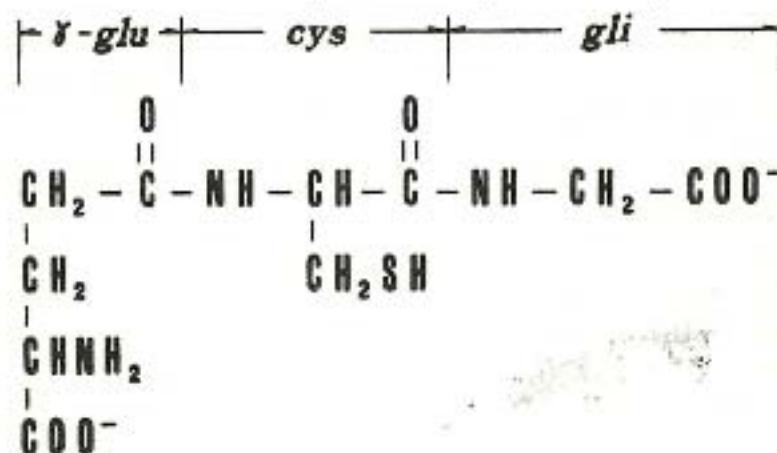


## ESTUDIO DE LA CONCENTRACION DE GLUTATION REDUCIDO EN SANGRE (GSH) EN PACIENTES ALCOHOLICOS CRONICOS

DR. M. SANCHIS FORTEA  
 DRA. G. PALOMARES HERNANDEZ  
 Médicos Jefes Clínicos del Hospital Psiquiátrico Provincial  
 «Padre Jofré» de Bétera (Valencia)

### INTRODUCCION

El tripéptido glutation (gammaglutamil-cistein-glicina) (fig. 1) se encuentra prácticamente en todas las células vivientes, a concentraciones de hasta 5-10 mm (MEISTER, A. 1974).



### GLUTATION

fig. 1

La molécula de glutation posee dos estructuras importantes: el grupo sulfhidrilo (SH) de la cisteína y el grupo gammaglutamilo.

El grupo SH del glutation funciona en diversas células para conservar los grupos sulfhidrilos necesarios para la estructura y función de varias enzimas y proteínas (GUERRI, C. 1979). La presencia en muchas células de enzimas como la glutation reductasa, la peroxidasa del glutation, la glutation transhidrogenasa y las S-transulfurasas del glutation resumen las variadas funciones que ejerce por intermedio del grupo SH.

Por acción del grupo gammaglutamilo parece ser que interviene, sobre todo a nivel renal, en el transporte de aminoácidos por intermedio de la enzima gammaglutamiltranspeptidasa, formando un complejo glutamil-enzima que reacciona con el aminoácido unido de forma no covalente a la membrana y proporcionando un gamma-glutamilo-aminoácido que penetra al interior de la célula (ORLOWSKI, M.; MESSTER, A. 1970), (BINKLEY, F.; WIESEMANN, M. 1975), (MEISTER, A. 1974).

En el hígado el etanol es oxidado a hidrógeno y acetaldehído, a los cuales pueden ser atribuidos muchos de los efectos del etanol. La generación de  $H^+$  altera el estado red-ox y probablemente interfiere en el metabolismo lipídico y carbohidratado, pudiendo aumentar el depósito de colágeno (LIEBER CS, 1980) y deprimir la síntesis proteica (LIEBER CS, 1981).

El acetaldehído, entre muchos otros efectos, se asocia con deterioro de los microtúbulos, retención proteica e hinchazón del hepatocito (LIEBER CS. 1981). Interfiere en las oxidaciones mitocondriales y puede favorecer la peroxidación de las membranas celulares (CEDERBAUM, A., et al., 1974) (LIEBER, CS, 1980).

La administración de etanol en el animal de experimentación ha demostrado una disminución del glutatión reducido en el hepatocito (ESTLER, C. J.; AMMON, H. P. T., 1966).

En 1953 WALD, G., y colaboradores ya observaron que el acetaldehído reaccionaba con los grupos sulfhidrilos del glutatión in vitro (WALD, G., et al., 1953). Posteriormente, otros autores han confirmado en animales la disminución de glutatión hepático por combinación de los grupos tiol con el acetaldehído y la formación subsiguiente de mercáptidos (GUERRI, C., 1979), (VIÑA, J., et al., 1980), (GUERRI, C.; GRISOLIA, S., 1978) con el fin de proteger a los grupos SH de enzimas y proteínas.

El acetaldehído se ha demostrado que se acumula en los distintos tejidos orgánicos (KORSTEN, M. A., 1975), existiendo una disminución de glutatión reducido (GSH) en los diferentes tejidos animales estudiados tras tratamiento con etanol (GUERRI, C., 1979), (GUERRI, C.; GRISOLIA, S., 1979).

Por otra parte el glutatión es imprescindible para mantener el estado red-ox en el eritrocito (relación glutatión reducido/glutatión oxidado GSH/GSSG) (KOTHE, K., et al., 1975), teniendo en éstos un rápido "turn-over" cuyo mecanismo de acción permanece oscuro (SRIVASTAVA, S. K., 1977), (BOARD, P. G.; SMITH, J. E., 1977), (HOCHBERG, A., et al., 1964), por cuanto la hipótesis de la interacción del glutatión con la "hipotética existencia" de la enzima gammaglutamiltranspeptidasa en la membrana del hematíe (BOARD, P. G.; SMITH, J. E., 1977) no ha sido suficientemente demostrada (SRIVASTAVA, S. K., 1977).

Es lógico pensar que si el acetaldehído reacciona con los grupos SH del glutathion disminuyendo la concentración tisular de este agente protector, el aporte externo de grupos sulfhidrilos como los que proceden de la cisteína o del glutathion, pueden ofrecer un posible camino en la prevención de los efectos bioquímicos del etanol (MARTIN, G. V., et al., 1966), (GUERRI, S.; GOOFREY, W.; GRISOLIA, S., 1976).

En el presente trabajo estudiamos los efectos del consumo crónico de etanol sobre los niveles de GSH en sangre total, relacionándolos con otros tests indicadores de alcoholismo crónico (SANCHIS FORTEA, M.; REY GONZALEZ, A., 1983), así como la valoración de los pacientes después de un período de abstinencia alcohólica y administración de tiazolidincarboxilato de arginina.

## MATERIAL Y METODOS

Hemos estudiado un grupo compuesto por 24 sujetos normales (no alcohólicos) (18 hombres y 6 mujeres) a fin de obtener el intervalo de variación para el glutathion reducido (GSH) en sangre total; y un segundo grupo de 80 individuos (66 hombres y 14 mujeres) con antecedentes de etilismo que se encontraban ingresados en el Hospital Psiquiátrico de Bétera (Valencia) con el diagnóstico de etilismo crónico.

La edad media de los pacientes estaba comprendida entre 18 y 62 años ( $40'41 \pm 9'41$  DS —desviación estándar—). En el cuestionario de examen se hizo constar la cifra de alcohol consumida por día y que expresada en gramos daba una cifra media de  $234'6 \pm 108$  g/día.

El tiempo de evolución del alcoholismo en los pacientes estudiados era de  $14'65 \pm 8'6$  años.

Asimismo se realizó en 60 pacientes (50 hombres y 10 mujeres), en los que se tuvo certeza de que no habían ingerido bebidas alcohólicas, una nueva determinación de GSH tras un mes de abstinencia y administrándoles por vía oral 1.200 mg. de Tiazolidincarboxilato de arginina repartidos en tres tomas diarias (ALVISI, V., et al., 1980), (PAGELLA, P. G., et al., 1981).

En los grupos de estudio se efectuaron las siguientes determinaciones: Glutathion reducido en sangre total empleando el reactivo de Ellman (5-5.º Dithiobis) (2-nitrobenzoato) (ELLMAN, G. L., 1959); gammaglutamiltranspeptidasa sérica (GGTP); transaminasa oxalacética (GOT) y pirúvica (GPT); fosfatasa alcalina (FA); bilirrubina total

(Bi) según las técnicas convencionales (SANCHIS FORTEA, M.; REY GONZALEZ, A., 1982) y, por fin, la determinación del volumen corpuscular medio (VCM).

El tratamiento estadístico del material recogido ha comprendido:

- a) Estudio de la homogeneidad de las muestras.
- b) Índices de correlación estadística entre los valores de GSH y los siguientes parámetros: GGTP, VCM, GOT, GPT, FA, Bi gramos de alcohol consumido por día y tiempo de evolución del alcoholismo.

## RESULTADOS

Las concentraciones de glutatión reducido en sangre total (GSH) y expresadas en mg. % cc. ( $\bar{X} \pm DS$ ) en los individuos control y en los sujetos alcohólicos se muestran en la figura 2. Como se puede apreciar los valores medios oscilan entre  $15'2 \pm 2'82$  mg. % en los controles y  $12'7 \pm 2'74$  en los pacientes alcohólicos, existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre ambas muestras ( $p < 0'001$ ).

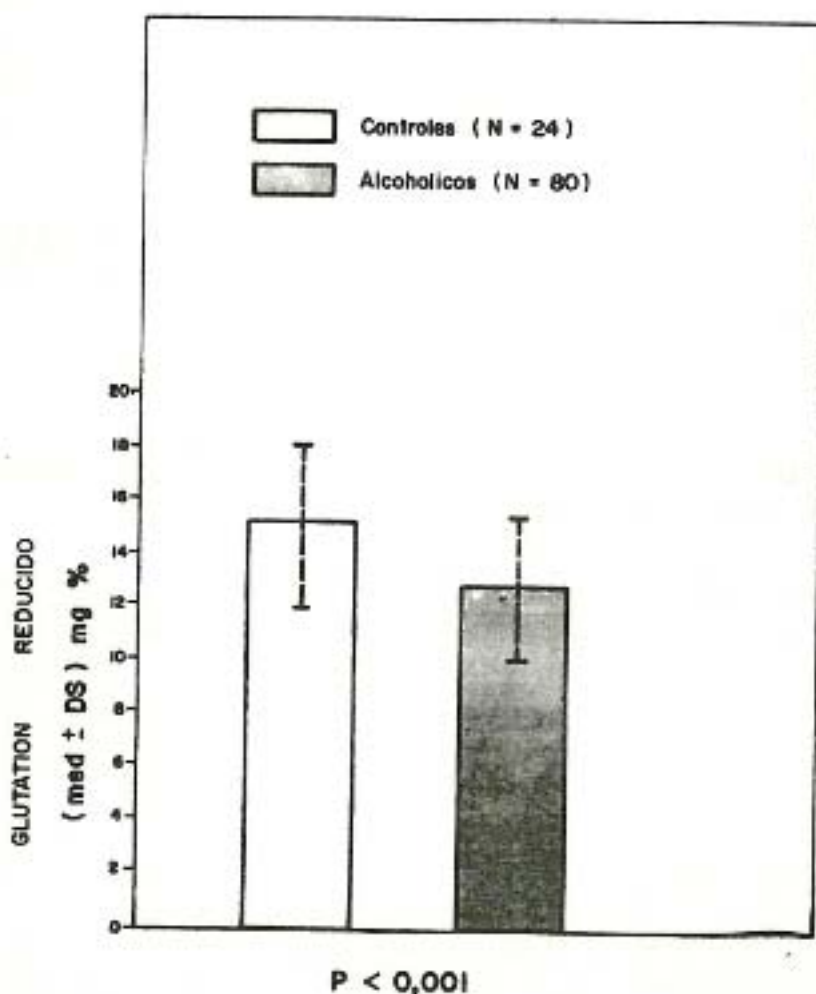


fig. 2

En la figura 3 se exponen los niveles de GSH en 60 pacientes de la muestra, después de un mes de abstinencia alcohólica a los cuales se les administraron 1.200 mg. de Tiazolidincarboxilato de arginina, vía oral en tres tomas diarias. La observación de la gráfica demuestra que la segunda determinación presenta unos picos más elevados y sostenidos de los niveles de GSH en sangre. La prueba estadística de la t pareada demuestra asimismo una diferencia significativa ( $p < 0'001$ ).

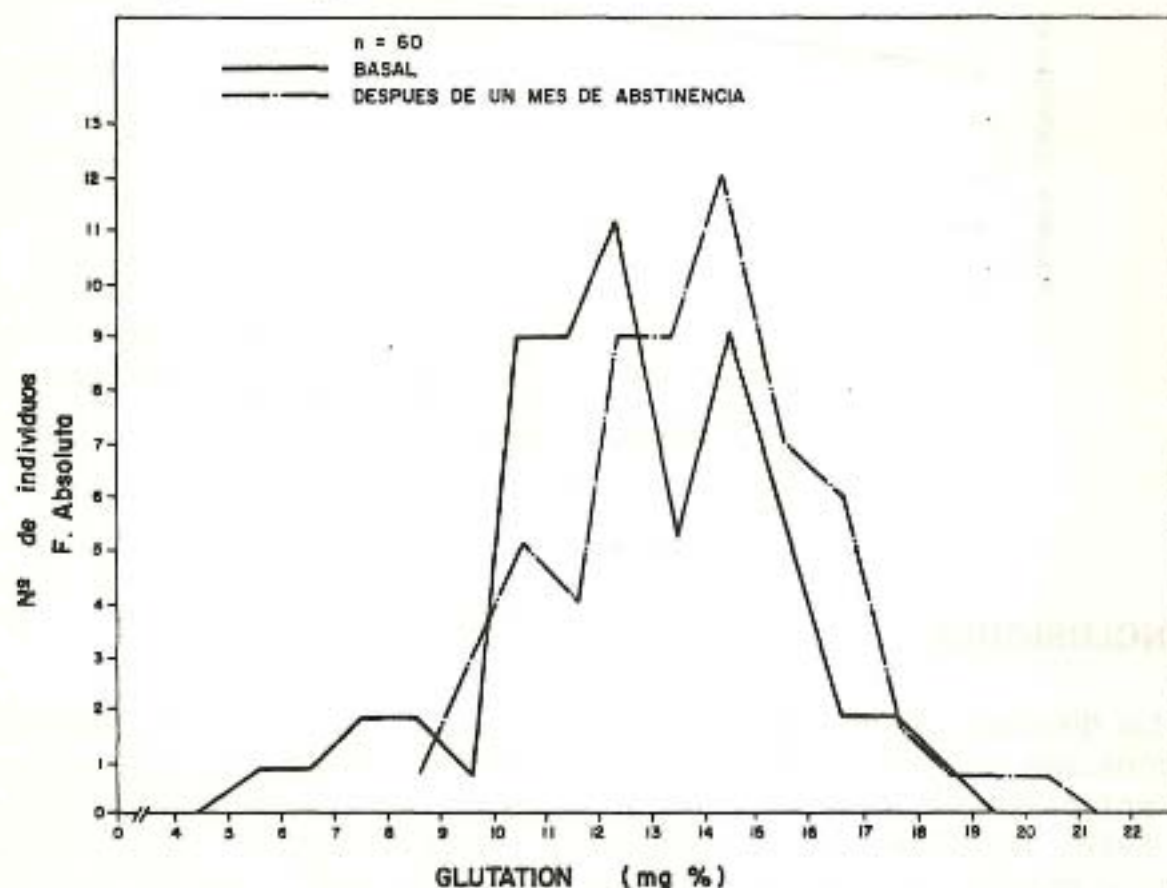


fig. 3

Para comprobar una hipotética relación entre los niveles de GSH y los parámetros indicadores del consumo crónico de etanol (SANCHIS FORTEA, M.; REY GONZALEZ, A., 1983), así como con tests rutinarios de funcionalismo hepático hemos realizado pruebas de correlación estadística. Estas mismas se efectuaron entre las concentraciones de GSH y los gramos de alcohol consumidos diariamente y con los años de evolución del alcoholismo.

No hemos encontrado una correlación significativa entre las concentraciones de GSH y GGTP ( $r = 0'08$ ); Bilirrubina ( $r = -0'09$ ); GPT ( $r = 0'11$ ); GOT ( $r = 0'11$ ); FA ( $r = 0'07$ ); ingesta alcohólica ( $r = 0'15$ ) y tiempo de evolución del alcoholismo ( $r = 0'04$ ).

La figura 4 muestra una correlación significativa entre los niveles de glutatión reducido y los valores del volumen corpuscular medio ( $p < 0'05$ ) ( $r = 0'268$ ).

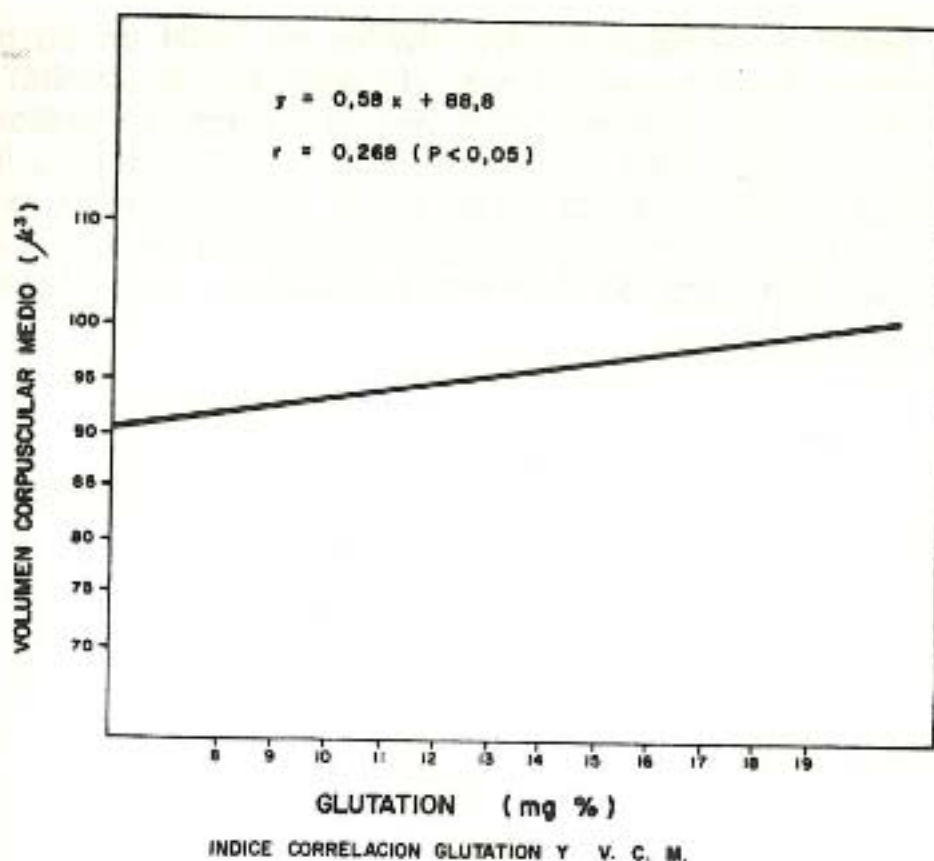


fig. 4

## CONCLUSIONES

La disminución en las concentraciones de glutatión reducido tras el consumo de etanol en los animales de experimentación, por acción del acetaldehído, a nivel de los distintos tejidos estudiados (GUERRI, C., 1979), (GUERRI, C.; GRISOLIA, S., 1979) (VIÑA, J., et al., 1980), parece confirmarse en el paciente etílico crónico cuando se estudian los niveles de GSH en sangre como así lo expresan los datos representados en la figura 2, existiendo claramente una diferencia significativa ( $p < 0'001$ ).

El aumento en los niveles de GSH tras un período de abstinencia de un mes y la administración de Tiazolidincarboxilato de arginina, según se expuso anteriormente, apoya la hipótesis de que el aporte externo de grupos sulfhidrilos pueden ofrecer un posible camino en la solución de los trastornos bioquímico-clínicos derivados de la ingesta de etanol. En nuestro estudio cabe resaltar que dicho aporte sulfhidrónico se acompañó de abstinencia total de bebidas alcohólicas. En la figura 3 se expresa claramente el nivel de significación ( $p < 0'001$ ).

La correlación estadística significativa, figura 4 ( $p < 0'05$ ) entre los niveles de GSH y el VCM podría ofrecer una posible hipótesis patogénica, que precisaría de posterior investigación del aumento

del volumen corpuscular medio del eritrocito en el alcoholismo crónico cuyo mecanismo es actualmente desconocido. Asimismo demuestra la adaptación del hematíe ante las alteraciones bioquímicas producidas por el alcohol y abre también una vía de investigación a la todavía oscura explicación del rápido "turn-over" del glutatión en el hematíe (SRIVASTAVA, S. K., 1977), (BOARD, P. G.; SMITH, J. E., 1977), (HOCHBERG, A., et al., 1964).

La falta de correlación entre los niveles de GSH y GGTP supondría un dato más a añadir a la demostración de la ausencia de la enzima gammaglutamiltranspeptidasa en la membrana del hematíe (SRIVASTAVA, S. K., 1977), como mecanismo explicativo del rápido "turn-over" del glutatión en el mismo (BOARD, P. G.; SMITH, J. E., 1977).

No hemos encontrado una correlación estadística entre la concentración de GSH y los distintos parámetros de funcionalismo hepático estudiados: GOT, GPT, Bi, FA; así como tampoco entre la ingesta etílica y el tiempo de evolución del alcoholismo. Creemos que para el estudio de las posibles interacciones Etanol-Hígado-Glutatión en el hombre, es imprescindible el determinar las concentraciones de glutatión reducido en el hepatocito del paciente etílico crónico, aunque siempre habrá que tener en cuenta la sensibilidad individual que las personas muestran ante el consumo de alcohol.

## RESUMEN

El estudio de 80 pacientes alcohólicos crónicos indica que el etanol produce una disminución en la concentración de glutatión reducido en sangre (GSH).

La administración del compuesto que aporta grupos sulhidrilos (Tiazolidincarboxilato de arginina) junto con la abstinencia alcohólica produce un aumento de los niveles de GSH.

Encontramos una correlación entre el GSH y el volumen corpuscular medio (VCM) y una falta de correlación entre el GSH y la gammaglutamiltranspeptidasa sérica (GGTP), con otros tests rutinarios de funcionalismo hepático y con los gramos de alcohol consumidos.

**PALABRAS CLAVE:** Alcoholismo crónico. Glutatión reducido en sangre. Volumen corpuscular medio. Tiazolidincarboxilato de arginina. Gammaglutamiltranspeptidasa sérica.

## BIBLIOGRAFIA

### PUNTUACIONES TIPICAS

1. ALVISI, V., et al. (1980): "L'effetto terapeutico dell'Arginin-Tiazolidin-Carbossilato (ATCA) all'esame dei tests di epatofunzionalità", *Arch. Sc. Med.* 137, 731-738.
2. BINKLEY, F., WIESEMANN, M. L. (1975): "Glutathione and gamma-glutamyl-transferase in secretory processes", *Life Sci.*, 17, 1.359-62.
3. BOARD, P. G.; SMITH, J. E. (1977): "Erythrocyte glutamyl transeptidase (Letter)" *Blood*, 49, 667-8.
4. CEDERBAUM, A.; LIEBER, C. S.; RUBIN, E. (1974): "Effect of chronic ethanol treatment on mitochondrial functions", *Arch. Biochem. Biophys.*, 165, 560.
5. ELLMAN, G. L. (1959): *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, 70.
6. ESTLER, C. J.; AMMON H.P.T. (1966): "Glutathion und SH-gruppenhaltige. Enzyme in der Leber weisser Mäuse nach einmaliger Alkoholgabe", *Med. Pharmacol. Exp. Basel* 15, 299.
7. GUERRI, C. (1979): "Bases bioquímicas de la toxicidad del alcohol. Importancia del acetaldehído", *Drogalcohol*, 4, 111-118.
8. GUERRI, C.; GRISOLIA, S. (1978): *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, 37, abstr. 1.491.
9. GUERRI, C. GRISOLIA, S. (1979): *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, 37, the levels and turnover of alcohol and aldehyde dehydrogenases and glutathione", *International Symposium on Biological Research in Alcoholism* (ed. H. Begleiter) Plenum Press.
10. GUERRI, C.; GRISOLIA, S.; GODFREY, W. (1976): "Protection against toxic effects of formaldehyde in vitro, and of methanol or formaldeyde in vivo, by subsequent administration of SH reagents, *Physiol. Chem. Physics.*, 8, 6.
11. HOCHBERG, A., et al. (1964): "The incorporation in vitro of glycine and L-glutamic acid into glutathione of human erythrocytes, *Biochim. Biophys. Acta*, 90, 464-71.
12. KORSTEN, M. A., et al. (1975): *New. England J. of Med.*, 292, 386.
13. KOTHE, K., et al. (1975): "Redox metabolism of glutathione in the red blood cell", *Acta biol. med. germ.*, 34, 203-28.
14. LIEBER, C. S. (1980): "Metabolism and metabolic effects of alcohol", *Semin. Hematol*, 17, 85-99.
15. LIEBER, C. S. (1981): "Alcohol, liver injury and protein metabolism", *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 13, 17-30.
16. LIEBER, C. S. (1981): "Mechanism of liver cell damage", *Alcsm. Clin. Exp. Res.*, 5, 459-60.
17. MARTIN, G. V., et al. (1966): "The effect of cystein in modifying the action of ethanol", *Life Sci.* 5, 2357.
18. MEISTER, A. (1974): "The gammaglutamyl-cycle", *Annals of Internal Medicine*, 81, 247-253.



19. ORLOWSKI, M.; MEISTER, A. (1970): "The gammaglutamyl cycle: A possible transport system for aminoacids", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **67**, 1.248-55.
20. PAGELLA, P. G., et al. (1981): "Effect of Arginine Thiazolidinecarboxylate on Allyl Alcohol Hepatotoxicity in the rat", *Arzneim. Forsch. Drug. Res.*, **31**, 1.448-1.449.
21. SANCHIS FORTEA, M.; REY GONZALEZ, A. (1982): "Relación entre la actividad de la gamma-glutamyl-transpeptidasa sérica y otros tests de función hepática en el alcoholismo crónico", *Méd. Esp.*, **81**, 134-141.
22. SANCHIS FORTEA, M.; REY GONZALEZ, A. (1983): "Indicadores del consumo crónico o de alcohol en la práctica médica diaria", *Med. Esp.* (en prensa).
23. SRIVASTAVA, S. K. (1977): "Absence of glutamyl transpeptidase and the Role of GSSG Transport in the Turnover of GSH in Erythrocytes (Letter)", *Blood*, **49**, 668-9.
24. TATE, S. S.; MEISTER, A. (1974): "Interaction of gammaglutamyl transpeptidase with aminoacids, dipeptides, and derivated and analogs of glutathione", *J. Biol. Chem.*, **249**, 7.593-7.602.
25. VIÑA, J., et al. (1980): "Effect of ethanol on glutathione concentration in isolated hepatocytes", *Biochem J.*, **188**, 549-52.
26. WALD, G., et al. (1953): "Aldehydes as sulphydril reagents", *Fed. Proc.*, **12**, 285-6.