

La valoración de ADH como índice de afectación alcohólica: I Estudio experimental

M. REPETTO*, P. SANZ**, P. VILLAR***

RESUMEN

Al ser la ADH la enzima principalmente responsable del metabolismo etanólico, se ha intentado establecer una correlación entre su actividad y el consumo de alcohol.

Se ha puesto a punto la determinación de la actividad de la ADH tanto en hígado como en suero de rata, utilizando como sustrato alcohol etílico en exceso y NAD como cofactor y sometiendo suero y extractos a un calentamiento previo con el fin de mejorar el rendimiento de la reacción enzimática.

El método se ha aplicado para la valoración de la ADH en ratas alcohólicas y se ha visto un aumento de dicha actividad tanto en hígado como en suero. Asimismo se ha establecido la correlación entre la ingesta de alcohol y la ADH sérica en conejos. Se ha comparado con otros parámetros bioquímicos utilizados en clínica para el diagnóstico de alcoholismo crónico (GOT, GPT, GGT). Se propone también el uso del cociente ADH/GGT propuesto por nosotros comparándolo con el cociente GGT/GOT.

PALABRAS CLAVE: Alcoholismo, alcoholdehidrogenasa.

SUMMARY

Alcoholdehydrogenase is the main enzymatic activity involved in alcohol metabolism. We have thus intended to correlate this activity with alcohol intake.

The determination of ADH in rat serum or rat liver homogenate has been carried out using an excess of ethanol as substrate and NAD as coenzyme. Serum or liver homogenates are previously heated to increase the rate of enzyme activity.

This method has been applied to determine ADH in alcoholic rats where this activity has appeared increased both in serum and liver. We have also established a correlation between alcohol intake and serum ADH in rabbits. ADH activity is compared with GOT, GPT and GGT. We suggest the use of ADH/GGT better than GGT/GOT.

KEY WORDS: Alcoholdehydrogenase, alcoholism.

* Director del Instituto Nacional de Toxicología. Sevilla. Profesor titular de Toxicología. Universidad de Sevilla; ** Jefe de la Sección de Biología del mismo Instituto; *** Facultativo del mismo Instituto.

Dirección: Apartado Postal 863 - 41080-SEVILLA.

Recibido: 20-1-85.

Introducción

Cabía pensar que la actividad de la enzima alcoholdehidrogenasa (ADH) fuese un parámetro de especial interés en la clínica del alcoholismo, ya que, a pesar de que su especificidad para el etanol no es absoluta, es la enzima principalmente implicada en el metabolismo etanólico.

Esta enzima, que se halla abundantemente repartida en el organismo, funciona especialmente en hígado, y su nivel sérico, en condiciones basales, es muy bajo; podría esperarse que el consumo repetido de alcohol indujese un aumento de esta actividad enzimática, no solamente en hígado, sino también en suero. Este incremento puede tener dos orígenes, una inducción enzimática directa o un vertido a la sangre por lesión del hepatocito.

En los últimos años se han publicado varios trabajos (di Simone y cols., 1973; Gro-masheoskaya y cols., 1976 y Wolf, 1979) tratando de considerar la ADH como parámetro de función hepática, y dos estudios (Abe, 1961, en ratas, y Bogusz, en humanos, 1969) que la relacionan con el alcoholismo. Sin embargo, las dificultades analíticas parecen impedir la generalización de la prueba.

Por estas razones, nosotros hemos abordado un programa de trabajo consistente en: 1) Puesta a punto de la técnica analítica para determinación de ADH en diferentes tejidos animales; 2) determinación de la correspondencia entre los valores de ADH en hígado y suero de animales tratados; 3) estudio de la correlación entre los valores de ADH y la ingesta de alcohol; 4) comparación de los niveles de ADH con los de GGT y el cociente GGT/GOT, parámetros bioquímicos considerados en la clínica del alcoholismo.

Material y métodos

a) Método analítico

Para la valoración de ADH en hígado se ha seguido el método de Theorell y Bonnischen (1951) basado en la determinación espectrofotométrica de 340 nm. del NAD reducido en tres minutos, a pH 9'6, en presencia de exceso de etanol.

La mezcla de reacción contiene:
2'3 ml. de tampón glicina-NaOH, 0'1 M, pH 9'6
0'1 ml. de solución de NAD (10 mg/ml)
0'1 ml. de etanol 96%

0'5 ml. de extracto hepático

El extracto hepático se prepara mediante homogeneización con ClNa 0'85% en dos veces el volumen. Se deja en maceración hasta el día siguiente y se centrifuga 15' a 5.000 rpm.

Al aplicar este método a la determinación de ADH en suero se encontraron valores muy bajos, por lo que, siguiendo a Carter e Isvelbacher (1977), se incrementó la actividad enzimática mediante un calentamiento de la mezcla de reacción a 50° C durante 5 minutos, antes de añadir el etanol.

La actividad enzimática se expresa en μ moles de NAD reducido por mg. de proteínas de la muestra por minuto.

El contenido proteico de la muestra se valoró con el método de Lowry (1951).

b) ADH en hígado y suero de rata alcohólica

Se ha trabajado con ratas Wistar descendientes de parejas alcohólicas y que desde el destete han recibido como única bebida una solución alcohólica al 5%, *ad libitum*, al igual que la comida.

Los animales adultos se sacrificaron por decapitación previa extracción de sangre.

Se determina ADH en hígado y suero según se especifica en el apartado a) y además se valora en suero GGT (Szasz, 1974), GPT y GOT (Reitman y Frankel, 1957).

c) Correlación de ADH en suero y la ingesta de alcohol

Este estudio se ha realizado con distintos grupos de conejo neozelandés; antes de comenzar la administración de alcohol a los animales se efectuaron periódicas determinaciones hasta comprobar estabilización de los parámetros séricos con la edad.

El alcohol se administró en el agua de bebida al 15%, *ad libitum*. Al final de la experimentación se sacrificaron los animales, se procedió a su autopsia y se determinó ADH en hígado, corazón, riñón y suero.

Resultados

1) ADH en hígado y suero de rata alcohólica

Utilizando el método analítico detallado en el apartado a) de Material y Métodos se valoró la ADH de extractos hepáticos y suero de

TABLA I
Parámetros bioquímicos en suero y extracto de hígado de rata

Tratamiento	Hígado		Suero		
	ADH	ADH	GGT	GOT	GPT
Blanco	1'06±0'71	0'11±0'02	3'24±0'80	88'30±11'02	33'14±8'32
Alcohol	2'71±0'95	0'54±0'03	8'30±1'40	67'04±11'25	28'07±7'40

TABLA II
ADH en distintos órganos de conejo alcohólico en estado cirrótico

Tratamiento	ADH				
	HIGADO	CORAZON	RIÑON	SUERO	
Normal	27'60	7'31	16'21	0'290	
Alcohol I	12'88	5'46	3'73	0'068	
II	18'47	4'02	4'10	0'170	
III	17'96	4'60	5'17	0'068	

ratas alcohólicas. Los resultados obtenidos aparecen en la tabla I, junto a los de GGT, GOT séricas. Puede apreciarse un aumento de la ADH tanto en hígado como en suero.

2) Correlación de ADH de suero e ingesta alcohólica

La figura 1 muestra la evolución de la ADH y GGT séricas a lo largo de un período de dos años en los que se sometieron los conejos a una dieta de alcohol en el agua de bebida; esta administración se interrumpió tres veces para comprobar el efecto.

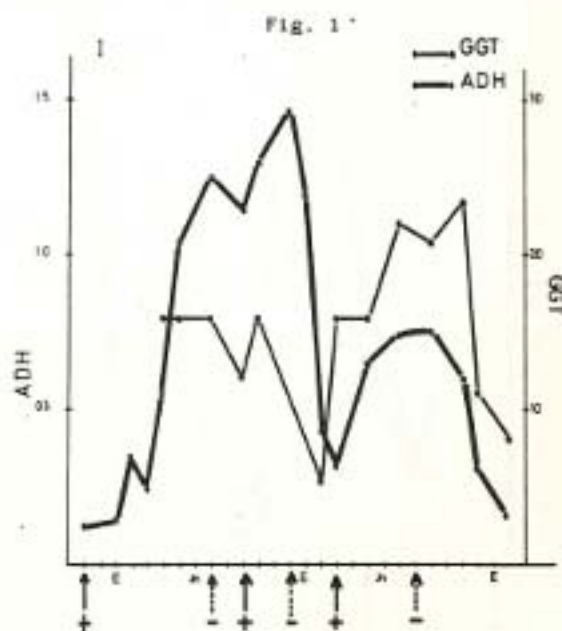
Puede observarse que tanto la ADH como la GGT fluctúan de acuerdo con la ingesta de alcohol.

Esta misma correlación puede verse en la figura 2, donde se repitió el experimento con dos lotes más de conejos de distinta procedencia y durante períodos de experimentación más cortos.

Puede verse, además, en esta figura un desfase entre la aparición en suero de valores elevados de ADH y GGT, apareciendo los primeros más precozmente.

En la figura 3 encontramos los valores correspondientes a las transaminasas oxalacética y pirúvica séricas del mismo lote de conejos de la figura 1. Se aprecian fluctuaciones acusadas que no siempre se relacionan con la ingesta de alcohol.

Por último, en la figura 4 aparece la comparación entre el índice GGT/GOT, de amplio uso en clínica del alcoholismo, y ADH/GGT, que nosotros proponemos.



El índice GGT/GOT no se corresponde con los períodos de ingesta o privación de alcohol, y parece que aumenta, con fluctuaciones a lo largo del tiempo.

El índice ADH/GGT evoluciona dependiendo de la ingesta de alcohol, si bien su valor se mantiene más bajo al final del período de experimentación.

La autopsia puso de manifiesto cirrosis hepática y afectación renal que se corresponden con valores bajos de ADH en hígado, corazón, riñón y, en consecuencia, también en suero (tabla II).

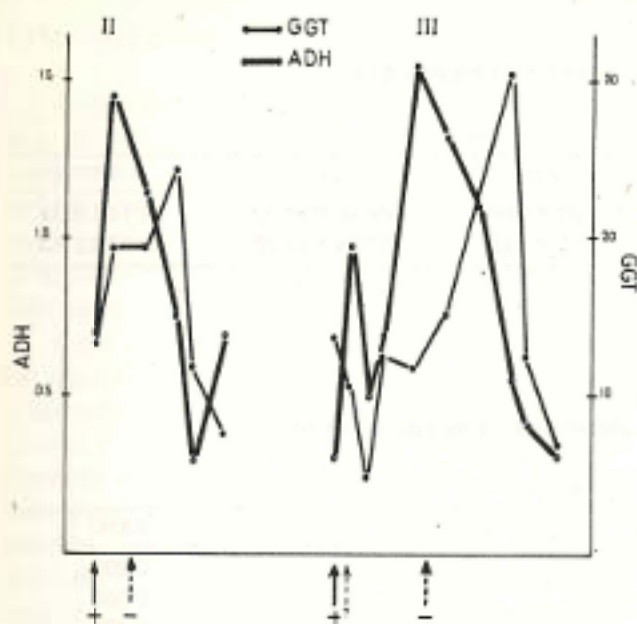


Fig. 2

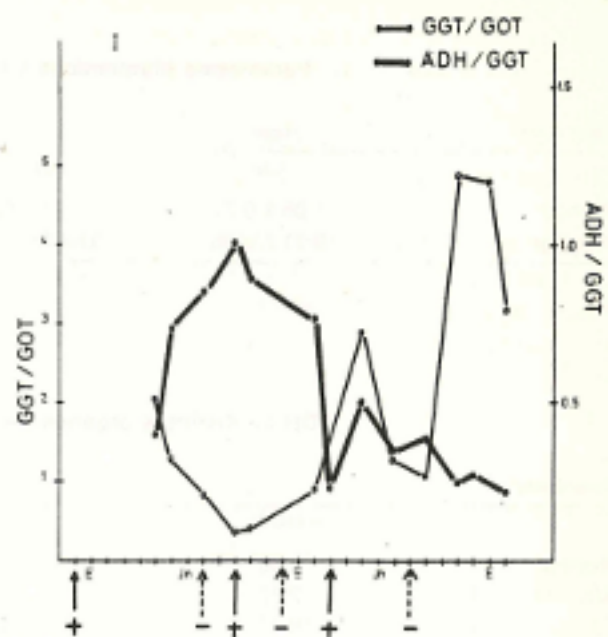


Fig. 4

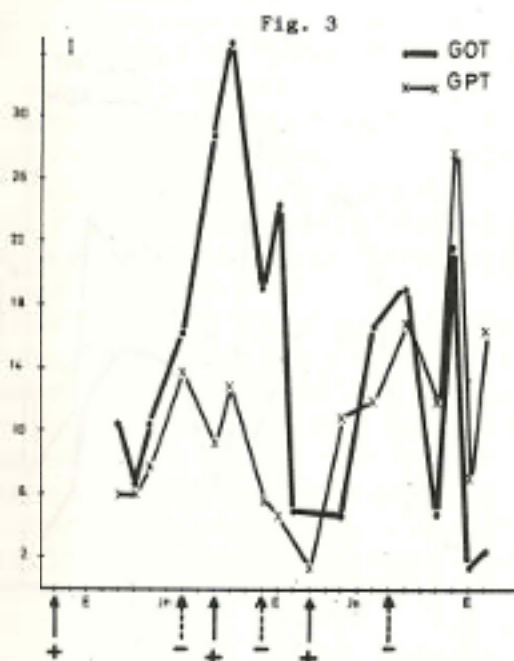


Fig. 3

Por otra parte, en conejos sometidos a bebida con alcohol, vemos que la ADH se correlaciona mejor que otros parámetros (GGT, GOT, GPT) con la ingesta.

También se corresponde más directamente con la toma de alcohol el cociente que nosotros proponemos ADH/GGT que el GGT/GOT. Sin embargo, como hemos señalado al comentar las figuras 1 y 4, tanto la ADH como el cociente ADH/GGT fueron más bajos al final de la experimentación que al principio. Nosotros interpretamos este hecho como consecuencia de un mayor daño orgánico. Debido al deterioro de los parénquimas sus niveles enzimáticos son menores y es menor, en consecuencia, el vertido de enzimas a la sangre. Esto se confirmó en la autopsia de los animales que presentaban avanzada cirrosis hepática.

Por todo lo expuesto pensamos que puede ser de gran interés el incluir la determinación de la enzima ADH y el cociente ADH/GGT en la bioquímica sérica del alcoholismo.

Discusión

De los resultados obtenidos en la experimentación con rata alcohólica podemos deducir que la ADH aumenta considerablemente (unas 3 veces en hígado y 5 en suero). Aparece una inducción en hígado que se corresponde con el contenido en suero, por lo que pensamos que sea posible utilizar la medida de ADH en el seguimiento del alcoholismo crónico.

BIBLIOGRAFIA

- ABE, N. (1961): «Dehydrogenase activity in alcohol habituated rats», *Tohoku Med. J.*, 64, 267-279.
- BOGUSZ, M.; GALLUS, H., y CHLIPALSKI, J. (1969): «Serum enzymes and liver tests in chronic alcoholism», *Pol. Tyg. Lek.*, 24 (34), 1306-8.
- CARTER, E. A., e ISVELBACHER, K. J. (1977): «Effect of temperature on the assay of hepatic ADH», *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 155 (3), 290-5.

- DI SIMONE, A.; RIEGLER, G.; ORIANI, G. A., y COLTORI (1973): «L'alcool deidrogenasi sierica nelle epatopatie», *Il Fegato*, 19, 3.
- GROMASHEOSKAYA, L. L.; TAT'YANKO, N. V., y KOTLOVA, V. G. (1976): «Blood serum ADH in the diagnosis of acute and chronic liver disease», *Sov. Med.*, 5, 20-30.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L., y RANDALL, R. J. (1951): *J. Biol. Chem.*, 193, 265. En: *Biochemistry Laboratory Technique*, John Wiley and Sons, New York (1966).
- REITMAN, S., y FRANKEL, S. (1957): *Am. J. Clin. Path.*, 28, 56.
- SZASZ E.M., G. (1974): *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.*, 12, 228.
- THEORELL, H., y BONNISCHEN, R. K. (1951): *Acta Chem. Scand.*, 5, 1.105. En: «Methods in Enzymology», vol. I, Colowick-Kaplan, Acad. Press.
- WOLF, C. (1979): «Interés de la determinación de enzimas plasmáticas en el curso de las hepatopatías», *La Vie Médicale*, 10 (104), 64-66.