

THE IMPORTANCE OF ACETALDEHYDE IN THE METABOLISM AND MECHANISM OF ETHYL ALCOHOL ACTION

ZNACZENIE ALDEHYDU OCTOWEGO W METABOLIZMIE I MECHANIZMIE DZIAŁANIA ALKOHOLU ETYLOWEGO

Wanda Dyr, Edyta Wyszogrodzka

Institute of Psychiatry and Neurology, Department of Pharmacology and Physiology of the Nervous System, Warsaw, Poland

Instytut Psychiatrii i Neurologii, Zakład Farmakologii i Fizjologii Ośrodkowego Układu Nerwowego, Warszawa, Polska

Alcohol Drug Addict 2018; 31 (4): 301-314

DOI: <https://doi.org/10.5114/ain.2018.83913>

Abstract

Acetaldehyde is the first metabolite of ethanol and may be formed by alcohol dehydrogenase (ADH), cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) and catalase. ADH is an essential pathway that oxidises alcohol in peripheral tissues (primarily in the liver).

Acetaldehyde is oxidised to acetic acid by the aldehyde dehydrogenase (ALDH) enzyme. Acetaldehyde passes into the brain from the peripheral blood with difficulty, due to the blood-brain metabolic barrier, which is ALDH in the brain blood vessels. Acetaldehyde can be formed directly in the brain, mainly by catalase enzyme. Another important enzyme metabolising ethanol in central nervous system is CYP2E1.

The gene mutation (*ALDH2*2*) causes an increase in the level of acetaldehyde in the blood

Streszczenie

Aldehyd octowy jest pierwszym metabolitem etanolu i może powstawać w wyniku działania dehydrogenazy alkoholowej (ADH), cytochromu P450 2E1 (CYP2E1) i katalazy. Szlak z udziałem ADH jest zasadniczym szlakiem utleniającym alkohol w tkankach obwodowych (przede wszystkim w wątrobie).

Aldehyd octowy jest utleniany do kwasu octowego przez enzym dehydrogenazę aldehydową (ALDH). Aldehyd octowy z trudnością przenika z krwi obwodowej do mózgu na skutek istnienia bariery metabolicznej krew-mózg, którą stanowi ALDH w naczyniach krwionośnych mózgu. Aldehyd octowy może powstawać bezpośrednio w mózgu, głównie w wyniku działania enzymu – katalazy. Innym ważnym enzymem metabolizującym etanol w mózgu jest CYP2E1.

Correspondence to/Adres do korespondencji: Wanda Dyr, Zakład Farmakologii i Fizjologii Ośrodkowego Układu Nerwowego, Instytut Psychiatrii i Neurologii, ul. Sobieskiego 9, 02-957 Warszawa, phone: 48 22 4582 624, e-mail: wdyr@ipin.edu.pl

Authors' contribution/Wkład pracy autorów: Study design/Koncepcja badania: W. Dyr; Data interpretation/Interpretacja danych: W. Dyr, E. Wyszogrodzka; **Acceptance of final manuscript version/Akceptacja ostatecznej wersji pracy:** W. Dyr; **Literature search/Przygotowanie literatury:** W. Dyr, E. Wyszogrodzka

No ghostwriting and guest authorship declared./Nie występują zjawiska *ghostwriting* i *guest authorship*.

Submitted/Otrzymano: 10.04.2018 • **Accepted/Przyjęto do druku:** 15.01.2019

during alcohol drinking. Increased level of acetaldehyde in the peripheral blood may clearly protect against alcohol abuse by producing severe adverse effects (tachycardia, headache, facial flushing, nausea). Central acetaldehyde may be responsible for alcohol-enhancing effects that support alcohol consumption.

Anxiolytic alcohol properties are associated with the action of acetaldehyde. Acetaldehyde also has depressive properties on locomotor activity after peripheral administration, while it has a stimulating effect after administration to the brain.

The reinforcement properties of acetaldehyde are the effect of dopamine release in the nucleus accumbens and other structures of the limbic and the reward systems.

The International Agency for Research on Cancer has identified acetaldehyde as the 1st carcinogenic group of the esophagus and/or head and neck.

Keywords: Ethanol, ADH, ALDH, Acetaldehyde

Mutacja genu (*ALDH2*2*) powoduje zwiększenie stężenia aldehydu octowego we krwi podczas spożycia alkoholu. Wysokie stężenie aldehydu octowego we krwi obwodowej może chronić przed nadużywaniem etanolu poprzez wywoływanie takich niepożądanych objawów, jak: przyspieszona czynność serca, ból głowy, zaczerwienienie twarzy, nudności. Natomiast aldehyd octowy w mózgu może być odpowiedzialny za zwiększanie pozytywnych efektów alkoholu i w ten sposób wspierać jego spożycie.

Właściwości anksjolityczne alkoholu są związane z działaniem aldehydu octowego. Może on powodować zmniejszenie aktywności ruchowej po podaniu systemowym i jej stymulację po podaniu domózgowym.

Wzmacniające właściwości aldehydu octowego są efektem wydzielania dopaminy w jądrze półkolumnym i innych strukturach układu limbicznego i układu nagrody.

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem zaliczyła aldehyd octowy do pierwszej grupy karcinogennej powodującej nowotwory przełyku i/lub głowy i szyi.

Słowa kluczowe: etanol, ADH, ALDH, aldehyd octowy

■ INTRODUCTION

Elimination of ethanol in the body occurs as a result of metabolic degradation involving several enzymatic pathways. There are three alcohol metabolism pathways (Figure 1):

- 1) alcohol dehydrogenase (ADH),
- 2) catalase,
- 3) cytochrome P450 2E1 (CYP2E1).

ADH exists in the form of several isoenzymes divided into classes. The ADH class I isoenzymes consist of α , β , γ subunits, encoded by three separate *ADH-1*, *ADH-2*, *ADH-3* [1] gene loci. Class I is located mainly in the liver, but also in the lungs, stomach, intestines and kidneys. Class II consists of the subunit π encoded by the *ADH-4* gene loci [2], the presence of which was detected in the liver. Class III consists of the subunit of type χ , located in the *ADH-5* gene loci. Class III ADH occurs in all tissues. The μ -subunit is characteristic of class IV ADH, detected in the stomach and esophagus. The ADH V class isoenzyme forms sub-

■ WPROWADZENIE

Eliminacja etanolu w organizmie zachodzi w wyniku degradacji metabolicznej z udziałem kilku szlaków enzymatycznych. Istnieją trzy szlaki metabolizmu alkoholu (ryc. 1):

- 1) dehydrogenaza alkoholowa (ADH),
- 2) katalaza,
- 3) cytochrom P450 2E1 (CYP2E1).

ADH występuje w postaci kilku izoenzymów podzielonych na klasy. Izoenzymy I klasy ADH składają się z podjednostek α , β , γ , kodowanych przez trzy oddzielne loci genowe *ADH-1*, *ADH-2*, *ADH-3* [1]. Klasa I jest zlokalizowana głównie w wątrobie, ale także w płucach, żołądku, jelitach, nerkach. Klasa II składa się z podjednostki π kodowanej przez loci genowe *ADH-4* [2]. Jej obecność stwierdzono w wątrobie. Klasa III składa się z podjednostek typu χ , znajdujących się w loci genowym *ADH-5*. Klasa III ADH występuje we wszystkich tkankach. Podjednostka typu μ jest charakterystyczna dla klasy IV ADH, występującej w żołądku i przełyku. Izoenzym

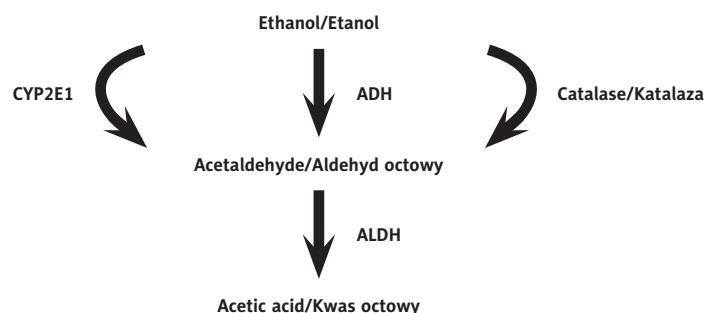


Figure 1. Hepatic metabolism of ethanol. Ethanol is metabolised into acetaldehyde by several enzymatic pathways: catalase, cytochrome P450 2E1 and ADH (*ADH* – alcohol dehydrogenase, *ALDH* – aldehyde dehydrogenase)

Rycina 1. Schemat metabolizmu obwodowego alkoholu (w wątrobie). Etanol jest metabolizowany do aldehydu octowego w kilku szlakach enzymatycznych: katalaza, cytochrom P450 2E1 i ADH (*ADH* – dehydrogenaza alkoholowa, *ALDH* – dehydrogenaza aldehydowa)

units of unknown composition and no name [3]. *ADH* class V occurs in the stomach and liver. Type VI *ADH* was found in rodent livers and kidneys but not in humans [4].

The presence of *ADH* in the brain was demonstrated in the cytoplasm and cell nuclei, while it was not detected in microsomes and mitochondria. The highest activity of *ADH* was demonstrated in Purkinje cerebellar cells and cholinergic and aminergic brainstem neurons [5]. *ADH* I, III and IV were found in the human brain. *ADH* III is present in significant amounts, but has a very low affinity for ethyl alcohol and oxidises it only at very high ethanol concentrations [6].

ADH is responsible for the largest share of the hepatic metabolism of ethanol, and the liver is the most important organ supporting over 90% of conversion [7]. P450 2E1 (*CYP2E1*) cytochrome is active to a lesser extent and metabolises 3-7% of alcohol. Cytochrome is involved to a greater extent at high ethanol concentrations, its amount increases with chronic alcohol consumption and participates in the development of metabolic tolerance to ethanol [6, 8]. The smallest share in hepatic metabolism of ethanol has catalase, located in peroxisomes (Table I).

The acetaldehyde formed as a result of the action of these three enzymes is converted in the next stage to acetic acid by aldehyde dehydrogenase (*ALDH*), and then acetic acid to water and carbon dioxide. With moderate ethanol intake, *ALDH* activity is sufficient to prevent the aldehyde from leaving the liver before dis-

klasy V *ADH* tworzy podjednostki o nieznanym składzie i nazwie [3]. Klasa V *ADH* występuje w żołądku i wątrobie. Typ VI *ADH* stwierdzono w wątrobie i nerkach gryzoni, ale nie u ludzi [4].

Istnienie *ADH* w mózgu wykazano w cytoplazmie i jądrach komórkowych, natomiast nie stwierdzono jej obecności w mikrosomach i mitochondriach. Największą aktywność *ADH* wykazano w komórkach Purkiniego mózdzku, neuronach cholinergicznym i aminergicznym pnia mózgu [5]. Wykazano obecność *ADH* I, III i IV w mózgu człowieka. *ADH* III występuje w znaczącej ilości, ale ma bardzo niskie powinowactwo do alkoholu etylowego i dopiero przy bardzo wysokim jego stężeniu jest zdolna do jego utleniania [6].

W metabolizmie obwodowym etanolu największy udział ma *ADH*, a najważniejszym narządem, przejmującym na siebie 90% przemiany jest wątroba [7]. W mniejszym stopniu aktywny jest cytochrom P450 2E1 (*CYP2E1*). Metabolizuje on 3-7% alkoholu. Cytochrom zaangażowany jest w większym stopniu przy dużych stężeniach etanolu, jego ilość zwiększa się przy przewlekłej konsumpcji alkoholu. Uczestniczy w rozwoju tolerancji metabolicznej na etanol [6, 8]. Najmniejszy udział w obwodowym metabolizmie etanolu ma katalaza, zlokalizowana w peroksysomach (tab. I).

Powstały w wyniku działania tych trzech enzymów aldehyd octowy na następnym etapie przetwarzany jest do kwasu octowego przy udziale dehydrogenazy aldehydowej (*ALDH*), a następnie kwas octowy do wody i dwutlenku węgla. Po umiarkowanym spożyciu etanolu aktywność *ALDH* jest wystarczająca, aby aldehyd nie opuścił wątroby przed

Table I. Estimated contribution of different enzymatic pathways in ethanol metabolism**Tabela I.** Szacunkowy udział poszczególnych układów enzymatycznych biorących udział w metabolizmie alkoholu etylowego

Enzyme/Enzym	Hepatic metabolism Metabolizm obwodowy (wątroba)	Brain metabolism Metabolizm ośrodkowy
ADH	90%	small/nieznaczný
Catalase/Katalaza	small/nieznaczný	60%
CYP450 2E1	3–7%	20%
Other enzymatic pathways Inne układy enzymatyczne	small/nieznaczný	20% (including ADH/w tym ADH)

similation. However, e.g. after intraperitoneal injection of high doses of acetaldehyde or after blocking ALDH, aldehyde enters the peripheral blood from the liver and as a lipophilic compound can penetrate the blood-brain barrier after exceeding 100 μM concentration in the blood. The difficult acetaldehyde diffusion from peripheral blood into the brain is associated with the metabolic blood-brain barrier, i.e. with the presence of ALDH [9].

In the central nervous system (CNS), catalase plays the most important role in the metabolism of ethanol. It metabolises 60% of alcohol. CYP450 2E1 is of much smaller significance, although definitely larger than in the hepatic metabolism and it converts about 20% of ethanol. The remaining 20% of ethanol is metabolised in other metabolic pathways, including ADH (Table I). Acetaldehyde is subject to further changes, similar to those in the liver [10].

In the oral cavity, it seems that the course of alcohol metabolism is independent of hepatic metabolism. This is confirmed by studies in which, immediately after consumption of alcohol, a high concentration of acetaldehyde was detected in human saliva compared to its level in blood [11].

■ THE FORMATION OF ACETALDEHYDE IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Zimatkin's *et al.* studies [10] showed catalase to be the main enzyme oxidising ethanol in the brain, responsible for the metabolism of 60% of ethanol. Immunohistochemical studies have shown that catalase oxidises ethanol to acetaldehyde mainly in the aminergic brainstem neurons (here the highest activity of microperoxysomes has been demonstrated). Less activity was observed in other brain structures [12]. Use of the microdialysis technique in free moving

dysymilacją. Jednakże np. po podaniu wysokich dawek aldehydu octowego dootrzewnowo lub po zablokowaniu ALDH aldehyd trafia z wątroby do krwi obwodowej i jako związek lipofilny może przeniknąć przez barierę krew–mózg po przekroczeniu stężenia 100 μM we krwi. Utrudnione przenikanie aldehydu octowego z krwi obwodowej do mózgu jest związane z istnieniem metabolicznej bariery krew–mózg, czyli z obecnością ALDH [9].

W ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) najważniejszą rolę w metabolizmie etanolu odgrywa katalaza. Metabolizuje ona 60% alkoholu. Mniejsze znaczenie, chociaż zdecydowanie większe niż na obwodzie, ma CYP450 2E1 – przekształca ok. 20% etanolu. Pozostałe 20% etanolu jest metabolizowane w innych szlakach metabolicznych, w tym także z udziałem ADH (tab. I). Aldehyd octowy podlega dalszym przemianom, podobnym do tych na obwodzie [10].

Wydaje się, że w jamie ustnej przebieg metabolizmu alkoholu jest niezależny od metabolizmu wątrobowego. Potwierdzają to badania, w których natychmiast po spożyciu alkoholu wykazano wysokie stężenie aldehydu octowego w ślinie ludzkiej w porównaniu z jego stężeniem we krwi [11].

■ POWSTAWANIE ALDEHYDU OCTOWEGO W OŚRODKOWYM UKŁADZIE NERWOWYM

W badaniach Zimatkin i wsp. [10] wykazano, że zasadniczym enzymem utleniającym etanol w mózgu jest katalaza. Metabolizuje ona 60% etanolu. Badania immunohistochemiczne wykazały, że katalaza utlenia etanol do aldehydu octowego głównie w neuronach aminergicznym pnia mózgu (tu wykazano największą aktywność mikroperoksyosomów). Mniejszą jej aktywność obserwowano w innych strukturach mózgu [12]. Przy zastosowaniu techniki mikrodializy u swobodnie poruszających

rats revealed a decrease in acetaldehyde concentration after inhibition of catalase activity (administration of catalase inhibitors) [13]. The second enzyme in terms of the amount of metabolised ethanol is CYP2E1, which accounts for about 20% of the conversion of alcohol to acetaldehyde [10].

In contrast to hepatic metabolism, no major role has been demonstrated for ADH in ethanol metabolism in the brain. ADH was identified only in a limited number of CNS neurons. The most intense activity of ADH was detected in the Purkinje cells in the cerebellum, motor neurons, cholinergic neurons and aminergic brainstem neurons. The human brain contains the most class III ADH, but it has very low affinity for ethanol ($K_m = 2.5 \text{ mol/l}$) and a limited oxidation capacity [14]. Its main function is the oxidation of omega-hydroxy fatty acids. Also detected was the presence of ADH class I and IV with a higher affinity for ethanol. These are located together with ALDH. ADH, along with other unspecified metabolic pathways, accounts for the remaining 20% of ethanol metabolism in the CNS [10].

■ ALDH AND ADH POLYMORPHISM AND ETHANOL ABUSE

Genetic testing clearly combines acetaldehyde with the risk of ethanol addiction. Specific polymorphisms in the ALDH and ADH genes reduce the likelihood of developing alcohol dependence [15].

High levels of acetaldehyde in the peripheral blood exert a strong aversive effect. Some gene polymorphisms prevent the development of alcohol dependence. The ALDH gene mutation in some human populations that encodes mitochondrial ALDH2 (*ALDH2*2*) in liver reduces or blocks the activity of this enzyme, which results in an increase of the level of acetaldehyde in blood while drinking alcohol and this clearly protects against alcohol abuse. Goedde *et al.* [16] were the first to show that approximately 50% of Japanese and Chinese people lack the activity of liver ALDH2. People with ALDH2 deficiency consume less alcohol than those with normal ALDH2 isozyme. People with the *ALDH2*2* gene may experience adverse effects after alcohol consumption, such as tachycardia, facial flushing, headache, and nausea

się szczurów wykazano spadek stężenia aldehydu octowego po zahamowaniu aktywności katalazy (podanie inhibitorów katalazy) [13]. Drugim enzymem pod względem ilości metabolizowanego etanolu jest CYP2E1 – odpowiada on za ok. 20% przemiany alkoholu do aldehydu octowego [10].

W przeciwieństwie do metabolizmu obwodowego nie wykazano głównej roli ADH w przemianach etanolu w mózgu. ADH zlokalizowano tylko w ograniczonej liczbie neuronów OUN. Najbardziej nasiloną aktywność ADH stwierdzono w komórkach Purkiniego mózdzku, neuronach ruchowych, cholinergicznym i neuronach aminergicznym pnia mózgu. W mózgu u ludzi występuje najwięcej ADH klasy III, ma ona jednak bardzo małe powinowactwo do alkoholu etylowego ($K_m = 2,5 \text{ mol/l}$) i ograniczoną zdolność jego utleniania [14]. Jej główną funkcją jest oksydacja omega-hydroksykwasów tłuszczowych. Stwierdzono także obecność ADH klasy I i IV o wyższym powinowactwie do etanolu. Zlokalizowane są one w obecności ALDH. ADH, wraz z innymi, nieokreślonymi do końca szlakami metabolicznymi, stanowi pozostałe 20% metabolizmu etanolu w OUN [10].

■ POLIMORFIZM ALDH I ADH A NADUŻYWANIE ETANOLU

Badania genetyczne wyraźnie łączą aldehyd octowy z ryzykiem uzależnienia od etanolu. Specyficzne polimorfizmy w genach ALDH i ADH zmniejszają prawdopodobieństwo rozwoju uzależnienia od alkoholu [15].

Wysokie stężenie aldehydu octowego we krwi obwodowej działa silnie awersyjnie. Niektóre polimorfizmy genowe zapobiegają rozwojowi uzależnienia od alkoholu. Obecna w niektórych populacjach ludzkich mutacja genowa ALDH, kodująca w wątrobie mitochondrialne ALDH2 (*ALDH2*2*), zmniejsza lub znosi aktywność tego enzymu. Zmniejszenie lub zahamowanie aktywności tego enzymu zwiększa stężenie aldehydu octowego we krwi podczas picia alkoholu i to wyraźnie chroni przed nadużywaniem alkoholu. Goedde i wsp. [16] jako pierwsi wykazali, że w przybliżeniu u 50% Japończyków i Chińczyków brakuje aktywności wątrobowej ALDH2. Osoby z niedoborem ALDH2 spożywają mniej alkoholu niż osoby z normalnym izoenzymem ALDH2. Po spożyciu alkoholu u osób mających gen *ALDH2*2* mogą wystąpić takie niekorzystne objawy, jak zwiększona czynności

– symptoms probably directly caused by the accumulation of acetaldehyde in the blood. The experience of reactions like this naturally contributes to the avoidance of drinking alcohol.

Female UChB rats (alcohol-preferring rats) show a 70% higher level of hepatic ADH activity and drink 60% less ethanol than males. After intraperitoneal administration of ethanol, these females generate a temporary increase in acetaldehyde in the blood, which was 2.5 times higher than in males [17]. The castration of males caused:

- 1) increase in ADH activity by 50%,
- 2) increase the 3-4-fold level of acetaldehyde in comparison with the control group,
- 3) reduction of spontaneous alcohol consumption.

Researchers believe that high levels of acetaldehyde are clearly associated with a reduction in alcohol consumption [17].

■ THE BEHAVIOURAL EFFECT OF ACETALDEHYDE

Acetaldehyde has a very short half-life (several minutes) and is immediately metabolised by ALDH. In rodents, it has a very similar effect to ethanol, affecting, among other things, alcohol consumption [18], conditioned place preference [19] and conditioned taste aversion [20]. Following administration of ethanol at various doses, a characteristic U-shaped dose-response curve may be plotted. Lower doses are stimulating, while higher inhibit locomotor activity and disrupt motor coordination [21]. The dose dependent effect was also demonstrated during the intraventricular ethanol and acetaldehyde administration in DRL testing (differential reinforcement of low rates of responding) [22]. After the systemic administration of acetaldehyde, in most studies its inhibitory effect on motor activity was demonstrated [23]. This was particularly evident at doses higher than 50 mg/kg per BW. After intravenous administration of acetaldehyde at a dose of 3 mg/kg per BW, decreased mobility was observed within the first minute. When acetaldehyde is applied to the cerebral ventricles, there is stimulation of locomotor activity [24]. Therefore, acetaldehyde has inhibitory locomotor properties after peripheral administration and stimulating effects after intracerebral administration.

serca, zaczerwienienie twarzy, ból głowy, nudności. Akumulacja aldehydu octowego we krwi jest prawdopodobnie bezpośrednim powodem tych objawów. Doznawanie takich reakcji w naturalny sposób przyczynia się do unikania picia alkoholu.

Samice szczurów linii UChB (szczury preferujące alkohol) wykazują o 70% wyższy poziom aktywności wątrobowej ADH i piją 60% mniej etanolu niż samce. Po podaniu dootrzewnowym etanolu samice te generują przejściowy wzrost aldehydu octowego we krwi, który był 2,5 razy wyższy niż u samców [17]. Kastracja samców powodowała:

- 1) wzrost aktywności ADH o 50%,
- 2) zwiększenie 3–4-krotne stężenia aldehydu octowego w porównaniu z grupą kontrolną,
- 3) redukcję spontanicznego picia alkoholu.

Naukowcy uważają, że wysokie stężenie aldehydu octowego jest wyraźnie związane ze zmniejszeniem picia alkoholu [17].

■ BEHAVIORALNY EFEKT ALDEHYDU OCTOWEGO

Aldehyd octowy ma bardzo krótki okres półtrwania (kilka minut) i jest natychmiast metabolizowany przez ALDH. U gryzoni wykazuje duże podobieństwo do działań etanolu. Wpływa m.in. na spożycie alkoholu [18], warunkową preferencję miejsca [19], warunkową awersję smaku [20]. Po podaniu etanolu w różnych dawkach można wykreślić charakterystyczną U-kształtną krzywą dawka–odpowiedź. Niższe dawki działają stymulująco, a wyższe hamująco na aktywność lokomotoryczną oraz zaburzają koordynację ruchową [21]. Efekt dawkozależności wykazano także podczas dokomorowego podania etanolu i aldehydu octowego w teście DRL (zróżnicowane wzmocnienie niskiego tempa odpowiedzi) [22]. Po obwodowym podaniu aldehydu octowego w większości badań wykazano jego hamujący wpływ na aktywność ruchową [23]. Było to szczególnie widoczne przy dawkach wyższych niż 50 mg/kg m.c. Po dożylnym podaniu aldehydu octowego w dawce 3 mg/kg m.c. w ciągu pierwszej minuty obserwowano zmniejszoną czynność ruchową. Po podaniu aldehydu octowego do komór mózgowych następuje pobudzenie aktywności ruchowej [24]. Dlatego też aldehyd octowy wykazuje hamujące właściwości lokomotoryczne po podaniu obwodowym i stymulujące po podaniu domózgowym.

Acetaldehyde has a strong reinforcing effect. It is self-administered, e.g. by rats which prefer ethanol (line P) into the posterior ventral tegmental area (pVTA) in much lower doses than ethanol. Ethanol and acetaldehyde cause a reinforcing effect independently of each other [25]. The blocking of the formation of aldehyde or accelerating its degradation in VTA inhibited the acquisition of voluntary ethanol intake in naïve rats [26]. It has been shown that acetaldehyde is important during ethanol relapse. Infusion of D-penicillamine (an aldehyde-binding compound) caused a 40-60% reduction in ethanol consumption during relapse after deprivation [27].

In moderate doses, ethanol demonstrates an anxiolytic effect in humans and rodents [28]. Typically, the elevated plus maze test or dark/light box is used in experimental studies of the anxiolytic properties of ethanol. Both test results showed that ethanol administered by intraperitoneal injection at a dose of 0.5-1.5 g/kg per body weight shows anxiolytic effect [24]. To test the participation of acetaldehyde in the anxiolytic action of ethanol, an experiment was performed using two catalase inhibitors: SA (sodium azide) and AT (3-amino-1,2,4-triazole). Both SA and AT reduced the anxiolytic effect of ethanol. The obtained research results may indicate that acetaldehyde is responsible for the psychopharmacological effect of alcohol [24].

Acetaldehyde is a very reactive molecule. As a result of direct or indirect interactions with monoamines like dopamine, adrenaline and noradrenaline, tetrahydroisoquinoline alkaloids (THIQ) may be formed [29]. As a result of its condensation with indolamines (tryptophan, tryptamine), tetrahydro- β -carboline compounds (TBC) are formed [30]. Of THIQ, tetrahydropapaveroline (THP) and salsolinol (SAL) were best known [31]. THP is formed from the condensation of dopamine and its metabolite – DOPAL (3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde), which inhibits tyrosine hydroxylase and consequently the production of dopamine. Deficiency of dopamine leads to the weakening of the signal induced by this monoamine in the reward system [32]. The administration of low doses of THP intraventricularly [33] or to ventral tegmental area (VTA) and nucleus accumbens [34] increases the ethanol preference and its consumption. In contrast, intraventricular application of high doses of THP delivers the opposite effect as it reduces

Aldehyd octowy wykazuje silne działanie wzmacniające. Jest on samopodawany np. przez szczury preferujące etanol (linia P) do tylnej części pola brzusznej nakrywki (pVTA) w dużo niższych dawkach niż etanol. Etanol i aldehyd octowy wywołują wzmocnienie niezależnie od siebie [25]. Zablokowanie powstawania aldehydu lub jego przyspieszona degradacja w VTA znosiły nabywanie picia etanolu u naiwnych szczurów [26]. Wykazano, że aldehyd octowy jest istotny podczas nawrotu picia. Infuzja D-penicilaminy (związek wiążący aldehyd) spowodowała spadek spożycia etanolu o 40–60% podczas nawrotu po okresie deprywacji [27].

Etanol w umiarkowanych dawkach wykazuje działanie anksjolityczne u ludzi i gryzoni [28]. Zwyczajnie do eksperymentalnych badań anksjolitycznych właściwości etanolu stosuje się test podniesionego labiryntu krzyżowego lub *dark/light box*. W ocenie obu testów etanol podawany dootrzewnowo w dawce 0,5–1,5 g/kg m.c. wykazuje działanie anksjolityczne [24]. Aby sprawdzić udział aldehydu octowego w działaniu anksjolitycznym etanolu, wykonano doświadczenie z użyciem dwóch inhibitorów katalazy: SA (azydek sodu) oraz AT (3-amino-1,2,4-triazol). Zarówno SA, jak i AT redukowały anksjolityczny efekt etanolu. Uzyskane rezultaty badań mogą wskazywać, że za psychofarmakologiczny efekt działania alkoholu odpowiedzialny jest aldehyd octowy [24].

Aldehyd octowy jest bardzo reaktywną molekułą. W wyniku bezpośrednich lub pośrednich interakcji z monoaminami – dopaminą, adrenaliną i noradrenaliną, mogą powstawać alkaloidy tetrahydroisochinolinowe (THIQ) [29]. Jako wynik jego kondensacji z indoloaminami (tryptofan, tryptamina) powstają związki tetrahydro- β -karbolinowe (TBC) [30]. Spośród THIQ najlepiej poznano tetrahydropapawerolinę (THP) i salsolinol (SAL) [31]. THP powstaje z kondensacji dopaminy i jej metabolitu – DOPAL (aldehyd 3,4-dihydroksyfenyloctowy). Hamuje ona hydroksylazę tyrozynową, a w konsekwencji produkcję dopaminy. Niedobór dopaminy prowadzi do osłabienia indukowanego tą monoaminą sygnału w układzie nagrody [32]. Podanie niskich dawek THP dokomorowo [33] lub do VTA i jądra półleżącego [34] powoduje wzrost preferencji etanolu i jego konsumpcji. Z kolei podanie dokomorowe wysokich dawek THP niesie ze sobą odwrotny efekt – zmniejsza konsumpcję i pre-

the consumption and preference of ethanol in rats. THP is suspected of participating in the sensitisation to ethanol [35].

Salsolinol is a product of the condensation of acetaldehyde with dopamine [26]. Systemic and intraventricular administration of SAL increases preference for ethanol and its consumption [33]. Similar to acetaldehyde, it has reinforcing properties. After systemic administration, it causes the development of conditioned place preference and stimulates locomotor activity [36]. SAL action consists in blocking monoamine reuptake and inhibition of monoamine metabolising enzymes (e.g. catechol-O-methyltransferase, monoamine oxidase). This contributes to an increase in catecholamines levels [37], e.g. the serotonin level in the striatum can reach concentrations up to 20 times higher than the concentration of dopamine [38]. It also has a high μ opioid receptor affinity [39].

■ THE NEUROCHEMICAL BASIS FOR ACETALDEHYDE ACTION

The dopaminergic mesolimbic system plays a fundamental role in the development of addiction to psychoactive substances [40]. Ethanol increases the level of dopamine in the nucleus accumbens. There is a suspicion that the reinforcing properties of acetaldehyde are also the effect of dopamine secretion in the nucleus accumbens and other limbic system structures. Research shows that acetaldehyde, like ethanol, increases excitation of dopaminergic neurons in VTA [41]. The same studies showed that the stimulating effect of ethanol on dopaminergic VTA neurons was blocked by 4-MP, an ADH inhibitor. This result indicates that the activation of dopaminergic neurons by ethanol is affected by acetaldehyde.

A single administration of ethanol stimulates the secretion of β -endorphins, which interact with the opioid receptors μ and δ [41], while the level of β -endorphin is significantly reduced after chronic alcohol consumption [42].

Increased secretion of β -endorphins by ethanol was inhibited by catalase inhibitors indicating that this effect is the result of acetaldehyde action [41]. β -endorphins modulate dopaminergic neuron activity in VTA and an increase in the secretion of these neuropeptides may be responsible for the stimulating effect of acetaldehyde on dopaminergic neurons [40].

ferencję etanolu u szczurów. THP jest podejrzewana o udział w sensytyzacji na etanol [35].

Salsolinol jest produktem kondensacji aldehydu octowego z dopaminą [26]. Systemowe oraz doko-morowe podanie SAL zwiększa konsumpcję i preferencję etanolu [33]. Podobnie do aldehydu octowego ma właściwości wzmacniające. Po podaniu obwodowym powoduje rozwój warunkowej preferencji miejsca oraz stymuluje aktywność lokomotoryczną [36]. Mechanizm działania SAL polega na blokowaniu wychwytu zwrotnego monoamin oraz hamowaniu enzymów metabolizujących monoaminy (np. katechol-O-metylotransferaza, oksydaza monoaminowa). Przyczynia się do wzrostu poziomu katecholamin [37], np. w prążkowie serotonina może osiągnąć stężenie nawet 20-krotnie wyższe niż stężenie dopaminy [38]. Wykazuje także wysokie powinowactwo do receptorów opioidowych μ [39].

■ NEUROCHEMICZNE PODSTAWY DZIAŁANIA ALDEHYDU OCTOWEGO

Dopaminergiczny układ mezolimbiczny odgrywa zasadniczą rolę w rozwoju uzależnienia od substancji psychoaktywnych [40]. W jądrze półleżącym pod wpływem etanolu zwiększa się poziom dopaminy. Istnieje przypuszczenie, że wzmacniające właściwości aldehydu octowego są również efektem wydzielania dopaminy w jądrze półleżącym i innych strukturach układu limbicznego. Z badań wynika, że aldehyd octowy, podobnie jak etanol, zwiększa wzbudzenie neuronów dopaminergicznych w VTA [41]. Te same badania wykazały, że stymulujący wpływ etanolu na neurony dopaminergiczne VTA był zahamowany po zastosowaniu 4-MP, inhibitora ADH. Rezultat ten wskazuje, że pobudzenie neuronów dopaminergicznych przez etanol dokonuje się pod wpływem aldehydu octowego.

Jednorazowe podanie etanolu pobudza wydzielanie β -endorfin, które wchodzi w interakcję z receptorami opioidowymi μ i δ [41], ale poziom β -endorfin jest znacząco zmniejszony po przewlekłym picciu alkoholu [42].

Zwiększone wydzielanie β -endorfin przez etanol było hamowane przez inhibitory katalazy, wskazując, że efekt ten jest wynikiem działania aldehydu octowego [41]. β -endorfiny modulują aktywność neuronów dopaminergicznych w VTA i wzrost wydzielania tych neuropeptydów może być odpowiedzialny za stymulujący wpływ aldehydu octowego na neurony dopaminergiczne [40].

■ THE SIGNIFICANCE OF ACETALDEHYDE IN ALCOHOL DEPENDENCE THERAPY

Alcohol dependence is a serious global health problem. Acamprosate, naltrexone and disulfiram are currently used to treat the disease [43].

Disulfiram is an aversion effect medicine [44, 45], which inhibits the activity of ALDH responsible for the conversion of acetaldehyde to acetic acid. Alcohol consumption during disulfiram treatment results in a significant increase in the concentration of acetaldehyde in peripheral blood and the onset of symptoms of intoxication, such as nausea, vomiting, tachycardia, hypotension, dizziness and facial flushing [44, 45]. The severity of symptoms depends on the amount of ethanol consumed, and they usually last from 30-60 min. to several hours. After exceeding the concentration of ethanol in the blood to 125-150 mg/100 ml, there may be respiratory failure, arrhythmias, myocardial infarction, heart failure, loss of consciousness, seizures, and in rare cases death when no help is available [source: Practical Medicine, mp.pl]. Disulfiram is considered as a drug with a strong psychological action [44, 45] because its effectiveness results from the association of the above symptoms with ethanol drinking and consequently discourages its further consumption.

Disulfiram's central mechanism of action is also considered. It penetrates the blood-brain barrier, where it blocks ALDH2. This prevents the conversion of DOPAL to DOPAC (3,4-dihydroxyphenylacetic acid), leading to the formation of THP, which in turn inhibits tyrosine hydroxylase and consequently the production of dopamine. The deficit of dopamine may lead to the disruptions in reward system [32].

According to some reports, disulfiram use is dangerous in patients with personality disorders or mental illnesses due to an increased risk of impulsive responses or suicidal behaviour.

Nonetheless, it is difficult to demonstrate the efficacy of disulfiram. In animals that are just starting to drink ethanol, disulfiram actually significantly increases acetaldehyde levels in the plasma, limiting alcohol intake. However, in rats that chronically drank ethanol there was no reduction in alcohol consumption despite the increase in acetaldehyde concentration [46].

■ ZNACZENIE ALDEHYDU OCTOWEGO W TERAPII UZALEŻNIENIA OD ALKOHOLU

Uzależnienie od alkoholu jest poważnym ogólnościowym problemem zdrowotnym. W leczeniu stosuje się obecnie akamprosat, naltrekson i disulfiram [43].

Disulfiram jest lekiem o działaniu awersyjnym [44, 45]. Hamuje aktywność ALDH, przekształcającej aldehyd octowy do kwasu octowego. W przypadku spożycia alkoholu w trakcie leczenia disulfiramiem we krwi obwodowej dochodzi do znacznego wzrostu stężenia aldehydu octowego i wystąpienia objawów zatrucia, takich jak nudności, wymioty, tachykardia, niedociśnienie, zawroty głowy, nagłe zaczerwienienie twarzy z uczuciem gorąca [44, 45]. Ich nasilenie zależy od ilości wypitego etanolu. Objawy utrzymują się zwykle od 30-60 minut do kilku godzin. Po przekroczeniu stężenia etanolu we krwi 125-150 mg/100 ml mogą pojawić się: niewydolność oddechowa, zaburzenia rytmu serca, zawał serca, niewydolność krążenia, utrata przytomności, drgawki, a w sporadycznych przypadkach, gdy nie zostanie udzielona pomoc, może nastąpić zgon [źródło: Medycyna Praktyczna, mp.pl]. Disulfiram jest traktowany jako lek o silnym efekcie psychologicznym [44, 45], gdyż jego skuteczność wynika ze skojarzenia powyższych objawów z piciem etanolu i w konsekwencji zniechęca do jego dalszej konsumpcji.

Rozpatrywany jest także ośrodkowy mechanizm działania disulfiramu. Przenika on przez barierę krew-mózg, gdzie blokuje ALDH2. Zapobiega to konwersji DOPAL do DOPAC (kwas 3,4-dihydroksyfenyloctowy), prowadząc do powstania THP, która z kolei hamuje hydroksylazę tyrozynową, a w konsekwencji produkcję dopaminy. Niedobór dopaminy osłabia działanie układu nagrody [32].

Niektórzy uważają, że stosowanie disulfiramu jest niebezpieczne u pacjentów z zaburzeniami osobowości lub chorobami psychicznymi, z powodu zwiększonego ryzyka reakcji impulsywnych lub zachowań samobójczych.

Trudno jednak wykaazać skuteczność disulfiramu. U zwierząt, które dopiero rozpoczynają picie etanolu, disulfiram faktycznie znacznie podwyższa stężenie aldehydu octowego w osoczu, ograniczając spożycie alkoholu. U szczurów, które przewlekłe piły etanol, pomimo wzrostu stężenia aldehydu octowego, nie obserwowano zmniejszenia spożycia alkoholu [46].

In clinical trials with placebo or in meta-analyses, the efficacy of disulfiram in reducing the frequency of relapse in alcoholics has not been demonstrated [47]. This may be due to the fact that disulfiram crosses the blood-brain barrier, blocks ALDH in the brain, and the increased amount of acetaldehyde and its prolonged half-life contributes to increased ethanol enhancing that balances the aversive effect in the periphery. In addition, complexes formed by acetaldehyde with endogenous compounds, e.g. salsolinol [26, 48] may be very important.

■ THE CARCINOGENIC EFFECT OF ACETALDEHYDE

After ethanol intake, the levels of acetaldehyde increase not only in the blood, but also in saliva, especially in people with ALDH2 polymorphism. This polymorphism is a risk factor for squamous cell carcinomas in the upper digestive tract [49].

Based on widely conducted epidemiological studies, the International Agency for Research on Cancer (IARC) has identified acetaldehyde as a carcinogen of the first group for the oesophagus and/or head and neck.

Acetaldehyde interacts with DNA causes its mutation and cancer development. Studies have shown that acetaldehyde alters DNA in oral cavity cells of humans and monkeys treated with alcohol [11].

Oesophageal squamous cell carcinoma is the most common malignant disease in women and men in western Kenya [50]. Of particular interest is the widespread occurrence of this cancer in young people (under 30 years) [51], despite the low prevalence of classical risk factors, such as excessive alcohol consumption and smoking [50]. In Africa, the main daily diet is fermented food products. Drinking fermented milk is an old tradition among Kenyans who consume this product several times a day. Acetaldehyde is one of the most important flavour factors in dairy products, especially in yoghurt [51]. Fermented dairy products may contain up to 3.8% of ethanol and mutagenic concentrations ($> 100 \mu\text{mol/l}$) of acetaldehyde [52]. Yeast and lactic acid bacteria are the dominant microorganisms in fermented milk. The interaction of microbiological flora affects the properties

Również w badaniach klinicznych z placebo czy w metaanalizach nie wykazano skuteczności disulfiram w zmniejszeniu częstotliwości nawrotów u alkoholików [47]. Fakt ten może wynikać z tego, że disulfiram przenika przez barierę krew–mózg, blokuje ALDH w mózgu, a zwiększona ilość i przedłużony czas półtrwania aldehydu octowego przyczynia się do zwiększonych efektów wzmacniających etanolu, równoważących działanie awersyjne na obwodzie. Ponadto bardzo istotne mogą być kompleksy formowane przez aldehyd octowy z endogennymi związkami, np. salsolinol [26, 48].

■ ALDEHYD OCTOWY A JEGO DZIAŁANIE NOWOTWOROWE

Po spożyciu alkoholu zwiększa się stężenie aldehydu octowego nie tylko we krwi, lecz także w ślinie, szczególnie u osób z polimorfizmem ALDH2. Ten polimorfizm stanowi czynnik ryzyka dla raka płaskonabłonkowego w górnym odcinku układu pokarmowego [49].

Na podstawie szeroko przeprowadzonych badań epidemiologicznych Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem określiła aldehyd octowy jako czynnik rakotwórczy grupy pierwszej dla przełyku i/lub głowy i szyi.

Aldehyd octowy, wchodząc w interakcję z DNA, powoduje jego mutację i rozwój nowotworu. Badania wykazały, że aldehyd octowy zmienia DNA w komórkach jamy ustnej ludzi i małp poddanych działaniu alkoholu [11].

Rak płaskonabłonkowy przełyku jest najczęstszą chorobą nowotworową kobiet i mężczyzn w zachodniej Kenii [50]. Szczególnie interesujące jest powszechne występowanie tego raka u młodych ludzi (poniżej 30. roku życia) [51], pomimo niskiego rozpowszechnienia klasycznych czynników ryzyka, takich jak nadmierne picie alkoholu i palenie tytoniu [50]. W Afryce zasadniczą, codzienną dietę stanowią sfermentowane produkty spożywcze. Spożywanie sfermentowanego mleka to stara tradycja wśród Kenijczyków, którzy konsumują taki produkt kilka razy dziennie. Aldehyd octowy jest jednym z najważniejszych czynników smakowych w produktach mlecznych, szczególnie w jogurcie [51]. Sfermentowane produkty mleczne mogą zawierać do 3,8% etanolu i mutagennego stężenia ($> 100 \mu\text{mol/l}$) aldehydu octowego [52]. Drożdże i bakterie kwasu mlekowego są dominującymi drobnoustrojami w sfermentowanym mleku. Interakcja flory mikro-

of fermented milk, such as consistency and taste. Microorganisms in the oral cavity are able to produce significant amounts of acetaldehyde even from very small (0.01-0.02 M) amounts of ethanol present in saliva after alcohol intake [53]. The formation of acetaldehyde in the mouth increases with the ethanol concentration increase [54]. According to research carried out by Nieminen *et al.* [55], with multiple daily intake of fermented milk there is repeated exposure to carcinogenic aldehyde levels, which may lead to oesophageal carcinogenesis.

The widespread and rising habit of alcohol consumption is one of the main factors affecting the risk of developing colorectal cancer. The formation of toxic acetaldehyde and co-existing factors like poor diet, i.e. low folic acid and fibre and disruption of circadian rhythms, increase the risk of developing this cancer [56].

■ CONCLUSIONS

Acetaldehyde is a metabolite of ethanol. In the periphery, it has an aversive action that can protect against alcohol abuse and dependence. In the CNS, it works in the opposite manner as it has the reinforcing properties, causing an increase in the concentration of dopamine in the reward system. Acetaldehyde in the liver arises primarily as a result of ADH action. Acetaldehyde in the brain is mainly caused by catalase and CYP450 2E1. Acetaldehyde from the peripheral blood does not penetrate the brain due to the strong hepatic metabolism and the existence of the blood-brain enzymatic barrier, which is the presence of ALDH in the blood vessels.

Acetaldehyde is one of the most important causes of squamous cell carcinoma in the upper gastrointestinal tract and colon cancer.

The formation of toxic acetaldehyde and comorbid risk factors such as poor diet (associated with low levels of folic acid and fibre) and disturbances in circadian rhythms greatly increase the risk of developing cancer.

biologicznej ma wpływ na właściwości sfermentowanego mleka, takie jak konsystencja i smak. Drobnoustroje obecne w jamie ustnej są w stanie wytworzyć znaczne ilości aldehydu octowego nawet z bardzo małych (0,01–0,02 M) ilości etanolu obecnego w ślinie po spożyciu alkoholu [53]. Powstawanie aldehydu octowego w jamie ustnej wzrasta, gdy zwiększa się stężenie etanolu [54]. Z badań przeprowadzonych przez Nieminen i wsp. [55] wynika, że przy kilkukrotnym dziennym spożyciu sfermentowanego mleka występuje wielokrotne narażenie na działanie rakotwórczych stężeń aldehydu, co może prowadzić do karcynogenezy w przełyku.

Powszechny i rozwijający się nawyk spożywania alkoholu jest jednym z głównych czynników wpływających na ryzyko rozwoju raka jelita grubego. Tworzenie się toksycznego aldehydu octowego i współistniejące czynniki, takie jak: uboga dieta, czyli o niskiej zawartości kwasu foliowego i błonnika, zaburzenie rytmu dobowego zwiększają ryzyko rozwoju tego nowotworu [56].

■ PODSUMOWANIE

Aldehyd octowy jest metabolitem etanolu. Na obwodzie wykazuje działanie awersyjne, które może chronić przed nadużywaniem i uzależnieniem od alkoholu. W OUN działa przeciwstawnie – wykazuje właściwości wzmacniające, powodując wzrost stężenia dopaminy w układzie nagrody. Aldehyd octowy na obwodzie powstaje przede wszystkim w wyniku działania ADH. Aldehyd octowy w mózgu powstaje głównie w wyniku działania katalazy i CYP450 2E1. Aldehyd octowy z obwodu nie przenika do mózgu ze względu na silny metabolizm wątrobowy oraz istnienie bariery enzymatycznej krew–mózg, którą stanowi obecność ALDH w naczyniach krwionośnych.

Aldehyd octowy jest jedną z istotnych przyczyn rozwoju raka płaskonabłonkowego w górnym odcinku przewodu pokarmowego oraz raka jelita grubego.

Tworzenie się toksycznego aldehydu octowego i współistniejące czynniki ryzyka, takie jak uboga dieta (o niskiej zawartości kwasu foliowego i błonnika) i zaburzenia rytmu dobowego, bardzo zwiększają ryzyko rozwoju nowotworu.

Conflict of interest/Konflikt interesów

None declared./Nie występuje.

Financial support/Finansowanie

None declared./Nie zadeklarowano.

Ethics/Etyka

The work described in this article has been carried out in accordance with the Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) on medical research involving human subjects, EU Directive (210/63/EU) on protection of animals used for scientific purposes, Uniform Requirements for manuscripts submitted to biomedical journals and the ethical principles defined in the Farmington Consensus of 1997.

Treści przedstawione w pracy są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej odnoszącymi się do badań z udziałem ludzi, dyrektywami UE dotyczącymi ochrony zwierząt używanych do celów naukowych, ujednoczonymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych oraz z zasadami etycznymi określonymi w Porozumieniu z Farmington w 1997 r.

References/Piśmiennictwo

1. Łaniewska-Dunaj M, Jelski W, Szmitkowski M. Dehydrogenaza alkoholowa – znaczenie fizjologiczne i diagnostyczne. *Postępy Hig Med Dosw* 2013; 67: 901-7.
2. Kimura Y, Nishimura FT, Abe S, Fukunaga T, Tanii H, Saijoh K. Polymorphisms in the promoter region of the human class II alcohol dehydrogenase (ADH4) gene affect both transcriptional activity and ethanol metabolism in Japanese subjects. *J Toxicol Sci* 2009; 34(1): 89-97.
3. Hoog JO, Brandt M, Hedberg J, Stromberg P. Mammalian alcohol dehydrogenase of higher classes: analyses of human ADH5 and rat ADH6. *Chem Biol Interact* 2002; 130: 395-405.
4. Zheng YW, Bey M, Liu H, Felder MR. Molecular basis of the alcohol dehydrogenase-negative deer mouse. Evidence for deletion of the gene for class I enzyme and identification of a possible new enzyme class. *J Biol Chem* 1993; 268(33): 24933-9.
5. Galter D, Carmine A, Buervenich S, Duester G, Olson L. Distribution of class I, III and IV alcohol dehydrogenase mRNAs in the adult rat, mouse and human brain. *Eur J Biochem* 2003; 270: 1316-26.
6. Jelski W, Grochowska-Skiba B, Szmitowski M. Dehydrogenaza alkoholowa i metabolizm alkoholu etylowego w mózgu. Alcohol dehydrogenase and the metabolism of ethanol in the brain. *Postępy Hig Med Dosw* 2007; 61: 226-30.
7. Quertemont E, Eriksson CJ, Zimatkin SM, Pronko PS, Diana M, Pisano M, et al. Is ethanol a pro-drug? Acetaldehyde contribution to brain ethanol effects. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29(8): 1514-21.
8. Lands WE. A review of alcohol clearance in humans. *Alcohol* 1998; 15(2): 147-60.
9. Tabakoff B, Anderson RA, Ritzmann RF. Brain acetaldehyde after ethanol administration. *Biochem Pharmacol* 1976; 25(11): 1305-9.
10. Zimatkin SM, Pronko SP, Vasilliou V, Gonzalez FJ, Deitrich RA. Enzymatic mechanisms of ethanol oxidation in the brain. *Alcohol Clin Exp Res* 2006; 30(9): 1500-5.
11. Stornetta A, Guidolin V, Balbo S. Alcohol-derived acetaldehyde exposure in the oral cavity. *Cancers (Basel)* 2018; 10(1). DOI: 10.3390/cancers10010020.
12. Zimatkin SM, Lindros KO. Distribution of catalase in rat brain: aminergic neurons as possible targets for ethanol effects. *Alcohol Alcohol* 1996; 31(2): 167-74.
13. Hamby-Mason R, Chen JJ, Schenker S, Perez A, Henderson GI. Catalase mediates acetaldehyde formation from ethanol in fetal and neonatal rat brain. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21: 1063-72.
14. Giri PR, Linnoila M, O'Neill JB, Goldman D. Distribution and possible metabolic role of class III alcohol dehydrogenase in the human brain. *Brain Res* 1989; 481(1): 131-4.
15. Edenberg HJ. Common and rare variants in alcohol dependence. *Biol Psychiatry* 2011; 70: 498-9.
16. Godde HW, Agarwal DP, Fritze G, Meier-Tackmann D, Singh S, Beckmann G, et al. Distribution of ADH2 and ALDH2 genotypes in different populations. *Hum Genet* 1992; 88(3): 344-6.

17. Quintanilla ME, Tampier L, Sapag A, Gerdtzen Z, Israel Y. Sex differences, alcohol dehydrogenase, acetaldehyde burst, and aversion to ethanol in the rat: a systems perspective. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293(2): E531-7.
18. Myers WD, Ng KT, Marzuki S, Myers RD, Singer G. Alteration of alcohol drinking in the rat by peripherally self-administered acetaldehyde. *Alcohol* 1984; 1(3): 229-36.
19. Smith BR, Amit Z, Splawinsky J. Conditioned place preference induced by intraventricular infusions of acetaldehyde. *Alcohol* 1984; 1(3): 193-5.
20. Aragon CM, Abitbol M, Amit Z. Acetaldehyde may mediate reinforcement and aversion produced by ethanol. An examination using a conditioned taste-aversion paradigm. *Neuropharmacology* 1986; 25(1): 79-83.
21. Crabbe JC Jr, Johnson NA, Gray DK, Kosobud A, Young ER. Biphasic effects of ethanol on open-field activity: sensitivity and tolerance in C57BL/6N and DBA/2N mice. *J Comp Physiol Psychol* 1982; 96(3): 440-51.
22. Arizzi MN, Correa M, Betz AJ, Wisniecki A, Salamone JD. Behavioral effects of intraventricular injections of low doses of ethanol, acetaldehyde, and acetate in rats: studies with low and high rate operant schedules. *Behav Brain Res* 2003; 147(1-2): 203-10.
23. Quertemont E, Tambour S, Tirelli E. The role of acetaldehyde in the neurobehavioral effects of ethanol: A comprehensive review of animal studies. *Prog in Neurobiol* 2005; 75: 247-74.
24. Correa M, Manrigue HM, Font L, Escrig MA, Aragon CM. Reduction in the anxiolytic effects of ethanol by centrally formed acetaldehyde: the role of catalase inhibitors and acetaldehyde-sequestering agents. *Psychopharmacol* 2008; 200(4): 455-64.
25. Rodd ZA, Bell RL, Zhang Y, Murphy JM, Goldstein A, Zaffaroni A, et al. Regional heterogeneity for the intracranial self-administration of ethanol and acetaldehyde within the ventral tegmental area of alcohol-preferring (P) rats: involvement of dopamine and serotonin. *Neuropsychopharmacology* 2005; 30(2): 330-8.
26. Israel Y, Quintanilla ME, Karahanian E, Rivera-Meza M, Herrera-Marschitz M. The "first hit" toward alcohol reinforcement: role of ethanol metabolites. *Alcohol Clin Exp Res* 2015; 39(5): 776-86.
27. Orrico A, Hipólito L, Sánchez-Catalán MJ, Martí-Prats L, Zornoza T, Granero L, et al. Efficacy of D-penicillamine, a sequestering acetaldehyde agent, in the prevention of alcohol relapse-like drinking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2013; 228(4): 563-75.
28. Bahi A. Decreased anxiety, voluntary ethanol intake and ethanol-induced CPP acquisition following activation of the metabotropic glutamate receptor 8 "mGluR8". *Pharmacol Biochem Behav* 2017; 155: 32-42.
29. Cohen G. Alkaloid products in the metabolism of alcohol and biogenic amines. *Biochem Pharmacol* 1976; 25: 1123-8.
30. Buckholtz NS. Neurobiology of tetrahydro-beta-carbolines. *Life Sci* 1980; 27: 893-903.
31. Weiner H. Estimation of the in vivo concentration of salsolinol and tetrahydropapaveroline in rat brain after the administration of ethanol. *Subst Alcohol Actions Misuse* 1980; 1: 317-3.
32. Yao L, Fan P, Arolfo M, Jiang Z, Olive MF, Zablocki J, et al. Inhibition of aldehyde dehydrogenase-2 suppresses cocaine seeking by generating THP, a cocaine use-dependent inhibitor of dopamine synthesis. *Nat Med* 2010; 16(9): 1024-8.
33. Myers RD, Melchior CL. Alcohol drinking: abnormal intake caused by tetrahydropapaveroline in brain. *Science* 1977; 196: 554-6.
34. Duncan CC, Fernando PW. Effects of tetrahydropapaveroline in the nucleus accumbens and the ventral tegmental area on ethanol preference in the rat. *Alcohol* 1991; 8: 87-90.
35. Duncan C, Deitrich RA. A critical evaluation of tetrahydroisoquinoline induced ethanol preference in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1980; 13: 265-81.
36. Matsuzawa S, Suzuki T, Misawa M. Involvement of μ -opioid receptor in the salsolinol-associated place preference in rats exposed to conditioned fear stress. *Alcohol Clin Exp Res* 2000; 24(3): 366-2.
37. Alpers HS, McLaughlin, Nix WM, David VE. Inhibition of catecholamine uptake and retention in synaptosomal preparations by tetrahydroisoquinoline and tetrahydroprotoberberine alkaloids. *Biochem Pharmacol* 1975; 24: 1391-6.

38. Nakahara D, Maruyama W, Hashiguti H, Naoi M. Characterization of the in vivo action of (R)-salsolinol, an endogenous metabolite of alcohol, on serotonin and dopamine metabolism: a microdialysis study. *Brain Res* 1994; 644: 226-32.
39. Airaksinen MM, Saano V, Steidel E, Juvonen H, Huhtikangas A, Gynther J. Binding of beta-carbolines and tetrahydroisoquinolines by opiate receptors of the delta-type. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 1984; 55: 380-5.
40. Di Chiara G. Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. *Behav Brain Res* 2002; 137: 75-114.
41. Foddai M, Dosia G, Spiga S, Diana M. Acetaldehyde increase dopaminergic neuronal activity in the VTA. *Neuropsychopharmacol* 2007; 29: 530-6.
42. Gianoulakis C. Endogenous opioids and addiction to alcohol and other drugs of abuse. *Curr Top Med Chem* 2004; 4: 39-50.
43. Testino G, Leone S, Borro P. Treatment of alcohol dependence: recent progress and reduction of consumption. *Minerva Medica* 2014; 105(6): 447-66.
44. Thompson A, Owens L, Pushpakom SP, Faizal M, Pirmohamed M. Pharmacotherapy for alcohol dependence: A stratified approach. *Pharmacol Ther* 2015; 153: 10-24.
45. Franck J, Jayaram-Lindström N. Pharmacotherapy for alcohol dependence: status of current treatments. *Curr Opin Neurobiol* 2013; 23(4): 692-9.
46. Tampier L, Quintanilla ME, Israel Y. Tolerance to disulfiram induced by chronic alcohol intake in the rat. *Alcohol Clin Exp Res* 2008; 32(6): 937-41.
47. Skinner MD, Lahmek P, Pham H, Aubin HJ. Disulfiram efficacy in the treatment of alcohol dependence: a meta-analysis. *PLoS One* 2014; 9(2): e87366.
48. Hellström E, Tottmar O. Effects of aldehyde dehydrogenase inhibitors on enzymes involved in the metabolism of biogenic aldehydes in rat liver and brain. *Biochem Pharmacol* 1982; 31(23): 3899-905.
49. Mizumoto A, Ohashi S, Hirohashi K, Amanuma Y, Matsuda T, Muto M. Molecular mechanisms of acetaldehyde-mediated carcinogenesis in squamous epithelium. *Int J Mol Sci* 2017; 18(9): 1943.
50. Parker RK, Dawsey SM, Abnet CC, White RE. Frequent occurrence of esophageal cancer in young people in western Kenya. *Dis Esophagus* 2010; 23: 128-35.
51. Narvhus JA, Gadaga TH. The role of interaction between yeasts and lactic acid bacteria in African fermented milks: a review. *Int J Food Microbiol* 2003; 86: 51-60.
52. Uebelacker M, Lachenmeier DW. Quantitative determination of acetaldehyde in foods using automated digestion with simulated gastric fluid followed by headspace gas chromatography. *J Autom Methods Manag Chem* 2011; 2011: 907317.
53. Homann N, Jousimies-Somer H, Jokelainen K, Heine R, Salaspuro M. High acetaldehyde levels in saliva after ethanol consumption: methodological aspects and pathogenetic implication. *Carcinogenesis* 1997; 18: 1739-43.
54. Lachenmeier DW, Monakhova YB. Short-term salivary acetaldehyde increase due to direct exposure to alcoholic beverages as an additional cancer risk factor beyond ethanol metabolism. *J Exp Clin Cancer Res* 2011; 30: 3.
55. Nieminen MT, Novak-Frazer L, Collins R, Dawsey SP, Dawsey SM, Abnet CC, et al. Alcohol and acetaldehyde in African fermentation milk mursik-a possible etiologic factor for high incidence of esophageal cancer in western Kenya. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013; 22(1): 69-75.
56. Rossi M, Jahanzaib Anwar M, Usman A, Keshavarzian A, Bishehsari F. Colorectal cancer and alcohol consumption-populations to molecules. *Cancers (Basel)* 2018. DOI: 10.3390/cancers10020038.