



**Jornades de Foment de la Investigació**

**EFFECTO  
ANSIOGÉNICO DEL  
DISULFIRAM EN  
ANIMALES TRATADOS  
CON ALCOHOL:  
RELEVANCIA  
EN LA TERAPIA  
FARMACOLÓGICA  
ANTIALCOHÓLICA.**

**Autors**

Miguel Ángel ESCRIG  
Marta PARDO  
Carlos M. GONZÁLEZ  
Mercè CORREA.

## RESUMEN

El alcohol etílico, a dosis moderadas, produce efectos ansiolíticos, tanto en humanos como en roedores. Sin embargo, la acumulación de acetaldehído (primer metabolito del alcohol) en el organismo, está considerada aversiva y en humanos produce una respuesta vegetativa conocida como “sensibilidad al alcohol”. Este efecto aversivo, es la base de los tratamientos en alcohólicos mediante el disulfiram, un inhibidor de la Aldehído Deshidrogenada (ALDH), enzima que metaboliza el acetaldehído. La respuesta autonómica comparte muchos de los síntomas vegetativos que caracterizan a un episodio de ansiedad. En este trabajo estudiamos los posibles efectos ansiogénicos de la acumulación periférica de acetaldehído en ratones, utilizando el laberinto elevado en cruz, paradigma clásico para la evaluación de ansiedad en roedores.

Como ha sido observado previamente, el alcohol aumentó el porcentaje de entradas en los brazos abiertos del laberinto elevado en cruz. Sin embargo, el pretratamiento con disulfiram produjo una reducción de estos efectos ansiolíticos del etanol a las dosis que fueron efectivas en inhibir la ALDH. Así mismo, el acetaldehído administrado periféricamente demostró reducir el porcentaje de exploración de los animales en los brazos abiertos. La locomoción no se vio modificada significativamente por estas dosis de acetaldehído, lo cual indica que los efectos ansiogénicos no son debidos a un cambio motor inespecífico.

## INTRODUCCIÓN

Las propiedades desinhibitorias y ansiolíticas del etanol son ampliamente conocidas. La administración aguda de etanol ha demostrado ejercer efectos ansiolíticos en diferentes paradigmas conductuales tanto en humanos (Abrams y cols., 2001) como en roedores (Boehm y cols., 2002; Correa y cols., 2003; Gallate y cols., 2003). Estas propiedades ansiolíticas están a la base de la “teoría de la reducción de tensiones” que sugieren que el alcohol en humanos es consumido para afrontar o aliviar situaciones que generan un estado emocional negativo (Conger, 1956). Aunque la ansiedad no sería la única causa del consumo de alcohol, en estudios con humanos sí que parece demostrarse una alta relación entre ambos fenómenos en subpoblaciones de alcohólicos (Kidorf y Lang, 1999), especialmente adultos jóvenes (McQuaid y cols., 2000). Estos sujetos presentan diferencias cognitivas en relación a la población general en la manera en que valoran la necesidad de consumir alcohol ante eventos estresantes (Fouquereau y cols., 2003).

El alcohol (etanol) se metaboliza esencialmente por oxidación, transformándose en acetaldehído. En las situaciones de consumo oral (las más habituales), este proceso metabólico tiene lugar en el hígado y se halla principalmente mediado por el enzima alcohol deshidrogenada (ADH) (Petersen y cols., 1983). En un segundo paso, el acetaldehído formado del metabolismo del etanol es transformado en acetato por medio del enzima aldehído deshidrogenada (ALDH) que se encuentra en el hígado. La isoforma 2 de la ALDH (ALDH2) es la que metaboliza el acetaldehído a acetato. Esta ALDH2 tiene dos alelos, ALDH2\*1 y ALDH2\*2, y posee tres genotipos: ALDH2\*1/1 (forma activa), ALDH2\*1/2 (forma inactiva) y ALDH2\*2/2 (Crabb y cols., 1989; Goedde y cols., 1989; Wall y Ehlers, 1995).

El acetaldehído es un metabolito con claros efectos sobre la conducta aunque tradicionalmente se ha considerado que sus efectos son tóxicos y resultan aversivos. Los datos a favor de este planteamiento vienen de diferentes fuentes:

En la población de origen asiático existe un gran porcentaje (entre un 30 y un 50%) que tiene alelos inactivos de la ALDH (Hsu y cols., 1987; Thomasson y cols., 1991). El aumento de los niveles de acetaldehído en sangre originados por la inactividad de este enzima, ocasionan molestias fisiológicas padecidas por una gran parte de la población de origen asiático tras la ingesta de pequeñas cantidades de alcohol (Wolf, 1972; Goedde y cols., 1979, 1983; Mizoi y cols., 1979, 1983). Es más, se ha sugerido que esta reacción fisiológica aversiva puede ser un factor importante en la prevención del alcoholismo, dada la poca incidencia de abuso de alcohol en asiáticos (Agarwal y Goedde, 1990; Yoshida, 1993; Kim y cols., 2004). En concreto, los efectos observados en asiáticos tras el consumo de alcohol son: vasodilatación asociada a la elevación de la temperatura de la piel, sensaciones subjetivas de calor y enrojecimiento de la cara (“flushing”), un aumento en la tasa cardiaca y respiratoria, bajada de la presión sanguínea, sensaciones de boca seca y garganta seca asociadas a la bronco constricción y reacciones alérgicas, náuseas, dolor de cabeza y euforia. Estos efectos autonómicos que resultan aversivos son, en conjunto, conocidos como “sensibilidad al alcohol” (Eriksson, 2001).

Por otro lado, una de las estrategias farmacológicas tradicionales y más ampliamente utilizada en la terapia contra el alcoholismo ha sido la terapia aversiva centrada en la acumulación periférica de acetaldehído (Eriksson, 2001). En este tipo de aproximaciones terapéuticas la coadministración de alcohol y alguno de los diferentes fármacos que inhiben la ALDH; como el Disulfiram (Antabus), la Carbamida (Temposil) o la Cianamida, genera un condicionamiento aversivo al alcohol a través de la elevación de los niveles de acetaldehído circulante y sus consiguientes efectos aversivos (Tambour y Quertemont 2007). Los efectos aversivos no dependen del inhibidor de la ALDH *per se*, sino específicamente del aumento periférico de acetaldehído. En estudios con humanos a los que se les administró el inhibidor de la ADH (4-metilpirazol) conjuntamente con inhibidores de la ALDH (tanto disulfiram como cianamida), los efectos aversivos durante el consumo de alcohol se vieron atenuados dado que se impedía la formación de acetaldehído a través del bloqueo del metabolismo del etanol mediado por la ADH (Kupari y cols., 1983; Stowell y cols., 1980).

Las propiedades ansiolíticas del etanol son bien conocidas y han sido demostradas en varios modelos de ansiedad en animales (Becker y Hale, 1991; Lancen y cols., 2002; Stewart y cols., 1993). Sin embargo, aunque se ha demostrado que el acetaldehído está implicado en algunos de los efectos psicofarmacológicos del etanol, su impacto sobre las propiedades ansiolíticas del etanol apenas ha sido estudiado. Los pocos datos que existen no muestran resultados concluyentes. En las estirpes C57BL/6J y CDI de ratones las medidas de ansiedad en un laberinto elevado en cruz obtenidas tras la administración de acetaldehído, no demuestran ni un efecto ansiolítico ni ansiogénico tras la administración periférica de acetaldehído o su putativa acumulación tras la administración de cianamida a animales tratados con etanol (Tambour y cols., 2005; Quertemont y cols., 2004). Sin embargo, estos dos únicos estudios presentan carencias metodológicas; como es el hecho del uso de una única dosis de inhibidor de la ALDH, con la que no se demuestra que esta droga a la dosis empleada esté ejerciendo una inhibición del enzima.

Por ello, en el presente estudio realizamos una respuesta de dosis con otro de los inhibidores de ALDH; el disulfiram. Este fármaco es el más utilizado en la terapia farmacológica aversiva del alcoholismo. Dado que en humanos el disulfiram coadministrado con alcohol produce una sintomatología vegetativa que comparte muchos de los síntomas autonómicos de un ataque de ansiedad en humanos según la descripción del DSM-IV (American Psychiatric Association, 1994), esperamos poder observar un efecto ansiogénico en interacción con alcohol a las dosis que demuestren inhibir significativamente la actividad de la ALDH. Así mismo, esperamos encontrar una respuesta ansiogénica tras la administración periférica de diversas dosis de acetaldehído.

## **Materiales y método.**

### **Sujetos:**

Para estos experimentos fueron empleados ratones macho de la estirpe CDI, con cuatro semanas a su llegada al laboratorio, procedentes de Harlan-Interfauna Ibérica S.A. (España). Los animales fueron alojados en

cajas de tres ratones con comida para roedores (Panlab S.L., España) y agua potable disponible ad libitum. Los animales fueron estabulados durante una semana para permitir su adaptación a la colonia antes de comenzar con los experimentos. La colonia estaba mantenida a  $22^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , con una humedad media del 55% e iluminación durante ciclos de 12 horas de luz-oscuridad. Los experimentos fueron llevados a cabo durante el ciclo de luz. Todos los procedimientos siguieron las directrices para el uso de animales de experimentación del Consejo de la Comunidad Europea (86/609/ECC).

### **Drogas:**

Todas las drogas y sustancias químicas fueron administradas de modo agudo mediante una inyección intraperitoneal (IP), utilizando como vehículo solución salina isotónica o, en el caso del disulfiram, aceite de cacahuete. Las drogas administradas fueron:

Etanol (96% v/v) (Panreac, España) se preparó disuelto en solución salina isotónica al 20% v/v, a partir de la cual fueron administradas las diferentes dosis, variando el volumen de disolución inyectada.

Solución salina isotónica, obtenida al disolver cloruro sódico (Panreac, España) en agua destilada a una concentración de 0.9% w/v.

Disulfiram (Sigma-Aldrich Química España), fue disuelto a concentraciones de 30, 60 ó 90 mg/10ml en aceite de cacahuete (Panreac, España) al no ser soluble en soluciones acuosas.

Acetaldehído (99% v/v) (Panreac España), fue diluido en solución salina, en frío, hasta una concentración del 2% v/v. Esta solución fue la utilizada para todas las dosis de acetaldehído administradas, cambiando únicamente el volumen inyectado.

### **Aparataje:**

Para los presentes experimentos empleamos uno de los modelos más ampliamente utilizado en la evaluación de ansiedad en roedores: El laberinto elevado en cruz. Este test utiliza la aversión innata que los roedores muestran por las áreas elevadas y desprotegidas. El aparato consiste en dos corredores (65 cm de largo x 5 cm de ancho) que se cruzan en el centro y que se encuentran elevados en relación al suelo (50 cm). Uno de los corredores tiene paredes elevadas (brazo cerrado) y el otro corredor sólo dispone de un pequeño borde que evita que el animal se caiga (brazo abierto). Se requiere que los animales nunca antes hayan sido expuestos al laberinto porque rápidamente se genera habituación y ello reduce la tendencia espontánea del animal a explorar un ambiente nuevo. Los roedores en condiciones control exploran y pasan más tiempo en el brazo cerrado, sin embargo una gran variedad de fármacos con propiedades ansiolíticas tienen como efecto manifiesto incrementar el tiempo que los animales pasan en el brazo abierto en relación al cerrado. De este modo, una sustancia que administrada a los animales incrementa el tiempo que los roedores pasan en los brazos descubiertos del laberinto potencialmente tendrá acciones ansiolíticas. El nivel de ansiólisis del animal es

## **Efecto ansiogénico del disulfiram en animales tratados con alcohol: Relevancia en la terapia farmacológica antialcohólica.**

cuantificado de diversas formas en el presente trabajo utilizamos como variable dependiente el porcentaje de entradas al brazo abierto en relación al total de entradas en todos los brazos. Se considera una entrada en un brazo cuando el animal cruza la línea que los divide con las 4 patas.

### **Procedimiento:**

Experimento 1: Efecto del etanol sobre la conducta en laberinto elevado en cruz.

En primer lugar testamos las propiedades ansiolíticas del etanol en nuestra estirpe de ratones, utilizando dos dosis de etanol (0.5 ó 1.0 g/kg) o salina como solución vehículo (0.0 g/kg). A los animales se les administra el etanol en la sala donde será registrada la conducta. Inmediatamente tras la inyección IP son colocados en jaulas de plástico durante 10 minutos (tiempo que permite la difusión de la droga), antes de ser introducidos en el laberinto elevado en cruz, donde durante 5 minutos se cuantificarán las entradas en los diferentes brazos del aparato.

Experimento 2: Impacto de la inhibición de la ALDH sobre el efecto ansiolítico del etanol en laberinto elevado en cruz.

Tras observar que el etanol tiene un efecto ansiolítico sobre nuestra estirpe de ratones y que este efecto es dependiente de la dosis, seleccionamos la dosis con una respuesta ansiolítica más robusta para el segundo experimento (1.0 g/kg). Tratamos de comprobar si ese efecto era debido a la acumulación periférica de acetaldehído (primer metabolito del etanol), para ello utilizamos el disulfiram, un inhibidor de la ALDH.

En este experimento los animales son pretratados con disulfiram (0, 30, 60, ó 90 mg/kg), 16 horas antes de la administración de etanol y devueltos a sus jaulas en el estabulario. Pasadas 16 horas los animales son transportados a la sala de conducta. A los animales se les administra el etanol (a dosis 0.0 ó 1.0 g/kg), en la sala de conducta y son colocados en jaulas de plástico durante 10 minutos antes de ser introducidos en el laberinto elevado en cruz, donde durante 5 minutos se cuantificarán las entradas en los diferentes brazos del aparato.

Experimento 3: Efecto del acetaldehído sobre la conducta en laberinto elevado en cruz.

Por último, tratamos de ver si el acetaldehído por sí mismo administrado periféricamente producía un efecto ansiogénico. Estudiamos el efecto de diferentes dosis de acetaldehído (0, 25, 50, 75 ó 100 mg/kg). A los animales se les administra el acetaldehído en la sala de conducta e inmediatamente tras la inyección son colocados en jaulas de plástico durante 1 minuto (el tiempo para la difusión del acetaldehído es menor dado que este compuesto es mucho más reactivo) antes de ser introducidos en el laberinto elevado en cruz, donde durante 5 minutos se cuantificarán las entradas en los diferentes brazos del aparato.

### **Resultados.**

Experimento 1: Efecto del etanol sobre la conducta en laberinto elevado en cruz.

Realizamos un análisis estadístico por medio de un ANOVA de un factor (dosis de etanol) que mostró un

**Efecto ansiogénico del disulfiram en animales tratados con alcohol: Relevancia en la terapia farmacológica antialcohólica.**

efecto significativo de la dosis de etanol ( $F(2,72)=14,715$ ,  $p<0.01$ ), una posterior prueba post-hoc LSD reveló un efecto significativo ( $p<0.01$ ) entre la dosis de 0,0 y 0,5 g/kg de etanol y también entre 0,0 y 1,0 g/kg. También resultó ser significativa la diferencia entre las dos dosis de etanol (0,5 y 1,0 g/kg) ( $p<0.05$ ). Estos resultados muestran el efecto ansiolítico del etanol en nuestras condiciones experimentales.

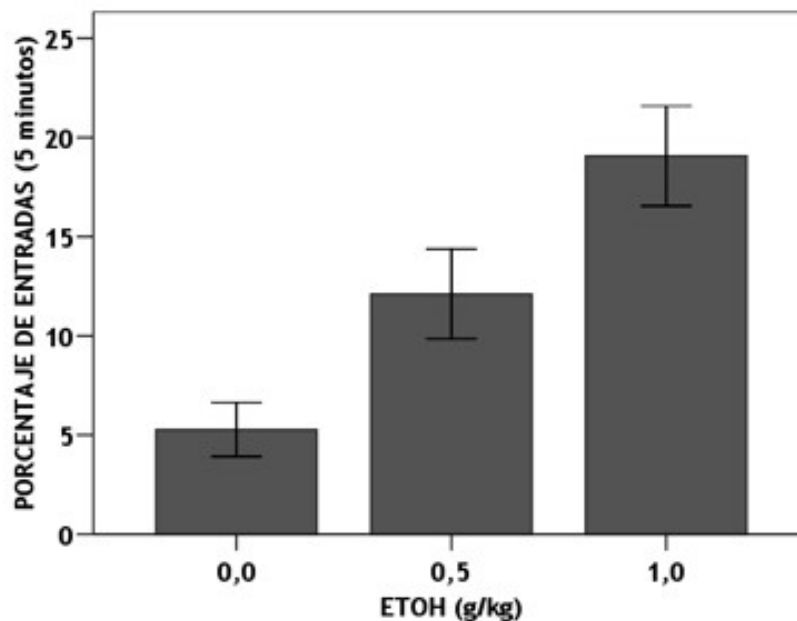


FIGURA 1: Porcentaje de entradas en el brazo abierto en relación al total de entradas en todos los brazos (en 5 minutos) tras una inyección aguda de etanol (0,0, 0,5 ó 1,0 g/kg, IP). Media  $\pm$  EMS del porcentaje.

Experimento 2: Impacto de la inhibición de la ALDH sobre el efecto ansiolítico del etanol en laberinto elevado en cruz.

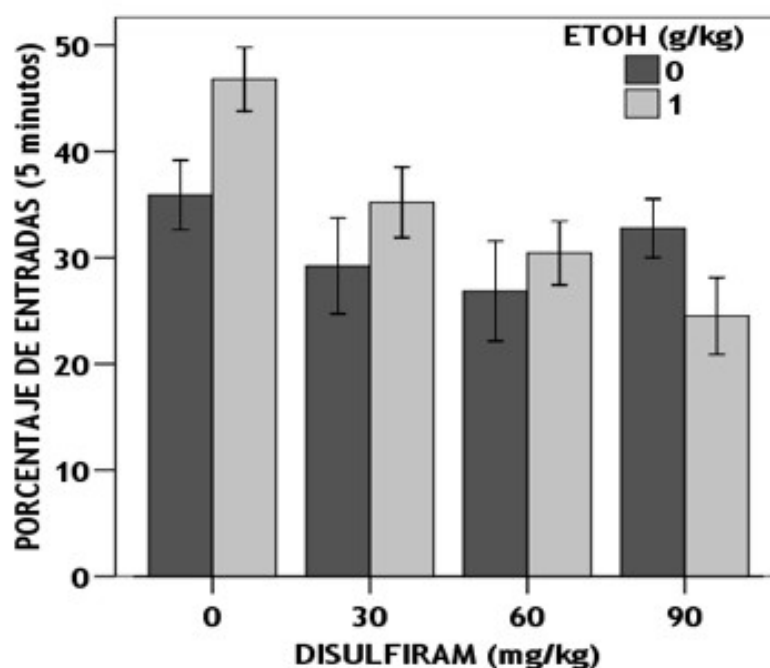


FIGURA 2: Porcentaje de entradas en el brazo abierto en relación con el total de entradas en los brazos (en 5 minutos) tras un tratamiento de 16 horas de disulfiram (0, 30, 60 ó 90 mg/kg) y una inyección aguda de etanol (0 ó 1 g/kg). Media  $\pm$  EMS del porcentaje.

Realizamos un ANOVA de dos factores: tratamiento (disulfiram 0, 30, 60 ó 90 mg/kg) x dosis de etanol (0 ó 1 g/kg), que mostró un efecto significativo tanto del tratamiento (disulfiram) ( $F(3,140)=6,591$ ,  $p<0.01$ ) como de la interacción entre tratamiento y dosis de etanol ( $F(3,140)=2,798$ ,  $p<0.05$ ). Para poder comprobar en qué grupos existía un efecto significativo, realizamos una prueba *post-hoc* LSD. No existieron diferencias significativas entre el grupo inyectado con la dosis 0 mg/kg de disulfiram y las otras dosis (30, 60 ó 90 mg/kg). Ello indica que el disulfiram por sí mismo (en animales no inyectados con etanol) no modifica la conducta. La dosis de etanol 1 g/kg demostró ejercer un efecto ansiolítico en relación a la dosis 0 g/kg de etanol bajo las presentes condiciones ( $p<0.05$ ). El grupo disulfiram 0 mg/kg - etanol 1 g/kg mostró diferencias significativas con los demás grupos inyectados con etanol 1 g/kg más disulfiram 30, 60 ó 90 mg/kg ( $p<0.01$ ). El disulfiram bloqueó los efectos ansiolíticos del etanol.

Experimento 3: Efecto del acetaldehído sobre la conducta en laberinto elevado en cruz.

Se administraron diferentes dosis de acetaldehído IP (0, 25, 50, 75 ó 100 mg/kg) a los ratones. Realizamos un ANOVA de un factor (dosis de acetaldehído) que resultó ser significativo ( $F(4,77)=3,352$ ,  $p<0.01$ ).

La posterior prueba *post-hoc* LSD nos reveló que la dosis de acetaldehído de 100 mg/kg era significativamente diferente a la dosis de 0 mg/kg ( $p<0.05$ ).

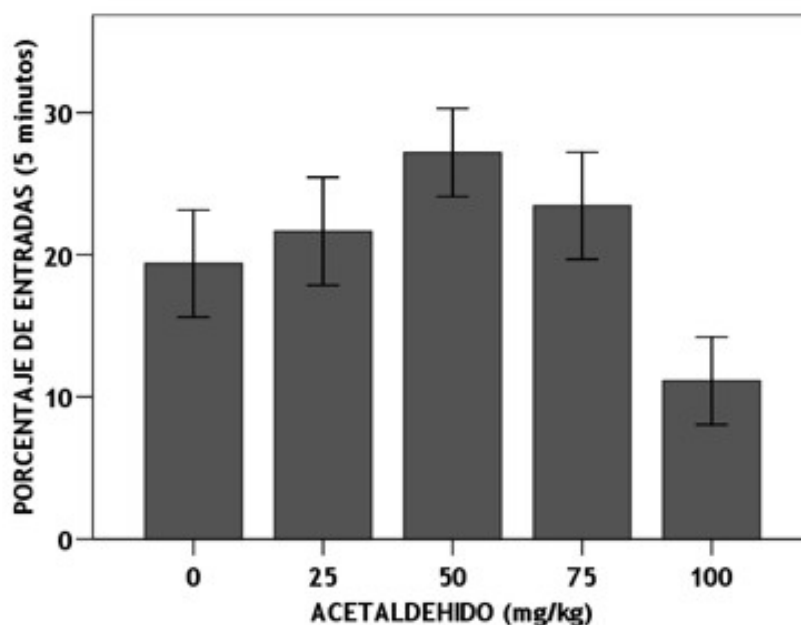


FIGURA 3: Porcentaje de entradas en el brazo abierto en relación al total de entradas en los brazos (durante 5 minutos) tras una inyección aguda de acetaldehído (0, 25, 50, 75 ó 100 mg/kg). Media  $\pm$  EMS del porcentaje.



## DISCUSIÓN

Al igual que en numerosos estudios previos, el etanol ha demostrado tener propiedades ansiolíticas en nuestras condiciones experimentales (p.e. Boehm y cols., 2002; Correa y cols., 2003; Gallate y cols., 2003). Ambas dosis de etanol (0,5 y 1,0 g/kg) aumentan de forma significativa el porcentaje de entradas en los brazos abiertos, parámetro tomado como una medida de ansiólisis. En el segundo experimento la inhibición de la ALDH mediante disulfiram y la consiguiente acumulación de acetaldehído en la periferia producen una disminución del porcentaje de entradas en el brazo abierto, lo que indica un bloqueo de las propiedades ansiolíticas del etanol. Las dosis de disulfiram utilizadas en el presente trabajo (30, 60 y 90 mg/kg) han demostrado inhibir la ALDH hepática de una manera dependiente de la dosis, efecto que va en paralelo al bloqueo de las acciones ansiolíticas del etanol. Es más, la dosis mayor (90 mg/kg) no sólo bloquea el efecto ansiolítico del etanol sino que parece ejercer un efecto ansiogénico en el grupo inyectado con etanol. Por último, la administración directa de acetaldehído ejerce efectos ansiogénicos dependientes de la dosis; la dosis más alta (100 mg/kg) redujo el porcentaje de entradas en los brazos abiertos en relación al grupo control. Este último dato corrobora los resultados del experimento con disulfiram, ya que tanto el acetaldehído por sí mismo como la acumulación de acetaldehído resultado del bloqueo de la ALDH ejercen las mismas acciones sobre las medidas de ansiedad.

Todo ello nos indica que la terapia farmacológica antialcohólica, que utiliza el disulfiram o alguno de los bloqueadores de la ALDH tiene su fundamento en un posible efecto ansiogénico en los pacientes, que se manifiesta cuando estos ingieren alcohol. Estas terapias aversivas pueden tener un impacto mayor en aquellos sujetos que consumen alcohol por sus propiedades ansiolíticas, es decir en aquellos que utilizan el etanol como un reforzador negativo. Por ello, a la hora de prescribir un fármaco específico en el tratamiento del alcoholismo y de verificar su eficacia se hace relevante considerar, entre otros factores, ciertas variables de personalidad.

## BIBLIOGRAFÍA

- ABRAMS, K.; KUSHNER, M.; MEDINA, K.L. Y VOIGHT, A. (2001). The pharmacologic and expectancy effects of alcohol on social anxiety in individuals with social phobia. *Drug Alcohol Depend.* 64(2), 219-31.
- AGARWAL, D.P. Y GOEDDE, H.W. (1990). Alcohol Metabolism, Alcohol Intolerance and Alcoholism: Biochemical and Pharmacogenetic Approaches. Springer Verlag, New York.
- American Psychiatric Association (1994). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4th edn) (DSM-IV). Washington, DC: APA.
- BECKER, H.C. Y HALE, R.L. (1991). Ro15-4513 antagonizes the anxiolytic effects of ethanol in a nonshock conflict task at doses devoid of anxiogenic activity. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 39, 803–807.
- BOEHM II, S.L.; REED, C.L.; MCKINNON, C.S. Y PHILLIPS, T.J. (2002). Shared genes influence sensitivity to the effects of ethanol on locomotor and anxiety-like behaviors, and the stress axis. *Psychopharmacology* 161, 54–63.
- CONGER, J.J. (1956). Alcoholism: theory, problem and challenge. II. Reinforcement theory and the dynamics of alcoholism. *Q J Stud Alcohol.* 17(2), 296-305.
- CORREA, M.; ARIZZI, M.N.; BETZ, A.; MINGOTE, S. Y SALAMONE, J.D. (2003). Open-field locomotor effects in rats after intraventricular injections of ethanol and the ethanol metabolites acetaldehyde and acetate. *Brain Res. Bull.* 62, 197–202.
- CRABB, D.W.; EDENBERG, H.J.; BOSRON, W.F. Y LI, T.K. (1989). Genotypes for aldehyde dehydrogenase deficiency and alcohol sensitivity: the inactive ALDH2 allele is dominant. *J Clin Invest* 83, 314–316.
- ERIKSSON, C.J. (2001). The role of acetaldehyde in the actions of alcohol (update 2000). *Alcohol Clin Exp Res* 25 Suppl:15S–32S.
- FOUQUEREAU, E.; FERNANDEZ, A.; MULLET, E. Y SORUM, P.C. (2003). Stress and the urge to drink. *Addict Behav.* 28(4), 669-85.
- GALLATE, J.E., MORLEY, K.C., AMBERMOON, P. Y MCGREGOR, I.S. (2003). The consequences of beer consumption in rats: acute anxiolytic and ataxic effects and withdrawal-induced anxiety. *Psychopharmacology* 166:51–60.
- GOEDDE, H.W.; AGARWAL, D.P. Y HARADA, S. (1979). Racial differences in alcohol sensitivity: a new hypothesis. *Hum Genet* 51: 331–334.
- GOEDDE, H.W.; AGARWAL, D.P.; HARADA, S.; MEIER-TACKMANN, D.; RUOFU, D.; BIENZLE, U.; KROEGER, A. Y HUSSEIN, L. (1983). Population genetic studies on aldehyde dehydrogenase isozyme deficiency and alcohol sensitivity. *Am J Hum Genet* 35: 769–772.
- GOEDDE, H.W.; SINGH, S.; AGARWAL, D.P.; FRITZE, G. Y PAIK, Y.K. (1989). Genotyping of mitochondrial aldehyde dehydrogenase using oligonucleotide in South Korean blood samples: comparison with phenotyping in hair roots. *Hum Genet* 81: 305–307.
- HSU, L.C.; BENDEL, R.E. Y YOSHIDA, A. (1987). Direct detection of usual and atypical alleles on the human aldehyde dehydrogenases-2(ALDH2) locus. *Am J Hum Genet* 41: 996–1001.
- KIDORF, M. Y LANG, A.R. (1999). Effects of social anxiety and alcohol expectancies on stress- induced drinking. *Psychology of Addictive Behaviors.* 13 (2), 134-142.

- KIM, J.M.; STEWART, R.; SHIN, I.S.; JUNG, J.S. Y YOON, J.S. (2004). Assessment of association between mitochondrial aldehyde dehydrogenase polymorphism and Alzheimer's disease in an older Korean population. *Neurobiol Aging* 25, 295–301.
- KUPARI, M.; LINDROS, K.; HILLBOM, M.; HEIKKILÄ, J. Y YLIKAHRI, R. (1983). Cardiovascular effects of acetaldehyde accumulation after ethanol ingestion: Their modification by beta-adrenergic blockade and alcohol dehydrogenase inhibition. *Alcohol Clin Exp Res* 7, 283–288.
- LANGEN, B.; DIETZE, S. Y FINK, H. (2002). Acute effect of ethanol on anxiety and 5-HT in the prefrontal cortex in rats. *Alcohol* 27, 135–141.
- MCQUAID, J.R.; BROWN, S.A.; AARONS, G.A.; SMITH, T.L.; PATTERSON, T.L. Y SCHUCKITT, M.A. (2000). Correlates of life stress in an alcohol treatment sample. *Addict Behav.* 25(1), 131-7.
- MIZOI, Y.; IJIRI, Y.; TATSUNO, Y.; KIJIMA, T.; FUJIWARA, S.; ADACHI, J. Y HISHIDA, S. (1979). Relationship between facial flushing and blood acetaldehyde levels after alcohol intake. *Pharmacol Biochem Behav* 10, 303–311.
- MIZOI, Y.; TATSUNO, Y. Y ADACHI, J. (1983). Alcohol sensitivity related to polymorphism of alcohol-metabolizing enzymes in Japanese. *Pharmacol Biochem Behav* 18, 127–133.
- PETERSEN, D.R.; ERWIN, V.G. Y DEITRICH, R.A. (1983). Brain acetaldehyde metabolism during ethanol consumption. *Res. Monographs* 9, 93—9.
- QUERTEMONT, E.; TAMBOUR, S.; BERNAERTS, P.; ZIMATKIN, S.M. Y TIRELLI, E. (2004). Behavioral characterization of acetaldehyde in C57BL/6J mice: locomotor, hypnotic, anxiolytic and amnesic effects. *Psychopharmacology* 177, 84–92.
- STEWART, R.B.; GATTO, G.J.; LUMENG, L.; LI, T.K. Y MURPHY, J.M. (1993). Comparison of alcohol-preferring (P) and nonpreferring (NP) rats on tests of anxiety and for the anxiolytic effects of ethanol. *Alcohol* 10, 1–10.
- STOWELL, A.; HILLBOM, M.; SALASPURO, M. Y LINDROS, K.O. (1980). Low acetaldehyde levels in blood, breath and cerebrospinal fluid of intoxicated humans as assayed by improved methods. *Adv Exp Med Biol* 132, 635–645.
- TAMBOUR, S. Y QUERTEMONT, E. (2007). Preclinical and clinical pharmacology of alcohol dependence. *Fundam Clin Pharmacol.* 21(1), 9-28.
- TAMBOUR, S.; DIDONE, V.; TIRELLI, E. Y QUERTEMONT, E. (2005). Dissociation between the locomotor and anxiolytic effects of acetaldehyde in the elevated plus-maze: evidence that acetaldehyde is not involved in the anxiolytic effects of ethanol in mice. *Eur Neuropsychopharmacol.* 15(6), 655-62.
- THOMASSON, H.R.; EDENBERG, H.J.; CRABB, D.W.; MAI, X.L.; JEROME, R.E.; LI, T.K.; WANG, S.P.; LIN, Y.T.; LU, R.B. Y YIN, S.J. (1991). Alcohol and aldehyde dehydrogenase genotypes and alcoholism in Chinese men. *Am J Hum Genet* 48, 677–681.
- WALL, T.L. Y EHLERS, C.L. (1995). Acute effects of alcohol on P300 in Asians with different ALDH2 genotypes. *Alcohol Clin Exp Res* 19: 617–622.
- WOLFF, P.H. (1972). Ethnic differences in alcoholic sensitivity. *Science* 175, 449–450.
- YOSHIDA, A. (1993). Genetic polymorphisms of alcohol-metabolizing enzymes related to alcohol sensitivity and alcoholic diseases. In *Psychopharmacology and Psychobiology of Ethnicity*, Lin, K.M.; Poland, R.E.; Nakasaki, G. (eds). American Psychiatric Press, Inc.: Washington, DC, 169–183.