

Metabolismo del acetato: estudio experimental

E. Girela*, C. Hernández-Cueto, M. D. Calvo, J. D. Luna** y E. Villanueva

Departamento de Medicina Legal y Toxicología
Facultad de Medicina
Universidad de Granada
18071 Granada (España)

(Recibido el 21 de septiembre de 1992)

E. GIRELA, C. HERNÁNDEZ-CUETO, M. D. CALVO, J. D. LUNA and E. VILLANUEVA. *Metabolism of Acetate: Experimental Study*. Rev. esp. Fisiol., 49 (2), 101-106, 1993.

Plasma levels of ethanol and acetate, which is the end product of hepatic ethanol oxidation, have been studied in 60 rats. Animals were divided into two groups: 1) Control rats, and 2) Alcohol-treated rats. Ethanol and acetate were measured without any previous handling (endogenous levels) and after intraperitoneal injection of a single dose of ethanol. Blood specimens were taken at 30, 60, 120, 180 and 240 minutes after ethanol injection. Plasma levels of ethanol and acetate were performed by Head Space Gas Chromatography. Alcohol-treated animals had higher plasma acetate levels than control ones. There were statistically significant differences for acetate between both groups of rats at 0, 30, 120 and 180 minutes.

Key words: Acetate, Ethanol, Alcoholism, Rats.

Los estudios sobre los metabolitos del alcohol etílico se han centrado desde hace algunos años en el primero de ellos, el acetaldehído, por su extrema toxicidad y el importante papel que juega en la producción del daño orgánico inducido por el alcohol.

Por ello se conoce aún poco de otros metabolitos del etanol y de su verdadera significación fisiológica. Entre éstos des-

taca especialmente el acetato, producto último del catabolismo hepático del etanol, que ha sido propuesto recientemente por algunos autores como un nuevo marcador del alcoholismo crónico (5, 10, 13). Se trata, además, de un elemento normal del metabolismo intermediario humano y se produce, además por la flora intestinal.

El acetaldehído, primer producto de la oxidación del etanol, es también oxidado rápidamente en el hígado por la aldehído deshidrogenasa (ALDH), dando lugar a acetato, por lo que en individuos normales los niveles de acetaldehído son extrema-

* A quien debe dirigirse toda la correspondencia.

** Departamento de Bioestadística, Facultad de Medicina. 18071 Granada (España).

damente bajos (inferiores a 2 μ M) (6). A su vez, prácticamente el 90 % del acetato es liberado al torrente circulatorio y oxidado a CO_2 y H_2O por los tejidos periféricos (8).

Se sabe que los niveles habituales de acetato en sujetos normales son bajos, oscilando entre concentraciones de 0,1 mM (1, 18) y 0,2 mM (10, 16); que no están influidos por el sexo (5), ni por el ayuno o por la ingesta de una dieta rica en grasas (7). Sí parece existir influencia por la edad, encontrándose los niveles más elevados en sujetos jóvenes (16). Finalmente, los niveles de acetato en sujetos normales se incrementan considerablemente (hasta 20 veces) tras la ingesta de alcohol.

Diversos autores han comprobado que durante la oxidación del etanol la concentración de acetato en sangre es mayor en bebedores que en individuos controles o en bebedores ocasionales (1, 5, 10, 13), alcanzando una meseta que se mantiene prácticamente constante mientras el etanol está presente en sangre. La concentración de acetato en sangre es independiente tanto de la alcoholemia (1, 5, 7, 10), como de la dosis de etanol ingerida. Durante la oxidación del etanol los niveles de acetato se sitúan entre 0,6 y 0,8 mM (1, 5, 7, 10). En el caso de individuos alcohólicos estos niveles alcanzan concentraciones entre 1 y 1,15 mM (1, 10), lo que puede determinar su utilidad como marcador diagnóstico del alcoholismo crónico.

El escaso conocimiento que existe en relación al metabolismo del acetato y su posible significación, para el diagnóstico precoz del alcoholismo, nos decidió a estudiar otras características metabólicas del mismo. Por ello presentamos este estudio comparativo del acetato en animales habituados al alcohol frente a controles, tanto tras ingestas de alcohol en un momento cercano y previo al de la toma de la muestra, como sin la influencia del tóxico en ese instante. La dificultad de realizar este estudio en humanos, nos decidió a desarrollarlo en animales de experimentación.

Material y Métodos

Se han empleado 80 ratas Wistar macho, con un peso medio de 200 g (entre 150 y 250 g), separadas en tres grupos: el primero de 20 animales sirvió de control de la técnica de manipulación y el diseño experimental empleados. A tal fin, se sacrificaron 10 ratas sin maniobra previa y las otras 10 tras inyección i.p. de solución salina.

El resto de los animales (60 ratas) se repartieron entre un grupo control (Grupo 1) y otro de animales habituados al alcohol (Grupo 2).

Todos los animales se mantuvieron durante el experimento, y hasta el momento de su sacrificio, en jaulas de propileno en subgrupos de 3 animales, con un fotoperiodo de 12 horas y una temperatura ambiente comprendida entre 21 y 26 °C durante un periodo total de 8 semanas.

Los 30 animales del Grupo 1 consumieron exclusivamente pienso para ratas (Panlab A04) y agua *ad libitum*.

Los 30 animales del Grupo 2 se sometieron a una dieta *ad libitum* de pienso y agua con etanol al 2 % en la 1.^a semana, al 5 % en la 2.^a y al 10 % en la 3.^a y siguientes, ingiriendo de media ($\pm$ D.E.) $3,20 \pm 0,42$, $7,63 \pm 1,54$ y $13,37 \pm 4,50$ g de alcohol/kg peso/día en la 1.^a, 2.^a y 3.^a-8.^a semanas, respectivamente.

El etanol supuso un promedio del 39,6 % $\pm$ 22,2 de la energía total en la dieta consumida por este grupo de ratas.

Para enmascarar el sabor del tóxico, dado que los animales inicialmente lo rechazaban, se añadieron cuatro pastillas de sacarina sódica por litro de solución de agua con etanol (15).

Previamente a la toma de la muestra y sacrificio de los animales, se les anestesiaba con cloroformo, procediéndose seguidamente a la apertura de la cavidad abdominal mediante un corte medial. Tras obtención de sangre mediante punción intracardiaca, el animal era decapitado.

Las muestras de sangre, recogidas en

frascos de 5 ml/con EDTA dipotásico, se centrifugaban inmediatamente para la obtención del plasma, el cual se almacenaba a 4 °C hasta el momento del análisis (máximo 1 semana).

Los animales se sacrificaron según la siguiente pauta.

De las 30 ratas de cada grupo, 5 se sacrificaron sin realizar maniobra previa alguna, para determinar los niveles basales de acetato. El resto, en grupos de 5 animales, se sacrificó tras inyección intraperitoneal de 1,5 g etanol/kg de peso en solución salina al 20 %, tras un periodo de tiempo entre la inyección y el sacrificio de 30, 60, 120, 180 y 240 minutos.

Para evitar cualquier tipo de interferencia en los valores basales de etanol y acetato, debidos al tipo de alimentación, todos los animales se mantuvieron en ayunas desde 12 horas antes del sacrificio.

Métodos analíticos. — Para las determinaciones de acetato se ha utilizado la técnica de GILES *et al.* (2), basada en la esterificación del acetato a metilacetato, empleando como estándar interno una solución acuosa de acetato sódico (0,25-2 mM). Estas determinaciones se realizaron en un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer (300 FID con «espacio de cabeza», columna Carbowax 2 m $\times$ 1/8" Chrown W, 80-100 mesh) y un integrador Hewlett Packard (3390 A). Las temperaturas empleadas para el inyector, columna y detector fueron de 200, 75 y 200 °C, respectivamente. La precisión de la técnica fue del 3,33 % y la reproducibilidad del 6,49 %.

Las determinaciones de etanol también se llevaron a cabo por cromatografía de gases en espacio de cabeza, empleando el mismo equipo que para el acetato. Las temperaturas de inyector, columna y detector fueron de 150, 100 y 200 °C, respectivamente. La precisión de la técnica fue del 1,16 % y la reproducibilidad del 3,2 %.

La comparación estadística se realizó mediante el análisis de la varianza.

Resultados y Discusión

Los resultados de las determinaciones analíticas se muestran en la tabla I.

La maniobra previa para la administración i.p. del etanol no influye en los niveles basales de acetato; no se observaron diferencias entre los obtenidos en 10 animales sacrificados sin maniobra previa alguna ($2,004 \pm 0,107$ mM) y los de otros 10 con inyección previa de solución salina ($2,069 \pm 0,183$ mM).

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en los niveles de etanol entre los grupos 1 y 2 a los diferentes tiempos estudiados, salvo a los 180 minutos (fig. 1), y sí, como era de esperar, entre los diferentes tiempos de evolución (F: 16,72; g.l.: 11,48).

El tiempo de vida media del etanol fue de 32,41 y 37,88 min para los animales del grupo 2 y del grupo 1, respectivamente sin diferencias significativas.

El acetato sí muestra diferencias entre ambos grupos estudiados (F: 16,51; g.l.: 11,48). Los niveles son mayores en las ratas alcohólicas (grupo 2), siendo más prolongado en ellas el tiempo de meseta (fig. 1). La velocidad de degradación es mayor en animales habituados (26,18 min) que en no habituados (48,94 min), lo que corrobora los resultados de BRUNO *et al.* (1). Además, existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos a los 0, 30, 120 y 180 minutos (fig. 1).

En la sangre de individuos alcohólicos crónicos se producen diversos fenómenos, como el incremento de la velocidad de aclaramiento del etanol (10, 14) y la elevación de los niveles sanguíneos de acetaldehído. Este segundo fenómeno es consecutivo a la pequeña diferencia existente entre la velocidad de su producción y la de su oxidación hepática. Esto puede deberse a una mayor velocidad de degradación del etanol, a un descenso de la eliminación por disminución de los niveles de ALDH, o a ambas causas.

Sin embargo, aunque todos los meca-

Tabla I. Niveles plasmáticos de etanol y acetato basales y tras inyección intraperitoneal de 1,5 g etanol/kg peso.

Cada valor corresponde al valor medio de cinco animales $\pm$ la desviación estándar.

Tiempo (min)	ETANOL (g%)		ACETATO (mM)	
	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 1	GRUPO 2
0	0	0	1,94 $\pm$ 0,086	2,22 $\pm$ 0,076**
30	1,62 $\pm$ 0,168	1,69 $\pm$ 0,075	2,75 $\pm$ 0,223	3,17 $\pm$ 0,119**
60	1,17 $\pm$ 0,163	1,24 $\pm$ 0,113	2,75 $\pm$ 0,207	3,18 $\pm$ 0,374
120	0,90 $\pm$ 0,255	0,97 $\pm$ 0,182	2,64 $\pm$ 0,201	3,27 $\pm$ 0,375*
180	0,62 $\pm$ 0,128	0,41 $\pm$ 0,087*	2,36 $\pm$ 0,137	2,74 $\pm$ 0,207**
240	0,06 $\pm$ 0,100	0,01 $\pm$ 0,027	2,18 $\pm$ 0,219	2,49 $\pm$ 0,314

* $P < 0,05$; ** $p < 0,01$.

nismos son posibles en alcohólicos, parece ser que el fenómeno se debe esencialmente a una alteración en la capacidad de metabolizar el acetaldehído, lo que es explicable por una disminución de la actividad ALDH hepática (4, 9, 11, 12) y eritrocitaria (17, 19). Si se tiene en cuenta que el acetato es producido en el hígado a partir del acetaldehído, y que esta reacción está catalizada por la ALDH, parece difícilmente explicable la elevación de los niveles de acetato en la sangre de individuos al-

cohólicos. Según KORRI *et al.* (5) no podría excluirse la posibilidad de que a ello contribuya una disminución de la utilización del acetato por los tejidos periféricos.

Respecto a la cinética de eliminación del acetato, se sabe que es más lenta que la del etanol (18), habiendo encontrado previamente en humanos un tiempo de vida media de 73 minutos para el etanol y de 198 para el acetato (3).

Aunque es evidente que los resultados obtenidos en animales no son totalmente extrapolables a los seres humanos, puede resultar de especial interés el hecho de que los niveles basales de acetato son más altos en las ratas alcohólicas que en las controles, lo que corrobora la posible utilidad diagnóstica de este marcador en el alcoholismo.

Por último, y con objeto de obtener algunos datos que permitan extraer conclusiones médico-legales en el campo de la intoxicación etílica, parece que sería conveniente estudiar en un futuro la cinética de distribución del acetato en los distintos compartimientos subcelulares, así como los cambios que sufre este metabolito en el cadáver con relación a la data.

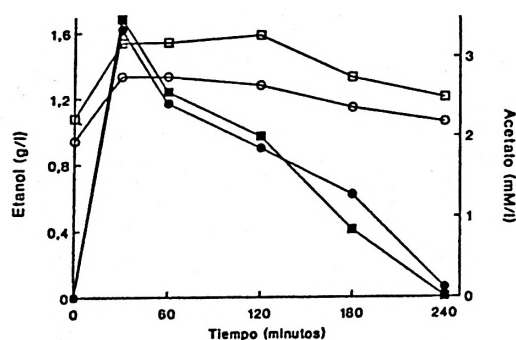


Fig. 1. Perfil metabólico del etanol y el acetato en ambos grupos de ratas, tras la administración i.p. de una dosis única de 1,5 g etanol/kg peso. Cada punto corresponde al valor promedio de 5 animales. Grupos: etanol-control (●), acetato-control (○), etanol alcohólicas (■), acetato-alcohólicas (□).

Resumen

Se estudian los niveles de etanol y de acetato, producto último del catabolismo hepático del

etanol, en 60 ratas divididas en dos grupos (1: Controles; 2: Alcohólicas), en condiciones basales y tras la administración de una dosis única de etanol en solución acuosa por vía intraperitoneal. La toma de la muestra se realizó a diferentes tiempos de evolución tras la inyección de etanol (30, 60, 120, 180 y 240 min). Las determinaciones se realizaron en plasma mediante Cromatografía de Gases en Espacio de Cabeza (GC-HS). Los animales habituados al etanol alcanzan niveles de acetato más elevados que los animales control, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de animales a los 0, 30, 120 y 180 minutos.

Palabras clave: Acetato, Etanol, Alcoholismo, Rata.

Bibliografía

1. Bruno, R., Iliadis, A., Treffot, M. J., Mariotti, B., Cano, J. P. y Jullien, G.: *For. Sci. Int.*, 21, 215-221, 1983.
2. Giles, H. G., Meggiorini, S. y Vidins, E. I.: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 64, 717-719, 1986.
3. Girela, E., Hernández-Cueto, C. y Villanueva, E.: IV Jornadas anuales de Medicina Legal. Cádiz, 1990.
4. Jenkins, W. J., Cakebread, K. y Palmer, K. R.: *The Lancet*, 1, 1048-1049, 1984.
5. Korri, U. M., Nuutinen, H. y Salaspuro, M.: *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 9, 468-471, 1985.
6. Lindros, K. O.: *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 7, 70-75, 1983.
7. Lundquist, F.: *Acta Physiol. Scand.*, 175: 97, 1960.
8. Lundquist, F., Tygstrup, N., Winkler, K., Mellemegaard, K. y Munck-Petersen, S.: *J. Clin. Invest.*, 41, 955-961, 1962.
9. Nuutinen, H., Lindros, K. y Salaspuro, M.: *Alcoholism* (NY), 7, 163-168, 1983.
10. Nuutinen, H., Lindros, K., Hekali, P. y Salaspuro, M.: *Alcohol*, 2, 623-626, 1983.
11. Nuutinen, H.: *Scand. Gastroenterol.*, 21, 678-684, 1986.
12. Palmer, K. R. y Jenkins, W. J.: *Gut*, 23, 729-733, 1982.
13. Roine, R. P., Korri, U. M., Ylikahri, R., Penttilä, A., Pikkariainen, J. y Salaspuro, M.: *Alcohol Alcohol.*, 23, 123-126, 1988.
14. Salaspuro, M. P. y Lieber, C. S.: *Ann. Clin. Res.*, 10, 294-297, 1978.
15. Sanchis, R., Sancho-Tello, M. y Guerri, C.: *Alcohol Alcohol.*, 21, 295-305, 1986.
16. Skutches, C. L., Holroyde, C. P., Myers, R. N., Paul, P. y Reichard, G. A.: *J. Clin. Invest.*, 64, 708-713, 1979.
17. Towell, J. F., Barboriak, J. J., Townsend, W. F., Kalbfleisch, J. H. y Wang, R. I. H.: *Clin. Chem.*, 32, 734-738, 1986.
18. Tsukamoto, S., Muto, T., Nagoya, T., Shimamura, M., Saito, M. y Tainaka, H.: *Alcohol Alcohol.*, 24, 101-108, 1989.
19. Turner, N. R., Thomas, S., Arthur, M. P. J. y Wright, R.: *Gut*, 26, A1100, 1985.

