

*Aus dem Institut für physiologische Chemie I der Universität  
und dem Diabetes-Forschungsinstitut an der Universität Düsseldorf*

## **Der Einfluß von Äthanol auf den Pyruvatabbau der Ratte**

*Von L. Helwig, H. Reinauer, S. Hollmann*

*Mit 4 Abbildungen und 1 Tabelle*

*(Eingegangen am 13. September 1972)*

Äthanol entfaltet seine Stoffwechselwirkung vorwiegend in der Leber, am Ort seines Hauptabbaues (*Leloir und Munoz, 1938*). Im Vordergrund der Leberwirkung steht die Überflutung des Organs mit Substratwasserstoff in Form von NADH bzw. NADPH, als deren Folge die Redoxquotienten in der Leberzelle (*Lundquist et al. 1962, Bütner 1961, Smith und Newmann 1959, Forsander et al. 1965 und 1966, Rawat 1969, Baron et al. 1969, Papenberg et al. 1970, Krebs 1971 u. a.*) und die Produktion von Acetaldehyd und Acetat ansteigen (*Lundsgaard 1938, Forsander et al. 1958, Forsander und Räihä 1960, Lundquist et al. 1962 u. a.*). Von den Reaktionsprodukten des Äthanolabbaues fallen NADH und Acetat bzw. Acetyl CoA auch bei der Pyruvatdehydrogenasereaktion an, weshalb ein verminderter Abbau von Pyruvat in Anwesenheit von Äthanol vermutet werden kann. Zur Frage dieses Zusammenhangs von Äthanolabbau und Pyruvatdehydrogenasehemmung liegen nur wenige Befunde vor (*Baron et al. 1969*), aus denen der Mechanismus einer solchen Hemmung nicht hervorgeht. In Abatmungsversuchen am Ganztier konnten *Segovia-Riquelme et al. (1956, 1962)* keinen Unterschied in der Abatmung von  $^{14}\text{CO}_2$  aus Pyruvat-1- $^{14}\text{C}$  bei Trinkratten und Kontrollen nachweisen.

Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, zu prüfen, ob unter dem Einfluß von Äthanol eine Abbauhemmung von Pyruvat bei Normal-, äthanoladaptierten und Thiaminmangelratten zustande kommt. Hierzu werden die Abatmung von  $^{14}\text{CO}_2$  aus Pyruvat-1- $^{14}\text{C}$  sowie die Aktivität und die Interkonvertierung der Pyruvatdehydrogenase in Herz, Leber und Gehirn gemessen.

### **Methode**

#### *I. Reagenzien*

Pyruvat-1- $^{14}\text{C}$  von der Firma The Radiochemical Centre, Amersham  
Äthanol p.a., Thiaminpyrophosphat, Äthylenglycolmonomethyläther, Äthanolamin, von der Firma Merck, Darmstadt  
Zitratsynthase (EC 4.1.3.7), Laktatdehydrogenase (EC 1.1.1.27), Phosphotransacetylase (EC 2.3.1.8), NAD, Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, Triäthanolamin, Oxalessigsäure, von der Firma Boehringer, Mannheim  
PPO (2,5-Diphenyloxazol), Bis-MSB (1,4-Bis[O-methylstyryl]benzol, Soluene® von der Firma Packard Instruments, Frankfurt.

## II. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht von 50–200 g. Für die Langzeitversuche wurden Wistar-Ratten bei einem Körpergewicht von 80 g eingesetzt. Diese Tiere erhielten in steigender Konzentration Äthanol als Trinkflüssigkeit, wobei innerhalb von 8 Tagen die Äthanolkonzentration auf 30% erhöht wurde. Die Tiere wurden über 10 Monate mit 30%igem Äthanol als Trinkflüssigkeit gehalten. Die Thiaminmangelversuche wurden in Käfigen durchgeführt, die eine Koprophagie einschränken. Als Diät erhielten die Tiere das Thiaminmangelfutter der Firma Nutritional Biochemicals Corporation, Cleveland, Ohio. Die Kontrolltiere erhielten gleiche Mengen Thiaminmangelfutter und zusätzlich Thiamin. Die Normaltiere wurden mit dem Futter der Firma Höveler (Langenfeld-Immigrath) und Wasser ad libitum ernährt.

## III. Versuchsablauf

Die Tiere wurden im Ätherrausch dekapitiert, die Organe entnommen und sofort in 0,154 M KCl-1mM EDTA-10mM Trispuffer, pH 7,4, mit dem Potter-Elvehjem-Homonogisator homogenisiert. Dieses 1:10 Homogenat wurde direkt für die Enzymaktivitätsmessungen der Pyruvatdehydrogenase (modifiziert nach Reinauer et al. 1968) eingesetzt.

Für die Bestimmung der Alkoholdehydrogenaseaktivität wurde das Organhomogenat in der Ultrazentrifuge (60' bei 100 000 x g) abzentrifugiert und der klare Überstand zur Aktivitätsmessung eingesetzt (Khout et al. 1963). Die Werte wurden auf g Frischgewicht oder aber auf lösliches Protein, bestimmt nach der Biuret-Methode, bezogen.

Die Abatmungsversuche wurden an Versuchstieren durchgeführt, die über Nacht gehungert hatten. Die Tiere wurden nach i. p. Injektion von 1  $\mu$ Ci Pyruvat-1-C<sup>14</sup> pro 100 g Körpergewicht in Stoffwechselkäfige gesetzt und die Atemluft kontinuierlich durch ein Gemisch von Äthanolamin-Methylcellosolve (1+1) gesaugt. Aliquot der Absorptionslösung wurde mit Diitol versetzt und die Zerfallsrate im Tricarb-Scintillationsspektrophotometer (Firma Packard) gemessen.

## IV. Enzymaktivitätsmessungen

Die Aktivitätsmessung der Pyruvatdehydrogenase erfolgte entweder direkt nach Homogenisieren der Organe Leber und Herzmuskel in 0,154 M KCl - 1 mM EDTA - 10 mM Trispuffer, pH = 7,4, oder nach Frierstopp. Die frierestoppten Organe wurden im Mörser unter flüssigem Stickstoff zerrieben, mit 40% Glycerin in 0,020 M Phosphatpuffer, pH = 7,0, mit dem Ultraturrax bei -10° C homogenisiert (Wieland und Siess, 1971) und entweder direkt oder nach 20' Vorkühlung bei 37° C mit 10 mM Mg<sup>++</sup>-Ionen auf Pyruvatdehydrogenaseaktivität untersucht.

## Ergebnisse

### I. Abatmungsversuche am Ganztier mit Pyruvat-1-<sup>14</sup>C

Die Versuchstiere erhielten 1  $\mu$ Ci Pyruvat-1-<sup>14</sup>C pro 100 g Körpergewicht intraperitoneal injiziert und wurden über 6 Stunden in Stoffwechselkäfigen gehalten. Untersucht wurden jeweils im Parallelversuch normalernährte Tiere, Thiaminmangeltiere sowie normalernährte Tiere, die über 10 Monate 30%iges Äthanol als ausschließliche Trinkflüssigkeit erhalten hatten. Die höchste Abatmung an <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> wurde bei den normalernährten Tieren gemessen (Abb. 1).

In einer zweiten Serie wurde den gleichen Tiergruppen zusätzlich 0,5 ml 50%iges Äthanol pro 100 g Körpergewicht intraperitoneal bei Beginn der Abatmung injiziert. Gegenüber dem vorhergehenden Versuch war

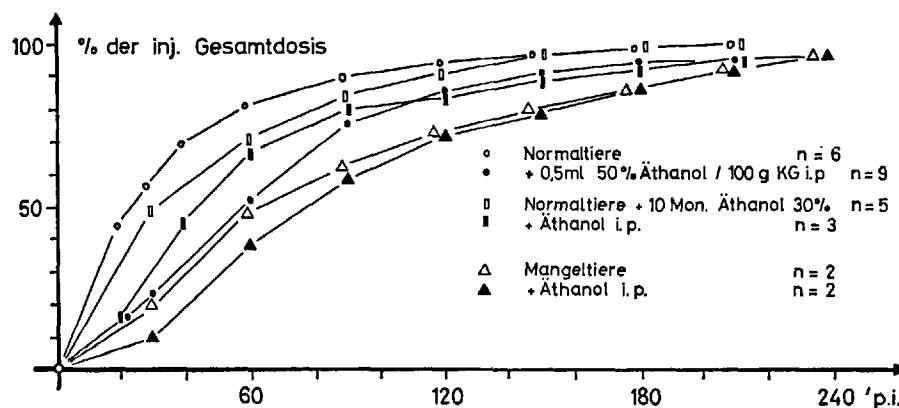


Abb. 1. Abatmung von  $^{14}\text{CO}_2$  nach i. p. Injektion von  $1 \mu\text{Ci}$  Pyruvat-1- $^{14}\text{C}$  in Normal-, Mangel- und Kontrolltieren.

die Abatmung in jeder Vergleichsgruppe deutlich verzögert, besonders eindrucksvoll bei den normalgefütterten Tieren, am geringsten ausgeprägt bei den äthanoladaptierten Tieren. Bei den Thiaminmangeltieren verzögerte die zusätzliche Äthanolinjektion den Pyruvatabbau signifikant nur in den ersten 2 Stunden (Abb. 1).

Aus den Untersuchungen folgt:

1. Tiere im Thiaminmangel bauen Pyruvat signifikant verminderd gegenüber normalgefütterten Tieren ab.
2. Unter einer Äthanolinjektion bauen normalernährte Tiere Pyruvat-1- $^{14}\text{C}$  verzögert ab.
3. Eine Äthanolinjektion hat bei Ratten, die längere Zeit 30%iges Äthanol als ausschließliche Trinkflüssigkeit erhalten haben, einen geringeren depressiven Effekt auf den Pyruvatabbau als bei normalernährten und an Äthanol nicht gewohnten Tieren.

## II. Aktivitätsmessung der Pyruvatdehydrogenase

Um die Ursache des verminderten Pyruvatabbaus zu klären, wurde die Aktivität der Pyruvatdehydrogenase sowie ihre Interkonvertierbarkeit untersucht.

### 1. Pyruvatdehydrogenaseaktivität bei äthanoladaptierten Tieren

Vergleicht man die Gesamtaktivität der Pyruvatdehydrogenase in den Organen Herz, Leber und Gehirn bei normalernährten und wassergetränkten Tieren und bei normalernährten, äthanoladaptierten Tieren (10 Monate lang 30%iges Äthanol), so findet man eine nicht signifikante Reduktion der Pyruvatdehydrogenaseaktivität im Herzmuskel, während der Unterschied in der Leber und im Gehirn signifikant gegenüber den Kontrolltieren ist. Ein signifikanter Anstieg der Enzymaktivität durch Vorinkubation mit Thiaminpyrophosphat konnte nicht nachgewiesen werden (Abb. 2).

Langdauernde Äthanolapplikation vermindert also die Gesamtaktivität der Pyruvatdehydrogenase in den drei untersuchten Organen. Die Aktivitätssteigerung durch Thiaminpyrophosphat war sowohl in den äthanoladaptierten als auch in den Kontrolltieren nicht signifikant.

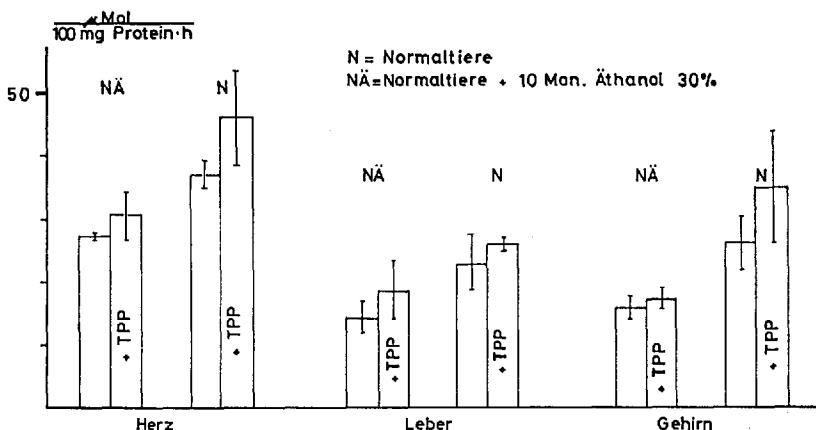


Abb. 2. Gesamtaktivität der Pyruvatdehydrogenase ( $\text{PDH}_{a+b}$ ) in Homogenat des Herzmuskels, der Leber und des Gehirns von Äthanoladaptierten und normalernährten Ratten.

## 2. Aktuelle und Gesamtaktivität der Pyruvatdehydrogenase unter einer einmaligen hohen Dosis von Äthanol

Die aktuelle Aktivität der Pyruvatdehydrogenase kann durch Interkonvertierung erhöht bzw. vermindert werden. Bei der Aktivierung der Pyruvatdehydrogenase durch die Pyruvatdehydrogenase-Phosphatase kommt der Magnesiumionenkonzentration *in vitro* eine entscheidende Rolle zu. Daher wurde in einer Serie von Vorversuchen der Einfluß von verschiedenen Magnesiumionenkonzentrationen auf die aktuelle Aktivität der Pyruvatdehydrogenase untersucht. Die Bestimmungen wurden an Normal- und Thiaminmangeltieren (im Stadium 4) in Herz, Leber und Gehirn mit und ohne Zugabe von Thiaminpyrophosphat durchgeführt. In Gegenwart von Thiaminpyrophosphat wurde, weitgehend unabhängig von der Magnesiumionenkonzentration, eine volle Aktivierung der Pyruvatdehydrogenase erreicht. Der Meßwert der Pyruvatdehydrogenase lag mit 10 mM  $\text{Mg}^{++}$ -Ionen und Thiaminpyrophosphat in allen Versuchen am höchsten. Zur Reduktion der interindividuellen Streuung wurde dieser Meßpunkt als 100 % angesetzt (Abb. 3). Die Befunde zeigen, daß die Pyruvatdehydrogenaseaktivität ohne Zusatz von Thiaminpyrophosphat im Bereich von 0 bis 20 mM  $\text{Mg}^{++}$ -Ionen angenähert eine logarithmische Funktion der  $\text{Mg}^{++}$ -Ionenkonzentration ist. Auffallend ist, daß die Steuerfunktion der  $\text{Mg}^{++}$ -Ionen in den von uns gemessenen Bereichen von einem Thiaminpyrophosphat-Überschuß jederzeit überspielt werden kann und dann zur vollen Aktivität führt. Dieser Effekt bedarf noch der weiteren Klärung.

In einer weiteren Versuchsreihe wurden die Aktivität der  $\text{PDH}_a$  und die Gesamtaktivität ( $\text{PDH}_{a+b}$ ) der Pyruvatdehydrogenase untersucht (Tab. 1). Äthanol vermindert in der Leber von Normaltieren die Aktivität der  $\text{PDH}_a$  signifikant. In äthanoladaptierten Tieren ist der prozentuale Anteil der  $\text{PDH}_a$  an der Gesamtaktivität noch niedriger. Im Herzmuskel von äthanolvorbehandelten Versuchstieren ist die aktuelle Pyruvatdehydrogenaseaktivität gegenüber den Kontrollen nicht signifikant verändert.

In einer weiteren Versuchsserie wurde die Aktivität der Pyruvatdehydrogenase mit und ohne Thiaminpyrophosphatzusatz jeweils bei 1 und

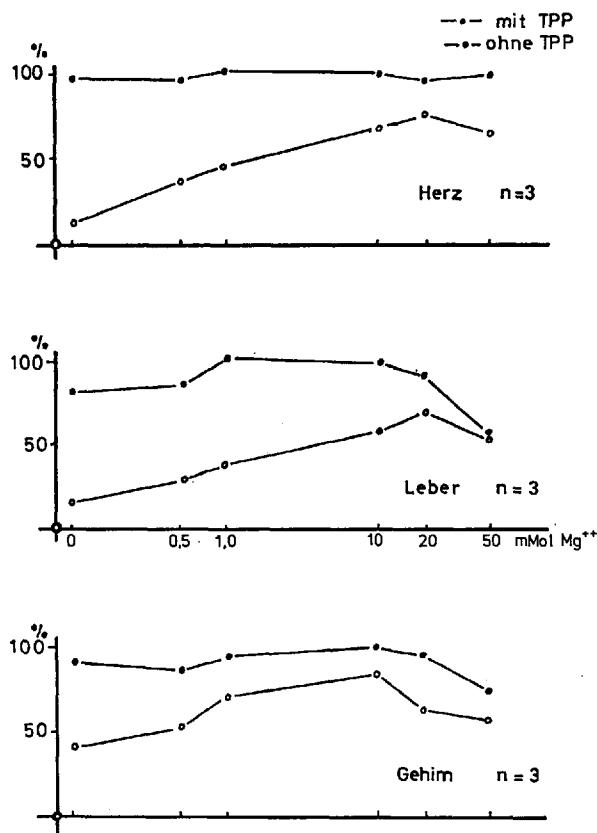


Abb. 3. Aktivität der Pyruvatdehydrogenase in Thiaminmangeltieren mit und ohne Vorinkubation mit Thiaminpyrophosphat ( $10^{-4}$  M) in Gegenwart von verschiedenen  $Mg^{++}$ -Konzentrationen.

10 mM Magnesiumionenkonzentration zu verschiedenen Zeiten nach Äthanolgabe gemessen. Zur Untersuchung kamen Normaltiere und Thiaminmangeltiere im Stadium IV des Mangelzustandes. Zu jedem Meßzeitpunkt wurden gleichzeitig Herz, Leber und Gehirn von 4 Tieren aufgearbeitet, nämlich von einem Normaltier (N), einem Normaltier, dem 0,5 ml einer 50%igen Äthanolösung pro 100 g Körpergewicht intraperitoneal injiziert worden waren (NA), von einem Thiaminmangeltier (M) sowie von einem Thiaminmangeltier, dem Äthanol in gleicher Dosis und Art wie oben beschrieben appliziert worden war (MÄ). Zwischen den Werten von N und NA sowie von M und MÄ konnten somit für jeden Meßpunkt Paardifferenzen gebildet werden, die dann auf die jeweiligen Absolutwerte bezogen wurden.

Abb. 4 zeigt die Mittelwerte der Paardifferenzen aller 4 Meßwerte (1 mM  $Mg^{++}$ -Ionen mit und ohne Thiaminpyrophosphat, 10 mM  $Mg^{++}$ -Ionen mit und ohne Thiaminpyrophosphat) unter Angabe der Vertrauensgrenzen. Normaltiere zeigen demnach eine deutliche Depression der direkt meßbaren Pyruvatdehydrogenaseaktivität ab der vierten Stunde nach

Tabelle 1. Aktuelle Aktivität (PDHa) und Gesamtaktivität (PDHa+b) der Pyruvatdehydrogenase in Normaltieren ohne und mit Äthanolvorbehandlung im Vergleich zu äthanoladaptierten Tieren nach Äthanolgabe. Äthanol (0,5 ml 50% Äthanol/100 g Körpergewicht) wurde 4 Std. vor der Aktivitätsmessung i. p. injiziert

	n	Leber		PDHa + b	
		PDHa mU/mg Protein	mU/g F. G.	mU/mg Protein	mU/g F. G.
1. Normaltiere	6	1,31*+ ± 0,21	275**+ ± 55,1	6,3** ± 0,95	1322* ± 248
2. Normaltiere + Äthanol	6	1,037*° ± 0,120	222*° ± 32,6	4,00** ± 0,387	860* ± 142
3. Äthanoladaptierte Tiere + Äthanol	5	0,794*° ± 0,176	157*° ± 53,2	5,15*° ± 0,527	1005 ± 222
Herzmuskel					
	n	PDHa mU/mg Protein	mU/mg F. G.	PDHa + b mU/g Protein	mU/g F. G.
		6,25 ± 1,01	938 ± 115	21,6* ± 4,5	2990* ± 281
2. Normaltiere + Äthanol	6	5,63° ± 0,461	832° ± 79,3	15,6** ± 3,8	2313** ± 615
3. Äthanoladaptierte Tiere + Äthanol	5	7,708° ± 0,959	1104° ± 131	22,1° ± 2,5	3168° ± 340

Werte:  $\bar{x} \pm s_x$

\*  $p < 0,05$  zwischen 1 und 2

+  $p < 0,025$  zwischen 1 und 3

°  $p < 0,025$  zwischen 2 und 3

Äthanolinjektion in der Leber mit Gipfel nach fünfeinhalb Stunden. Die Pyruvatdehydrogenaseaktivität wird in Herz und Gehirn dagegen erst ab fünfeinhalb Stunden deutlich gemindert, erreicht nur das halbe Ausmaß der Aktivitätsdepression in der Leber. In den mangelfutterernährten Tieren ist die Aktivitätsänderung der Pyruvatdehydrogenase analog.

### Diskussion

Die Wirkung von chronisch verabreichtem Äthanol auf den Pyruvatabbau ist zu unterscheiden von einer einmaligen Äthanoldosis bei Normaltieren.

Versuchstiere, die über mehrere Monate Äthanol als Trinkflüssigkeit erhielten, zeigten einen nur geringgradig verminderten Abbau von Pyruvat. Entsprechend war die Pyruvatdehydrogenasegesamtaktivität in Leber, Herz und Gehirn nur geringgradig gegenüber den Kontrollen vermindert. Auch eine einmalige hohe Äthanoldosis bewirkte in diesen äthanoladaptierten Tieren eine im Verhältnis zu Kontrollen nur geringe Minderung des Pyruvatabbaues.

Eine einmalige hohe Äthanoldosis hat bei Normal- wie auch bei Vitamin-B<sub>1</sub>-Mangeltieren hingegen einen deutlich verminderten Pyruvat-

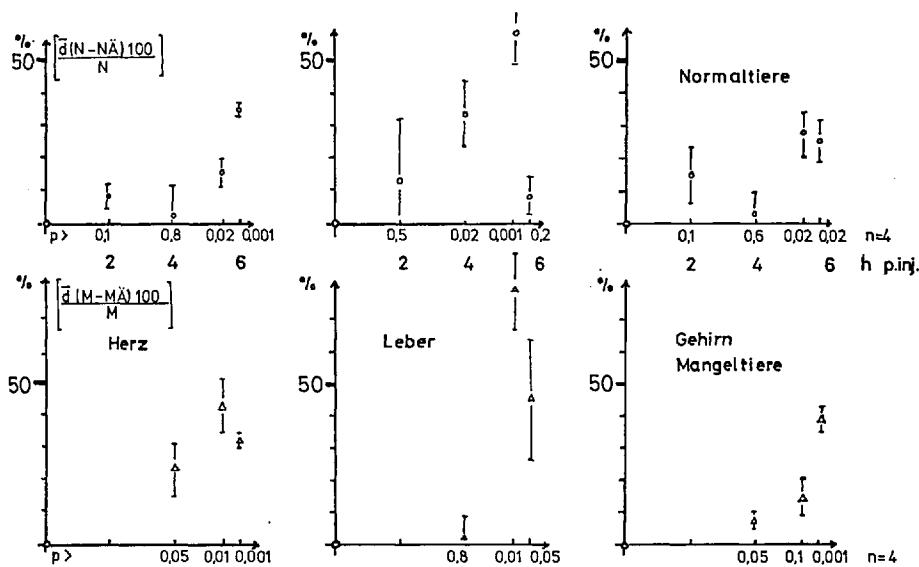


Abb. 4. Paardifferenzen der Pyruvatdehydrogenaseaktivität in Äthanolbehandelten Normal- und Mangeltieren gegen un behandelte Tiere der entsprechenden Serie. Berechnung: z. B.  $\frac{\bar{d}(N-N\ddot{A}) 100}{N}$  · 100 · Zahl der Versuche.

abbau zur Folge. Entsprechend war bei diesen Gruppen nach einer einmaligen Äthanol dosis die Pyruvatdehydrogenaseaktivität (PDH<sub>a</sub>) gegenüber den Kontrollen erniedrigt, und zwar in der Leber früher und ausgeprägter als im Herzmuskel und im Gehirn.

Als Ursachen für die Aktivitätsminderung der Pyruvatdehydrogenase kommen in Betracht: Anstau von Reaktionsendprodukten u. a. NADH, Mangel an Thiaminpyrophosphat, Bildung von Hemmstoffen der Pyruvatdehydrogenase (Acetoin, 4-Keto-5-hydroxyhexansäure), Interkonvertierung der Pyruvatdehydrogenase.

Aus mehreren Untersuchungen, insbesondere an der isoliert perfundierten Leber, geht hervor, daß die Überflutung der Leber mit NADH bei der äthanolbedingten Stoffwechselstörung in den Mittelpunkt der Betrachtung gestellt werden muß (Lieber, 1967; Krebs et al., 1969; Krebs und Perkins, 1970; Forsander et al., 1965). NADH erhöht den Redoxquotienten Lactat/Pyruvat (Forsander et al. 1965; Forsander, 1966; Rawat, 1969; Schimassek et al. 1971) und vermindert hierdurch das Substratangebot für die Pyruvatdehydrogenase. NADH (Hansen und Henning, 1966; Schwarz et al. 1968) und Acetyl-CoA (Garland und Randle, 1964) hemmen die Pyruvatdehydrogenase. Der Gehalt an Acetyl-CoA ist in der Leber unter Äthanol nach Rawat (1968) vermindert, nach Bode et al. (1971) erhöht. Nach den Untersuchungen von Linn et al. (1969) sowie Wieland et al. (1971 und Wieland und Siess (1969, 1970) kann die Aktivität der Pyruvatdehydrogenase in der Leber durch Interkonvertierung regulatorisch verändert werden. Die regulatorischen Größen in der intakten Zelle sind unbekannt. Auf Grund von Versuchen *in vitro* wurden in Betracht gezogen: Pyruvat, Mg<sup>++</sup>, cycl. AMP, CoA, Acetyl CoA, Adeninnukleotide, Citratcyclusmetabolite

(Reed et al. 1970; Wieland et al. 1970; Gessner et al. 1971; Reinauer und Müller-Ruchholtz 1972). Unter Äthanol wird die aktuelle Aktivität der Pyruvatdehydrogenase in der Leber signifikant vermindert, wobei die Gesamtaktivität des Enzyms nur geringgradig herabgesetzt ist. Der Anstoß zur Umwandlung der Pyruvatdehydrogenase in eine inaktive Form könnte von den Quotienten NADH/NAD, Acetyl-CoA/CoA oder von ATP/ADP ausgehen; aus den vorliegenden Befunden kann hierzu keine Stellung genommen werden.

Die Bedeutung von Magnesiumionen zur Interkonvertierung ist in den Vorversuchen angeklungen. Eigentümlicherweise wird der Effekt durch einen Überschuß an Thiaminpyrophosphat überdeckt, obwohl in der Thiaminpyrophosphatlösung keine Magnesium- oder Calciumionen enthalten sind. Dieser Effekt, d. h. der Einfluß von Thiaminpyrophosphat auf die Interkonvertierung der Pyruvatdehydrogenase, wurde auch von Koike und Mitarb. (pers. Mitteilung) gefunden und bedarf noch der endgültigen Deutung.

Kondensationsprodukte, die sich aus Acetyldehyd und Pyruvat bzw.  $\alpha$ -Ketoglutarat unter der Wirkung der Pyruvatdehydrogenase bzw.  $\alpha$ -Ketoglutaratdehydrogenase bilden, kommen als Hemmstoffe des Pyruvatabbaus *in vivo* kaum in Betracht (Bloom et al. 1966).

Der Zusammenhang zwischen Thiaminmangel und Alkoholismus ist sicher sehr komplex. Bei äthanoladaptierten normalernährten Ratten konnte kein Thiaminmangel festgestellt werden. Diese Tiere überlebten in unseren Versuchen den Thiaminmangel länger als die mit Wasser getränkten Tiere.

Faßt man die Befunde zusammen, so läßt sich der verminderte Abbau von Pyruvat nach Äthanolgabe durch eine Hemmung der aktuellen Pyruvatdehydrogenaseaktivität in der Leber erklären, wobei vermutlich die Interkonvertierung und die Endprodukthemmung der Pyruvatdehydrogenase eine Rolle spielen. Langfristig mit Äthanol behandelte Tiere zeigen keine Abbauhemmung von Pyruvat unter Äthanol. Der Abbau von Äthanol erfolgt in diesen adaptierten Tieren schneller, möglicherweise unter Einbeziehung des mikrosomalen Systems, denn eine Aktivitätssteigerung der Alkoholdehydrogenase in der Leber konnte hier nicht nachgewiesen werden. Die Aktivitätsminderung der PDH<sub>a</sub> war aber auch in diesen Tieren signifikant nachweisbar. Im Thiaminmangelzustand schließlich ist der Abbau von Äthanol im Vergleich zu den Kontrolltieren nicht eingeschränkt. Die Konkurrenz von Äthanol- und Pyruvatabbau ist auch in diesen Tieren nachweisbar.

#### Zusammenfassung

Der Abbau von Pyruvat wird in normalernährten, in äthanoladaptierten und Thiaminmangel-Ratten vor und nach einer Äthanolinjektion untersucht.

1. Die Abatmung von  $^{14}\text{C}_2$  aus Pyruvat-1- $^{14}\text{C}$  wird durch Äthanol in Normal- und Thiaminmangeltieren verzögert. In äthanoladaptierten Ratten ist dieser Effekt geringer.
2. Die aktuelle Pyruvathydrogenaseaktivität in der Leber von äthanoladaptierten Ratten ist nicht signifikant reduziert. 4 Std. nach einer Äthanolinjektion ist die aktuelle Pyruvatdehydrogenaseaktivität in Normaltieren und äthanoladaptierten Tieren signifikant vermindert.

3. Die Gesamtaktivität der Pyruvatdehydrogenase ist unter Äthanol in den Organen Herz, Leber, Gehirn nicht vermindert.
4. Hohe Thiaminpyrophosphat-Konzentrationen aktivieren die Pyruvatdehydrogenaseaktivität auch bei niederen  $Mg^{++}$ -ionenkonzentrationen.

#### Literatur

Baron, P., G. Griffaton, R. Lowy, Food Cosmet. Toxic. 7, 309 (1969). – Bloom, R. J., W. W. Westerfeld, Biochemistry 5, 3204 (1966). – Bloom, R. J., P. G. Fuller, J. G. Westerfeld, W. W. Westerfeld, Biochemistry 5, 3211 (1966). – Bode, Ch., Chr. Bode, H. Goebell, H. Kono, G. A. Martini, On the independence of the ethanol-induced triglyceride accumulation in the liver from metabolic changes due to the oxidation of ethanol in the liver. In: G. A. Martini and Ch. Bode (Eds), Metabolic changes induced by alcohol, p. 133–142 (New York-Berlin-Heidelberg 1971). – Bütner, H.: Biochem. Z. 341, 300 (1965). – Forsander, O. A., Biochem. J. 98, 244 (1966). – Forsander, O. A., N. C. R. Rähä, J. biol. Chem. 235, 34–36 (1960). – Forsander, O. A., P. H. Mäenpää, M. P. Salaspuro, Acta Chem. Scand. 19, 1770 (1965). – Gessner, B., E. R. Müller-Ruchholtz, H. Reinauer, Z. physiol. Chemie 353, 707–708 (1972). – Hansen, R. C., H. Henning, Biochim. Biophys. Acta 122, 355 (1966). – Jacobsen, E., Pharmacol. Revs. 4, 107 (1952). – Khouw, L. B., N. Burbridge, V. C. Sutherland, Biochim. Biophys. Acta 73, 173 (1963). – Krebs, H. A., Advances Enzyme Regulat. 6, 467 (1968). – Krebs, H. A., J. R. Perkins, Biochem. J. 118, 635 (1970). – Krebs, H. A., Effects of ethanol on gluconeogenesis. In: G. A. Martini and Ch. Bode (Eds.), Metabolic changes induced by alcohol, p. 152–156 (New York-Berlin-Heidelberg 1971). – Leloir, L. F., J. M. Munoz, Biochem. J. 32, 299 (1938). – Lieber, C. S., Alcohol fatty liver, hyperlipemia and hyperuricemia. In: R. P. Maickel, Biochemical factors in alcoholism, 167 (London 1967). – Linn, T. C., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 62, 234 (1969). – Lundquist, F., N. Tygstrup, K. Winkler, K. Mellemgaard, S. Munck-Petersen, J. Clin. Invest. 41, 955 (1962). – Lundsgaard, E., Bull. John Hopkins Hosp. 63, 90–103 (1938). – Papenberg, J., J. O. v. Wartburg, H. Aebi, Enzym. Biol. Clin. 11, 237 (1970). – Rawat, A. K., Europ. J. Biochem. 6, 585–592 (1968). – Rawat, A. K., European J. Biochem. 9, 93 (1969). – Reed, L. J., T. C. Linn, F. Hucho, G. Nami-hira, C. R. Barrera, T. E. Roche, J. W. Pelley, D. D. Randall, Molecular aspects of the regulation of the mammalian pyruvate dehydrogenase complex. 6. Konf. Ges. Deutscher Ärzte, Rottach-Egern, 1971. – Reinauer, H., Habilitationsschrift (Düsseldorf, 1968). – Reinauer, H., G. Grassow, S. Hollmann, Z. physiol. Chemie 349, 969 (1968). – Reinauer, H., E. R. Müller-Ruchholtz, Z. physiol. Chemie 353, 1561 (1972). – Schimassek, H., A. K. Walli, G. Höfer, The effect of alcohol on the Embden-Meyerhof-Parnas-Pathway in the liver. In: G. A. Martini und Ch. Bode (Eds.), Metabolic changes induced by alcohol, p. 157–165 (New York-Berlin-Heidelberg 1971). – Segovia-Riquelme, N., J. J. Vitale, D. M. Hegsted, J. Mardones, J. biol. Chem. 223, 399 (1956). – Segovia-Riquelme, N., I. Campos, W. Solodkowska, G. González, R. Alvarado, J. Mardones, J. biol. Chem. 237, 2038 (1962). – Siess, E., O. Wieland, Z. physiol. Chemie 353, 758–759 (1972). – Smith, M. E., H. W. Newmann, J. biol. Chem. 234, 1544 (1959). – Wieland, O., E. Siess, Z. physiol. Chemie 350, 1160 (1969). – Wieland, O., E. Siess, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 65, 947 (1970). – Wieland, O., E. Siess, F. H. Schulze-Wethmar, H. G. v. Funcke, B. Winton, Arch. Biochem. Biophys. 143, 593 (1971).

#### Anschrift der Verfasser:

Diabetes-Forschungsinstitut, 4000 Düsseldorf-Benrath, Hospitalstraße 1