

KARACİĞER ALKOL DEHİDROGENAZ AKTİVİTESİNİ ETKİLEYEN BAZI FAKTÖRLERİN ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF SOME FACTORS AFFECTING LIVER ALCOHOL DEHYDROGENASE ACTIVITY

Hülya SAYIN* Nevin VURAL**

* Adli Tıp Kurumu Ankara Grup Başkanlığı, 06300, Keçiören, Ankara.

** Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, 06100,
Tandoğan, Ankara.

ÖZET

Etil alkolün oksidasyon hızını düzenleyen önemli faktörlerden birisi karaciğer alkol dehidrogenaz (ADH) miktarı ve spesifik aktivitesidir. Karaciğer ADH aktivitesi çevresel ve genetik faktörlere bağlı olarak bireyler arasında büyük farklılıklar gösterir.

Bu çalışmada, postmortem insan karaciğerinden alınan örneklerde (n=50) ADH aktivitesi pH=8,8'de, spektrofotometrik yöntemle tayin edilmiştir. Bu yöntemle bireylerin %16'sının atipik ADH taşıdığı gözlenmiştir. Normal ve atipik ADH enzim aktivitelerine sahip yetişkinlerin karaciğer doku örneklerinde, ADH enziminin elektroforetik hareketinin değerlendirilmesi nişasta jel elektroforezi ile yapılmıştır. Atipik karaciğer ADH enziminin, normal ADH enziminden elektroforetik olarak farklı olduğu görülmüştür.

Bulgular (atipik ADH taşıyanlar dışında) ölüm nedeni, yaş, cinsiyet ve ölümle otopsi arasında geçen süreye göre değerlendirilmiştir. Bulgulara göre ölüm nedeni en önemli faktör olarak bulunmuştur; akut hastalık veya ani yaralanmak kazalarda ölen kişilerin karaciğer ADH aktivitelerinin, kronik hastalık veya kanserden ölen kişilerin karaciğer ADH aktivitelerinden ortalama iki kat daha yüksek olduğu gözlenmiştir (p<0,001). Yaş ve cinsiyetin toplam karaciğer ADH aktivitesine önemli etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Genelde, 20-59 yaş arası yetişkinlerin karaciğer ADH aktiviteleri, 60 yaşın üstündeki kişilerden daha yüksek olmakla beraber, bu

farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Erkeklerin karaciğer ADH aktivitelerinin kadınlarınkinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Karaciğer ADH aktivitesi ölümle otopsi arasındaki iki günlük zaman farkından belirgin şekilde etkilenmemiştir ($p>0,05$).

Anahtar kelimeler: Karaciğer, alkol dehidrogenaz, aktivite, ölüm nedeni, nişasta jel elektroforezi

ABSTRACT

A major factor that regulates the rate of ethanol oxidation is the content and specific activity of alcohol dehydrogenase (ADH) in liver. The liver ADH activity shows great differences among individuals dependent on genetic and environmental factors.

In this study, ADH activities of human postmortem liver specimens ($n=50$) have been determined by spectrophotometric assay at $pH=8,8$. 16% of individuals have been shown to have the atypical form of ADH by this method. The evaluation of electrophoretic movement of ADH enzyme in liver tissue samples of adults who had usual and atypical ADH enzymes activities has been done by starch gel electrophoresis. The atypical liver ADH enzyme was seen to be electrophoretically different from the usual liver ADH enzyme.

The results (excluding the subjects with atypical form of ADH) have been examined according to cause of death, age, sex and variation in time between death and autopsy. The cause of death was found to be the most important factor; the liver ADH activities from patients dying from a sudden traumatic accident or illness of acute were on average two times higher than the liver ADH activities from patients dying of a chronic illness or cancer ($p<0,001$). Age and sex appeared to haven't important effects on total liver ADH activity. The liver ADH activities of the 20 to 59 year old individuals have been observed on average slightly higher than the over 60 year old individuals, although this difference wasn't significant ($p>0,05$). The activity of males have been found slightly higher than females. Delays of up to two days between death and autopsy did not seem to exert any influence on the liver ADH activity ($p>0,05$).

Key words: Liver, alcohol dehydrogenase, activity, cause of death, starch gel electrophoresis.

GİRİŞ

Oral olarak alınan etil alkol, hemen gastrointestinal sistemden absorblanarak vücut sıvılarında homojen olarak yayılır. Vücut sıvı ve dokularında etil alkolün dağılıma hızı, dokunun büyüklüğüne, geçirgenliğine ve kan akışına bağlıdır. Etil alkol başlıca (%90'ı) karaciğerde

metabolize olur. Etil alkolün biyotransformasyonundaki ana yol, karaciğerde asetaldehit ve hidrojene oksidasyonudur. Üç enzim, sitozolik alkol dehidrogenaz (ADH), mikrozomal etil alkol oksitleyici sistem (MEOS) ve katalaz, etil alkolün oksidasyonundan sorumludur. Asetaldehit, aldehit dehidrogenaz enziminin katalizör etkisiyle asetata oksitlenir. Asetatın büyük bir kısmı ise karaciğer dışındaki dokularda karbondioksit ve suya oksitlenir (1,2,3).

Alkol dehidrogenaz, etil alkol metabolizması için major oksidatif yolu teşkil eder. İnsan ADH'sı, herbirinin molekül ağırlığı 40-kDa. (Kilo Dalton) olan, iki subunitin oluşturduğu dimerik bir proteindir. Son araştırmalara göre, ADH enzimi, beş sınıf izozim (ADH₁, ADH₂, ADH₃, ADH₄, ADH₅) ve yedi genle (α , β , γ , π , χ , σ , τ) ifade edilmektedir. Polimorfizmin, kodlanmış ADH subunitlerinden beş sınıfın ikisinde olduğu bildirilmiştir (ADH₂, ADH₃). Polimorfik ADH₂ lokusunda oluşan değişmiş enzim, β_1 subuniti yerine değişmiş β_2 subuniti içeren atipik ADH olarak bilinir. Bu atipik ADH, nişasta gel elektroforezinde daha katodiktir ve pH=8,8'de normal enzimden daha yüksek katalitik aktivite gösterir. İngilizlerin %5-10'unda, Almanların %9-14'ünde, İsviçrelilerin %20'sinde, Japonların, Çinlilerin ve diğer Asyalıların %85'inde atipik ADH bulunduğu gösterilmiştir. ADH izozimlerinin polimorfik şekillerinin kinetik özelliklerindeki farklılıklar, etanol metabolizmasının in vivo hızında farklılıklara sebep olur ve alkol eliminasyon hızında etnik gruplar arasında gözlenen büyük değişimlerle açıklanabilir (1,4,5,6,7,8,9,10).

Bununla beraber, normal fenotiplilerin toplam karaciğer ADH aktivite seviyelerinde de farklılıklar olabilir. Karaciğer ADH aktivitesi, kronik alkoliklerde ve karaciğer hastalığı olan hastalarda genelde azalır. Ani ölüm, hastalıkla ilgili ölümlerde alınan karaciğer numuneleri ve biyopsi örneklerinde yapılan ADH aktivite ölçümleri göstermiştir ki; karaciğer hastalığıyla ilgili ölümlerde ADH aktivitesi oldukça düşüktür (9,11,12,13).

Bu çalışmada, postmortem karaciğer dokusunda ADH aktivitesi tayin edilerek, ölüm nedeni, yaş, cinsiyet ve ölümlerle otopsi arasındaki zaman farkının etkisi araştırılmıştır. ADH aktivitesi, pH=8,8'de tayin edilmiş ve böylece atipik ADH'lı kişilerinde belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, enzim aktiviteleri tayin edilen kişilerin karaciğer doku örnekleri nişasta jel elektroforezine uygulanarak ADH enziminin elektroforetik hareketinin değerlendirilmesi de yapılmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Postmortem karaciğer alkol dehidrogenaz aktivitesi tayini için, Adli Tıp Kurumu Ankara Grup Başkanlığında yapılan otopsilerden karaciğer doku örnekleri (n=50) alınmıştır. Karaciğer doku örnekleri, ölümden 12-48 saat sonra otopsi yapılan kişilerden alınmış ve analiz zamanına kadar -80°C'de saklanmıştır.

Enzim aktivitesi tayini için, 1 g karaciğer doku örneği, 10 ml fosfat tamponu (0,1 M, pH=7,0) ile homojenize edilip, +4°C'de 3000 devir/dakika'da 15 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatant'tan 0,2 ml alınıp üzerine 2,8 ml NAD (nikotinamid adenin dinükleotid) ($1,6 \times 10^3$ M), etil alkol ($1,6 \times 10^2$ M) ve sodyum pirofosfat çözeltisinden ($3,3 \times 10^{12}$ M, pH=8,8) oluşan reaksiyon karışımı eklenerek 25°C'de, 340 nm'de spektrofotometrede dakikadaki absorbans değişimi ölçülmüştür. Enzim aktivitesi, gram doku başına dakikadaki optik dansite değişimi olarak ($\Delta.O.D._{340}/g.doku/dakika$) ifade edilmiştir (11).

Enzim aktivitesi tayin edilen kişilerin otopsi raporları da incelenerek, ölüm nedeni, yaş, cinsiyet ve ölümlü otopsi arasındaki zaman farkıda kaydedilmiştir. Enzim aktivitesi bu faktörlerle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

ADH enziminin elektroforetik hareketinin değerlendirilmesi için, ADH enzim aktivitesi tayin edilen karaciğer doku örneğinden 1 g tartılıp, 3 ml 0,1 M fosfat tamponu (pH=7,0) ile homojenize edilmiştir. Homojenize edilen doku örneği +4°C'de 11,000 devir/dakika'da 45 dakika santrifüj edilmiş ve supernatant nişasta jel elektroforezine uygulanmıştır. Nişasta jel elektroforezinde, %8'lik nişasta jel'i (4×10^3 M NAD içeren) ve tris fosfat tamponu (pH= 7,7, jel tamponu=0,005 M ve köprü tamponu=0,1 M tris fosfat) kullanılmıştır. Elektroforez süresi +4°C'de, 220 V'ta 4 saat olarak uygulanmıştır. Elektroforez işlemi bittikten sonra, jel üzerine reaksiyon karışımı (içinde 20 mg NAD, 10 mg MTT, 2 mg PMS ve 0,3 ml etil alkol (% 99,9) bulunan 25 ml 0,05 M tris HCl tamponu (pH=8,6) ve 25 ml % 2'lik agar karışımı) dökülüp, 37°C'de 2 saat inkübasyon için bekletilmiştir. İnkübasyondan sonra jel'in fotoğrafı çektilerik bulguların değerlendirilmesi için saklanmıştır (14)

SONUÇ ve TARTIŞMA

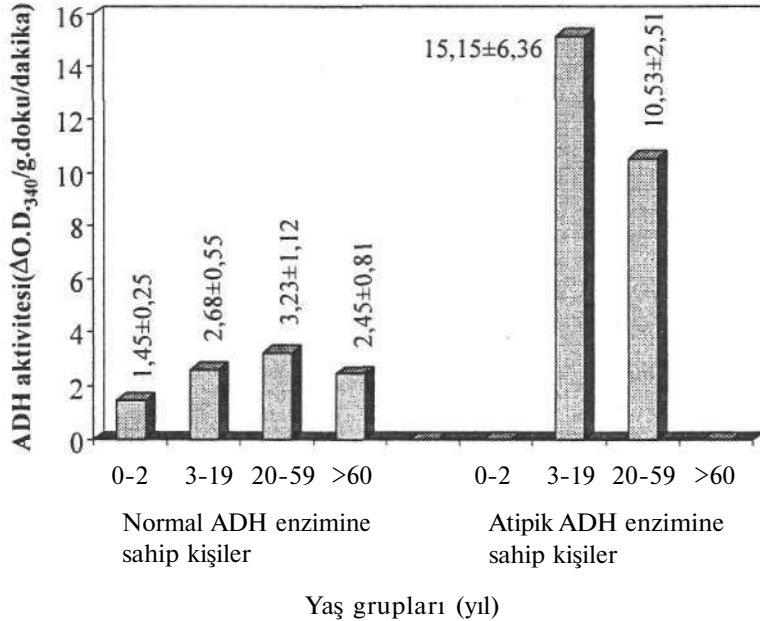
ADH enziminin aktivite tayini pH=8,8'de 50 farklı postmortem karaciğer doku örneğinde yapılmıştır. Karaciğer doku örnekleri çalışılan kişilerin 20'si kadın (% 40), 30'u erkek (% 60)'dır. ADH aktivite seviyeleri karaciğer doku örneklerinde birbirlerinden farklı bulunmuştur. 50 karaciğer doku örneğinden 8 tanesi (% 16, ortalama ADH aktivitesi: $12,26 \pm 4,57 \Delta O.D._{340}/g.doku/dakika$) pH=8,8'de, atipik ADH enzimine sahip olarak tanımlanabilecek oldukça yüksek aktivite göstermişlerdir. Smith ve ark. (1971), von Wortburg ve Schürch tarafından yapılan araştırmalarda, İsviçre'de farklı kişilerden alınan 59 karaciğer örneğinde 12 atipik ADH enzimi (% 20,3), Londra'dan alınan 50 kişilik diğer bir seride ise 2 atipik ADH enzimi (% 4) bulunduğunu bildirmişlerdir (11). Smith (1986), arkadaşları ile 1971-1972 yılları arasında yaptıkları çalışmalarda, İngiliz toplumunda 598 kişinin karaciğer ADH aktivitesi ölçümünde, 36 kişide atipik ADH enzimi (% 6) bulunduğunu bildirmiştir (10).

ADH aktivitelerinin yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 1 ve Şekil 1'de görülmektedir. Atipik ADH enzimine sahip olarak tanımlanan kişiler yaş gruplarına ve cinsiyetlerine göre kendi aralarında farklı aktivite göstermişlerdir. Normal ADH enzimine sahip olarak tanımlanan 42 kişi de yaş gruplarına ve cinsiyetlerine göre farklı aktivitelere sahiptirler. 0-2 yaş grubundakilerin ADH aktivitesi, 21-40 yaş grubunun yaklaşık yarısı kadarken, 3-20, 41-60 ve >60 yaş grubundakilerin ADH aktivitesi 21-40 yaş grubundan oldukça düşüktür. Erkeklerin ADH aktivitesi de kadınlarınkinden biraz daha yüksektir. Bulgularımız daha önceki çalışmaları desteklemektedir (11).

Tablo 1. Karaciğer doku örnekleri çalışılan kişilerin ADH aktivitelerinin yaş gruplarına göre dağılımı (n=50).

	YAŞ GRUPLARI (Yıl)										
	Cinsiyet	Kişi 0-2		Kişi 3-20		Kişi 21-40		Kişi 41-60		Kişi Sayısı >60	
Normal ADH enzimine sahip kişiler	K	4	1,55 ±0,14	1	2,25	6	3,23 ±1,36	3	2,82 ±1,32	4	2,78±0,92
*Ortalama ADH aktivitesi ± S.S.	E	1	1,05	2	2,9 ±0,56	10	3,36 ±1,22	8	2,98 ±1,04	3	2,40 ±0,35
Ortalama ADH aktivitesi ± S.S.											
Atipik ADH enzimine sahip kişiler	K	(-)	(-)	1	11,40	1	8,20	(-)	(-)	(-)	(-)
Ortalama ADH aktivitesi±S.S.	E	(-)	(-)	2	17,02 ±7,74	2	9,55 ±0,14	2	12,67 ±2,93	(-)	(-)
Ortalama ADH aktivitesi ± S.S.											

* ADH aktivitesi = $\Delta O.D._{340}/g.doku/dakika$
S.S. = Standart sapma



Şekil 1. Karaciğer doku örnekleri çalışılan kişilerin (n=50) ADH aktivitelerinin yaş gruplarına göre dağılımı.

Normal ADH enzimine sahip 42 kişinin otopsi raporları incelenerek, bu kişiler ölüm nedenlerine göre dört grupta sınıflandırılmışlardır. Birinci grup, travmatik bir kaza sonucu aniden ölen kişileri (ateşli silah veya delici-kesici alet yaralanması, trafik kazası gibi), ikinci grup, ölüm öncesi sağlıklı olup aniden akut olarak hastalanıp ölen kişileri (kalp rahatsızlığı, solunum-dolaşım yetmezliği, zehirlenmeler), üçüncü grup, kronik olarak hasta olup ölen kişileri (kronik alkolizm, bronşiyal pnömoni), dördüncü grup ise kanserden ölen kişileri kapsamaktadır. Bu sınıflandırma Tablo 2'de gösterilmiştir. Bu dört grup arasındaki ADH aktivite ortalamaları oldukça farklıdır. En yüksek aktivite, ani yaralanmalı kaza sonucu ölen kişilerde gözlenirken, ikinci yüksek aktivite akut hastalık sonucu ölenlerde görülmüştür. Kronik hastalıktan ve kanserden ölenlerde oldukça düşük seviyede ADH aktivitesi bulunmuştur. Ani yaralanmalı kaza sonucu ölen kişilerin ADH aktivite seviyeleri, kanserli ve kronik hastalıktan ölen kişilerden iki kat daha yüksektir ($p<0,001$). Akut hastalık sonucu ölen kişilerin ADH aktivite seviyeleri ise kanserli ve kronik hastalıktan ölen kişilerden ortalama % 45 oranında daha yüksektir ($p<0,001$). Azevedo ve ark. (1974) tarafından yapılan araştırmada, ani yaralanmalı kaza veya akut hastalık sonucu ölen kişilerin ADH aktivitesi, kronik hastalık veya kanserden ölen kişilerden iki veya üç kat daha yüksek bulunmuştur (12). Bulgularımız bu sonuçları desteklemektedir.

Tablo 2. Karaciğer doku örnekleri çalışılan kişilerin ADH aktivitelerinin ölüm nedenlerine göre dağılımı (n=42).

Ölüm nedeni	Cinsiyet	Kişi sayısı	*Ortalama ADH aktivitesi \pm S.S.
Ani yaralanmalı kaza	K	8	3,40 \pm 1,12
	E	11	3,70 \pm 0,81
	Toplam	19	** 3,57 \pm 0,94
Akut hastalık	K	8	2,09 \pm 0,84
	E	8	2,80 \pm 0,86
	Toplam	16	** 2,45 \pm 0,90
Kronik hastalık	K	2	1,77 \pm 0,49
	E	3	1,72 \pm 0,83
	Toplam	5	** 1,74 \pm 0,64
Kanser	K	(-)	(-)
	E	2	1,60 \pm 0,14
	Toplam	2	1,60 \pm 0,14

* ADH aktivitesi= AO.D₃₄₀/g .doku/dakika, S.S.=Standart sapma.

** $p<0,001$

Yaş ve ölüm nedeninin ADH aktivitesine etkisinin önemi Tablo 3'te gösterilmiştir. Bunun için iki ana yaş grubu seçilmiştir. Ani yaralanmak kaza ve akut hastalık sonucu ölen 20-59 yaş grubundaki kişilerin karaciğer ADH aktiviteleri, her iki ölüm nedeni grubundaki 60 yaş ve üstündeki kişilerin karaciğer ADH aktivitelerinden biraz yüksektir. Ancak, ölüm nedenlerine göre yaş grupları arasındaki karaciğer ADH aktivite farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 3. 20-59 ve 60 yaş ve üstündeki kişilerin, ölüm nedenlerine göre ADH aktivitelerinin karşılaştırılması.

Ölüm Nedeni	Yaş=20-59 yıl		Yaş=>60 yıl	
	Kişi sayısı	*Ortalama ADH aktivitesi \pm S.S.	Kişi sayısı	Ortalama ADH aktivitesi \pm S.S.
Ani yaralanmak kaza	14	**3,79 \pm 0,94	4	**2,88 \pm 0,78
Akut hastalık	7	***3,07 \pm 0,93	4	***2,02 \pm 0,65
Kronik hastalık	3	2,07 \pm 0,60	-	-
Kanser	2	1,60 \pm 0,14		

* ADH aktivitesi= Δ O.D.₃₄₀/g.doku/dakika, S.S.= Standart sapma.

** $p>0,05$

*** $p=0,05$

Ölümlerle otopsi arasındaki zaman farkının ADH aktivitesi üzerindeki etkisi de araştırılmıştır. Ortalama zaman farkı 22,32 \pm 10,29 saattir, fakat aralık 12-48 saat arasında değişmektedir. Ölümlerle otopsi arasındaki zaman farkının ölüm nedenlerine göre dağılımı Tablo 4'de gösterilmiştir. Korrelasyon katsayılarının önem kontrolü, ölümlerle otopsi arasındaki zaman farkının karaciğer doku örneklerinde toplam ADH aktivitesini etkilemediğini göstermiştir ($p>0,05$). Azevedo ve ark. (1974) tarafından yapılan çalışmada, ölümlerle otopsi arasındaki zaman farkı 10 saatle 10 gün arasında olduğunda, bu farkın karaciğer ADH aktivitesini çok az etkilediği bildirilmiştir (12).

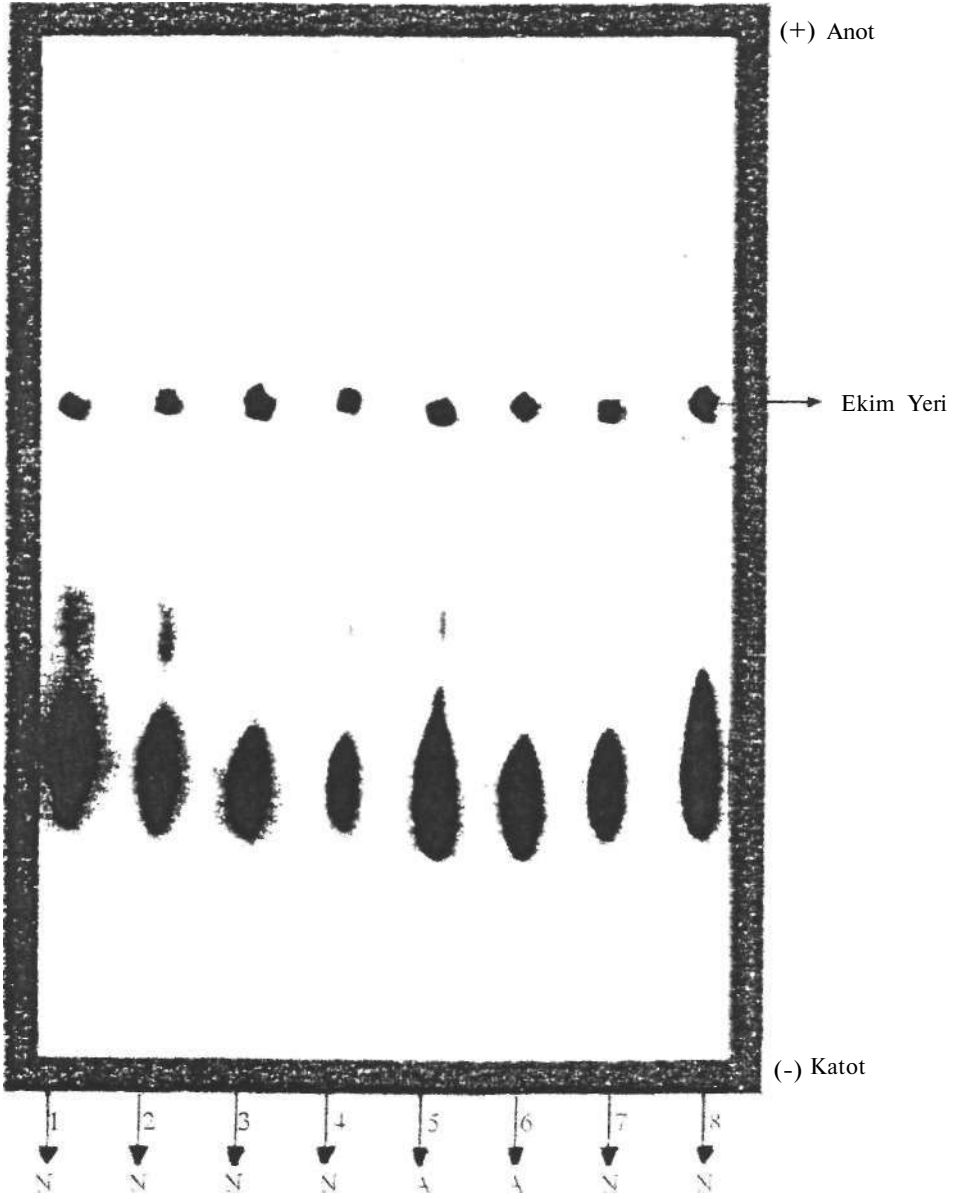
Tablo 4. Karaciğer doku örnekleri çalışılan kişilerin ölüm nedenlerine göre, ADH aktivitesi ile ölümlerle otopsi arasındaki zaman farkının korrelasyon katsayıları ve önem kontrolü analizi.

Ölüm nedeni	Kişi sayısı n=42	Ortalama ADH aktivitesi±S.S. (Δ O.D. ₃₄₀ /g.doku/ dakika)	Ölümlerle otopsi arasındaki zaman farkı ± S.S. (saat)	Korrelasyon katsayısı r	P değeri
Ani yaralanmalı kaza	19	3,57±0,94	24,63± 11,64	-0,130	>0,05
Akut hastalık	16	2,45±0,90	21,75±11,77	-0,0031	>0,05
Kronik hastalık	5	1,74±0,64	21,60±5,37	0,25	>0,05
Kanser	2	1,60±0,14	12±0,0	(-)	(-)

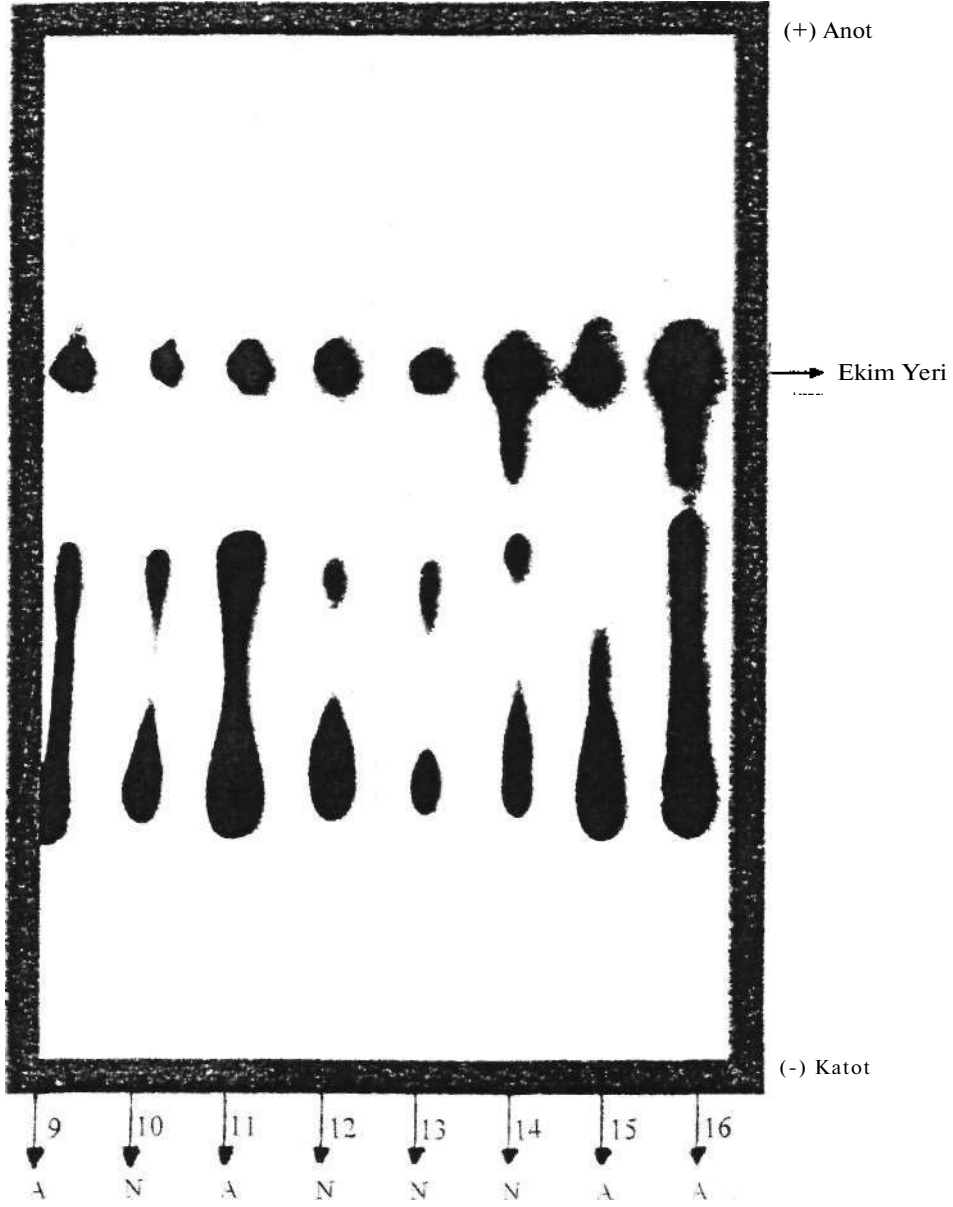
S.S.= Standart sapma.

Karaciğer doku örneklerinde ADH enziminin aktivite tayini yapıldıktan sonra, normal (n=10) ve atipik (n=6) ADH enzimine sahip olarak tanımlanan yetişkin (20-59 yaş) kişilerin karaciğer doku örneklerine nişasta jel elektroforezi uygulanmıştır. Elektroforez sonucu elde edilen fotoğraflar Şekil 2 ve Şekil 3'te gösterilmiştir. Şekil 2'de 1, 2, 3, 4, 7 ve 8 normal ADH enzimine sahip kişiler olup (N), ADH aktiviteleri sırasıyla 4,42, 4,37, 3,27, 2,82, 3,75 ve 4,67 Δ O.D.₃₄₀/g.doku/dakika, 5 ve 6 atipik ADH enzimine sahip kişiler olup (A), ADH aktiviteleri sırasıyla 9,65 ve 8,2 Δ O.D.₃₄₀/g.doku/dakika'dır.

Şekil 3'te, 10, 12, 13 ve 14 normal ADH enzimine sahip kişiler olup (N), ADH aktiviteleri sırasıyla 3,95, 3,70, 2,90 ve 4,45 Δ O.D.₃₄₀/g.doku/dakika, 9,11,15 ve 16 atipik ADH enzimine sahip kişiler olup (A), ADH aktiviteleri sırasıyla 11,55, 10,60, 9,45 ve 11,40 Δ O.D.₃₄₀/g.doku/dakika'dır.



Şekil 2. Karaciğer doku örneklerinde, normal (N) ve atipik (A) ADH enziminin nişasta jel elektroforezinin fotoğrafı.



Şekil 3. Karaciğer doku örneklerinde, normal (N) ve atipik (A) ADH enziminin nişasta jel elektroforezinin görünümü.

Şekillerin incelenmesi sonucunda, karaciğer doku örneklerinde, atipik ADH enzimlerinin, normal ADH enzimlerinden biraz daha büyük hareketle (0,2-0,3 cm) katoda göç ettikleri görülmüştür. Bu konuda yapılan iki araştırmada da, yetişkin karaciğer doku örneklerinde normal ve atipik ADH izozimlerinin elektroforetik hareketleri nişasta jel elektroforezi ile değerlendirilmiş, atipik ADH izozimlerinin, normal ADH izozimlerinden az daha büyük hareketle (0,2 cm) katoda göç ettikleri bildirilmiştir (11,15). Bulgularımız bu çalışmaları desteklemektedir.

Sonuç olarak, son yıllardaki araştırmalarda, doku örneklerinde agaroz izoelektrik odaklama yöntemi (16) ve kan örneklerinde polimeraz zincir reaksiyonu ile birlikte agaroz jel elektroforezi yöntemi (17,18) kullanılarak, ADH enziminin genotip özelliklerinin çok daha iyi tanımlandığı çalışmalar yapılmaktadır. Bu anlamda, henüz ülkemizde insanlarda ADH polimorfizmine yönelik bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, bu araştırma ön değerlendirme olarak önem kazanmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 96-03-00-02 kod no'su ile desteklenen projenin bir bölümüdür.

KAYNAKLAR

1. **Agarwal, D.P.** and **Goedde, H.W.**. "Pharmacogenetics of alcohol metabolism and alcoholism" *Pharmacogenetics*, 2,48-62, (1992).
2. Snyder, R. and **Andrews, L.S.**. "Toxic effects of solvents and vapors" In: *Casarett and Doull's Toxicology (The Basic Science of Poisons)*. 5th Ed, Klaassen, C.D., Amdur, M.O., Doull, J.(Eds.), McGraw-Hill, Health Professions Division, New York, London, p. 753-754,(1996).
3. **Goedde, H.W.** and **Agarwal, D.P.** "Polymorphism of aldehyde dehydrogenase and alcohol sensitivity" *Enzyme*, 37,29-44, (1987).
4. **Parkinson, A.** "Biotransformation of xenobiotics" In: *Casarett and Doull's Toxicology (The Basic Science of Poisons)*. 5th Ed, Klaassen, C.D., Amdur, M.O., Doull, J.(Eds.), McGraw-Hill, Health Professions Division, New York, London, p. 126-128, (1996).

5. **Bosron, W.F., Magnes, L.J. and Li, T.-K** "Human liver alcohol dehydrogenase: ADH_{indianapolis} results from genetic polymorphism at the ADH₂ gene locus" *Biochem. Genet.*, 21,735-744,(1983).
6. **Bosron, W.F., Lumeng, L. and Li, T.-K.** "Genetic polymorphism of enzymes of alcohol metabolism and susceptibility of alcoholic liver disease" *Molec. Aspects Med.*, 10, 147-158,(1988).
7. **Bosron, W.F., Ehrig, T. and Li, T.-K.** "Genetic factors in alcohol metabolism and alcoholism" *Semin. Liver. Dis.*, **13(2)**, 126-135, (1993).
8. **Grant, D.A.W.** "Genetic polymorphism of the alcohol metabolising enzymes as a basis for alcoholic liver disease" *Br. J Addict.*, 83, 1255-1259, (1988).
9. **Li, T.-K.** "Enzymology of human alcohol metabolism" In: *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, Meister, A. (Ed.), An Interscience Publication John Wiley and Sons, New York, 45,427-483, (1977).
10. **Smith, M.** "Genetics of human alcohol and aldehyde dehydrogenases" In: *Advances in Human Genetics*, Harris, H., Hirschhorn, K. (Eds.), Plenum Press, New York, 15, 249-290, (1986).
11. **Smith, M., Hopkinson, D.A. and Harris, H.** "Developmental changes and polymorphism in human alcohol dehydrogenase" *Ann.Hum.Genet.*, (Lond.), 34, 251-271, (1971).
12. **Azevedo, E., Smith, M., Hopkinson, D.A. and Harris, H.** "A study of possible factors influencing the variation in liver alcohol dehydrogenase activity in individuals of the 'usual' ADH phenotype" *Ann.Hum.Genet.(Lond.)*, 38,31-37, (1974).
13. **Li, T.-K. and Magnes, L.J.** "Identification of a distinctive molecular form of alcohol dehydrogenase in human livers with high activity" *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 63(1),202-208,(1975).
14. **Smith, M., Hopkinson, D.A. and Harris, H.** "Alcohol dehydrogenase isozymes in adult human stomach and liver: evidence for activity of the ADH₃ locus" *Ann. Hum.Genet.(Lond.)*, 35,243-253, (1972).
15. **Smith, M., Hopkinson, D.A. and Harris, H.** "Studies on the properties of the human alcohol dehydrogenase isozymes determined by the different loci ADH₁, ADH₂, ADH₃" *Ann. Hum. Genet. (Lond.)*, 37,49-67, (1973).

16. **Yin, S.-J., Liao, C.-S., Lee, Y.-C, Wu, C.-W. and Jao, S.-W.** "Genetic polymorphism and activities of human colon alcohol and aldehyde dehydrogenases: no gender and age differences" *Alcohol. Clin.Exp.Res.*, 18(5), 1256-1260,(1994).
17. **Shibuya, A. and Yoshida, A.** "Genotypes of alcohol metabolizing enzymes in Japanese with alcohol liver diseases: a strong association of the usual Caucasian-type aldehyde dehydrogenase gene (ALDH^{1;2}) with the disease" *Am.J.Hum.Genet.*, 43,744-748, (1988).
18. **Thomasson, H.R., Edenberg, H.J., Crabb, D.W., Mai, X.-L., Jerome, R.E., Li, T.-K., Wang, S.-P., Lin, Y.-T., Lu, R.-B. and Yin, S.-J.** "Alcohol and aldehyde dehydrogenase genotypes and alcoholism in Chinese men" *Am.J.Hum.Genet.*, 48, 677-681, (1991).