

Ethanol 이 Allyl alcohol 독성에 미치는 영향

이주영 · 김대병* · 문창규 · 정진호#
서울대학교 약학대학, *충북대학교 약학대학
(Received January 18, 1994)

Effect of Ethanol on Allyl alcohol-Induced Toxicity

Joo Young Lee, Dae Byung Kim*, Chang Kiu Moon and Jin Ho Chung#
College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
*College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 303-763, Korea

Abstract—Allyl alcohol is metabolized in the liver through two steps, first to reactive acrolein by alcohol dehydrogenase(ADH), subsequently to acrylic acid by aldehyde dehydrogenase(ALDH). Since ethanol could compete the same enzymes to be metabolized in the liver, we have studied the interaction between allyl alcohol and ethanol on liver toxicity. Simultaneous treatment of 2 g/kg ethanol by ip administration with 40 mg/kg allyl alcohol to rats increased the lethality significantly, accompanied by potentiation of the loss of hepatic glutathione. Collectively, these findings suggested that ethanol potentiated the hepatotoxicity and lethality induced by allyl alcohol probably through competing two metabolizing enzymes, ADH and ALDH.

Keyword □ Allyl alcohol, acrolein, ethanol, acetaldehyde, alcohol dehydrogenase(ADH), aldehyde dehydrogenase(ALDH).

공업용 용매로 널리 사용되는 allyl alcohol은 *in vivo*에서 alcohol dehydrogenase (ADH)에 의한 대사를 거쳐, 주로 간의 periportal region에 세포 괴사를 일으켜 간독성을 유발시킨다고 보고되어 있다.¹⁾ 간에서는 두 단계의 효소 반응을 거쳐 allyl alcohol을 무독화시킬 수 있는데, 먼저 cytosolic ADH에 의해 간독성 활성 본체인 acrolein으로 대사되고, 이는 계속해서 aldehyde dehydrogenase (ALDH)에 의해 acrylic acid로 되어 배설된다.^{2,3)} 활성 대사체로 알려져 있는 acrolein은 α,β -unsaturated aldehyde로서, 반응성이 대단히 뛰어나 allyl alcohol 산화에 의해 간에서 생성되는 경우, 신속히 간의 glutathione과 반응하여, glutathione-acrolein adduct를 생성한 후, 3-hydroxypropylmercapturic acid로 배설되거나 해독 효소인 ALDH에 의해 acrylic acid로 대사되어 제거된다.^{4,5)} Acrolein은 간의 glutathione을 고갈^{6,7)}시켜 세포 내

산화 환원 평형을 깨뜨리고, 세포 내의 macromolecule과 결합하여 각종 효소의 변성 및 mitochondrial respiratory chain damage를 유발하고,⁸⁻¹⁰⁾ oxygen radical을 생성하여¹¹⁾ 세포막 지질 과산화를 촉진하여 결국 세포 괴사에 이르게 한다.¹²⁻¹⁴⁾

이처럼, allyl alcohol의 간독성은 주로 acrolein으로 인한 것이므로, acrolein의 생성 및 제거속도가 간독성 정도를 좌우한다. 따라서, 생성 및 제거 단계에 관여하는 두 가지 enzyme인 ADH와 ALDH의 활성이 allyl alcohol의 간독성에 중요한 영향을 미칠 것이다. 실제로 pyrazole 또는 4-methylpyrazole로 ADH를 inhibition시키거나 phenobarbital로 ALDH를 induction시 allyl alcohol에 의한 간조직의 glutathione 고갈, 세포막 과산화 지질 생성 및 간세포 손상 등이 감소하고,^{15,16)} cyanamide나 disulfiram으로 ALDH를 inhibition시 간독성이 증가한다는 보고가 있다.^{17,18)} 이는 allyl alcohol의 ADH에 의한 산화 속도가 간독성 유발에

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

밀접한 관련을 가지며, acrolein을 무독화시키는데 ALDH가 중요하다는 사실을 암시하고 있다.

Ethanol 역시 대부분이 간의 ADH에 의해 acetaldehyde로 대사되고 이어서 ALDH에 의해 acetic acid로 대사된다. 만성적으로 ethanol에 노출된 경우 지방간을 거쳐 간경화, 또는 간염을 유발하는데, ethanol과 관련된 유해 작용의 주된 원인으로 생각되어 지는 acetaldehyde는 ALDH에 의해 비가역적으로 acetic acid로 산화됨으로써 무독화된다.¹⁹⁾ Ethanol은 같은 대사 효소를 공유하는 다른 화학물질들과의 경쟁 반응으로 화학물질의 대사를 변화시키고, 독성을 감소 또는 증가시키기도 한다. Methanol이나 ethylene glycol의 경우 ADH에 대한 경쟁 반응에 의해 독성이 감소하기도 하지만²⁰⁾ 다른 화학물질의 경우 독성이 증폭될 가능성도 배제할 수 없으므로 경쟁 반응에 의한 독성 증가 또는 감소 여부를 규명하는 것은 중요하다.

Allyl alcohol은 간에서의 일련의 대사 과정에 있어서 ethanol과 같은 대사 효소들을 공유하므로(Fig. 1), ethanol과 같이 노출될 경우, 각 대사 단계에서의 효소에 대한 경쟁반응 때문에 allyl alcohol 및 acrolein의 대사 속도가 변하게 된다. 즉, allyl alcohol의 acrolein으로의 산화시 ethanol의 ADH에 대한 경쟁 반응뿐 아니라 ALDH에 의해 acrolein이 무독화되는 과정에서, ethanol의 대사체인 acetaldehyde와의 경쟁 반응 등 두 단계에서 반응이 각각 어떻게 전개되느냐에 따라 독성 대사체인 acrolein의 생성 및 무독화 과정이 변하여 생체내 노출 정도가 달라지고 이에 따른 간독성도 변화할 것으로 추측된다. 따라서, 본 실험에서는 ethanol 투여시 ADH뿐 아니라 ALDH 등 두 단계에서의 경쟁 반응이 allyl alcohol 및 acrolein의 독성에 어떻게 영향을 미치는가를 연구하였다.

실험방법

시약—Allyl alcohol은 Aldrich Chemical Co. (U.S.A.), ethanol은 Hayman limited (U.K.)의 제품을 사용하였다. AST 및 ALT kit는 영동 제약 (Korea)에서 구입했다. 이외의 시약들은 모두 Sigma Chemical Co. (U.S.A.)의 reagent grade의 것을 사용하였다.

실험동물—Sprague-Dawley 수컷 흰쥐를 생후 3주 후에 서울대학교 사육장에서 공급받아 본 대학 사육

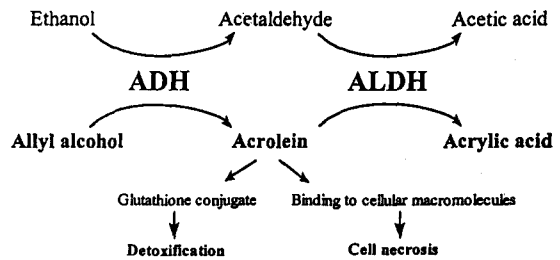


Fig. 1—Schematic diagram for metabolic interaction between ethanol and allyl alcohol.

실에서 사료 및 식수를 제한하지 않고, 12시간을 주기로 명암을 바꾸어 주며 사육하였다. 체중 200 g 이상 되는 동물을 실험하기 전 18시간 동안 절식한 후 실험에 사용했다.

Ethanol 2 g/kg (40% in H₂O)을 복강 주사하고, 이와 동시에 또는 2시간 후에 allyl alcohol 40 mg/kg (5% in H₂O)을 복강 투여했다. 정상대조군에는 H₂O를 복강주사했다.

AST 및 ALT 활성의 측정—Allyl alcohol을 투여하고 24시간 후에 흰쥐를 ether로 마취하고 heparin 처리한 18 G 주사기를 사용하여 복대동맥에서 혈액을 취한 후 1,500 g에서 15분간 원심분리하여 plasma를 얻어 Reitman-Frankel 방법²¹⁾에 따라 kit을 사용하여 aspartate aminotransferase (AST) 및 alanine aminotransferase (ALT) 활성을 측정하였다.

Glutathione 정량—실험 동물을 ether로 마취 후 개복하여, 간을 차가운 saline으로 관류시킨 후 재빨리 간의 일정 부위를 잘라 정확한 무게를 재어 ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 2 mM이 함유된 1 M perchloric acid를 4배의 부피만큼 가하고 조직 분쇄한 후 5,000 g에서 5분간 원심분리하여 상등액을 얻어 enzymatic recycling method²²⁾로 glutathione양을 측정했다. 먼저 총 glutathione 측정시에는 0.3 mM NADPH용액, 6 mM DTNB (5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)) 용액, 일정량의 시료 또는 glutathione 표준액에 glutathione reductase를 가한 후 spectrophotometer (Shimadzu UV-2201)를 이용하여 412 nm에서 직선을 이루는 때의 분당 흡광도를 측정하여 기울기를 구했다. 산화형 glutathione양은 2-vinylpyridine으로 환원형 glutathione을 제거한 후 총 glutathione 측정시와 같은 방법으로 측정했다.²³⁾ 환원형 glutathione 양은 총 glutathione 양과 산화형 glutathione 양 (GSH

equivalents)의 차이값으로 하였다.

통계 처리-SPSS/PC⁺ program을 이용하여 ANOVA test를 수행한 뒤 Duncan's Multiple Range test로 group간의 차이를 결정하였다. p값이 0.05 이하인 경우만 유의성이 있다고 결정하였다.

결 과

간독성 물질로 널리 알려져 있는 allyl alcohol은 그 대사체가 간세포 괴사를 일으키는 것으로 알려져 있으며, 대부분이 간의 ADH 및 ALDH에 의해 대사된다. Ethanol 대사 역시 대부분이 간에서 ADH 및 ALDH에 의해 수행된다. 따라서, ethanol 투여시 allyl alcohol은 대사 효소들을 ethanol과 공유하게 되므로 두 효소에 대한 경쟁 반응에 의해 allyl alcohol의 대사 및 제거 속도가 변하고 이에 따라 allyl alcohol에 의한 간독성 유발 정도도 변할 것이라는 가정 하에 이를 확인하기 위한 실험을 수행하였다.

먼저, allyl alcohol이 간독성을 유발시키는 용량을 결정하기 위해 용량별로 투여하여 간독성의 지표로서 혈중 AST 및 ALT 활성을 측정하였다. 25 mg/kg에서는 AST 및 ALT 값이 대조군과 큰 차이가 없었으나, 40 mg/kg에서 AST 및 ALT 값이 대조군에 비해 현저한 증가를 보이므로 간독성이 확실히 유발되었음을 알 수 있었다(Fig. 2). Allyl alcohol에 의한 간독성에는 간실질세포뿐 아니라 macrophage의 활성이 중요한 영향을 미친다고 알려져 있다.²⁴⁾ 그런데, 본 실험에서 사용한 Sprague-Dawley rat과 같은 outbred strain인 실험 동물에 투여할 경우, 개체별로 macrophage의 활성이 차이가 있기 때문에 개체에 따라 responsive와 non-responsive로 다른 양상을 보인다. 따라서, Fig. 2 및 3에서는 실험 동물 개체별 AST 및 ALT level의 분포로서 표시하였다. 여기서 사용한 용량 이상에서는 실험 동물이 치사하여 사용할 수 없었다. 따라서, 이후 실험에서 allyl alcohol은 40 mg/kg을 투여하여 간독성을 유발시켰다.

AST 및 ALT 활성을 allyl alcohol 투여 후 시간에 따라 측정해 본 결과 투여 후 8시간부터 조금씩 증가하기 시작하여 24시간에서 현저히 증가하고 이후 48시간에는 다시 대조군 수준으로 회복되는 양상을 나타냈다(Fig. 3). 따라서, AST 및 ALT 활성으로 간

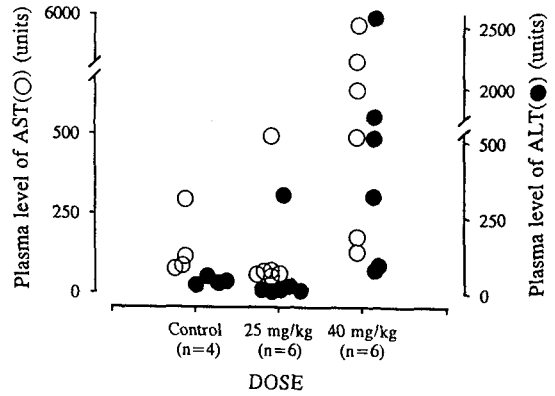


Fig. 2—Dose-dependent hepatotoxicity of allyl alcohol.

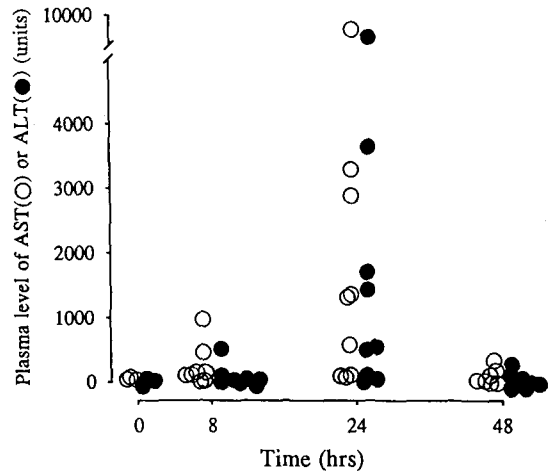


Fig. 3—Time-dependent hepatotoxicity of allyl alcohol.

독성 정도를 측정하기 위해서는 그 값이 최대로 증가하는 24시간이 가장 적당하다고 생각되어 이후 실험에서는 allyl alcohol 40 mg/kg 투여 후 24시간에 AST 및 ALT 활성을 측정하여 간독성의 지표로 삼았다.

이와 같은 allyl alcohol의 간독성이 ethanol 공존시에 어떻게 변화하는지를 *in vivo* 실험을 통해 알아보았다. Ethanol과 allyl alcohol을 동시 투여한 결과, 저자들이 기대한 바와는 달리 allyl alcohol의 독성이 증폭되어 치사율이 증가했다(Table 1). Ethanol을 2시간 전처리한 후 allyl alcohol을 투여한 경우에도 역시 치사율이 현저히 증가함을 확인할 수 있었다 (data는 제시되지 않음). 이처럼 ethanol과 al-

Table 1—Effect of ethanol on hepatotoxicity and mortality induced by allyl alcohol

	AST (units)	ALT (units)	Mortality
Control	110±7	40±4	0/5
Allyl alcohol	3,183±1,014*	1,677±446*	0/7
Ethanol	250±36	57±9	0/5
Ethanol+ allyl alcohol	2,942	1,987	6/8

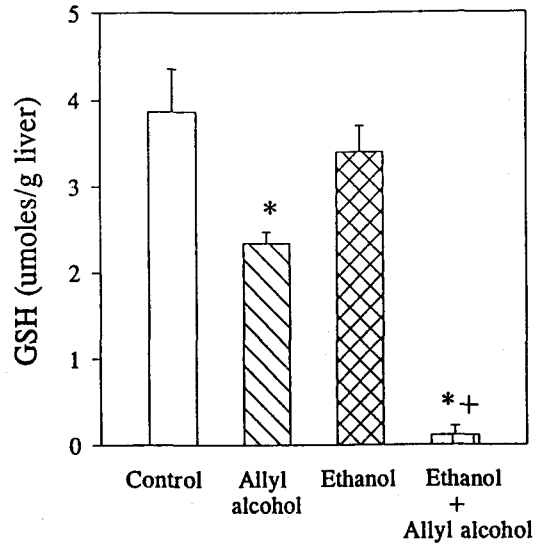
Data represent mean±S.E. except for simultaneous treatment group represented as the average of two animals that survived. * indicates significant difference from control (one-way ANOVA test followed by Duncan's Multiple Range test, $p<0.05$).

lyl alcohol을 혼합 투여한 군에서는 치사하는 개체가 많아 24시간 후의 AST 및 ALT 활성을 측정할 수 없었으므로, ethanol이 allyl alcohol의 간독성에 미치는 효과를 알 수 없었다.

Allyl alcohol은 대사체인 acrolein이 glutathione과 신속히 결합함으로써 glutathione을 고갈시키는데, 이는 간독성의 초기에 나타나는 현상이므로 allyl alcohol 투여 후 2시간에 간의 glutathione 양을 측정하여 간접적인 간독성의 지표로 삼고자 했다. Fig. 4에서 보듯이 ethanol은 간의 glutathione 양에 아무 영향이 없는 반면 allyl alcohol은 glutathione을 40% 정도 감소시킴을 확인할 수 있었고, allyl alcohol 단독 투여군에 비해 ethanol을 전처리한 군에서 glutathione이 거의 완전하게 감소함으로 보아 ethanol이 allyl alcohol의 간독성을 증폭시킴을 간접적으로 제시하고 있다.

고 찰

Allyl alcohol은 간의 alcohol dehydrogenase (ADH)에 의해 acrolein으로 대사되며, 이어서 aldehyde dehydrogenase (ALDH)에 의해 acrylic acid로 무독화되어 배설된다. 독성이 강한 대사체인 acrolein은 간의 glutathione을 고갈시킨 후 세포 내 macromolecule과 결합하여 세포의 주요 기능을 파괴하고, 세포막에 lipid peroxidation을 유발하여 최종적으로 세포 괴사를 일으킴으로써 간독성을 유발한다.⁶⁻¹⁴⁾

**Fig. 4**—Potentiation of allyl alcohol-induced GSH depletion by ethanol.

Animals were treated with ip administration of 2 g/kg ethanol followed by ip injection of 40 mg/kg allyl alcohol. Hepatic GSH levels were determined 2 hrs after allyl alcohol treatment. Data represent mean±S.E. for 3 or 4 rats. * indicates significant differences from control. + indicates significant differences from allyl alcohol (one-way ANOVA test followed by Duncan's Multiple range test, $p<0.05$).

따라서 acrolein의 생성 및 제거 속도가 간독성의 주요 변수가 될 것으로 사료된다.

Ethanol 역시 간에서 ADH에 의해 acetaldehyde가 되고, 이어 ALDH에 의해 acetic acid가 되어 배설된다. 이처럼 ethanol과 allyl alcohol이 대사 효소들을 공유하므로, ADH에 의해 대사되는 단계에서의 ethanol 및 allyl alcohol, ALDH에 의해 대사되는 단계에서의 acrolein 및 acetaldehyde 등 두 단계에서의 경쟁 반응에 의해 allyl alcohol 및 acrolein의 생성 또는 제거 속도가 변화하고, 그에 따라 간독성도 변화될 것이다.

Allyl alcohol에 의해 나타나는 간독성의 지표로서 혈중 AST 및 ALT 활성을 측정했는데 24시간에 가장 높은 활성을 나타냈다(Fig. 3). 일반적으로 allyl alcohol로 간독성 유도시 12~24시간에 간독성에 의한 효소 활성이 최대에 도달한다고 한다.^{25,26)} 40 mg/kg

투여군 및 24시간째 측정군에서 개체별 편차가 대단히 크게 나타났다(Fig. 2,3). Allyl alcohol에 의한 간독성 유발시에는 간실질세포뿐 아니라 kupffer cell과 circulating neutrophils 등이 활성화되어 세포간 상호작용에 의해 간독성을 증진시킨다.²⁴⁾ 실험에서 사용한 SD rat은 outbred strain으로서 macrophage activity가 개체별로 크게 다르므로, 간독성 유발 정도도 개체에 따른 차이를 나타낼 수 있다.

간세포의 glutathione 고갈이 증폭되어 간독성이 증가함을 제시함과 동시에 치사율이 현저히 증가함으로써 ethanol과 allyl alcohol 혼합 투여시 독성이 오히려 증가함을 보이고 있다(Fig. 4, Table 1). 이러한 결과는 Schwarzmann 등에 의한 liver perfusion system에서 ethanol이 allyl alcohol에 의한 간독성을 차단한다는 보고²⁷⁾ 및 Penttila 등에 의한 *in vivo* 실험에서 ethanol과 allyl alcohol의 혼합액을 경구 투여시 간의 glutathione 고갈을 증폭시키기는 하지만 5시간째의 ALT 활성이 allyl alcohol 단독 투여군에 비해 감소하는 것으로 보아 ethanol이 allyl alcohol의 간독성을 감소시킨다고 하는 보고²⁸⁾와는 상반된 결과이다. 이 저자들은 allyl alcohol이 ADH에 의해 대사되는 단계를 ethanol이 경쟁적으로 억제하여 독성 대사체인 acrolein의 생성 속도를 감소시켜 독성을 낮춘다고 추측하고 있다. 그러나, 실제로 acrolein이 체내에 축적되는 농도에는 생성 속도 뿐 아니라 ALDH 및 glutathione과 같은 생체 내 방어 기전에 의해 제거 및 무독화되는 속도도 중요하다. 이 무독화되는 단계에서 acetaldehyde가 ALDH를 경쟁적으로 억제하게 되면 acrolein이 체내 축적되고 세포 내 일차적인 방어 체계인 glutathione 고갈이 더 심화되고 간세포 괴사 정도도 증가할 것이다. 이로 인한 독성 증가가 치사율을 증가시킬 가능성도 있다.

Allyl alcohol 및 ethanol을 혼합 투여시 치사율이 증가하는 원인이 간독성 때문인지는 현재 분명치 않지만 ¹⁴C-allyl alcohol을 복강 투여한 후 간에서는 radioactivity가 상당량 검출되고 periportal necrosis가 일어난 반면, kidney와 lung과 같은 다른 기관에서는 radioactivity도 거의 검출되지 않았고, 아무 병변도 관찰되지 않았다.²⁹⁾ 또한 cyanamide를 전처리하면 allyl alcohol 투여군에서 치사율이 증가하는데, 이 때 현저한 간세포 괴사를 현미경상으로 관찰할 수 있었

으며,¹⁷⁾ acetaminophen을 전처리하고 allyl alcohol을 투여하면 간에 울혈이 일어나 혈류 순환이 차단되어 혈류량이 감소하고 투여 후 4시간 내에 hypovolemic 상태에 따른 심혈관 shock에 의해 치사했다고 제시하고 있다.³⁰⁾ 본 실험에서 간의 glutathione 고갈이 증폭되어 간독성이 심화되었을 가능성, 혈류 감소로 인한 혈액 채취의 어려움, 흰쥐의 치사 전 상태의 육안적 관찰 결과 등은 상기 보고와 비슷하다. 따라서, ADH의 대사체들인 acrolein 및 acetaldehyde가 간독성을 일으켜 간이 울혈되어 일련의 과정을 거쳐 치사했을 가능성도 큰 것으로 사료된다. 그러나, 치사의 구체적 원인 및 표적 장기에 대해서는 앞으로 더 많은 연구가 수행되어야 하며 allyl alcohol과 ethanol 및 acrolein과 acetaldehyde의 ADH 및 ALDH 등 두 단계에서의 경쟁 반응을 확인하고 이에 의한 대사 변화가 독성 증가에 어떻게 영향을 미치는지를 규명하는 연구 등은 현재 본 연구실에서 진행 중이다.

문 헌

- 1) Butterworth, K. R., Carpanin F. M. B. and Dunnington, D.: The production of periportal necrosis by allyl alcohol in the rat. *Br. J. Pharmacol.* **63**, 353 (1978).
- 2) Belinsky, S. A., Bradford, B. U., Forman, D. T., Glassman, E. B., Felder, M. R. and Thurman, R. G.: Hepatotoxicity due to allyl alcohol in deermice depends on alcohol dehydrogenase. *Hepatology* **5**, 1179 (1985).
- 3) Patel, J. M., Wood, J. C. and Leibiman, K. C.: The biotransformation of allyl alcohol and acrolein in rat liver and lung preparations. *Drug. Metab. Dispos.* **8**, 305 (1980).
- 4) Mitchell, d. Y. and Peterson., D. R.: Metabolism of the glutathione-acrolein adduct, S-(2-aldehydeoethyl) glutathione, by rat liver lacohol and aldehyde dehydrogenase. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **251**, 193 (1989).
- 5) Ohno, Y., Ormstad, K., Ross, D. and Orrenius, S.: Mechanism of allyl alcohol toxicity and protective

- effects of low-molecular-weight thiols with isolated rat hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **78**, 169 (1985).
- 6) Belinsky, S. A., Badr, M. Z., Kauffman, F. C. and Thurman, R. G.: Mechanism of hepatotoxicity in periportal regions of the liver lobule due to allyl alcohol: studies on thiols and energy status. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **238**, 1132 (1986).
 - 7) Penttila, K. E.: Allyl alcohol cytotoxicity and glutathione depletion in isolated periportal and perivenous rat hepatocytes. *Chem. Biol. Interact.* **65**, 107 (1988).
 - 8) Marnello, A. J., Gurtoo, H. L., Struck, R. F. and Paul, B.: Denaturation of cytochrome p-450 by cyclophosphamide metabolites. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **83**, 1347 (1978).
 - 9) Wildenauer, D. B. and Oehlman, C. E.: Interaction of cyclophosphamide metabolites with membrane proteins: an *in vitro* study with rabbit liver microsomes and human red blood cells. *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 3535 (1982).
 - 10) Lam, C. W., Casanova, M. and Heck, H.: Depletion of nasal mucosal glutathione by acrolein and enhancement of formaldehyde-induced DNA-protein cross-linking by simultaneous exposure to acrolein. *Arch. Toxicol.* **58**, 67 (1985).
 - 11) Adams, J. D. and Klaidman, L. K.: Acrolein-induced oxygen radical formation. *Free Radical Biol. & Med.* **15**, 187 (1993).
 - 12) Badr, M. Z., Belinsky, S. A., Kauffman, F. C. and Thurman, R. G.: Mechanism of hepatotoxicity to periportal regions of the liver lobule due to allyl alcohol: role of oxygen and lipid peroxidation. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **238**, 1138 (1986).
 - 13) Maellaro, E., Casini, A. F., Bello, B. D. and Comporti, M.: Lipid peroxidation and antioxidant systems in the liver injury produced by glutathione depleting agents. *Biochem. Pharmacol.* **39**, 1513 (1990).
 - 14) Pompella, A., Romani, A., Benedetti, A. and Comporti, M.: Loss of membrane protein thiols and lipid peroxidation in allyl alcohol hepatotoxicity. *Biochem. Pharmacol.* **41**, 1255 (1991).
 - 15) Jaeschke, H., Kleinwaechter, C. and Wendel, A.: The role of acrolein in allyl alcohol-induced lipid peroxidation and liver cell damage in mice. *Biochem. Pharmacol.* **36**, 51 (1987).
 - 16) Miccadei, S., Nakae, D., Kyle, M. E., Gilfor, D. and Farber, J.: Oxidative cell injury in the killing of cultured hepatocytes by allyl alcohol. *Arch. Biochem. Biophys.* **265**, 302 (1988).
 - 17) Pulci, R., Moneta, D., Dostert, P., Brughera, M., Scampini, G., Castellino, S., Carminati, P. and Mazue, G.: An *in vivo/in vitro* study of allyl alcohol toxicity using enzyme inhibitors. *ALTA-Alternatives to Laboratory Animals* **21**, 38 (1993).
 - 18) Silva, J. M., and O'Brein, P. J.: Allyl alcohol and acrolein-induced toxicity in isolated rat hepatocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* **275**, 551 (1989).
 - 19) Lieber, C. S.: Pathways of ethanol metabolism and related pathology. in *Alcoholism: a molecular perspective*. ed. Palmer, T. N., 1-13, Pleum Press, N. Y. (1991).
 - 20) Morland, J., Bodd, E. and Gadeholt, G.: Interactions of ethanol and drug metabolism. in *Human metabolism of alcohol*, ed. Crow, K. E. and Batt, R. D., Vol. 3., 151-154, CRC press, N. Y. (1989).
 - 21) Retiman, S., and Frankel, S.: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *J. Clin. Pathol.* **28**, 56 (1957).
 - 22) Akerboom, T. P. M. and Sies, H.: Assay of glutathione and glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. in *Methods in enzymology*, ed. Packer, L. and Fleischer, S., Vol. 77., 373-382, Academic Press, N. Y. (1981).
 - 23) Griffith, O. W.: Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal. Biochem.* **106**, 207 (1980).
 - 24) Przybocki, J. M., Reuhl, K. R., Thurman, R. G. and Kauffman, F. C.: Involvement of nonparenchymal cells in oxygen-dependent hepatic injury by allyl alcohol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **115**, 57 (1992).
 - 25) Gumucio, J. J., Balabaud, C., Miller, D. L., DeMason, L. J., Appelman, H. D., Stoecker, T. J. and Franzblau, D. R.: Bile secretion and liver cell heterogeneity in the rat. *J. Lab. Clin. Med.* **91**, 350 (1978).
 - 26) Poulsen, H. E. and Korsholm, B.: Quantitative li-

- ver functions after administration of allyl alcohol to rats. *Acta Pharmacol. Toxicol.* **54**, 120 (1984).
- 27) Schwarzman, R. V., Infante, R., Raisonnier, A. and Caroli, J.: Prevention par l'alcool ethylique des hepatiques induites par l'alcool allylique. *C. R. Soc. Biol.* **12**, 2425 (1967).
- 28) Penttila, K. E., Makinen, J. and Lindros, K. O.: Allyl alcohol liver injury: suppression by ethanol and relation to transient glutathione depletion. *Pharmacol. Toxicol.* **60**, 340 (1987).
- 29) Reid, W. D.: Mechanism of allyl alcohol-induced hepatic necrosis. *Experientia* **28**, 1058 (1972).
- 30) Wright, P. B. and Moore, L.: Potentiation of the toxicity of model hepatotoxicants by acetaminophen. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **109**, 327 (1991).