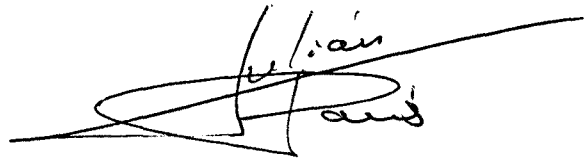


INFLUENCIA DE LA LESION HEPATICA Y DE LA ACTIVIDAD
ALCOHOL DESHIDROGENASA Y ALDEHIDO DESHIDROGENASA
HEPATICAS EN EL METABOLISMO DEL ETANOL.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Julián Panés Díaz', with a long horizontal line extending to the right.

Julián Panés Díaz

Terrassa, Octubre de 1988

3. DISCUSSION

Los alcohólicos crónicos desarrollan una tolerancia a la ingesta de alcohol, presentando, tras el consumo de alcohol, una menor alteración del comportamiento y menos efectos farmacológicos que los no alcohólicos (Mendelson & La Dou, 1964; Isbell et al., 1955). Por otra parte, se ha observado que individuos alcohólicos crónicos con síntomas de enfermedad hepática tienen una disminución de su tolerancia al alcohol con aparición de episodios de embriaguez desencadenados por cantidades mínimas de alcohol, perfectamente toleradas en individuos normales. Estos cambios podrían estar condicionados por la capacidad para metabolizar el etanol.

La administración prolongada de alcohol induce un aumento de la velocidad de eliminación del etanol de la sangre en la rata (Hawkins et al., 1966) y en el mandril (Pikkarainen & Lieber 1980) y un incremento del metabolismo del etanol en extractos hepáticos (Videla & Israel, 1970; Cederbaum et al., 1977a). En los estudios iniciales realizados en humanos los resultados han sido contradictorios, Kater et al. (1969) demostraron un aumento de la velocidad de eliminación del etanol en alcohólicos crónicos estudiados inmediatamente tras la hospitalización, mientras que Clark & Senior (1968) no hallaron ningún aumento en la velocidad de eliminación del etanol en alcohólicos crónicos estudiados tras dos semanas de abstinencia.

Los resultados de la presente tesis indican que los

pacientes alcohólicos presentan un aumento de la velocidad de eliminación del etanol en relación a los hepatopatas no alcohólicos y también en relación a los individuos no alcohólicos estudiados por otros autores (Mezey & Robles, 1974; Marshall et al., 1983), hecho que aumentaría la tolerancia a una ingesta de alcohol.

La discordancia entre estos datos y los de Kater et al. (1969), con los de Clark & Senior (1968) es debida probablemente al momento en el que fueron estudiados estos pacientes. En el presente estudio y en el de Kater et al., los pacientes fueron en su mayor parte estudiados inmediatamente tras la hospitalización, mientras que el tiempo de abstinencia era mayor en el estudio de Clark & Senior. Existen datos que indican que la velocidad de eliminación del etanol disminuye rapidamente tras la supresión de la ingesta alcohólica haciendose normal en algunos casos ya a los siete dias de abstinencia (Mezey et al. 1971).

Hay discrepancias entre diversos estudios en cuanto al efecto de la lesión histológica y el grado de insuficiencia hepatocelular sobre el metabolismo del etanol. Mientras algunos autores han demostrado una disminución de la velocidad de metabolización del etanol proporcional a la severidad de la lesión hepática (MacDongall et al., 1978), otros autores no han hallado relación entre el grado de lesión hepática y el metabolismo del etanol (Ginestal da Cruz et al. 1975) y otros han observado incluso que los alcohólicos con necrosis hepática tenían

una VME superior a los alcohólicos sanos (Ugarte et al., 1977). Este último hallazgo es difícil de explicar ya que la eliminación de las sustancias metabolizadas por el hígado se ve retrasada en presencia de una hepatopatía. Además, el estudio de Ugarte et al., (1977) adolece de defectos metodológicos ya que la velocidad de eliminación del etanol se calculó analizando las concentraciones plasmáticas de etanol entre los 30 y 150 min tras la infusión de etanol; durante este periodo se produce tanto distribución como eliminación del etanol, obteniendo perfiles de eliminación del etanol que no son lineales y una estimación falsamente alta de la velocidad de eliminación del etanol. En el presente estudio la relación entre las concentraciones de etanol y el tiempo dibujaron siempre una línea recta con coeficientes de correlación que oscilaron entre -0.92 y -0.99, lo que sugiere que la eliminación del etanol sigue una cinética de orden cero cuando las concentraciones son superiores a 0.4 g/L.

Los resultados de la presente tesis demuestran que existe una significativa reducción de la VEE y VDE en los alcohólicos con lesiones hepáticas severas (hepatitis alcohólica y cirrosis) en relación a los alcohólicos con lesiones menos graves. Este hecho puede justificar la disminución de la tolerancia a la ingesta de alcohol que presentan algunos individuos alcohólicos tras periodos prolongados de consumo alcohólico. La relación entre la metabolización del etanol y la severidad de la hepatopa-

tía se ve corroborada por la existencia de una correlación directa entre la prueba del aliento de la aminopirina, que constituye una precisa estimación del grado de funcionalismo hepatocelular, y la VEE y VME. Estos resultados coinciden con los de MacDongall et al. (1978) quienes observaron un significativo aumento de la VEE en alcohólicos con esteatosis mientras que los pacientes con cirrosis alcohólica y niveles séricos de albúmina inferiores a 28 g/L presentaban una significativa reducción de la VEE.

Dado que la eliminación de la aminopirina depende de la actividad del sistema microsomal (Hepner & Vesell 1975) y, a su vez, la eliminación del etanol, cuando la concentración es muy elevada, puede estar influenciada por la actividad de dicho sistema (Lieber 1983), se investigó la relación entre la metabolización del etanol y el estado funcional del hígado mediante otra sustancia cuyo metabolismo es independiente de la actividad del sistema microsomal. Para ello se utilizó el verde de indocianina que permite estudiar el grado de funcionalismo hepático y además el flujo sanguíneo hepático.

La eliminación del etanol resultó independiente del flujo sanguíneo hepático, tal como corresponde a una sustancia de baja extracción hepática. La eliminación de una sustancia de estas características depende fundamentalmente de la actividad del sistema enzimático responsable de su metabolización. Cuando una de estas sustancias es absorbida tras su ingestión oral, hay solo una baja

extracción hepática y una alta biodisponibilidad sistémica (Larrey & Branch 1983).

El grado de función hepática medido mediante el aclaramiento de verde de indocianina se correlacionó de manera directa y significativa con la VME, lo que confirma que la velocidad de eliminación del etanol en los alcohólicos crónicos depende del grado de funcionalismo hepático.

El aumento de la velocidad de metabolización del etanol observado en los individuos alcohólicos no se acompañó de un aumento paralelo de la actividad de la ADH, principal vía metabólica del etanol, responsable de la oxidación de más del 80% del etanol ingerido. Los individuos alcohólicos presentaron una disminución de la actividad de este enzima que fué más marcado en los pacientes con lesiones más severas. Diversos estudios han puesto previamente de manifiesto la falta de correlación entre la actividad ADH y la velocidad de eliminación del etanol. Estudios experimentales en la rata han demostrado cambios similares a los que presentan los pacientes alcohólicos, ya que la administración crónica de etanol a este animal disminuye la actividad ADH en los hepatocitos, tanto perivenulares como periportales, a pesar de lo cual la velocidad de eliminación del etanol aumenta (Vaananen et al. 1984). Por otra parte, los dos individuos del presente estudio que poseían la variante "atípica" de la ADH, isoenzima con una actividad in vitro

varias veces superior al resto de isoenzimas, mostraron una VEE y VME similares al resto de alcohólicos, hecho que ha sido también comprobado por otros autores (Edwards et al., 1967). Se ha constatado también que en los pacientes con uremia no existe un incremento en la velocidad de oxidación del etanol a pesar de presentar un marcado aumento en la actividad ADH (Mezey et al., 1975).

La falta de correlación observada entre la actividad ADH y la VEE ó VME puede obedecer a varios motivos. En primer lugar, en el presente estudio se ha determinado la actividad enzimática en una pequeña muestra del tejido hepático y no se puede inferir a partir de los datos que poseemos la actividad ADH hepática "total" para lo cual sería preciso cuantificar el peso de la masa de hepatocitos. En segundo lugar, se ha descrito un aumento de la actividad del sistema microsomal oxidativo del etanol tras la administración crónica de etanol (Matsuzaki et al., 1981) y ello podría contribuir a aumentar la VME en los alcohólicos crónicos por una vía distinta a la ADH, aunque éste es un aspecto muy debatido en el hombre y no se ha observado tampoco relación entre la actividad hepática del sistema microsomal oxidativo del etanol y la VME (Mezey & Robles 1974). Por último, si bien la velocidad de transformación del etanol en acetaldehído no guarda relación con la actividad ADH, si que podría depender de la disponibilidad de NAD, cofactor que interviene en esta reacción. Los resultados de los estudios cinéticos de Theorell & Chance (1951) indican que si el NADH producido

en la oxidación del etanol por acción de la ADH no puede ser metabolizado, su concentración aumenta en el citoplasma con la consiguiente inhibición de la reacción de la ADH. Son varios factores los que podrían afectar la velocidad de reoxidación del NADH como la actividad de los mecanismos del transporte de hidrogeniones a través de la membrana mitocondrial ó la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial. Los datos de Meijer et al. (1975) y de Cederbaum et al. (1977b) indican que cada uno de estos factores puede ser limitante de la velocidad de oxidación del etanol.

Siguiendo esta línea, se ha sugerido que el aumento de la capacidad de oxidación del etanol en el alcoholismo crónico se podría explicar por la existencia de un "estado hipermetabólico" del hígado, cuya causa sería primariamente un aumento de la actividad ATPasa Na/K-dependiente lo que conduciría a un aumento en el consumo de ATP, una disminución del potencial de fosforilación y un aumento del consumo de oxígeno (Israel et al., 1975; Orrego et al., 1981). Estos cambios conllevarían un aumento de la reoxidación del NADH en la mitocondria. Sin embargo, otros autores no han podido confirmar el aumento de actividad ATPasa asociado a un aumento en el consumo de oxígeno (Gordon 1977).

Es poco probable que la concentración de acetaldehído en el interior del hepatocito constituya un factor limitante de la velocidad de oxidación del etanol ya que

en el presente estudio no se observó ninguna relación entre las actividades ALDH de alta ó baja Km y la VME. Además, los pacientes con acetaldehído detectable en sangre periférica, reflejo probablemente de una mayor concentración de este metabolito en el interior de la célula hepática, fueron precisamente los que mostraban una mayor capacidad de oxidación del etanol.

El acetaldehído, primer producto de la oxidación del etanol en el hígado, es una sustancia con elevada toxicidad a la que se ha implicado en la patogenia de la enfermedad hepática alcohólica y en la aparición de la adicción al etanol. Una de las principales dificultades para aclarar la posible contribución del acetaldehído en los diversos efectos tóxicos del etanol ha sido la falta de métodos analíticos adecuados para determinar el acetaldehído en sangre humana. La formación artefactual de acetaldehído a partir del etanol (Truitt 1970; Stowell et al. 1977) y las reacciones de desaparición del acetaldehído que pueden ocurrir durante la recolección y procesamiento de las muestras de sangre (Lindros 1983) constituyen las principales fuentes de error.

El método tradicional de determinación del acetaldehído consistente en la desproteinización de la sangre total con ácido perclórico (Duritz & Truitt 1964) da lugar a la formación de importantes cantidades de acetaldehído durante el proceso de desproteinización. Con el fin de minimizar esta producción artefactual de acetaldehído se han desarrollado más recientemente algunos

métodos en los que se aplica el agente desproteinizante al plasma, en lugar de aplicarlo a la sangre total (Von Wartburg & Ris 1979; Stowell et al. 1980) o incluso en los que se obvia la desproteización realizando el análisis cromatográfico de fase gaseosa directamente del plasma (Pikkarainen et al. 1979). Sin embargo, existe todavía con estos métodos producción artefactual de acetaldehído y deben aplicarse curvas de corrección.

En el presente estudio se ha utilizado para la determinación de acetaldehído el método descrito por DeMaster et al. (1983). En este método se aplica el agente desproteinizante (polietilenglicol) al plasma, tras la centrifugación de la muestra. El polietilenglicol es un polímero sintético inerte e hidrosoluble que produce la precipitación de las proteínas mediante una exclusión del solvente (Atha & Ingham 1981). Las interacciones químicas entre el polietilenglicol y las proteínas son mínimas durante este proceso de precipitación y, consecuentemente, la proteína precipitada mantiene su estado nativo. La utilización de altas concentraciones de polietilenglicol con el fin de eliminar las proteínas sin ser desnaturalizadas, obvia el problema de la formación espontánea de cantidades importantes de acetaldehído a partir del etanol. Las pequeñas cantidades de acetaldehído que se pueden formar durante la desproteización son completamente bloqueadas por la acida sódica, por lo que este método no precisa de curva de corrección por forma-

ción artefactual. Mediante este método, la recuperación de acetaldehído exógeno a partir de la sangre humana es del 80% (DeMaster et al. 1983).

Las primeras evidencias de una mayor concentración de acetaldehído tras la administración de etanol en los individuos alcohólicos fueron aportadas por Truitt (1971). Majchrowicz & Mendelson (1971) hallaron niveles elevados de acetaldehído en los alcohólicos, pero debido a que la metodología empleada fue inadecuada y no estudiaron un grupo control, los resultados no son concluyentes. Con una metodología más perfeccionada, pero todavía inadecuada, Korsten et al. (1975) demostraron una mayor elevación de los niveles de acetaldehído en los alcohólicos que en los controles. Más recientemente Palmer & Jenkins (1982) describieron resultados similares.

Sólo en cuatro estudios recientes, realizados en alcohólicos crónicos, se ha empleado una metodología adecuada para la determinación de acetaldehído. Erikson et al. (1980) utilizando el método de la semicarbacida no detectó concentraciones significativas de acetaldehído en alcohólicos que se habían mantenido abstinentes y hospitalizados por un periodo de al menos una semana antes de ser estudiados. Por otro lado, Lindros et al. (1980) observó incrementos en las concentraciones de acetaldehído en sangre y en el aliento en seis de ocho alcohólicos a los que se administró alcohol experimentalmente tras un prolongado periodo de ingesta. Así mismo, Nuutinen et al.

(1983) detectaron una elevación de los niveles plasmáticos de acetaldehído en cinco de nueve alcohólicos que habían consumido alcohol hasta 24 horas antes del estudio. En este estudio se demuestra además que la administración de fructosa, que induce un aumento de la velocidad de oxidación del etanol, se acompaña de un significativo aumento de los niveles plasmáticos de acetaldehído. Di Padova et al. (1987) observaron que tras la administración de etanol los niveles de acetaldehído eran significativamente más elevados en un grupo de seis pacientes alcohólicos que en otro grupo de cinco pacientes no alcohólicos, presentando estos últimos unos niveles de acetaldehído que se hallaban en el límite de la sensibilidad del método y resultan de difícil valoración. Los incrementos de acetaldehído fueron significativamente inferiores cuando los mismos alcohólicos fueron estudiados nuevamente tras dos semanas de abstinencia.

Los resultados de la presente tesis confirman que los alcohólicos crónicos con una ingesta de etanol mantenida hasta pocos días antes de ser estudiados presentan una elevación de los niveles plasmáticos de acetaldehído, mientras que en los hepatópatas no alcohólicos no se detecta acetaldehído en plasma tras la administración de alcohol. Esta diferencia depende fundamentalmente de la velocidad de producción de acetaldehído a partir del etanol ya que la velocidad de oxidación del etanol fue significativamente más elevada en los alcohólicos que en

los no alcohólicos. Dentro del grupo de pacientes alcohólicos la velocidad de metabolización del etanol fue significativamente más elevada en los alcohólicos que presentaron elevación de los niveles de acetaldehído en comparación con los alcohólicos en los que no se detectó acetaldehído en plasma tras la administración de etanol. La existencia de una correlación directa significativa entre los niveles plasmáticos de acetaldehído y la velocidad de eliminación del etanol apoyan también esta hipótesis. Consecuentemente, no es de extrañar que los pacientes alcohólicos estudiados por Erikson et al. (1980), que no habían ingerido alcohol por periodos superiores a una semana, espacio en el que se normaliza la velocidad de eliminación del etanol, no presentaran una elevación del acetaldehído plasmático tras la administración de etanol. La significativa disminución de los niveles de acetaldehído tras la supresión de la ingesta alcohólica observada por Di Padova et al. (1987), apoya también esta posibilidad.

La ausencia de acetaldehído detectable en los individuos no alcohólicos, coincide con observaciones previas (Palmer & Jenkins, 1982; Nuutinen et al. 1983). En estudios recientes, únicamente Matthewson et al. (1986) han hallado acetaldehído en el plasma de pacientes con una hepatopatía de origen no alcohólico, tras la administración de alcohol. En este estudio, aunque publicado recientemente, se determina el acetaldehído según el método de Von Wartburg & Ris (1979), que se ha demostrado

da lugar a una notable producción artefactual de acetaldehído (Eriksson 1983), tal como lo sugiere los elevados niveles detectados, superiores incluso a los hallados en pacientes alcohólicos, con métodos más modernos de determinación del acetaldehído. Utilizando estos métodos, solo en casos de influencias étnicas (Harada et al. 1983a,b) o de interacción entre el etanol y disulfiram (Peachey & Sellers, 1981) o sustancias de acción similar (Brien et al., 1980; Barnett et al., 1981) , se han podido detectar concentraciones plasmáticas de acetaldehído superiores a 10 μ M.

La falta de correlación entre los niveles de acetaldehído y la actividad ADH hepática no es de extrañar ya que la actividad de este enzima no se correlaciona tampoco con la velocidad de eliminación del etanol, tal como se ha comentado anteriormente.

Diversos autores han sugerido que la elevación de los niveles de acetaldehído en los pacientes alcohólicos dependería de la reducción de la actividad ALDH hepática (Palmer & Jenkins, 1982; Petersen et al. 1977; Nuutinen et al., 1983). Los datos del presente estudio, si bien confirman la existencia de una reducción de la actividad ALDH en los alcohólicos, que es proporcional a la severidad de las lesiones hepáticas, indican que la aparición de acetaldehído en plasma no depende de la disminución de la actividad de este enzima hepático ya que no se ha observado ninguna relación significativa entre la activi-

dad ALDH total o de baja Km y los niveles de acetaldehído, ni existen diferencias en las actividades de este enzima entre los alcohólicos que presentaron elevación del acetaldehído en comparación a los que no se detectó acetaldehído al administrar etanol. Además, en los hepátópatas no alcohólicos, en los que existe también una reducción de la actividad ALDH de baja Km proporcional a la severidad de las lesiones hepáticas, no se ha detectado en ningún caso acetaldehído en sangre periférica, indicando, por tanto, que la aparición de acetaldehído en sangre depende fundamentalmente de la velocidad de producción de este metabolito, que es significativamente más rápida en los alcohólicos crónicos.

La falta de relación entre la actividad ALDH y los niveles de acetaldehído indican que deben ser otros factores los que limiten la velocidad de transformación del acetaldehído en acetato. Esta transformación requiere, al igual que la transformación de etanol en acetaldehído, la presencia de NAD⁺ que es convertido a NADH. Dado que la disponibilidad de NAD⁺ es uno de los principales factores limitantes de la velocidad de oxidación del etanol, y este es transformado, mol a mol, en acetaldehído, es probable que la disminución de la concentración citoplasmática y mitocondrial de NAD⁺ que se produce durante la oxidación del etanol limite también la transformación de acetaldehído en acetato, siendo una vez más, la disponibilidad de cofactores, más que la actividad enzimática neta, lo que limitaría la velocidad de reacción.

Los resultados de la presente tesis, conjuntamente con los de otros autores que han utilizado métodos adecuados para la determinación del acetaldehído (Eriksson & Peachey 1980; Nuutinen et al., 1983; Lindros 1983), indican que en la población occidental no alcohólica los niveles de acetaldehído tras la administración de etanol son indetectables, hecho que contrasta con los datos obtenidos en la población oriental. Se ha demostrado que entre los orientales la ingesta de alcohol produce una importante elevación del acetaldehído en sangre en una considerable proporción de individuos sanos no alcohólicos. Las primeras evidencias experimentales de esta peculiaridad étnica se basaron en una metodología inadecuada (Ewing et al., 1974; Zeiner et al., 1979), pero en la actualidad está bien establecido, utilizando métodos adecuados, que el 50% de los japoneses presentan un incremento de los niveles de acetaldehído en sangre tras la ingesta de alcohol (Agarwal et al. 1984; Harada et al. 1983a; Inoue et al., 1984). Los niveles de acetaldehído tras dosis moderadas de alcohol (0.4 g/Kg) oscilan entre 10 y 50 μ M. Además los niveles de acetaldehído se correlacionan con el grado de eritema facial y con la excreción urinaria de catecolaminas (Mizoi et al., 1979; Inoue et al., 1980).

Inicialmente, Von Wartburg sugirió que el aumento de los niveles de acetaldehído en los orientales dependería de la existencia de la ADH "atípica" (Von Wartburg et al.

1968). Esta hipótesis se basaba en la alta prevalencia de ADH atípica entre los orientales. Estudios más recientes de Agarwal et al. (1981) y Harada et al. (1980,1982) demuestran, sin embargo, que el incremento de acetaldehído aparece en los individuos orientales que tienen un déficit congénito de la ALDH de baja Km. Por tanto, la base metabólica por la que se produce un aumento de acetaldehído en los orientales sanos (déficit congénito de ALDH) sería distinto a la de los alcohólicos occidentales (aumento de la velocidad de oxidación del etanol).

La observación de que la proporción de alcohólicos con acetaldehído detectable en sangre periférica es similar entre los diversos grupos de alcohólicos con lesiones hepáticas de distinta severidad, no descarta la posible participación de esta sustancia en la aparición de lesiones hepáticas, ya que la fracción de acetaldehído que aparece en plasma representa menos del 1% de todo el acetaldehído producido a partir del etanol, pero sugiere que deben existir otros factores que determinen una cierta predisposición individual para el desarrollo de lesiones hepáticas, ya que ante una misma intensidad y duración del alcoholismo hay sujetos que desarrollan lesiones hepáticas mientras otros no las presentan. Se ha sugerido que esta predisposición individual podría ser debida a factores genéticos.

Diversos estudios indican que existe una predisposición familiar al alcoholismo. Se ha demostrado que el alcoholismo es cinco veces más frecuente entre los fami-

liares de primer grado de individuos alcohólicos que en la población general. Ademäs, la incidencia de alcoholismo es igual en hijos de padres alcohólicos que han sido adoptados que en sus hermanos mellizos no adoptados, lo que sugiere la existencia de una susceptibilidad genética al alcoholismo (Goodwin 1981). Se ha postulado que la variabilidad genética en los principales enzimas responsables del metabolismo del etanol, ADH y ALDH, podría condicionar esta predisposición. La variabilidad genética de estos isoenzimas podría también determinar una distinta predisposición individual para el desarrollo de lesiones hepáticas.

Algunos autores han sugerido que los alcohólicos presentan una reducción primaria de la actividad ALDH (Jenkins et al. 1980; Thomas et al. 1982), mientras que otros concluyen que la disminución de la actividad ALDH sería secundaria al alcoholismo (Jenkins et al. 1984; Nilius 1983; Koyata et al., 1985). Por otro lado, el análisis de la actividad ADH en alcohólicos ha mostrado resultados contradictorios; algunos autores han hallado una disminución de la actividad ADH en los alcohólicos crónicos (Nuutinen et al., 1983) mientras que otros no han hallado diferencias singificativas (Mezey & Tobon 1971), y no disponemos de datos concluyentes sobre la influencia del alcoholismo y de la lesión hepática sobre la actividad de este enzima.

En el presente estudio se demuestra que la actividad

de los enzimas hepáticos ADH y ALDH de baja Km guarda relación con la severidad de las lesiones hepáticas. La actividad ALDH de baja Km disminuyó progresivamente a medida que aumentó la gravedad de las lesiones hepáticas tanto en los hepatópatas alcohólicos como en los no alcohólicos. Además, en ambos grupos de pacientes, la actividad de este enzima se correlacionó también con las pruebas de funcionalismo hepático. Estos datos sugieren que la reducción de la actividad ALDH de baja Km, que presentan tanto alcohólicos como no alcohólicos, es más una consecuencia del daño hepático que un defecto genético primario o un efecto inhibitorio del alcohol sobre este enzima, como otros autores han sugerido (Palmer & Jenkins 1985). La falta de relación entre la actividad ALDH de baja Km y la intensidad o duración del alcoholismo contradicen también esta última hipótesis.

Las actividades ALDH total y ALDH de alta Km se vieron menos influenciadas por la existencia de lesiones hepáticas que la actividad ALDH de baja Km. Solo los pacientes con cirrosis asociada a hepatitis alcohólica presentaron una reducción de la actividad de estos enzimas, mientras que entre los otros subgrupos de pacientes alcohólicos y no alcohólicos las actividades fueron muy similares. Además, estas actividades enzimáticas no se correlacionaron tampoco con las pruebas de funcionalismo hepático, lo que corrobora la falta de relación entre el daño celular hepático y la actividad ALDH de alta Km. Estos resultados coinciden con los de Nuutinen (1986) y

Ricciardi et al. (1983) quienes hallaron una reducción de la actividad ALDH de baja Km proporcional a la severidad de las lesiones hepáticas en pacientes alcohólicos y no alcohólicos, sin cambios en la actividad ALDH de alta Km.

El distinto comportamiento de la ALDH de alta Km y ALDH de baja Km en relación a la gravedad de las lesiones hepáticas podría estar en relación a la distinta localización de cada isoenzima en el interior del hepatocito. La ALDH de baja Km posee una localización fundamentalmente mitocondrial mientras que la ALDH de alta Km es de localización citoplasmática (Borson & Li 1986). Los estudios ultraestructurales han demostrado notables cambios morfológicos mitocondriales en los alcohólicos (Rubin et al. 1970). Se han descrito también cambios en la estructura mitocondrial en múltiples hepatopatías de origen no alcohólico (Sternlieb 1979). Estas anomalías en la estructura mitocondrial se asocian a defectos funcionales (Rubin et al. 1972). Las alteraciones de la estructura y función mitocondrial podrían causar una disminución de la actividad de la isoenzima de localización mitocondrial mientras que la isoenzima de localización citoplasmática conservaría su actividad.

A pesar de la relación observada entre la actividad ALDH de baja Km y la severidad de las lesiones hepáticas, los resultados del presente estudio no permiten excluir un defecto primario de la actividad ALDH en los alcohólicos dado que no se dispone de información sobre

la actividad ALDH en biopsias hepáticas de individuos sin hepatopatía. Sin embargo, existen otras evidencias que apoyan la hipótesis de que la disminución de la actividad ALDH de baja Km en los alcohólicos es secundaria a la hepatopatía. Así, se han descrito alteraciones cuantitativas y cualitativas de la actividad ALDH en animales de experimentación, secundarias a lesiones hepáticas inducidas por etanol (Koivula et al., 1975; Alderman et al., 1985). Además, Jenkins et al. (1984) demostraron que los alcohólicos que se mantenían abstinentes presentaban un aumento significativo de la actividad ALDH hepática, mientras que aquellos otros que mantenían la ingesta de alcohol presentaban una mayor reducción de la actividad de este enzima. Todo ello sugiere que la reducción de la actividad ALDH de baja Km es consecuencia de la alteración de la estructura y función hepáticas inducidas por el etanol, más que un defecto primario que predisponga al alcoholismo.

Los pacientes alcohólicos presentaron una reducción de la actividad ADH en relación a los no alcohólicos, tal como han observado otros autores (Thomas et al., 1982; Nuutinen et al., 1983; Nuutinen 1986). En el presente estudio se demuestra además que la reducción en la actividad ADH está relacionada con la severidad de las lesiones hepáticas. Así, los pacientes con hepatitis alcohólica, cirrosis ó cirrosis asociada a hepatitis alcohólica presentaron actividades ADH significativamente inferiores a los pacientes alcohólicos con hígado normal,

esteatosis ó fibrosis. Además, en los pacientes alcohólicos se observó una correlación significativa entre actividad ADH y los parámetros de función hepática.

Contrariamente a los datos observados en los pacientes alcohólicos, en pacientes con hepatopatía de origen no alcohólico la actividad ADH no guardó relación con la severidad de las lesiones hepáticas, de forma que esta actividad fue igual en los pacientes con hepatitis crónica que en los enfermos con cirrosis no alcohólica. Además, en los pacientes no alcohólicos la actividad ADH no se correlacionó tampoco con los parámetros de función hepática. Por otra parte, la actividad ADH fue significativamente inferior en la cirrosis alcohólica que en la no alcohólica.

Estos hallazgos podrían explicarse, en parte, teniendo en cuenta la distribución de la ADH en las distintas zonas del lobulillo hepático. Se ha demostrado que la ADH se distribuye predominantemente en la zona centrolobulillar (Buhler et al. 1982a). Por tanto, la reducción de la actividad ADH en los alcohólicos podría ser secundaria a la lesión de la zona 3 del acino hepático, area que se halla específicamente dañada en la hepatopatía de origen alcohólico (Fleming & McGee 1984). El hallazgo de una elevación de la actividad ADH sérica en pacientes con intensa necrosis centrolobulillar (Kato et al., 1984) y en ratas tratadas con bromobenceno (Kato et al., 1985), que presentan una intensa necrosis de esta

area del lobulillo hepático, apoyan también esta posibilidad. Esta hipótesis, de todas formas, debe considerarse con ciertas precauciones ya que los pacientes con actividades ADH más bajas fueron los alcohólicos cirróticos, en los que la alteración de la arquitectura hepática hace que no se hallen venas centrales. Por tanto, la reducción de la actividad ADH en los cirróticos alcohólicos puede resultar de lesiones hepáticas no localizadas estrictamente en el area centrolobulillar, pero causantes de una notable alteración del funcionalismo hepático, tal como lo indican la reducción del tiempo de protrombina y concentración plasmática de albúmina que presentan estos pacientes. Otro de los mecanismos que podría jugar un papel en la reducción de la actividad ADH en los enfermos alcohólicos con hepatopatía, es el déficit de zinc hepático que se ha documentado en estos pacientes (Parés et al. 1986). La reducción del contenido hepático de zinc resulta proporcional a la severidad de las lesiones hepáticas y se ha observado, en estudios experimentales en animales, que la reducción del contenido hepático de zinc resulta en una disminución de la actividad ADH hepática ya que esta es una metaloenzima que posee este metal (Das et al. 1984).

En el presente estudio las actividades ADH y ALDH hepáticas se expresan en relación a las proteínas del homogenado hepático. La disminución de las actividades enzimáticas podría también ser debida, en principio, a un acúmulo de otras proteínas en la célula hepática. Se ha

demostrado (Lieber 1984) que en los alcohólicos con hepatomegalia el acúmulo de proteína es tan importante como el acúmulo de lípido. En el presente estudio no se observaron diferencias en la concentración de proteínas en el tejido hepático entre los individuos alcohólicos y los no alcohólicos. La concentración hepática de proteínas fue similar en los distintos subgrupos de pacientes alcohólicos y no alcohólicos, sólo los pacientes con cirrosis asociada a hepatitis alcohólica presentaban una menor concentración de proteínas. Las actividades ADH y ALDH de alta Km no se correlacionaron con la concentración hepática de proteínas, mientras que se observó una débil correlación positiva entre la concentración hepática de proteínas y la actividad ALDH de baja Km. Estos datos indican que la disminución de la actividad de estas enzimas no depende de un acúmulo de proteínas en el interior del hepatocito dado que en este caso se hubiera esperado una correlación negativa entre las actividades enzimáticas y el contenido de proteínas del tejido hepático.

La actividad ADH hepática constituye la suma de actividades de varios isoenzimas, todos ellos de localización citoplasmática. Está bien establecido que existen múltiples formas moleculares de ADH (Bosron et al. 1983c). Esta heterogeneidad queda bien definida mediante la electroforesis en gel de almidón seguida de tinción del gel para actividad ADH. Existen también dos isoenzi-

mas principales de la ALDH aunque la base genética de estos isoenzimas es menos conocida que en el caso de la ADH. La variabilidad genética de estos enzimas podría ser uno de los factores responsables de la distinta predisposición individual a la aparición de lesiones hepáticas que se ha observado en los alcohólicos y de la distinta susceptibilidad a los efectos agudos del etanol que presentan algunos grupos raciales.

Existen múltiples formas moleculares de ADH que vienen determinadas por un modelo genético (Bosron & Li 1981; Vallee & Bazzone 1983). El modelo asume que los isoenzimas son producidos por cinco locus genéticos distintos: ADH1, ADH2, ADH3, ADH4 y ADH5, que codifican las subunidades polipeptídicas α , β , τ , π y X respectivamente. Tres de estas subunidades se pueden combinar entre sí formando isoenzimas homodiméricas (e.g, $\alpha\alpha$ ó $\beta\beta$) o bien isoenzimas heterodiméricas (e.g. $\alpha\beta$ ó $\beta\tau$).

No se ha demostrado en ninguna ocasión polimorfismo para los genes ADH1, ADH4 y ADH5. En cambio, se he observado polimorfismo para el gen ADH3, con dos alelos ADH3-1 y ADH3-2 que dan lugar a las subunidades τ_1 y τ_2 respectivamente (Smith et al. 1972). También se ha observado polimorfismo para el gen ADH2, con tres alelos: ADH2-1, que codifica la subunidad β_1 , ADH2-2 que codifica la subunidad β_2 , denominada "atípica" y ADH2-3 que codifica la subunidad β_3 , denominada "Indianápolis" (Bosron & Li 1986).

En el presente estudio, en coincidencia con ante-

riores trabajos (Bosron & Li 1986), no se han hallado variantes del locus ADH1 que codifica, por tanto, un solo tipo de cadenas α .

La frecuencia de ADH atípica, que contiene cadenas β_2 y presenta un pH de máxima actividad a 8.5, fue similar entre los pacientes alcohólicos (6.7%) y los enfermos portadores de una hepatopatía de origen no alcohólico (8.3%). Por tanto, los resultados del presente estudio indican que la presencia de ADH atípica no debe ser un factor determinante en la aparición de una hepatopatía de origen alcohólico. Sin embargo, la prevalencia de la forma atípica fue significativamente inferior en pacientes con enfermedad hepática (7.1%) que en una población control de Barcelona, que fue analizada simultáneamente al grupo de pacientes que forman la base de este estudio, en la que la prevalencia de ADH atípica fue del 22% (Soler 1985). Este dato permite sugerir que los pacientes con ADH atípica podrían tener un menor riesgo de desarrollar enfermedades hepáticas independientemente de la etiología alcohólica. En estudios efectuados en población europea Smith et al., (1972) hallaron un fenotipo atípico en el 6% de la población inglesa estudiada y Harada et al. (1985) demostraron que la frecuencia de ADH atípica en la población germana era del 20%. En contraste, los estudios efectuados en población oriental han observado prevalencias de ADH atípica muy superiores, alrededor del 90% (Harada et al., 1985, Goede

et al., 1983b).

Entre los pacientes de este estudio no se halló ningún caso de fenotipo ADH2 Indianápolis. Agarwal et al. (1981) no halló tampoco ningún caso de esta variante en población europea. Borson et al. (1983c) hallaron una frecuencia del alelo ADH2 Indianápolis de 0.16 entre los negros norteamericanos, la más alta observada en todos los grupos raciales estudiados hasta la actualidad.

La frecuencia de alelos del locus ADH3 fue de 0.60 para el alelo ADH3-1 y de 0.40 para el alelo ADH3-2. Esta frecuencia es exactamente igual a la observada por Smith et al. (1972) en un grupo de población inglesa. En contraste, en la población japonesa la frecuencia del alelo ADH3-1 es de 0.91 y la del alelo ADH3-2 de 0.09 (Harada et al., 1980).

Es de interés notar que la frecuencia fenotípica de los alelos ADH3 que presentó el grupo de individuos alcohólicos del presente estudio, fue significativamente distinta a la calculada según la ley de equilibrio de los genotipos de Hardy-Weimberg, con una prevalencia del fenotipo r1r2 muy superior al esperado. En cambio, en los pacientes con hepatopatía de origen no alcohólico la frecuencia de los fenotipos codificados por el locus ADH3 siguió el principio de equilibrio de los genotipos. El hecho de que los fenotipos ADH3 se hallen en desequilibrio en la población alcohólica significa que puede existir algún proceso de selección. En la muestra estudiada la selección podría venir mediada por dos mecanismos. En

primer lugar, podría existir una mayor predisposición al alcoholismo en los pacientes portadores del fenotipo r1r2; en segundo lugar, dado que la mayor parte de la población alcohólica estudiada sufría lesiones hepáticas inducidas por el etanol, el desequilibrio podría venir dado por una mayor predisposición al desarrollo de lesiones hepáticas en los pacientes alcohólicos con fenotipo r1r2. El análisis de los fenotipos de los distintos subgrupos de pacientes alcohólicos apoya esta segunda posibilidad. Así, en los alcohólicos con hígado normal o esteatosis la frecuencia fenotípica del locus ADH3 siguió el principio de equilibrio de los genotipos, mientras que en los pacientes con lesiones hepáticas severas como fibrosis, hepatitis alcohólica ó cirrosis la frecuencia fenotípica fue significativamente distinta a la calculada según la ley de Hardy-Weinberg. Riccardi et al., (1983), únicos autores que han analizado hasta la actualidad la frecuencia de los fenotipos ADH3 en un grupo de población alcohólica occidental, no hallaron diferencias en la frecuencia fenotípica del gen ADH3 de un grupo de alcohólicos con respecto a un grupo control, ni desequilibrio en la distribución de los fenotipos. Estos hallazgos podrían depender de la composición de su muestra de individuos alcohólicos ya que una tercera parte de estos presentaban solo esteatosis y en su comunicación no detallan la frecuencia fenotípica según el grado de lesión hepática.

En todos los pacientes estudiados, tanto alcohólicos como no alcohólicos se observó la banda del isoenzima de la clase II π -ADH, banda que migra, al igual que las α , β y γ , hacia el cátodo, localizándose entre el origen y la banda α . La π -ADH oxida el etanol a una velocidad máxima similar al 1-pentanol pero su K_m para el etanol es alta, 34 mM (Li et al., 1977), lo que indica que su papel en el metabolismo del etanol en el hombre debe ser escaso debido a las altas concentraciones que requeriría para que esta enzima tuviera una actividad significativa.

También en todos los casos estudiados se halló la banda correspondiente al isoenzima de la clase III X-ADH. Esta banda, a diferencia de las anteriores, se localiza en la región anódica. Este isoenzima tiene una baja capacidad para oxidar el etanol, siendo activo con alcoholes de cadena más larga (Pares & Vallee 1981).

La electroforesis en gel de almidón demostró también diferencias en las bandas de la ALDH entre individuos alcohólicos y no alcohólicos. La banda del isoenzima ALDH₁, de localización citoplásmica y con alta K_m para el acetaldehído, se detectó en todos los pacientes estudiados, tanto alcohólicos como no alcohólicos. En cambio, la banda del isoenzima ALDH₂, con baja K_m para el acetaldehído y de localización mitocondrial, fue indetectable en una mayor proporción de los individuos alcohólicos que de los no alcohólicos. La prevalencia de ausencia de la banda ALDH I fue mayor a medida que aumentó la severidad de las lesiones hepáticas. La ausencia de la

banda ALDH2 observada en la población del presente estudio no representa probablemente una variante genética tal como se ha descrito en la población oriental (Impraim et al., 1982), en la que alrededor del 50% de individuos presentan una variante ALDH2 inactiva, ya que este isoenzima se detectó en todos los miembros estudiados de una muestra de la población general del mismo origen que los pacientes que integran el presente estudio (Soler 1985). Los pacientes en los que no se detectó la banda de ALDH2 fueron precisamente aquellos que presentaban unas actividades ALDH de baja Km más deprimidas. Por tanto, la falta de detección de la ALDH2 es probablemente una consecuencia de la disminución de actividad de este isoenzima, que resulta más marcada en pacientes alcohólicos con lesiones hepáticas severas como hepatitis alcohólica y cirrosis. Estos hallazgos indican que la isoenzima ALDH2 es más sensible a la lesión de la célula hepática, especialmente en los alcohólicos quienes presentan con mayor frecuencia alteraciones mitocondriales (Arai et al. 1984, Bruguera et al. 1977, Rubin 1970).

IV. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral permiten extraer las siguientes conclusiones:

1. En los pacientes alcohólicos crónicos la velocidad de eliminación del etanol está relacionada con la severidad de la lesión hepática y con el grado de función hepatocelular y resulta independiente de las actividades alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa del tejido hepático.

2. El incremento de los niveles plasmáticos de acetaldehído observado en los alcohólicos crónicos durante el metabolismo del etanol se debe a una mayor capacidad oxidativa del etanol y no está relacionada con la actividad alcohol deshidrogenasa ni aldehído deshidrogenasa del tejido hepático.

3. En los pacientes alcohólicos crónicos la existencia de lesiones histológicas en el hígado se asocia a una disminución de la actividad de los enzimas alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa de baja K_m en el tejido hepático.

4. El descenso de la actividad aldehído deshidrogenasa hepática de baja K_m está relacionada con la intensidad de la lesión hepática y es independiente de la etiología alcohólica.

5. La disminución de la actividad alcohol deshidrogenasa hepática está relacionada con la intensidad de la lesión histológica solo en los pacientes alcohólicos, lo que podría depender de la distribución de las lesiones en estos pacientes con una afectación predominante del área

centrolobulillar, donde existe una mayor concentración de alcohol deshidrogenasa.

6. La relación existente entre la disminución de las actividades alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa y el grado de lesión hepática en los pacientes alcohólicos sugiere que los cambios en las actividades enzimáticas no constituyen anomalías primarias que predispongan al alcoholismo ó al desarrollo de lesiones hepáticas sino que son consecuencia de la lesión celular.

7. La prevalencia del fenotipo "atípico" del locus ADH-2 es similar en los hepatópatas alcohólicos y no alcohólicos.

8. La ausencia del fenotipo "Indianápolis" del locus ADH-2 en los individuos estudiados sugiere que la prevalencia de este fenotipo debe ser extremadamente baja en este grupo de población.

9. La mayor prevalencia del fenotipo $r1r2$ del locus ADH-3 en los alcohólicos con hepatopatía severa en relación a los alcohólicos con lesiones leves, indica que este fenotipo puede conllevar una cierta predisposición para el desarrollo de lesiones hepáticas graves en los individuos alcohólicos.

BIBLIOGRAFIA

- Abriola D P, Fields R, Stein S, Mackerellad A D, Pietruszko R 1987. Active site of human liver aldehyde dehydrogenase. *Biochemistry* 18:5679-5684
- Actis G C, Ponzetto A, Rizzetto M 1978. Cell-mediated immunity to acetaldehyde in alcoholic liver disease demonstrated by leukocyte migration test. *Am J Dig Dis* 23:883-886
- Adinolfi A, Adinolfi M, Hopkinson D A, Harris H 1978. Immunological properties of the human alcohol dehydrogenase (ADH) isozymes. *J Immunogenet* 5:283-296
- Adinolfi A, Hopkinson D A 1978b. Blue Sepharose chromatography of human alcohol dehydrogenase: Evidence for interlocus and interallelic differences in affinity characteristics. *Ann Hum Genet* 41:399-407
- Adinolfi A, Adinolfi M, Hopkinson D A 1984. Immunological and biochemical characterization of the human alcohol dehydrogenase chi ADH isozyme. *Ann Hum Genet* 48:1-10
- Admirant W H, Cronholm T, Sjoval J 1970. Reduction of dehydroepiandrosterone sulfate in the liver during ethanol metabolism. *Biochim Biophys Acta* 202:343-348
- Agarwal D P, Harada S, Goedde H W 1981. Racial differences in biological sensitivity to ethanol: The role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase isozymes. *Alcohol: Clin Exp Res* 5:12-16
- Agarwal D P, Meier-Tackman D, Harada S, Goedde H W 1981b. A search for the Indianapolis-variant of human alcohol dehydrogenase in liver autopsy samples from North Germany and Japan. *Hum Genet* 59:170-171
- Agarwal D P, Eckey R, Harada S, Goedde H W 1984. Basis of aldehyde dehydrogenase deficiency in orientals: Immunochemical studies. *Alcohol* 1:111-118
- Alderman J A, Sanny C, Gordon E, Lieber C S 1985. Ethanol feeding can produce secondary alterations in aldehyde dehydrogenase isoenzymes. *Alcohol* 2:91-95
- Algar E M, Holmes R S 1986. Liver cytosolic aldehyde dehydrogenases from "alcohol-drinking" and "alcohol-avoiding" mouse strains: purification and molecular properties. *Int J Biochem* 18:49-56
- Arai M, Leo M A, Nakano M, Lieber C S 1984. Biochemical and morphological alterations on baboon hepatic mitochondria after chronic ethanol consumption. *Hepatology* 4:165-174

- Arakawa M, Taketomi S, Furuno K, Matsuo T, Iwatsuka H, Suzuoki Z 1975. Metabolic studies on the development of ethanol-induced fatty liver in KK-Ay mice. *J Nutr* 105:1500-1508
- Atha D H, Ingham K C 1981. Mechanism of precipitation of proteins by polyethylene glycols. Analysis in terms of excluded volume. *J Biol Chem* 256:12108-12117
- Azevedo E S, da Silva M C, Tavares-Neto J 1975. Human alcohol dehydrogenase ADH1, ADH2 and ADH3 loci in a mixed population of Bahia, Brazil. *Ann Hum Genet* 39:321-327
- Bailey R J, Krasner N, Eddelston A L W F, et al 1976. Histocompatibility antigens, autoantibodies and immunoglobulins in alcoholic liver disease. *Br Med J* 2:727-729
- Baraona E, Leo M A, Borowsky S A, Lieber C S 1975. Alcoholic hepatomegaly: accumulation of protein in the liver. *Science* 190:794-795
- Baraona E, Leo M A, Borowsky S A, Lieber C S 1977. Pathogenesis of alcohol-induced accumulation of protein in the liver. *J Clin Invest* 50:546-554
- Baraona E, Pikkarainen P, Salaspuro M, Finkelman F, Lieber C S 1980. Acute effects of ethanol on hepatic protein synthesis and secretion in the rat. *Gastroenterology* 79:104-111
- Barnett A H, Gonzalez-Auvert C, Pyke D A, Saunders J B, Williams R, Dickenson C J, Rawlins M D 1981. Blood concentrations of acetaldehyde during chlorpropamide-alcohol flush. *Br Med J* 283:939-941
- Behrens U J, Paronetto F 1979. Studies on "liver-specific" antigens. I. Evaluation of the liver specificity of "LSP and LSP-2". *Gastroenterology* 79:1045-1052
- Beisswenger T B, Holmquist B, Vallee B L 1985. X-ADH is the sole alcohol dehydrogenase isozyme of mammalian brains: implications and inferences. *Proc Natl Acad Sci USA* 82:8368-8373
- Bernstein J, Videla L, Israel Y 1973. Metabolic alterations produced in the liver by chronic ethanol administration. Changes related to energetic parameters of the cell. *Biochem J* 134:515-522
- Bernstein J, Videla L, Israel Y 1975. Hormonal influences in the development of the hypermetabolic state of the liver produced by chronic administration of ethanol. *J Pharmacol Exp Ther* 192:583-591

- Bjorkhem I 1972. On the role of alcohol dehydrogenase in oxidation of fatty acids. *Eur J Biochem* 30:441-445
- Blomstrand R, Kager L, Lantto O 1973. Studies on the ethanol-induced decrease of fatty acid oxidation in rats and human liver. *Life Sci* 13:1131-1141
- Bode J C 1980. Factors influencing alcohol elimination in man. *INSERM* 95:65-92
- Bode J C, Thiele D 1975. Hemmung des athanolabbaus beim menschen durch fasten: reversibilitate durch fructose-infusion. *Deustch Med Wochenschr* 100:1849-1851
- Bode J C, Bode Ch, Thiele D 1979. Alcohol metabolism in man: Effect of intravenous fructose infusion on blood ethanol elimination rate following stimulation by phenobarbital treatment or chronic alcohol consumption. *Klin Wochenschr* 57:125-130
- Bosron W F, Li T K, Defeldecker W P, Vallee B L 1979a. Human liver pi alcohol dehydrogenase Kinetic and molecular properties. *Biochemistry* 18:1101-1105
- Bosron W F, Li T K, Vallee B L 1979b. Heterogeneity and new molecular forms of human liver alcohol dehydrogenase. *Biochem Biophys Res Commun* 91:1549-1555
- Bosron W F, Li T K, Vallee B L 1980. New molecular forms of liver alcohol dehydrogenase: Isolation and characterization of ADH Indianapolis. *Proc Natl Acad Sci USA* 77:5784-5788
- Bosron W F, Li T K 1981. Genetic determinants of alcohol and aldehyde dehydrogenases and alcohol metabolism. *Sem Liv Dis* 1:179-188
- Bosron W F, Crabb D W, Li T K 1983a. Relationship between kinetics of liver alcohol dehydrogenase and alcohol metabolism. *Pharmacol Biochem Behav* 18:223-227
- Bosron W F, Magnes L J, Li T K 1983b. Human liver alcohol dehydrogenase: ADH Indianapolis results from genetic polymorphism at the ADH2 gene locus. *Biochem Genet* 21:735-744
- Bosron W F, Magnes L J, Li T K 1983c. Kinetic and electrophoretic properties of native and recombined isoenzymes of human liver alcohol dehydrogenase. *Biochemistry* 22:1852-1857
- Bosron W F, Crabb D W, Housinger T A, Li T K 1984. Effect of fasting in the activity and turnover of rat liver alcohol dehydrogenase. *Alcohol: Clin Exp Res* 8:196-200

- Bosron W F, Li T K 1986. Genetic polymorphism of human liver alcohol and aldehyde dehydrogenases, and their relationship to alcohol metabolism and alcoholism. *Hepatology* 6:502-510
- Boveris A, Oshino N, Chance B 1972. The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochem J* 128:617-630
- Bradford A E 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annal Biochem* 5:260-263
- Brien J F, Peachey J E, Loomis C W 1980. Calcium carbimide-ethanol interaction. *Clin Pharmacol Ther* 27:426-433
- Brodie B B, Butler W M, Horning M G, Maickel R P, Maling H M 1961. Alcohol-induced triglyceride deposition in liver through derangement of fat transport. *Am J Clin Nutr* 9:432-435
- Bruguera M, Bertrán A, Bombí J A, Rodés J 1977. Giant mitochondria in hepatocytes. A diagnostic hint for alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 73:1383-1387
- Bruno R, Iliadis A, Botta A, Mariotti B, Jullien G, Cano J P 1983. Pharmacokinetic study of ethanol after oral administration: a new approach to enzymatic elimination. *Inter J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 21:363-369
- Bucher T, Klingenberg M 1958. Wege des wasserstoffs in der lebendigen organisation. *Angew Chemie* 70:552-
- Buhler R, Von Wartburg J P 1982a. Quantitation of alcohol dehydrogenase in human tissue and serum by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Alcohol:Clin Exp Res* 6:506-511
- Buhler R, Von Wartburg J P 1982b. Purification and substrate specificities of three human liver alcohol dehydrogenase isoenzymes. *FEBS Letters* 144:135-139
- Buhler R, Hempel J, Von Wartburg J P, Jornvall H 1984a. Atypical human alcohol dehydrogenase: the beta 2 Berne sub-unit has an amino acid exchange that is identical to the one of the beta 2 Oriental chain. *FEBS Lett* 173:360-366
- Buhler R, Hempel J, Kaiser R, De Zalenski C, Von Wartburg J P, Jornvall H 1984b. Human liver alcohol dehydrogenase. 2. The primary structure of the g1 protein chain. *Eur J Biochem* 145:447-453

- Buhler R, Hempel J, Kaiser R, Von Wartburg J P, Vallee B L, Jornvall H 1984c. Human alcohol dehydrogenase: Structural differences between the a and g subunits suggest parallel duplications in isoenzyme evolution and predominant expression of separate gene descendants in livers of different mammals. *Proc Natl Acad Sci USA* 81:6320-6324
- Buhler R, Von Wartburg J P 1984d. Differential susceptibility of human alcohol dehydrogenase isoenzymes to anions. *FEBS* 178:249-252
- Caballeria J, Jimenez W, Parés A, Heredia D, Mastai R, Bruix J, Bosch J, Rodés J 1985. Relationship between hepatic collagen and portal pressure in alcoholic liver disease. *J Hepatol* 1 (suppl 2):S205
- Carter E A, Isselbacher K J 1971. The role of microsomes in the hepatic metabolism of ethanol. *Ann N Y Acad Sci* 179:282-294
- Cederbaum A I, Rubin E 1976. Mechanism of the protective action of cysteine and penicillamine against acetaldehyde-induced mitochondrial injury. *Biochem Pharmacol* 25:2179-2185
- Cederbaum A I, Dicker E, Lieber C S, Rubin E 1977a. Factors contributing to the adaptive increase in ethanol metabolism due to chronic consumption of ethanol. *Alcohol: Clin Exp Res* 1:27-31
- Cederbaum A I, Dicker E, Rubin E 1977b. Transfer and reoxidation in reducing equivalents as the rate-limiting steps in the oxidation of ethanol by liver cells isolated from fed and fasted rats. *Arch Biochem Biophys* 183:638-646
- Chance B, Oshino N 1971. Kinetics and mechanisms of catalase in peroxisomes of the mitochondrial fraction. *Biochem J* 122:225-233
- Chisari F V 1980. Liver-specific protein in perspective. *Gastroenterology* 78:168-170
- Christensen J M, Angelo H, Knop J 1981. Determination of acetaldehyde in human blood by gas chromatographic method with negligible artefactual acetaldehyde formation. *Clin Chim Acta* 116:389-395
- Christoffersen P, Brendstrup O, Juhl E, Poulsen H 1971. Lipogranulomas in human liver biopsies with fatty change. *Acta Pathol Microbiol Scand* 79:150-158

- Chronholm T, Sjovall J 1970. Effect of ethanol metabolism on redox state of steroid sulphates in man. *Eur J Biochem* 13:124-131
- Clark C G, Senior J R 1968. Ethanol clearance and oxidation of ethanol to carbon dioxide in persons with and without liver disease. *Gastroenterology* 55:670-676
- Cochrane A M G, Moussouros A, Portmann B 1977. Lymphocyte cytotoxicity for isolated hepatocytes in alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 77:72-918
- Conney A H 1967. Pharmacological implications of microsomal enzyme induction. *Pharmacol Rev* 19:317-366
- Coon M J, Koop D R 1987. Alcohol-inducible cytochrome p-450 (p-450 alc). *Arch Toxicol* 60:16-21
- Cornell N W, Hansch C, Kim K H, Henegar K 1983. The inhibition of alcohol dehydrogenase in vitro and in isolated hepatocytes by 4-substituted pyrazoles. *Arch Biochem Biophys* 227:81-90
- Crabb D W, Borson W F, Li T K 1983. Steady-state kinetic properties of purified rat liver alcohol dehydrogenase application to predicting alcohol elimination rates in vivo. *Arch Biochem Biophys* 224:299-309
- Cronholm T 1987. Effect of ethanol on the redox state of the coenzyme bound to alcohol dehydrogenase studied in isolated hepatocytes. *Biochem J* 248:567-572
- Crouse J R, Gerson C D, DeCarli L M, Lieber C S 1968. Role of acetate in the reduction of plasma free fatty acids produced by ethanol in man. *J Lipid Res* 9:509-512
- Das I, Burch R E, Hahn H K J 1984. Effects of zinc deficiency on ethanol metabolism and alcohol and aldehyde dehydrogenase activities. *J Lab Clin Med* 104:610-617
- DeMaster E G, Redfern B, Weir E K, Pierpont G L, Crouse L J 1983. Elimination of artifactual acetaldehyde in the measurement of human blood acetaldehyde by the use of polyethylene glycol and sodium azide: normal blood acetaldehyde levels in the dog and human after ethanol. *Alcoholism: Clin Exp Res* 7:436-442
- Dhinagra R, Kanagansundaran N, Leevy C M 1980. Mechanism of intrahepatic polymorphonuclear leukocyte (PML) accumulation in alcoholic hepatitis. *Gastroenterology* 79:1013

- DiLuzio N R, Stege T E 1977. The role of ethanol metabolism in hepatic lipid peroxidation. Fisher MM Rankin JG;eds. Alcohol and the liver; Vol 3. New York. Plenum Press
- Di Padova C, Worner T M, Lieber C S 1987. Effect of abstinence on the blood acetaldehyde response to a test dose of alcohol in alcoholics. Alcoholism: Clin Exp Res 11:559-561
- Domschke S, Domschke W, Lieber C S 1974. Hepatic redox state: Attenuation of the acute effects of ethanol induced by chronic ethanol consumption. Life Sci 15:1327-1334
- Dow J, Krasner N, Goldberg A 1975. Relation between hepatic alcohol dehydrogenase activity and the ascorbic acid in leucocytes of patients with liver disease. Clin Sci Molec Med 49:603-608
- Duester G, Hatfield G W, Buhler R, et al 1984. Molecular cloning and characterization of a cDNA for the a subunit of human alcohol dehydrogenase. Proc Natl Acad Sci USA 81:4055-4059
- Duester G, Smith M, Blanchione V, et al 1986. Molecular analysis of the human class I alcohol dehydrogenase gene family and nucleotide sequence of the gene encoding the a subunit. J Biol Chem 162:2027-2033
- Duley J A, Harris O, Holmes R S 1985. Analysis of human alcohol and aldehyde-metabolizing enzymes by electrophoresis and isoelectric focusing. Alcoholism: Clin Exp Res 9:263-271
- Duritz G, Truitt E B 1964. A rapid method for the simultaneous determination of acetaldehyde and ethanol in blood using gas chromatography. Q J Stud Alcohol 25:498-510
- Eddleston A L W F, Davis M 1982. Histocompatibility antigens in alcoholic liver disease. Br Med Bull 38:13-16
- Edenberg H J, Zhang K 1986. Human a1 alcohol dehydrogenase cDNA. Alcoholism: Clin Exp Res 10:109
- Edmondsdon H A, Peters R L, Reynolds T B 1963. Sclerosing hyaline necrosis of the liver in the chronic alcoholic. Ann Int Med 59:646-673
- Edwards J A, Price Evans D A 1967. Ethanol metabolism in subjects possessing typical and atypical live alcohol dehydrogenase. Clin Pharmacol Therap 8:824-829

- Eklund H, Horjales E, Vallee B L, Jornvall H 1987. Computer-graphics interpretations of residue exchanges between the α , β and γ subunits of human liver alcohol dehydrogenase class I isozymes. *Eur J Biochem* 167:185-193
- Eriksson C J P 1983. Human blood acetaldehyde concentration during ethanol oxidation (update 1982). *Pharm Biochem Behavior* 18 (Suppl 1):141-150
- Eriksson C J P, Peachey J E 1980. Lack of difference in blood acetaldehyde of alcoholics and controls after ethanol ingestion. *Pharmac Biochem Behav* 13:Suppl 1:101-105
- Ewing J A, Rouse B A, Pellizzari E D 1974. Alcohol sensitivity and ethnic background. *Am J Psychiatry* 131:206-210
- Fabry T L, Lieber C S 1979. The photochemical action spectrum of the microsomal ethanol oxidizing system. *Alcohol: Clin Exp Res* 3:219-222
- Farrell G C, Cooksley W G E, Hartand P, Powell L W 1978. Drug metabolism in liver disease. Identification of patients with impaired hepatic drug metabolism. *Gastroenterology* 75:580-588
- Feinman L, Lieber C S 1967. Effect of ethanol on plasma glycerol in man. *Am J Clin Nutr* 20:400-403
- Fernandez-Checa J C, Ookhtens M, Kaplowitz N 1987. Effect of chronic ethanol feeding on rat hepatocytis glutathione. *J Clin Invest* 80:57-62
- Feytmans E, Leighton F 1973. Effects of pyrazole and 3-amino-1,2,4-triazole on methanol and ethanol metabolism by the rat. *Biochem Pharmacol* 22:349-360
- Flemming K A, McGee J O D 1984. Alcohol induced liver disease. *J Clin Pathol* 37:721-733
- Forsander O A, Raiha-Niels C R 1960. Metabolites produced in the liver during alcohol oxidation. *J Biol Chem* 235:34-36
- Forsander O A, Maenpaa P H, Salaspuro M P 1965. Influence of ethanol on the lactate/pyruvate and hydroxybutyrate/acetoacetate ratios in rat liver experiments. *Acta Chem Scand* 19:1770-1771

- Forte-McRobbie C M, Pietruszko R 1986. Purification and characterization of human liver "high Km" aldehyde dehydrogenase and its identification as glutamic g-semialdehyde dehydrogenase. *J Biol Chem* 261:2154-2163
- Frienkel N, Arkey R A 1966. Effects of alcohol on carbohydrate metabolism in man. *Psychosom Med* 28:551
- Fritz I B 1961. Factors influencing the rates of long-chain fatty acid oxidation and synthesis in mammalian systems. *Physiol Rev* 41:52-129
- Fukui M, Wakasugi C 1972. Liver alcohol dehydrogenase in a Japanese population. *Jpn J Legal Med* 26:46-51
- Galambos G T 1972. Natural history of alcoholic hepatitis. III (histological changes). *Gastroenterology* 63:1026-1035
- Gale C C 1973. Neuroendocrine aspects of thermoregulation. *Ann Rev Physiol* 35:391-430
- Ginés P, Quintero E, Arroyo V, Terés J, Bruguera M, Rimola A, Caballería J, Rodés J, Rozman C 1987. Compensated cirrhosis: natural history and prognostic factors. *Hepatology* 7:122-128
- Ginestal da Cruz A, Pinto Correia J, Menezes L 1975. Ethanol metabolism in liver cirrhosis and chronic alcoholism. *Acta Hepato-Gastroenterol* 22:369-374
- Goedde H W, Harada S, Agarwal D P 1979a. Racial differences in alcohol sensitivity: a new hypothesis. *Hum Genet* 51:331-334
- Goedde H W, Agarwal D P, Harada S 1979b. Alcohol metabolizing enzymes: studies of isozymes in human biopsies and cultured fibroblasts. *Clin Genet* 16:29-33
- Goedde H W, Agarwal D P, Harada S 1983a. The role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase isozymes in alcohol metabolism, alcohol sensitivity, and alcoholism. *Isozymes, Current topics in Biological and Medical Research* 8:175-193
- Goedde H W, Agarwal D P, Harada S, Meier-Tackmann D, Ruofu D, Bienzle U, Kroeger A, Hussein L 1983b. Population genetic studies on aldehyde dehydrogenase isozyme deficiency and alcohol sensitivity. *Am J Hum Genet* 35:769-772
- Goodwin D W 1981. Genetic component of alcoholism. *Ann Rev Med* 32:93-99

- Gordon E R 1973. Mitochondrial functions in an ethanol-induced fatty liver. *J Biol Chem* 248:8271-8280
- Gordon E R 1977. ATP metabolism in an ethanol induced fatty liver. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1:21-25
- Greenfield N J, Pietruszko R 1977. Two aldehyde dehydrogenases from human liver. Isolation via affinity chromatography and characterization of the isozymes. *Biochim Biophys Acta* 483:35-45
- Gregory D H, Vlahcevic Z R, Prugh M F, Swell L 1978. Mechanism of secretion of biliary lipids: Role of a microtubular system in hepatocellular transport of biliary lipids in the rat. *Gastroenterology* 74:93-100
- Grunnet N, Quistroff B, Thieden H I D 1973. Rate-limiting factors in ethanol concentration, fructose, pyruvate and pyruvate. *Eur J Biochem* 40:275-282
- Hanna J M 1978. Metabolic responses of Chinese, Japanese and Europeans to alcohol. *Alcoholism: Clin Exp Res* 2:89-92
- Harada S, Agarwal D P, Goedde H W 1978. Isozyme variations in acetaldehyde dehydrogenase in human tissues. *Hum Genet* 44:181-185
- Harada S, Misawa S, Agarwal D P, Goedde H W 1980. Liver alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase in the Japanese: isozyme variation and its possible role in alcohol intoxication. *Am J Hum Genet* 32:8-15
- Harada S, Agarwal D P, Goedde H W 1981. Aldehyde dehydrogenase deficiency as cause of facial flushing reaction to alcohol in Japanese. *Lancet* 2:982
- Harada S, Agarwal D P, Goedde H W, Tagaki S, Ishikawa B 1982. Possible protective role against alcoholism for aldehyde dehydrogenase isozyme deficiency in Japan. *Lancet* 2:827
- Harada S, Agarwal D P, Goedde H W, Takagi S 1983a. Blood ethanol and acetaldehyde levels in Japanese alcoholics and controls. *Pharmacol Biochem Behav* 18s:139-140
- Harada S, Agarwal D P, Goedde H W, Ishikawa B I 1983b. Aldehyde dehydrogenase isozyme variation and alcoholism in Japan. *Pharmacol Biochem & Behav* 18S:151-153
- Harada S, Agarwal D P, Goedde H W 1985. Further characterization of aldehyde dehydrogenase isozyme variant in Japanese. *Enzymology of Carb Metab* 2:129-135

- Hasumura Y, Teschke R, Lieber C S 1975. Acetaldehyde oxidation by hepatic mitochondria: decrease after chronic ethanol consumption. *Science* 189:727-729
- Hasumura Y, Teschke R, Lieber C S 1976. Characteristics of acetaldehyde oxidation in rat liver mitochondria. *J Biol Chem* 251:4908-4913
- Hawkins R D, Kalant H, Khanna J M 1966. Effects of chronic intake of ethanol on rate of ethanol metabolism. *Canad J Psysiol Pharmacol* 44:241-257
- Hawkins R D, Kalant H 1972. The metabolism of ethanol and its metabolic effects. *Pharmacol rev* 24:67-157
- Hempel J D, Reed D M, Pietruszko R 1982. Human aldehyde dehydrogenase: improved purification procedure and comparison of homogeneous isoenzymes E1 and E2. *Alcohol: Clin Exp Res* 6:417-425
- Hempel J, Bahr-Lindstrom H, Jornvall H 1983. Structural relationships among aldehyde dehydrogenases. *Pharmacol Biochem Behav* 18s:117-121
- Hempel J, Buhler R, Kaiser R, Holmquist B, De Zalenski C, Von Wartburg J P, Vallee B, Jornvall H 1984. Human liver alcohol dehydrogenase. I. The primary structure of the $\alpha_1\alpha_1$ isoenzyme. *Eur J Biochem* 145:437-445
- Hempel J, Holmquist B, Fleetwood L, Kaiser R, Barros-Soderling J, Buhler R, Valle B L, Jornvall H 1985a. Structural relationships among class I isozymes of human liver alcohol dehydrogenase. *Biochemistry* 24:5303-5307
- Hempel J, Kaiser R, Jornvall H 1985b. Mitochondrial aldehyde dehydrogenase from human liver. Primary structure, differences in relation to the cytosolic enzyme, and functional correlations. *Eur J Biochem* 153:13-28
- Henehan G T, Ward K, Kennedy N P, et al 1985. Subcellular distribution of aldehyde dehydrogenase activities in human liver. *Alcohol* 2:107-110
- Hepner G W, Vesell E S 1975. Quantitative assessment of hepatic function by breath analysis after oral administration of (14-C)aminopyrine. *Ann Intern Med* 83:632-638
- Himms-Hagen J 1979. Sympathetic regulation of metabolism. *Pharmacol Rev* 19:367-461

- Hopf U, Meyer zum Buschenfelde K H, Freudenber J 1974. Liver-specific antigens of different species. II. Localization of a membrane antigen at cell surfaces of isolated hepatocytes. *Clin Exp Immunol* 16:117-124.
- Hosein E A, Hofmann I, Linder E 1977. The influence of chronic ethanol feeding to rats on the integrity of liver mitochondrial membranes as assessed with the Mg-stimulated ATPase enzyme. *Arch Biochem Biophys* 183:64-72
- Ikuta T, Fujiyoshi T, Kurachi K 1985. Molecular cloning of full-length cDNA for human alcohol dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 82:2703-2707
- Ikuta T, Szeto S, Yoshida A 1986. Three human alcohol dehydrogenase subunits: cDNA structure and molecular and evolutionary divergence. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:634-638
- Impraim C, Wang G, Yoshida A 1982. Structural mutation in a major human aldehyde dehydrogenase. Gene results in loss of enzyme activity. *Am J Hum Gen* 34:837-841
- Inoue K, Fukunaga M, Yamasawa K 1980. Correlation between human erythrocyte aldehyde dehydrogenase activity and sensitivity to alcohol. *Pharmacol Biochem Behavior* 13:295-297
- Inoue K, Fukunaga M, Kiriyama T, Komura S 1984. Accumulation of acetaldehyde in alcohol-sensitive Japanese: Relation to ethanol and acetaldehyde oxidizing capacity. *Alcoholism: Clin Exp Res* 8:319-322
- Isbell H, Fraser H F, Wikler A 1955. An experimental study of the etiology of "run fits" and delirium tremens. *Quart J Stud Alcohol* 16:1-33
- Iseri O A, Lieber C S, Gottlieb L S 1966. The ultrastructure of fatty liver induced by prolonged ethanol ingestion. *Am J Pathol* 48:535-555
- Ishii H, Joly J - G, Lieber C S 1973. Effect of ethanol on the amount and enzyme activities of hepatic rough and smooth microsomal membranes. *Biochim Biophys Acta* 291:411-420
- Israel Y, Videla L, Fernandez-Videla V, Bernstein J 1975. Effects of chronic ethanol treatment and thyroxine administration on ethanol metabolism and liver oxidative capacity. *J Pharmacol Exp Ther* 192:565-574
- Jacobs R M, Sorrell M F 1981. The role of nutrition in the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Sem Liv Dis* 1:244-253

- Jenkins W J, Peters T J 1980. Selectively reduced hepatic acetaldehyde dehydrogenase in alcoholics. *Lancet* 1:628-629
- Jenkins W J, Cakebread K, Palmer K R 1984. Effect of alcohol consumption on hepatic aldehyde dehydrogenase activity in alcoholic patients. *Lancet* 1:1048-1049
- Johnson C T, Bosron W F, Harden C A, Li T K 1987. Purification of human liver aldehyde dehydrogenase by high-performance liquid chromatography and identification of isoenzymes by immunoblotting. *Alcohol: Clin Exp Res* 11:60-65
- Johnson O 1974. Influence of blood ethanol concentration on the acute ethanol-induced liver triglyceride accumulation in rats. *Scand J Gastroenterol* 2:207-213
- Johnson R D, Williams R 1985. Genetic and environmental factors in the individual susceptibility to the development of alcoholic liver disease. *Alcohol and Alcoholism* 20:137-160
- Jolliffe N, Jellinek E M 1941. Vitamin deficiencies and liver cirrhosis in alcoholism. VII. Cirrhosis of the liver. *Q J Stud Alcohol* 2:544-548
- Jones D P, Perman E S, Lieber C S 1965. Free fatty acid turnover and triglyceride metabolism after ethanol ingestion in man. *J Lab Clin Med* 66:804-813
- Jones G L, Teng Y S 1983. A chemical and enzymological account of the multiple forms of human liver aldehyde dehydrogenase. *Biochem Biophys Acta* 745:162-174
- Jornvall H, Hempel J, Vallee B L, Borson W F, Li T K 1984. Human liver alcohol dehydrogenase: Amino acid substitution in the beta 2 Oriental enzyme explains functional properties, establishes an active site structure and parallels mutational exchanges in the yeast enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 81:3024-3028
- Julià P, Farrés J, Parés X 1983. Purification and partial characterization of a rat retina alcohol dehydrogenase active with ethanol and retinol. *Biochem J* 213:547-550
- Kakumu S, Leevy C M 1977. Lymphocyte cytotoxicity in alcoholic hepatitis. *Gastroenterology* 72:594-597
- Kalant H, Khanna J M, Endrenyi L 1975. Effect of pyrazole on ethanol metabolism in ethanol-tolerant rats. *Can J Pharmacol* 53:416-422

- Kater R M H, Carulli N, Iber F L 1969. Differences in the rate of ethanol metabolism in recently drinking alcoholic and nondrinking subjects. *Amer J Clin Nutr* 22:1608-1617
- Kato S, Ishii H, Kano S, Hagihara S, Todoroki T, Nagata S, Takahashi H, Nagasaka M, Sato J, Tsuchiya M 1984. Improved assay for alcohol dehydrogenase activity in serum by centrifugal analysis. *Clin Bioche* 30:1817-1820
- Kato S, Ishii H, Kano S, Hagihara S, Todoraki T, Nagata S, Takahashi H, Shigeta Y, Tsuchiya M 1985. Alcohol dehydrogenase: A new sensitive marker of hepatic centrilobular damage. *Alcohol* 2:35-38
- Kenney W C 1980. Interaction of acetaldehyde with phospholipids. *Gastroenterology* 79:1030
- Keung W M, Ditlow C C, Vallee B L 1985. Identification of human alcohol dehydrogenase isozymes by disc polyacrylamide gel electrophoresis in 7 M urea. *Annal Biochem* 151:92-96
- Koch O R, Boveris A, Sirotzky De Favelukes S 1977. Biochemical lesions of liver mitochondria from rats after chronic alcohol consumption. *Exp Molec Pathol* 27:213-220
- Koivula T, Koivusalo M, Lindros K O 1975. Liver aldehyde dehydrogenases activities in rat strains genetically selected for their ethanol preference. *Biochem Pharmacol* 24:1807-1811
- Koop D R, Nordblom G D, Coon M J 1984. Immunochemical evidence for a role of cytochrome p-450 in liver microsomal ethanol oxidation. *Arch Biochem Biophys* 235:228-238
- Korsten M A, Matsuzaki S, Feinman L, Lieber C S 1975. High blood acetaldehyde levels following ethanol administration: differences between alcoholic and non-alcoholic subjects. *N Engl J Med* 292:286-289
- Kostelnik M E, Iber F L 1973. Correlation of alcohol and tolbutamide blood clearance rates with microsomal enzyme activity. *Am J Clin Nutr* 26:161-164
- Koyata H, Inoue K, Sasaki H 1985. Activities and electroforetic profiles of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase in human liver tissues. *Jpn J Alc & Drug Dep* 20:396-409

- Lane B P, Lieber C S 1966. Ultrastructural alterations in human hepatocytes following ingestion of ethanol with adequate diets. *Am J Pathol* 49:593-603
- Lange L G, Vallee B L 1976. Double-ternary complex affinity chromatography: preparation of alcohol dehydrogenases. *Biochemistry* 15:4681-4686
- Larrey D, Branch R A 1983. Clearance by the liver: current concepts in understanding the hepatic disposition of drugs. *Sem Liv Dis* 3:285-297
- Lelbach W K 1976. Epidemiology of alcoholic liver disease. *Prog Liv Dis* 5:494-501
- Lelbach W K 1985. Cirrhosis in the alcoholic and its relation to the volume of alcohol abuse. *Ann NY Acad Sci* 252:85-105
- Leo M A, Arai M, Sato M, Lieber C S 1982. Hepatotoxicity of moderate vitamin A supplementation in the rat. *Gastroenterology* 82:194-205
- Li T K 1983. The absorption, distribution and metabolism of ethanol and its effects on nutrition and hepatic function. Tabakoff B Sutker PB:Randall CL-eds. *Medical and social aspects of alcohol abuse*. New York: Plenum Publishing Corp.
- Li T K, Magnes L J 1975. Identification of a distinct molecular form of alcohol dehydrogenase in human livers with high activity. *Biochem Biophys Res Commun* 63:202-208
- Li T K, Borson W F, Dafeldecker W P 1977. Isolation of c-alcohol dehydrogenase: is it a determinant of alcoholism?. *Proc Natl Acad Sci USA* 74:4378-4381
- Lieber C S 1968. Metabolic effects produced by alcohol in the liver and other tissues. *Adv Int Med* 14:151-199
- Lieber C S 1981. Metabolism and metabolic effects of ethanol. *Sem Liv Dis* 1:189-202
- Lieber C S 1983. Microsomal ethanol oxidizing system (Meos): Interaction with ethanol, drugs and carcinogens. *Pharmacol Biochem Behav* 18s:181-187
- Lieber C S 1984. Alcohol and the liver: 1984 update. *Hepatology* 4:1243-1260
- Lieber C S, Schmid R 1961. The effect of ethanol on fatty acid metabolism: Stimulation of hepatic fatty acid synthesis in vitro. *J Clin Invest* 40:394-399

- Lieber C S, Jones D P, Losowsky M S, Davidson C S 1962a. Interrelation of uric acid and ethanol metabolism in man. *J Clin Invest* 41:1863-1870
- Lieber C S, Leevy C M, Stein S W, Georg W S, Cherrick G R, Abelmann W H, Davidson C S 1962b. Effect of ethanol on plasma free fatty acids in man. *J Lab Clin Med* 59:826-832
- Lieber C S, Jones D P, Mendelson J, DeCarli L M 1963. Fatty liver, hyperlipemia and hyperuricemia produced by prolonged alcohol consumption, despite adequate dietary intake. *Trans Assoc Am Phys* 76:289-300
- Lieber C S, Spritz N, DeCarli L M 1966. Role of dietary, adipose and endogenously synthesized fatty acids in the pathogenesis of alcoholic fatty liver. *J Clin Invest* 45:51-62
- Lieber C S, LeFevre A, Spritz N, Feinman L, DeCarli L M 1967. Difference in hepatic metabolism of long and medium-chain fatty acids: The role of fatty acid chain length in the production of alcoholic fatty liver. *J Clin Invest* 46:1451-1460
- Lieber C S, De Carli L M 1968a. Ethanol oxidation by hepatic microsomes: adaptive increase after ethanol feeding. *Science* 162:917-918
- Lieber C S, Rubin E 1968b. Alcoholic fatty liver in man on a high protein and low fat diet. *Am J Med* 44:200-206
- Lieber C S, Rubin E, DeCarli L M 1970. Hepatic microsomal ethanol oxidizing system (MEOS): Differentiation from alcohol dehydrogenase and NADPH oxidase. *Biochem Biophys Res Comm* 40:858-865
- Lieber C S, DeCarli L M 1972. The role of hepatic microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) for ethanol metabolism in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 181:279-287
- Lieber C S, DeCarli L M 1973. The significance and characterization of hepatic microsomal ethanol oxidation in the liver. *Drug Metab Disp* 1:428-440
- Lindros K O 1978. Acetaldehyde: its metabolism and role in the actions of alcohol. Israel Y Glaser FB:Kalant H. *Research advances in alcohol and drug problems; Vol 4.* New York: Plenum Publishing Corp
- Lindros K O 1983. Human blood acetaldehyde levels: with improved methods, a clearer picture emerges. *Alcoholism: Clin Exp Res* 7:70-75

- Lindros K O, Stowell A, Pikkarainen P, Salaspuro M 1980. Elevated blood acetaldehyde in alcoholics with accelerated ethanol elimination. *Pharm Biochem Behav* 13:Suppl 1:119-124
- MacDonald C M 1973. The effect of ethanol on hepatic lipid peroxidation and on the activities of glutathione reductase and peroxidase. *FEBS Lett* 35:227-230
- MacDongall B R D, Dordoni B, Thomson R P H, Davis M, Williams R 1978. ^{14}C ethanol breath test in alcoholic liver disease. *Clinica Chimica Acta* 86:121-127
- MacSween R N M, Burt A, Anthony R S 1980. Liver membrane antibodies in alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 79:1114
- Majchrowicz E, Mendelson J H 1970. Blood concentrations of acetaldehyde and ethanol in chronic alcoholics. *Science* 168:1100-1102
- Marshall A W, Kingstone D, Boss M, Morgan M Y 1983. Ethanol elimination in males and females: Relationship to menstrual cycle and body composition. *Hepatology* 3:701-706
- Matsuda Y, Baraona E, Salaspuro M, Lieber C S 1979. Effects of ethanol on liver microtutules and Golgi apparatus. *Lab Invest* 41:455-463
- Matsuzaki S, Lieber C S 1975. ADH-independent ethanol oxidation in the liver and its increase by chronic ethanol consumption. *Gastroenterology* 69:845
- Matsuzaki S, Teschke R, Ohnishi K, Lieber C S 1977. Acceleration of ethanol metabolism by high ethanol concentrations and chronic ethanol consumption: Role of the microsomal ethanol oxidizing system (MEOS). Fisher MM Rankin JG; eds. *Alcohol and the liver*. New York: Plenum Press
- Matsuzaki S, Gordon E, Lieber C S 1981. Increased ADH independent ethanol oxidation at high ethanol concentrations in isolated rat hepatocytes: The effect of chronic ethanol feedings. *J Pharmacol Exp Ther* 217:133-137
- Matthewson K, Mardini H A, Berlett K, Record C O 1986. Impaired acetaldehyde metabolism in patients with non alcoholic liver disorders. *Gut* 26:a563

- Meijer A J, VanWoerkom G M, Williamson J R, Tager J M 1975. Rate-limiting factors in the oxidation of ethanol by isolated rat liver cells. *Biochem J* 150:205-209
- Meldolesi J 1967. On the significance of the hypertrophy of the smooth endoplasmic reticulum in liver cells after administration of drugs. *Biochem Pharmacol* 16:125-131
- Mendelson J H 1968. Ethanol-1-C14- metabolism in alcoholics and nonalcoholics. *Science* 159:319-320
- Mendelson J H, La Dou J 1964. Experimentally induced chronic intoxication and withdrawal in alcoholics. *Quart J Stud Alcohol (suppl2):*14-39
- Mendenhall C L 1972. Origin of hepatic triglyceride fatty acids: Quantitative estimation of the relative contribution of linoleic acid by diet and adipose tissue in normal and ethanol-fed rats. *J Lipid Res* 13:177-183
- Messiha F S 1983. The gender of alcohol and aldehyde dehydrogenases. *Neurobehav toxicol teratol* 5:205-210
- Mezey E, Tobon F 1971. Rates of ethanol clearance and activities of the ethanol-oxidizing enzymes in chronic alcoholic patients. *Gastroenterology* 61:707-715
- Mezey E, Potter J J, Reed W D 1973. Ethanol oxidation by a component of liver microsomes rich in cytochrome P-450. *J Biol Chem* 248:1183-1187
- Mezey E, Robles E A 1974. Effects of phenobarbital administration on rates of ethanol clearance and on ethanol-oxidizing enzymes in man. *Gastroenterology* 66:248-253
- Mezey E, Vestal R, Potter J J 1975. Effect of uremia on rate of ethanol disappearance from the blood and on the activities of the ethanol-oxidizing enzymes. *J Lab Clin Med* 86:931-937
- Mills J R, Pemmington T H, MacSween R N M 1979. Hepatitis B antibody in alcoholic cirrhosis. *J Clin Pathol* 32:778-782
- Miwa G T, Levin W, Thomas P E, Lu A Y H 1978. The direct oxidation of ethanol by catalase and alcohol dehydrogenase-free reconstituted system containing cytochrome P-450. *Arch Biochem Biophys* 187:464-475

- Mizoi Y, Ijiri I, Tatsumo Y, et al 1979. Relationship between facial flushing and blood acetaldehyde levels after alcohol intake Pharm Biochem Behavior 10: 303-311
- Mizoi Y, Tatsumo Y, Adachi J 1983. Alcohol sensitivity related to polymorphism of alcohol-metabolizing enzymes in Japanese. Pharmacol Biochem Behav 18:127-133
- Morland J, Bessesen A 1977. Inhibition of protein synthesis by ethanol in isolated rat liver parenchymal cells. Biochem Biophys Acta 474:312-320
- Nakano M, Worner T M, Lieber C S 1982. Perivenular fibrosis in alcoholic liver injury: ultrastructure and histologic progression. Gastroenterology 83:777-785
- Newcombe D S 1972. Ethanol metabolism and uric acid. Metabolism 72:1193-1202
- Nikkila E A, Ojala K 1963. Role of hepatic glycerophosphate and triglyceride synthesis in production of fatty liver by ethanol. Proc Soc Exp Biol Med 11:814-817
- Nilius R 1985. Acetaldehyde, aldehyde dehydrogenase, and pathogenetic aspects of alcoholic liver disease. Hepatology: A Festschrift for Hans Popper :37-36
- Nilius R, Zipprich B, Krabbe S 1983. Aldehyde dehydrogenase (E.C.1.2.1.3.) in chronic alcoholic liver diseases. Hepato-Gastroenterol 30:134-136
- Nomura F, Lieber C S 1981. Binding of acetaldehyde to rat liver microsomes: Enhancement after chronic consumption. Biochem Biophys Res Comm 100:131-137
- Nuutinen H, Lindros K, Pikkarainen P, Salaspuro M 1981. Alcohol and acetaldehyde metabolizing enzymes: Their decrease in chronic alcoholics and associated metabolic consequences. Gastroenterology 81:1343
- Nuutinen H, Lindros K O, Salaspuro M 1983. Determinants of blood acetaldehyde level during ethanol oxidation in chronic alcoholics. Alcoholism: Clin Exp Res 7:163-168
- Nuutinen H U 1986. Activities of ethanol-metabolizing enzymes in liver diseases. Scand J Gastroenterol 21:678-684

- Ohnishi K, Lieber C S 1977. Reconstitution of the microsomal ethanol oxidizing system (MEOS): Qualitative and quantitative changes of cytochrome P-450 after chronic ethanol consumption. *J Biol Chem* 252:7124-7131
- Okuda K, Takigawa N 1970. Rat liver 5-cholestane-3,7,12,26-tetrol dehydrogenase as a liver alcohol dehydrogenase. *Biochim Biophys Acta* 22:141-148
- Olivecrona T, Hernell O, Johnson O, et al 1972. Effect of ethanol on some enzymes inducible by fat-free refeeding. *J Stud Alcohol* 33:1-13
- Ontko J A 1973. Effects of ethanol on the metabolism of free fatty acids in isolated rat liver cells. *J Lipid Res* 14:78-86
- Oratz M, Rothschild M A, Shreiber S S 1978. Alcohol, aminoacids and slbumin synthesis. III. Effects of ethanol, acetaldehyde and 4-methylpyrazole. *Gastroenterology* 74:672-676
- Orme-Johnson W H, Ziegler D M 1965. Alcohol mixed function oxidase activity of mammalian liver microsomes. *Biochem Biophys Res Comm* 21:78-82
- Orrego H, Israel Y, Blendis L M 1981. Alcoholic liver disease: Information in search of knowledge ?. *Hepatology* 1:267-283
- Orrego H, Blendis L M, Crossley I R, Medline A, MacDonald A, Ritchie S, Israel Y 1981b. Correlation of intrahepatic pressure with collagen in the Disse space and hepatomegaly in humans and in the rat. *Gastroenterology* 80:546-566
- Palmer K R, Jenkins W J 1982. Impaired acetaldehyde oxidation in alcoholics. *Gut* 23:729-733
- Palmer K R, Jenkins W J 1985. Aldehyde dehydrogenase in alcoholic subjects. *Hepatology* 5:260-263
- Papenberg J, VonWartburg J P, Aebi H 1970. Metabolism of ethanol and fructose in the perfused rat liver. *Enzymol Biol Clin* 11:237-250
- Parés A, Bosch J, Bruguera M, Rodés J 1978. Características clinicas y criterios pronosticos en la hepatitis alcoholica. *Gastroenterol Hepatol* 1:118-123
- Parés A, Caballería J, Bruguera M, Rodés J 1986. Histological course of alcoholic hepatitis. Influence of abstinence, sex and extend of hepatic damage. *J Hepatol* 2:33-42

- Parés A, Panés J, Torra M, Caballería J, Jimenez W, Torres M, Rodamilans M, Rodés J 1986b. Low hepatic zinc content may influence hepatic fibrogenesis in alcoholic liver disease. *Alcohol and Alcoholism* 21:A52
- Parés X, Vallee B L 1981. New human liver alcohol dehydrogenase forms with unique kinetic characteristics. *Biochem Biophys Res Com* 98:122-130
- Paronetto F 1981. Immunologic factors in alcoholic liver disease. *Sem Liv Dis* 1:232-243
- Pawan G L S 1972. Metabolism of alcohol (ethanol) in man. *Proc Nutr Soc* 31:83-89
- Peachey J E, Sellers E M 1981. The disulfiram and calcium carbimide acetaldehyde-mediated ethanol reactions. *Pharmacol Ther* 15:89-97
- Penttila K E, Makinene J, Lindros K O 1987. Allyl alcohol liver injury: suppression by ethanol and relation to transient glutathione depletion. *Pharmacol Toxicol* 60:340-344
- Perman E S 1960. The effect of ethyl alcohol on the secretion from adrenal medula of the cat. *Acta Physiol Scand* 48:323-328
- Perman E S 1961. Observations on the effect of ethanol on the urinary excretion of histamine, 5-hydroxyindole acetic acid, catecholamines and 17-hydroxycorticosteroids in man. *Acta Physiol Scand* 51:62-67
- Petersen D R, Collins A C, Deitrich R A 1977. Role of liver cytosolic aldehyde dehydrogenase isoenzymes in control of blood acetaldehyde concentrations. *J Pharmacol Exp Ther* 201:471-481
- Pietruszko R 1983. Aldehyde dehydrogenase isozymes. Cellular localization. Rattazzi MC Scandolios JG:Whitt GS-eds. *Isozymes: current topics in biological and medical research.*
- Pikkarainen P H, Salaspuro M P, Lieber C S 1979. A method for the determination of "free" acetaldehyde in plasma. *Alcoholism: Clin Exp Res* 3:259-261
- Pikkarainen P H, Lieber C S 1980. Concentration dependency of ethanol elimination rates in baboons: effect of chronic alcohol consumption. *Alcoholism: Clin Exp Res* 4:40-43

- Popper H, Lieber C S 1980. Histogenesis of alcoholic fibrosis and cirrhosis in the baboon. *Am J Pathol* 98:695-716
- Popper H, Thung S N, Gerber M A 1981. Pathology of alcoholic liver diseases. *Sem Liv Dis* 1:203-216
- Rahwan R G 1975. Toxicology of ethanol: possible role of acetaldehyde, tetrahydroisoquinolines and tetrahydro-a-carboniles. *Toxicol Appl Pharmacol* 34:3-29
- Reboucas G, Isselbacher K J 1961. Studies on the pathogenesis of the ethanol-induced fatty liver. I. synthesis and oxidation of fatty acids by the liver. *J Clin Invest* 40:1355
- Redman C M, Grab D J, Irukulla R 1972. The intracellular pathway of newly formed rat liver catalase. *Arch Biochem Biophys* 152:496-501
- Ricciardi B R, Saunders J B, William R, Hopkinson D A 1983. Hepatic ADH and ALDH isoenzymes in different racial groups and in chronic alcoholism. *Pharmacol Biochem Behav* 18(Suppl. 1):61-65
- Roach M K, Khan M, Knapp M, Reese W N 1972. Ethanol metabolism in vivo and the role of hepatic microsomal ethanol oxidation. *Q J Stud Alcohol* 33:751-755
- Rothschild M A, Oratz M, Mongelli J, Schreiber S S 1971. Alcohol induced depression of albumin synthesis: Reversal by tryptophan. *J Clin Invest* 50:1812-1818
- Rothschild M A, Oratz M, Schreiber S S, et al 1980. The effects of acetaldehyde and disulfiram on albumin synthesis in the isolated perfused rabbit liver. *Alcoholism: Clin Exp Res* 4:30-33
- Rubin E, Lieber C S 1967. Early fine structural changes in the human liver induced by ethanol. *Gastroenterology* 52:1-13
- Rubin E, Beattie D S, Lieber C S 1970. Effects of ethanol on the biogenesis of mitochondrial membranes and associated mitochondrial functions. *Lab Invest* 23:620
- Rubin E, Gang H, Misra P S, Lieber C S 1970b. Inhibition of drug metabolism by acute ethanol intoxication. A hepatic microsomal mechanism. *Am J Med* 49:801-806
- Rubin E, Beattie D S, Toth A, Lieber C S 1972. Structural and functional effects of ethanol on hepatic mitochondria. *Fed Proc* 31:131

- Rubin E, Krus S, Popper H 1973. Pathogenesis of postnecrotic cirrhosis in alcoholics. *Arch Pathol* 73:40-51
- Salaspuro M P, Lindros K O, Pikkarainen P 1975. Ethanol and galactose metabolism as influenced by 4-methylpyrazole in alcoholics with and without nutritional deficiencies. Preliminary report of a new approach to pathogenesis and treatment of alcoholic liver disease. *Ann Clin Res* 7:269-272
- Salaspuro M P, Lieber C S 1978. Non-uniformity of blood ethanol elimination: Its exaggeration after chronic consumption. *Ann Clin Res* 10:294-297
- Salaspuro M P, Lindros K O, Pikkarainen P H 1978b. Effect of 4-methylpyrazole on ethanol elimination rate and hepatic Redox changes in alcoholics with adequate or inadequate nutrition and in nonalcoholic controls. *Metabolism: Clin Exp* 27:631-639
- Salaspuro M P, Shaw S, Jayatillede E, Ross W A, Lieber C S 1981. Attenuation of ethanol induced hepatic redox change after chronic alcohol consumption: Mechanism and metabolic consequences. *Hepatology* 1:33-38
- Santisteban I, Povey S, West L F, Parrington J M, Hopkinson D A 1985. Chromosome assignment, biochemical and immunological studies on a human aldehyde dehydrogenase (ALDH3). *Ann Hum Genet* 49:87-100
- Sato N, Kamada T, Shichiri M, Hayashi N, Matsumura T, Abe H, Hagiwara B 1978. The levels of the mitochondrial and microsomal cytochromes in drinkers' livers. *Clin Chim Acta* 87:347-351
- Scheuer P J, Maggi G 1980. Hepatic fibrosis and collapse: histological distinction by orcein staining. *Histopathology* 4:487-490
- Schuckit M A, Raynes V 1979. Ethanol ingestion: differences in blood acetaldehyde concentrations in relatives of alcoholics and controls. *Science* 203:54-55
- Shaw S, Jayatillede E, Ross W A, Gordon E R, Lieber C S 1981. Ethanol induced lipid peroxidation: Potentiation by chronic alcohol feeding and attenuation by methionine. *J Lab Clin Med* 98:417-425
- Sherlock S 1982. Alcohol-related liver disease. Clinical aspects and management. *Br Med Bull* 38:67-70
- Smith M, Hopkinson D A, Harris H 1971. Developmental changes and polymorphism in human alcohol dehydrogenase. *Ann Hum Genet* 34:251-271

- Smith M, Hopkinson D A, Harris H 1972. Alcohol dehydrogenase isozymes in stomach and liver: Evidence for activity of the ADH3 locus. *Ann Hum Genet* 35:243-253
- Smith M, Hopkinson D A, Harris H 1973a. Studies on the properties of the human alcohol dehydrogenase isozymes determined by the different loci ADH1, ADH2, ADH3. *Ann Hum Genet* 37:49-67
- Smith M, Hopkinson D A, Harris H 1973b. Studies on the sub-unit structure and molecular size of the human alcohol dehydrogenase isozymes determined by the different loci ADH1, ADH2, ADH3. *Ann Hum Genet* 36:401-414
- Soler X 1985. Analisis de la actividad alcohol deshidrogenasa y la aldehido deshidrogenasa hepaticas de las poblaciones normal y alcoholica. Tesina de licenciatura. Universidad Autonoma de Barcelona
- Sorrell M F, Leevy C M 1972. Lymphocyte transformation and alcoholic liver injury. *Gastroenterology* 63:1020-1025
- Sorrell M F, Tuma D J 1979. Effects of alcohol on hepatic metabolism: selected aspects. *Clin Sci* 57:481-489
- Stamatoyannopoulos G, Chen S H, Fukui M 1975. Liver alcohol dehydrogenase in Japanese: High frequency of atypical form and its role in alcohol sensitivity. *Am J Hum Genet* 27:789-796
- Sternlieb I 1979. Electron microscopy of mitochondria and peroxisomes of human hepatocytes. Popper H Schaffner F eds; *Progress in liver diseases*; New York: Grune and Stratton; 81-104
- Stowell A R 1979. An improved method for the determination of acetaldehyde in human blood with minimal ethanol interference. *Clin Chim Acta* 98:201-205
- Stowell A R, Greenway R M, Batt R D 1977. Acetaldehyde formation during deproteinization of human blood samples containing ethanol. *Biochem Med* 18:392-401
- Stowell A R, Lindros K O, Salaspuro M P 1980. Breath and blood acetaldehyde concentrations and their correlation during normal and calcium carbimide-modified ethanol oxidation in man. *Biochem Pharmacol* 29:783-787
- Strubelt O, Younes M, Urch T, Breining H, Pentz R 1987. Hepatotoxicity of acetaldehyde in rats. *Toxicol letters* 39:77-84

- Strydom D J, Vallee B L 1982. Characterization of human alcohol dehydrogenase isoenzymes by high-performance liquid chromatographic peptide mapping. *Anal Biochem* 123:422-429
- Teng Y S 1981. Human liver aldehyde dehydrogenase in Chinese and Asiatic Indians: gene deletion and its possible implications in alcohol metabolism. *Biochem Genet* 19:107-114
- Teng Y S, Jehan S, Lie-Ijo L E 1979. Human alcohol dehydrogenase ADH2 and ADH3 polymorphisms in ethnic Chinese and Indians of West Malaysia. *Hum Genet* 53:87-90
- Teschke R, Hasumura Y, Joly J - G, Ishii H, Lieber C S 1974. Hepatic microsomal ethanol oxidizing system: Solubilizations, isolation and characterization. *Arch Biochem Biophys* 163:404-415
- Teschke R, Matsuzaki S, Ohnishi K, De Carli L M, Lieber C S 1977. Microsomal ethanol oxidizing system (Meos): Current status of its characterization and its role. *Alcohol: Clin Exp Res* 1:7-15
- Theorell H, Chance B 1951. Studies on liver alcohol dehydrogenase. II. The kinetics of the compounds of horse liver alcohol dehydrogenase and reduced diphospho pyridine nucleotide. *Acta Chem Scand* 5:1127-1144
- Thomas M, Halsall S, Peters T J 1982. Role of hepatic acetaldehyde dehydrogenase in alcoholism: Demonstration of persistent reduction of cytosolic activity in abstaining patients. *Lancet* 2:1057-1059
- Thurman R G 1973. Induction of hepatic microsomal reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-dependent production of hydrogen peroxide by chronic prior treatment with ethanol. *Molec Pharmacol* 9:670-675
- Thurman R G, Scholz R 1976. Ethanol metabolism in perfused rat liver at low ethanol concentrations: involvement of alcohol dehydrogenase in the adaptive increase in ethanol metabolism due to chronic pretreatment with ethanol. *Hoppe Seyler Z Physiol Chem* 357:1443-1446
- Thurman R G, Brentzel H J 1977. The role of alcohol dehydrogenase in microsomal ethanol oxidation and the adaptive increase in ethanol metabolism due to chronic treatment with ethanol. *Alcoholism: Clin Exp Res* 1:33-38

- Tipton K F 1985. Aldehyde dehydrogenases. Weiner M Flynn TG:eds. Enzymology of carboxyl metabolism. 2. Aldehyde dehydrogenase-aldo-keto reductase
- Tobon F, Mezey E 1971. Effect of ethanol administration on hepatic ethanol and drug-metabolizing enzymes and on rates of ethanol degradation. J Lab Clin Med 77:110-121
- Tottmar S O C, Petterson H ;, Kiessling K H 1973. The subcellular distribution and properties of aldehyde dehydrogenase in rat liver. Biochem J 135:577-586
- Truitt E B 1970. Ethanol-induced release of acetaldehyde from blood and its effect on the determination of acetaldehyde. Q J Stud Alcohol 31 (Part B):1-12
- Truitt E B 1971. Blood acetaldehyde levels after alcohol consumption by alcoholic and nonalcoholic subjects. Roack MK,McIsaac VM,Creaven PJ, eds. Biological aspects of alcohol. Advances in mental Science 3. Austin The University of Texas Press:212-223
- Tuys A, Pequinot G 1984. Greater risk of ascitic cirrhosis in females in relation to alcohol consumption. Inter J Epidem 13:53-57
- Ugarte G, Pereda I, Pino M E, Iturriaga H 1972. Influence of alcohol intake length of abstinence and meprobramate on the rate of ethanol metabolism in man. Q J Stud Alcohol 33:698-705
- Ugarte G, Iturriaga H, Pereda T 1977. Possible relationship between the rate of ethanol metabolism and the severity of hepatic damage in chronic alcoholics. Digest Dis 22:406-410
- Utne H E, Winkler K 1980. Hepatic and extrahepatic elimination of ethanol in cirrhosis. With estimates of intrahepatic shunts and Km for ethanol elimination. Scand J Gastroent 15:297-304
- Vaananen H, Salaspuro M, Lindros K 1984. The effect of chronic ethanol ingestion on ethanol metabolizing enzymes in isolated periportal and perivenous rat hepatocytes. Hepatology 4:862-866
- Vallee B L, Bazzone T J 1983. Isozymes of human liver alcohol dehydrogenase. Isozymes: Current Topics in Biological and Medical Research, Cellular Localization, Metabolism and Physiology 8:219-244
- Vesell E S, Page J G, Passananti G T 1971. Genetic and environmental factors affecting ethanol metabolism in man. Clin Pharmacol Ther 12:192-201

- Videla L, Israel Y 1970. Factors that modify the metabolism of ethanol in rat liver and adaptive changes produced by its chronic administration. *Biochem J* 118:275-281
- Videla L, Bernstein J, Israel Y 1973. Metabolic alterations produced in the liver by chronic ethanol administration. Increased oxidative capacity. *Biochem J* 134:507-514
- Von Wartburg J P, Schurch P M 1968. Atypical human alcohol dehydrogenase. *Ann N Y Acad Sci* 151:936-944
- Von Wartburg J P, Ris M M 1979. Determination of acetaldehyde in human blood. *Experientia* 35:1682-1683
- Von Wartburg J P, Buhler R, Maring J A, Pestalozzi D 1983. The polymorphism of alcohol and aldehyde dehydrogenase and their significance for acetaldehyde toxicity. *Pharmacol Biochem Behav* 18s:123-125
- Washid S, Khanna J M, Carmichael F J, Israel Y 1980. Mitochondrial function following chronic ethanol treatment: Effect of diet. *Res Comm Chem Path Pharmacol* 30:477-491
- Wendell G, Thurman R G 1979. Effect of ethanol concentration on rates of ethanol elimination in normal and alcohol-treated rats in vivo. *Biochem Pharmacol* 28:273-279
- Williams R, Davis M 1977. Nutrition: effects of alcohol. Alcoholic liver injury. *Proc R Soc Lond (Biol)* 70:333-336
- Williamson J R, Scholz R, Browing E T, Thurman R G, Fukami M H 1969. Metabolic effects of ethanol in perfused rat liver. *J Biol Chem* 244:5044-5054
- Yin S J, Borson W F, Li T K, Ohnishi K, Okuda K, Ishii H, Tsuchiya M 1984. Polymorphism of human liver alcohol dehydrogenase: Identification of ADH2 2-1 and ADH2 2-2 phenotypes in the Japanese by isoelectric focusing. *Biochem Genet* 22:169-180
- Yoshida A, Impraim C C, Huang I Y 1981. Enzymatic and structural differences between usual and atypical human liver alcohol dehydrogenases. *J Biol Chem* 256:12430-12436
- Yoshida A, Wang G, Dave V 1983. Determinations of genotypes of human aldehyde dehydrogenase ALDH2 locus. *Am J Hum Genet* 35:1107-1116

- Younes M, Strubelt O 1987. Enhancement of hypoxic liver damage by ethanol. *Biochem Pharmacol* 36:2973-2977
- Zeiner A R, Paredes A, Christensen D H 1979. The role of acetaldehyde in mediating reactivity to an acute dose of ethanol among different racial groups. *Alcoholism: Clin Exp Res* 3:11-18
- Ziegler D M 1972. Discussion. Estabrook RW Gillette Jr; Liebman KC-eds; *Microsomes and drug oxidation*; Baltimore; Williams and Wilkins

EXCLÒS DE PRÉSTEC

⊗ (043) 29
PAN

