

BASES BIOQUIMICAS DE LA TOXICIDAD DEL ALCOHOL: IMPORTANCIA DEL ACETALDEHIDO

Dra. CONSUELO GUERRI SIRERA*

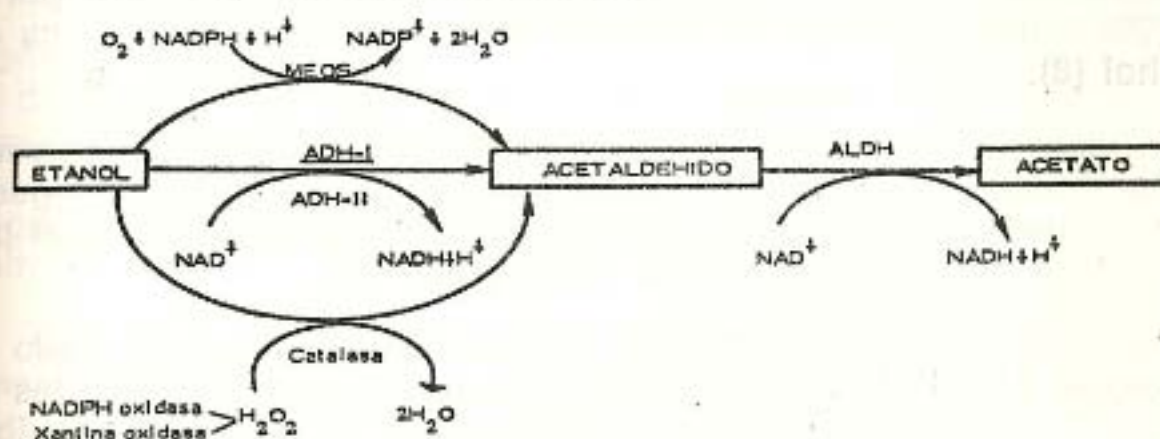
* Instituto de Investigaciones Citológicas. Valencia.

METABOLISMO DEL ETANOL

Desde los clásicos estudios de Widmark (1) se sabe que el alcohol se absorbe rápidamente (20 % en el estómago y el resto en el intestino). Sólo un 2-10 % se elimina inmodificado por la orina, respiración y sudor; el resto es oxidado completamente a CO_2 y H_2O con producción de energía (7.1 Kcal/gr.).

Aunque el alcohol difunde rápidamente a todos los tejidos y a pesar de que algunas enzimas capaces de oxidar el etanol pueden ser detectadas en otros órganos, el hígado es el principal responsable de su oxidación (90 %) (2). La oxidación ocurre en 2 pasos, de etanol a acetaldehído y de acetaldehído a acetato.

Figura 1. — Vías de oxidación del etanol.



ADH = Alcohol Deshidrogenasa.

ALDH = Aldehído Deshidrogenasa.

MEOS = Sistema Microsomal de Oxidación del Etanol.

El paso de etanol a acetaldehído puede ser catalizado en el hepatocito por 3 sistemas enzimáticos diferentes, localizados en distintos compartimientos subcelulares: la vía de la alcohol deshidrogenasa (ADH) del citosol (3), el sistema microsomal de la oxidación del etanol (MEOS) localizado en el retículo endoplásmico (4) y el sistema catalasa localizado en los peroxisomas (5).

En condiciones normales la mayor parte del etanol es oxidado por la enzima ADH que cataliza la conversión de etanol a acetaldehído en presencia de NAD.

Es de interés mencionar que la ADH es inhibida poderosamente por el pirazol. La persistencia de cierta capacidad de metabolización del alcohol en presencia de pirazol "in vivo" e "in vitro" fue el primer hallazgo experimental en favor de la existencia de vías adicionales de oxidación del etanol, distintos de la ADH (6).

Los fenómenos de potenciación por el alcohol de ciertas drogas que son habitualmente metabolizadas por los microsomas hepáticos, la tolerancia incrementada a estas mismas drogas en sujetos alcohólicos y la proliferación del retículo endoplásmico liso en hígado de personas o animales alcohólicos, sugirieron la existencia de un sistema microsomal capaz de oxidar etanol (MEOS) en situaciones de sobrecarga (7).

El tercer sistema capaz de catalizar la oxidación del etanol es el catalasa-peroxidativo. Dicho sistema usa como oxidante el agua oxigenada producida por muchas reacciones peroxidativas. La reacción de oxidación es catalizada por la enzima catalasa, que se encuentra principalmente en los peroxisomas. La función fisiológica de este sistema probablemente se ve limitada por la reducida producción de H_2O_2 , que tiene lugar normalmente en el organismo, aún a pesar de la estimulación de la síntesis de dicho peróxido de hidrógeno por la NADPH-oxidasa que se ha descrito tras la sobrecarga crónica de alcohol (8).

Parece que la proporción de alcohol oxidado por los sistemas MEOS y catalasa depende de la concentración de etanol en el hígado. A concentraciones de alcohol superiores a 20 mM la oxidación por la catalasa y por MEOS jugaría cierto papel (9).

Un factor a tener en cuenta a la hora de considerar el grado de oxidación del alcohol por la ADH es el de los niveles presentes de NAD^+ . Puesto que la reacción catalizada por la ADH es reversible, para que haya una oxidación eficiente de alcohol a aldehído vía ADH, deben eliminarse ambos productos, NADH y acetaldehído. Este último es preferentemente oxidado (90 %) en la mitocondria a acetato vía una aldehído deshidrogenasa (ALDH) de alta afinidad por el acetaldehído (10).

El acetaldehído que se produce tras la oxidación del etanol es un compuesto muy reactivo y puede ser responsable de alguno de los efectos tóxicos del etanol. Finalmente, el acetato producido abandona el hígado y es metabolizado en otros tejidos y en el hígado, dependiendo de la especie y estado nutritivo del animal (11).

TOXICIDAD DEL ALCOHOL

No sólo el alcohol, sino los metabolitos que se producen a consecuencia de su oxidación, pueden inducir fenómenos tóxicos y cambios adaptativos en el organismo. No es fácil deslindar completamente unos de otros, pues en general hay cierta reacción orgánica a estímulos primariamente lesivos y a la inversa; las adaptaciones del organismo a situaciones nuevas pueden conllevar el establecimiento de un funcionalismo anómalo que aboque al desarrollo de lesiones de forma diferida o inmediata.

Al hablar de efectos tóxicos del alcohol tácitamente incluimos las anomalías químico funcionales y morfológicas producidas tanto por el alcohol en sí mismo, como por sus metabolitos y por los cambios metabólicos debidos a la oxidación del alcohol en los tejidos. Estos efectos son probablemente más importantes que los debidos a la acción directa de la molécula de alcohol sobre el organismo.

Uno de los efectos metabólicos más importante producido por la ingestión de una dosis elevada de alcohol es la acumulación de NADH y la depleción de NAD^+ (12) que se produce en muchos tejidos, pero que es especialmente notable en el hígado. Dicho efecto puede entenderse si se recuerda que en la oxidación del alcohol por la ADH se regenera un mol de NADH y que otro mol de NAD^+ es reducido a NADH por cada molécula de aldehído oxidado (ver figura 1).

Esta alteración del cociente NADH/NAD^+ supone un cambio importante del estado red-ox celular, que produce como consecuencia el desplazamiento de los equilibrios de muchas reacciones metabólicas en el sentido del consumo de NADH. Por tanto se alteran las concentraciones de muchos intermediarios del metabolismo celular, produciéndose consecuencias que a primera vista no parecerían claramente relacionadas con el consumo de alcohol (13).

Otro de los agentes tóxicos producidos a consecuencia de la oxidación del alcohol es el *acetaldehído*. Desde hace unos años se está incriminando como posible agente causal de algunos de los trastornos presentes en la intoxicación alcohólica aguda y crónica, en base a su gran reactividad, y a las numerosas acciones biológicas producidas por este aldehído. Por ejemplo, se han atribuido muchos efectos neurotóxicos del alcohol al acetaldehído, pues dicho compuesto favorece la liberación de catecolaminas, a las que modifica generando sustancias que podrían tener propiedades de neurotransmisores aberrantes y que podrían mediar la dependencia (14). En relación con la miocardiopatía alcohólica se ha señalado que el acetaldehído inhibe la síntesis de proteínas del miocardio (15). El desarrollo de hígado graso podría estar mediado por la disminución en la capacidad de oxidar ácidos grasos por las mitocondrias hepáti-

cas (16) que se observa tras el tratamiento de dichos orgánulos con este aldehído. Se han descrito también acciones tóxicas del mismo sobre las membranas celulares mediadas por la producción de peróxidos a partir de los lípidos que forman parte de las mismas (17). Además, el acetaldehído reacciona con determinados grupos funcionales de las enzimas, y así podría interferir con gran número de caminos metabólicos vía inactivación de enzimas esenciales en dichas rutas metabólicas. En experimentos realizados "in vitro" nosotros hemos encontrado que el acetaldehído y el formaldehído (que se produce en las intoxicaciones por alcohol metílico) inactivan a un gran número de enzimas mediante interacción con grupos SH de cisteínas de los centros catalíticos, produciendo una pérdida de actividad funcional (tabla 1). Esta inactivación de las enzimas se puede

Tabla 1. — Inactivación de varias enzimas en presencia de Formaldehído.

DESHIDROGENASA*

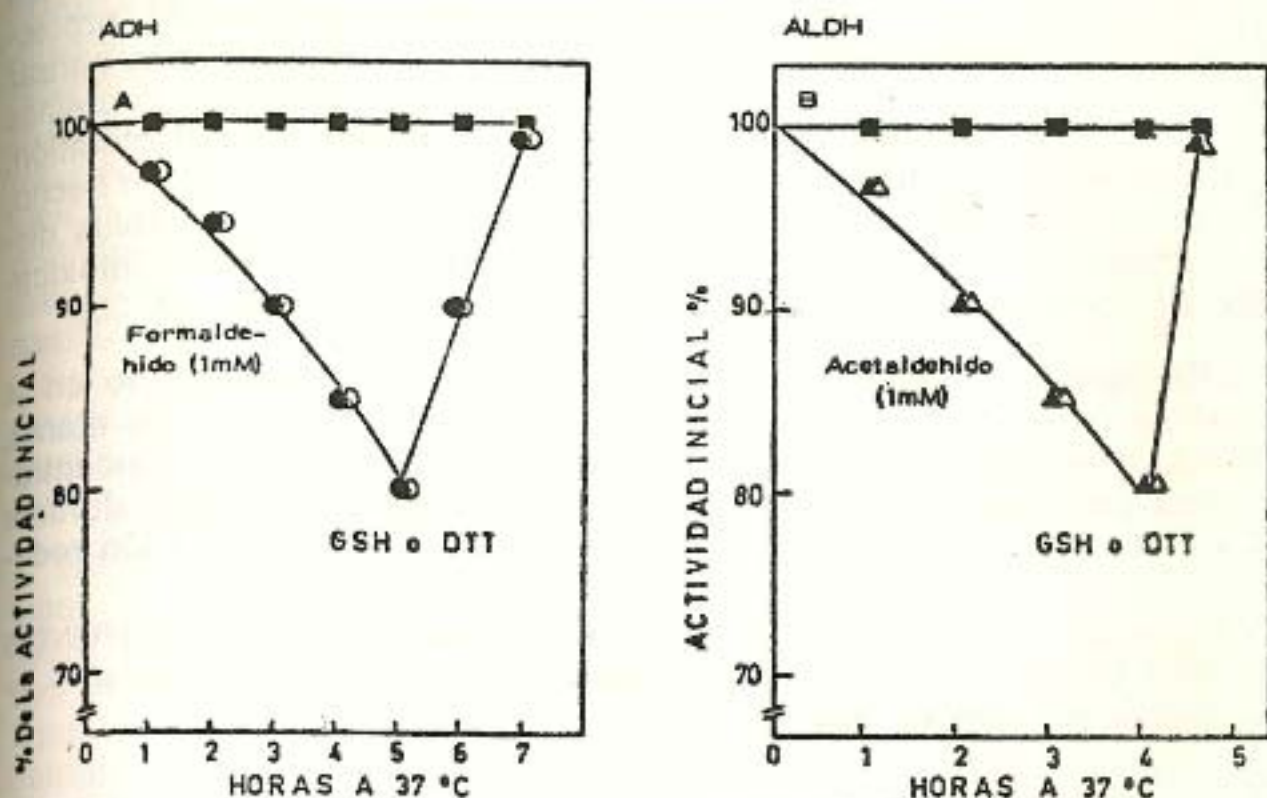
ENSAYADA

	CONCENTRACION DE FORMALDEHIDO			
	6 mM	12 mM	17 mM	29 mM
	% DE LA ACTIVIDAD INICIAL			
Alcohol	72 %	58 %	38 %	20 %
Málico	91 %	69 %	50 %	22 %
Láctico	95 %	90 %	85 %	61 %
Gliceraldehído Fosfato	97 %	95 %	90 %	77 %

* Las diferentes enzimas fueron incubadas con diferentes concentraciones de formaldehído durante 60 minutos a 37° C.

evitar e incluso enzimas inactivadas pueden ser reactivadas mediante sustancias (ejemplo: cisteína, mercaptoetanol, ditioneol, glutatión reducido) que contienen grupos SH y a las que se conocen como protectores de los grupos SH de las proteínas. Los grupos SH de estos protectores reaccionan con el aldehído y así evitan la reacción de los SH de las proteínas. Esta protección podría tener importancia terapéutica en las intoxicaciones por aldehídos y quizá en las intoxicaciones por alcoholes puesto que la oxidación biológica de estos alcoholes produce aldehídos en el organismo (fig. 2) (18).

Figura 2. — Inactivación de la alcohol deshidrogenasa (ADH) y aldehído deshidrogenasa (ALDH) en presencia de formaldehído y acetaldehído, y reactivación de ambas enzimas con reactivos-SH (GSH o DTT).



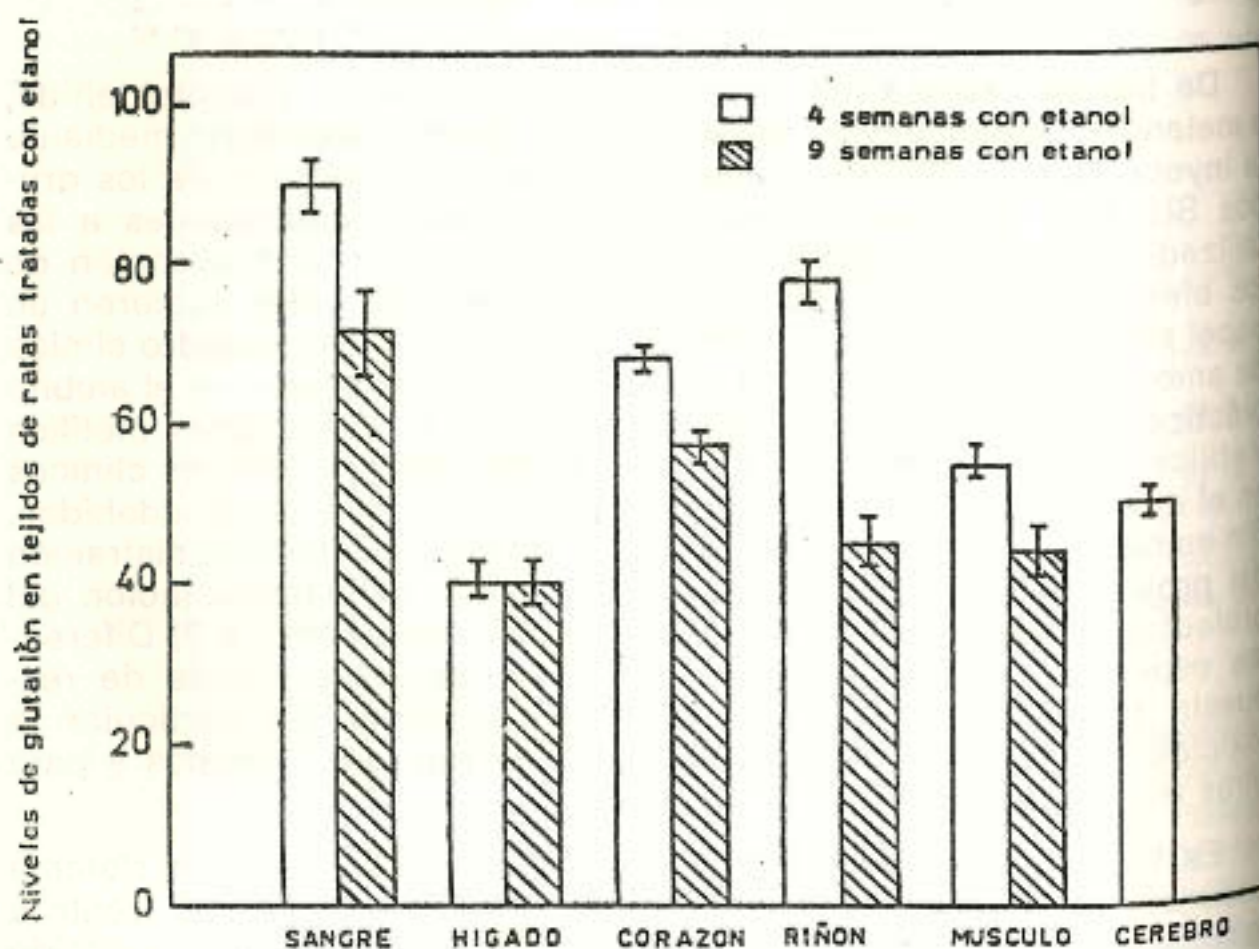
De hecho, ratones intoxicados con formaldehído o acetaldehído, o metanol o etanol, fueron protegidos en nuestro laboratorio mediante la inyección por vía intravenosa de reactivos protectores de los grupos SH. Hay que resaltar que el BAL, a dosis equivalentes a las utilizadas en seres humanos, fue muy efectivo en la prevención de los efectos tóxicos de estos agentes. Estos resultados sugieren un papel potencialmente importante de los aldehídos en el cuadro clínico de ambas intoxicaciones alcohólicas agudas y proponen, en el ámbito práctico, el uso de estos protectores en las intoxicaciones metélica y etélica aguda y crónica, así como en todos aquellos cuadros clínicos en el que se postule o presuma un papel tóxico para estos aldehídos. Sin embargo, conviene hacer constar que: 1) La vía de administración del protector fue la intravenosa; 2) El tiempo de administración del protector fue esencial en el éxito o fracaso terapéutico, y 3) Diferentes especies animales pueden presentar diferentes formas de respuesta tóxica y terapéutica a un mismo agente. En particular la toxicidad del alcohol metélico parece diferente para primates y para otras especies animales.

Es bien sabido que en todos los organismos existe un sistema endógeno de protección de los grupos SH de las proteínas frente a la oxidación por factores ambientales variados. El glutatión reducido (GSH) que se encuentra a concentraciones relativamente altas en los tejidos es el agente protector esencial (constituye el 95 % de todos los grupos tiólicos tisulares no proteicos). Dicho GSH tiene

funciones muy importantes en el organismo tales como: protección de la transparencia del cristalino, protección de la integridad de la membrana del eritrocito y de otras membranas celulares, prevención de la inactivación de las enzimas que contienen grupos SH, protección contra lesiones producidas por radiaciones, etc. Es lógico pensar que si el acetaldehído reacciona con los grupos SH de las proteínas de los tejidos, también reaccionará con los grupos SH del glutatión, disminuyendo la concentración tisular del agente protector. De hecho, experimentos realizados por nosotros han demostrado notables disminuciones en los niveles de glutatión hepático en ratones intoxicados de forma aguda con etanol, metanol o formaldehído (19, 20).

En apoyo de un papel patogenético para el acetaldehído en el desarrollo de los efectos tóxicos de la ingestión crónica de etanol, hemos encontrado también un notable decremento de las concentraciones tisulares de glutatión en ratas tratadas con alcohol durante 4 y 9 semanas (fig. 3). La reducción de los niveles de glutatión redu-

Figura 3. — CAMBIOS EN LAS CONCENTRACIONES DE GSH EN DIFERENTES TEJIDOS DE RATAS TRATADAS CON ETANOL. Los resultados se expresan en % de los valores obtenidos en ratas controles.



cido es más marcada en hígado, siendo el efecto poco apreciable en sangre. Puesto que el ayuno afecta los niveles de glutatión, con-

viene hacer constar que el estado nutritivo de los animales experimentales fue cuidadosamente controlado, de forma que la ingesta de proteínas, lípidos, vitaminas, oligoelementos y calorías totales fue idéntica a la del grupo control. El decremento tras períodos continuados de administración de alcohol, revela que en el organismo alcohólico se establece un estado estacionario caracterizado por una baja concentración de GSH. Esta reducción entre otros efectos podría influenciar notablemente la estabilidad de numerosas estructuras biológicas donde la proteína juega un papel importante. En particular podrían producirse cambios en la membrana de diferentes orgánulos subcelulares determinando alteraciones de permeabilidad y funcionamiento de los mismos; consecuencia de ello podían ser las alteraciones mitocondriales observadas en estadios tempranos de la hepatopatía alcohólica. Igualmente, tras la reducción de este protector muchas de las enzimas que contienen grupos SH importantes para su actividad se inactivarían con mayor facilidad.

Sería interesante la realización de experimentos clínicos controlados en humanos en los que se examinara el efecto del alcohol sobre los niveles tisulares de glutatión, y pruebas terapéuticas en que se ensayara la actividad protectora del BAL en situaciones de intoxicación etílica y metílica. Si los resultados confirman para el hombre nuestras experiencias en animales experimentales, tendríamos en las manos un nuevo instrumento terapéutico para estas intoxicaciones, y a la vez una nueva vía de entendimiento de los numerosos efectos tóxicos de los alcoholes.

BIBLIOGRAFIA

- (1) WIDMARK, E. M. (1932): "Die Theoretischen Grundlagen und die praktische verwendbarkeit der gerichtlich-medizinischen alkoholbestimmung", Berlín, Urban and Schwarzenberg.
- (2) THOMPSON, G. N. (1956): "Alcoholism", *Springfield*, III: CC Thomas.
- (3) ARSLANIAN, M. J.; PASCOE, E.; REINHOLD, J. G. (1971): "Rat liver alcohol dehydrogenase. Purification and properties", *Biochem. J.*, 125.
- (4) LIEBER, C. S.; DECARLI, L. K. (1972): "The role of the microsomes ethanol oxidizing system (MEOS) for ethanol metabolism in vivo", *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 181, 279.
- (5) REDMAN, C. M.; GRAB, D. J.; IRUKULLA, R. (1972): "The intracellular pathway of newly formed rat liver catalase", *Arch. Biochem. Biophys.*, 152, 496.
- (6) LI, T. K.; THEORELL, H. (1969): "Human liver alcohol dehydrogenase: inhibition by pyrazole and pyrazole analogs", *Acta Chem. Scand.*, 23, 892.
- (7) RUBIN, E.; GANG, H.; MISRA, P. S.; LIEBER, C. S. (1970): "Inhibition of drug metabolism by acute ethanol intoxication. A hepatic microsomal mechanism", *Am. J. Med.*, 49, 801.

(8) THURMAN, R. G.; LEY, H. G.; SCHOLZ, R. (1972): "Hepatic microsomal ethanol oxidation. Hydrogen peroxide formation and the role of catalase", *Eur. J. Biochem.*, 25, 420.

(9) LUNDQUIST, F.: *Metabolism of ethanol and the effect of ethanol on metabolism*, in *Alcohol and the liver* (eds. M.M. Fisher and J. G. Rankin), págs. 31, Plenum Press, New York, 1977.

(10) KOIVULA, T.; KOIVUSALO, M. (1975): "Different forms of rat liver. Aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution", *Biochem. Biophys. Acta*, 397, 9.

(11) FORSANDER, O. A.; RAIJA, N.; SUOMALAINEN, H. (1960): "Oxidation des athylalkohols in iso lierter leber und isoliertem hinterkorper der ratte", *Z. Physiol. Chem.*, 318, 410.

(12) HOHORSE, H. J.; KRENTZ, F. H.; BUCHER, Z. (1959): "Uber metabolit-Konzentrationen in der leber der ratte", *Biochem. Z.*, 332, 18.

(13) FREINEKL, N.; ARKEY, R. (1966): "Effects of ethanol on carbohydrate metabolism in man", *Psychosom. Med.*, 28, 551.

(14) EADE, N. R. (1959): "Mechanism of sympathomimetic action of aldehydes", *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 127, 29.

(15) SCHREIBER, S. S.; BRIDEN, K.; ORATZ, M.; ROTHSCHILD, M. A. (1972): "Ethanol, acetaldehyde and myocardial protein synthesis", *J. Clin. Invest.*, 51, 2.808.

(16) CEDERBAUM, A. I.; LIEBER, C. S.; RUBIN, E. (1974): "Effect of chronic ethanol treatment on mitochondrial functions", *Arch. Biochem. Biophys.*, 165, 560.

(17) DI LUZIO, N. R.; HERTMAN, A. D. (1967): "Role of lipid peroxidation in the pathogenesis of the ethanol-induced fatty liver", *Fed. proc.*, 26, 1.436.

(18) CRISOLIA, S.; GUERRI, C.; GODFREY, W. (1975): "Inactivation of alcohol and retinol dehydrogenases by acetaldehyde and formaldehyde", *Biochem. and Biophys. Res. Comm.*, 66 (4), 1.112-1.117.

(19) GUERRI, C.; CRISOLIA, S.: *Influence of prolonged ethanol intake on the levels and turnover of alcohol and aldehyde dehydrogenases and on the levels of glutathion*, International Symposium on Biological Research in Alcoholism (ed. H. Bigleiter), Plenum Press, 1979.

(20) GUERRI, S.; GODFREY, W.; CRISOLIA, S. (1976): "Protection against toxic effects of formaldehyde in vitro, and of methanol or formaldehyde in vivo, by subsequent administration of SH reagents", *Physiol. Chem. Physics*, 8, 6.