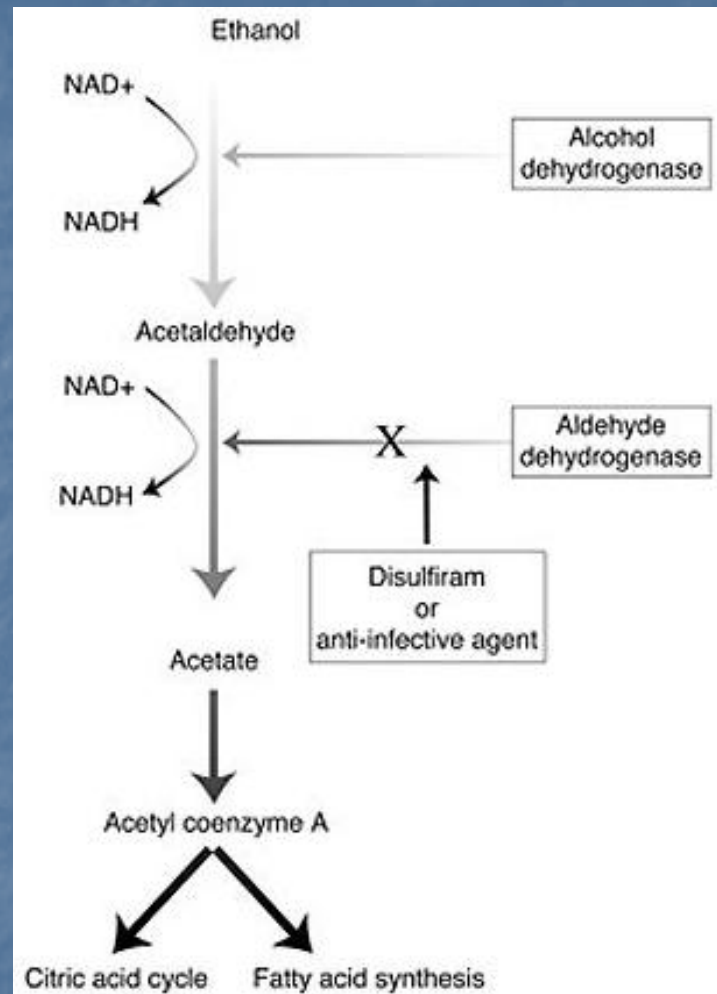
- Consumo crônico excessivo de álcool é fator de maior risco para o desenvolvimento de câncer do trato aerodigestivo superior
- Mecanismos de como o etanol está associado à carcinogênese não são conhecidos
- Há evidências cada vez maiores que o acetaldeído (AA) é responsável pelo efeito carcinogênico do álcool



## ■ Fisiopatologia do Acetaldeído:

- Interfere na síntese e no reparo do DNA, promovendo o desenvolvimento tumoral (mutação de ponto, troca de cromátides irmãs, aberrações cromossômicas)
- Induz inflamação e metaplasia no epitélio traqueal
- Retarda a progressão do ciclo celular
- Estimula a apoptose
- Aumenta o dano celular
- Quando inalado causa carcinoma de laringe e nasofaringe





ADHs

ALDHs

- Acetaldeído é produzido principalmente do etanol pela álcool desidrogenase (ADH) e depois é metabolizado a acetato pela aldeído desidrogenase (ALDH)
- Ambas enzimas possuem polimorfismo genético que influenciam a proporção de conversão do etanol a AA, e do AA a acetato, influenciando níveis de AA no corpo
- Muitos orientais têm a forma inativa da ALDH2 por causa de um alelo mutante que codifica essa enzima → falha no metabolismo do AA → acúmulo de AA no corpo.
- Indivíduos com a ALDH1,2 heterozigótica inativa → concentração de AA no sangue e na saliva estão aumentados em relação a ativa ALDH1,1
- A freqüência da ALDH2,2 inativa é maior em alcoolistas com câncer da cavidade oral, orofaringe, laringe e esôfago
- Polimorfismo no ALDH2 não existe em caucasianos

- ADH (álcool desidrogenase)
- A enzima ADH é codificada pela ADH1C1, que metaboliza o álcool a AA 2,5 vezes mais rápido que a enzima codificada pelo alelo ADH1C2
- Embora a oxidação do etanol ocorre em maior proporção no fígado, a ADH tem atividade também presente na mucosa do trato alimentar
- Alguns estudos revelaram correlação entre a frequência do alelo ADH1C1 e câncer do trato aerodigestivo superior



# Métodos

- Pacientes :
- 107 caucasianos (89M-idade 58(10); 19F-idade 60(12)-com câncer

**Table 1** Characteristics of alcoholic patients with upper aerodigestive tract cancer and alcoholic control subjects

Group	n	Sex		Age (y)	Alcohol (g/day)			Smoker	
		M	F		>80	20-80	<20	Yes	No
Alcoholic cirrhosis	39	23	16	61 (8)	39	0	0	35	4
Alcoholic pancreatitis	38	33	5	56 (10)	38	0	0	37	1
Alcoholics without organ injury	26	11	15	56 (9)	26	0	0	23	3
All alcoholic controls	103	67	36	58 (9)	103	0	0	95	8
Larynx cancer	41	37	4	58 (11)	19	22	0	38	3
Oral cancer	16	13	3	62 (12)	6	10	0	14	2
Hypopharynx cancer	22	18	4	55 (8)	11	11	0	20	2
Oropharynx cancer	8	5	3	59 (10)	3	5	0	8	0
Oesophageal cancer	20	16	4	61 (9)	14	6	0	20	0
All cancers	107	89	18	59 (11)	53	54	0	99	8

- Controles:
- 39 pacientes com cirrose (consumo diário de 100g de álcool por 10 anos)
- 38 pacientes com pancreatite alcoólica
- 26 pacientes sem injúrias, mas dependentes de álcool
  
- Para provar que o grupo controle dos consumidores de álcool tem a mesma frequência do alelo ADH1C como a população normal → 48 pessoas saudáveis que consumiam menos de 70g de álcool por semana foram genotipadas



## ■ Genotipagem do ADH1C

- 107 pacientes com câncer
  - 4 amostras DNA isoladas do tumor
  - 56 amostras dos leucócitos
  - 47 amostras de sangue venoso secas em papel filtro
- Todos os controles usaram papel filtro
- Genes foram determinados por polimorfismo de sítio de restrição
- Todas as determinações foram feitas em duplicata utilizando técnicas de biologia molecular

# Administração oral de etanol para os voluntários

- 21 voluntários divididos em 3 grupos
  - GRUPO 1: n=7, ADH1C 1,1
  - GRUPO 2: n=7, ADH1C 1,2
  - GRUPO 3: n=7, ADH1C 2,2
- 
- Nenhum podia ter usado drogas ou anti-sépticos bucais nas últimas 4 semanas
  - Sem consumir álcool nas últimas 48 horas anteriores ao começo do estudo
  - 1 hora antes do estudo todos tomaram o mesmo café da manhã
  - 0,3g/kg de etanol foram administradas em cada voluntário
  - Etanol diluído em suco de laranja (5g/100ml) administrado em 2 minutos
  - 20 min antes da administração, voluntários receberam anti-séptico oral para diminuir o número de bactérias que produzem acetaldeído do etanol
  - Logo após administração, enxaguaram a boca com água para tirar o etanol
  - Sangue (3ml) e saliva (3-3,5ml) foram colhidas no tempo 0 e depois a 10, 20, 40, 60, 100, 130, 160 e 240 minutos depois da ingestão do álcool

- 12 homens saudáveis de outra etnia
- O estudo começou as 18:00 e os voluntários tiveram a mesma refeição 2 horas antes do estudo
- Receberam chiclete para estimular a saliva
- Saliva foi coletada e a partir disso receberam etanol com suco de laranja *ad libitum* 10% v/v
- Para remover o etanol local da boca, antes de cada coleta, os voluntários enxaguavam a boca 3 vezes com água
- Subseqüentemente a saliva era coletada a cada 30 minutos durante 4 horas e analisada



## Determinação do acetaldeído

- O acetaldeído do sangue e da saliva foi medido por HPLC
- No estudo com os 12 homens a concentração de acetaldeído na saliva foi determinada por cromatografia gasosa, pois tinha que ser realizada na hora



# Resultados

- Pacientes com UADTC e excessivo consumo crônico de álcool exibiram significância elevada da frequência do alelo ADH1C1 em relação a consumidores pesados de álcool sem câncer
- 60,7% v 52,9% em homens
- 66,7% v 41,7% em mulheres
- A maior frequência do alelo ADH1C1 foi achado em pacientes com câncer de boca e de laringe (65,6% e 64,6%) e em homozigotos para esse alelo as frequências ficaram em 38% e 37%

**Table 2** Genotype numbers and allele frequencies (%) of ADH1C in patients with upper aerodigestive tract cancer, healthy controls, and alcoholic control patients without cancer

Group	n	Genotype			Allele (%)	
		*1/*1	*1/*2	*2/*2	*1	*2
1 Alcoholic cirrhosis	39	8	23	8	50.0	50.0
2 Alcoholic pancreatitis	38	5	26	7	47.4	52.6
3 Alcoholics without organ damage	26	7	12	7	50.0	50.0
4 All alcoholic controls without cancer	103	20	61	22	49.0	51.0
5 Laryngeal cancer	41	15	23	3	64.6	35.4
6 Oral cancer	16	6	9	1	65.6	34.4
7 Oropharyngeal cancer	8	2	5	1	56.3	43.7
8 Hypopharyngeal cancer	22	7	11	4	56.9	43.1
9 Oesophageal cancer	20	7	10	3	60.0	40.0
10 All cancers	107	37	58	12	61.7	38.3

No significant difference in allele frequencies was detected between healthy controls and alcoholic controls without cancer ( $p=0.90$ ). However, allele frequency of the ADH1C\*1/\*1 allele was found to be significantly increased in all alcoholic cancer patients compared with all alcoholic non-cancer patients ( $p=0.011$ ).

- Não teve diferença nas frequências dos alelos ADH1C entre controles saudáveis e pacientes com consumo pesado de álcool sem câncer
- Pacientes alcoolistas sem dano em órgãos, pacientes com cirrose alcoólica e pancreatite não diferem a respeito da genotipagem do ADH1C
- Não se achou significância entre a quantidade de álcool ingerida e a genotipagem do ADH1C, embora pacientes que consomem mais de 100g de álcool por dia tem maior proporção de homozigotos do alelo ADH1C1 (39,2%) em comparação a pacientes que consomem 20-50g de álcool por dia (28,5%)

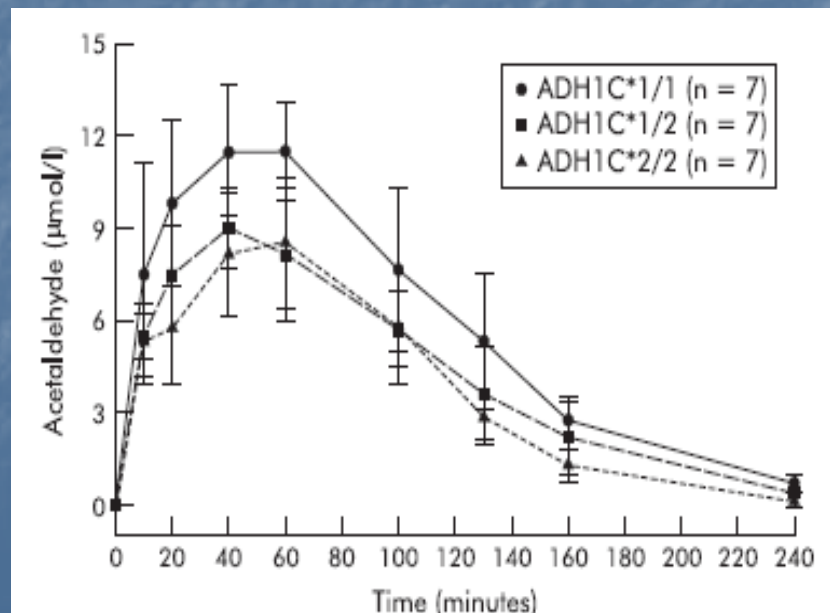
**Table 3** Alcohol intake and ADH1C genotype in patients with upper aerodigestive tract cancer and controls

No	Daily alcohol intake (g)	Genotype			Allele (%)	
		*1/*1	*1/*2	*2/*2	*1	*2
11 (8)	>200	2 (2)	9 (2)	0 (4)	59.1 (37.5)	40.9 (62.5)
15 (31)	150-200	5 (2)	5 (24)	5 (5)	50.0 (45.2)	50.0 (54.8)
25 (64)	100-150	12 (16)	11 (35)	2 (13)	70.0 (52.4)	30.0 (47.6)
21 (0)	50-100	7	11	3	59.5	40.5
35 (0)	20-50	10	23	2	61.4	38.6
107 (103)	>20	37 (20)	58 (61)	12 (22)	61.7 (49.0)	38.3 (51.0)

Controles homozigotos para ADH1C1 tiveram significância elevada da concentração de acetaldeído na saliva em comparação aos heterozigotos para ADH1C1 e homozigotos ADH1C2

Não teve diferenças entre heterozigotos e homozigotos para o alelo ADH1C2

A concentração do plasma de AA não teve significância entre os grupos (baixo consumo de etanol)

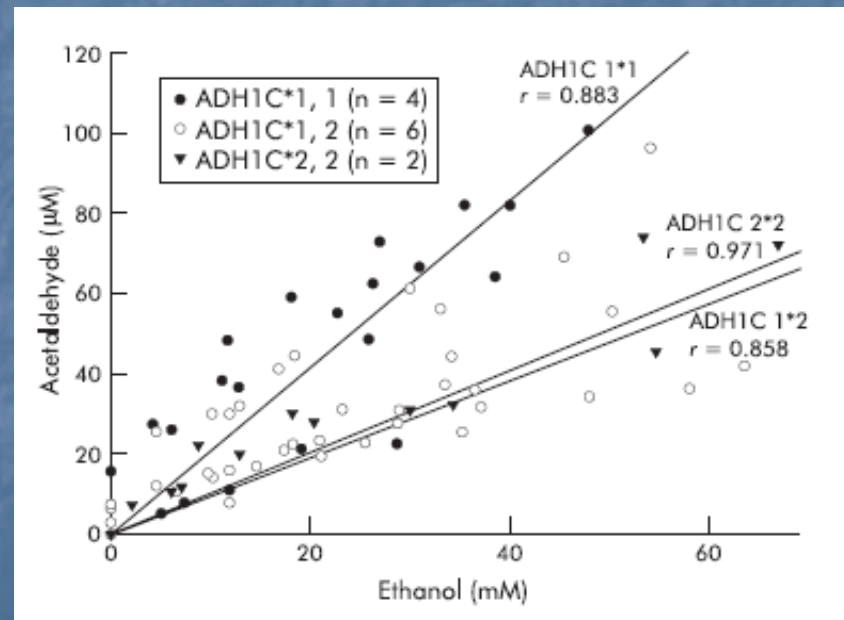


- Do grupo final dos 12 homens saudáveis
  - 4 homozigotos para ADH1C1
  - 6 heterozigotos
  - 2 homozigotos para ADH1C2
- 
- Não foi achada diferença significativa entres esses grupos a respeito do sexo, idade, peso, hábito de fumar e ingestão de álcool





- A média do consumo de álcool nas 4 horas de tratamento dos 12 homens controles foi de 211(+29)g
- Controles com homozigotos para o alelo ADH1C1 tiveram uma produção maior significativa de acetaldeído em relação aos outros genótipos



# Discussão

- Os resultados do estudo sugerem que consumidores pesados de álcool homozigotos para o alelo ADH1C1 tem uma chance maior de desenvolver UADTC
- O risco associado ao genótipo ADH1C1,1 e o desenvolvimento de câncer de boca e da faringe é grande, dados similares aos encontrados em outros estudos
- Em contraste com outros estudos, esse mostrou um risco maior de desenvolver UADTC para os consumidores pesados de álcool com o alelo ADH1C
- É difícil de comparar dados entre diferentes estudos porque cada região tem um perfil de população com frequências de genes diferentes



- No entanto, outros componentes devem ser levados em consideração para o desenvolvimento de UADTC: consumo de altas doses de álcool, consumo de álcool a muitos anos, fumo, dieta, higiene oral, entre outros
- O alelo ADH1C1 é fator de risco para câncer de mama em mulheres especialmente quando o consumo de etanol é alto
- Estudos cinéticos *in vitro* mostraram que a enzima produzida pelo alelo ADH1C1 pode metabolizar o etanol 2,5 vezes mais depressa que a produzida pelo alelo ADH1C2. Isso ficou provado nos testes que esse estudo realizou comparando concentração de AA com o tempo

In conclusion, the ADH1C\*1,1 genotype appears to increase considerably the risk of developing UADTC in heavy drinkers, particularly oral and laryngeal cancer. This risk seems to be due to elevated AA concentrations in the saliva of individuals with the ADH1C\*1,1 genotype following alcohol consumption. These data provide further evidence for the carcinogenicity of AA, in humans also.

Obrigado

