

20. Masimirembwa CW, Johansson I, Hasler JA, Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2D6 in a Zimbabwian population. *Pharmacogenetics* 1993; 3: 275-280.
21. DeMoraes SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem* 1994; 269: 15149-15152.
22. DeMoraes SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Meyer UA, Nakamura K, Goldstein JA. Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in Japanese. *Mol Pharmacol* 1994; 46: 594-598.
23. Alvan G, Bechtel P, Iselius L, Gundert-Remy U. Hydroxylation polymorphisms of debrisoquine and mephenytoin in European populations. *Eur J Clin Pharmacol* 1990; 39: 533-537.
24. Agúndez JAG, Ledesma MC, Ladero JM, Benítez J. Prevalence of CYP2D6 gene duplication and its repercussion on the oxidative phenotype in a white population. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 57: 265-269.
25. Steijns LSW, Van der Weide J. Ultrarapid drug metabolism: PCR-based detection of CYP2D6 gene duplication. *Clin Chem* 1998; 44: 914-917.
26. Dahl ML, Johansson I, Porsmyr Palmertz M, Ingelman-Sundberg M, Sjöqvist F. Analysis of the CYP2D6 gene in relation to debrisoquine and desipramine hydroxylation in a Swedish population. *Clin Pharmacol Ther* 1992; 51: 12-17.
27. Chen S, Wen-Hwei C, Blouin RA, et al. The cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) enzyme polymorphism: screening costs and influence on clinical outcomes in psychiatry. *Clin Pharmacol Ther* 1996; 60: 522-534.
28. Griese E-U, Zanger UM, Brudermanns U, et al. Assessment of the predictive power of genotypes for the in-vivo function of CYP2D6 in a German population. *Pharmacogenetics* 1998; 8: 15-26.
29. Glue P, Banfield C. Psychiatry, psychopharmacology and P450-s. *Hum Psychopharmacol* 1996; 11: 97-114.
30. Sonne J. Drug metabolism in liver disease: implication for therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit* 1996; 18: 397-401.
31. Nemeroff CB, DeVane CL, Pollock BG. Newer antidepressants and the cytochrome P450 system. *Am J Psychiatry* 1996; 153: 311-320.
32. Kroemer HK, Eichelbaum M. Molecular bases and clinical consequences of genetic cytochrome P450 2D6 polymorphism. *Life Sciences* 1995; 56: 2285-2298.
33. Bertilsson L, Dahl ML, Ingelman-Sundberg M, Johansson I, Sjöqvist F. Interindividual and interethnic differences in polymorphic drug oxidation - Implications for drug therapy with focus on psychoactive drugs. In: Pacifici G, Fracchia GN, editors. *Advances in drug metabolism in man*. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 1995: 85-136.

Ned Tijdschr Klin Chem 1999; 24: 228-231

Genetisch polymorfisme en chronische toxische encefalopathie

M.A.M. WENKER¹, R.H.J. PULLENS¹, S.KEZIC¹, A.C. MONSTER¹, G. van der LAAN² en F.A. de WOLFF^{3,4}

Genetisch polymorfisme komt voor bij een aantal enzymen die betrokken zijn bij de biotransformatie van lichaamsvreemde stoffen. Dit polymorfisme kan via veranderde enzymactiviteit aanleiding geven tot een verhoogd risico op ziekten na blootstelling aan lichaamsvreemde stoffen. In deze studie wordt het effect onderzocht van polymorfisme van twee cytochrom P450 en twee glutathion-S-transferase isoenzymen op het risico voor chronische toxische encefalopathie (CTE). Patiënten en controles werden gerecruteerd in het Nederlands Centrum voor Beroepsziekten. Blootstelling in het verleden aan organische oplosmiddelen werd geschat aan de hand van een gedetailleerde arbeidsanamnese. GSTM1- en GSTT1-nulgenotypen, Dra 1- en Rsa 1-mutaties in het cytochrom P450 2E1-gen en de Ile/Val-mutatie

in het cytochrom P450 1A1-gen werden bepaald met behulp van PCR. Er werd een tendens gevonden voor een verhoogd risico op CTE bij de Dra 1-mutatie van het cytochrom P450 2E1-gen (odds ratio 6,2, 0,7 - 91,2) en het GSTM1-nulgenotype (odds ratio 1,7, 0,4 - 6,9); de tot dusverre onderzochte groep is te klein om definitieve conclusies te trekken.

Trefwoorden: genetisch polymorfisme; cytochrom P450; glutathion-S-transferase; biotransformatie; chronische toxische encefalopathie

Individuele variatie in gevoeligheid voor effecten van blootstelling aan xenobiotica is al langer bekend. Recente studies wijzen uit dat erfelijk bepaalde verschillen in metabole capaciteit een belangrijke rol spelen in deze gevoeligheid voor -door xenobiotica geïnduceerde- ziekten (1-4). Metabolisme van xenobiotica wordt door een aantal verschillende groepen enzymen geregeld. Belangrijke groepen zijn de cytochrom P450 iso-enzymen en de glutathion-S-transferases (GST). De cytochrom P450-groep is voornamelijk betrokken bij de eerste fase in de biotransformatie van vele stoffen en zorgt voor oxidaties, reducties of hydrolyses. Veel van deze omzettingen zorgen voor een toxischer product dan de uitgangs-

Coronel Instituut voor arbeid, milieu en gezondheid¹, Nederlands Centrum voor Beroepsziekten², Humane toxicologie, Academisch Medisch Centrum, Universiteit van Amsterdam³, Amsterdam, en Laboratorium voor Toxicologie, Leids Universitair Medisch Centrum⁴, Leiden

Correspondentie: Ir. M. Wenker, Coronel Instituut, AMC, Postbus 22660, 1100 DD, Amsterdam.
Ingekomen: 26.01.99E-mail: M.Wenker@amc.uva.nl

stof zelf en deze stap wordt dan ook wel de activatiestap genoemd. De glutathion-S-transferases zijn voornamelijk betrokken bij de tweede fase van biotransformatie -de zogenaamde conjugaties- waarbij er aan het gevormde tussenproduct uit de eerste fase een wateroplosbare groep wordt gekoppeld; in het geval van de GST is de wateroplosbare groep glutathion. Deze reactie is meestal een detoxificatiereactie maar kan ook leiden tot de vorming van een veel toxischer metaboliet, bijv. bij ethyleendibromide (5). Een belangrijk aspect voor de uiteindelijke toxiciteit van een stof is het evenwicht tussen activatie en detoxificatie in de biotransformatie.

In beide groepen enzymen komt genetische polymorfisme voor. Dat wil zeggen dat er van dat enzym een of meerdere mutante allelen bestaan (als gevolg van puntmutaties of deleties) die met een frequentie van 1% of meer in de populatie voorkomen; deze mutante allelen kunnen resulteren in een enzymactiviteit die verhoogd, verlaagd of helemaal afwezig is. Het is denkbaar dat mensen met genotypen geassocieerd met een efficiëntere activatie en een inefficiëntere detoxificatie in het bijzonder een verhoogd risico hebben op negatieve gezondheidseffecten.

In Nederland worden enkele honderdduizenden mensen beroepshalve regelmatig blootgesteld aan organische oplosmiddelen. Eén van de effecten van langdurige blootstelling aan deze oplosmiddelen is het ontstaan van chronische toxische encefalopathie (CTE) (6-8). Symptomen van CTE zijn een gestoord korte-termijngeheugen, concentratieproblemen, (extreme) vermoeidheid en eventueel karakterveranderingen en/of stemmingsstoornissen. Een aantal polymorfe enzymen is betrokken bij de biotransformatie van deze organische oplosmiddelen, wat het risico op CTE na blootstelling aan organische oplosmiddelen kan moduleren. In deze studie richten we ons op genetische polymorfisme van enzymen betrokken bij zowel de activatie van organische oplosmiddelen als de detoxificatie. Van de fase 1 enzymen zijn het cytochroom P450 2E1 (CYP2E1) en het cytochroom P450 1A1 (CYP1A1) bestudeerd. Het CYP2E1-enzym is betrokken bij het metabolisme van alcohol en andere organische oplosmiddelen. Twee puntmutaties in dit gen zijn beschreven, genoemd naar het restrictie-enzym waarmee deze mutaties op te sporen zijn; *Dra* 1 en *Rsa* 1. *Dra* 1 is een puntmutatie in intron 6 van het gen en heeft voor zover bekend geen functionele betekenis maar is wel geassocieerd met een verhoogd risico op kanker bij Aziaten (9). *Rsa* 1 is een puntmutatie in de 5'-flanking regio op de vermeende HNF1-bindingsplaats en is geassocieerd met een verhoogde in vitro transcriptie, mRNA en eiwitexpressie vergeleken met het wildtype (10). Deze mutatie wordt wel in verband gebracht met een hoger risico op alcoholische leverziekten (11,12). De prevalentie van beide puntmutaties van het *CYP2E1*-gen in de populatie is laag, zo'n 1-10%.

In het *CYP1A1*-enzym komen ook twee puntmutaties voor. Eén, de *Msp* 1-mutatie, is in de 3' non-coding regio; de andere puntmutatie is in exon 7 en zorgt voor een Ile→Val-aminozuur substitutie (13). Publicaties over de mogelijke gevolgen van deze punt-

mutaties zijn tegenstrijdig: sommige auteurs vinden een verhoogde activiteit van het enzym in aanwezigheid van de mutatie(s) (14,15) en andere auteurs vinden geen verschil in enzymactiviteit tussen het mutante genotype en het wildtype (16). De prevalentie van beide puntmutaties is eveneens zo'n 1 - 10%.

Van de fase 2 enzymen zijn twee glutathion-S-transferases bestudeerd, *GSTM1* en *GSTT1*. Bij beide enzymen is er sprake van gendeletie, d.w.z. dat het gen dat voor dat enzym codeert afwezig is. Bij homozygoten voor deze gendeletie (nulgenotype) is de enzymactiviteit van het betreffende glutathion-S-transferase enzym afwezig. De prevalentie van het *GSTM1*-nulgenotype is 50%, die van het *GSTT1*-nulgenotype 25%. Het *GSTM1*-nulgenotype is geassocieerd met een verhoogd risico op longkanker (2,17) en het *GSTT1*-nulgenotype met een verhoogd risico op hersentumoren (18).

In deze studie proberen we een relatie te leggen tussen het voorkomen van CTE en de *Dra* 1- en *Rsa* 1-mutatie van het *CYP2E1*-gen, de Ile/Val-mutatie van het *CYP1A1*-gen en de *GSTM1*- en *GSTT1*-nulgenotypen.

METHODE

Patiënten

GST- en cytochroom P450-genotypen werden bepaald in personen bij wie het bestaan van CTE werd vermoed en die verwezen waren naar het Nederlands Centrum voor Beroepsziekten. Allen hadden in bepaalde mate neurologische en/of psychische klachten die konden wijzen op CTE. Na uitgebreid testen met verschillende neuropsychologische methoden waaronder de NES batterij (neurobehavioral evaluation system), een gestructureerd interview, neurologische onderzoek en vragenlijsten werden de personen in één van drie categorieën ingedeeld door zogenaamde Solvent Teams, bestaande uit bedrijfsarts, neuroloog, neuropsycholoog en toxicoloog (19). Categorie 1 bestond uit goed gedefinieerde CTE-patiënten, categorie 2 bestond uit niet-CTE-personen met vage klachten die dienden als controlegroep. Personen in categorie 3 konden niet eenduidig worden gediagnosticeerd en werden daarom niet meegenomen in de analyse. Een blootstellingsscore werd berekend op basis van een gedetailleerde arbeidsanamnese en bestond uit 4 onderdelen: aantal jaren blootstelling, concentratie op de plek van blootstelling, vóórkomen van piekblootstellingen en gebruik van persoonlijke beschermingsmiddelen. Elk onderdeel kreeg een score op een driepuntsschaal en de eerste drie onderdelen werden opgeteld; daarna werd de score voor de persoonlijke beschermingsmiddelen ervan afgetrokken. De scores werden verdeeld in drie categorieën: 1-3 lage blootstelling, 4-6 middelmatige blootstelling, 7-9 hoge blootstelling.

Genotypering

Bloed werd afgenomen in steriele EDTA buizen en met de Blood & Cell Culture DNA midi kit (Qiagen) werd uit leukocyten genomisch DNA geïsoleerd. Voor het vaststellen van de *Rsa* 1-puntmutatie in het

Tabel 1. Distributie van *CYP2E1*- en *CYP1A1*-genotypen in CTE-patiënten en controles

	CYP2E1				CYP1A1	
	c1/c1	c1/c2	CC	CD	Ile/Ile	Ile/Val
CTE	24 (92,3%)	2 (7,7%)	23 (82,2%)	5 (17,8%)	24 (92,3%)	2 (7,7%)
Controles	21 (100%)	–	20 (90%)	2 (10%)	21 (95,5%)	1 (4,5%)

Tussen haakjes staan percentages weergegeven. c1/c1 is het wildtype, c2 is het mutante allel van de *Rsa* 1-mutatie van het *CYP2E1*-gen, CC is het wildtype, D is het mutante allel van de *Dra* 1-mutatie van het *CYP2E1*-gen. Ile/Ile is het wildtype, Val is het mutante allel van het *CYP1A1*-gen.

Tabel 2. Distributie van *GSTM1*- en *GSTT1*-genotypen in CTE-patiënten en controles

	GSTM1		GSTT1	
	positief	nul	positief	nul
CTE	11 (39,3%)	17 (60,7%)	21 (75%)	7 (25%)
Controles	13 (59,1%)	9 (40,9%)	17 (77,3%)	5 (22,7%)

Tussen haakjes staan percentages weergegeven. Positief betekent minimaal 1 allel met het *GSTM1*/*GSTT1*-gen, nul is de homozygote gendeletie.

CYP2E1-gen werd gebruik gemaakt van de primers zoals beschreven in een artikel van Pirmohamed et al. (11) en voor de *Dra* 1-puntmutatie werd gebruik gemaakt van primers zoals beschreven in een artikel van Hildesheim et al. (20). Voor het vaststellen van de *Msp* 1-puntmutatie in het *CYP1A1*-gen werd gebruik gemaakt van de primers zoals beschreven in een artikel van Sugimura et al. (21) en voor de Ile/Val-mutatie werd gebruik gemaakt van primers zoals beschreven in een artikel van Oyama et al. (22). De DNA-fragmenten werden geamplificeerd en daarna geknipt met behulp van restrictie-enzymen. De geknipte fragmenten werden op een agarosegel gebracht (1,5%; 3% voor de Ile/Val-mutatie), gekleurd met ethidiumbromide en onder UV-licht bekeken. Voor het vaststellen van de GST-genotypen werd de methode van Arand et al. (23) gebruikt. Alle PCR-bepalingen werden blind uitgevoerd en gescoord.

Statistiek

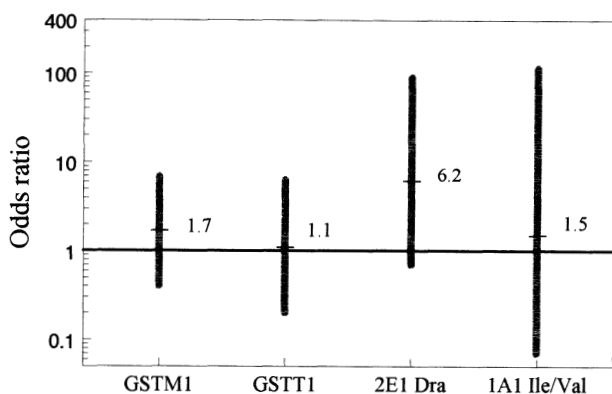
Voor het berekenen van het risico op CTE bij de verschillende mutante genotypen, werd gebruik gemaakt van de odds ratio. De odds ratio wordt berekend uit een 2x2 frequentietabel en is bij benadering gelijk aan het relatief risico (24). In deze studie werden de odds ratio's, met behulp van een exacte test (vanwege kleine aantallen in sommige cellen), berekend als gewogen combinaties van twee 2x2 tabellen van hoog- en middelmatig blootgestelde personen. Berekeningen werden uitgevoerd met StatXact 2.05 (CYTEL Software Corporation, Cambridge).

RESULTATEN en DISCUSSIE

De CTE-patiënten ($n = 28$) en de controles ($n = 22$) verschilden niet in leeftijd, percentage rokers, Quetelet-index en duur van de blootstelling. Er waren significant meer niet-drinkers onder de patiënten dan onder de controles. Het is bekend dat CTE-patiënten vaak een alcoholintolerantie ontwikkelen (G. van der Laan, persoonlijke mededeling).

De blootstellingsscore was hoger bij de CTE-patiënten dan bij de controles (gemiddelde score in patiënten 7,0; gemiddelde score in de controles 5,7). De resultaten van de genotypering staan weergegeven in tabellen 1 en 2 en in figuur 1. Voor geen van de cytochrom P450-mutaties werden homozygote mutanten aangetroffen. Er kon geen odds ratio worden berekend voor de *Rsa* 1-mutatie van het *CYP2E1*-gen omdat het mutante allel afwezig was in de controle-groep. De frequentie van het allel was 0,02 in de totale studiepoulatie. De frequentie van de overige allelen in de totale studiepoulatie was 0,07 voor het mutante *Dra* 1-allel, 0,03 voor de Ile/Val-mutatie; 0,24 voor het *GSTT1*-nulgenotype en 0,52 voor het *GSTM1*-nulgenotype.

Er werden geen significante verschillen gevonden in de genotypefrequenties tussen de CTE-patiënten en



Figuur 1. Odds ratio's en 95% betrouwbaarheidsintervallen voor afwijkende genotypen in CTE-patiënten vergeleken met controles. De balken geven het 95% betrouwbaarheidsinterval aan; de odds ratio's zijn weergegeven naast de balken en gemarkeerd met een streep. Odds ratio's zijn berekend als gewogen combinaties van twee 2x2 tabellen van hoog en middelmatig blootgestelde personen.

de controles. Alhoewel er een tendens naar verhoogde odds ratio's voor het GSTM1-nulgenotype en de *Dra* 1-mutatie van het *CYP2E1*-gen werd waargenomen, is de tot dusverre onderzochte groep te klein om definitieve conclusies te trekken. De patiënten en controlegroep worden thans uitgebreid om na te gaan of de gevonden tendensen kunnen worden omgezet in significante verschillen in odds ratio's.

Literatuur

- Ikawa S, Uematsu F, Watanabe K, Kimpara T, Osada M, Hossain A, Sagami I, et al. Assessment of cancer susceptibility in humans by use of genetic polymorphisms in carcinogen metabolism. *Pharmacogenetics* 1995; 5: S154-S160.
- d'Errico A, Taioli E, Chen X, Vineis P. Genetic metabolic polymorphisms and the risk of cancer: a review of the literature. *Biomarkers* 1996; 1: 149-173.
- Smith G, Stanley LA, Sim E, Strange RC, Wolf CR. Metabolic polymorphisms and cancer susceptibility. *Cancer Surveys* 1995; 25: 27-65.
- Hirvonen A. Combinations of susceptible genotypes and individual responses to toxicants. *Environmental Health Perspectives* 1997; 105: 755-758.
- Bladeren PJ van. Formation of toxic metabolites from drugs and other xenobiotics by glutathione conjugation. *TiPS* 1988; 9: 295-299.
- Mikkelsen S. Epidemiological update on solvent neurotoxicity. *Environmental Research* 1997; 73: 101-112.
- White RF, Proctor SP. Solvents and neurotoxicity. *Lancet* 1997; 349: 1239-1243.
- Baker EL. A review of recent research on health effects of human occupational exposure to organic solvents. *JOM* 1994; 36: 1079-1092.
- Uematsu F, Ikawa S, Kikuchi H, Sagami I, Kanamaru R, Abe T, Satoh K, et al. Restriction fragment length polymorphism of the human *CYP2E1* (cytochrome-*P450IIE1*) gene and susceptibility to lung cancer - possible relevance to low smoking exposure. *Pharmacogenetics* 1994; 4: 58-63.
- Watanabe J, Hayashi S, Kawajiri K. Different regulation and expression of the human *CYP2E1* gene due to the *Rsa*I polymorphism in the 5'-flanking region. *Journal of Biochemistry* 1994; 116: 321-326.
- Pirmohamed M, Kitteringham NR, Quest LJ, Allott RL, Green VJ, Gilmore IT, Park BK. Genetic polymorphism of cytochrome *P4502E1* and risk of alcoholic liver disease in Caucasians. *Pharmacogenetics* 1995; 5: 351-357.
- Grove J, Brown AJM, Daly AK, Bassendine MF, James OFW, Day CP. The *Rsa* I polymorphism of *CYP2E1* and susceptibility to alcoholic liver disease in Caucasians: effect on age of presentation and dependence on alcohol dehydrogenase genotype. *Pharmacogenetics* 1998; 8: 335-342.
- Hayashi S, Watanabe J, Nakachi K, Kawajiri K. Genetic linkage of lung cancer-associated *Msp* I polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome *P450IA1* gene. *Journal of Biochemistry* 1991; 110: 407-411.
- Crofts F, Taioli E, Trachman J, Cosma GN, Currie D, Toniolo P, Garte SJ. Functional significance of different human *CYP1A1* genotypes. *Carcinogenesis* 1994; 15: 2961-2963.
- Landi MT, Bertazzi PA, Shields PG, Clark G, Lucier GW, Garte SJ, Cosma G, et al. Association between *CYP1A1* genotype, mRNA expression and enzymatic activity in humans. *Pharmacogenetics* 1994; 4: 242-246.
- Persson I, Johansson I, Ingelman-Sundberg M. In vitro kinetics of two human *CYP1A1* variant enzymes suggested to be associated with interindividual differences in cancer susceptibility. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1997; 231: 227-230.
- Seidegård J, Pero RW, Markovitz MM, Roush G, Miller DG, Beattie EJ. Isoenzyme(s) of glutathione transferase (class Mu) as a marker for the susceptibility to lung cancer: a follow up study. *Carcinogenesis* 1990; 11: 33-36.
- Elxpuru-Camiruaga J, Buxton N, Kandula V, Dias PS, Campbell D, McIntosh J, Broome J, et al. Susceptibility to astrocytoma and meningioma: Influence of allelism at glutathione S-transferase (*GSTT1* and *GSTM1*) and cytochrome P-450 (*CYP2D6*) loci. *Cancer Research* 1995; 55: 4237-4239.
- Hoek JAF van der. Chronische toxische encefalopathie. De Solvent Team-benadering. *Tijdschrift v Huisartsgeneeskunde* 1998; 15: 77-83.
- Hildesheim A, Chen C, Caporaso NE, Cheng Y, Hoover RN, Hsu M, Levine PH, et al. Cytochrome *P4502E1* genetic polymorphisms and risk of nasopharyngeal carcinoma: Results from a case-control study conducted in Taiwan. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 1995; 4: 607-610.
- Sugimura H, Hamada GS, Suzuki I, Iwase T, Kiyokawa E, Kino I, Tsugane S. *CYP1A1* and *CYP2E1* polymorphism and lung cancer, case-control study in Rio de Janeiro, Brazil. *Pharmacogenetics* 1995; 5: S145-S148.
- Oyama T, Mitsudomi T, Kawamoto T, Ogami A, Osaki T, Kodama Y, Yasumoto K. Detection of *CYP1A1* gene polymorphism using designed RFLP and distributions of *CYP1A1* genotypes in Japanese. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1995; 67: 253-256.
- Arand M, Mühlbauer R, Hengstler J, Jäger E, Fuchs J, Winkler L, Oesch F. A multiplex polymerase chain reaction protocol for the simultaneous analysis of the glutathione S-transferase *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms. *Analytical Biochemistry* 1996; 236: 184-186.
- Altman DG. *Practical statistics for medical research*. 1e ed. Londen: Chapman & Hall, 1991.

Summary

Genetic polymorphism and chronic toxic encephalopathy. Wenker MAM, Pullens RHJ, Kezic S, Monster AC, Laan G van der and Wolff FA de. Ned Tijdschr Klin Chem 1999; 24: 228-231.

Genetic polymorphisms occur in several enzymes which are involved in the biotransformation of xenobiotics. Genetic polymorphisms result in changed enzyme activities and therefore in higher risk of disease after occupational exposure. In this study, the effect of polymorphism in two cytochrome P450 and two glutathione S-transferase isoenzymes on the risk of chronic toxic encephalopathy was investigated. Patients and controls were recruited in the Netherlands Centre of Occupational Diseases. Exposure to organic solvents was estimated by means of thorough interviewing.

From both patients and controls *GSTM1* and *GSTT1* null genotypes, *Dra* 1 en *Rsa* 1 mutations in the cytochrome *P450 2E1* gene and the Ile/Val mutation in the cytochrome *P450 IA1* gene were determined using PCR. A tendency towards increasing odds ratios for the *Dra* 1 mutation of the cytochrome *P450 2E1* gene (odds ratio 6.2, 0.7 - 91.2) and the *GSTM1* null genotype (odds ratio 1.7, 0.4 - 6.9) was found, although the study population under investigation so far is not large enough to draw definite conclusions.

Key-words: genetic polymorphism; cytochrome P450; glutathione S-transferase; biotransformation; chronic toxic encephalopathy