Zeitschrift: Bollettino della Società ticinese di scienze naturali
Herausgeber: Società ticinese di scienze naturali
Band: 75 (1987)

Artikel: Meccanismi patogenetici del danno epatico da alcool
Autor: Dianzani, Mario Umberto
DOI: https://doi.org/10.5169/seals-1003409

Nutzungsbedingungen
Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation
L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use
The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 30.01.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

MECCANISMI PATOGENETICI DEL DANNO EPATICO DA ALCOOL

MARIO UMBERTO DIANZANI

(DIPARTIMENTO DI MEDICINA E ONCOLOGIA SPERIMENTALE,
SEZIONE DI PATOLOGIA GENERALE,
Corso Raffaello 30, 10125 Torino, Italia)

Il meccanismo del danno epatico da alcool ha subito negli ultimi tempi una seria revisione, dopo la dimostrazione che in esso hanno parte processi radicalici. Cercherò in questa breve nota di fare il punto della situazione, con particolare riferimento alle ricerche svolte nel mio laboratorio.

Esistono due tipi di lesione epatica da etanolo: quella acuta e quella cronica. La prima si manifesta dopo un'unica introduzione di dosi elevate di etanolo, che nel ratto sono dell'ordine di 6-8 g/kg di peso corporeo. La seconda si verifica in soggetti trattati ripetutamente con dosi anche non così elevate di alcool.

Il quadro morfologico è nettamente diverso nelle due condizioni; infatti nella prima esso è sostanzialmente rappresentato da steatosi, in genere di tipo centrolobulare; la necrosi, misurata in base al passaggio in circolo di enzimi di origini epatica ed osservata con metodi morfologici, è assente. Nella seconda la steatosi si associa con alterazioni più gravi, che consistono in necrosi, in comparsa della cosiddetta sostanza jalina alcoolica, concretata nei corpi di Mallory, ed in processi flogistici che si sviluppano soprattutto intorno alle cellule morte.

Gli studi intorno al meccanismo del danno sono quindi oggi soprattutto di due tipi: 1. quelli tendenti a dimostrare l'intimo sviluppo della steatosi, ed in genere del danno acuto; 2. quelli tendenti a comprendere le cause della cronicizzazione.

Oggi si sa (8, 9, 23, 25). che alla base del danno epatico da etanolo sta soprattutto il metabolismo di questa sostanza, che si svolge soprattutto nell'epatocità e porta alla produzione di acetaldeide, una sostanza la cui tossicita è maggiore di quella dell'etanolo stesso. Come aldeide, la sostanza è infatti capace di reagire sia coi gruppi sulfidrilici, ed anche con quelli dai quali dipende l'attività di numerosi enzimi, sia coi gruppi -NH2 contenuti in proteine o in nucleotidi. Sia nel primo che nel secondo caso l'acetaldeide viene impegnata nella formazione di legami covalenti, che la fanno sparire materialmente dal mezzo, ma inducono anche la scomparsa delle molecole partners, interessate nella formazione del legame covalente. Molti autori ritengono che la distruzione per mezzo dell'acetaldeide di gruppi -SH o di gruppi -NH2 funzionalmente importanti giustifichi il quadro dell'intossicazione alcoolica dentro e fuori del fegato. Questi autori usano appunto il termine **aldeidismo** per indicare il quadro complessivo dell'intossicazione alcoolica (24).

I meccanismi per cui dall'etanolo si produce acetaldeide sono sostanzialmente quattro, e cioè: 1. l'ossidazione ad opera della etanol-deidrogenasi NAD-dipendente. Questo enzima, situato nella parte non strutturata del citoplasma, è inibito dal pirazolo, che appunto esercita un certo grado di protezione nei confronti del danno da etanolo. Esso rappresenta, in condizioni normali, il principale mezzo di distruzione dell'etanolo nell'epatocita. 2, l'ossidazione ad opera del MEOS (microsomal ethanol oxidizing system), un sistema enzimatico situato nel reticolo endoplasmatico liscio, e pertanto NAP-dipendente. Per mezzo di questo sistema l'idrogeno sottratto all'etanolo passa sul NADP, e da questo su una flavoproteina, la quale lo cede, direttamente o indirettamente, al citocromo P450, che a sua volta lo cede all'ossigeno. Anche in questa circostanza il prodotto finale della reazione è acetaldeide. Il MEOS, a lungo discusso come reale meccanismo metabolico, è oggi sicuramente accettato dalla maggior parte dei ricercatori. Si sa che il suo peso metabolico aumenta nei soggetti in cui il REL sia stato indotto mediante trattamento con farmaci, od anche mediante ripetuto trattamento con etanolo. 3. il sistema catalasi -H2O2, che ossida l'etanolo ad acetaldeide indirettamente. L'H2O2 si forma dall'anione superossido O2.-, a sua volta prodotto a partire dal semichinone della flavina contenuta nel REL. È probabile che la via della formazione dell'anione superossido sia preferita nelle situazioni in cui l'entità della deidrogenazione dell'etanolo nel REL

supera la possibilità di smaltimento da parte del citocromo P450. In questo caso, il semichinone della flavina potrebbe dar luogo all'anione superossido, il quale potrebbe dar luogo ad H_2O_2 catturando due elettroni. La catalasi, ove presente, ne genererebbe H_2O, mentre l'ossigeno potrebbe andare ad ossidare ulteriore etanolo ad acetaldeide. 4. l'H_2O_2 sfuggita all'azione della catalasi (che, del resto, è contenuta in particelle subcellulari diverse dal reticolo endoplasmatico liscio, e cioè nei perossisomi) può d'altro canto generare radicali liberi OH., altamente reattivi e capaci di ossidare l'etanolo ad acetaldeide in via non enzimatica. I radicali liberi si formano specialmente in presenza di Ferro, per mezzo della reazione di Fenton ($H_2O_2 + Fe^{2+} \equiv Fe^{3+} + OH^- + OH.$), o anche per mezzo della reazione di Haber-Weiss ($O_2.^- + H_2O_2 + Fe^{3+} \equiv Fe^{2+} + OH^- + OH. + O_2$). Poiché anche queste reazioni usano H_2O_2 ed anione superossido, si può supporre che esse svolgano funzione rilevante specialmente nelle condizioni di eccesso dell'etanolo nel sistema, rispetto alle possibilità di smaltimento da parte del citocromo P450.
In ogni caso, il prodotto finale delle quattro vie metaboliche è l'acetaldeide, e ciò sembra a prima vista giustificare l'opinione di chi crede che il quadro tossico dell'etilismo sia piuttosto da indicare col nome di aldeidismo. In linea con questa convinzione stanno alcuni fatti, e cioè prima di tutto il fatto che gli inibitori della etanoldeidrogenasi, come il pirazolo, riducono il danno epatico da alcool, e poi anche la constatazione che il danno epatico è sostanzialmente minore, anche se non scomparso, in specie animali mancanti di etanoldeidrogenasi, come i cosiddetti « deermice » usati nella sperimentazione dal gruppo di Lieber.
Inoltre, sono stati osservati modesti aumenti di tossicità dell'etanolo in soggetti umani congenitamente privi di aldeide deidrogenasi, il principale enzima capace di demolire l'etanolo stesso. In realtà, l'aldeide deidrogenasi non è l'unico enzima capace di distruggere l'aldeide. Di esso stesso esistono numerose forme diverse, sia solubili, che legate alle membrane, provviste di diverso km di diversa affinità per il substrato.
Inoltre, in anaerobiosi l'acetaldeide viene ridotta ad etanolo ad opera della etanoldeidrogenasi. Una certa quota, per di più, sparisce dal mezzo anche in presenza di pirazolo in anaerobiosi, cioè in condizioni di non funzionamento né della etanoldeidrogenasi né della acetaldeide deidrogenasi, per cui altre vie demolitive sembrano possibili.
Le vie metaboliche 3. e 4. sopra elencate presuppongono la formazione di radicali liberi ossidanti, dotati di notevole reattività, come l'OH. e, in minore misura, l'$O_2.^-$. Quest'ultimo, relativamente poco reattivo in mezzo acquoso, è solubile nei lipidi, ove aumenta la sua reattività. A livello delle membrane, quindi, esso può meglio espletare la sua azione pro-ossidante. Questo fenomeno può forse spiegare l'innesco della perossidazione lipidica, descritto dal gruppo di Di Luzio (11-13) e dal mio collaboratore Comporti (6) molti anni fa, ed ormai accertato dopo numerose controversie. Il gruppo di Di Luzio, infatti, aveva descritto un effetto protettivo sulla steatosi acuta da etanolo da parte di antiossidanti, come l'esacromanolo ed il DPPD. Comporti e coll. avevano dimostrato che in realta l'aggiunta di etanolo ad omogenati di fegato normale, o il trattamento in vivo con etanolo, erano capaci di aumentare la produzione di malonildialdeide da parte degli omogenati stessi.
Recknagel e coll. (19), per altro, non riuscirono a dimostrare la comparsa della banda della coniugazione dienica, caratteristiche dei lipidi perossidati, nei fosfolipidi microsomiali degli animali trattati, ed esclusero pertanto l'intervento di meccanismi perossidativi indotti dall'etanolo. Dopo ricerche del nostro laboratorio che confermarono sia il dato di Comporti che quello di Recknagel (8-10, 44), sono venute numerose conferme, specialmente nel danno cronico da etanolo (16, 20-22, 25-30, 37, 38, 40, 41, 45-48). Usando il metodo della doppia derivata in spettrofotometria, Corongiu e coll. (7) sono stati poi capaci di dimostrare la formazione di un sia pur tardivo legame dienico coniugato anche nella lesione acuta da etanolo. Oggi si sa che lo stimolo della perossidazione lipidica indotto dall'etanolo è reale, e non ha rapporto con la formazione di acetaldeide, la quale avrebbe potuto operare diminuendo la concentrazione di gruppi sulfidrilici facilmente reattivi fino ad un livello al di sotto di quello capace di prevenire i processi perossidativi stessi (8). L'acetaldeide, che non reagisce come tale con acido tiobarbiturico, non reagisce infatti, alle concentrazioni usate, corrispondenti a quelle che possono formarsi in vivo, neanche con GSH. Il GSH presente si converte integralmente a GSSG via via che il processo perossidativo si sviluppa, indipendentemente dalla formazione di acetaldeide. Lo studio dell'intero spettro di aldeidi che si producono nel corso della perossidazione lipidica stimolata da etanolo, mediante HPLC, ha dimostrato che la malonildialdeide non è l'unica aldeide prodotta (8, 35, 36). Infatti lo spettro di aldeidi prodotte assomiglia qualitativamente sia a quello che si produce nella perossidazione stimolata

da Ferro, sia in quella stimolata da CCl_4, pur sussistendo, specie rispetto a quest'ultimo caso differenze di ordine qualitativo. La produzione di aldeidi del tipo più tossico, e cioè della serie 4-idrossi-2,3-trans-alchenalica, è notevole anche nel caso della perossidazione lipidica stimolata da etanolo. Il segnale del radicale libero lipodienilico è facilmente dimostrabile, mediante tecniche di spin trapping con uso di piridin-N-ossido, tert-butil-nitrone, anche in un sistema di epatociti isolati in presenza di Ferro (1, 2).
In animali trattati con etanolo, come anche con epatociti isolati in presenza di etanolo e di Ferro, è stato però possibile mettere in evidenza anche la formazione di un radicale libero idrossietilico (CH_3-C. H-OH). Che si tratti proprio di questo radicale è dimostrato dal fatto che il segnale relativo appare sdoppiato quando, al posto dell'etanolo contenente tutti i Carboni di tipo C12, si usi un etanolo col Carbonio 1 rappresentato da un C13 (I, 2).
Queste ricerche dimostrano che la patologia da etanolo è caratterizzata dall'intrecciarsi fra un meccanismo tossico in rapporto con la produzione di acetaldeide ed un meccanismo radicalico, a sua volta generatore di prodotti tossici. I radicali liberi sono di due tipi, e cioè derivati radicalici dell'ossigeno e derivati invece dei lipidi insaturi. È difficile per ora quantificare quanto nel meccanismo del danno spetti ai primi, e quanto ai secondi, in via diretta o attraverso i prodotti di degradazione dei lipidi perossidati. Come si è detto, i radicali liberi dell'ossigeno hanno semivita molto breve. L'OH. è così reattivo che si esaurisce dove si forma. Il danno da esso prodotto è pertanto da immaginarsi a livello del reticolo endoplasmatico o nelle sue immediate adiacenze. L'O_2.– è più stabile in acqua, ed appunto per questo può portare la sua carica lesiva un po' più lontano. La presenza nella parte solubile dell'omogenato della superossido dismutasi è però garanzia che il danno da esso provocato non può spingersi tanto lontano. L'O_2.– che si scioglie nei lipidi ha vita più breve, ed è quindi con tutta probabilita questo il meccanismo dell'innesco della perossidazione lipidica. Altra causa favorente questo innesco può anche essere rappresentata dalla presenza di Fe; questo catione stimola fortemente la perossidazione lipidica quando è in forma ridotta. Durante l'ossidazione dell'etanolo, però, la forma ridotta si genera facilmente da quella ossidata in presenza di anione superossido grazie ad una reazione di Haber-Weiss. Da notare che non è escluso che anche il Ferro contenuto in strutture organiche, come quello presente nell'eme o nella ferritina, possa entrare in gioco (18, 31) in questo tipo di reazione. Ed è ancora tutta da studiare l'importanza del radicale libero idrossietilico da questo punto di vista.
La formazione di questo radicale libero è con tutta probabilità in gran parte dipendente proprio dall'interazione diretta dell'etanolo con l'OH. La connessione con la serie di reazioni che avvengono nel sistema ossidativo microsomiale è dimostrata sia dal fatto che il segnale è più forte ed intenso in animali pretrattati con fenobarbital o con lo stesso etanolo (e quindi con sistema microsomiale « indotto »), sia dal fatto che gli inibitori della catena monoossigenasica, come l'SKF 525 A ed il p-cloromercuribenzoato, ne riducono consistentemente la formazione. Inoltre, il CO, che blocca l'attività del citocromo P450, svolge anch'esso azione inibitoria. Che la formazione del segnale sia in rapporto soprattutto con la formazione del radicale libero OH. si evince da vari risultati sperimentali. Prima di tutto, l'aggiunta al mezzo di mannitolo o di benzoato, noti « scavengers » dell'OH., pressoché sopprime la formazione del segnale. Risultato simile ha l'aggiunta di catalasi, la quale sottrae l'H_2O_2 alla reazione di Haber-Weiss, prevenendo così la formazione di OH. L'aggiunta invece di azoturo di sodio, che inibisce la catalasi endogena, fa aumentare considerevolmente l'intensità del segnale. L'aggiunta di Fe^{2+} stimola fortemente la sua formazione, mentre il trattamento con desferal, un chelante del Ferro, la riduce a valori molto bassi. Non si può quindi affermare che il radicale libero idrossietilico non si formi in alcuna misura a livello della deidrogenazione enzimatica dell'etanolo, ma si può certamente dire che la quantità eventualmente formatasi in questa tappa è minima rispetto a quella formatasi nelle tappe successive, che coinvolgono il Ferro e portano alla formazione di OH.
Nonostante che la formazione dei radicali liberi 02.–, OH. e idrossietilico durante la metabolizzazione dell'etanolo nel MEOS sia oggi sufficientemente provata (vedi anche 3-5, 32, 34), non si può dare ancora nessuna indicazione sul valore quantitativo del danno indotto direttamente da questo meccanismo sulle cellule. Probabilmente il danno è limitato nell'intossicazione acuta, ove la quantià di sostanze antiossidanti presenti può essere sufficiente ad estinguere i radicali liberi via via che si formano. Sappiamo che legami covalenti di derivati dell'etanolo si formano con protidi e forse con lipidi dopo il trattamento, ma non sappiamo ancora quanta parte di questi legami covalenti coinvolga l'acetaldeide e quanta parte invece coinvolga il radicale libero idrossietilico in via diretta.

Il secondo tipo di reazione radicalica che si sviluppa dopo trattamento con etanolo è quello connesso con l'innesco della perossidazione lipidica. Questo meccanismo può portare a sua volta alla formazione di legami covalenti dei lipidi attivati con proteine o con altri lipidi, ma può anche agire disintegrando morfologicamente e funzionalmente le membrane cellulari in cui il processo si inizia. Inoltre, dalla perossidazione lipidica prendono origine aldeidi ben più tossiche e reattive dell'acetaldeide, e specialmente quelle della serie 4-idrossi-1,2-trans-alchenalica. Tra queste aldeidi, il 4-idrossi-nonenale prevale quantitativamente sul 4-idrossi-esenale e sul 4-idrossi-undecenale, che pure si formano in quantità di un certo rilievo (14, 35). Il 4-HNE è stato dimostrato capace di svolgere una serie di azioni inibitorie su enzimi e su protidi -SH, ed anche alcune azioni di stimolo su certi enzimi. Le azioni inibitorie si svolgono, in vitro, a concentrazioni relativamente elevate per un biochimico, comprese fra 10-4 e 10-5 M: tra gli enzimi inibiti, ricordo il sistema per la sintesi proteica, quello per la sintesi delle poliamine (inibito sia a livello della ODC che della SAMD), alcuni enzimi lisosomiali, la DNA- e la RNA-polimerasi, e numerosi altri. Fra le proteine funzionali, ricordo l'inibizione della tubulina (17), che avviene per concentrazioni fra 10 e 100 volte più piccole rispetto a quelle necessarie nel caso dell'acetaldeide. Le aldeidi sono anche capaci di bloccare la « secrezione » nel mezzo di lipoproteine da parte di epatociti isolati, ed anche in questo caso il 4-HNE è l'aldeide più attiva. Questa azione potrebbe entrare in gioco nel meccanismo determinante la steatosi acuta, collaborando però con vari altri, probabilmente più importanti, come l'aumento dell'arrivo al fegato di acidi grassi non esterificati conseguente allo stress e l'aumentata sintesi locale di acidi grassi di nuova formazione a partire dall'acetil-CoA, in seguito all'aumentare del rapporto fra piridinnucleotidi ridotti e piridinnucleotidi ossidati (23, 24). È poi anche possibile che all'accumulo acuto di grasso collabori il blocco della sintesi delle apolipoproteine, come suggerisce il gruppo di Perin (33). Fra le azioni dell'HNE ce ne sono alcune caratterizzate da stimolo a certe attività, anziché da inibizione. Due, fra le altre, vanno segnalate: I. la stimolazione dell'adenilciclasi delle plasmamembrane isolate, che si svolge a concentrazioni di 10-6/10-7 M, che possono trovarsi all'interno degli epatociti dopo somministrazione di etanolo; II. lo stimolo alla chemiotassi, studiato a Torino da M. Curzio, che si svolge anch'esso a concentrazioni estremamente piccole, sicuramente realizzabili nel fegato di animali intossicati, e certamente intorno alle cellule morte, in cui la perossidazione lipidica aumenta anche in conseguenza della necrosi. Non possiamo affermare con certezza che sia questo il meccanismo dell'aumento dei granulociti nel fegato dell'etilista cronico, ma la cosa appare possibile.

È invece impossibile per il momento precisare quanta parte svolga la perossidazione lipidica nel meccanismo del danno acuto, così come non è possibile quantificare la parte svolta dai radicali liberi dell'ossigeno, da quello dell'etanolo o dall'acetaldeide. Non ritengo però che la perossidazione lipidica sia essenziale per lo sviluppo della steatosi, che potrebbe essere giustificata, come si è visto, anche con altri meccanismi. La presenza delle reazioni radicaliche nel danno acuto, ove non c'è necrosi, dimostra comunque che queste non sono la conseguenza della morte cellulare, ma la precedono.

L'intervento patogenetico dei processi radicalici nel danno epatico cronico è invece abbondantemente documentato, non solo negli animali di laboratorio, ma anche negli etilisti cronici. Ricordo, da questo punto di vista, la dimostrazione da parte del gruppo di Gentilini dell'aumentata espirazione di etano e pentano da parte di cirrotici etilisti, in confronto a cirrotici post-epatitici ed a soggetti normali (30). Il problema è quindi quello del modo in cui i processi perossidativi, già presenti nella lesione acuta, possano assumere importanza rilevante nel danno cronico. Per spiegare questo punto, si possono fare soltanto delle ipotesi. Una prima ipotesi è che i successivi inneschi radicalici portino ad un progressivo esaurimento delle sostanze antiossidanti contenute nelle cellule, in modo da impedire la loro funzione di spegnimento della reazione a catena. In realtà, il contenuto di GSH tende a diminuire nel fegato degli animali trattati cronicamente (14, 15, 28, 41, 46, 48); ne resta però sempre una quantità che ritengo sufficiente a bloccare l'innesco perossidativo. Effetti protettivi nei riguardi del danno da etanolo sono esercitati dalla vitamina E, l'antiossidante liposolubile concentrato nelle membrane. Poiché l'etilista cronico presenta anche disturbi alimentari e difetti di assorbimento, non è impossibile che il fenomeno dell'innesco perossidativo sia in essi in rapporto con una diminuzione del contenuto di vitamina E nelle membrane. La vitamina E, senza dubbio, riduce la necrosi indotta da eventi perossidativi, come quella conseguente al trattamento con CCl_4 o con ADP-Ferro di epatociti isolati (36). Non è però da escludere che il difetto nutritivo giochi anche in altro modo nel favorire i processi perossidativi. È stata infatti

dimostrata, negli etilisti cronici, l'esistenza di un deficit relativo di colina (38, 42, 43). Questa carenza può portare alla sostituzione nei fosfolipidi di membrana della fosfatidilcolina con fosfatidilserina o con fosfatidiletanolamina. Comporti e coll. hanno dimostrato che, nel caso del CCl_4, l'innesco perossidativo comincia sempre a partire da queste strutture, più che da quelle contenenti colina. Un arricchimento di cefaline, quindi, potrebbe favorire il processo perossidativo. Non è però neanche da escludere che nel trattamento cronico si verifichino, a lungo andare, anche difetti nei processi di smaltimento delle aldeidi. Ciò vale sia per l'acetaldeide che per le aldeidi provenienti dalla perossidazione lipidica. Ciò potrebbe risultare in un potenziamento dell'azione delle aldeidi stesse e dei loro effetti.
Non è poi neanche da escludere la possibilità di interventi nutrizionali di altro tipo, come un aumento dell'assorbimento del Ferro, che stimola la perossidazione lipidica (29), forse per azione diretta dell'etanolo a livello degli enterociti, o come una diminuzione negli alimenti dello Zinco che invece la inibisce. È ipotizzabile anche una collaborazione della carenza alimentare di Selenio, che è parte integrante di un sistema capace di distruggere i lipoperossidi, quello della glutatione-perossidasi; e non si può escludere che, a lungo andare, il deficit alimentare proteico porti a diminuire sintesi della parte proteica di enzimi svelenanti. Tutte queste ipotesi nutrizionali sono state recentemente discusse da Golden per spiegare la patogenesi delle lesioni epatiche nel marasma da kwashiorkhor, ma appaiono valide come argomento di discussione e di indagine anche in quello del danno cronico da etanolo.
Occorre quindi approfondire l'indagine per verificare e valutare l'importanza patogenetica, nel quadro globale, dei processi radicalici e delle condizioni che li favoriscono. Ciononostante, si può affermare ormai fin da ora che la lesione epatica da etanolo è da annoverare nel gruppo di quelle coinvolgenti la formazione di radicali liberi.

BIBLIOGRAFIA

1. Albano E., Tomasi A., Goria-Gatti L., Carini R., Vannini V. e Dianzani M. U., 1986 – Free Radical Metabolism of Ethanol, in Free Radicals, Cell Damage and Disease, ed. da C. Rice-Evans, Richelieu Press, London, pag. 117-126.
2. Albano E., Tomasi A., Goria-Gatti L., Poli G., Vannini V. e Dianzani M.U., 1987 – presentato per pubblicazione a Free Radical Research.
3. Cederbaum A. I,, Dicker E. e Cohen G., 1978 – Effect of hydroxyl radical scavengers on microsomal oxidation of alcohols and on associated microsomal reactions. Biochemistry, **17**, 3058-3064.
4. Cederbaum A.I., Miwa G., Cohen G. e Lu A.Y.H., 1979 – Production of hydroxyl radicals and their role in the oxidation of ethanol by a reconstituted microsomal system containing cytochrome P-450 purified from phenobarbital-treated rats. Biochem. Biophys. Res. Commun., **91**, 747-754.
5. Cohen G. e Cederbaum A.I., 1980 – Microsomal metabolism of hydroxyl radical scavenging agents: relationships to the microsomal oxidation of alcohols. Arch. Biochem. Biophys., **199**, 438-447.
6. Comporti M., Hartman A. e Di Luzio N. R., 1967 – Effect of « in vivo » and « in vitro » ethanol administration on liver lipid peroxidation. Lab. Invest., **16**, 616-624.
7. Corongiu F. L,, Lai M. e Milia A., 1983 – Carbon tetrachloride, bromotrichloromethane and ethanol acute intoxication. New chemical evidence for lipid peroxidation in rat tissue microsomes. Biochem. J., **212**, 625-631.
8. Dianzani M.U., 1985 – Lipid peroxidation in ethanol poisoning. A critical reconsideration. Alcohol and Alcoholism, **20**, 161-173.
9. Dianzani M.U. e Torrielli M.V., 1976 – Perossidazione lipidica nell'intossicazione acuta da etanolo. Rassegna Clinico-Scientifica, **52**, 1-16.
10. Dianzani M.U. e Torrielli M.V., 1981 – Lipid peroxidation in ethanol-induced liver damage. The problem of its presence and of its possible relevance in either acute and chronic alcoholism. Medicine Biologie Environment., **9**, 179-190.
11. Di Luzio N.R. e Costales F., 1964 – Inhibition of the ethanol and carbon tetrachloride-induced fatty liver by antioxidants, Exp. Mol. Pathol., **4**, 141-154.
12. Di Luzio N.R. e Hartman A.D., 1967 – Role of lipid peroxidation in the pathogenesis of ethanol-induced fatty liver. Feder. Proc., **26**, 1436-1442.
13. Di Luzio N.R. e Poggi M., 1967 – Enhanced peroxidation of lipid in the pathogenesis of acute ethanol-induced liver injury. In Biochemical Factors in alcoholism, Maickel R. P, ed., Pergamon Press, Oxford, pag. 167-182.
14. Esterbauer H., Cheeseman K.H., Dianzani M.U., Poli G. e Slater T.F., 1982 – Separation and characterisation of the aldehydic products of lipid peroxidation stimulated by ADP-Fe2+ in rat liver microsomes. Biochem. J., **208**, 129-140.
15. Fernandez V. e Videla L.A., 1981 – Effect of acute and chronic ethanol ingestion on the content of reduced glutathione of various tissues of the rat. Experientia, **37**, 392-394.
16. Gabriel L., Bonelli, G. e Dianzani M.U., 1977 – Inhibition of colchicine binding to rat liver tubulin by aldehydes and by linoleic acid hydroperoxide, Chem. Biol. Interactions, **19**, 101-109.
17. Golden.
18. Gutteridge J.M.C., 1986 – Iron promotors of the Fanton reaction and lipid peroxidation can be released from haemoglobin by peroxides. FEBS, **201**, 291-295.
19. Hashimoto S; e Recknagel R.O., 1968 – No chemical evidence for hepatic lipid peroxidation in acute ethanol toxicity. Exp. Mol. Pathol., **8**, 225-242.
20. Hirayama C., Kishimoto Y., Yakushima T. e Murawaky Y., 1983 – Mechanism of the protective action of thiol compounds in ethanol-induced liver injury. Biochem. Pharmacol., **32**, 321-325.
21. Koes M., Ward T. e Pennington S., 1974 – Lipid peroxidation in chronic ethanol-treated rats: « in vivo » uncoupling of peroxidation nicotinamide adenine from reduced dinucleotide phosphate oxidation. Lipids, **9**, 899-904.
22. Lai C.S. e Piette L.H., 1977 – Hydroxyl radical production involved in lipid peroxidation of rat liver microsomes, Biochem, Biophys. Res. Commun., **78**, 51-59.

23. Lieber C.S., 1980 – Alcohol, protein metabolism and liver injury. Gastroenterology, **79**, 373-390.
24. Lieber C.S., Varaona E., Matsuda Y., Salaspuro M., Hasumura Y. e Matsuzaki A., 1980 – Hepatotoxicity of acetaldehyde. In Biological Effects of alcohol, ed. da H. Begleiter, Plenum Press, New York, pag. 397-411.
25. Lindros K.O., Stowell L., Vaananen H., Sipponen P,, Lamminsivu V., Pikkarainen P. e Salaspuro M., 1983 – Uninterrupted prolonged ethanol oxidation as a main pathogenetic factor of alcoholic liver damage: evidence from a new liquid diet animal model. Liver, **3**, 79-91.
26. Litov R.E., Irving O.H., Downey J.F. e Tappel A.L., 1978 – Lipid peroxidation: a mechanism involved in acute ethanol toxicity as demonstrated by in vivo pentane production in the rat. Lipids, **13**, 305-307.
27. Mac Donald C.M., 1973 – The effects of ethanol on hepatic lipid peroxidation and on the activity of glutathione reductase and peroxidase. FEBS, **35**, 227-231.
28. Mac Donald C.M., Dow J. e Moore M.R., A possible protective role for sulphydryl compounds in acute alcoholic liver injury. Biochem. Pharmacol., **26**, 1529-1531.
29. Mazzanti e coll., 1987 – Comunicazione personale (in stampa).
30. Moscarella S., Laffi G., Coletta D., Arena U., Cappellini A.P. e Gentilini P., 1984 – Volatile hydrocarbons in the breath of patients with chronic alcoholic liver disease: a possible marker of ethanol-induced lipid peroxidation. In Frontiers of Gastrointestinal Research. Liver Cirrhosis., ed. da P. Gentilini e M.U. Dianzani, Karger, Basel, **8**, 208-216.
31. O'Connell M., Halliwell B., Moorhouse C.P., Arouma O.I., Baum H. e Peters T.J., 1986 – Formation of hydroxyl radicals in the presence of ferritin and haemosiderin. Biochem. J., **234**, 727-731.
32. Ohnishi K. e Lieber C.S., 1978 – Respective role of superoxide and hydroxyl-radical in the activity of the reconstitued microsomal ethanol-oxidizing system. Arch. Biochem. Biophys., **191**, 798-803.
33. Perin A., Scalabrino G., Sessa A., e Arnaboldi A., 1974 – Invitro inhibition of protein synthesis in rat liver as a consequence of ethanol metabolism. Biochim. Biophys. Acta, **366**, 101-108.
34. Peters T.J., O'Connell M.S., Venkatesan S, e Ward R.J., 1986 – Evidence for Free Radical-Mediated Damage in Experimental and Human Alcoholic Liver Disease. In: Free Radicas, Cell Damage and Disease, ed. da C. Rice-Evans, Richelieu Press, London, pag. 99-110.
35. Poli G., Esterbauer H., Cheeseman K. H, Dianzani M.U. e Slater T.F., 1985 – Aldehydic products of CCl4-stimulated lipid peroxidation in isolated hepatocytes and in microsomal suspension from rat liver, Biochem, J.
36. Poli G., Chiarpotto E., Albano E., Cecchini G. e Dianzani M.U., 1986 – Iron Overload: Experimental approach using rat hepatocytes in single cell suspension. Frontiers in Gastroenterology, S. Karger, Basel, **9**, 38-49.
37. Reitz R.C., 1975 – A possible mechanism for the peroxidation of lipids due to chronic ethanol ingestion. Biochim. Biophys, Acta, **380**, 145-154.
38. Shaw S., Jayatilleke E., Ross W.A., Gordon E.R. e Lieber C.S., 1981 – Ethanol-induced lipid peroxidation: potentiation by long term alcohol feeding and attenuation by methionine. J, Lab. Clin. Med., **98**, 417-425.
39. Stege T.E., 1981 – Acetaldehyde-induced lipid peroxidation in isolated hepatocytes. Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol., **36**, 287-297.
40. Suematsu T., Matsumura T., Sato N., Miyamoto T., Ooka T., Kamada T. e Abe H., 1981 – Lipid peroxidation in alcoholic liver disease in humans. Alcoholism: Clinical Experimental Research, **5**,4 27-430.
41. Tanaka A., Ikegami F., Okumura Y., Hasumura Y., Kanayama R. e Tekeuchi J., 1970 – Effect of alcohol on the liver of rats. III. The role of lipid peroxidation and sulphydryl compounds in ethanol-induced liver injury. Lab. Invest., **23**, 421-428.
42. Takeuchi J., Takada A., Ebata E., Sawas G. e Okumura Y., 1968 – Effect of alcohol on the livers of rats. I. Effect of a single intoxicating dose of alcohol on the livers of rats fed a choline-deficient diet or a commercial rations. Lab. Invest., **19**, 211-217.

43. Takeuchi J., Takada A., Kanayama R., Ohara N. e Okumura Y., 1978 – Effect of alcohol on the liver of rats. II. Factors contributing to elevation of plasma transaminase activities and hepatic cell necrosis following a single administration of alcohol to rats. Lab. Invest., **21**, 398-405.
44. Torrielli M.V., Gabriel L. e Dianzani M.U., 1978 – Ethanol-induced hepatotoxicity; experimental observations on the role of lipid peroxidation. J. Pathol., **126**, 11-25.
45. Valenzuela A., Fernandez N., Fernandez V., Ugarte G., Videla L.A,, Guerra R. e Villanueva A., 1980 – Effect of acute ethanol ingestion on lipoperoxidation and on the activity of the enzymes related to peroxide metabolism in rat liver. FEBS, **III**, 11-13.
46. Videla L.A., Fernandez V., Ugarte G., Valenzuela A., e Villanueva A., 1980 – Effect of acute ethanol intoxication on the content of reduced glutathione of the liver in relation to its lipoperoxidative capacity in the rat FEBS, **III**, 6-10.
47. Videla L.A. e Valenzuela A., 1982 – Alcohol ingestion, liver glutathione and lipoperoxidation: metabolic interrelations and pathological implications. Life Sci., **31**, 2395-2407.
48. Vina J., Estrella J.M., Guerra C. e Romero F.J., 1980 – Effect of ethanol on glutathione concentration in isolated hepatocytes. Biochem. J., **188**, 549-552.

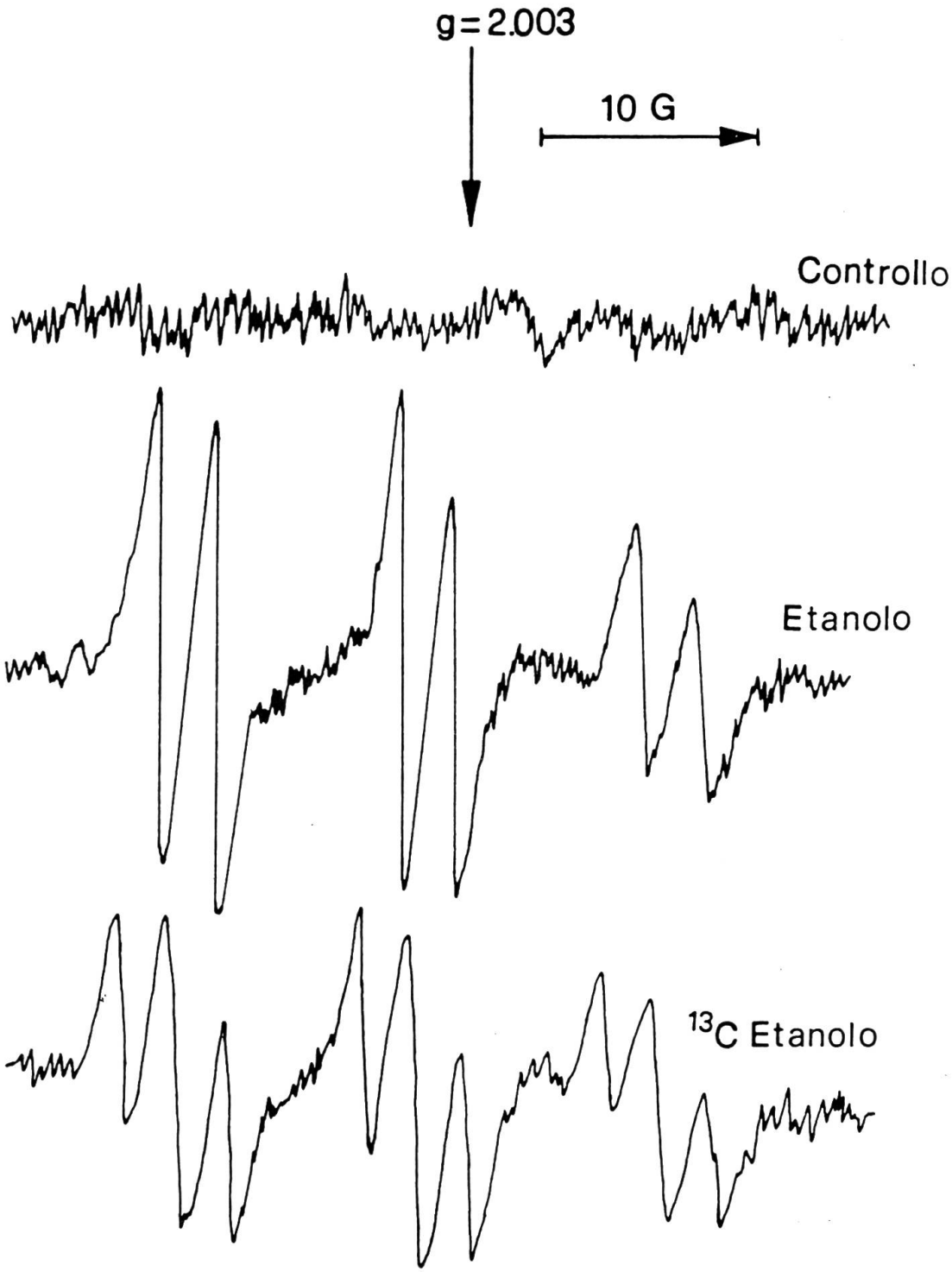

Figura 1.

Spettri E.S.R. dell'addotto fra l'idrossietil radicale e lo spin trap 4-piridil-N-ossido-t-butil nitrone (4-POBN) ottenuti in microsomi di fegato di ratto incubati con etanolo ed etanolo marcato con isotopo 13 carbonio come riportato nella referenza (1).