



# ACTUALIZACIÓN EN MARCADORES BIOLÓGICOS DEL ETILISMO

A. Segado Soriano<sup>(1)</sup>, F. Bandrés<sup>(2)</sup> y F. Gómez-Gallego<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Servicio de Medicina Interna. HGU Gregorio Marañón.

<sup>(2)</sup>Laboratorio de Biopatología. Dpto de Toxicología y Legislación Sanitaria. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.

## Correspondencia:

Dr. Félix Gómez Gallego  
Dpto de Toxicología y Legislación Sanitaria.  
Facultad de Medicina.  
Universidad Complutense de Madrid.  
Ciudad Universitaria  
28040 MADRID  
e-mail: fgomezga@med.ucm.es

En el presente trabajo se lleva a cabo una revisión sobre el estado actual de los marcadores biológicos asociados al consumo de etanol y su utilidad tanto en la valoración de la ingesta continuada (CDT, GOT mitocondrial, CETP) como de la posible susceptibilidad/vulnerabilidad de alcohol dependencia (GGT, VCM, transaminasas, colesterol, triglicéridos, MAO). También se analiza el papel que desempeñan los polimorfismos genéticos de alcohol deshidrogenasa (ADH), acetaldehído deshidrogenasa (ALDH) y citocromo P450 (CYP450) en el metabolismo del etanol y en el desarrollo de patologías relacionadas.

**Palabras clave:** alcohol, marcadores biológicos, hepatopatía, polimorfismos genéticos

## BIOLOGICAL MARKERS OF ALCOHOLISM: AN UPDATE

In the present work, we carry out a new revision about ethanol related biological markers and their usefulness in the evaluation of chronic consumption (CDT, mitochondrial GOT, CETP) and the susceptibility/vulnerability to alcohol dependence (GGT, MCV, transaminases, cholesterol, triglycerides, MAO). Also, we analyze the function of genetic polymorphisms of alcohol dehydrogenase (ADH), acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) and cytochrome P450 (CYP450) in ethanol metabolism and in developing related pathologies.

**Key words:** alcohol, biological markers, liver disease, genetic polymorphisms

El alcohol es una sustancia cuyo consumo está muy arraigado en la cultura occidental en general, y en la española en particular. España es uno de los principales países productores del mundo y el tercer consumidor de Europa. La tolerancia social en el uso y abuso de bebidas alcohólicas es muy grande; sin embargo su capacidad para modificar la conducta, la degradación personal que conlleva su abuso y las consecuencias sobre terceros, sobre todo los accidentes de automóviles, han hecho que exista una mayor con-

ciencia social sobre su peligrosidad.

Las repercusiones negativas del alcohol en el medio laboral revisten también gran importancia. Según la Memoria del Plan Nacional sobre Drogas de 1996 el 50% de los españoles mayores de 14 años consume bebidas alcohólicas al menos una vez al mes y el 15% lo hace diariamente. En dos encuestas nacionales realizadas sobre población trabajadora (UGT-EDIS 1987 y Fundación de Ayuda contra la Drogadicción-FAD 1996) se observa un descenso del porcenta-

je de bebedores excesivos, sin embargo su porcentaje sigue siendo importante y sobre todo si a este grupo se le suma el de trabajadores con consumo de riesgo<sup>(1)</sup>. Según estas encuestas el 60% de los trabajadores tomaron alcohol en la última semana, con una frecuencia de 1-4 veces a la semana en el 35% y del 24% a diario. El 13% de los trabajadores beben de forma excesiva. En la Comunidad Autónoma de Madrid (CAM) existen cerca de 110.000 bebedores moderados o excesivos, grupos ambos de riesgo de enfermedades

relacionadas con el alcohol. Entre los bebedores excesivos la mayoría son hombres (2:1) respecto a mujeres. Las tasas de bebedores excesivos en la CAM son ligeramente inferiores a las del resto de España, sin embargo hay mayor porcentaje de mujeres trabajadoras dentro de este grupo respecto al resto de comunidades (4% vs. 3%). En cuanto a los problemas que genera el consumo de alcohol en el ámbito laboral se detectan como principales los siguientes:

- Absentismo laboral (5%)
- Disminución en el rendimiento del trabajo (12%)
- Accidentes laborales (1,7%).

Las ramas de actividad con mayor número de problemas relacionados con el alcohol son la construcción, minería-químicas, transporte y por último comercio-hostelería.

Por último señalar que el 26% de los trabajadores con consumo de riesgo presentan problemas de salud o problemas familiares relacionados con dicho consumo.

El consumo excesivo de alcohol constituye, por lo tanto, uno de los principales problemas de salud pública y tiene innumerables implicaciones sociales, laborales, económicas y médicas. La mortalidad por causa directa del alcohol se sitúa en torno al 4% del total, pudiéndose estimar en torno a un 20% si añadimos causas de muerte relacionadas con el alcohol como los accidentes laborales y de automoción. Sin embargo paradójicamente el alcoholismo es un diagnóstico poco frecuente en nuestra actividad médica habitual. Ello se debe a varias razones: negación del consumo, ausencia de conciencia social del problema, falta de correlación entre los síntomas y consumo de alcohol, deterioro cognitivo con trastorno de memoria<sup>(2,3)</sup>.

Según algunos autores tan sólo un 30% de pacientes con problemas de alcoholismo son diagnosticados por el médico de atención primaria<sup>(3-5)</sup>, siendo la mayoría diagnosticados cuando aparecen enfermedades relacionadas con su consumo<sup>(6)</sup>. Incluso se ha detectado en centros de rehabilitación del alco-

holismo la presencia de alcohol en orina en cerca del 50% de los que negaban su consumo<sup>(7)</sup>. Tradicionalmente el alcoholismo crónico es diagnosticado sobre la base de la historia clínica, tests psicométricos a menudo no realizados, cuantía del consumo diario, y por último mediante pruebas de laboratorio: los llamados marcadores biológicos del etilismo. Entendemos por "marcadores biológicos" aquellos parámetros analíticos que nos dan información acerca de la existencia o no de un proceso patológico en el organismo. Clásicamente los marcadores de consumo/abuso de alcohol se han dividido en: marcadores biológicos de estado y marcadores biológicos de rasgo. Los primeros se caracterizan por modificarse en relación al patrón de consumo de alcohol, y han sido utilizados en la monitorización de los resultados del tratamiento y del curso de la enfermedad, ya que sus valores se normalizan con la abstinencia.

Los marcadores biológicos de rasgo se consideran estables en el tiempo, e independientes del consumo reciente o no de alcohol, y se han propuesto como marcadores indicativos de posible susceptibilidad-vulnerabilidad genética para el alcoholismo.

El marcador ideal del alcoholismo debería ser una prueba no invasiva, de bajo coste y de fácil realización en cualquier laboratorio, con elevada sensibilidad y especificidad, que permita diferenciar entre consumo de riesgo y excesivo de alcohol y que sirva tanto para el diagnóstico de alcoholismo como para el control de la abstinencia. Este marcador ideal no debería estar influido por el estado nutricional o por el desarrollo de enfermedad hepática, y que tenga una vida media predecible. Los marcadores clásicos son buenos en relación con el diagnóstico de enfermedades relacionadas con el alcohol, pero no son útiles en la detección de las primeras fases del consumo de riesgo, ya que se basan en la detección de las alteraciones que produce el alcohol sobre diferentes estructuras celulares, principal-

mente hematíes y hepatocitos. Estos marcadores tienen varios inconvenientes. De un lado indican la afectación de un determinado órgano, con lo que pueden dar falsos positivos cuando la afectación no se deba al consumo etílico, de otra parte, la sensibilidad de dichos marcadores aumenta cuando dichos órganos están suficientemente afectados y por tanto no son buenos marcadores en las primeras fases del alcoholismo<sup>(6,7)</sup>. Los esfuerzos que se realizan actualmente van encaminados a desarrollar nuevos marcadores biológicos y tests psicométricos que detecten el problema en sus inicios y que sean fiables en el seguimiento de la abstinencia. En la última década han comenzado a surgir nuevos marcadores biológicos del etilismo capaces de aportar información temprana del consumo de riesgo, del metabolismo del etanol y sus efectos tóxicos, destacando entre ellos la Transferrina Deficiente en Carbohidratos (CDT), la GOT mitocondrial, el 5-Hidroxitriptófano (5-HTO), sin embargo no hay estudios amplios de coste/eficacia lo cual permitiría su incorporación a la rutina del laboratorio general, posibilitando además el diagnóstico precoz y preciso del consumo de riesgo y alcohol/dependencia. Vamos a repasar las características principales de estos marcadores y los avances recientes.

Antes vamos a definir lo que significan una serie de conceptos con cierta confusión en la literatura, ya que serían frecuentemente usados en el desarrollo de la presente revisión.

**Abstemio:** Persona no consumidora de alcohol.

**Bebedor ligero o de bajo riesgo:** Mujeres con consumo inferior a 20 gr etanol/día. Varones con consumo inferior a 40 gr etanol/día.

**Bebedor con consumo de riesgo o de alto riesgo:** Mujeres con consumo de 20-40 gr etanol/día. Varones con consumo 40-60 gr etanol/día.

**Bebedor moderado-importante:** Mujeres con consumo entre 40-80 gr etanol/día. Varones con consumo entre 60-80 gr etanol/día.

**Bebedor excesivo:** Varones y mujeres con consumo superior a 80 gr etanol/día.

Utilizaremos escasamente el término alcohólico ya que implica una dependencia psíquica no valorada por los marcadores biológicos, siendo muchas veces utilizado de forma confusa en la literatura, puesto que puede incluir tanto a los bebedores moderados-importantes, como a los bebedores excesivos. Estudiaremos los marcadores de rasgo o de susceptibilidad de alcohol/dependencia. No incluimos la determinación de alcohol en sangre y orina ni marcadores nuevos de ingesta reciente, por entender que dicho aspecto se encuadra más en problemática médico-legal que desde un punto de vista clínico de paciente ingresado.

## MARCADORES CLÁSICOS

### Gamma-glutamyl-transpeptidasa (GGT)

También llamada gamma-glutamyl-transferasa, es una glicoproteína en el límite de la membrana que cataliza la transferencia de la mitad de la gamma-glutamyl del glutatión a varios receptores peptídicos. Se encuentra en la fracción membrana de varios tejidos. Las concentraciones más altas de esta enzima se encuentran en hígado, riñón, bazo y próstata. En menor cuantía se encuentra en páncreas, cerebro y corazón. La GGT está involucrada en el transporte activo de aminoácidos y aminos biológicas a través de la barrera hematoencefálica por la vía del ciclo de la g-glutamyl. Varias isoenzimas de la GGT han sido aisladas y purificadas desde diversos tejidos pero no se les ha encontrado una aplicación clínica. Sus resultados normales en la mayoría de los laboratorios son inferiores a 50 U/l. La elevación se utiliza clásicamente para detectar la disfunción de las células hepáticas y revela con gran exactitud la evidencia de colestasis. La GGT sérica es el marcador de laboratorio más ampliamente usado como test para abuso de alcohol y alcoholismo. Numerosos estudios han

enfaticado su sensibilidad y especificidad en la detección de daño hepático alcohólico. Es el más sensible indicador de consumo de alcohol según algunos autores<sup>(8)</sup>. Sus niveles están muy elevados en pacientes con cirrosis hepática. Es más sensible que las transaminasas para detectar el consumo excesivo de alcohol, elevándose en el 75% de los pacientes con dependencia alcohólica establecida<sup>(7,9)</sup>. Es útil como marcador de la ingesta de alcohol pues existe una buena correlación entre los niveles de GGT e ingesta.

Sin embargo presenta una serie de inconvenientes:

- Se eleva en el 25% de las personas sanas y bebedores de riesgo en una comunidad cerrada<sup>(10,11)</sup>.

- Su sensibilidad disminuye en mujeres<sup>(10,11)</sup>.

- Sus valores disminuyen al final del embarazo.

- Suele elevarse más en casos de consumo regular que en bebedores esporádicos.

- Como indicador de consumo pierde utilidad si además existe hepatopatía, pancreatitis, isquemia hepática de otro origen, insuficiencia cardíaca o administración de anticonvulsivantes, benzodiazepinas o anticonceptivos.

- Su principal desventaja es la **BAJA SENSIBILIDAD EN CONSUMO DE RIESGO y MODERADA ESPECIFICIDAD EN CONSUMO DE RIESGO** y según algunos autores también en dependencia<sup>(12)</sup> Su especificidad es mayor en la comunidad (90%) que en el medio hospitalario (50%).

Con la abstinencia, los niveles de GGT se reducen a la mitad en dos semanas y vuelven a la normalidad en 6-8 semanas, salvo en caso de hepatitis alcohólica o cirrosis.

Los niveles se vuelven a elevar en caso de reanuda ingesta de alcohol, lo cual es útil en el control de la abstinencia. Hay diversos estudios que avalan su eficacia junto a la CDT<sup>(5,12-14)</sup>.

La GGT tiene un importante valor pronóstico. En un estudio en Suecia los varones alcohólicos con GGT > 83 U/l tienen una mayor

morbimortalidad que valores inferiores, siendo confirmado posteriormente en otro estudio en Australia<sup>(15)</sup>. En este estudio los varones atendidos en un departamento de Urgencias con GGT > 80 U/l tenían un riesgo relativo de 7 de muerte, de 5 de hepatopatía y de 3 de traumatismo en los tres años posteriores, que aquellos con cifras de GGT < 80 U/l.

También es útil como hemos indicado en programas de deshabituación alcohólica<sup>(16)</sup> con disminución de morbimortalidad en el grupo de pacientes que deja de beber y normaliza valores de GGT.

Su sensibilidad y especificidad en relación a otros marcadores vienen reflejadas en la TABLA I.

## VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO (VCM)

El VCM es una medida del volumen o tamaño medio de los hematíes, y su principal uso es para clasificar las anemias. Se calcula dividiendo el hematocrito por la cifra total de hematíes. Los valores normales varían según la edad y sexo, siendo en los recién nacidos de 96-108 y en los niños y adultos de 80-95. Cuando el VCM está aumentado los hematíes son anormalmente grandes o macrocíticos. La macrocitosia ha sido un hallazgo común clásicamente en pacientes alcohólicos, y ello se debe a una acción directa del alcohol en el desarrollo de los eritroblastos, más que a un déficit de ácido fólico.

Es menos sensible (30-50%) pero más específica (65-100%) que la GGT (TABLA I).

Existe una relación entre ingesta de alcohol y VCM pero no tan clara como en la GGT. El VCM tarda tres meses en regresar a niveles basales tras la abstinencia y también se puede emplear como control evolutivo. Su especificidad en comunidad es elevada<sup>(11,17)</sup>.

Sus principales inconvenientes son:

- Escasa sensibilidad en consumo de riesgo y en el inferior a 60 gr etanol/día.

- Incremento de los valores en

**TABLA I**

**SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LOS TESTS DE LABORATORIO PARA LA DETECCIÓN DEL CONSUMO DE RIESGO DE ALCOHOL Y DEL ALCOHOLISMO (TOMADO DE (7))**

	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
<b>GGT</b>		
Consumo de riesgo	20-50	55-100
Dependencia/Alcoholismo	60-90	55-100
<b>VCM</b>		
Consumo de riesgo	20-30	64-100
Dependencia/Alcoholismo	40-50	64-100
<b>AST</b>		
Consumo de riesgo	10-30	>90
Dependencia/Alcoholismo	35-50	>90
<b>ALT</b>		
Consumo de riesgo	10-20	>80
Dependencia/Alcoholismo	20-50	>80
<b>CDT</b>		
Consumo de riesgo	26-62	>90
Dependencia/Alcoholismo	65-95	>90

otras circunstancias: hepatopatías, patología tiroidea, fármacos anti-convulsivantes, anemia por déficit de vitamina B<sub>12</sub>, anemia por déficit de ácido fólico, ésta última circunstancia habitual en pacientes con hepatopatía etílica lo cual hace difícil saber si la macrocitosis es por el alcohol o por este déficit.

Su elevación junto con la de la GGT indican casi siempre consumo de alcohol, siendo actualmente el criterio biológico más específico y de menor coste para el diagnóstico de alcoholismo en espera de los nuevos marcadores. Su elevación conjunta llega a identificar a más del 75% de los bebedores.

**Transaminasas**

Son la aspartato amino transferasa (AST) o glutamato oxalacetato transaminasa (GOT) y la alanina amino transferasa (ALT) o glutamato piruvato transaminasa (GPT). Son las enzimas más frecuentemente analizadas en patología hepática y los marcadores más sensitivos de citolisis hepática. La GOT cataliza la transferencia rever-

sible del grupo O-amino del aspártico al grupo O-ceto del ácido cetoglutárico. Altas concentraciones de GOT se encuentran en el músculo cardiaco, células musculares esqueléticas, hepatocito, y en menor grado en páncreas y riñones. En el suero humano la GOT está presente como dos isoenzimas distintas inmunológicamente: GOT citoplasmática (c-GOT o c-AST) y GOT mitocondrial (m-GOT o M-AST). La mayoría de la GOT humana en hígado es la m-AST, mientras que en el suero normal casi toda la actividad de la GOT está originada en el citosol<sup>(18-20)</sup>. Sus valores normales oscilan en el adulto entre 5-40 U/l, algo menor en mujeres y algo más elevadas en ancianos (se puede considerar normales valores hasta 50 U/l). Elevaciones séricas de GOT se encuentran en pacientes con todo tipo de daño hepático, probablemente como resultado de una anormal permeabilidad de la membrana hepatocelular y una salida de enzimas al plasma. El mismo mecanismo opera para la liberación de la GOT desde otros tejidos como el

corazón en caso de IAM, cerebro en caso de convulsiones, músculo esquelético en caso de traumatismo o rabdomiolisis de otro origen. Análisis en suero de c-GOT y m-GOT se emplean para estimar la severidad del daño hepático<sup>(20)</sup>. La GOT tiene valor pronóstico ya que su elevación se relaciona con cirrosis en los siguientes diez años.

En pacientes alcohólicos elevaciones de GOT han sido generalmente aceptados como indicadores de daño hepático. Su utilización conjunta con la GPT, como cociente GOT/GPT, el cual cuando es mayor de 1 indica daño hepático, si bien pueden encontrarse valores menores en caso de hepatitis aguda o mononucleosis infecciosa. La utilización conjunta de GOT/GPT más GGT tiene una sensibilidad cercana al 95% y una especificidad del 80% en la detección de recaídas alcohólicas, lo cual puede ser útil en la práctica clínica y en programas de deshabituación.

También ha sido estudiado por diversos autores el cociente m-GOT/c-GOT<sup>(21,22)</sup>. Así Nalpas et al.<sup>(22)</sup> hacen un estudio de dicho cociente como marcador de abuso de alcohol en una población no seleccionada. Mostraron que la m-GOT en suero presentada como una ratio relativa (m-GOT/c-GOT) es una herramienta útil de trabajo para el diagnóstico de consumo crónico de alcohol. Según estos autores, su sensibilidad es mayor que la de la GGT, independientemente del estadio hepático de los pacientes. Sin embargo, posteriormente otros autores<sup>(23)</sup> señalaron que dicho cociente no es útil para la detección del abuso alcohólico cuando los pacientes están en una época inicial de daño hepático.

Los principales inconvenientes de la GOT son:

- Escasa sensibilidad para detectar consumo de riesgo (30%).

- Su modificación en situaciones fisiológicas: aumenta con el ejercicio, disminuye con el embarazo.

- Su elevación se produce en otras muchas situaciones patológicas: IAM, cirugía cardiaca, pancreatitis, traumatismos, rabdomiolisis,

TABLA II

**EFICACIA DIAGNÓSTICA DE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO PARA IDENTIFICAR A LOS BEBEDORES EXCESIVOS CON CONSUMOS SEMANALES IGUALES O SUPERIORES A 420 GR DE ALCOHOL**

	Consumo $\geq$ 420 gr/semana (nº de individuos)			Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Valor predictivo (%)	
	Si	No	Total			Positivo	Negativo
<b>VCM</b>							
Elevado	17	69	86	49	84	20	95
Normal	18	364	382				
Total	35	433	468				
<b>GGT</b>							
Elevado	6	23	29	25	93	21	94
Normal	18	285	303				
Total	24	308	332				
<b>GOT</b>							
Elevado	5	10	15	21	97	33	94
Normal	18	298	317				
Total	24	308	332				
<b>GPT</b>							
Elevado	6	58	64	81	81	9	93
Normal	18	249	267				
Total	24	307	331				
<b>Alteración bioquímica</b>							
Si	20	124	144	74	74	14	95
No!	20	358	378				
Total	40	482	522				

quemaduras, mononucleosis infecciosa, convulsiones, enfermedades musculares primarias, insuficiencia renal aguda.

La GPT se encuentra predominantemente en el hígado, y en cantidades menores en riñones, corazón o músculo esquelético. Las enfermedades que afectan al parenquima hepático provocan la liberación hacia el torrente sanguíneo, elevando sus niveles. Sus cifras normales son iguales a los de la GOT.

Sus principales inconvenientes son:

- Escasa sensibilidad para detectar consumo de riesgo.

- Elevación en otras situaciones patológicas: pancreatitis, colecistitis, colestasis de origen biliar, fármacos hepatotóxicos.

- La eficacia diagnóstica de los

marcadores clásicos en bebedores importantes (consumos superiores a 420 gr etanol/semana) en el medio laboral aparece reflejado en la **Tabla II**.

#### **Utilización conjunta de marcadores clásicos**

Diversos autores señalan el aumento de sensibilidad y especificidad de los marcadores clásicos cuando se utilizan conjuntamente, si bien hay que señalar que los grupos estudiados son variados y la mayoría varones<sup>(17,24,-29)</sup>.

#### **Colesterol y triglicéridos**

El alcohol altera el metabolismo y transporte lipídico, produciendo un aumento en la concentración de triglicéridos y lipoproteínas de alta densidad. Aparecen aumentados los triglicéridos y la HDL-colesterol

en el 30% de los alcohólicos moderados y en el 60% de los bebedores excesivos. Sin embargo, no son buenos marcadores porque pueden estar elevados en múltiples patologías: dislipemias, obesidad, fármacos inductores del sistema enzimático. Además hay demasadas variaciones en la población general y sus niveles descienden en hepatopatía avanzada. Por ello no se utilizan como marcadores de etilismo.

#### **Monoamino-oxidasa (MAO)**

Uno de los marcadores del alcoholismo que mayor atención ha merecido en la literatura médica en los últimos años es la enzima monoamino-oxidasa (MAO). La MAO es una enzima encargada de la transformación metabólica de las aminas biógenas y está amplia-

mente distribuida en el organismo. Se distinguen dos isoenzimas, la MAO-A y la MAO-B. La MAO-A metaboliza la serotonina y norepinefrina, mientras que la B metaboliza feniletilamina y benzilamina. Ambas isoenzimas difieren en sus propiedades farmacológicas y en su sensibilidad a inhibidores. Los niveles de actividad de la MAO parecen estar en un porcentaje importante determinados genéticamente y en otro menor por factores ambientales. En sujetos vivos los estudios sobre relación MAO-alcoholismo se han realizado en plaquetas, siendo menor el estudio en cerebro procedentes de autopsias. Los estudios de la MAO se han basado clásicamente en la determinación de la actividad enzimática mediante el uso de sustratos específicos para dicha enzima. Más recientemente se han introducido nuevas técnicas consistentes en su determinación cuantitativa mediante técnicas de reacción de Western-Blot o en la técnica de cuantificación de la densidad de la enzima con radioligandos. Los primeros estudios en la década de los 70 mostraron una relación entre alcoholismo y actividad de la MAO plaquetaria disminuida<sup>(30)</sup>. La disminución de la actividad de la MAO plaquetaria parece ser un hallazgo común entre los alcohólicos independientemente de estar bajo episodios agudos o después de periodos de abstinencia<sup>(31,32)</sup>. Por ello, fue propuesto como marcador de rasgo para el alcoholismo o como marcador de predisposición genética al mismo. Una de las primeras cuestiones que se plantean es la posible afectación de la actividad MAO en las fases precoces de la abstinencia. Algunos autores señalan un incremento transitorio de dicha actividad en el primer mes de abstinencia, pero después se mantiene estable<sup>(31,32)</sup>.

En las dos últimas décadas han sido varios los trabajos realizados que han demostrado una disminución de la actividad MAO plaquetaria en alcohólicos. Sin embargo otros autores no encuentran diferencias entre grupos de alcohólicos y controles sanos, señalando las

múltiples influencias que presenta la actividad MAO como posibles factores de confusión<sup>(33,34)</sup>. Uno de los extremos que merece ser examinado detenidamente es el papel que juega el trastorno de abuso/dependencia a otras drogas psicoactivas, sobre todo en población joven consumidora de cocaína o drogas de diseño, casi todas ellas con componente anfetamínico o derivados de LSD. Es sabido que en dicha población no es infrecuente el abuso/dependencia al alcohol esté asociado con el abuso/dependencia a otras sustancias. Diversos estudios sobre la relación alcoholismo-MAO han sido realizados sobre poblaciones con un alto porcentaje de abuso a diversas sustancias, lo que ha podido actuar como importante factor de confusión. Así se encontró que en el grupo de personas con dependencia sólo al alcohol y en el grupo de personas con dependencia a la cocaína existían niveles más bajos de actividad MAO que en el grupo control homogeneizado respecto al género y edad, y que en un cuarto grupo con dependencia al alcohol y a otras drogas estos niveles eran aún inferiores<sup>(35)</sup>. Otros autores corroboran este estudio<sup>(36,37)</sup>. Ante estos hallazgos se ha planteado que la disminución de la actividad de la MAO plaquetaria puede estar asociada con factores responsables tanto para dependencia al alcohol como a otras drogas. Otros autores señalan relación entre disminución de la actividad de la MAO y rasgos de la personalidad caracterizados por impulsividad, evitación de la monotonía y "búsqueda de nuevas sensaciones"<sup>(37,38)</sup>. Estos resultados podrían sugerir que la actividad de la MAO plaquetaria es un marcador biológico de rasgos de la personalidad que predisponen al alcoholismo y al abuso de drogas. Incluso hay autores que señalan una relación entre criminalidad y niveles disminuidos de la MAO o entre adictos al juego y dicha disminución<sup>(38,39)</sup>.

Sin embargo el papel de la MAO como marcador de alcoholismo se discute debido a una serie de inconvenientes:

-La mayoría de los estudios efectuados son con varones o con claro predominio de los mismos

-Tampoco han tenido en cuenta el factor edad, ya que en estudios que han determinado la actividad de la MAO postmortem se ha encontrado un incremento de la actividad de la misma en relación con la edad<sup>(40,41)</sup>.

-No se puede considerar como un marcador específico de alcoholismo debido a que su actividad se altera en otras patologías psiquiátricas como esquizofrenia, trastornos afectivos o trastorno antisocial de la personalidad. Además estas enfermedades pueden haber actuado como factor de confusión en dichos estudios.

Su papel como marcador de rasgo del alcoholismo está muy cuestionado y obliga a la necesidad de realizar estudios controlados y reglados que analicen la existencia o no de asociación entre alcoholismo y MAO eliminando factores de confusión.

#### Otros marcadores clásicos

Todos ellos no son útiles como marcadores de rasgo debido a diversas razones:

-**Metanol:** escasa vida media y ausencia en algunas bebidas alcohólicas.

-**Ácido alfa-amino-n-butírico (AANB) y cociente AANB/leucina:** Los niveles séricos de AANB aumentan en los alcohólicos crónicos y disminuyen en la abstinencia. No son útiles ni solos ni en cociente con la leucina porque varían según el estado nutricional o por que se elevan en caso de hepatopatía etílica o de otro origen.

-**Dolicoles urinarios:** son de escasa utilidad debido a que se elevan no sólo en alcohólicos sino también con la edad, demencia de alzheimer, etc, además su coste es elevado.

#### NUEVOS MARCADORES DE ALCOHOLISMO

##### Glutamato oxolacetato transaminasa mitocondrial (m-GOT)

Es bien conocido que el alcohol produce lesión mitocondrial, seña-



lándose que la fracción mitocondrial de la GOT o m-GOT aumenta en los alcohólicos aunque no exista hepatopatía. En la mayoría de las personas sanas la m-GOT representa menos del 10% del total de GOT activa<sup>(18)</sup>.

Esto permitiría utilizarlo como marcador de alcoholismo, sobre todo si se tiene en cuenta que el cociente m-GOT/GPT total es cuatro veces superior en alcohólicos (con o sin hepatopatía) que en controles sanos o en hepatópatas de otro origen. La sensibilidad de este cociente es del 82 % en alcohólicos no hepatópatas, del 85% en hepatópatas no cirróticos y del 66% en cirróticos<sup>(21,22)</sup>. Su especificidad en la diferenciación de alcohólicos con hepatopatía frente a no alcohólicos es del 80%. Sin embargo la sensibilidad para detectar alcoholismo en la comunidad es baja siendo esto corroborado posteriormente por otros autores<sup>(22,23)</sup>. Los valores de m-GOT descienden a la mitad tras una semana de abstinencia, lo cual podría ser útil en la monitorización de la misma.

Sin embargo sus principales inconvenientes son:

- Su validez como screening en población general sigue siendo baja.

- Su coste es moderadamente elevado en comparación con otros marcadores.

- No existen estudios lo suficientemente amplios que corroboren algunos resultados previos.

### **Transferrina deficiente en carbohidratos (CDT)**

La transferrina sérica humana es una betaglicoproteína monomérica de aproximadamente 80.000 Da de peso molecular, pudiéndose aislar en el suero (2-3 gr/l), y en menor cantidad en LCR y líquido amniótico. La mayoría de la transferrina se sintetiza en el hígado, pero también se produce transferrina en las glándulas mamarias, células de Sertoli, nódulos linfáticos, linfocitos, macrófagos, etc.

Consta de una cadena sencilla de 679 aminoácidos y de dos unidades complejas de oligosacáridos unidas en N. El gen responsable de

la transferrina se encuentra localizado en el cromosoma 3<sup>(13,14)</sup>. La mayor parte de la transferrina sérica tiene 11 residuos de carbohidratos en cada una de las dos unidades. El polipéptido tiene dos lugares de unión para el hierro. La función principal de la transferrina es la unión y transporte de hierro. La transferrina sérica proporciona hierro a la mayor parte de los tejidos. La transferrina previene la pérdida de hierro del cuerpo y le protege de la invasión de determinados microorganismos que requieren hierro para su crecimiento. La semivida plasmática de la transferrina es de 6-14 días. La diferencia en el número de residuos terminales de ácido siálico da lugar a diferentes ISOFORMAS de la transferrina, caracterizadas por diferentes puntos isoeléctricos. La transferrina sérica humana aparece principalmente como TETRA-SIALO-TRANSFERRINA, aunque también en pequeñas proporciones de di-, tri-, penta- y hexa-sialotransferrina. El término "transferrina deficiente en carbohidratos" (CDT) se refiere a formas di- y mono-sialotransferrina. Diversos estudios señalan que la ingesta crónica de alcohol induce isoformas de CDT, disminuyendo la carga eléctrica negativa y elevándose el punto isoeléctrico, propiedades aprovechables para determinación por técnicas de separación<sup>(13,14)</sup>. Estos cambios son consumo-dependientes, de modo que incrementos en el consumo de alcohol se acompañan de mayor número de isoformas deficitarias en ácido siálico y de menor carga eléctrica negativa<sup>(13,14,43)</sup>. Las técnicas para la determinación de CDT son variadas y muy importantes a la hora de comparar diversos estudios. Las más utilizadas son: técnicas de inmunoensayo, técnicas de inmunoensayo turbidimétrico o cromatografía en columna, la cual es el método de menor coste<sup>(13,43)</sup>. La CDT se detecta a partir de un consumo de más de 50 gr/día de etanol durante un mínimo de una semana, en el 90% de los pacientes. Dado que su semivida es de 14 días sus valores se normalizan tras dos semanas de absti-

nencia, volviéndose a elevar ante consumos superiores a 50 gr etanol/día durante una semana<sup>(13)</sup>. En la última década han sido numerosos estudios sobre la CDT, discutiéndose actualmente sobre todo su sensibilidad y especificidad<sup>(5,13,14,43-45)</sup>. Las diferencias de sensibilidad de diversos estudios se deben en primer lugar a la metodología de determinación de CDT: Las técnicas de inmunoensayo tienen diferencias de rango en sexo y edad, y menor sensibilidad en alcohólicos con consumo elevado. El método cromatográfico implica aumento de falsos positivos, sobre todo en cirróticos, pacientes con hepatitis crónica activa y tóxicomanos. Hay numerosos estudios de la CDT, siendo su especificidad elevada en casi todas las series estudiadas<sup>(13)</sup>. En la serie de Casado y col.<sup>(6)</sup> la especificidad es menor por las características diferentes de la muestra. La sensibilidad es menor en el hospital general y en atención primaria, y varía sobre todo según la muestra: es mayor en bebedores moderados y excesivos (dependencia) que en pacientes con consumo de riesgo, siendo menor en pacientes con consumo esporádico, ancianos y mujeres<sup>(43,46)</sup>. La mayor sensibilidad se obtiene en unidades de alcoholismo. Las diferencias de sensibilidad entre hospital general-atención primaria y unidades de alcoholismo se deben sobre todo a la edad media superior y al consumo inferior de alcohol. Además no debemos olvidar que el concepto de alcoholismo se basa todavía hoy día en criterios conductuales más que en datos de consumo. De ahí que la eficacia de la CDT no pueda ser la misma en sujetos dependientes abstinentes (ex-bebedores), sujetos con consumo esporádico (los llamados bebedores de fin de semana), sujetos con consumo diario a bajas dosis, y bebedores excesivos diarios. Otra utilidad clínica importante de la CDT es su normalización durante la abstinencia<sup>(47,48)</sup>. Los valores elevados de CDT se normalizan a los 12-15 días de abstinencia. Por tanto se puede utilizar como marcador pre-

**TABLA III**

**Causas de falsos positivos en la determinación de transferrina deficiente en carbohidratos**

- Algunos casos de insuficiencia hepática debida a:
- Cirrosis biliar primaria
- Hepatitis crónica activa
- Hepatopatía secundaria a drogas
- Variaciones genéticas de la transferrina
- Síndrome de glucoproteínas deficientes en carbohidratos
- Causas analíticas

coz de recaídas, como método alternativo de seguimiento de la abstinencia y para evaluar la eficacia del tratamiento de deshabitación. La detección de recaídas puede establecerse con niveles de CDT inferiores a los puntos de corte habituales utilizando coeficientes de variación de los valores de CDT, considerando como recaída un valor superior a tres veces el basal. De esta manera la especificidad se aproxima al 100%. Su utilidad clínica en la monitorización de programas de deshabitación se ha demostrado como muy útil en varios estudios<sup>(48,49)</sup>.

En la TABLA III se reflejan las causas de falsos positivos.

Las principales ventajas de la CDT son:

- Detecta consumo de riesgo.
- Elevada especificidad tanto en medio hospitalario como en unidades de deshabitación.
- Escasa influencia por hepatopatía o uso de fármacos.
- Utilidad en monitorización de consumo y de abstinencia.

Entre los principales inconvenientes:

- No es útil en consumo esporádico.
- Poco sensible en bebedores de bajo riesgo.
- Poco sensible en ancianos.
- Diferencias entre mujeres y varones.

**Colesterol éster transferasa plasmática (CETP)**

Diversos estudios<sup>(50-52)</sup> relacionan el consumo de alcohol con la

disminución de la actividad de la CETP. Posteriormente se plantea la causa de la disminución de esta actividad: baja concentración plasmática, inhibidores específicos o alteración de lipoproteínas. Tras diversas investigaciones se llega a la siguiente conclusión: la actividad específica de la CETP (CETP actividad/CETP concentración) no está reducida en los consumidores moderados o excesivos de alcohol, indicando que no había incremento en la cantidad de inhibidor de la CETP en plasma alcohólico. Por lo tanto el descenso de actividad de la CETP alcohol-inducida es debida a la reducción en la concentración de la CETP.

La pregunta que se plantea es la siguiente: ¿es la síntesis o la eliminación lo que está alterado?. Diversos autores<sup>(13,14)</sup> coinciden en señalar lo siguiente: el alcohol reduce la sialización, por ejemplo, de transferrina, siendo la desialotransferrina utilizada como marcador de alcoholismo. Teóricamente, bebiendo alcohol puede reducirse la glicosilación y sialización de la CETP, lo que a su vez, puede reducir su secreción desde los lugares celulares de síntesis. La abstinencia normaliza los valores de CETP en siete días. No se observaron correlaciones entre los niveles de aminotransferasas y la actividad y concentración de la CETP en las muestras de sangre obtenidas después del cese de la ingesta. La rápida subida en la actividad de la CETP y en su concentración tras la abstinencia sugiere que el alcohol

tiene un efecto específico sobre la CETP, más bien que un indirecto sobre el daño hepático. Hannuksela et al.<sup>(51,52)</sup> en un estudio refieren una gran variabilidad interindividual entre sujetos con un nivel similar de consumo de alcohol en cuanto a la actividad de la CETP. Entre las causas de la variabilidad interindividual se han señalado diversos factores: genéticos, habiéndose descrito un cierto polimorfismo del gen de la CETP con variabilidad de actividad, uso de drogas o diferencias en la dieta pueden alterar la actividad plasmática de la CETP. Esto último ha sido demostrado por estar intensificada dicha actividad en pacientes con hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia.

Entre los inconvenientes de la CETP como marcador podemos señalar los siguientes:

- Escasa sensibilidad en consumos moderados o bajos de alcohol (40%).
- Gran variabilidad interindividual con importante participación de factores como la dieta.

-Débil correlación entre actividad plasmática de CETP y marcadores convencionales de alcoholismo.

En conclusión la CETP no es suficiente como único marcador de alcoholismo, pudiendo ser utilizado como un método adicional para la detección de consumo excesivo de alcohol, aunque su utilidad puede estar limitada por la gran variabilidad interindividual y supone la elaboración de un método analítico.

**POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE ENZIMAS RELACIONADOS CON EL METABOLISMO DEL ETANOL**

Actualmente existen estudios epidemiológicos que han mostrado cierta predisposición genética a la vulnerabilidad hacia el consumo de alcohol<sup>(53-56)</sup>. En este sentido, han resultado de interés el análisis de modelos genéticos de etilismo con objeto de determinar si diferencias observadas en las tasas metabólicas de oxidación de etanol y la susceptibilidad a desarrollar hepatopa-

tías pudieran deberse, al menos en parte, a diferencias en las isoformas de las enzimas relacionadas con el metabolismo del etanol como consecuencia de mutaciones en los genes que las codifican. Las principales enzimas relacionadas directamente con el metabolismo del etanol son la alcohol deshidrogenasa (ADH), acetaldehído deshidrogenasa (ALDH) y citocromo P450 (CYP450)

### Alcohol deshidrogenasa (ADH)

Esta enzima interviene en la ruta de oxidación del etanol catalizando la primera reacción, la conversión del etanol en acetaldehído con la concomitante producción de NADH. La ADH hepática existe bajo múltiples formas. Las isoenzimas de clase I son combinaciones de homo y/o heterodímeros de subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  codificadas por tres genes diferentes situados en distintos loci en el cromosoma 4: ADH1, ADH2 y ADH3.

Se han descrito polimorfismos en el gen ADH2 dando lugar a tres tipos de subunidades b (ADH2\*1, ADH2\*2 y ADH2\*3) y en el gen ADH3 originando los tipos de polipéptido ADH3\*1 y ADH3\*2.

El polimorfismo ADH2\*2 difiere tanto de ADH2\*1 como de ADH2\*3 en la sustitución de un único aminoácido. La subunidad ADH2\*2 presenta en la posición 47 de la proteína un residuo de histidina en lugar de uno de arginina que aparece en el tipo normal (R47H)<sup>(57)</sup>. Por su parte, el polimorfismo ADH2\*3 difiere de los otros dos en la sustitución de un residuo de cisteína por uno de arginina en la posición 369 de la proteína (C369R)<sup>(58)</sup>. Estas sustituciones en la cadena polipeptídica dan lugar a una grave alteración de las propiedades cinéticas de las isoenzimas. Así, el pH óptimo para la oxidación del etanol se modifica desde valores de 7,0 en ADH2\*3/ADH2\*3 hasta 10,5 en ADH2\*1/ADH2\*1, mientras que la constante de afinidad por el NAD<sup>+</sup> y la velocidad máxima difieren en más de 70 y 40 veces, respectivamente, entre las diferentes isoenzimas<sup>(59)</sup>. Estudios *in vitro*, realizados en condiciones casi fisiológicas de

pH, temperatura y concentraciones de sustrato y producto han mostrado que la velocidad de oxidación de etanol de ADH2\*3/ADH2\*3 es entre 4 y 7 veces más rápido que la de ADH2\*1/ADH2\*1<sup>(58)</sup>. Estos resultados sugieren que, posiblemente, estas diferencias cinéticas se vean también reflejadas *in vivo*.

En lo referente a la subunidad g, la isoforma ADH3\*2 difiere de la ADH3\*1 en dos mutaciones puntuales: una sustitución de un residuo de glutamina por uno de arginina en el aminoácido 271 (Q271R) y otra de un residuo de valina por uno de isoleucina en posición 349 de la proteína (V349I)<sup>(60)</sup>. Estas mutaciones, desde un punto de vista cinético, provocan una diferencia de aproximadamente el doble en la velocidad máxima de oxidación del etanol<sup>(60)</sup>.

### Acetaldehído deshidrogenasa (ALDH)

La acetaldehído deshidrogenasa mitocondrial interviene en el metabolismo del etanol catalizando la segunda reacción de la ruta, la oxidación, dependiente de NAD<sup>+</sup>, de acetaldehído a acetato. Aunque existen múltiples formas de ALDH en hígado, la enzima mitocondrial, codificada por el gen ALDH2 situado en el cromosoma 12<sup>(61)</sup> parece ser la principal responsable de la oxidación de la mayor parte del acetaldehído generado durante el metabolismo del etanol habida cuenta de la gran afinidad que muestra por su sustrato.

En el gen ALDH2 se han descrito dos polimorfismos que dan lugar a las subunidades activa e inactiva, denominadas ALDH2\*1 y ALDH2\*2, respectivamente. Ésta última, presenta una mutación en el aminoácido 487 de la proteína, una sustitución de un residuo de ácido glutámico por uno de lisina (E487K)<sup>(54,61,62)</sup>. Aunque los dos alelos se expresan codominantemente, determinados estudios familiares<sup>(63,64)</sup> han puesto de manifiesto que tanto los individuos heterocigotos como los homocigotos para ALDH2\*2 son deficientes para la actividad enzimática ALDH2, esto es, parece que la expresión del

alelo ALDH2\*2 es dominante sobre el ALDH2\*1 sugiriendo que cuando los dos productos están presentes, las dos subunidades forman heterómeros que desde el punto de vista catalítico son inactivos<sup>(65)</sup>.

Adicionalmente, estudios *in vitro* han mostrado que la subunidad activa es mucho más estable, con una vida media de al menos 22 horas, frente a las 14 horas que presenta la enzima inactiva<sup>(66)</sup>. En células que expresan ambas subunidades, se forman mayoritariamente heterómeros, cuya vida media es de 13 horas. Así, parece que el papel de la enzima inactiva en el número de recambio de moléculas es clave, indicando que el alelo ALDH2\*2 ejerce su efecto dominante tanto interfiriendo con la actividad catalítica como provocando un incremento en el "turnover".

### Citocromo P450 (CYP450)

El complejo citocromo P450 está constituido por una superfamilia enzimática involucrada en el metabolismo oxidativo de esteroides, ácidos grasos, determinadas drogas y sustancias extrañas al organismo, especialmente si son relativamente insolubles como los carcinógenos químicos, mutágenos y contaminantes ambientales.

El CYP450 es un tipo de hemoproteína que se localiza habitualmente en el retículo endoplasmático en lugar de la mitocondria. Cataliza reacciones de monooxigenación en las cuales el sustrato orgánico es hidroxilado a expensas del oxígeno molecular, de forma que transforma los sustratos para que sean más solubles en agua constituyendo, por tanto, una etapa importante en la detoxificación y excreción.

Existen varios miembros de la superfamilia del CYP450, de los cuales el CYP2E1 es la principal enzima que interviene en la oxidación del etanol en la ruta no mediada por las deshidrogenasas. Participa aproximadamente en un 20 % de su metabolismo, a través de la actividad MEOS en hígado<sup>(67)</sup>. Aunque se expresa de forma constitutiva en hígado y otros tejidos, determinados estudios han muestra-

do que en situaciones de administración crónica de etanol, la actividad CYP2E1 está notablemente elevada indicando que es un sistema inducible por etanol<sup>(67)</sup>.

El gen responsable se ha denominado P450IIE1 y está situado en el cromosoma 10. En él se ha descrito un polimorfismo que a diferencia de los encontrados en ADH y ALDH no es estructural, sino que aparece localizado en la región del promotor. Los correspondientes alelos se denominan c1 y c2 en base a sus diferencias a nivel de la regulación de la transcripción<sup>(68)</sup>. Varios autores han descrito que la actividad transcripcional es más acusada en el tipo c2/c2 que en el tipo c1/c1<sup>(68,69)</sup> y un estudio realizado sobre población japonesa mostró que los sujetos con el alelo c2 de CYP2E1 y homocigotos para el genotipo ALDH2\*1 presentaban una mayor frecuencia de consumo excesivo de alcohol<sup>(70)</sup>.

En cualquier caso, desde un punto de vista genético, parece evidente el papel que desempeñan los polimorfismos descritos en ADH, ALDH y CYP2E1 en el metabolismo del etanol. El acetaldehído es el responsable de los molestos síntomas que se manifiestan después de la ingestión de alcohol (dolor de cabeza, palpitaciones, vómitos, sudoración, etc) y en el desarrollo de determinadas hepatopatías. La acumulación de acetaldehído presente en hígado y sangre después del consumo de alcohol debe ser evaluada en base a las velocidades de su formación y eliminación, las cuales están reguladas por la acción conjunta de las tres enzimas.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1) Navarro J, Gómez E. El consumo de alcohol. En: La incidencia de las drogas en el mundo laboral en la Comunidad de Madrid. En: Consejería de Sanidad y Servicios Sociales y Agencia Antidroga de la Comunidad Autónoma de Madrid, editores. Madrid: Cauce Editorial, 1998; 71-92 y 215-230.
- 2) Cirera E, Vilalta J, Palomero E. Alcoholismo en el hospital general. Estudio epidemiológico. *Med Clin (Bar)* 1985; 85: 96-98.
- 3) Clark WD. Alcoholismo: obstáculos para el diagnóstico y tratamiento. *Am J Med (ed. esp)* 1981; 71: 136-147.
- 4) Cleary PD, Miller M, Bush BT et al. Prevalence and recognition of alcohol abuse in a primary care population. *Am J Med* 1988; 85: 466-471.
- 5) Clement S. The identification of alcohol related problems by general practitioners. *Br J Addiction* 1986; 81: 257-263.
- 6) Casado MA, Alvarez S, Martinez ML et al. Comparación de pruebas de laboratorio y psicométricas en la detección del alcoholismo en el hospital general. *An Ps* 1996; 12 (6): 232-235.
- 7) Conigrave KM, Saunders JB, Whitfield JB. Diagnostic test for alcohol consumption. *Alcohol and Alcoholism* 1995; 30 (1): 13-26.
- 8) Rosalki S. Identifying the alcoholic. In: *Clinical Biochemistry of Alcoholism*. Rosalki S. Ed, Churchill Livingstone, Edinburgh 1984; 65-92.
- 9) Stetter F, Gaertner HJ, Wiatr G et al. Urinary dolichol- a doubtful marker of alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 1991; 15: 938-941.
- 10) Poupon RE, Schellenberg F, Nalpas B, Weill J. Assessment of the transferrin index in screening heavy drinkers from a general practice. *Alcohol Clin Exp Res* 1989; 13: 549-553.
- 11) Sillanaukee P, Seppä K, Koivula T, Israel Y, Niemela O. Acetaldehyde-modified hemoglobin as a marker of alcohol consumption: comparison of two new methods. *J Lab Clin Med* 1992; 120: 42-7
- 12) Kristenson H, Trelle E, Hood B. Serum gamma-glutamyl-transferase in screening and continuous control of heavy drinking in middle-age men. *Am J Epidemiol* 1981; 114: 862-872.
- 13) Rubio G, Martínez M. Utilidad de la transferrina deficiente en carbohidratos en los problemas por uso de alcohol. *An Med Intern* 1997; 14 (9): 473-477.
- 14) Kapur A, Wild G, Milford A, Triger DR. Carbohydrate deficient transferrin: a marker for alcohol abuse. *Br Med J* 1989; 299: 427-431.
- 15) Conigrave KM, Saunders JB, Reznik RB, Whitfield JB. Prediction of alcohol-related harm by laboratory test results. *Clinical Chemistry* 1993; 39: 2266-2270.
- 16) Persson J. Detection and intervention of excessive drinking in somatic outpatient care. *Alcohol and Alcoholism* 1991; 26 (Suppl 1): 465-472.
- 17) Chick J, Kreitman N, Plant M. Mean-cell volume and gamma-glutamyl-transpeptidase as markers of drinking in working men. *Lancet* 1981; 1: 1249-1251.
- 18) Humbert M, Vilalta J, Treserra J et al. Detección del alcoholismo en el hospital general. Instrumentos psicométricos y biológicos. *Med Clin (Barc)* 1987; 88: 670-673.
- 19) Panteghini M, Falsetti F, Chiari E, Malshiodi A. Determination of aspartate aminotransferase isoenzymes in hepatic disease-preliminary findings. *Clinica Chimica Acta* 1983; 128: 133-140.
- 20) Schiele F, Artur Y, Varasteh A, Wellman M, Siest G. Serum mitochondrial aspartate aminotransferase activity: not useful as a marker of excessive alcohol consumption in an unselected population. *Clinical Chemistry* 1989; 35: 926-930.
- 21) Nalpas B, Vassault A, Charpin S et al. Serum mitochondrial aspartate aminotransferase as a marker of chronic alcoholism, diagnostic value and interpretation in a liver unit. *Hepatology* 1986; 6: 608-614.
- 22) Nalpas R, Poupon RE, Vassault A et al. Evaluation of mAST/t AST ratio as a marker of alcohol misuse in a non-select population. *Alcohol and Alcoholism* 1989; 24: 415-419.
- 23) Nilssen O, Huseby NE, Hoyer G et al. New alcohol markers-how

- useful are they in population studies: the Svalberd Study 1988-1989. *Alcohol Clin Exp Res* 1992; 16: 82-86.
- 24) Wu A, Chamarin I, Levi AJ. Macrocytosis of chronic alcoholism. *Lancet* 1974; 1: 829-831
- 25) Bernadt MW. Comparison of questionnaire and laboratory test in the detection of excessive drinking and alcoholism. *Lancet* 1982; 1: 325-328.
- 26) Spencer-Peet J, Wood D, Glatt MM. Gammaglutamyltranspeptidase in alcoholism. *Lancet* 1972; 1: 1120-1123.
- 27) Morse RM, Hurt RD. Screening of alcoholism. *JAMA* 1979; 242: 2688-2690.
- 28) Papoz L. Alcohol consumption in a healthy population. Relationship to gammaglutamyltransferase activity and mean corpuscular volume. *JAMA* 1981; 245: 1748-1751.
- 29) Eckardt MJ, Ryback RS, Rawling RR et al. Biochemical diagnosis of alcoholism. A test of the discriminating capabilities of gamma-glutamyl-transpeptidase and mean corpuscular volume. *JAMA* 1981; 246: 2707-2710.
- 30) Wiberg A et al. Low platelet monoamine oxidase activity in human alcoholics. *Med Biol* 1977; 18: 181-186.
- 31) Faraj BA. Platelet monoamine oxidase activity alcoholics, alcoholics with drug dependence and cocaine addicts. *Alcohol Clin Exp Res* 1994; 18: 1114- 1120.
- 32) Anthenelli RM et al. Platelet monoamine oxidase activity levels in subgroups of alcoholics:diagnostic, temporal and clinical correlates. *Biol Psychiatry* 1995; 38: 361-368.
- 33) Farren CK. Platelet monoamine oxidase activity and alcoholism: is there a genuine asociation ?. *Addiction Biol* 1997; 2: 171-180.
- 34) Parsian A. Monoamine oxidase activity and alcoholism. Studies in unrelated alcoholics and normal controls. *Am J Med Genet* 1995; 60: 409-416.
- 35) Helander A et al. Biochemical markers of alcohol use and abuse; experiences from the pilot study of the WHO/ISBRA collaborative project on state and trait markers of alcoho. *Alcohol and Alcoholism* 1997; 32: 133-144.
- 36) Smith DF. Type A tend to have low platelet monoamine oxidase activity. *Acta Psychiatr Scan* 1994; 89: 88-91.
- 37) Lidberg L. Platelet monoamine oxidase activity and psychopathy. *Psychiatr Res* 1985; 16: 339-343.
- 38) Carrasco JL et al. Platelet monoamine oxidase activity in pathologic gambling. *Acta Psychiatr Scan* 1994; 90:427-431.
- 39) Alt PO et al. Psychopatya, platelet MAO activity and criminality among former juvenile delinquents. *Acta Psychiatr Scan* 1996; 94: 105-111.
- 40) Fowler CJ, Wiberg A, Orelund L, Marcusson J, Winblad B. The effect of age on the activity and molecular propierties of human brain monoamine oxidase. *J Neural Transm* 1980; 49: 1-20.
- 41) Maeztu AI, Ballesteros J, Callado LF, Gutierrez M, Meana JJ.. The density of monoamine oxidase B site is not altered in the postmortem brain of alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21: 1479-1483.
- 42) Berlin I et al. Monoamine oxidase A and B in heavy smokers. *Biol Psychiatry* 1995; 38: 756-761.
- 43) Yersin B, Nicolet JF, Dercrey H, Burnier M, van Melle G, Pecoud A. Screening for excessive alcohol drinking. Comparative value of carbohydrate-deficient transferrin, gamma-glutamyltransferase, and mean corpuscular volume. *Arch Intern Med* 1995;155:1907-11.
- 44) Bell H, Tallaksen C, Try K, Haug E. Carbohydrate-deficient transferrin and other markers of hig alcohol consumption: A study of 502 patients admitted consecutively to a Medical Department. *Alcohol Clin Exp Res* 1994; 18: 1103-1108.
- 45) Stibler H, Borg S. Glycoprotein glycosyltransferase activities in serum in alcohol-abusing patients and healthy controls. *Scand J Clin Lab Invest* 1991; 51: 43-51.
- 46) Bell H, Tallaksen C, Sjaheim T, Weberg R, Raknerud N, Orjasaeter H, Try K, Haug E. Serum carbohydrate-deficient transferrin as a marker of alcohol consumption in patients with chronic liver diseases. *Alcohol Clin Exp Res* 1993;17:246-52.
- 47) Rosman AS, Basu P, Galvin K, Lieber C. Utility of Carbohydrate-deficient transferrin as a marker of relapse in alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res* 1995; 19: 611-616.
- 48) Martínez M, Libell G, Peralba JI, Toral JR. Evaluación de la eficacia de la naltrexona en la dependencia alcohólica mediante determinación sérica de transferrina deficiente en carbohidratos. *An Med Intern* 1995; 12:589-592.
- 49) Borg S, Helander A, Voltaire Carlsson A, Hogstrom Brandt AM. Detection of relapses in alcohol-dependent patients using carbohydrate-deficient transferrin: improvement with individualized reference levels during long-term monitoring. *Alcohol Clin Exp Res* 1995;19:961-3.
- 50) Savolainen MJ, Hannuksela M, Seppanen S, Kervinen K, Kesaniemi YA. Increased high-density lipoprotein cholesterol concentration in alcoholics is related to low cholesteryl ester transfer protein activity. *Eur J Clin Invest* 1990; 20:593-9
- 51) Hannuksela M, Marcel YL, Kesaniemi YA, Savolainen MJ. Reduction in the concentration and activity of plasma cholesteryl ester transfer protein by alcohol. *J Lipid Res* 1992; 33:737-44.
- 52) Hannuksela M, Kesaniemi YA, Savolainen MJ. Evaluation of plasma cholesteryl ester transfer protein (CETP) activity as a marker of alcoholism. *Alcohol Alcohol* 1992; 27:557-62.
- 53) Stamatoyannopoulos G, Chen SH, Fukui M. Liver alcohol dehydrogenase in Japanese: high population frequency of atypical form

- and its possible role in alcohol sensitivity. *Am J Hum Genet* 1975; 27:789-96.
- 54) Yoshida A, Huang IY, Ikawa M. Molecular abnormality of an inactive aldehyde dehydrogenase variant commonly found in Orientals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984; 81:258-61
- 55) Sun F, Tsuritani I, Honda R, Ma ZY, Yamada Y. Association of genetic polymorphisms of alcohol-metabolizing enzymes with excessive alcohol consumption in Japanese men. *Hum Genet* 1999;105:295-300.
- 56) Shea SH, Wall TL, Carr LG, Li TK. ADH2 and alcohol-related phenotypes in Ashkenazic Jewish American college students. *Behav Genet* 2001; 31:231-9.
- 57) Matsuo Y, Yokoyama R, Yokoyama S. The genes for human alcohol dehydrogenases beta 1 and beta 2 differ by only one nucleotide. *Eur J Biochem* 1989; 183:317-20.
- 58) Burnell JC, Carr LG, Dwulet FE, Edenberg HJ, Li TK, Bosron WF. The human beta 3 alcohol dehydrogenase subunit differs from beta 1 by a Cys for Arg-369 substitution which decreases NAD(H) binding. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 146:1127-33.
- 59) Bosron WF, Yin SJ, Li TK. Purification and characterization of human liver beta 1 beta 1, beta 2 beta 2 and beta Ind beta Ind alcohol dehydrogenase isoenzymes. *Prog Clin Biol Res* 1985;174:193-206.
- 60) Hoog JO, Heden LO, Larsson K, Jornvall H, von Bahr-Lindstrom H. The gamma 1 and gamma 2 subunits of human liver alcohol dehydrogenase. cDNA structures, two amino acid replacements, and compatibility with changes in the enzymatic properties. *Eur J Biochem* 1986; 159:215-8.
- 61) Hsu LC, Yoshida A, Mohandas T. Chromosomal assignment of the genes for human aldehyde dehydrogenase-1 and aldehyde dehydrogenase-2. *Am J Hum Genet* 1986; 38:641-8.
- 62) Hempel J, Kaiser R, Jornvall H. Mitochondrial aldehyde dehydrogenase from human liver. Primary structure, differences in relation to the cytosolic enzyme, and functional correlations. *Eur J Biochem* 1985; 153:13-28.
- 63) Schwitters SY, Johnson RC, Johnson SB, Ahern FM. Familial resemblances in flushing following alcohol use. *Behav Genet* 1982; 12:349-52.
- 64) Crabb DW, Edenberg HJ, Bosron WF, Li TK. Genotypes for aldehyde dehydrogenase deficiency and alcohol sensitivity. The inactive ALDH2(2) allele is dominant. *J Clin Invest* 1989; 83:314-6
- 65) Xiao Q, Weiner H, Johnston T, Crabb DW. The aldehyde dehydrogenase ALDH2\*2 allele exhibits dominance over ALDH2\*1 in transduced HeLa cells. *J Clin Invest* 1995; 96:2180-6
- 66) Xiao Q, Weiner H, Crabb DW. The mutation in the mitochondrial aldehyde dehydrogenase (ALDH2) gene responsible for alcohol-induced flushing increases turnover of the enzyme tetramers in a dominant fashion. *J Clin Invest* 1996; 98:2027-32.
- 67) Maruyama K, Takahashi H, Matsushita S, Nakano M, Harada H, Otsuki M, Ogawa M, Suda K, Baba T, Honma T, Moroboshi T, Matsuno M. Genotypes of alcohol-metabolizing enzymes in relation to alcoholic chronic pancreatitis in Japan. *Alcohol Clin Exp Res* 1999; 23:85S-91S.
- 68) Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K. Genetic polymorphisms in the 5'-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIE1 gene. *J Biochem (Tokyo)* 1991;110:559-65.
- 69) Tsutsumi M, Wang JS, Takase S, Takada A. Hepatic messenger RNA contents of cytochrome P4502E1 in patients with different P4502E1 genotypes. *Alcohol Alcohol* 1994; 29 Suppl 1:29-32.
- 70) Sun F, Tsuritani I, Honda R, Ma ZY, Yamada Y. Association of genetic polymorphisms of alcohol-metabolizing enzymes with excessive alcohol consumption in Japanese men. *Hum Genet* 1999; 105:295-300.