

11261



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
DEPTO. FARMACOLOGÍA, FACULTAD DE MEDICINA

2  
2ej.

**MODIFICACIÓN DE LOS NIVELES DE  
ETANOL Y ACETALDEHIDO EN SANGRE  
DE RATAS TRATADAS CON AGENTES  
ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS  
B I O M É D I C A S  
(ÁREA: FARMACOLOGÍA)  
P R E S E N T A:

**MVZ. IVONNE CABALLERO CRUZ**

Facultad de Medicina

Comité tutorial:



Dra. Martha Zentella de Piña  
M en C. Marte Lorenzana J.  
Dra. Alma E. Rocha Hernández.  
Dra. Ma. Dolores Ramírez G.

México D.F., Junio de 1998.

264014

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**A mi esposo y amigo:  
Eduardo Jaimes H.**

**A mis padres:  
Eduardo Caballero y Alicia Cruz,  
a quienes doy gracias por su apoyo y  
ejemplo.**

Deseo agradecer a mi comité tutorial el valioso apoyo y tiempo dedicado a este trabajo. A la Dra. Martha Zentella, por la confianza y el apoyo que me sigue brindando. Al Dr. Marte Lorenzana J., por su disposición, facilidades y confianza con las que sigo contando. A la Dra. Ma. Dolores Ramírez, quien aportó valiosas ideas, y quien me convenció de que debe haber entusiasmo por hacer trabajos experimentales. A la Dra. Alma Rocha Hernández, a la que agradezco el consejo y ejemplo para ingresar a un posgrado, así como por su valiosa amistad.

Al comité evaluador integrado por el Dr. Marco A. Juárez, por las excelentes correcciones a este trabajo escrito. Al Dr. Marco T. Gonzáles, por sus sugerencias, y al Dr. Héctor Riveros, por la asesoría y revisiones realizadas.

Al MVZ. Eduardo Jaimes H., esposo y compañero, quien me ayudo en algunas largas y casi interminables jornadas de trabajo, quien además me brinda su apoyo y a quien agradezco sus valiosas sugerencias.

El presente trabajo se elaboró en el laboratorio 5 del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, con el apoyo de DGAPA IN209297.

*"Y el vino que alegra el corazón del hombre,  
El aceite hace brillar el rostro,  
Y el pan que sustenta la vida del hombre."*

*Salmos 104:15.*

*"Dad la sidra al desfallecido,  
y el vino a los de amargado ánimo."*

*Proverbios 31:6.*

*"¿Para quien será el hay? ¿Para quien el dolor?  
¿Para quién las rencillas?  
¿Para quién las quejas ¿Para quien las heridas en balde?  
¿Para quién lo amaratado de los ojos?"*

***Para los que se detienen mucho en el vino.***

*Para los que van buscando la mistura.*

*No mires al vino cuando rojea,  
Cuando resplandece su color en la copa.*

*Se entra suavemente;*

*Mas al fin como serpiente morderá,*

*Y como aspid dará dolor.*

*Tus ojos mirarán cosas extrañas,*

*Y tu corazón hablará perversidades.*

*Serás como el que yace en medio del mar,*

*O como el que está en la punta de un mastelero.*

*Y dirás: Me hirieron, más no me dolió;*

*Me azotaron, más no lo sentí;*

*Cuando despertare, aún lo volveré a buscar."*

*Proverbios 23: 29-35.*

## INDICE

	Página
<b>RESUMEN</b>	vi
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	
1.1 Aspectos históricos.	1
1.2 Epidemiología.	3
1.2.1 Sobre el consumo habitual de sustancias.	4
1.2.2 Clasificación epidemiológica del alcoholismo en México.	5
1.3 Metabolismo del alcohol y del acetaldehído.	5
1.3.1 Absorción y distribución del etanol	6
1.3.2 Etanol endógeno	10
1.3.3 Metabolismo hepático del etanol	11
1.3.4 Sistema microsomal oxidante del etanol	14
1.3.5 Catalasa	14
1.3.6 Oxidación no enzimática del etanol	15
1.3.7 Vía no oxidativa del etanol	16
1.3.8 Metabolismo del acetaldehído	17
1.3.9 Factores que afectan el metabolismo del etanol	20
1.4 Agentes Antiinflamatorios no esteroideos.	22
1.4.1 Mecanismo de acción de los AINEs	22
1.5 Antecedentes y justificación del trabajo	24
1.6 Objetivos e hipótesis	28
<b>2. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	29
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	32
<b>4. CONCLUSIONES</b>	55
<b>5. BIBLIOGRAFÍA</b>	57
ANEXO 1 Farmacología general de los AINEs	70
ANEXO 2 Cuantificación de etanol en sangre y Cromatografía de gases	74

**RESUMEN:**

IVONNE CABALLERO CRUZ. Modificación de los niveles de etanol y acetaldehído en sangre de ratas tratadas con agentes antiinflamatorios no esteroideos. (Bajo la dirección de Martha Zentella de Piña, Marte Lorenzana Jiménez, M. Dolores Ramírez G., Alma E. Rocha Hernández).

El alcohol es una sustancia de consumo humano capaz de modificar algunos marcadores bioquímicos y morfológicos cuando se administra aguda o crónicamente. Después de que el alcohol es ingerido, se absorbe en corto tiempo a través del tubo digestivo para ser metabolizado principalmente en el hígado. El etanol es una de las sustancias de abuso más consumidas por la población por lo que ha sido objeto de estudio en varias ramas del conocimiento. Otras sustancias de alto consumo son los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), que tienen la propiedad de producir analgesia y de inhibir los procesos inflamatorios a nivel de la ciclooxigenasa, disminuyendo la síntesis de prostaglandinas, mientras que el etanol promueve la síntesis de dichos autacoides. En este trabajo se estudió el efecto de los AINEs sobre el metabolismo del etanol cuando se administran las dos sustancias de manera simultánea, ya que el consumo de ambos ocurre con cierta frecuencia. La razón del uso simultáneo puede deberse a la búsqueda de alivio de la irritación e inflamación producidos por la ingesta de etanol. Aunque estudios previos demuestran que los AINEs administrados simultáneamente protegen de la acción del etanol, el mecanismo que explica tal efecto aun no ha sido aclarado, sin embargo pudiera ser a través de abatir la producción del acetaldehído que es más tóxico. Por lo que, en este estudio se midieron los niveles de etanol y acetaldehído, el segundo como producto de la oxidación etílica en ratas que fueron intoxicadas de forma aguda con etanol y tratadas simultáneamente con algunos AINEs como la aspirina, naproxen, piroxicam y dipirona, con el fin de conocer el efecto sobre la oxidación del etanol. La técnica analítica empleada para cuantificar el etanol y el acetaldehído fue la cromatografía de gases (Head-Space). Los resultados obtenidos indicaron que la aspirina, naproxen, piroxicam y dipirona disminuyen y modifican el curso temporal de la concentración sanguínea de etanol y su metabolito en comparación con el grupo testigo. Los niveles de acetaldehído fueron menores durante las primeras dos horas post-intoxicación y el curso temporal que mostraron a través del tiempo fueron diferentes con respecto al grupo control. También se observó correlación entre las concentraciones de etanol y acetaldehído en los grupos que recibieron 2.5g de etanol más solución salina ( $r^2= 0.7907$ ), aspirina ( $r^2=0.5301$ ) y naproxen ( $r^2= 0.9436$ ). En los grupos que recibieron 5g de etanol más aspirina ( $r^2=0.9033$ ), dipirona ( $r^2= 0.7876$ ) y piroxicam ( $r^2=0.572$ ). Y el grupo que recibió 7.5g de etanol más sol. salina ( $r^2=0.8892$ ). Los grupos que recibieron piroxicam, dipirona y naproxen además de 2.5 g de etanol/kg de peso presentaron un aumento en las concentraciones de acetaldehído ( $p<0.04$ ) a las 4 horas post-intoxicación en comparación al grupo control. Los resultados mostraron que los AINEs modificaron el curso temporal de los niveles sanguíneos de etanol y los de acetaldehído. Esto puede deberse como lo indican algunos trabajos previos a que otros AINEs actúan como desacoplantes débiles de la fosforilación oxidativa, cuya consecuencia es un mayor consumo de oxígeno y de equivalentes reductores producidos durante la oxidación del etanol. Otro factor que podría influir sobre los niveles de etanol y acetaldehído es una inhibición de la velocidad de absorción del alcohol en el tubo digestivo que explicaría la disminución de etanol y de acetaldehído observados en algunos grupos que recibieron AINE.

IVONNE CABALLERO CRUZ. Modification of ethanol and acetaldehyde levels in blood of rats treated with non steroidal antiinflammatory drugs. (Under the address of Martha Zentella de Piña, Marte Lorenzana Jiménez, M. Dolores Ramírez G., Alma Rocha Hernández). Alcohol is capable of modifying biochemical and morphological properties when administered acutely or chronically. After alcohol is ingested, it is absorbed in short time in the digestive tube being metabolized afterwards mainly in the liver. Due to the fact that ethanol is one of the substances which is most abused by the population it has been an object of interest for further study. Other frequently used substances are the non steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs), which have the property of producing analgesia and of inhibiting the inflammatory process by interfering at the level of the enzyme cyclooxygenase, and thus reducing the synthesis of prostaglandin. On the other hand ethanol promotes the synthesis of such autacoides. Because the consumption of NSAIDs and alcohol occurs frequently, the former probably in an attempt to reduce the irritation and inflammation caused by ethanol, we decided to study the effect of NSAIDs on the metabolism of ethanol when both were administered simultaneously. Previous studies demonstrated that the administration of NSAIDs protected against the action of ethanol, the biochemical mechanisms that explain such effect has not been clarified, however we suggest that one of the possible explanations could be the reduction in the synthesis of acetaldehyde which is more toxic. Therefore, in this study we measured ethanol and acetaldehyde levels, the latter as a product of ethylic oxidation in rats acutely intoxicated with ethanol and treated simultaneously with some NSAIDs such as aspirin, naproxen, piroxicam and dypirone. The aim was to know the effect that these had on the oxidation of ethanol. The analytical technique employed to quantify the ethanol and the acetaldehyde levels was gas chromatography (Head-Space). Results indicated that aspirin, naproxen, piroxicam and dypirone reduced and modified the temporary course of ethanol and acetaldehyde concentrations in blood in comparison with the control group. The levels of acetaldehyde were smaller during the first two hours post - intoxication with a different temporary course with respect to the control group. Correlation was observed between ethanol and acetaldehyde concentrations in the groups that were treated with 2.5g of ethanol plus saline solution ( $r^2 = 0.7907$ ), aspirin ( $r^2 = 0.5301$ ) and naproxen ( $r^2 = 0.9436$ ); as well as in the groups that received 5 g of ethanol plus aspirin ( $r^2 = 0.9033$ ), dypirone ( $r^2 = 0.7876$ ) and piroxicam ( $r^2 = 0.572$ ); and finally also in the group that received 7.5 g of ethanol plus saline solution ( $r^2 = 0.8892$ ). The groups that received piroxicam, dypirone and naproxen in addition to 2.5 g of ethanol/kg of weight presented an increase in the concentrations of acetaldehyde ( $p < 0.04$ ) 4 hours post - intoxication in comparison with the control group. Previous projects suggest that the protective effect of the NSAIDs is due to the fact that they act by uncoupling the oxidative phosphorylation bringing as a consequence an increase in the consumption of oxygen and NADH during the oxidation of ethanol. Another explanation for the decrease of ethanol and acetaldehyde concentrations in blood after the use of NSAIDs is a reduction of the absorption speed of alcohol in the digestive tube.

### 1.1 Aspectos históricos:

Las bebidas alcohólicas fueron conocidas por el hombre hace más de 100,000 años aproximadamente. Muchas de las bebidas se originaron de la fermentación de las uvas, granos y miel que permanecieron depositadas accidentalmente en cavidades rocosas, o que eran guardados en recipientes de piedra. El hombre del Neolítico de hace 8, 000 años seguramente elaboró vinos con el jugo de frutos como la uva, al almacenarla por tiempo prolongado.

Algunos antropólogos sugieren que la aparición de la etapa agrícola facilitó la elaboración de algunos vinos, que ya se consumían junto con los alimentos. En el viejo Egipto el vino fue conocido entre el cuarto y quinto milenio a.C. (Kricka y cols. 1979). Incluso la Biblia hace numerosas referencias sobre los efectos ocasionados por el consumo del vino, donde se hace mención a historias como la de Noé (Biblia versión 1991).

El papel que han jugado las bebidas alcohólicas en el desarrollo de la sociedad, especialmente el vino, ha promovido profundos cambios a través del tiempo. Originalmente el vino fue una comodidad y privilegio de pocos, además de relacionarse con actividades que involucraban los ritos religiosos, donde el vino rojo era símbolo de la sangre. Desde los escritos cuneiformes en las tablas de la antigua Persia, se mencionaba el uso del vino como un sacramento (Kricka y cols. 1979).

Actualmente el vino tiene un papel religioso, y no deja de ser una bebida alcohólica que está al alcance de muchos. Las bebidas alcohólicas y los problemas subsecuentes a la intoxicación siguen siendo un problema de salud no resuelto que se conocieron en el inicio de varias civilizaciones. Un ejemplo son los frescos egipcios y textos jeroglíficos que describen escenas del estado de embriaguez. En Egipto existieron incluso leyendas que refieren el uso de bebidas alcohólicas por dioses como Hathor y Ra durante una venganza en contra del género humano por su desobediencia. En Grecia el dios del vino era Baco, el cual era honrado con el consumo del vino.

Paralelamente en el año 400 a.C el consumo del vino se estableció en la vida de los griegos (Kricka y cols. 1979). Personajes como Hipócrates emplearon el vino en la prescripción, como un agente purgante en pacientes constipados, por lo que su uso se amplió con fines de los únicamente religiosos y sociales a los curativos (Lucia y cols. 1963). En la Edad Media, algunos alquimistas creyeron que el alcohol era el elixir de la vida largamente buscado. El alcohol se utilizó entonces como remedio para prácticamente todas las enfermedades, según lo indicó el vocablo whisky (en galés: *usquebaugh*, que significa "agua de vida" (Bowman, 1984).

Es notable que en algunas civilizaciones el uso del alcohol fue un rasgo de la vida diaria. Tal es el caso de la antigua Inglaterra Victoriana, donde el consumo de bebidas alcohólicas aumentó a mediados de 1870, sin embargo el abuso de las bebidas alcohólicas sigue siendo el mayor problema en tiempos modernos al aumentar su prevalencia (Kricka y cols. 1979).

En lugares de América la civilización Tolteca, la Maya y la Azteca descubrieron la forma de preparar bebidas alcohólicas fermentadas. Ante los problemas relacionados con la ingestión de alcohol, estos pueblos dictaron leyes muy severas que iban desde el simple consejo, hasta el repudio social de los alcohólicos y los castigos físicos como el encarcelamiento y aún la pena de muerte (Milke, 1995).

Los ancianos eran los únicos a los que se les permitía beber sin restricción, ya que su vida activa había terminado y no serían una carga para la sociedad (Milke, 1995). En la cultura Mexica, antes de la conquista, la elaboración y consumo de bebidas alcohólicas se representa por el pulque, al cual se le denominó *octli* inicialmente. El pulque se obtenía de un proceso de fermentación del líquido obtenido del raspado del maguey, llamado aguamiel. Otras bebidas como el *tesgüino* de los Tarahumaras son sin duda una muestra de que existió una cultura en la que se acostumbraba el consumo de estas bebidas (Soustelle, 1983).

## 1.2 Epidemiología:

El alcohol es la droga de la que se abusa con mayor frecuencia en el mundo. En Estados Unidos, su consumo se lleva a cabo de manera regular por las personas adultas, y aproximadamente de 15 a 20 millones son alcohólicas. Las pérdidas por accidentes debidos al alcohol en los Estados Unidos son de 100, 000 vidas anuales y las pérdidas económicas de hasta \$100 mil millones de dólares (Adams, y cols. 1993). De las personas que ingresan al hospital, 20 a 40 % tienen problemas relacionados con el alcohol, de los cuales los más comunes son los infartos al miocardio (Adams, y cols. 1993).

En México la Encuesta Nacional de Adicciones (1990), mostró que en un grupo de 12,581 consumidores de bebidas alcohólicas, la prevalencia de consumo en la población urbana de 12 a 17 años es de 27.6 %, mientras que para los individuos de 18 a 65 años es de 53.5 %, y para las mujeres, este porcentaje es inferior al 1%. Las bebidas de mayor preferencia por parte de los bebedores son la cerveza (89 %), y los destilados (75 %). En cuanto a la escolaridad se apreció un aumento en la prevalencia de dependientes a medida que se reduce el número de años cursados.

Del total de bebedores y exbebedores, el 16 % se vio involucrado en accidentes o violencia alguna vez por el consumo de bebidas alcohólicas, el 14.9 % reportó haber tenido problemas familiares y el 12.4 % ha tenido problemas de salud por este motivo.

En relación a la población femenina embarazada, el 16.8 % consumió bebidas alcohólicas en su último embarazo.

En cuanto a regiones del país, en la región centro (Guanajuato, Hidalgo, México, Morelos, Puebla, Querétaro y Tlaxcala) es donde se observa la prevalencia de dependientes al alcohol más elevada (7.2 %).

Los problemas relacionados con el consumo de alcohol se pueden dividir en dos grupos (Encuesta Nac. de Adicciones 1990):

- 1.- Los problemas personales donde el alcohol causa efectos físicos adversos en los bebedores, y
- 2.- Los problemas sociales del bebedor son: con la política de

trabajo, con la familia, su salud, de violencia y una alta proporción de accidentes automovilísticos (Gessner, 1993).

En 1993, grupos de recuperación de Alcohólicos Anónimos proporcionaron información al sistema de vigilancia epidemiológica (SISVEA, 1993), sobre la prevalencia en el consumo de alcohol. La edad promedio de los sujetos que asisten a estos lugares es de 35 años (52.8%), hombres en su mayoría (91.8%); 45.8% de las personas reportó no tener escolaridad, el estado civil más común fue el casado (39.8%). La edad de inicio para el consumo de alcohol en la mitad de ellos fue antes de los 14 años (51.4%). Las bebidas que consumen más frecuentes fueron los destilados (26.3%). La frecuencia de consumo más común fue la diaria (58.8%), y en cantidad, destaca el consumo de más de cinco copas por ocasión (76.4%).

Unas de las instituciones que revelaron datos interesantes son las unidades hospitalarias, las cuales dieron a conocer que en 1993 de 3121 casos atendidos en urgencias médicas, del total de pacientes captados, las personas que reportaron consumir alcohol al momento del accidente representaron el 26.3% del total de los casos (SISVEA 1993). El tipo de bebida consumida preferentemente fue la cerveza (30.7%), La frecuencia de ingestión para cualquier tipo de bebida es de 35.7% una vez por semana. En cuanto a la cantidad, sobresale el consumo de una o dos copas por ocasión (45.8%) y el 39.2% refirieron embriagarse semanalmente. Del total de sujetos registrados, el 8.1% (n=253) refirió el consumo de otro tipo de drogas. El 37.1% afirmó consumir medicamentos como los analgésicos para calmar el dolor. A los servicios médicos acudieron el 3.3% (n=103) por intoxicación con otras drogas y alcohol (SISVEA, 1992; SISVEA, 1993).

### **1.2.1 Sobre el consumo habitual de sustancias adictivas:**

El 59.3% de los Individuos que asistieron al hospital por algún padecimiento médico, refirió el consumo habitual de alguna sustancia adictiva; destacando el consumo de tabaco (26.7%), alcohol (24.2%) y analgésicos (2.8%). Las personas que reportaron un consumo habitual de alcohol, acudieron por padecimientos como cirrosis (11.7%), afecciones osteomusculares (7.1%) y bronquitis (3.9%). Las

personas consumidoras de analgésicos, solicitaron atención médica por padecimientos como cirrosis (11.4%) cáncer de tráquea, bronquios o pulmones (5.7%), (SISVEA, 1993).

### 1.2.2 Clasificación epidemiológica del alcoholismo en México:

En la Encuesta Nacional de Adicciones (ENA 1990), se establecieron siete patrones que correlacionan el consumo de alcohol en México:

- 1.- **Abstemios:** Personas que no consumen bebidas alcohólicas o que lo hacen con una frecuencia menor a una vez por año.
- 2.- **Bebedor poco frecuente:** Personas que reportan consumir una vez al año o con mayor frecuencia pero menos de una vez al mes.
- 3.- **Bebedores moderados de bajo nivel:** Consumo una vez al mes o con mayor frecuencia, pero menos de una vez por semana y nunca consumen más de cinco copas por ocasión de consumo.
- 4.- **Bebedores moderados de alto nivel:** Consumen una vez al mes o con mayor frecuencia, pero menos de una vez por semana y consumen 5 copas o más por ocasión de consumo, por lo menos una vez al año.
- 5.- **Bebedores frecuentes de bajo nivel:** Consumen una vez por semana o con mayor frecuencia y que nunca consumen 5 copas o más por ocasión de consumo.
- 6.- **Bebedores frecuentes de alto nivel:** Consumen una vez por semana o con mayor frecuencia y que consumen 5 copas o más por ocasión de consumo, por lo menos una vez al año.
- 7.- **Bebedores frecuentes consuetudinarios:** Consumen una vez por semana o con mayor frecuencia y que consumen 5 copas o más por ocasión de consumo, por lo menos una vez por semana.

### 1.3 Metabolismo del alcohol y del acetaldehído :

El término alcohol es usado invariablemente como etanol, alcohol etílico, alcohol absoluto, alcohol deshidratado, hidrato etílico, alcohol anhidro e hidróxido etílico. Su fórmula química es:  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (Merck Index 1989), y se produce a partir de otros alcoholes o bien puede originarlos, ej. metanol  $\text{CH}_3\text{OH}$ ; y butanol  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$

entre otros. El alcohol es una sustancia de bajo peso molecular ( $46.06 \text{ g mol}^{-1}$ ), es un alcohol primario, líquido a temperatura ambiente, volátil y con baja reactividad química. Es una sustancia polar altamente soluble en agua, cloroformo y acetona. Es insoluble en sustancias hidrofóbicas como las grasas. A diferencia de otras drogas el alcohol es una fuente sustancial de energía, y puede aportar  $7.1 \text{ Kcal}$  ( $29.7\text{KJ}$ ) por gramo (Lieber, 1995), valor que excede la energía contenida en carbohidratos y proteínas. Las propiedades físicas y químicas del etanol son importantes y se aprecian en su distribución corporal después del consumo. La mayor parte del etanol ingerido (95%) queda en el cuerpo como un constituyente estable hasta que es convertido finalmente por varios procesos enzimáticos a bióxido de carbono y agua. El etanol puede detectarse en el aliento como consecuencia de su alta volatilidad y su excreción por esta vía puede ser del 1 al 15 % del total eliminado. Por lo que el etanol consumido en su mayoría puede contenerse en los compartimentos acuosos incluyendo la orina, en donde del 1 al 5% puede llegar a excretarse. El etanol se ha descrito como una sustancia liposoluble, lo cual es falso ya que tiene la capacidad de atravesar libremente la bicapa lipídica de la membrana por ser de tamaño pequeño y pasar por difusión pasiva (Krika y cols. 1979., Kathryn y cols. 1989)

### **1.3.1 Absorción y distribución del etanol:**

El etanol es absorbido por la mucosa del tubo digestivo, incluyendo la mucosa bucal y el recto (Bode, 1980; Kricka 1979). Éste difunde uniformemente en los líquidos corporales y es detectado en sangre a los 5 minutos después de ingerirlo, la concentración máxima en sangre cuando se consumen hasta dos gramos de etanol se obtiene a los 30-90 minutos (Bode, 1980). La absorción del etanol es más rápida en el duodeno y en el yeyuno que en el estómago y es menor aún en las otras partes del intestino (Bode, 1980). La concentración de etanol en el íleon humano se relaciona directamente con el nivel sérico (Halsted y cols. 1973). Debido a que el etanol atraviesa libremente las membranas biológicas por un proceso de difusión simple; es prácticamente imposible bloquear en su totalidad la absorción *in vivo*. (Kalant, 1971).

Una vía de absorción del etanol es por inhalación de vapores a través del epitelio pulmonar (Gibson, 1975, Nomiyama, 1974). El etanol puede absorberse por vía parenteral como intraperitoneal, intratecal o por inyección subaracnoidea. La absorción del etanol en piel intacta no ocurre, debido a que la lámina de queratina es impermeable. En forma similar la vejiga es impermeable, por lo que previene la reabsorción del contenido de etanol en orina contenida en la vejiga (Kalant, 1971). Menos del 10 % del etanol ingerido es eliminado a través del riñón, pulmón y piel (Moser y cols. 1968; Bosrom y cols. 1981). Por lo que la mayor parte del metabolismo del etanol ocurre principalmente en el hígado donde es oxidado. Figura 1.

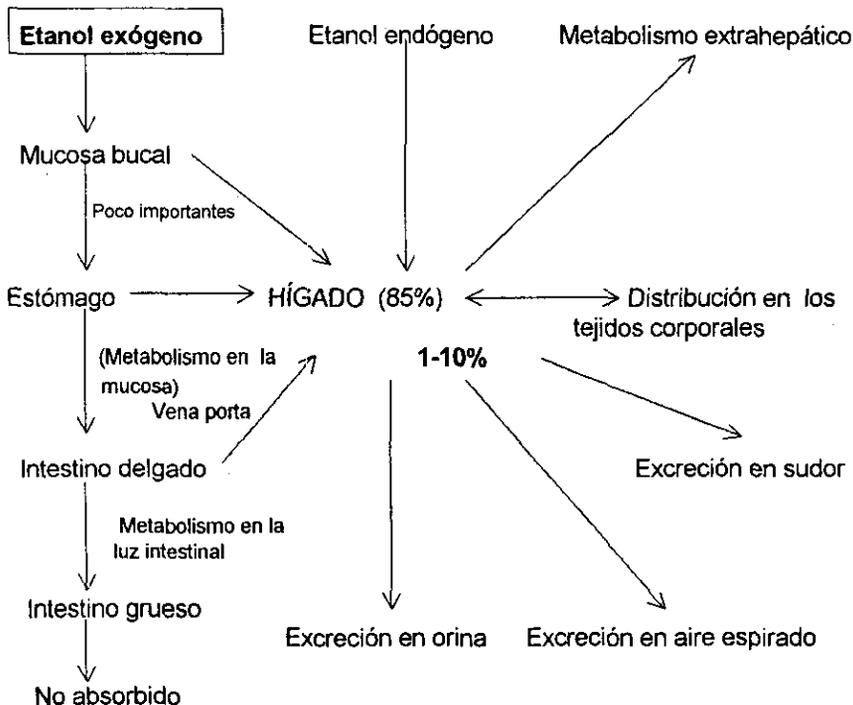


Figura 1. Absorción, metabolismo y excreción del etanol.

Los factores que modifican la absorción del etanol se enlistan en el cuadro 1.

Cuadro 1.  
Factores que modifican la absorción del etanol (Kalant, 1971)

Concentración del etanol
Flujo sanguíneo en el sitio de absorción
Propiedades irritantes del etanol
Velocidad de ingesta
Tipo de bebida
Alimento
Vaciamiento gástrico
Deficiencias proteicas
Temperatura corporal
Ejercicio físico
Ciclo menstrual.

Cuando el etanol se ingiere en una sola dosis, el pico de la concentración llega a ser más alto, que cuando se toma fraccionado en pequeñas dosis. Esto puede deberse a que el gradiente de concentración es más alto en el primer caso que en el segundo y difunde más fácilmente (Cooke y cols. 1969).

Una limitante de este mecanismo es que el etanol presenta propiedades irritantes (una concentración de 6.5 M puede causar erosiones superficiales, hemorragias y parálisis del músculo liso del estómago). Las mismas propiedades irritantes del etanol pueden limitar la absorción del etanol por inhalación (la máxima concentración tolerada en el aire inspirado es de 4.3 mmolas/litro de aire aproximadamente) (Kalant, 1971).

La absorción del etanol es retardada por la presencia de otros agentes químicos (congéneres). El etanol en espíritus destilados es absorbido mucho más rápidamente que el etanol presente en vinos y cervezas.

La presencia de alimento sólido en el estómago retarda el vaciamiento gástrico y esto reduce la absorción eficiente del etanol (Lin y cols. 1976).

Los intervalos largos de tiempo entre comida y bebida evitan el retardo de la absorción. La ingesta de alimentos acompañada o precedida por una dosis de etanol produce una disminución del pico de etanol (Halsted y cols. 1973; Lin y cols. 1976; Husam y cols. 1983).

El tipo de alimento tiene un efecto dramático sobre los niveles séricos de etanol; ya que alimentos ricos en proteínas, grasas y carbohidratos afectan la absorción del etanol. Los alimentos con alto contenido de carbohidratos inhiben la absorción de etanol y es más rápida cuando es deficiente en proteínas. El rápido vaciamiento gástrico, promueve la absorción del etanol. En pacientes con gastrectomía, la absorción del etanol es muy rápida debido a que el etanol se absorbe eficientemente en duodeno y yeyuno. La disminución de la temperatura corporal, el ejercicio físico, mental y la acción de anticolinérgicos y drogas simpatomiméticas promueven una menor absorción del etanol, en el caso del ejercicio físico se producen cambios en la circulación esplácnica del tubo digestivo (Krebs y Perkins, 1970; Krebs y cols. 1969).

En las mujeres se registran variaciones en la absorción del etanol, determinadas por los niveles hormonales (ciclo menstrual). En los hombres después de la castración hay un aumento en la oxidación del etanol por el efecto modulador de los andrógenos sobre la expresión de la ADH, y no se conoce con certeza el papel de la absorción (Jones y Jones, 1975).

La velocidad de distribución en los tejidos del cuerpo es variable y depende de una serie de factores como el flujo sanguíneo, permeabilidad y la masa corporal. El etanol entra por un proceso de difusión pasiva y alcanza concentraciones máximas en la sangre y en tejidos que tienen un alto flujo sanguíneo. Órganos como el cerebro, intestinos, riñón e hígado llegan a un rápido equilibrio, mientras que el músculo esquelético lo alcanza más lentamente por tener menor aporte de sangre (Kalant y cols. 1971). La masa de tejido es un factor importante, pero el equilibrio y concentración de etanol en los diferentes tejidos depende solamente del contenido relativo de agua. Así, los hombres al poseer mayor volumen de agua corporal, presentan menor concentración de alcohol en sangre en comparación con las mujeres después de ingerir una dosis similar (Kalant y cols. 1971). Al principio, conforme se absorbe el etanol, la concentración arterial es mayor que la venosa; pero a medida que se alcanza la fase de oxidación del etanol, la difusión se hace en sentido opuesto de manera que las concentraciones venosas son ligeramente

mayores que las arteriales (Zentella y cols. 1993).

En el cuadro 2 se refieren las cantidades de etanol alcanzadas en los tejidos o fluidos según el contenido de agua presente.

Cuadro 2.

Tejido o fluido en sangre	[ ] relativa de etanol de agua	Contenido absoluto
Sangre	1	80.5
Suero	0.91-1.17	-
Plasma	0.91-1.18	-
Orina	1.33	-
Saliva	1.21	-
Bilis	1.10	98
Fluido cerebrospinal	1.27	99
Cerebro	0.74	76
Riñón	0.92	77
Hígado	0.64	70
Músculo	0.84	74
Miocardio	0.83	77
Bazo	0.88	77
Testículo	0.97	86

### 1.3.2 Etanol endógeno:

El etanol presente en los fluidos corporales puede provenir del etanol sintetizado endógenamente (Lester, 1961). El etanol endógeno es producto de la fermentación bacteriana presente en el intestino y de la acción de la alcohol deshidrogenasa que actúa sobre el acetaldehído derivado del piruvato, Figura. 2

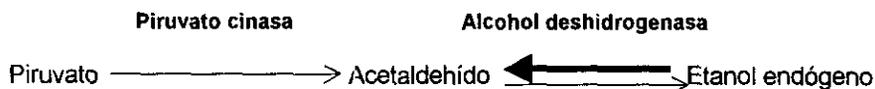


Figura 2.- Síntesis del etanol endógeno.

En ratas normales se demostró la presencia de etanol en el tracto gastrointestinal y sangre portal sin que se les hubiera administrado exógenamente (Krebs y Perkins, 1970). Al administrarle antibióticos, los niveles disminuyeron, pero no en su totalidad. Es probable que algo del etanol endógeno sea producido por un proceso diferente al de la fermentación bacteriana en intestino.

Posiblemente uno de los papeles fisiológicos de la alcohol deshidrogenasa, sea

eliminar el etanol endógeno acarreado desde el intestino a la sangre portal.

Los niveles de etanol endógeno son muy bajos, y están en rangos de 1.5 mg/l (32  $\mu$ M) de sangre (Walker y Curry, 1966, Lin y cols. 1976).

En pacientes con gastroyeyunostomía se ha reportado intoxicación etílica, la cual fue causada por un crecimiento excesivo de *Candida albicans* en el contenido intestinal en segmentos dilatados del yeyuno (Yamashita y cols. 1974).

### 1.3.3 Metabolismo hepático del etanol:

Del 2 al 10% del etanol absorbido es eliminado a través del riñón y pulmones principalmente. El resto del etanol es oxidado en el cuerpo, principalmente en el hígado, que contiene la mayor parte de las enzimas que lo oxidan.

Para ser metabolizado, el etanol es capaz de desplazar al 90% de otros sustratos normalmente utilizados por el hígado, lo que convierte al hepatocito en la principal célula que metaboliza al etanol (Lieber, 1991).

En el hígado se han detectado tres sistemas enzimáticos que oxidan el etanol. El de la alcohol deshidrogenasa (ADH) que es un complejo enzimático localizado en el citosol de la célula, y que cataliza la oxidación del etanol en acetaldehído. En esta reacción se requiere de la presencia de un nicotin adenin dinucleotido (NAD), el cual será reducido a NADH. Otra de las vías metabólicas es el denominado sistema microsomal oxidante del etanol (MEOS), el cual se localiza en los microsomas y requiere de la presencia del citocromo P-450 y oxígeno en presencia de NADPH que se acoplan. En esta reacción, el oxígeno forma peróxido de hidrógeno. El tercer sistema es catalizado por una enzima llamada catalasa y que se encuentra en los peroxisomas de las células hepáticas. Aquí se acopla la oxidación de una molécula de etanol para producir una de acetaldehído con la subsecuente descomposición de una molécula de peróxido de hidrógeno (Figura 3).

# HEPATOCITO

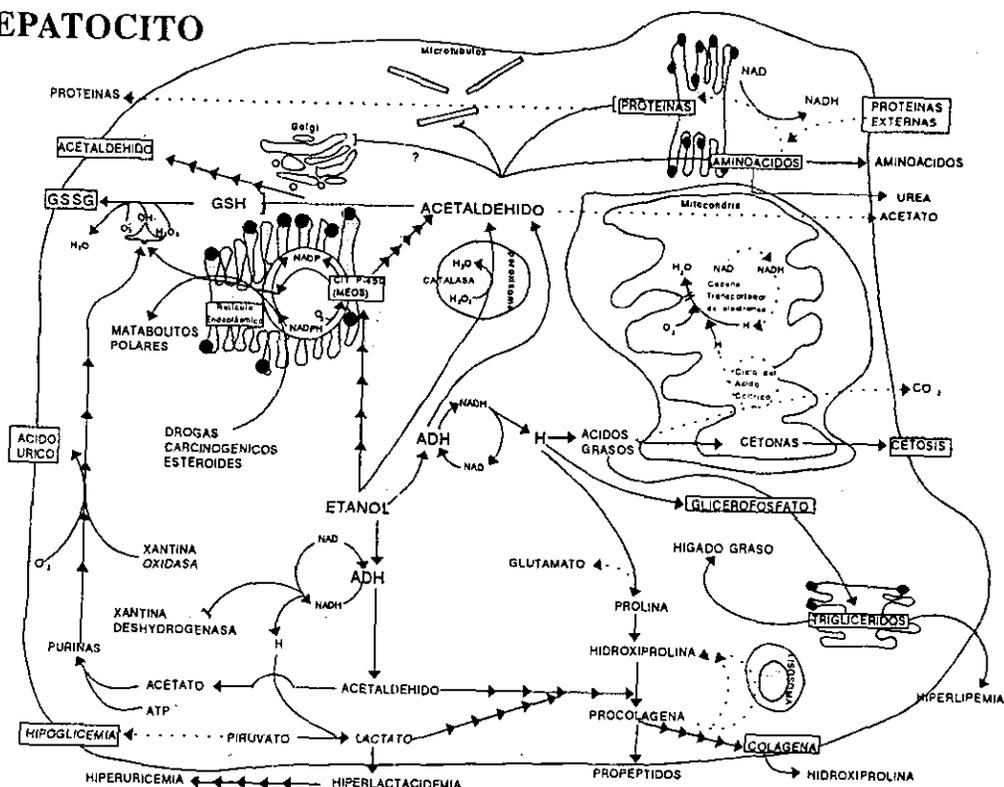


Figura 3. Oxidación del etanol en el hepatocito. Algunas alteraciones y efectos en el metabolismo intermediario debidos a (1) la alcohol deshidrogenasa media la generación de NADH, (2) la inducción de enzimas microsomaes, especialmente P4502E1, y (3) el acetaldehído producido por la oxidación del etanol. Nicotinadeninucleótido (NAD), nicotinadeninucleótido forma reducida (NADH), glutatión reducido (GSH), glutatión oxidado (GSSG). Las líneas punteadas denotan las vías que son bloqueadas parcialmente por el etanol, y las flechas indican las vías estimuladas o activadas por el etanol. El símbolo [ indica interferencia o unión (Lieber, 1991).

La ADH pertenece a una familia de alcohol deshidrogenasas que presentan una gran variedad de isoenzimas. Las ADH y sus isoenzimas son codificadas por más de siete genes diferentes (Danielsson y cols. 1994).

La ADH es de estructura dimerica con subunidades de aproximadamente 40 kDa y en cada subunidad hay 2 átomos de zinc unidos por cisteína que ayudan a estabilizar la estructura. Uno de los átomos de zinc forman parte del sitio activo.

La ADH existe en casi todos los tejidos del cuerpo pero con diferente actividad (Boleda y cols. 1989).

En este proceso se necesita de coenzimas aceptoras de electrones como el  $\text{NAD}^+$ , la cual debe entrar al sitio de unión de la coenzima antes de que el etanol o acetaldehído entre al dominio catalítico. La cinética de esta enzima es de tipo Michaelis-Menten (Burnell y Bosrom, 1989). La disociación del  $\text{NADH}$  es la limitante para que estas enzimas alcancen su máximo nivel (Fan y Plapp, 1995).

Figura 4.



Figura 4.- Reacciones en las que intervienen la alcohol deshidrogenasa y la aldehído deshidrogenasa.

Prácticamente casi todos los tejidos del organismo presentan mayor o menor actividad de la enzima alcohol deshidrogenasa, Cuadro 3.

Cuadro 3.

Actividad de la alcohol deshidrogenasa en diferentes órganos de rata (pH 7.5, con 33 mM de etanol y 4 mM de  $\text{NAD}^+$ ) promedio  $\pm$  error estándar (Boleda, 1989).

Órgano	Actividad	mU/g tejido
Colon	13.5 $\pm$ 1.3	
Epidídimo	10.5 $\pm$ 4.1	
Estómago	11.8 $\pm$ 1.7	
Esófago	16.1 $\pm$ 3.2	
Glándula suprarrenal	4.0 $\pm$ 0.5	
Hígado	260 $\pm$ 50	
Intestino delgado	19.3 $\pm$ 4.5	
Lengua	5.4 $\pm$ 0.5	
Mucosa bucal	3.8 $\pm$ 0.8	
Mucosa nasal	5.3 $\pm$ 2.6	
Mucosa del oído	8.9 $\pm$ 1.3	
Ovarios	7.0 $\pm$ 5.0	
Ojos	5.87 $\pm$ 0.7	
Piel	2.8 $\pm$ 0.3	
Pene	7.5 $\pm$ 8.09	
Pulmón	8.1 $\pm$ 1.4	
Riñón	6.0 $\pm$ 7.0	
Recto	37.3 $\pm$ 7.0	
Tráquea	5.3 $\pm$ 0.7	
Útero	7.4 $\pm$ 7.2	
Vagina	2.5 $\pm$ 4.6	
Vejiga	10.0 $\pm$ 2	

### 1.3.4 Sistema microsomal oxidante del etanol:

Es una vía que se encuentra en los microsomas de diferentes tejidos y que requiere de la presencia del citocromo P-450. En esta reacción (figura 5), se requiere de la oxidación del NADPH y la reducción de una molécula de oxígeno que forma peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). Existen diferentes tipos de citocromos, pero el más eficiente para oxidar el etanol es el P450 2E1 (CYP 2E1), según la nomenclatura de (Nebert y cols. 1991; Nelson y cols. 1993). El CYP 2E1 puede oxidar también el butanol o pentano, y otros xenobióticos como: acetaminofen, acetona y tetracloruro de carbono. Este citocromo posee actividad importante solo cuando la concentración de etanol es alta en individuos no alcohólicos (intoxicación aguda), ya que su afinidad por el etanol es baja con una  $K_m$  de 8-10 mM (Lieber, 1994).

El MEOS es altamente inducible (5 a 10 veces) por sustancias como etanol, pirazol y acetona entre otros (Lieber, 1994; Riveros y cols. 1997).



Figura 5. Reacción catalizada por el MEOS.

### 1.3.5 Catalasa:

Esta enzima está presente principalmente en los peroxisomas y mitocondrias (Lieber, 1992). La catalasa es una proteína oligomérica de cuatro subunidades (60 KDa cada una), de arreglo tetraédrico. Cada subunidad funciona de forma independiente y presenta como grupo prostético una protoporfirina ferrica IX y una molécula de  $NADP^+$  (Fita y cols. 1986). La catalasa es una proteína altamente conservada en eucariontes que se localiza en los peroxisomas (Lieber, 1972). Actúa descomponiendo peróxidos de hidrógeno en el proceso de oxidación del etanol, sin embargo puede llegar a oxidar etanol en presencia de un peróxido orgánico (Figura 6). La principal limitante en la actividad de esta enzima fue la presencia de peróxidos, por lo que su participación en la oxidación etilica es reducida (Kathryn y cols. 1989; Lieber, 1994).

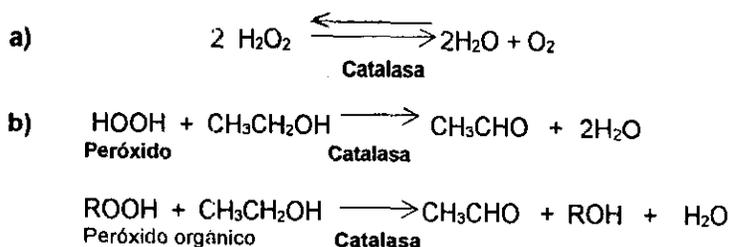


Figura 6. a) Descomposición de peróxidos por la catalasa, b) oxidación del etanol en presencia de peróxidos de hidrógeno y peróxidos orgánicos.

### 1.3.6 Oxidación no enzimática del etanol:

La oxidación no enzimática se ha logrado observar *in vitro* y posiblemente se realice en sistemas *in vivo*. La oxidación no enzimática depende de la presencia de quelatos de fierro y de la formación de radicales hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ).

Los microsomas en presencia de Fe - EDTA, sin participación de los citocromos P450 pueden favorecer la oxidación de etanol. Aquí, la presencia de peróxidos de hidrógeno es muy importante, ya que darán origen a los radicales hidroxilos ( $\cdot\text{OH}$ ). Estos hidroxilos reaccionan con el etanol espontáneamente para formar agua y un radical alcohoxilo, el cual reacciona rápidamente con oxígeno, para formar acetaldehído más un ion superóxido protonado ( $\text{HO}_2^-$ ). El etanol es un excelente atrapador de radicales hidroxilo, por lo que una limitante de la reacción es la presencia de radicales libres hidroxilo. La presencia de radicales  $\cdot\text{OH}$  depende de: a) **Presencia de quelatos de fierro**, b) **Un sistema reductor**, y c) **Disponibilidad de peróxido de hidrógeno (Kathryn, 1989)**.

Por lo tanto las reacciones que producen peróxidos de hidrógeno o ion superóxido promueven la oxidación no enzimática del etanol (Ingelman y cols. 1984).

La oxidación no enzimática pudiera ser poco significativa, debido a que los complejos orgánicos de fierro son poco eficientes para oxidar al etanol, sin embargo la generación de radicales libres a partir la oxidación etílica explica el daño a los tejidos por el etanol (Figura 7).

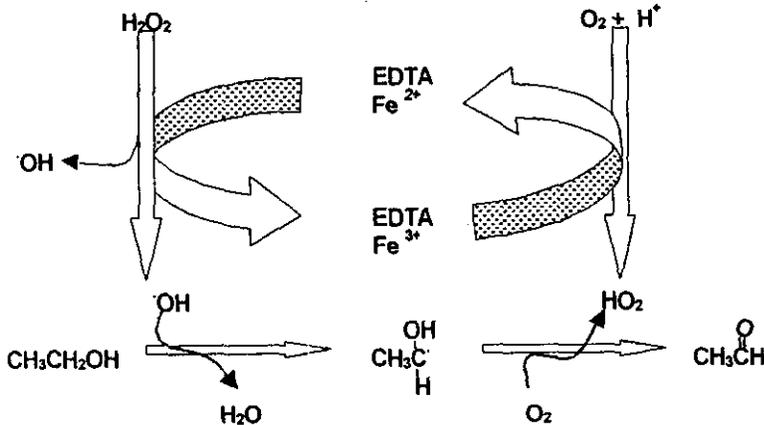


Figura 7. Oxidación no enzimática del etanol.

### 1.3.7 Vía no oxidativa del etanol:

Desde 1963 se describió la capacidad del etanol para formar etilésteres por Goodman y Deykin (Zakim, 1990; Lieber, 1992).

El etanol puede formar etil ésteres *in vivo* y la correspondiente enzima ha sido purificada. También se reportó que en individuos intoxicados de forma aguda con etanol se presentan altas concentraciones de etilésteres de ácidos grasos en páncreas, hígado, corazón y tejido adiposo (Laposata y Lange, 1986). El metabolismo no oxidativo ocurre en los órganos humanos más comúnmente dañados por el abuso del alcohol y de los cuales algunos carecen del metabolismo oxidativo del etanol, lo cual ha llevado a postular que los etilésteres de ácidos grasos pueden tener un papel importante en el daño producido por el etanol (Lieber 1994).

Laposata y Lange (1986) describieron la sintetasa de ésteres etílicos de ácidos grasos (Laposata y Lange, 1986). La **sintetasa de ésteres etílicos de ácidos grasos** (SEEAG), es una enzima dimérica de 50 KDa, que no requiere de CoA ni de ATP para que se lleve a cabo la reacción. Su participación en el metabolismo etílico es poco significativo, sin embargo la presencia de ésteres etílicos de ácidos grasos en los tejidos antes mencionados muestran que la ingesta crónica del etanol causa

daños en órganos que no lo oxidan eficientemente (Lieber, 1992; Lieber, 1994; Laposata, 1986), Figura 8.



Figura 8. Formación de ésteres etílicos de ácidos grasos.  
R: cadena hidrocarbonada de un ácido graso.

### 1.3.8 Metabolismo del acetaldehído:

El acetaldehído es también llamado etanal, aldehído acético y etilaldehído. Su fórmula química condensada es  $\text{C}_2\text{H}_4$ , y su peso molecular es 44.05. Es el producto de la oxidación etílica, miscible en agua y alcohol. La  $\text{DL}_{50}$  en ratas es de 1930 mg/kg. En humanos el acetaldehído ejerce efectos narcóticos, y a grandes dosis puede causar la muerte por parálisis respiratoria (Merck 1989). El acetaldehído es muy importante debido a que es 10 a 30 veces más tóxico que el etanol (Akabane, 1970, Truitt, 1971), su toxicidad se relaciona con su capacidad de unirse covalentemente (forma aductos) con los fosfolípidos, ácidos nucleicos y proteínas, por lo que puede inactivar diversas moléculas biológicas, además de causar lipoperoxidación por 2 mecanismos: 1) estimulando la producción de radicales libres y 2) uniéndose a la cisteína y al glutatión, contribuyendo en ambos casos a la depleción del glutatión (Vina y cols. 1980). Algunos datos experimentales muestran que los niveles alcanzados de acetaldehído en hepatocitos aislados de ratas normales que fueron incubados con 50 mM de etanol fue de 130  $\mu\text{M}$ , niveles que evitan la polimerización de la tubulina (Werner, 1989; Sorrell y Tuma, 1985; Lucas, 1988). El acetaldehído producto de la oxidación etílica es metabolizado por la aldehído deshidrogenasa, la aldehído oxidasa y el sistema microsomal oxidante del acetaldehído (MAOS), principalmente, figura 12. En condiciones normales, el acetaldehído es rápidamente oxidado a acetato principalmente en el hígado (Salaspuro y cols. 1985), sin ser la ruta de eliminación del acetaldehído una limitante en el metabolismo del etanol *in vivo* (Werner, 1989).

**1.- Aldehído deshidrogenasa (ALDH):** grupo de enzimas que catalizan la conversión de aldehído a acetato hasta en un 90%, y que se acopla a la reducción de un  $\text{NAD}^+$ , figura 9 (Farres y cols. 1995). La reacción catalizada por la ALDH es irreversible. Existen varias isoenzimas que difieren según su estructura, movilidad electroforética, propiedades cinéticas y distribución subcelular o el tejido en que se encuentren. A nivel subcelular las diferentes isoenzimas se localizan predominantemente en el citosol y la fracción mitocondrial, además de mostrar cierta heterogeneidad en cuanto a su distribución en órganos y tejidos. En tejidos humanos las isoenzimas I y II se encuentran presentes en hígado, riñón y fibroblastos. La III se encuentra en estómago, pulmones, testículo, bazo y riñón. La tipo IV se localiza en hígado, riñón, corazón, intestino y piel. Estas isoenzimas se dividen en las que tienen alta o baja afinidad según el sustrato sobre el que actúan, ya que son responsables de la oxidación de otros aldehídos como: monoaminas, diaminas y poliaminas biogénicas (Ambroziak y cols. 1991; Arnon y cols. 1995). Se asume que las de baja  $K_m$  son las ALDH I, y que se localizan en la mitocondria, y las ALDH de alta  $K_m$  son las de tipo II, III y IV, localizadas principalmente en citosol (Koivula, 1975; Pietruszko, 1977). Sin embargo, Takada en 1984 detectó la ALDH I y II en el citosol solamente. En cuanto a la  $K_m$  de estas isoenzimas la ALDH I y II es de tipo micromolar con respecto al acetaldehído y al propionaldehído, cuadro 5. Mientras que las isoenzimas III y IV presentan una  $k_m$  en el rango milimolar, por lo que la constante de Michaelis para la coenzima  $\text{NAD}^+$  son milimolares para ALDH I y II, y micromolar para las isoenzimas III Y IV (Werner, 1989). Algunas ALDH tipo II, presentan características muy parecidas como lo muestra el cuadro 4.

Cuadro 4

Propiedades cinéticas y bioquímicas de la ALDH II presentes en eritrocitos e hígado de humano.

PROPIEDADES	ERITROCITOS	HIGADO
Actividad específica de la enzima purificada (mU/mg proteína)	0.443	0.420
Km (acetaldehído)	98 $\mu\text{M}$	93 $\mu\text{M}$
Reacción cruzada con anticuerpos monoespecíficos	+	+
Peso molecular de las subunidades	51 000	53 000
Disulfiram	inhibición	Inhibición
pH óptimo	8.5	8.5
Km de isoenzimas secundarias	93-105 $\mu\text{M}$	91-99 $\mu\text{M}$

En la reacción catalizada por la ALDH es importante la unión previa del NAD<sup>+</sup>, para que el acetaldehído penetre al sitio activo de la enzima (Farres, 1995), figura 9.



Figura 9. Reacción que cataliza la aldehído deshidrogenasa.

**2.- Aldehído oxidasa:** cataliza la conversión de acetaldehído a acetato con un  $k_m$  para el acetaldehído de 1 mM aproximadamente en presencia de oxígeno (Rajagopalan y cols. 1964).

La aldehído oxidasa se localiza en el citosol de la célula, tiene un peso molecular de 300 KDa y posee ocho átomos de hierro, 2 de molibdeno, 2 moléculas de FAD y una a dos moléculas de coenzima Q10 (Rajagopalan y Handler, 1964). La participación de esta enzima es menor a la de la aldehído deshidrogenasa, pero su importancia estriba en que parte de los efectos tóxicos se han asociado a la generación de radicales libres derivados de peróxido de hidrógeno producido durante la reacción (Shaw y cols. 1990; Mira y cols. 1995), figura 10.



Figura 10.- Reacción catalizada por la aldehído oxidasa.

**3.- MAOS:** Este sistema fue descrito en 1996. Se localiza en los microsomas hepáticos, es análogo del MEOS. Este requiere de la participación del citocromo P-450, y en particular del CYP2E1, que es el más activo. En este sistema donde es oxidado el acetaldehído a acetato, se encuentra acoplada una molécula de NADPH a la reducción de una molécula de oxígeno que forma peróxidos de hidrógeno. La actividad del MAOS es inducible hasta dos veces en animales tratados crónicamente con etanol (Riveros y cols. 1997) figura 11.

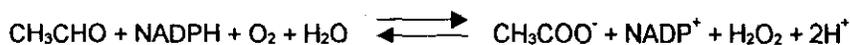


Figura 11. Vía oxidativa del acetaldehído catalizada por el MAOS.

Las vías por las que el acetaldehído es metabolizado se muestran en la figura 12.

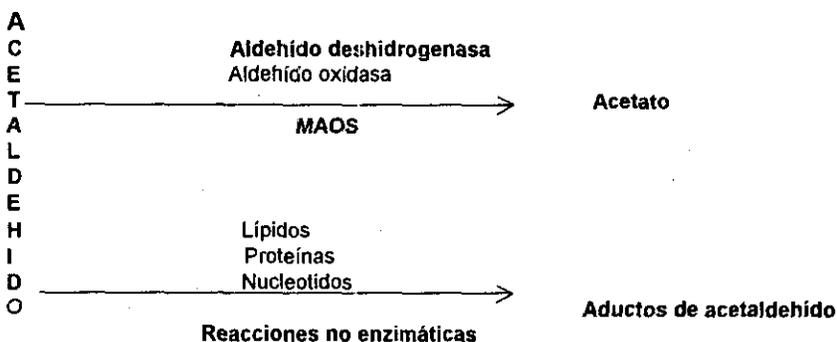


Figura 12. Vías metabólicas del acetaldehído

### 1.3.9 Factores que afectan el metabolismo del etanol:

Algunos de los factores que alteran el metabolismo y eliminación del etanol se enlistan a continuación (Kricka, 1979): Madurez del hígado, daño hepático, drogas, alimentos, ciclo menstrual, edad y raza.

La inmadurez hepática se ha relacionado con la reducción de la actividad de la enzima ADH (Seppela y cols. 1971). En infantes la eliminación del etanol es

de solo un 50-65%, mientras que en hígados de fetos humanos la actividad de la ADH fue de solo 3-4% en comparación a la de los adultos. Además, los daños al tejido hepático, pueden ocasionar una reducción en su funcionamiento. Tal es el caso de las personas que padecen cirrosis o esteatosis hepática. (Figuroa, 1962). Existen fármacos que afectan la eliminación del etanol por inducir la actividad del MEOS, alteran el flujo sanguíneo en el hígado o incrementan la reoxidación del NADH (Mezey, 1974). La administración de algunos azúcares como la fructosa puede favorecer el metabolismo del etanol. Otras sustancias como las vitaminas que se involucran en la reoxidación del NADH pueden incrementar indirectamente el metabolismo etílico (Pawan, 1968).

La vida media de la ADH es aproximadamente de 4 horas. En ayuno prolongado o restricción proteica existe una disminución de la actividad de la ADH, porque la degradación de la ADH es mayor que su síntesis. La ingesta de 1000 calorías una hora después de una dosis de etanol produce un incremento en el metabolismo del etanol en comparación a los individuos que permanecen en ayuno (Kricka y cols. 1979). También se demostró que individuos a los que se les restringió la proteína en la dieta muestran un decremento hasta del 50% sobre el metabolismo del etanol (Creutzfeldt y Graham, 1971; Bode, 1974). En el ciclo menstrual se observó que el metabolismo del etanol se aumenta en la segunda parte del ciclo (Wagner y Patel, 1972; Bode, 1974). La edad y la raza son factores muy estudiados en canadienses y esquimales, donde se encontró que es menor el metabolismo etílico que en los caucásicos y europeos (Lieber, 1972; Bernion, 1976). Lo cual sugirió la importancia del control genético (Fenna, y cols. 1971). La intolerancia a la ingesta del etanol se ha relacionado también con el polimorfismo de la aldehído deshidrogenasa. Al respecto, se dice que de las 4 diferentes aldehído deshidrogenasa (ALDH), la ALDH I presenta polimorfismo genético, ya que puede encontrarse en forma normal o ser deficiente en las poblaciones de origen mongoloide. Incluso se considera como un factor genético importante que juega un papel protector contra el alcoholismo (Harada, 1989).

### **1.4 Agentes anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs):**

Los antiinflamatorios no esteroideos, fueron los fármacos más prescritos con fines terapéuticos de 1986 - 1990, anualmente, 7.2 millones de prescripciones refieren el uso de AINEs, lo cual representa un 4.5% del total de medicamentos prescritos en los Estados Unidos (Gabriel y cols. 1992). Los cinco AINEs más prescritos son: aspirina, naproxen, ibuprofen, piroxicam, sulindac e indometacina (Pincus y cols. 1989).

Los antiinflamatorios no esteroideos presentan propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas. Los AINEs pertenecen a grupos heterogéneos, que generalmente no se relacionan químicamente, aunque varios de ellos son ácidos orgánicos. Actúan inhibiendo a la ciclooxigenasa, misma que es reguladora de la síntesis de prostaglandinas y de ciertos autacoides (Bowman, 1984).

#### **1.4.1 Mecanismo de acción de los AINEs**

Vane y cols. (1971) demostraron que la aspirina y la indometacina inhibían la producción enzimática de prostaglandinas.

Todos los antiinflamatorios del tipo aspirina son antipiréticos, analgésicos y antiinflamatorios, pero hay diferencias importantes en sus actividades; por ejemplo, el acetaminofen es antipirético y analgésico, pero con débil actividad antiinflamatoria, en cambio las drogas tipo aspirina inhiben la conversión del ácido araquidónico al intermediario endoperóxido inestable, una reacción que es catalizada por la ciclooxigenasa. Los AINEs presentan mecanismos diferentes para la inhibición de la ciclooxigenasa; algunos son inhibidores competitivos, pero otros ejercen efectos que desaparecen lentamente. Otros, como el acetaminofen, pueden bloquear la enzima ciclooxigenasa en un sitio pobre en peróxidos, como en el hipotálamo. Esto puede explicar su poca actividad antiinflamatoria, ya que en los lugares de inflamación suelen haber altas concentraciones de peróxidos, generados por los leucocitos. La aspirina actúa acetilando una serina en el sitio activo de la ciclooxigenasa (COX). Las plaquetas tienen una gran susceptibilidad

a este efecto, ya que poseen poca o ninguna actividad de síntesis proteica, por lo que no pueden regenerar más enzima. Esto significa que una sola dosis de aspirina puede inhibir la ciclooxigenasa de las plaquetas durante toda su vida (8-11 días); en los humanos una dosis de 40 mg es suficiente para ejercer este efecto inhibitorio. A diferencia de la aspirina (ácido acetil salicílico, el ácido salicílico no tiene propiedad acetilante; sin embargo, es igual de activo que la aspirina para reducir la síntesis de prostaglandinas *in vivo*.

Para los AINEs se propone la siguiente clasificación, según su estructura química, figura 12 (anexo 1).

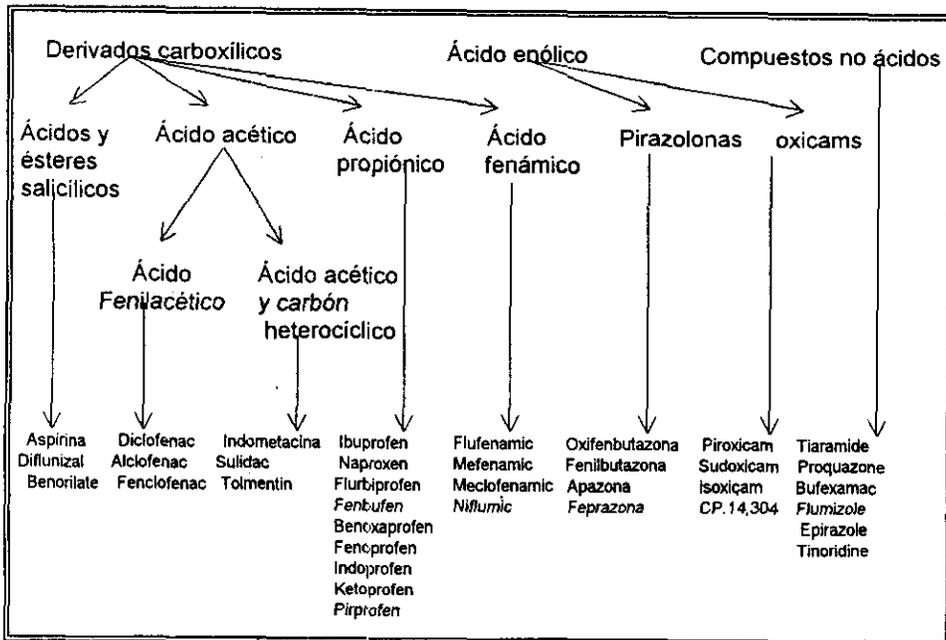


Figura 13. Clasificación general de los AINEs, que con frecuencia no se relacionan químicamente, aunque varios son ácidos orgánicos (Wiseman, 1978; Goodman, 1993).

### 1.5 Antecedentes y justificación del trabajo:

La FDA indicó que el consumo simultáneo de etanol y drogas como los AINEs pueden constituir un serio problema. En individuos que consumen bebidas alcohólicas con regularidad y analgésicos como el acetaminofen, obtienen como resultado la formación de derivados tóxicos del acetaminofen, vía citocromo P-450, y que resultan nocivos para el hígado (Lee y cols. 1994; Robertson, 1993; Food and Drug Administration, 1988). Por lo que se han empleado analgésicos que sustituyan al acetaminofen, tales como la aspirina y el naproxen, entre otros. Por lo que es recomendable estudiar los efectos que estos pueden ocasionar (Lee y cols. 1994). Algunos reportes clínicos mostraron que la aparición de úlceras gástricas, cuando se administra aspirina y se consume etanol son muy frecuentes (Robertson, 1993., Makau, 1994).

El etanol es absorbido en el tubo digestivo, y metabolizado en el hígado principalmente (Lieber, 1994; Kricka, 1979; Kathryn y cols. 1989), al igual que los AINEs, lo cual puede llegar a modificar el metabolismo del etanol (Roine y cols. 1990).

Los AINEs, son los agentes más prescritos terapéuticamente en los Estados Unidos (Gabriel y col. 1992), y entre los más consumidos están la aspirina, naproxen y piroxicam entre otros (Bilodeau y cols. 1995; Pincus y cols. 1989), los cuales coinciden con ser de fácil obtención y de amplio uso en México, al igual que la dipirona (Rodríguez y cols. 1995; Borbolla y cols. 1994).

Si bien es cierto que el consumo de alcohol es un problema significativo en nuestro país, lo hace más trascendente el hecho de que individuos menores de edad lleven acabo dicha práctica (ENA 1990). En el Distrito Federal en 1993, de 3121 casos, el SISVEA reportó que el 8.1% refirió el consumo de etanol y otras drogas. De éstos, 31.1% afirmó consumir medicamentos para calmar el dolor (SISVEA 1993). El 59.3% de un grupo de personas que acudieron al servicio médico refirió consumir habitualmente otras drogas como: tabaco (26.7%), alcohol (24.2%) y analgésicos (2.8%) (SISVEA 1993). Los datos anteriores sugieren que tanto el alcohol como los analgésicos son de fácil acceso y que su consumo simultáneo ocurre con relativa frecuencia.

En la parte introductoria de este trabajo se refirió que el consumo de alcohol constituye un problema de salud, y que en el área médica, se muestra en la práctica poco conocimiento del enfermo alcohólico desde su diagnóstico hasta su tratamiento. Sin embargo un creciente número de trabajos dan a conocer las implicaciones metabólicas del etanol, así como los efectos metabólicos que el uso de fármacos como los AINEs ejercen cuando se administran como terapia de los problemas irritantes e inflamatorios que el etanol produce en tejidos como el hígado (Abreu y col. 1987; Lee y col. 1994).

En abril de 1979 se inició en el hospital General de México, la consulta externa para pacientes alcohólicos, debido a que la hepatopatía alcohólica en México ocupaba el cuarto lugar de importancia, y en el Hospital General de México fue la primer causa de internamiento y la primer causa de mortalidad hospitalaria (Alquicia y Millan, 1984). La hepatopatía alcohólica y otros trastornos son el resultado de la ingesta abundante y prolongada de etanol, lo cual propicia la aparición secuencial de esteatosis, hepatitis y cirrosis, esta última irreversible, por ser la cicatriz de estados inflamatorios sucesivos con necrosis y fibrosis (Criteria Committee National Council Alcoholism, 1972). La hipoxia generada por el metabolismo del etanol es causante, tanto de necrosis como de la degeneración tisular e inflamatoria (Rappaport, 1980., Gumocio y Miller, 1981., Jungermann y Katz, 1982., Sugchul y cols. 1982). Al parecer todo depende del proceso inflamatorio causado por el etanol, el predominio del infiltrado inflamatorio agudo con grado variable de esteatosis y necrosis afirma que la hepatitis alcohólica es una enfermedad primordialmente inflamatoria (Martinea, 1987).

Ante la posibilidad de obtener mejoras terapéuticas que disminuyan el proceso inflamatorio y necrótico, se pretendió demostrar la eficacia de los AINEs, ya que la terapéutica con regímenes alimenticios, vitamínicos, aminoácidos parenterales, corticosteroides, esteroides androgénicos, anabólicos, insulina, glucágon, D-penicilamina, colchicina y otras no han dado resultados satisfactorios (Díaz y Escoto, 1991).

Un hecho fortuito al haber dado piroxicam a un sujeto con artropatía dolorosa y observar su mejoría evidente de una hepatitis tóxica concomitante, llevó a decidir la utilización de este fármaco en enfermos con hepatitis alcohólica (Díaz y Escoto, 1991).

Después de estos hallazgos se postuló que el piroxicam, al reducir el proceso inflamatorio, disminuir la hipoxia tisular y la lactacidemia, podría mejorar la circulación en el tejido hepático. Estudios realizados en pacientes con hepatopatía alcohólica y tratados con piroxicam, mostraron una disminución significativa del tamaño del hígado, ascitis, bilirrubina y transaminasa oxaloacética a los 15, 30 y 60 días del tratamiento en comparación al grupo control (Díaz y cols. 1991). Lo antes citado sugiere que el etanol es una sustancia capaz de promover procesos inflamatorios, al aumentar los niveles prostaglandinas, que a su vez son menos dañinos en presencia de algunos AINES como el piroxicam.

El caso antes citado y otros estudios muestran a los AINES como una posible estrategia para atenuar y controlar los efectos tóxicos del etanol. Experimentalmente se ha reportado que en ratas, los AINES son capaces de disminuir el tiempo de hipnosis inducida por el alcohol (George y Collins, 1979; George y cols. 1983; George y cols. 1981; Vázquez y cols. 1993), disminuye la mortalidad y el número de malformaciones prenatales en ratones (Randall y cols. 1987), reduce la hipotermia (Morato y cols. 1986) y disminuye la hiperactividad causados por el etanol (Ritz y cols. 1981). Algunos antiinflamatorios como la aspirina modifica el metabolismo de primer paso del etanol en ratas, debido a que afecta la función de la alcohol deshidrogenasa gástrica (Roine y cols. 1990). El tenoxicam aumenta los niveles circulantes de acetaldehído sanguíneo y atenúa el estado de hipnosis inducido con etanol en ratones (Vázquez y cols. 1993).

Otros efectos, son la capacidad de la aspirina, piroxicam y naproxen para disminuir la acumulación de triglicéridos hepáticos (Zentella y cols. 1992, 1993), reducción del estado hipoglucemiante (Morato y cols. 1986), disminución de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (Zentella y cols. 1992, 1993), y una reversión de los niveles de glutatión reducido (Zentella y cols. 1994).

Recientemente se ha propuesto que los AINES son atrapadores de radicales libres producidos durante la intoxicación etílica (Sagone, 1987; Aruoma y Halliwell, 1988; Saldanha y cols. 1990; Twomey y Dale, 1992; Augustin y cols. 1992; Maffei y cols. 1993), y que algunos disminuyen la velocidad de absorción del etanol desde el compartimento gástrico y estimulan en el hígado la oxidación de equivalentes reductores (producto de la oxidación etílica y principal limitante) en la mitocondria, lo cual explica la reducción de los niveles de etanol sanguíneo (Riveros, 1996), que a su vez pretende explicar los bajos niveles de etanol encontrados cuando se administran AINES como el tenoxicam, piroxicam y aspirina (Vázquez, 1993; Zentella y col. 1994).

Puesto que el acetaldehído es un metabolito altamente tóxico, el efecto de los AINEs sobre el metabolismo de esta sustancia permitirá evaluar el papel que juega este aldehído, sobre la toxicidad inducida por el etanol y el efecto hepatoprotector de los AINEs. Por lo que en el presente trabajo cuantificamos los niveles de etanol y de acetaldehído en sangre de ratas, para conocer si existe algún efecto de los AINEs sobre la producción acetaldehído y sobre los niveles de etanol cuando se administran el etanol y los AINEs de forma simultánea. Lo anteriormente expuesto nos llevó a plantear los siguientes objetivos:

## 1.6 Objetivos:

### Objetivo general:

Conocer si los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), como la aspirina, la dipirona, el naproxen, y/o el piroxicam modifican los niveles de etanol y acetaldehído, en la sangre de ratas intoxicadas con etanol de forma aguda.

### Objetivos específicos:

a) Conocer cuál es el efecto de los AINEs, en dosis terapéuticas, sobre los niveles de etanol y acetaldehído sanguíneo, cuando se administran cantidades diferentes de etanol.

b) Conocer si la disminución de etanol en la sangre de ratas que recibieron un AINE, corresponde a un incremento de acetaldehído sanguíneo, como producto de la oxidación etílica o no existe relación.

## 1.7 Hipótesis:

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) que causan una disminución de etanol sanguíneo en ratas intoxicadas de forma aguda con etanol, pueden ocasionar un incremento de acetaldehído sanguíneo, por lo que promueven la oxidación del etanol.

## 2.0 MATERIAL Y MÉTODOS:

### Animales experimentales:

Se emplearon aproximadamente 120 ratas macho cepa Wistar, de 180 a 220 g de peso corporal, que fueron alimentadas *ad libitum* con una dieta comercial (nutricubos Ralton), y tuvieron libre acceso al agua. Los animales permanecieron bajo condiciones similares (Bioterio de la Facultad de Medicina). El fotoperiodo fue de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad. Los animales se mantuvieron en ayuno 12 horas de antes de ser intoxicados con etanol y tratados con los AINEs elegidos en este estudio, a partir de las 8:00 a.m.

### Diseño experimental:

Los AINEs empleados en este experimento fueron: la aspirina, la dipirona, el naproxen y el piroxicam, y que se consideran los más comunes en la prescripción médica (Bilodeau J.F. y cols. 1995; Borbolla E.J.R. y cols. 1994), Anexo 1.

Se realizó la administración de tres dosis únicas de etanol, para conocer el curso temporal que exhiben el etanol y el acetaldehído en la sangre de ratas intoxicadas de forma aguda con este fármaco, y a las que se les administró de manera simultánea un AINE.

Los grupos formados y que recibieron diferentes tratamientos fueron:

- 1.- Etanol, 2.5g de etanol/kg (31.5%), vía orogástrica + 0.1 ml de solución salina fisiológica (0.9%) intraperitoneal.
- 2.- Etanol, 5.0g de etanol/kg (63%), vía orogástrica + 0.1 ml de solución salina fisiológica (0.9%) intraperitoneal.
- 3.- Etanol, 7.5g de etanol/kg (94.5%), vía orogástrica + 0.1 ml de solución salina fisiológica (0.9%) intraperitoneal.
- 4.- Etanol (2.5g de etanol/kg), vía orogástrica + aspirina, intraperitoneal.
- 5.- Etanol (2.5g de etanol/kg), vía orogástrica + dipirona, intraperitoneal.
- 6.- Etanol (2.5g de etanol/kg), vía orogástrica + naproxen, intraperitoneal.
- 7.- Etanol (2.5g de etanol/kg), vía orogástrica + piroxicam, intraperitoneal.
- 8.- Etanol (5.0g de etanol/kg), vía orogástrica + aspirina, intraperitoneal.
- 9.- Etanol (5.0g de etanol/kg), vía orogástrica + dipirona, intraperitoneal.

10.- Etanol (5.0g de etanol/kg), vía orogástrica + naproxen, intraperitoneal.

11.- Etanol (5.0g de etanol/kg), vía orogástrica + piroxicam, intraperitoneal.

Las dosis de AINEs fueron: piroxicam (10 mg/kg), naproxen (7 mg/kg), aspirina (56 mg/kg), dipirona (43 mg/kg). La vía de administración fue la intraperitoneal

Un grupo recibió 2 ml de solución salina, vía orogástrica + 0.1ml de sol. salina intraperitonealmente.

#### **Cuantificación del etanol y del acetaldehído:**

A las 2, 4, 8 y 12 horas posteriores a la intoxicación, las ratas fueron anestesiadas con éter durante 15 a 25 segundos, e inmediatamente se les tomó 100 µl de sangre del plexo retro-orbital, utilizando un capilar heparinizado. La sangre fue depositada inmediatamente en viales heparinizados (5 U en 0.1 ml de sol. Salina), y mantenidos a 4°C hasta que fueron analizados. Los viales fueron cerrados con tapones de goma y sellados con casquillos de aluminio de forma inmediata.

A cada vial se le agregó 100 µl de tungstato de sodio al 10 % para favorecer la liberación intraeritrocitaria de etanol y acetaldehído. Además de depositar 50 µl (100 µg) de isopropanol como estándar interno, y permanecieron en hielo hasta que fueron procesadas el mismo día.

Posteriormente, la muestra fue sonicada durante 15 minutos y puesta a baño maría por 15 minutos a 70 °C (equilibrio de la fase gaseosa). Con una jeringa de insulina se obtuvo un mililitro de fase gaseosa (espacio de cabeza caliente) y se introdujo inmediatamente al inyector del cromatógrafo de gases.

La técnica empleada fue la de cromatografía de gases (anexo 2). Se empleó un cromatógrafo de gases, marca Varian, modelo 3200, con detector de ionización de flama acoplado a un graficador

La columna utilizada fue de 2 metros de largo, por 1/8 de pulgada (3 mm de diámetro) y empacada con Porapak Q 80/100 mallas (dimetil benceno), de la marca comercial Altech Associates, Inc. Millipore stock number 2701, L 34.

La columna empleada en este trabajo fue acondicionada por 48 horas a 240 °C. Las muestras fueron trabajadas bajo las siguientes condiciones cromatográficas:

-Temperatura del inyector:	190 °C
-Temperatura del detector:	190 °C
-Temperatura de la columna:	140 °C
-Tiempo de corrida:	7 minutos
-Flujo del gas acarreador (nitrógeno):	30 ml/min.
-Flujo del oxígeno:	300 ml/min.
-Flujo del hidrógeno:	30 ml/min.
-Velocidad del papel:	1cm/min.

Se utilizaron estándares de etanol, acetaldehído e isopropanol, de grado cromatográfico, para determinar los tiempos de retención y obtener curvas de calibración. Cada muestra se inyectó por duplicado.

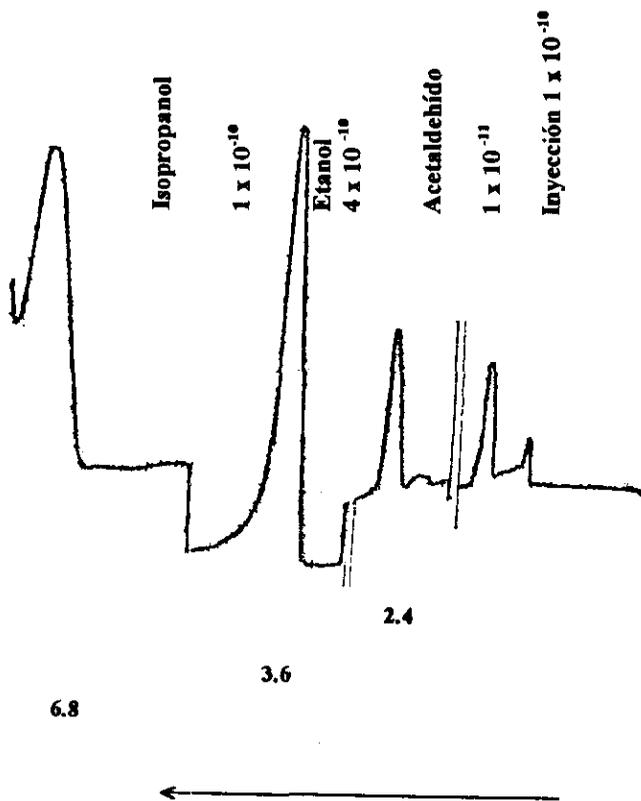
Los tiempos de retención fueron:

Pico inespecífico:	1.0 min
Acetaldehído:	2.4 min
Etanol:	3.6 min
Isopropanol:	6.8 min
Éter:	7.5 min

Los datos obtenidos fueron analizados obteniendo: promedios, desviación estandar, error estandar y pruebas de T de Student, así como el análisis de varianza (Snedecor, G.W. y cols. 1967).

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN:**

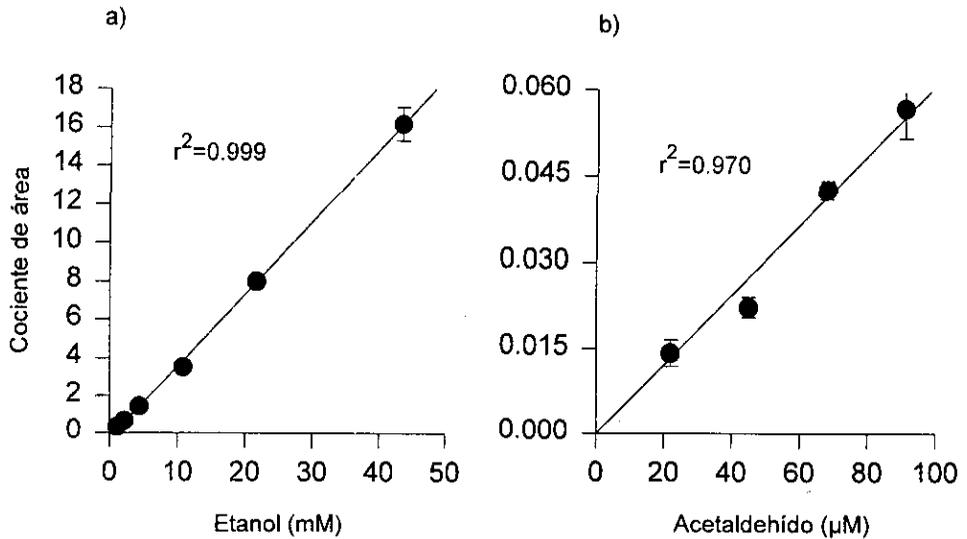
El etanol y el acetaldehído se cuantificaron por la técnica de cromatografía de gases, dando como resultado la aparición del pico de acetaldehído a los 2.4 min. el del etanol a los 3.6 min. y el del isopropanol a los 6.8 min. cromatograma 1.



Cromatograma 1. Aparición del etanol, el acetaldehído y el isopropanol en un cromatograma. Las condiciones fueron: temperatura isotérmica, inyector y detector:  $190^{\circ}\text{C}$ , columna :  $140^{\circ}\text{C}$ . El tiempo de corrida fue de 7 minutos.

Las curvas de calibración que se emplearon como parámetro para cuantificar al etanol y al acetaldehído se muestran en la gráfica 1a y 1b.

Los resultados se muestran numéricamente en cuadros (7-12) al final de esta sección.

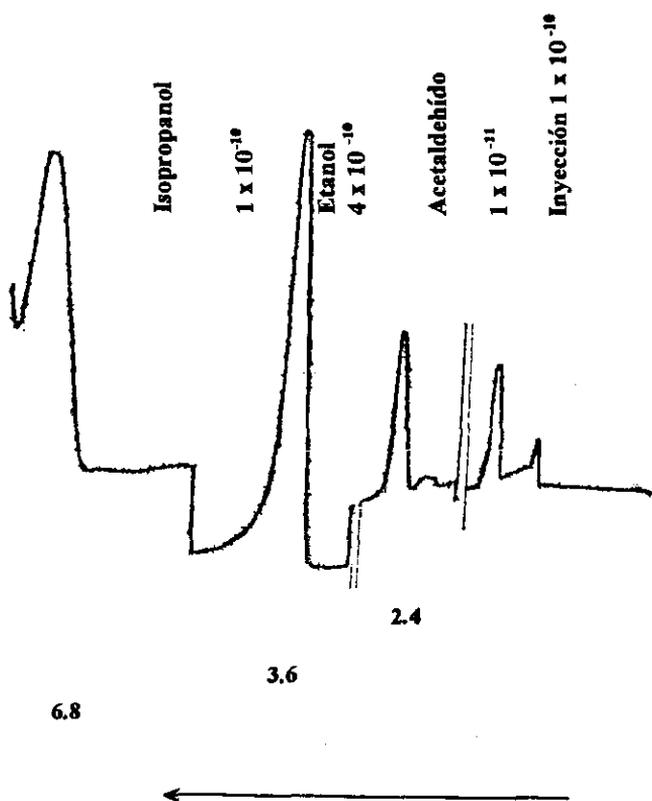


Gráfica 1a y 1b. Curvas de calibración del etanol y del acetaldehído. Los resultados representan el promedio  $\pm$  desviación estándar,  $n=15$ .

En este trabajo se encontró que las ratas control presentaron un nivel basal de etanol y de acetaldehído de  $0.139 \pm 0.008$  mM y  $10 \mu\text{M}$ , respectivamente. La presencia de etanol puede deberse a que éste se produce por la fermentación bacteriana presente en el intestino y a la acción de la alcohol deshidrogenasa que actúa sobre el acetaldehído derivado del piruvato (Lester, 1961., Krebs y Perkins, 1970). Los niveles de etanol y acetaldehído endógeno concuerdan con los rangos reportados (Walker y Curry 1966; Lin y cols. 1976). Los animales experimentales que recibieron 2.5, 5 y 7.5 g de etanol por kg de peso, presentaron los valores máximos de etanol a las 2 horas ( $34.09 \pm 1.46$  mM), 8 horas ( $58.44 \pm 1.44$  mM) y a las 12 horas ( $113.34 \pm 2.41$  mM), respectivamente. Mientras que las concentraciones máximas de acetaldehído se observaron a las 2 horas ( $21.66 \pm 0.01 \mu\text{M}$ ), a las 4 horas ( $24.71 \pm 2.19 \mu\text{M}$ ) y a las 2 horas ( $48.46 \pm 2.06 \mu\text{M}$ ) respectivamente.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN:**

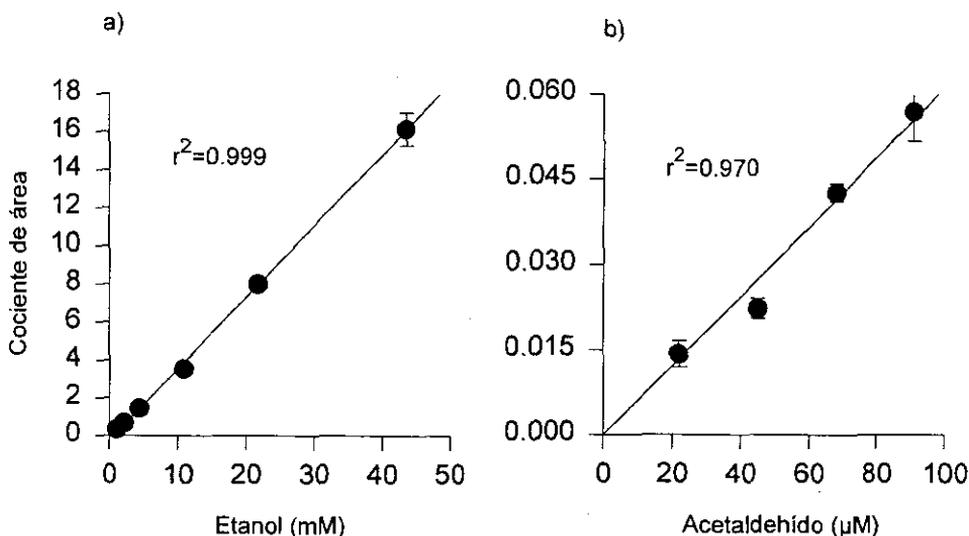
El etanol y el acetaldehído se cuantificaron por la técnica de cromatografía de gases, dando como resultado la aparición del pico de acetaldehído a los 2.4 min. el del etanol a los 3.6 min. y el del isopropanol a los 6.8 min. cromatograma 1.



Cromatograma 1. Aparición del etanol, el acetaldehído y el isopropanol en un cromatograma. Las condiciones fueron: temperatura isotérmica, inyector y detector:  $190^{\circ}\text{C}$ , columna:  $140^{\circ}\text{C}$ . El tiempo de corrida fue de 7 minutos.

Las curvas de calibración que se emplearon como parámetro para cuantificar al etanol y al acetaldehído se muestran en la gráfica 1a y 1b.

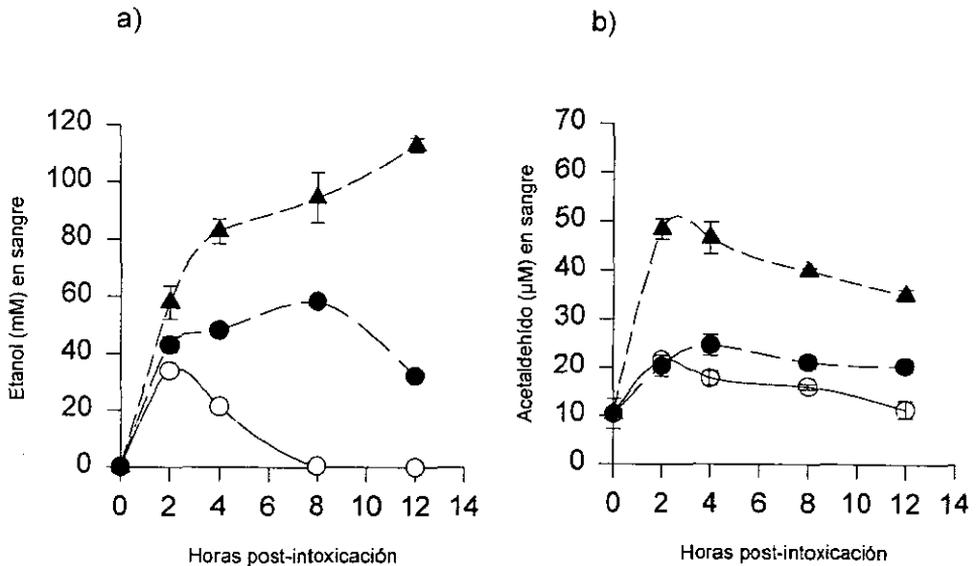
Los resultados se muestran numéricamente en cuadros (7-12) al final de esta sección.



Gráfica 1a y 1b. Curvas de calibración del etanol y del acetaldehído. Los resultados representan el promedio  $\pm$  desviación estandar,  $n=15$ .

En este trabajo se encontró que las ratas control presentaron un nivel basal de etanol y de acetaldehído de  $0.139 \pm 0.008$  mM y  $10 \mu\text{M}$ , respectivamente. La presencia de etanol puede deberse a que éste se produce por la fermentación bacteriana presente en el intestino y a la acción de la alcohol deshidrogenasa que actúa sobre el acetaldehído derivado del piruvato (Lester, 1961., Krebs y Perkins, 1970). Los niveles de etanol y acetaldehído endógeno concuerdan con los rangos reportados (Walker y Curry 1966; Lin y cols. 1976). Los animales experimentales que recibieron 2.5, 5 y 7.5 g de etanol por kg de peso, presentaron los valores máximos de etanol a las 2 horas ( $34.09 \pm 1.46$  mM), 8 horas ( $58.44 \pm 1.44$  mM) y a las 12 horas ( $113.34 \pm 2.41$  mM), respectivamente. Mientras que las concentraciones máximas de acetaldehído se observaron a las 2 horas ( $21.66 \pm 0.01 \mu\text{M}$ ), a las 4 horas ( $24.71 \pm 2.19 \mu\text{M}$ ) y a las 2 horas ( $48.46 \pm 2.06 \mu\text{M}$ ) respectivamente.

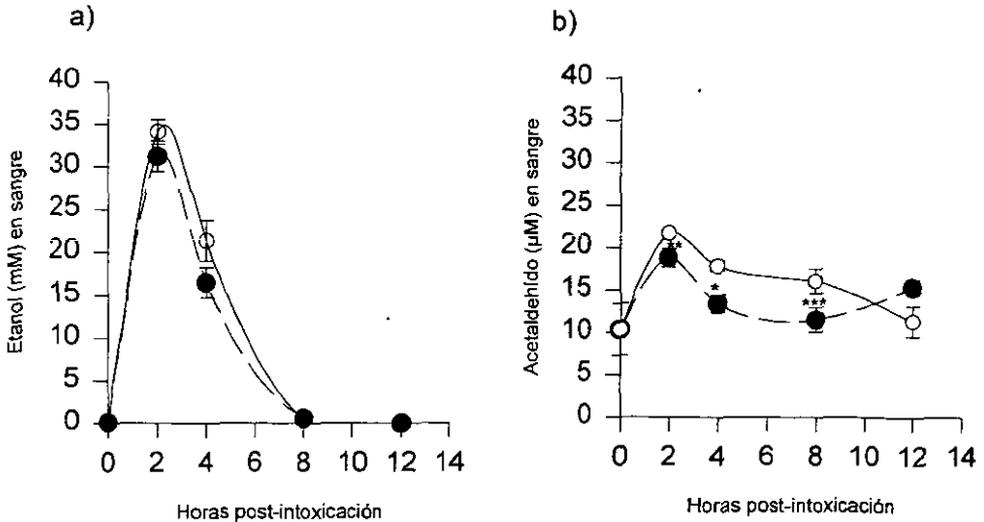
Estos resultados indican que existen diferencias en los niveles de etanol y acetaldehído en sangre dependientes de la dosis administradas (gráfica 2a y 2 b), y que concuerda con reportes previos (Bode, 1980; Cooke, 1969).



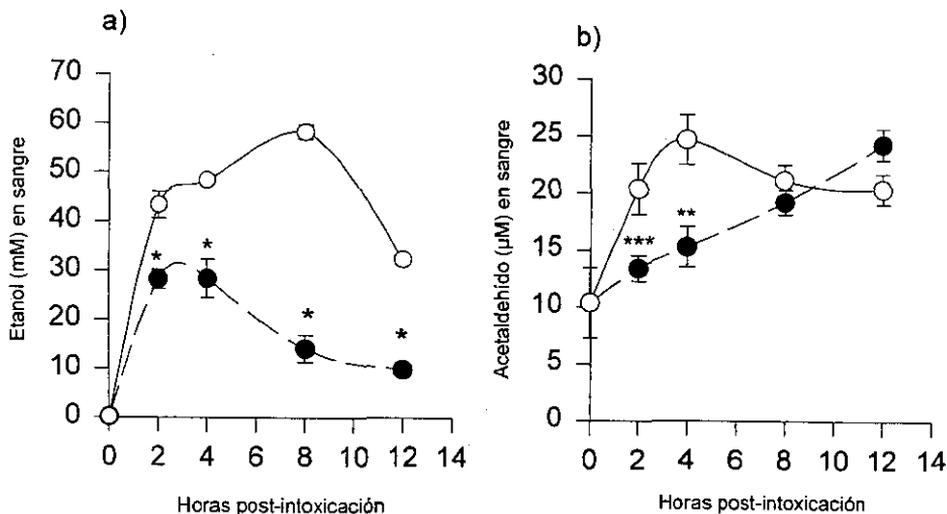
Gráfica 2. Efecto de las dosis de etanol sobre las concentraciones sanguíneas de etanol y acetaldehído. La concentración de etanol a) y acetaldehído b) en sangre de ratas que recibieron 2.5 (—○—), 5 (—●—) y 7.5 (—▲—) g de etanol/kg, por vía orogástrica (V.O.G), más 0.1 ml de sol. salina intraperitonealmente (I.P). Estos valores fueron determinados por cromatografía de gases en los tiempos indicados. Promedio  $\pm$  error estandar.

El grupo que recibió 2.5 g de etanol presentó menor concentración de acetaldehído, lo cual parece ser congruente con los bajos niveles de etanol encontrados (gráfica 3a y 4a), que no necesariamente se deben a un aumento en la oxidación del etanol por efecto de la aspirina, ya que ésta puede estar afectando la absorción del etanol o el tiempo de vaciamiento gástrico. Como se observa en las gráficas 3b y 4b a las 12 horas se observó que los niveles de acetaldehído son similares a los del grupo control.

Con respecto a los datos obtenidos en ratas que recibieron un AINE por vía intraperitoneal, se observó que cuando se administró una dosis de aspirina (56 mg/kg) a las ratas que recibieron 5 g de etanol (gráfica 4a y 4b), la concentración máxima de etanol alcanzada fue a las 2 horas ( $28.40 \pm 3.92$  mM), y significativamente menores a las 2 horas, en contraste con las ratas que no recibieron la aspirina ( $48.40 \pm 0.62$  mM). Con relación a los efectos que la aspirina ejerce sobre el metabolismo del etanol se ha reportado, que administrada por vía oral, modifica el metabolismo del primer paso del etanol, al inhibir a la alcohol deshidrogenasa gástrica hasta en un 54 % (Risto, 1990).



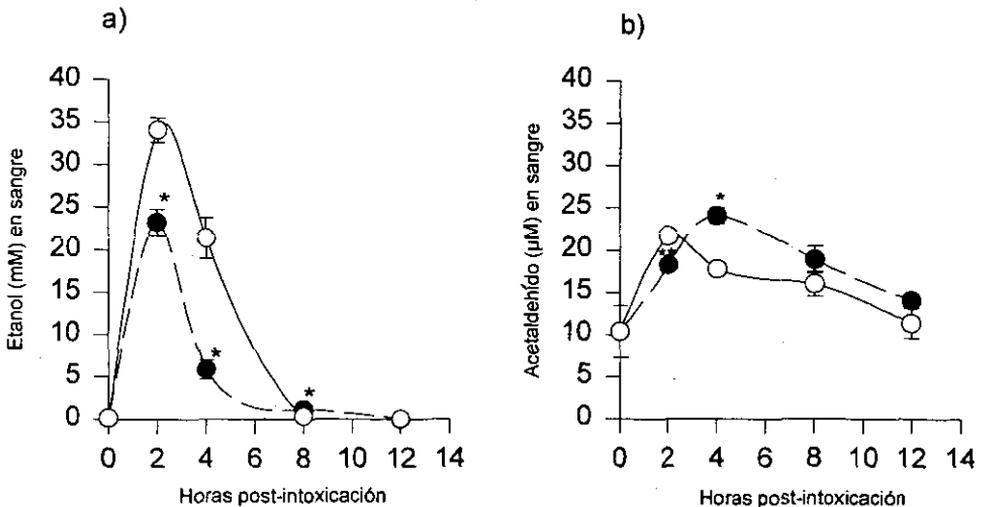
Gráfica 3. Efecto de la aspirina sobre los niveles sanguíneos de etanol y acetaldehído. Las concentraciones de etanol a) y acetaldehído b) en sangre de ratas que recibieron 2.5 g de etanol/kg vía orogástrica (V.O.G.) más 0.1 ml de sol. salina intraperitonealmente (I.P.) ○, o etanol V.O.G. más aspirina (56 mg/kg) I.P. ●. Promedio  $\pm$  error estándar. \* $p < 0.001$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.04$ .  $n = 9$



Gráfica 4. Efecto de la aspirina sobre las concentraciones sanguíneas de etanol y acetaldehído. Niveles de etanol a), y acetaldehído b) en sangre de ratas que recibieron 5 g de etanol/kg V.O.G, más 0.1ml de sol. salina I.P.—○— o etanol más aspirina (56 mg/kg) I.P.—●—. Promedio  $\pm$  error estandard\*  $p < 0.0001$ , \*\*  $p < 0.004$ , \*\*\*  $p < 0.01$ ,  $n = 9$ .

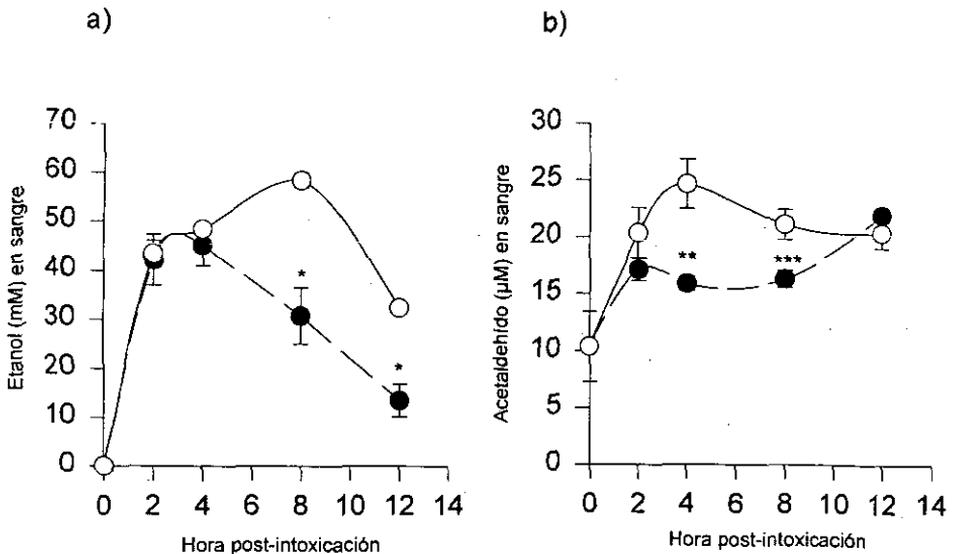
Los niveles de etanol en el grupo que recibió 5 g de etanol fueron similares a los reportados por Zentella y cols. 1993., en donde también se observó que la concentración máxima de etanol en el grupo control se alcanzó a las 8 horas, en contraste con el grupo que recibió aspirina por vía oral, que fue a las 4 horas. Fue en este trabajo en donde se propuso que algunos AINEs podían promover la oxidación del etanol, lo cual explicaría así la disminución observada del etanol. Sin embargo, esta disminución pueden deberse a la modificación en el tiempo de vaciamiento gástrico o a una disminución en la absorción del etanol (Kathryn y cols. 1989).

Cuando se administró dipirona al grupo que recibió 2.5 g de etanol (ver gráficas 5a y 5b), se observó una disminución de etanol a las 2 ( $23.22 \pm 1.53$  mM) y 4 ( $5.92 \pm 1.13$  mM) horas post-intoxicación. El acetaldehído aumentó significativamente ( $P < 0.001$ ) a las 4 ( $24.07 \pm 0.90$   $\mu$ M) horas, lo cual nos hace suponer que pudo estimularse la oxidación del etanol o que la dipirona disminuye la actividad de la aldehído deshidrogenasa, evitando así que el acetaldehído se oxide. Otra posible explicación es que se incremente la actividad de la alcohol deshidrogenasa y se favorezca la oxidación del etanol, pero no así la actividad de la aldehído deshidrogenasa.



Gráfica 5. Efecto de la dipirona sobre los niveles sanguíneos de etanol y acetaldehído. Niveles de etanol a) y acetaldehído b) en sangre de ratas que recibieron 2.5 g de etanol/kg V.O.G., más 0.1 ml de sol. salina I.P.—○—, o etanol más dipirona (43 mg/kg) I.P.—●—. Promedio  $\pm$  error estandard. \* $p < 0.0001$ , \*\* $p < 0.001$ ,  $n = 11$ .

Cuando se administró 5 g de etanol y dipirona (gráficas 6a y 6b), el pico máximo de etanol se observó a las 4 horas ( $45.07 \pm 4.14$  mM), mientras que el acetaldehído es menor a las 2 ( $17.17 \pm 1.0$   $\mu$ M), 4 ( $15.94 \pm 0.58$   $\mu$ M) y 8 ( $16.36 \pm 16.36$   $\mu$ M) horas, lo que correlaciona con los bajos niveles de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico reportadas por Zentella y cols. (1993), lo cual nos lleva a pensar que el acetaldehído es uno de los principales agentes nocivos para la célula. No obstante los datos de etanol difieren a los reportados por Zentella (1993), donde se reportó que la dipirona incrementa los niveles de etanol ( $p < 0.05$ ) a las 4 y a las 8 horas.



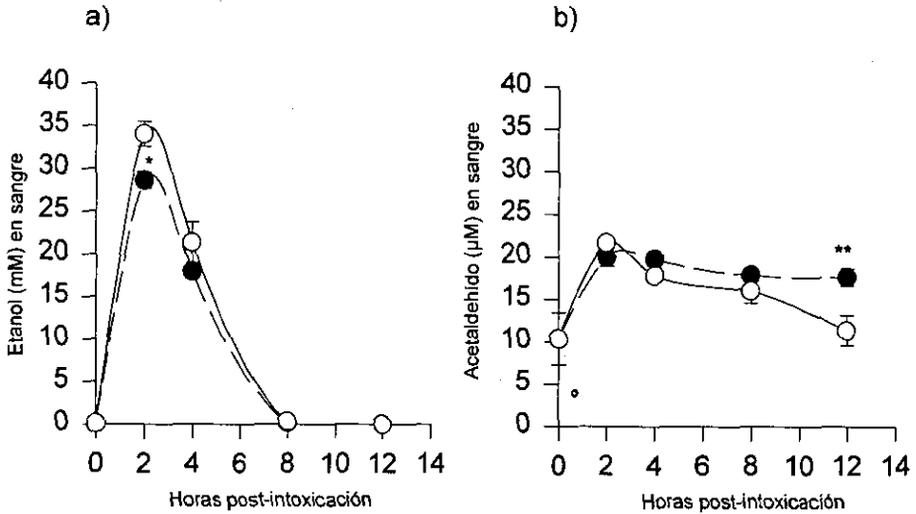
Gráfica 6. Efecto de la dipirona sobre las concentraciones sanguíneas de etanol y acetaldehído. Niveles de etanol a) y acetaldehído b), en sangre de ratas que recibieron 5 g de etanol/kg V.O.G. más 0.1 ml de sol. salina I.P.  $\circ$  etanol más dipirona (43 mg/kg) I.P.  $\bullet$ . Promedio  $\pm$  error estándar \* $p < 0.0001$ , \*\* $p < 0.002$ , \*\*\* $p < 0.01$ ,  $n = 11$ .

---

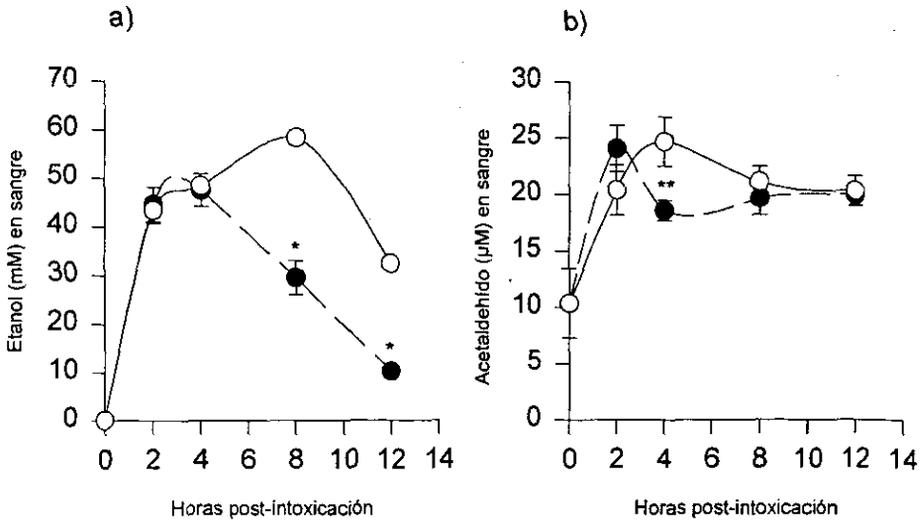
Las diferencias encontradas pueden deberse a que la vía de administración de la dipirona fue oral en el de Zentella (1993) y en este trabajo la administración fue por vía intraperitoneal, implicando así un posible efecto inhibitorio de la dipirona sobre la actividad de la alcohol deshidrogenasa gástrica o sobre la alcohol deshidrogenasa hepática, que expliquen los niveles altos de etanol en sangre. Algo importante que hay que recordar, es que la dipirona estimula el consumo de oxígeno cuando su concentración está por arriba de 4 mM, lo cual corresponde a una dosis 100 veces mayor a las dosis empleadas en este trabajo (Riveros, 1996).

En otro trabajo se valoraron los efectos de sedación, hipnosis y muerte que promueve el etanol a dosis altas (4-6.5g/kg , vía orogástrica), donde se vió un mayor efecto preventivo en los ratones tratados con aspirina que con dipirona cuando se administraron 100 a 1000 mg/kg por vía sub-cutánea (Sepúlveda y cols.), lo cual puede deberse a que la aspirina y la dipirona inhiben la síntesis y liberación de prostaglandinas que favorece la administración del etanol, o bien a la disminución de etanol en sangre como se encontró en este trabajo.

Con el naproxen los valores de etanol fueron menores tanto en el grupo que recibió 2.5 g como en el de 5 g de etanol (gráficas 7a y 8a). El mayor nivel del etanol se obtuvo a las 4 horas ( $47.48 \pm 3.38$  mM) en el grupo que recibió 5 g de etanol y naproxen (gráfica 8a). Los niveles de acetaldehído son similares en los grupos que recibieron 2.5 g de etanol y el naproxen, mientras que el grupo que recibió 5g de etanol y naproxen presentó un nivel máximo a las 2 horas ( $24.07 \pm 2.04$  mM), seguido de una disminución a las 4 horas ( $18.61 \pm 0.91$  mM) en comparación al control que presentó su máximo nivel a las 4 horas ( $24.71 \pm 2.19$  mM).



Gráfica 7. Efecto del naproxen sobre las concentraciones sanguíneas de etanol y acetaldehído. Niveles de etanol a) y acetaldehído b) en sangre de ratas que recibieron 2.5 g de etanol/kg V.O.G. más 0.1 ml de sol. salina I.P.—○—, o etanol más naproxen (7 mg/kg) I.P.—●—. Promedio ± error estándar \*p<0.009, \*\*p<0.007, n=9

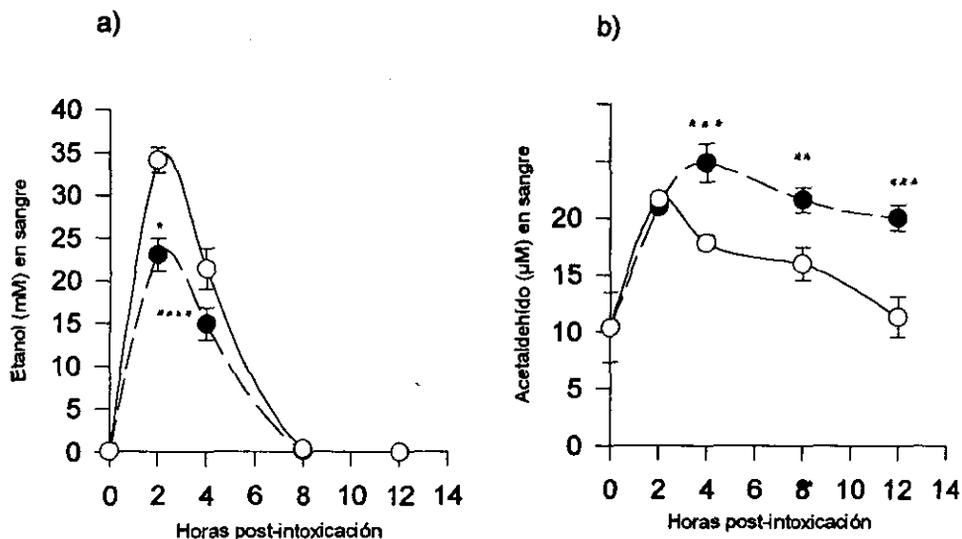


Gráfica 8. Efecto del naproxen sobre las concentraciones sanguíneas de etanol y acetaldehído. Niveles de etanol a) y acetaldehído b) en sangre de ratas que recibieron 5g de etanol/kg V.O.G. más 0.1 ml de Sol. Salina I.P., —○— n=11, o etanol más naproxen (7 mg/kg) I.P., —●— n=9. Promedio ± error estándar. \*p<0.0001, \*p<0.02.

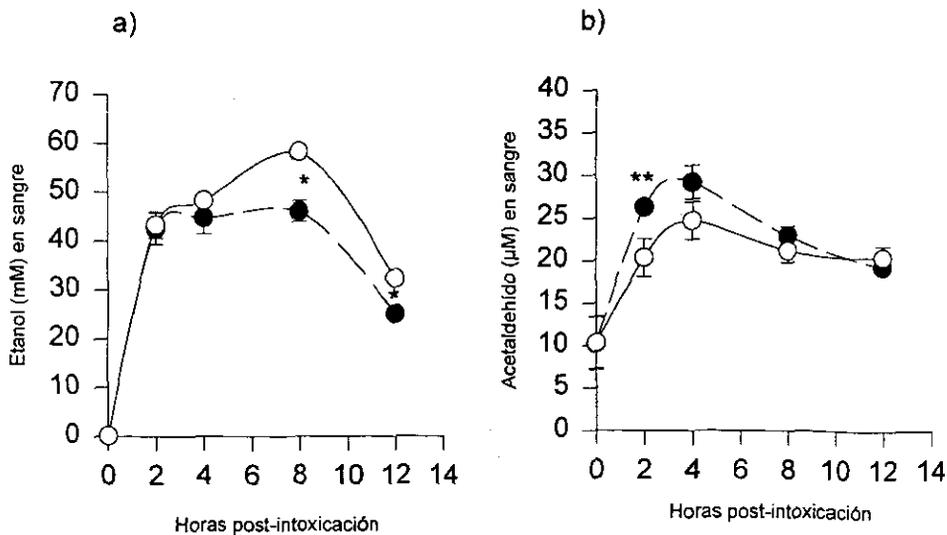
El grupo que recibió 5 g de etanol mostró un aumento de acetaldehído a las 2 horas post-intoxicación (no significativo), al igual que las que recibieron 2.5 g de etanol, mientras que los niveles máximos de etanol se alcanzaron a las 2 horas con ambas dosis en presencia del naproxen, en comparación al grupo control donde las concentraciones máximas de etanol se observaron a las 2 y 8 horas post-intoxicación, lo cual muestra que el naproxen modifica el metabolismo del etanol.

En contraste con los datos anteriores, Zentella y cols. (1993) observaron que cuando el naproxen es administrado por vía oral, el nivel máximo de etanol se obtiene a las 8 horas, y que a las 2 y 4 horas, los niveles fueron menores. Estas diferencias pueden explicarse si se toma en cuenta que la vía de administración influye sobre las concentraciones máximas encontradas en sangre, ya que existe la presencia de la barrera gástrica cuando se administra el AINE por vía oral y no así cuando se administra por vía intraperitoneal. Con respecto a los niveles de acetaldehído, estos no son tan altos, lo cual apoya la idea de que los daños ocasionados por el etanol son debidos a la producción de acetaldehído (más tóxico) y que concuerda con lo encontrado por Zentella (1992,1993), donde se vio que las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico y triacilglicéridos son menores ( $p < 0.001$ ), los cuales nos podrían sugerir de alguna forma si hay daño celular, ocasionado por el acetaldehído.

Los grupos que recibieron piroxicam, más 2.5 y 5 g de etanol, los niveles de etanol fueron menores y los niveles de acetaldehído aumentaron, gráficas 9 y 10.



Gráfica 9. Efecto del piroxicam sobre las concentraciones sanguíneas de etanol y acetaldehído. Niveles de etanol a) y acetaldehído b) en sangre de ratas que recibieron 2.5 g de etanol/kg V.O.G., más 0.1 de sol. salina I.P. (○) n=9 o etanol más piroxicam (10 mg/kg) I.P. (●). Promedio ± error estándar. \*p<0.0001, \*\*p<0.007, \*\*\*p<0.001, \*\*\*\*p<0.05



Gráfica 10. Efecto del piroxicam sobre las concentraciones sanguíneas de etanol y acetaldehído. Niveles de etanol a) y acetaldehído b) en sangre de ratas que recibieron 5 g de etanol/kg V.O.G., más 0.1 ml de sol. salina I.P. (○), n=12, o etanol más piroxicam (10 mg/kg) I.P. (●) n=10. Promedio ± error estándar. \*p<0.0001, \*\*p<0.03.

Los resultados obtenidos muestran que existe correlación entre los niveles de etanol y acetaldehído en algunos grupos tratados, cuadro 5.

Cuadro 5.

TRATAMIENTO	CORRELACIÓN ENTRE EL ETANOL Y EL ACETALDEHÍDO
	$r^2$
Etanol (2.5g/kg) + sol. salina (0.9%)	0.79
Etanol (2.5g/kg) + aspirina	0.53
Etanol (2.5g/kg) + dipirona	0.01
Etanol (2.5g/kg) + naproxen	0.94
Etanol (2.5g/kg) + piroxicam	0.11
Etanol (5.0g/kg) + sol. salina (0.9%)	0.10
Etanol (5.0g/kg) + aspirina	0.90
Etanol (5.0g/kg) + dipirona	0.78
Etanol (5.0g/kg) + naproxen	0.05
Etanol (5.0g/kg) + piroxicam	0.57
Etanol (7.5g/kg) + sol. salina (0.9%)	0.88

De lo anterior podemos decir que existe correlación entre los niveles de etanol y acetaldehído, dosis dependiente del etanol, y que dichas correlaciones se observan principalmente en los grupos que recibieron un AINE y 5 g de etanol/kg de peso. A excepción de los que recibieron aspirina más 2.5 y 5 g/kg de peso, donde sí se guarda cierta relación.

Usando técnicas enzimáticas para cuantificar el etanol en sangre, se observó que el piroxicam, la aspirina y el naproxen administrados de forma simultánea disminuyen los niveles de etanol en la sangre de ratas y que modifican el curso que exhiben en el tiempo dichos niveles (Zentella y cols. 1992), y que se apreció de forma similar en este trabajo.

Entre los efectos producidos por los AINEs como la aspirina, el piroxicam, el naproxen y el nimesulide, se encuentran los de disminuir y modificar el curso temporal de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (Zentella y cols. 1993).

Lo cual indica que los AINEs podrían ejercer un efecto protector, como algunos autores lo han propuesto (Sagone y cols. 1987; Abrahamson y cols. 1984).

En un trabajo se informó que el piroxicam y el tenoxicam, incrementan los niveles de acetaldehído en ratones intoxicados de forma aguda con etanol; en donde se propone que este aumento puede deberse a que el AINE inhiba de alguna forma la actividad de la enzima aldehído deshidrogenasa (Vázquez, y cols. 1993).

Los resultados de este trabajo muestran que los AINEs empleados modifican el curso temporal de las concentraciones sanguíneas del etanol y del acetaldehído, y que el etanol sanguíneo es menor en todos los grupos tratados, lo cual es más evidente en las ratas que recibieron 5g de etanol/kg de peso en comparación al grupo control, y a diferencia de lo reportado con aspirina por Roine y cols. 1991, quienes reportaron que la aspirina administrada por vía oral inhibe a la alcohol deshidrogenasa gástrica, explicando así los bajos niveles de etanol encontrados en sangre. Lo cual explica que los niveles de etanol sean mayores cuando no se administra este AINE. Lo anterior sugiere que el etanol es importante en el desarrollo de los efectos tóxicos referidos en los antecedentes y no necesariamente el acetaldehído, ya que como vimos, los niveles de acetaldehído en algunos casos aumentan en las ratas que recibieron algún AINE, sin observarse los efectos de pérdida de equilibrio y amnesia que se refirieron en los antecedentes y que en forma general y muy aparente se vieron durante el desarrollo de este trabajo.

Roine y cols. (1991), reporta que los niveles máximos de etanol sanguíneo son alcanzados a los 50 minutos cuando la dosis de etanol administrado es de 0.3 g/kg de peso, y que cuando se administra la aspirina, el pico máximo de etanol lo obtiene a los 30 minutos. El nivel máximo se alcanza antes cuando se administran un AINE, lo cual nos confirma lo recientemente descrito por Riveros (1996), sobre el efecto que tiene el piroxicam estimulando la velocidad de absorción cuando las dosis del AINE son bajas ( $1.65-16.5 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), mientras que a dosis mayores, disminuye la velocidad de absorción. En este trabajo observamos que cuando se administra aspirina (56 mg/kg), más 5 g de etanol el nivel máximo de etanol es alcanzado entre las 2 y 4 horas post-intoxicación, mientras que el grupo que no recibió el AINE presentó el máximo nivel a las 8 horas post-intoxicación.

Los resultados obtenidos sobre la disminución de etanol y el aumento correspondiente de acetaldehído o bien la disminución de éste metabolito pueden explicarse de la siguiente manera:

Se sabe que la velocidad de oxidación del etanol está limitada por el exceso de NADH producido, y su posterior transporte a la mitocondria (Cederbaum y cols. 1977; Hernandez y cols. 1987; Sugano y cols. 1990), y que la capacidad de transportar el NADH a la mitocondria dependerá de las lanzaderas de equivalentes reductores (aspartato-malato), en las que participan la malato deshidrogenasa y la aspartato transaminasa, presentes tanto en citosol como en la mitocondria (matriz). La velocidad de oxidación del etanol se verá limitada por la concentración del NAD. Por lo tanto, la velocidad con que se consume el NADH fuera de la mitocondria es igual a la velocidad con que se consume el NADH dentro de la cadena respiratoria (igual a la actividad de la lanzadera).

En dicho proceso el consumo de oxígeno refleja la actividad de la lanzadera, figura 14.

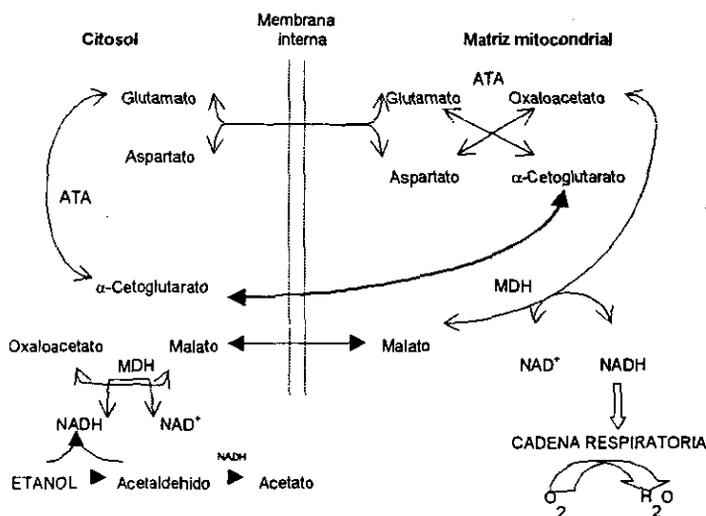


Figura 14. Transporte de electrones entre el citosol y mitocondria. Sistema del malato-aspartato. ATA: Aspartato transaminasa; MDH: malato deshidrogenasa.

Existen modelos *in vitro* similares al de las lanzaderas, a través de los cuales se puede cuantificar el consumo de oxígeno mitocondrial con malato-glutamato como sustratos. El piroxicam estimula, en forma dosis dependiente, el consumo de oxígeno (Riveros, 1996) y de esta forma la oxidación del NADH a NAD.

La concentración plasmática de piroxicam alcanzada cuando se dan 10 mg/kg por vía orogástrica es de 50 $\mu$ M, y superior cuando se administra por vía intraperitoneal (Roskos y Boudinot, 1990), lo cual es suficiente para promover el consumo de oxígeno y la reducción de los niveles de etanol encontrados por Zentella y cols. (1993). De esta forma, el piroxicam alcanzará concentraciones que pueden estimular el consumo de equivalentes reductores en la mitocondria. Si consideramos que el nivel máximo de piroxicam se obtiene desde las dos primeras horas y que permanecen hasta por 46 horas en la sangre, lo cual quiere decir que el AINE permanece durante todo el tiempo que se lleva acabo la oxidación del etanol. La efectividad del piroxicam puede radicar en que es de naturaleza hidrofóbica, insoluble en medio ácido, por lo que atraviesa fácilmente las membranas biológicas, y tiende a permanecer asociado a proteínas de membranas biológicas, lo cual no representa un obstáculo para que alcance la membrana mitocondrial en el interior de la célula, y estimular así el consumo de equivalentes reductores (Riveros, 1996), lo cual podría a su vez estimular la oxidación del etanol.

Una característica del piroxicam que favorece su efecto desacoplante es que posee un grupo hidroxilo disociable con un  $pK$  de 6.13, y que le permite actuar como acarreador de protones, lo cual explica también un mayor consumo de oxígeno en las mitocondrias. Lo reportado por Riveros con piroxicam a concentraciones de 10 - 80  $\mu$ M (1996), fue descrito parcialmente con anterioridad por Baños y cols. en 1989, quienes observaron un abatimiento en el control respiratorio y en el potencial de membrana, con concentraciones mayores de AINE (Baños, 1989).

La aspirina y el piroxicam son moléculas que desacoplan parcialmente la fosforilación oxidativa, mientras que el naproxen lo es, pero no de una forma significativa (Goodman, 1993; Baños y Reyes, 1989; Riveros, 1996).

El consumo de oxígeno, así como la capacidad de desacoplar la fosforilación oxidativa, al parecer no guardan ninguna relación aparente con su actividad antiinflamatoria (Van der Berg G. y Nauta , 1975).

La dipirona, aumenta los niveles de etanol a diferencia del piroxicam que los disminuye (Zentella y cols. 1993). También se ha reportado que la dipirona a concentraciones 4 mM estimula el consumo de oxígeno, ejerciendo un efecto similar al del piroxicam, dicho efecto es logrado con concentraciones de dipirona que son 100 veces mayores y que no son empleadas terapéuticamente (43 mg/kg, que alcanzan 210  $\mu$ M), (Riveros, 1996).

Se ha reportado que la dipirona a dosis de 43 mg/kg de peso, es suficiente para disminuir el hígado graso y el aumento de TBARS (Zentella y cols. 1993), lo cual podría correlacionarse con la disminución de etanol sanguíneo encontrado en este trabajo cuando se administran: dipirona, piroxicam, aspirina y naproxen.

La aspirina, como un desacoplante parcial de la fosforilación oxidativa y estimulante del consumo de oxígeno (Goodman, 1993 , Baños, 1989), puede al igual que el piroxicam, promover la oxidación del etanol a través del recambio de equivalentes reductores, a dosis terapéuticas (Goodman, 1993, Baños, 1989., Tokumitsu y cols. 1977).

La aspirina ejerce un efecto importante sobre los niveles de etanol cuando la dosis administrada es de 5 g de etanol/kg de peso; sin embargo esta 2disminución no se refleja en un aumento de acetaldehído que corresponda a los bajos niveles de etanol presentes en sangre, lo que sugiere la posibilidad de que la aspirina aumente el tiempo de vaciado gástrico y evite la adecuada absorción del etanol en el tubo digestivo.

Debido a que la aspirina se absorben con rapidez cuando se administra por vía orogástrica y que su concentración plasmática se alcanza en menos de media hora, durando menos de 15 minutos, disminuyendo luego en forma gradual, es poco probable que algún metabolito ejerza alguna interacción con el acetaldehído que evite su cuantificación. Lo cual si podría suceder con los AINEs que disminuyen los niveles de etanol y no se reflejan claramente en un aumento de acetaldehído en las

primeras horas post-intoxicación. Sin embargo no hay que olvidar que la disminución de etanol puede o no correlacionar con un aumento de acetaldehído.

Baños y cols. (1989), reportaron que el naproxen (50-100  $\mu\text{M}$ ) no estimula significativamente el consumo de oxígeno, lo cual implicaría en principio no observar efecto alguno sobre la oxidación del etanol. Sin embargo, los resultados de este estudio muestran que el naproxen promueve una disminución de la concentración de etanol a las 2 (2.5 g/kg), a las 8 y 12 (5g/kg) horas post-intoxicación.

El desacoplamiento de la fosforilación oxidativa y el consumo de oxígeno que promueven los AINEs se han observado en modelos *in vitro* y no se han mostrado *in vivo*. Por lo que estos hallazgos se pueden modificar en organismos íntegros.

Hay que considerar que cuando se utiliza al animal íntegro para estudiar el efecto de algunos fármacos, existe una gran cantidad de variables que hacen difícil la interpretación de los resultados obtenidos. Para el caso del acetaldehído, se observó que existe un aumento, pero que no fue congruente con el curso que exhibían en el tiempo con los niveles de etanol obtenidos, por lo que consideramos que los AINES podrían actuar sobre la actividad enzimática de las enzimas involucradas en el metabolismo del etanol (ADH o ALDH) y que los niveles de acetaldehído pueden verse afectados debido a su gran afinidad (alta reactividad) por las moléculas presentes en el organismo como: proteínas estructurales, albúmina, proteínas plasmáticas, proteínas de membrana de eritrocito, proteínas microsomales de hígado, hemoglobina, DNA, glutatión, aminas primarias, grupos hidroxilo y sulfhidrilo, forma aductos con lípidos y ácidos nucleicos, entre otros. Además, la rapidez con la que es removido de la célula hepática y su eliminación en el sudor, aliento y orina hacen que su potencial tóxico se vea reducido.

Con relación al efecto que pudiera ejercer el piroxicam sobre la actividad de la alcohol deshidrogenasa Riveros (1996) analizó el efecto del piroxicam sobre la actividad de esta enzima en homogenado de hígado de rata, y observó que a concentraciones de 7.5  $\mu\text{M}$  y 75  $\mu\text{M}$ , no ejerció ningún efecto sobre la actividad de la ADH, concluyendo que el efecto estimulante del piroxicam sobre la velocidad de oxidación del etanol se restringe a su efecto sobre el recambio de equivalentes reductores en mitocondria.

Con respecto al piroxicam, se ha descrito recientemente (Riveros, 1996) que afecta la velocidad del vaciamiento gástrico, y por ende, la velocidad de absorción del etanol se ve retrasada. Lo anterior se manifiesta en una disminución del área bajo la curva del curso temporal del etanol en sangre y que no se debe exclusivamente a una mayor oxidación del etanol. Sin embargo, los niveles de acetaldehído son mayores a los del grupo control. A este respecto Zentella y cols. (1992) indicaron que la vía de administración del piroxicam (10mg/kg) influye sobre las concentraciones de etanol alcanzadas en sangre, ya que cuando se administra el etanol (5g/kg) por vía orogástrica y el piroxicam (10mg/kg) por vía orogástrica de forma simultánea los máximos niveles se obtienen a las 4 horas (23  $\mu$ moles/ml de sangre) y cuando la administración del piroxicam es por vía intraperitoneal los niveles máximos son alcanzados a las 4 horas (33  $\mu$ moles/ml de sangre), en comparación al grupo control que alcanzó la máxima concentración entre las 6 y 8 horas (40  $\mu$ moles/ml de sangre) sugiriendo que lo encontrado no se debe a una disminución en la absorción del etanol por efecto del piroxicam sino al estímulo de algunas oxidasas inducibles. Otro hallazgo encontrado es este trabajo fue que el piroxicam no estimula la eliminación del etanol por vía renal. Ahora se sabe que el piroxicam a dosis bajas estimula la absorción del etanol y que a dosis altas como las empleadas por Zentella y cols. (1992), disminuye la velocidad de absorción (Riveros, 1996).

Los resultados obtenidos en este trabajo pueden de alguna forma explicar el efecto protector de los AINEs sobre los daños por la intoxicación etílica, ya que los cuatro AINES empleados fueron capaces de disminuir, en mayor o menor grado, los niveles sanguíneos de etanol durante la intoxicación etílica.

En cuanto al grupo que recibió 7.5 g de etanol/ kg de peso únicamente se observó el curso temporal en sangre del etanol, debido a que los efectos nocivos del etanol (hipnosis profunda, hipotermia, paro respiratorio y muerte), no permitieron mantener en condiciones fisiológicas aceptables a los animales experimentales (n=6). A continuación se resumen los datos numéricos en cuadros de resultados:

Tratamiento	Hora post-intoxicación			
	2	4	8	12
Etanol (2.5g/kg) + NaCl (0.9%)	34.09 ± 1.46	21.38 ± 2.37	0.36 ± 0.14	0.01 ± 0.00
Etanol (5.0g/kg) + NaCl(0.9%)	43.37 ± 2.70	48.40 ± 0.62	58.44 ± 1.48	32.46 ± 0.81
Etanol (7.5g/kg) + NaCl (0.9%)	58.03 ± 5.79	82.87 ± 4.30	94.65 ± 8.75	113.34 ± 2.41

Concentración basal =  $0.133 \pm 0.011$  mM.

**Cuadro 6.** Concentración (mM) de etanol  $\pm$  error estándar, en sangre de ratas que recibieron diferentes dosis de etanol, vía orogástrica.

Tratamiento	Hora post-intoxicación			
	2	4	8	12
Etanol (2.5g/kg) + NaCl (0.9%)	21.66 ± 0.01	17.81 ± 0.56	16.04 ± 1.47	11.35 ± 1.78
Etanol (5.0g/kg) + NaCl(0.9%)	20.38 ± 2.23	24.71 ± 2.19	21.18 ± 1.35	20.38 ±2 1.33
Etanol (7.5g/kg) + NaCl (0.9%)	48.46 ± 2.06	46.70 ± 3.24	40.0 ± 0.58	35.0 ± 1.18

Concentración basal =  $10.38 \pm 3.08$   $\mu$ M

**Cuadro 7.** Concentración ( $\mu$ M) de acetaldehído  $\pm$  error estándar, en sangre de ratas que recibieron diferentes dosis de etanol, vía orogástrica.

Tratamiento	Hora post-intoxicación			
	2	4	8	12
Etanol (2.5g/kg)	2	4	8	12
NaCl (0.9%)	34.09 ± 1.46	21.38 ± 2.37	0.36 ± 0.14	0.01 ± 0.00
Aspirina	31.22 ± 1.81	16.51 ± 1.76	0.61 ± 0.26	0.01 ± 0.00
Dipirona	23.22 ± 1.53 P<0.0001	5.92 ± 1.13 P<0.0001	1.19 ± 0.07 P<0.0001	0.01 ± 0.00
Naproxen	28.67 ± 0.94 P<0.009	18.01 ± 0.78	0.23 ± 0.05	0.06 ± 0.00
Piroxicam	23.01 ± 1.90 P<0.0001	14.92 ± 1.89 P<0.05	0.149 ± 0.021	0.01 ± 0.00

Cuadro 8. Concentración (mM) de etanol ± error estándar, en sangre de ratas que recibieron 2.5g de etanol/kg de peso y que recibieron un AINE.

Tratamiento	Hora post-intoxicación			
	2	4	8	12
Etanol (2.5g/kg)	2	4	8	12
NaCl (0.9%)	21.66 ± 0.01	17.81 ± 0.56	16.04 ± 1.47	11.35 ± 1.78
Aspirina	18.77 ± 1.05 P<0.01	13.38 ± 1.02 P<0.001	11.51 ± 1.45 P<0.04	15.35 ± 0.89
Dipirona	18.29 ± 0.56 P<0.01	24.07 ± 0.90 P<0.0001	18.93 ± 1.57	14.05 ± 0.50
Naproxen	20.0 ± 1.07	19.74 ± 0.64	17.9 ± 0.69	17.65 ± 0.99 P<0.007
Piroxicam	21.02 ± 0.45	24.87 ± 1.68 P<0.001	21.66 ± 1.10 P<0.007	20.05 ± 1.12 P<0.001

Cuadro 9. Concentraciónn (µM) de acetaldehído ± error estándar, en sangre de ratas que recibieron 2.5g de etanol/kg de peso y que recibieron un AINE.

Tratamiento	Hora post-intoxicación			
	2	4	8	12
Etanol (5.0g/kg)	2	4	8	12
NaCl (0.9%)	43.37 ± 2.70	48.40 ± 0.62	58.44 ± 1.48	32.46 ± 0.81
Aspirina	28.26 ± 1.99 P<0.0001	28.40 ± 3.92 P<0.0001	14.17 ± 2.81 P<0.0001	9.92 ± 0.13 P<0.0001
Dipirona	42.14 ± 5.18	45.07 ± 4.14	30.75 ± 5.77 P<0.0001	13.57 ± 3.36 P<0.0001
Naproxen	44.58 ± 3.51	47.48 ± 3.38	29.57 ± 3.49 P<0.0001	10.20 ± 1.14 P<0.0001
Piroxicam	42.61 ± 3.28	44.91 ± 3.35	46.26 ± 2.18 P<0.0001	25.19 ± 0.75 P<0.0001

Cuadro 10. Concentración (mM) de etanol ± error estándar, en sangre de ratas que recibieron 5.0g de etanol/kg de peso y que recibieron un AINE.

Tratamiento	Hora post-intoxicación			
	2	4	8	12
Etanol (5.0g/kg)	2	4	8	12
NaCl (0.9%)	20.38 ± 2.23	24.71 ± 2.19	21.18 ± 1.35	20.38 ± 1.33
Aspirina	13.40 ± 1.12 P<0.015	15.33 ± 1.79 P<0.004	19.25 ± 1.09	24.32 ± 1.38
Dipirona	17.17 ± 1.00	15.94 ± 0.58 P<0.002	16.36 ± 0.74 P<0.01	21.98 ± 0.60
Naproxen	24.07 ± 2.04	18.61 ± 0.91 P<0.02	19.74 ± 1.49	20.0 ± 0.91
Piroxicam	26.32 ± 0.32 P<0.032	29.20 ± 1.95	22.94 ± 1.09	19.25 ± 0.43

Cuadro 11. Concentración (µM) de acetaldehído ± error estándar, en sangre de ratas que recibieron 5.0g de etanol/kg de peso y que recibieron un AINE.

Con respecto a la absorción, se encontró que esta se modifica dependiendo de la dosis administrada de etanol, debido a que la absorción aumenta hasta en un 27.45 % y un 70.58% en las ratas que recibieron 5 y 7.5 g de etanol con respecto a las que recibieron 2.5 g de etanol /kg de peso, lo que nos indica que es mayor la absorción conforme aumenta la concentración de etanol administrada. cuadro 12.

TRATAMIENTO $n =$ mayor de 9 a 11 estandard	DOSIS DE ETANOL (g/kg)	ABSORCIÓN (mmolas/h <sup>-1</sup> ) promedio + error
ETANOL + SOL. SALINA	2.5	2.04±0.08
ETANOL + SOL. SALINA	5.0	2.60± 0.16
ETANOL + SOL. SALINA	7.5	3.48±0.34
ETANOL + ASPIRINA	2.5	1.87±0.10
ETANOL + DIPIRONA	2.5	1.39±0.09
ETANOL + NAPROXEN	2.5	1.72±0.05
ETANOL + PIROXICAM	2.5	1.38±0.11~
ETANOL + ASPIRINA	5.0	1.69±0.11
ETANOL + DIPIRONA	5.0	2.52±0.31
ETANOL + NAPROXEN	5.0	1.06±0.21,
ETANOL + PIROXICAM	5.0	2.55±0.19

Cuadro 12. Efecto de los antiinflamatorios no esteroideos sobre la absorción del etanol en ratas que fueron tratadas con dosis diferentes de etanol y un AINE de forma simultánea.

En los grupos que recibieron un AINE más 2.5 g de etanol, se apreció que la absorción fue menor (aspirina, 5.55%; dipirona,32%; naproxen,15.89%; y pirpxicam,32.51%) en todos los casos. A diferencia de lo observado en el grupo que recibió 5 g de etanol donde la absorción fue menor en los grupos tratados con aspirina (35%) y naproxen (59.23%), sin que hubiera cambios muy aparentes en los grupos que recibieron dipirona (3.07%) y piroxicam (1.92%), con respecto al grupo que no recibió nungún AINE.

Lo anterior nos hace suponer que el piroxicam y la dipirona comparten efectos sobre la absorción, dosis dependiente de etanol, donde el mayor efecto

---

inhibitorip se aprecia cuando la administración de etanol es de 2.5g/kg y no así cuando se administran 5 g de etanol. Mientras que con aspirina y naproxen se observó un mayor efecto inhibitorio cuando reciben los 5 g de etanol/kg y no cuando se administran 2.5 g de etanol/kg. Hay que recordar que AINEs como la aspirina y el piroxicam tienen efectos sobre la absorción cuando se administran por vía oral inhibiendo a la alcohol deshidrogenasa gástrica en el caso de la aspirina e inhibitorio sobre la absorción cuando se dan dosis bajas de piroxicam como lo referimos con anterioridad en esta discusión. Además el efecto sobre la absorción tanto de la aspirina como el naproxen puede deberse a que provienen de la familia de los derivados carboxílicos, mientras que la dipirona y el piroxicam derivan de la familia de las pirazolonas.

#### 4.0 CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos en este trabajo experimental, se integran a una serie de trabajos que buscan conocer el efecto que algunos AINEs ejercen sobre el metabolismo del etanol, y cómo estos revierten los niveles de etanol reportados por Zentella y cols. (1992, 1993) donde se propuso la posibilidad de que AINES como el piroxicam promovían la oxidación del etanol, al igual que la aspirina y naproxen, y no así la dipirona.

Con respecto a los objetivos planteados concluimos que efectivamente los AINEs como la aspirina, dipirona, naproxen y piroxicam modifican las concentraciones tanto del etanol y del acetaldehído presentes de 0 a las 12 horas post - intoxicación cuando se administran el etanol y el AINE de forma simultánea (Cuadros 6-11).

Los niveles máximos de etanol de acuerdo a las dosis de etanol administradas son a las 2 horas para las ratas que recibieron 2.5g de etanol/kg, a las 8 horas las que recibieron 5 g de etanol/kg y a las 12 horas y en aumento en el grupo que recibió 7.5 g de etanol/kg (Cuadros 6, 8 y 10).

La aspirina disminuye los niveles de etanol y acetaldehído cuando la dosis administrada es de 5 g de etanol/kg de peso (Cuadros 10 y 11).

La dipirona favorece la disminución del etanol cuando se administran 2.5 y 5g de etanol/kg de peso (Cuadros 8 y 10).

El naproxen disminuye los niveles de etanol cuando se administran 2.5 y 5 g de etanol/kg de peso (Cuadros 8 y 10).

El piroxicam promueve la disminución del etanol cuando se administran 2.5 y 5 g de etanol/kg de peso (Cuadros 8 y 10).

En cuanto a los niveles de acetaldehído, estos son mayores en los grupos que recibieron 2.5 g de etanol más dipirona, naproxen y piroxicam, al igual que en el grupo que recibió 5 g de etanol más piroxicam, lo cual nos lleva a proponer que existió una estimulación en la oxidación del etanol (Cuadros 9 y 11), en comparación al grupo control que a su vez hace verdadera nuestra hipótesis solo con algunos AINEs, ya que no todos promovieron dicho aumento en las concentraciones de acetaldehído.

Existe correlación entre los niveles de etanol y acetaldehído en los grupos que recibieron 2.5 g de etanol más sol. salina ( $r^2 = 0.79$ ) y naproxen ( $r^2 = 0.94$ ). En el grupo que recibió 5g de etanol más aspirina ( $r^2 = 0.90$ ) y dipirona ( $r^2 = 0.78$ ).

Los datos obtenidos nos sugieren estudiar la actividad de la ADH y la ALDH para confirmar si alguna de estas aumenta o no su actividad. Lo anterior, nos lleva a contemplar la posibilidad de que los bajos niveles de etanol encontrados, se deban a que los AINEs compartan propiedades desacoplantes de la fosforilación oxidativa y el aumento en el recambio de los equivalentes reductores similares a las del piroxicam, o bien a los efectos que ejercen algunos AINEs sobre la absorción del etanol, donde se observó que cuando se administran 2.5 g de etanol, existe efecto inhibitorio sobre la absorción con todos los AINEs. Mientras que cuando se administran 5 g de etanol únicamente la aspirina (35%) y el naproxen (59.23%) inhiben la absorción.

**5.0 BIBLIOGRAFÍA:**

- Abrahamson, S. Edelson H.; Kaplan, H.; Ludewing, R.; Weissman, G. (1984) Inhibition of neutrophil activation by nonsteroidal antiinflammatory drugs., *Am. J. Med.* **77**: 3-6.
- Abramson, S.; Korchak, H.; Ludewing, R.; Edelson, H.; Haines, K.; Levin, I.R.; Herman, R.; Rider, L.; Kimmel, Seissmann G. (1985). Modes of action of aspirin-like drug. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **82**:7227-7231.
- Abreu, M.L.; Guevara, L. Alonso de R, P.; Ortiz, C. H.; Kershenobich, D. (1987). Hepatitis alcohólica, Simposio. *Gac. Med. de Méx.* **123** No. 7-8;135-145.
- Adams, W.L.; Yuan, Z.; Barboriak, J.J; Rimm, A.A. (1993). Alcohol-related hospitalization of elderly people. *JAMA.* **270**:2055.
- Akabane, J. (1970). Aldehydes and related compounds. In International Encyclopedia Pharmacology and therapeutics. Section 20. Oxford. (Tremolieres, J. ed). *Pergamon Press.* **2**: 523-560.
- Alquicia, T. G. y Millan, A. (1984). Epidemiología del alcoholismo en México: Hepatología 84 Memorias del primer curso de hepatología. México Impresiones Modernas. 293. Informe estadístico Hospital General de México. *Secretaría de Salud.* 1984-1985.
- Ambroziak, W.; Pietroszko, R. (1991). Human aldehyde dehydrogenase: Activity with aldehyde metabolites of monoamines, diamines and polyamines. *J Biol Chem.* 266:13011-13018.
- Aruoma, O.I.; Halliwell, B. (1988). The iron-binding and hydroxyl radical scavenging action of anti-inflammatory drugs. *Xenobiotica.* **18**:459-470.
- Augustin, A.J.; Goldstein, R.K.; Miltz, J.; Lutz, J. (1992). Anti-inflammatory drug and free radical scavengers on intestinal ischemia induced oxidative tissue damage. *Adv. Exp. Med. Biol.* **316**:239-251.
- Baños, G.; Reyes, P.A. (1989). A Comparative study of the effect of ten non-steroidal antiinflammatory drugs (NASIDs) upon some mitochondrial and platelet function. *Int. J. Biochem.* **21**:1387-1394.
- Beljean-Leymarie, M. Le, Henaff Y. (1989). Dosage de l' ethanol sanguin par chromatographie en phase gazeuse. *Ann Biol. Clin.* **47**: 144-152.
- Bernion, L. J.; Li, T-K. (1976). Alcohol metabolism in american indians and whites. *N. Eng. J.Med.* **294**: 9-13.

Biblia, antigua versión de Casiodoro de Reina (1569), revisada por Cipriano de Valera (1602), 1991; La Liga Bíblica. **Genesis** 9:18-29.

Bilodeau, J. F.; Wang, M.; Chung, L.F.; Castonguay, A. (1995). Effects of nonsteroidal antiinflammatory drug on oxidative pathways in A/J mice., **Free Rad. Biol. and Med.** 18:47-54.

Bode, J. C. (1974). Factors influencing ethanol metabolism in man. In alcohol and aldehyde metabolizing system (Thurman R. G.; Yonetani, T.; Williamson, J. R.; Chance, B. eds.). New York. **Academic Press.** 453-468.

Bode, J.C.H. (1980). Alcohol and the gastrointestinal tract. **Adv. Intern. Med.Pediatr.**1980:451-455.

Boleda, M.D.; Julia, P.; Moreno, A. y Parés, X. (1989). Role of extrahepatic alcohol dehydrogenase in rat ethanol metabolism. **Arch. Biochem. Biophys.** 274:1101-1105.

Bonnichsen, R.K.; Theorell, H. (1951). An enzymatic method for the microdetermination of ethanol. **Scand. J. Clin. Lab. Inv.** 3:58-62.

Borbolla, E. J.R.; Collados, L. M.T. (1994). Dipirona, la controversia. **Inv. Clin.** 46: 73-74.

Bosrom, W. F.; Li T-K. (1981). Genetic determination of alcohol and aldehyde dehydrogenases and alcohol metabolism. **Semin Liver Dis.** 1(3): 179-188

Boudino, S.G.; Funderburg, E. D.; Boudinot, F.D. (1993). Effect of age on the pharmacokinetics of piroxicam in rats. **J. Pharm. Sci.** 82:254-257.

Bowman, W. C.; Rand, M. J. (1984). **Farmacología. Bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones Clínicas.** Ed. Interamericana. 42.2-42.4.

Brien J.F., Hoover D.J. (1980). **Pharmacol Meth.** 4:51

Burnell, J.C.; Bosrom, W.F. (1989). Genetic polymorphism of human liver alcohol dehydrogenase and kinetic properties of the isoenzymes. En: Crow, K.E.; Batt, R. D. (eds). **Human Metabolism of Alcohol, Vol. II: Regulation, Enzymology, and Methabolites of ethanol.** CRC Press. Boca raton, Florida. 65-75.

Cederbaum, A. I.; Dicker, E.; Robin, E. (1977). Transfer and reoxidation of Reducing equivalents as the rate-limiting steps in the oxidation of ethanol by liver cell isolated from fed and fasted rats., **Arch. Biochem. Biophys,** 183:638-646.

Coldwell, B.B.; Solomoraj, G.; Trenholm, H.L.; Wiberg, G.S. (1971). The gas chromatographic estimation of ethanol, acetaldehyde, and acetone in ethanol metabolism studies. *Clin. Toxicol.* **4**:99-113.

Cooke, A. R.; Birchall, A. (1969). Absorption of ethanol from the stomach. *Gastroenterol.* **57**:265-272.

Cox, R.A., Crifasi J.A. (1990). A comparison of a commercial microdiffusion method and gas chromatography for ethanol analysis. *J. Anal. Toxicol.* **14**: 211-212.

Creutzfeld, W.; Graham, G. R. (1971). Hemmung des Athanolabbaues durch protein mangel beim menschen. Dtsch. *Med. Wochschr.* **96**:1576-1577.

Criteria Committee National Council on Alcoholism. (1972). Criteria for diagnosis of alcoholism. *Ann. Inter. Med.* **77**:249

Danielsson, O.; Atrain, S.; Luque, T.; Hjelmqvist, L.; González-Duarte, Jornvall, H. (1994). Fundamental molecular differences between alcohol dehydrogenases classes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **91**:4980-4984.

Díaz, B. A., Escotto V. J.: Uso de antiinflamatorios no esteroideos. ( ) *Gaceta Medica de México*. Vol. 123 Nos. 7-8, pp142-144.

Dubowky, K.M. (1963). Alcohol determination-some physiological and metabolic considerations. En Fox J.H. (eds). Alcohol and traffic safety. Washington D.C. Public Health Service Pub. US *Government Printing Office*. No. 1043:91-115.

Earashi, M.; Noguchi, M.; Kinoshita, K.; Tanaka, M. (1995). Effects of eicosanoid synthesis inhibitors on the *in vitro* growth and prostaglandin E and leukotriene B secretion of a human breast secretion of a human breast cancer cell line. *Oncology.* **52**:150-155.

Encuesta Nacional de Adicciones. (1990). Alcohol: Sistema Nacional de Encuestas de Salud; *SSA*. pp11-24.

Eriksson, C.J.P.; Sippel, H.W.; Forsander, O.A. En Lindros K.O. Eriksson, C.J.P. (eds.). (1975). The role of acetaldehyde in the actions of ethanol. Finlandia. *Finn. Found. Alc. Stud.* **23**:9-18.

Fan, F.; Plapp, B.V. (1995). Substitutions of isoleucine residues at the adenine binding site active horse liver alcohol dehydrogenase. *Biochemistry.* **34**:2595-2598.

- Farrés, J.; Wang, T.T.Y.; Cunningham, S.J.; Weiner, H. (1995). Investigation of the active site cysteine residue of rat liver mitochondrial aldehyde dehydrogenase by site-directed mutagenesis. *Biochem.* **34**: 2592-2598.
- Fenna, D.; Mix, L.; Schaefer, O.; Gilbert, J. A. L. (1971). Ethanol metabolism in various racial groups. *Can. Med. Assoc. J.* **105**: 472-475.
- Figuroa, R. B. and Klots, A. P. (1962). Alterations of liver alcohol dehydrogenase and other hepatic enzymes in alcoholic cirrhosis. *Gastroenterology.* **43**: 10-12.
- Fita, I.; Silva, A.M.; Murthy, M.R.N.; Rossmann, M.G. (1986). The refined structure of beef liver catalase at 2.5 Å resolution. *Acta Cryst.* **42**:497-515.
- Food and Drug Administration. (1988). HHS News, Rockville, MD. US *Department of Health and Human Services*. Dec 27. DHHS publication no. 88-40.
- Gabriel, S.E.; Fehring, R. A. (1992). Trends in the utilization of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the United States, 1986-1990. *J. Clin. Epidemiol.* **45**:1041-1044
- Garrow, J.S. (1982). New Approaches to body composition. *Am. J. Clin. Nutr.* **35**:1152-1158.
- George, F.R.; Howerton, T.C.; Elmer, G.I. y Collins, A.C. (1983). Antagonism of alcohol hypnosis by blockade of prostaglandin synthesis and activity: Genotype and time course effects. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **19**:131-136.
- George, F.R.; Collins, A.C. (1979). Prostaglandin synthetase inhibitors antagonize the depressant effects of ethanol. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **10**: 865-869.
- George, F.R.; Jackson, S.J. y Collins, A.C. (1981). Prostaglandin synthetase inhibitors antagonize hypothermia induced by sedative hypnotics. *Psychopharmacology.* **74**:241-244.
- Gessner, P.K. (1993). Alcohols. En: Smith C.M., Reinard A.M.: *Farmacología*. Bogota: Editorial Médica Panamericana. 254-272.
- Gibson, A.G. (1975). Alcohol can be absorbed through the respiratory tract (A case report). *Med Sci Law* pp. 64.
- Goodman, G. A.; W, Rall Theodore.; S, Nies. Alan.; Taylor, Palmer. (1993). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Editorial Panamericana. Octava edición. pp 369-376, 624-663.

Goodman, G. A.; W, Rall Theodore.; S, Nies. Alan.; Taylor, Palmer. (1987). **Las bases farmacológicas de la terapéutica**. Editorial Panamericana. Séptima edición.

Gumocio, J.J.; Miller, P.L. (1981). Funtional Implications of liver cell heterogeneity. **Gastroenterology**. pp 80-393.

Halsted, C.H.; Robles, E.A.; Mezey, E. (1973). Distribution of ethanol in the human intestinal tract. **Am. J. Clin. Nutr.** 26:831-834

Hammond, M.D. (1975). **Br J. Addict.** 70:162.

Harada, S. Agarwal, D.P.; Goeddee, H.W. (1978) Isozyme variations in acetaldehyde dehydrogenase (EC. 1.2.1.3) in human tissues. **Hum Genet.** 44:181-185.

Harada, A. (1989). Polymorphism of aldehyde dehydrogenase and its application to alcoholism. **Electrophoresis.** 10: 652-655.

Hernández, García. J.; Rubio, Sotes, M.; Carnes, Isidro. J.; Ortega, Nuñez. A. (1972). Reacción de intolerancia al ácido acetil salicílico (aspirina). **Rev. Clin. Española.** 124:2-31.

Hernández-Muñoz, R.; Díaz-Muñoz, M.; Chagoya de Sánchez, V. (1987). In vivo and in vitro adenosina stimulation of ethanol oxidation by hepatocytes, and the role of the malate-aspartate. Shuttle. **Biochim. Biophys. Acta.** 930:254-263.

Husam, Nazer, Richard, A.; Wright. (1983). The effect of alcohol on the human alimentary tract: A review **J. Clin Gastroenterol** 5: 361-365.

Ignarro, J. L. (1971). Efects of anti-inflammatory drugs on the stability of rat liver lysosomes *in vitro*. **Bioch Pharmacol.** 20:2847-2860.

Ingelman-Sundberg, M.; Johansson, I. (1984). Mechanism of hidroxyl radical formation and ethanol oxidation by ethanol-inducible and other forms of rabbit liver microsomal cytochromes P-450. **J. Biol. Chem.** 259:6447-6458.

Jones, A.W.; Neiman, J.; Hillborn, M. (1988). **Br. Clin. Pharmacol.** 25: 213.

Jones, A.W.; Schuberth, J. (1989). Computer aided head space gas chromatography applied to blood alcohol analysis: importance online process control. **J. Forensic Sci.** 34: 1116-1127.

Jones, B.M.; Jones, M.K. (1975). Effects of a moderate doses of alcohol on female social drinkers at different times in the menstrual cycle. **Chronobiologia**, Supp1, 34 (Abstr).

- Jungermann, K.; Katz, N. (1982). Functional hepatocellular heterogeneity. *Hepatology*, **2**:385.
- Kathryn, E. C.; Richard, D. Batt. (1989). **Human metabolism of alcohol. Vol. I.** CRC. Press Boca Raton, Florida. 3-9.
- Kalant, H.; Sereny, G.; CHARlebois, R. (1962). Evaluation of tri-iodothyronine in the treatment of acute alcoholic intoxication. *N. Engl. J. Med.* **267**:1-6.
- Kalant, H. (1971). Absorption, diffusion, and elimination of ethanol. Effect on biological membranes, in Kissin B. Begleiter H. (eds) *The Biology of Alcoholism*. Vol. 1. New York. *Plenum Press*. 1-62
- Koivula, T. (1975). Subcellular distribution and characterization of human liver aldehyde dehydrogenase fractions. *Life Sci.* **16**:1563-1570.
- Krebs, H.A. and Perkins, J. R. (1970). The physiological role of liver alcohol dehydrogenase. *Biochem J.* **118**: 635-644.
- Krebs, H.A.; Cuninghame, D.J.C., Stubbs, M.; Jenkins, D.J.A. (1969). Effect of ethanol on postexercise lactic acidemia. *Isr. J. Med. Sci.*, **5**: 959-962.
- Kricka, I.J. and Clark, P.M.S. (1979). *Biochemistry of alcohol and alcoholism* (Ellis Horwood series in Chemical Science) *Halsted Press*. pp 1-69.
- L. Martínez Abreu. (1987). Hepatitis alcohólica. *Gaceta Médica de México.*, Vol. 123 Nos. 7-8. pp 135-136).
- Vázquez, O.L.; S. Miranda, S.; E. Pérez, T.; C.R.R., A.A.F. (1993). Effect of piroxicam and tenoxicam on ethanol metabolism in tonic Mice., *Proc West Pharmacol. Soc.* **36**: 329-332.
- Laposata, E.A.; Lange, L.G. (1986). Presence of nonoxidative ethanol metabolism in human organs commonly damaged by ethanol abuse. *Science.* **231**:497-9.
- Lee, M.; Schenker, S. (1994). Current Literature Reviewed and critiqued: Alcohol and analgesics-mix extraordinaire. *Alcoholism. Clin and Exp Res.*, Vol. 18, No.3. 769-770.
- Lester, D. (1961). Endogenous ethanol: A review. *Q. J. Stud. Alcohol.* **21**:554-574
- Lieber, C. S. (1972). Metabolism of ethanol and alcoholism. Racial and acquired factors. *Ann. Intern. Med.* **76**: 326-327.

- Lieber, C. S.; De Carli, L. M. (1968). Ethanol oxidation by hepatic microsomes: adaptative increase after ethanol feeding. **Science**. **162**: 917-918.
- Lieber, C.S. (1991). Hepatotoxicology., Alcohol induced hepatotoxicity., Chapter 11, CRC Press Boca Raton. Boston London. **Ann. Arbor**. 481-488.
- Lieber, C.S. (1992). Metabolism of alcohol. En: **Medical and nutritional Complication of alcoholism. Mechanism and Management** N.Y: Plenum Medical Book Company. 1-32.
- Lieber, C. S. (1994). Alcohol and the liver Update. **Gastroenterol**. **106**:1085-1105.
- Lieber, C.S. (1997). Metabolism of ethanol. *In* **Metabolic Aspects of Alcoholism** (Lieber C.S., de.). MTP. Press Limited, Lancaster. MTP 1-29.
- Lieber, C.S. (1994). Hepatic and metabolic effects of ethanol: pathogenesis and prevention. Rew Article. **Ann. Med**. **26**: 325-330
- Lieber, S. CH. (1995). Seminars in medicine of the beth Israel Hospital, Boston: Medical Disorders of Alcoholism, **The New England Journal of Medical** Vol. **333**, No. 16, oct. 1058-1065
- Lin, Y.; Weidler, D.J.; Garg, D.C.; Wagner, J.C. (1976). Effects of solid food on blood levels of alcohol in man. **Res. Commun. Pathol. Pharmacol** . **13**: 713-722.
- Lucas, D.; Méndez, J.F.; Bodinez, P.; Baccino, E.; Bardou, L. G.; Floch, H. H. (1988). Acetaldehyde adducts with haemoglobin: determination of acetaldehyde released from haemoglobin by acid hydrolysis. **Alcohol Alcohol**. **23**:23-31.
- Lucia, S.P. (1963). **A history of wines as therapy**. Philadelphia: J. B. Lippincott Co. p37.
- Machata, G. (1972). Determination of alcohol in blood gy gas chromatographic head space analysis. **Clin Chem (Newsletter)**. **14**:29-32.
- Maffei, Facino R. Carini, M.; Aldini, G.; Saibene, L.; Macciocchi, A. (1993). Antioxidant profile of nimesulide, indomethacin and diclofenac in phosphatidylcholine liposomes (PCL) as membrane model. **Int J. Tissue React**. **15**:225-234.
- Mc Nair, H.M.; Bonelli E.J. (1969). **Basic gas chromatography** USA: Varian Instrument Division Offices, 1-301.
- Merck index: an Encyclopedia of Chemical, Drugs and Biological**. (1989). Onceava edición, editada por: Budavari, S. Merck & Co. Rahway, New Jersey.

- Mezey, E.; Robles E. A. (1974). Effects of phenobarbital administration on rates of ethanal clearance and on ethanol-oxidizing enzymes in man. *Gastroenterology*. **66**:248-253.
- Milke G. M. (1995). *Metabolismo del alcohol en presencia de daño hepático*. Tesis de licenciatura en nutrición y ciencia de los alimentos. Universidad Iberoamericana., México D.F. IX-XI
- Mira, L.; Maia, L.; Barrera, L.; Manso, C. F. (1995). Evidence for free radical generation due to NADH oxidation by aldehyde oxidase during ethanol metabolism. *Arch. Biochem. Biophys.* **318**: 53-58.
- Moratos, G.S.; Souza, M.L.O.; Pires, M.L.N. y Masur, J. (1986). Hypoglycemia and hypothermia induced by ethanol: Antagonism by indomethacin. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **25**:739-742
- Moser, K. Pепенberg, J. V. Wartburg, J.P. (1968). Heterogenität und Organverteilung der Alkoholhydrogenase bei Verschiedenen Spezies. *Enzym. Biol. Clin.* **1968**. **9**:447
- Nebert, D.W.; Nelson, D.R.; Conn, M.J.; Estabrook, R.W.; Feyereisen, R.; Fujikuriyama, Y.; González, F.J.; Guengerich, P.F.; Gonsalus, I.C.; Johnson, E.F.; Loper, J.C.; Sato, R.; Waterman, M.R.; Waxman, D.J. (1991). The P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, and recommended nomenclature. *DNA Cell Biol.* **10**:1-14.
- Nelson, D.R.; Kamataki, T.; Waxman, D.J.; Guengerich, F.P.; Estabrook, R.W.; Feyereisen, R.; González, F.J.; Coon, M.J.; Gunsalus, I.C.; Gotoh, O.; Okuda, K.; Nebert, D.W. (1993). (1993). The 450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. *DNA Cell Biol.* **12**:1-15
- Nomiyama, K. and Nomiyama, H. (1974). Respiratory retention uptake and excretion of organic solvents in man. *Int Arch Arbeitsmed.* **32**: 75-83.
- Parrilla, R.; Ohkawa, K.; Lindros, K. O.; Zimmerman, V. J. P; Kobay-Ashi, K.; Williamson, J. R. (1974). Functional compartmentation of acetaldehyde oxidation in rat liver. *J. Biochem.* **249**: 4926-4933.
- Pawan, G. L. S. (1968). The effect of vitamin supplements and various sugars on the rate of metabolism of ethanol in man. *Biochem. J.* **107**: 25-26.
- Penton, Z. (1985). Head-space measurement of ethanol in blood by gas chromatography with a modified autosampler. *Clin Chem.* **31**:439-441.

- Peterson, D. R.; Collins, A. C. and Deitrich, R. A. (1977). Role of liver cytosolic aldehyde dehydrogenase isozymes in control of blood acetaldehyde concentration. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **201**: 471-481.
- Pietruszko, R.; Greenfield N.J.; Edson, C.R. (1977) *Human liver aldehyde dehydrogenases*, in Thurman R. Williamson J.R.; Drott, H.R.; Chance, B. (Eds) Alcohol and aldehyde metabolizing Systems. New York, Academic Press, 2: 195-202.
- Pincus, T.; Callahan, L.F. (1989). Clinical use of multiple nonsteroidal anti-inflammatory drug preparations within individual rheumatology private practices. *J. Rheumatol.* **16**:1263-1258.
- Rajagopalan, K. V.; Handler, P. (1964). Hepatic aldehyde oxidase: III. The substrate binding site. *J. Biol. Chem.* **239**:2027-2035.
- Randall, C.L.; Anton, R.F. (1984). Aspirin reduced alcohol-induced prenatal mortality and malformation in mice. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **85**:13-515.
- Randall, C.L.; Anton, R.F.; Becker, H.C. (1987). Effect of indomethacin on alcohol-induced morphological anomalies in mice. *Life Sci.* **41**:361-369.
- Rappaport, A.M. (1980). *Hepatic blood flow in: liver and biliary tract*. Physiology Baltimore N.B. Javitt. Ed. University Park Press. pp 1.
- Risto, R. M.D. R.; Thomas Gentry, Rolando Hernández, M.; Enrique Baraona.; Charles Lieber. (1990). Aspirin increase blood alcohol concentration in humans after ingestion of ethanol. *JAMA* **14**, Vol. 264. No.18 pp 2406-2408.
- Ritz, M.C.; George, F.R.; Collins, A.C. (1981). Indomethacin antagonizes ethanol but not pentobarbital- induced behavioral activation. *Subst. Alcohol Actions Misuse.* **2**:289-299.
- Riveros, R. H. (1996). *Efecto de algunos antiinflamatorios sobre el metabolismo del etanol*. Tesis de maestría en Ciencias Biomédicas (Bioquímica), UNAM. pp 11-23
- Riveros, R. H.; Julian, S. A.; Piña E. (1997). Enzymology of ethanol and acetaldehyde metabolism in mammals. *Arch Med Res.* **4**:453-471.
- Robertson, D. (1993). Advisory committee recommends acetaminophen warning. *Drug Ther.* **23**:54
- Rodríguez, C. (1995). *Vademecum de Medicamentos*. Segunda edición. Editorial Interamericana. pp.17, 295, 584, 679.

- Roine, R.; Gentry, R. T.; Hernández- Muñoz, R.; Baraona, E.; Lieber, C.S. (1990). Aspirin increases blood alcohol concentration in human after ingestion of ethanol. **JAMA**. 264:2406-2408.
- Roine, R. P.; Gentry, T.; Lim Jr, R.T.; Baraona, E. y Lieber, C.S. (1991). Effect of concentration of ingested ethanol on blood alcohols levels. **Alcohol. Clin. Exp. Res.** 15:734-738
- Root, W.S. and Hofman, F.G. (1963). **The alcohols. In physiological Pharmacology** Eds. Academic Press New York Vol.1. pp 91-183.
- Roskos, L. K.; Boudonot, F.D. (1990). Effects of dose and sex on the pharmacokinetics of piroxicam in the rats., **Biopharm. Drug Dispos**, 11: 215-225
- Roszkowski, P. A.; Rooks, H.; Wendell.; Tomolonis, J. A and Miller, M. L. (1971). Antiinflammatory and analgetic properties of d-2-(6'- metoxy-2'-naphtyl)-propionic acid (naproxen). **The J. of Pharmacol. and Experim Terap.** Vol. 179 No.1.114-123.
- Rubin, E. (1979). Alcoholic miopathy in heart and skeletal muscles. **N. Engl J. Med.** 301: 28-33.
- Sagone, A.L.; Husney, R.M. (1987). Oxidation of salicylates by stimulated granulocytes: Evidence that these drugs act as free radical scavengers in biological systems. **J. Immunol.** 138: 2177-2183.
- Salaspuro, M. Lindros, K. (1985). Metabolism and toxicity of acetaldehyde, in Seitz H.K., Kommerell, B. H (eds): **Alcohol Related Diseases in Gastroenterology**. Berlin, Heidelberg, Springer Verlag, 106-123.
- Salazar, M. R.; Zambrano, V. S. (1993). Asma inducida por aspirina y metabolitos del ácido araquidónico. **Rev. Aleg. Méx.** Vol. XL. No. 3: 54-58.
- Saldanha, L.A.; Elias, G. y Rao, M.N. (1990). Oxygen radical scavenging ctivity of phenylbutenones and their correlation with antiinflammatory activity. **Arzneimittelforschung.** 40:89-91.
- Schuckit, M.A. (1989). **Alcohol y alcoholismo**. Harrison, Braudwald, eds. Principios de Medicina Interna. 11 edición. México, Interamericana. Vol. II: 2670-2577.
- Secretaria de salud. (1990). Dirección General de Epidemiología. Instituto mexicano de psiquiatría. **Encuesta Nacional de Adicciones** pp 22-24, 306 y 314

- Senkowski, C.M., Thompon, K.A. (1990). The accuracy of blood alcohol analysis using headspace gas chromatography when performed on clotted samples. *J. Forensic Sci.* **35**: 176-180.
- Sepúlveda Vildósola, A.C.; Vilchis Macedo, C.J.; Mijangos Huesca, F.J.; Cano Jiménez, R. y Luján, M. (1988). Efecto de los inhibidores de la ciclooxigenasa en la depresión alcohólica en el ratón. *Resúmenes de trabajos científicos originales. Asociación Mexicana de Farmacología*. Patzcuaro Michoacan, 27-30 de Noviembre. pp 136.
- Shaw, S.; Jaya, Killete E. (1990). The role of aldehyde oxidase in ethanol induced hepatic lipid peroxidation in the rat. *Biochem. J.* **268**: 579-583.
- Shiff, J.S.; Koutsos, I.M.; Qiao, L. and Rigas, B. (1996). Nonsteroidal antiinflammatory drugs the proliferation of colon adenocarcinoma cell: effects on cell and apoptosis. *Exp. Cell Res.* **222**:179 -188.
- SISVEA (*Sistema de Vigilancia Epidemiológica de las adicciones*) (1992). SSA, México D.F. 1-65
- SISVEA (*Sistema de Vigilancia Epidemiológica de las adicciones*) (1993). SSA, México D.F. 1-65
- Snedecor, G.W. and Cochram, W.G. (1967). *Statistical Methods*. Seventh Edition. Iowa State University, Ames, Iowa.
- Sorrell, M. F.; Tuma, D.J. (1985). Hypotesis: Alcohol liver injury and the covalent binding of acetaldehyde. *Alcohol Clin Exp Res.* **9**:306-309.
- Soustelle, J. (1983). *La vida cotidiana de los aztecas en visperas de la conquista. Cap IV: El diario de un mexicano*. Segunda edición, décima reimpresión. Fondo de cultura económica. México pp 128- 166.
- Stowell, A.R.; Greenway, R.M.; Batt, R.D.(1977). *Biochem Med.* **18**: 392-401.
- Sugano, T.; Handler, J. A.; Yoshihara H.; Kizaki, Z.; Thurman, R.G. (1990). Acute and chronic ethanol treatment in vivo increases malate-aspartate shuttle capacity in perfused rat liver. *J. Biol. Chem.* **265**: 21549-21553.
- Sugchul, J.I.; John, Lemasters.; Vickie, C. (1982). Periportal and pericentral pyridine nucleotide fluorescence from surface of the perfused liver: Evaluation of the hypothesis that chronic tratment with ethanol produces pericentral hipoxia. *Proc Natl Acad Sci USA.* **79**:5415.

Takada, A.; Takes, S.; Nei, J. Matsuda, Y. (1984) Subcelular distribution of ALDH Isozymes in the human liver. *Alcohol Clin Exp Res.* 8:123.

Tokumitsu, Y.; Lee, S.; Vi, M. (1977). In vitro effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs on oxidative phosphorylation in rat liver mitochondrial. *Biochem. Pharmacol.* 26:2101-2106.

Truitt, E. B.; Walsh, M.J. (1971). The role of acetaldehyde in the action of ethanol. In *The Biology of Alcoholism* (Kissin B., and Begleiter H. eds.) *Plenum Pres, London*, 1:161-195.

Twomey, B.M. Dale, M.M. (1992). Cyclooxygenase-independent effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the neutrophil respiratory burst. *Biochem. Pharmacol.* 43:413-418.

Van der Berg, G. Nauta, W.T. (1975). Effects of anti-inflammatory mitochondria 2-aryl -1,3- indandiones on oxidative phosphorylation in rats liver mitochondria. *Biochem. Pharmacol.* 24: 815-821.

Vane, J. R. (1971). Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for the aspirin-like drugs. *Nature . New Biol.* 231:232-235.

Wagner, J. G. Patel, J.A. (1972). Variation in absorption and elimination rates of ethyl alcohol in a single subject . *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 4:61-76.

Walker, G.W., Curry, A.S. (1966). Endogenous alcohol in body fluids, *Nature*, (Lond). 210,1368.

Warnet, J.M.; Boudâne, C. Cluet, J.L. : Evaluation of gas chromatography method to determine blood-ethanol. *Ann Biol.* 8592-595.

Werner, H. G.; Dharam, P.A. (1989) *Alcoholism: Biomedical and genetic aspects*. Pergamon Press Inc. 21-56.

Westcott, Y.; Weiner, H.; Shultz, J.; Myers, R.D. (1989). *Biochem. Pharmacol.* 29:411.

Wiseman, H.E.; Lombardino, J.G. (1978). Oxicams - A novel family of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. 280-297.

Wiseman, H.E. (1978). Review of preclinical Studies with piroxicam: pharmacology, pharmacokinetics and toxicology. *Roy Soc Med. Int Cong S.* 11-23.

Yamashita Inoue, N.; Shirabe, T.; Ohnishi, A. Kuroiwa, Y. (1974) A case of malabsorption syndrome Meiteisho (endogenous ethanol intoxication) and polyneuropathy. *Clin. Neurol.* (Tokyo). 17-23.

Zakim, D.; Boyer, T. D. (1990). *Hepatology. A textbook of liver disease*. 2 nd. Ed. Philadelphia Saunders. 823-828, 846.

Zentella, de P. M.; Hernandez Tobías, A.; Saldaña, B. Y.; Díaz, B. A.; Piña, E. (1992). Biochemical ethanol effects affected by drug. *FEBS Letters*. **298**: 123-125.

Zentella, de P. M.; Saldaña, B. Y.; Hernández, T. A.; Piña, E. (1993). Nonsteroidal Anti-inflammatory drugs lower ethanol-mediated liver increase in lipids and thiobarbituric acid reactive substances., *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **17**:1228-1232.

Zentella, de P. M.; Díaz, B. A.; Rodríguez, L.L.; Escotto, V. J. (1993). Importancia del polimorfismo en el metabolismo del etanol. *Rev. Med. Del Hosp. Gen. de Méx. S.S.* Vol. **56**, No. 3/Jul-Sep. pp 113-124.

Zentella, de P. M.; Corona, S.; Rocha, H. A.E.; Saldaña, B. Y.; Cabrera, G.; Piña, E. (1994). Restoration by piroxicam of liver glutathione levels decreased by acute ethanol intoxication. *Elsevier Science*. USA. **54**:1433-1439.

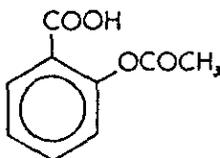
## ANEXO 1

### Aspectos farmacológicos generales de los AINEs:

**ASPIRINA:** 2-(acetoxi)ácido benzoico,  $C_9H_8O_4$  ácido salicílico (Index Merck), con propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias.

Es el medicamento más prescrito y es el estándar para la evaluación y comparación de otros AINEs. En Estados Unidos el consumo aproximado de aspirina (ácido acetil salicílico) es de 10,000 a 20,000 toneladas anuales (Goodman, 1991).

La aspirina pertenece al grupo de los salicilatos. El ácido salicílico (ácido orto-hidroxibenzoico) es muy irritante por lo que solo se emplea en forma externa. Del ácido salicílico deriva la aspirina como un éster del ácido acético, figura 15.



Aspirina

Figura 15. Fórmula estructural de la aspirina

En general, los salicilatos actúan debido a su contenido de ácido salicílico, el cual contiene grupos carboxilos o hidroxilos que cambian la potencia o toxicidad de los compuestos. La posición orto del grupo hidroxilo es importante para la acción de los salicilatos. Las propiedades farmacológicas son: analgesia (dolores de baja intensidad), antipírexia, estimulan la respiración, aumenta el consumo de oxígeno y tasa metabólica así como la producción de  $CO_2$ , como resultado del desacople de la fosforilación oxidativa y estímulo de los centros respiratorios de forma directa a diferencia de las dosis altas o prolongadas que producen un efecto pirético y parálisis respiratoria respectivamente. Existe además desacople en de la fosforilación oxidativa similar al producido por el 2,4-dinitrofenol.

La depleción del glucógeno hepático y la inhibición de varias deshidrogenasas mediante la competencia con las piridinucleótido coenzimas y de algunas oxidasas que requieren Nucleótidos como coenzimas, tal es el caso de la xantino oxidasa (cuando se administran dosis tóxicas). Los salicilatos inhiben la síntesis de prostaglandinas, estabiliza los lisosomas y reduce la permeabilidad capilar. (Rodríguez, y cols. 1995).

### FARMACOCINÉTICA:

En 1971 Davison reportó algunos aspectos importantes del metabolismo de los salicilatos. La absorción de los salicilatos se realiza en el estómago, pero la mayor parte se absorbe en intestino delgado (duodeno y yeyuno), por difusión pasiva. La presencia de alimento demora su absorción. El ácido salicílico se absorbe bien por piel intacta (pomadas). Las concentraciones plasmáticas se aprecian en 30 minutos y las concentraciones máximas se alcanzan en 2 horas, y luego disminuyen. La distribución se realiza en la mayor parte de los tejidos y líquidos transcelulares por proceso pasivo pH dependiente. Es transportado hasta plexos coroideos y la droga atraviesa rápidamente la barrera placentaria.

La biotransformación y excreción se realiza principalmente en retículo endoplásmico y las mitocondrias hepáticas. Los productos principales son el ácido salicílico (conjugado con glicina), el glucurónido fenólico (éster), y el acil glucurónido (éster). Una pequeña fracción se oxida hasta ácido gentísico y a ácidos 2,3-dihidroxibenzoico y 2,3,5-trihidroxibenzoico. También se forma ácido gentísúrico (conjugado de glicina del ácido gentísico). Los salicilatos se excretan por la orina como ácido salicílico libre (10%), ácido salicílico (75%), glucurónido salicílico fenólico (10%) y acílico (5%).

La excreción de salicilato libre varía dependiendo de la dosis y del pH urinario. La vida media de la aspirina es de aproximadamente 15 minutos, y la del salicilato es de 2-3 horas.

La aspirina se obtiene en forma de tabletas comunes o con cubierta entérica. La dosis individual usual de aspirina para los adultos es de 300 mg a 1g, que puede repetirse cada 4 horas. El régimen de dosificación dependerá del malestar a tratar. La administración es casi siempre oral., sin embargo el ácido salicílico puede llegar a emplearse en solución inyectable para uso parenteral. (Rodríguez y cols. 1995; Goodman, 1987; Bilodeau, y cols. 1995; Earashi, y cols. 1995; Abramson, y cols. 1985; Shiff, y cols. 1996; Ignarro, 1971; Salazar, y cols. 1993; Hernández, y cols. 1972).

**DIPIRONA** (metamizol): [2,3-dihidro-,1,5-dimetil-3-oxo-2 fenil-1-pirazol-4-il) metilamino] ácido metanosulfónico, sal de sodio monohidratada,  $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S \cdot H_2O$ ; p.m. 351.35, soluble en agua (1g/1.5 ml) y metanol e insoluble en éter, acetona, benceno y cloroformo (Merck Index, 1989).

Es un AINE derivado de las pirazonas. Se empleó como antipirético el siglo pasado, al buscar sustitutos de la quinina para el tratamiento de la fiebre. Se vio que tenía efecto similar al de los salicilatos, pero son más tóxicos y capaces de provocar reacciones de hipersensibilidad. La dipirona se ha considerado como un derivado soluble de la aminopiridina usado en el tratamiento de dolor reumático ligero. También tiene discretas propiedades antiinflamatorias. La dipirona inhibe la acción de la ciclooxigenasa, Figura 16.

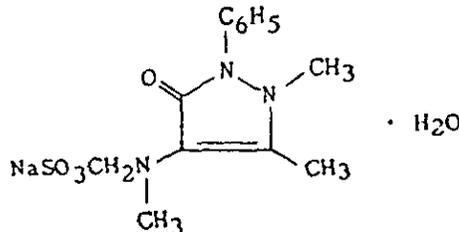


Figura 16. Estructura química de la dipirona.

La dipirona y la amidopirina pueden producir agranulocitosis considerada dependiente de una reacción similar a la que ocurre con la membrana de leucocitos mieloides. La gravedad y frecuencia elevada de esta reacción, así como la aparición de la anemia hemolítica han hecho que desaparezca el empleo de la dipirona en países como Estados Unidos.

La dipirona presenta propiedades más potentes que la aspirina como antipirético, analgésico y antiinflamatorio, no posee actividad uricosúrica como la fenilbutazona. De las alteraciones que rara vez produce la dipirona son las de tipo secundario que producen vértigo, exantema, temblores, sudoración y agranulocitosis mortal.

La dipirona y la aminopiridina han resultado útiles cuando la aspirina y paracetamol (drogas más seguras) no han resultado eficientes o no son bien toleradas. Los efectos de estos AINEs se limitan a hiperpiréxias intensas y prolongadas causadas por procesos neoplásicos (enfermedad de Hodgkin). La dipirona puede aplicarse parenteralmente cuando no se puede administrar de forma oral. Las drogas antipiréticas carecen de efecto sobre la temperatura corporal normal en las dosis que son eficaces para disminuir la fiebre. Tampoco ejercen un efecto sobre el aumento de la temperatura corporal fisiológica (por ejercicio) que busca enfriamiento. Son útiles en el tratamiento de fiebre causada por pirógenos que activan la sintetasa de prostaglandinas o ponen a disposición el sustrato para la enzima que aumenta la síntesis de prostaglandinas (en especial la PGE1 en el hipotálamo). Los antipiréticos inhiben a la sintetasa de prostaglandinas en particular las isoenzimas del hipotálamo. Sin embargo el aumento de la temperatura corporal en respuesta a inyecciones intraventriculares de PGEs no es afectada por las drogas antipiréticas.

**FARMACOCINETICA:** La dipirona administrada por vía oral alcanza sus concentraciones máximas entre los 30 y 120 minutos. Tiene una vida media biológica de 8 a 10 horas. Su unión a proteínas plasmáticas es discreta, se metaboliza rápidamente en el hígado, hasta convertirse en 4-metilaminoantipirina y en 4-aminoantipirina, metabolitos activos, los cuales se eliminan por la orina (Rodríguez y cols. 1995; Goodman, 1987; Earashi, M. y cols. 1995).

**NAPROXEN:** ácido metoxinaftilpropiónico. Es un fármaco sintético con propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias, debido a que interfiere con la síntesis de prostaglandinas, tromboxanos y prostaciclina, por inhibición de la sintetasa de prostaglandinas (ciclooxigenasa). Es una droga derivada del ácido propiónico y que puede ofrecer ventajas sobre la aspirina.

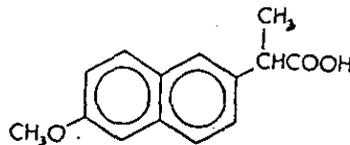


Figura 17. Estructura química del naproxen.

**FARMACOCINÉTICA :**

El naproxen se absorbe bien a través de la mucosa gastrointestinal, alcanzando concentraciones plasmáticas máximas en 1 a 2 h después de la administración oral, la presencia de alimento modifica la rapidez pero no el grado de absorción. El naproxen tiene una vida plasmática de 13 horas. Se fija a un 99% a las proteínas plasmáticas y se distribuye ampliamente en el organismo. La dosis es de 250 a 500 mg dos veces por día que se ajusta según la respuesta clínica. Las dosis se ajustan de acuerdo al trastorno presente, edad del paciente y peso. La vía de administración puede ser oral o parenteral. (Rodríguez y cols. 1995; Goodman, 1987; Roszkowski, y cols. 1971).

**PIROXICAM:** Es un derivado de los oxicam, que contienen ácido enólico con actividad antiinflamatoria, analgésica y antipirética, cuyos efectos se relacionan con su capacidad de inhibir la biosíntesis de prostaglandinas, por inhibir a la ciclooxigenasa, además, inhibe la migración de leucocitos hacia el sitio de inflamación y la liberación de enzimas lisosómicas. Se dice que es el equivalente a la aspirina y el naproxen en las dosis recomendadas, para tratar la artritis reumatoide. Es mejor tolerada que la aspirina. La principal ventaja del piroxicam es su vida media prolongada, que permite administrar una sola dosis al día.

El piroxicam es un inhibidor de la biosíntesis de las prostaglandinas *in vitro*, y de la activación de los neutrófilos aunque estén presentes los productos de la ciclooxigenasa.

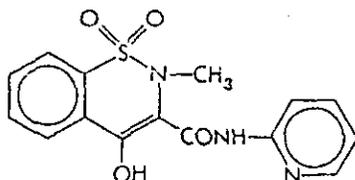


Figura 18. Estructura química del piroxicam

**FARMACOCINÉTICA:**

El piroxicam se absorbe por completo después de la administración oral. Las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan en 2 a 4 horas. Ni los alimentos ni los antiácidos alteran la velocidad o grado de absorción.

Se produce una circulación enterohepática y la vida media promedio parece ser de 50 horas aproximadamente. La droga se une a proteínas plasmáticas en un 99%. De 7 a 12 días las concentraciones de piroxicam en el plasma y líquido sinovial son casi iguales. Menos del 5% de la droga se excreta sin modificar por la orina. La transformación metabólica más importante en el hombre es la hidroxilación del anillo piridilo., este metabolito inactivo y su glucuronidación constituyen cerca del 60% de la droga excretada por la orina y las heces.

El piroxicam se puede administrar por vía oral (cápsulas) o por vía parenteral. La dosis diaria para el tratamiento de artritis reumatoide es de 20 mg (Rodríguez y cols. 1995; Goodman, 1987; Boudino, y cols. 1993; Wiseman, 1978; Bilodeau, y cols. 1995; Earashi, y cols. 1995).

## ANEXO 2. Técnicas para cuantificar el etanol en sangre y la cromatografía de gases:

La cuantificación de etanol en sangre, orina, saliva y otros fluidos o tejidos corporales se requiere para estudios de índole clínico, toxicológico y forense (legal), por lo que desde 1922 Widmark publicó un método químico para cuantificar el etanol (Jones A.W. y cols. 1989; Dubowky, 1963). Esta técnica se ha empleado en Suecia y en gran parte de Europa con fines legales. Posteriormente se desarrollaron técnicas enzimáticas que parecen ofrecer mayor especificidad (Bonnichsen, y cols. 1951). Tanto el aire y la orina son importantes médica y legalmente, empleados para detectar a individuos que conducen un automóvil bajo efectos del alcohol. Las técnicas son: a) Cuantificación directa: se mide la cantidad de alcohol presente en muestras de orina, sangre, saliva y aire expirado entre otros, para lo cual se emplea la técnica analítica de cromatografía de gases. b) Cuantificación indirecta: se mide el alcohol básicamente por dos métodos:

1.- El método enzimático: Se mide el aumento de NADH en la deshidrogenación enzimática del etanol con NAD en sangre o saliva (Westcott, 1989).



El método de análisis es por espectrofotometría, utilizando una longitud de onda de 365 nm, 340 nm ó 334 nm y una temperatura de incubación de 25 o 37°C. La cuantificación de NADH producido es frente a un blanco. Los cálculos se realizan graficando la extinción (absorbancia) en la ordenada, contra el alcohol por mil en la abscisa. El valor del blanco medido frente a agua no debe sobrepasar una extinción de 0.100 a 365 nm. El agua deberá estar libre de alcohol y aldehídos.

Este método de oxidorreducción para algunos autores se correlaciona significativamente con la cromatografía de gases (Wamet, 1990).

Sin embargo, Coldwell (1971) menciona que la cromatografía de gases es el método de elección, que permite la identificación simultánea de compuestos y la estimación de cantidades mínimas de etanol y su principal metabolito el acetaldehído (Coldwell, 1971).

2.- El método oxidimétrico: Técnica que se fundamenta en la microdifusión, en donde las sustancias volátiles reductoras, tales como el etanol, reducen el trióxido de cromo ( $\text{CrO}_3$ ) a ácido crómico ( $\text{HCr}_2\text{O}_3$ ) (Cox, 1990) en presencia de vapores de un alcohol reductor como el metanol, etanol e isopropanol entre otros (Cox, 1990), el trióxido de cromo de color amarillo cambia a color azul. La intensidad del color azul indica la cantidad del alcohol presente. Esta lectura se hace con una guía de detección de colores. Éste método es relativamente barato y rápido y se recomienda para analizar alcohol en sangre, aunque es poco sensible para detectar cantidades pequeñas de alcohol en sangre.

### GENERALIDADES DE LA CROMATOGRAFÍA DE GASES:

La cromatografía fue empleada por primera vez como técnica de separación por Ramsey en 1905. Un año después Tswett observó la presencia de bandas verdes en una columna de cromatografía, asignándole así el nombre de cromatografía, lo cual significa "escritura en color". Este término ha cambiado, debido a que la cromatografía se ha diversificado significativamente.

La cromatografía de gases (CG) es una técnica analítica de separación. Presenta ventajas muy importantes de identificación y cuantificación.

La CG es una técnica útil en la separación de sustancias volátiles principalmente.

### FUNDAMENTO DE LA CROMATOGRAFÍA DE GASES:

La técnica se basa en la separación por distribución de una muestra entre dos fases (Mc Nair, 1969). Una de estas fases es estacionaria, y la otra es un gas (fase móvil) que se desplaza y filtra a través de una fase estacionaria (material de empaque).

En la CG las sustancias que generalmente se cuantifican son de naturaleza volátil por lo que es una corriente de gas la que pasa a través de la fase estacionaria. Cuando la fase estacionaria es gas hablamos de una cromatografía de gases, gas-sólido. Esta técnica depende de la capacidad o propiedad adsorptiva del empaque de la columna (sílica gel, red molecular y carbón).

### CROMATOGRAFÍA GAS-LIQUIDO (CGL):

Cuando hablamos de cromatografía gas-líquido, decimos que la fase estacionaria es un líquido que se extiende sobre un sólido inerte. Aquí la separación se realiza dentro o fuera de esta capa de líquido. Esta variedad de CG se dice que es de las más versátiles y selectivas. La CGL requiere de un gas acarreador inerte. La muestra en estudio es una mezcla de componentes, que son separados entre el gas acarreador (fase móvil) y un solvente no volátil (fase estacionaria), que está retenida en un sólido inerte (soporte sólido) de tamaño específico. El disolvente retendrá selectivamente los componentes de la muestra de acuerdo a su coeficiente de distribución hasta que se formen bandas separadas de acuerdo a su coeficiente de distribución. Estas bandas irán abandonando la columna llevadas por la corriente de gas y serán identificadas por un detector en función de su aparición.

El resultado será el registro de la señal en cromatogramas.

### VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA CGL:

1.- El tiempo de análisis es corto, 2.- Los componentes de la mezcla se separan completamente, lo que facilita su recolección y determinación cuantitativa, 3.- La columna se regenera continuamente al circular la fase de gas inerte.

Una desventajas es: 1.- Los componentes que se retienen fuertemente a la columna, viajan lentamente. La solución a dicha desventaja se resuelve con un aumento de temperatura de la columna durante el tiempo de corrida (empleo de temperatura programada), dicha solución al problema hace más versátil y rápido el análisis, figura 19.

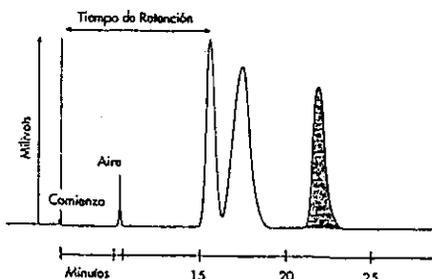


Figura 19. En un cromatograma se aprecian las diferentes sustancias presentes de acuerdo al tiempo de retención característico de cada una de ellas.

#### VENTAJAS PRINCIPALES:

1.- **Rapidez:** Existe un rápido equilibrio entre la fase móvil y la estacionaria debido al uso de gas. La velocidad del gas acarreador puede aumentarse, permitiendo así un análisis rápido (minutos o segundos). 2.- **Análisis simultáneo** de los diferentes componentes de una mezcla. 3.- **Sencillez:** los fundamentos y el manejo de la cromatografía de gases son relativamente sencillos, 4.- **Resolución:** separa compuestos con punto de ebullición muy similares. 5.- **Análisis cualitativos:** el tiempo de retención es el tiempo medido desde el momento de la inyección de la muestra hasta obtener el pico en el cromatograma. Algunos compuestos tienen tiempos de retención similares o idénticos, pero cada compuesto tiene su tiempo de retención que no se altera por otros componentes. Con un control de temperatura y flujo de gas, existe reproducibilidad de hasta 100%, 6.- **Análisis cuantitativo:** El área bajo la curva es proporcional a la concentración del compuesto, esta puede emplearse para cuantificar la concentración exacta de cada componente. La exactitud dependerá de la técnica empleada, el detector, el método de integración y la concentración de la muestra. Los integradores electrónicos son los más exactos. 7.- **Sensibilidad:** Se requieren muestras pequeñas (hasta décimas de  $\mu$ l). El detector de ionización de flama puede registrar partes por millón.

#### COMPONENTES Y FUNCIÓN DE UN CROMATÓGRAFO DE GASES:

a.- **Gas acarreador:** Los gases más comunes son el hidrógeno (H), helio (He) y nitrógeno (N). Se encuentran contenidos en un cilindro a alta presión. Se utiliza un regulador de presión para asegurar que tenga una presión uniforme en el dispositivo de la columna, y por lo tanto, que el flujo de gas sea continuo, para que dada cierta temperatura, se eluyan los componentes en un tiempo característico (tiempo de retención).

La eficiencia de la columna depende de la velocidad (volumen) lineal del gas. Para medir el volumen del gas se puede emplear un flujómetro de burbujas de jabón y un cronómetro. El gas acarreador deberá ser: 1.- Inerte, lo cual evita su interacción con la muestra, 2.- Fácilmente disponible y en forma pura, 3.- Barato, 4.- Capaz de minimizar la difusión gaseosa, 5.- Adecuado para el tipo de detector utilizado.

**b) Puerto de inyección:** La muestra gaseosa puede ser inyectada al cromatógrafo por medio de jeringas herméticas. La muestra puede ser un gas o bien líquidos llevados a punto de ebullición, y normalmente contenidos en viales sellados. Cuando la muestra gaseosa se obtiene a partir de líquidos como la sangre, la fase se obtiene de la parte superior después del calentamiento (fase gaseosa del "espacio de cabeza" o head-space). En la actualidad existe un dispositivo del mismo nombre que se instala cerca del puerto de inyección del cromatógrafo y que consiste en un sistema automatizado de calentamiento y de inyección programada.

**c) Columna:** en general la columna puede ser de acero inoxidable, aluminio, vidrio, de forma recta, doblada o helicoidal. La columna de cobre no es muy apropiada porque puede llegar a reaccionar con algunos componentes (aminas, acetilenos, terpenos y esteroides). Generalmente se usan columnas de acero inoxidable que se empaquetan cuando están rectas, y posteriormente se doblan en forma helicoidal para facilitar su manejo (las columnas rectas son imprácticas pero eficientes).

**d) Soporte sólido:** Debe ser una superficie grande e inerte para distribuir la fase líquida con las siguientes características: 1.- Inerte, para evitar adsorción, 2.- Alta resistencia a la compresión, 3.- Amplia superficie de contacto, 4.- Forma regular y tamaño uniforme.

**e) Fase estacionaria:** El disolvente adecuado ayudará a llevar a cabo la partición (La versatilidad y disponibilidad de disolventes hacen más versátil la CG). La fase estacionaria deberá tener las siguientes características:

1.- Las muestras deben tener diferentes coeficientes de distribución. 2.- Las muestras deben tener una solubilidad razonable en el disolvente. 3.- El disolvente debe tener una presión de vapor despreciable a la temperatura de operación.

**f) Temperatura:** Pueden llegarse a emplear hasta tres temperaturas programadas.

1.- Puerto de inyección: Deberá ser lo suficientemente alta como para vaporizar la muestra rápidamente para no perder eficiencia en la técnica de inyección y lo suficientemente baja como para que no se desconponga térmicamente la muestra.

2.- Columna: El tiempo de retención aumenta al doble por cada 30°C disminuidos en la temperatura de la columna. Para la mayoría de las muestras, a menor temperatura de la columna se obtienen mayores coeficientes de partición en la fase estacionaria, por lo que la separación es mejor. La temperatura debe ser la que permita obtener un análisis en un tiempo razonable y una separación deseada.

3.- Detector: La temperatura debe ser lo suficientemente alta como para no condensar la mezcla y/o la fase líquida. En caso de condensarse, hay ensanchamiento o desaparición de los picos.

**g) Detector: Mide la cantidad de componentes de una muestra.**

Las características principales del detector son: 1.- Alta sensibilidad, 2.- Poco nivel de ruido, 3.- Amplia linealidad de respuesta, 4.- Insensible a todo cambio de flujos y temperatura, 5.- Barato.

De los detectores, los de conductividad térmica (DCT) y los de ionización de flama (DIF) presentan mayores ventajas. En el DIF se emplean H<sub>2</sub> y aire para producir la flama. Arriba de la flama se encuentra un electrodo colector que mide la

conductividad de la flama. Con  $H_2$  puro, la conductividad es muy baja; sin embargo, cuando se queman compuestos orgánicos, la conductividad aumenta y la corriente que fluye puede ser amplificada y llevada a un registrador.

**h) Registrador:** Un registrador de tinta o térmico conectado a un motor rotatorio marca en papel cromatográfico la variación de voltaje en función del tiempo, figura 20.

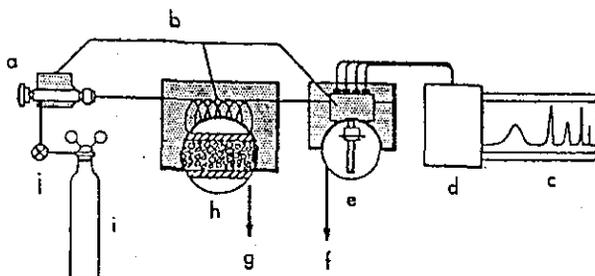


Figura 20. Componentes de un cromatógrafo: a: puerto de inyección., b: termostatos., c: cromatograma., d: registrador., e: detector., f y g) corte transversal amplificado., h: columna., i) tanque de gas acarreador., j) controlador de flujo.

### CONSIDERACIONES IMPORTANTES SOBRE LAS COLUMNAS PARA CG:

El tipo de columna empleada en nuestros análisis son de suma importancia. Las columnas pueden ser capilares (tubos abiertos, de diámetro pequeño con una delgada capa líquida en la pared) o empacadas (material sólido inerte que sirve de soporte a una delgada capa de líquido no volátil). El material de la columna puede ser de vidrio, metal o plástico y se enrollan para poderlas instalar en el horno del cromatógrafo. Factores como la longitud, técnica de empaque, temperatura de la columna, soporte sólido, tipo y cantidad de fase líquida son aspectos importantes para obtener la resolución deseada. Los conceptos generales a considerar son:

#### 1.- Fase líquida: esta debe ser:

- Un buen disolvente absoluto y diferencial de los componentes de la muestra (solutos),
- No volátil a temperatura de operación.,
- Térmicamente estable.,
- Químicamente inerte a los solutos de interés a la temperatura de la columna.

Los compuestos a analizar (solutos) se clasifican como:

- Clase I: Muy polares ( agua, glicerol aminoalcoholes etc.).
- Clase II: Polares (alcoholes, ácidos grasos, fenoles, aminas).
- Clase III: Intermedios (éteres, cetonas, aldehidos, ésteres).
- Clase IV: Baja polaridad (  $CHCl_3$ ,  $CH_2Cl_2$ ,  $CH_3CHCl_2$ ).
- Clase V: No polares (hidrocarburos saturados,  $CS_2$  Etc.).

Cuando se agrega un exceso de fase líquida al soporte se llegan a formar acumulaciones entre las partículas y la eficiencia de la columna disminuye.

#### 2.- Soporte líquido: debe de ser:

- Compuesto por partículas de forma grande y regular.
- Una superficie grande y específica.

- c) Una estructura de poros de diámetro uniforme ( $10 \mu$  o menos).
- d) Mecánicamente resistente al desmoronamiento en su transporte.
- e) Inerte.

No existe ningún material que reúna todas las características mencionadas, pero existen algunas bastante recomendables como la sílica diatomácea (diatomita).

3.- **Porapak:** es un polímero poroso compuesto de etilvinilbenceno que forma redes cruzadas con divinilbenceno para dar una estructura uniforme de un tamaño de poro especial. Porapak se puede modificar por copolimerización con monómeros polares para hacerlo más polar. Las columnas de Porapak contienen partículas porosas de polímero con un rango definido de red (tamaño) y no requieren de fase líquida o soporte sólido. El polímero poroso actúa como fase líquida y soporte sólido. Existen 6 tipos de Porapak (marca registrada): P, Q, R, S, T y N. Los tipos P y Q son los no polares. El Q tiene poros más grandes. El tamaño de la partícula puede ir desde 50/80 mallas a 150/200 mallas (mesh).

El Porapak se usa principalmente para separar de forma eficiente compuestos de bajo peso molecular. La columna debe de acondicionarse antes de utilizarse para remover disolventes residuales del proceso de polimerización.

Si el Porapak se acondiciona a  $230^{\circ}\text{C}$  por 18 a 20 horas antes de empacar la columna esta tendrá mejor eficiencia. El peso molecular de los compuestos separados con Porapak debe de ser de menos de 300. Por lo que la separación de los compuestos como las soluciones acuosas, hidrocarburos de bajo peso molecular, alcoholes, cetonas y compuestos halogenados o con S de bajo peso molecular serán las mejores.

**DETECTORES:** Mide la cantidad de compuestos separados en el gas acarreador. Los detectores se dividen en:

1.- **Integradores:** La pluma del graficador se mueve a lo largo de la carta una distancia proporcional a la masa del componente en la zona. Cuando otro componente se eluye, la pluma se mueve una distancia adicional, de tal forma que el cromatograma consiste en una serie de escalones en los que la distancia entre dos niveles es proporcional a la masa total del componente correspondiente a ese escalón. Su respuesta es proporcional a la masa del componente en la zona eluida.

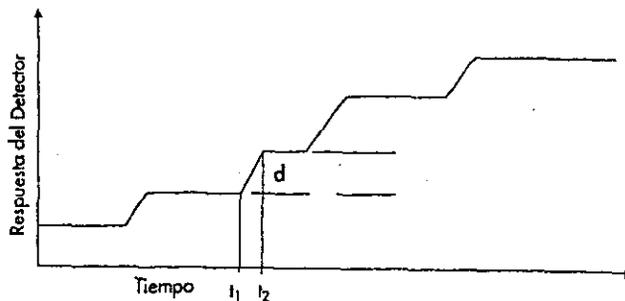


Figura 21. Cromatograma de un detector integrador, la distancia  $d$  es proporcional a la masa total del componente eluido durante el intervalo de tiempo  $(t_2-t_1)$ .

**2.- Diferenciales:** La respuesta obtenida es proporcional a la concentración (DCT) o al flujo de la masa del componente eluido (DIF). El cromatograma consiste en una serie de picos, cada uno corresponde a un componente distinto. El área del pico es proporcional a la masa total del componente. La ventaja del DIF sobre el DCT es que el área bajo los picos es independiente de la velocidad de flujo del gas acarreador, por lo que su control no es tan crítico si se usa el primero. Estos detectores son los más comunes y fáciles de interpretar.

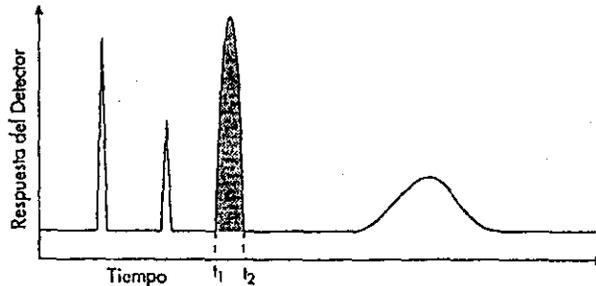


Figura 22. Cromatograma de un detector diferenciante. El área sombreada es proporcional a la masa total del componente eluido en el intervalo de tiempo.  $(t_2-t_1)$ .

#### FUNDAMENTO DEL DETECTOR DE IONIZACIÓN DE FLAMA (DIF):

La conductividad eléctrica de un gas es directamente proporcional a la concentración de partículas cargadas en el gas acarreador. El gas que sale de la columna fluye por un espacio del electrodo, en el que es ionizado. La presencia de partículas cargadas en este espacio produce una corriente que es medida por una resistencia. La caída del voltaje por la resistencia es amplificada por un electrómetro y alimentada a un registrador. En particular en un DIF el gas eluyente se mezcla con H y se quema con aire u oxígeno. Los iones y electrones formados en la flama entran por el espacio de electrodo y disminuyen la resistencia de este proceso.

El funcionamiento del DIF depende en gran medida de la selección del flujo de gases. Se obtiene una gran sensibilidad y estabilidad cuando la velocidad (volumen) de flujo del gas acarreador es de 30 ml/min., la de hidrógeno (H) es de 30 ml/min y la del aire es de 300 ml/min. Debido a que la respuesta del DIF está en función del flujo de H, el detector debe calibrarse para establecer cual es la velocidad de flujo de H que da una mayor respuesta.

#### ANÁLISIS CUALITATIVO:

El principal parámetro para identificar un compuesto por cromatografía es el tiempo de retención. El volumen de gas acarreador (volumen de retención) así como la presión constante y la velocidad de flujo lineal son importantes para determinar el tiempo de retención característico de la muestra y de la fase líquida, que a su vez sirve para identificar la muestra.

La temperatura de la columna debe permanecer constante. Lo anterior sirve como parámetro de comparación de los tiempos de retención de los componentes

no conocidos con aquellos obtenidos de compuestos conocidos y que se analizan bajo condiciones idénticas.

#### ANÁLISIS CUANTITATIVO:

La cuantificación de los compuestos presentes en una muestra determinada es posible gracias a la elaboración de una curva de calibración absoluta. La curva de calibración se elabora inyectando cantidades conocidas de compuestos conocidos de forma pura. Los valores de las áreas se grafican contra la cantidad (peso) conocida. La curva de calibración deberá ser lineal y pasar por el origen. El blanco no deberá de dar respuesta. Puede utilizarse la altura del pico para construir la curva estándar, para graficarla junto con la cantidad que representa la altura de pico. Para obtener la cantidad del compuesto en la muestra se extrapola en esta curva el pico obtenido. Algunas de las desventajas son: la calibración lleva tiempo, se debe de conocer la cantidad exacta de la muestra inyectada, la sensibilidad del detector, además debe permanecer constante de una comida a otra y de un día a otro para que los resultados sean comparables.

Calibración relativa o indirecta: Otra forma de cuantificar es utilizando un estándar interno (EI), el cual se utilizará para hacer una curva de calibración.

El método consiste en preparar soluciones combinadas del compuesto problema y del compuesto que servirá como estándar para inyectarlos al cromatógrafo (cantidades conocidas). Se miden las áreas de los picos, y la relación entre el pico del compuesto y el estándar (relación de área) se grafica contra la relación de peso de ambos compuestos (relación de peso), obteniendo una curva en una gráfica.

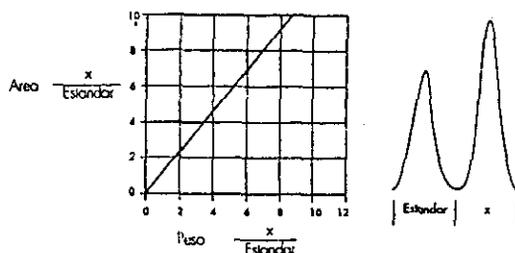


Figura 23. Calibración relativa o indirecta. Se compara el pico cromatográfico producido por la sustancia problema (X), producido por una sustancia conocida (estándar interno), graficándose la relación de área contra la relación de las cantidades de ambas sustancias (en peso), previamente conocidas.

Una modificación del método de estandarización interna consiste en agregar a cada concentración conocida del compuesto una cantidad fija de estándar interno, y graficar la relación de áreas contra la cantidad en peso del compuesto.

Posteriormente para cuantificar el compuesto presente en una muestra dada, se agrega una cantidad fija de estándar interno y esta mezcla se inyecta al cromatógrafo. Se obtienen las relaciones en áreas de los picos y estos datos se localizan en la curva de calibración construida, extrapoliéndolos para conocer la

relación en peso de ambos compuestos. Puesto que se conoce la cantidad exacta del estándar agregado. El cálculo para medir la cantidad de la muestra de interés es sencillo.

Las ventajas de este método de calibración es que no se tiene que medir con gran exactitud las cantidades y que la respuesta del detector no se debe necesariamente mantener constante puesto que cualquier cambio en la respuesta no altera la relación de áreas. La principal desventaja de este método es la dificultad en encontrar un estándar interno que no interfiera con los componentes de la muestra. Los requerimientos de un estándar interno son:

a) Resolverse bien y separarse de los otros picos, b) Eluir a un tiempo similar al del tiempo de interés, c) Tener una concentración aproximadamente igual a la del compuesto desconocido, d) Tener una estructura similar a la del compuesto desconocido.

#### MÉTODOS PARA MEDIR LA CANTIDAD DEL COMPUESTO A PARTIR DE UN CROMATOGRAMA:

**ALTURA DE PICO:** Es más rápido que estimar el área del pico: La altura y anchura del pico depende del tamaño de la muestra. La altura del pico (mm) se mide de la línea base a la altura máxima. Figura 24.

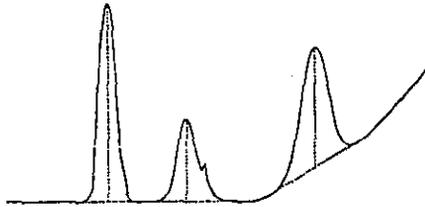


Figura 24. Medición de la altura de un pico.

**ÁREA DEL PICO:** Se utiliza más frecuentemente, pues depende de las condiciones de operación. Los principales métodos para cuantificar son:

1) Planimetría: Un aparato (mecánico) mide el área al recorrer el perímetro del pico y la registra digitalmente. Tiene poca reproducibilidad.

2) Producto de la anchura a la mitad de la altura ( $H \times B$  a  $1/2$ ).

H: Debido a que los picos semejan triángulos, se puede calcular el área aproximada multiplicando la altura del pico por la anchura del triángulo a la mitad de la altura. En vez de la base del triángulo, pues es común que el pico esté ligeramente cooleado. Esta técnica es rápida y sencilla y los resultados son confiables para picos simétricos y con una anchura razonable, figura 25.

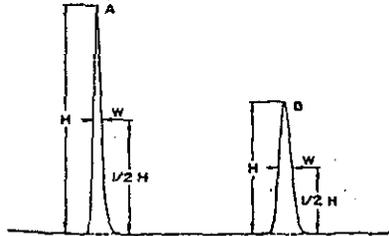


Figura 25. Medición del producto de la altura por la mitad de la anchura de un pico. H: altura, W: anchura.

3) **Triangulación:** La altura del triángulo se mide de su base hasta la intersección de las dos tangentes y el área se obtiene por la fórmula de área de un triángulo ( $A = 1/2 BH$ ), figura 26.

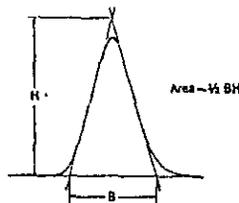


Figura 26. Triangulación. Área =  $1/2 BH$ .

4) **Cortar y pesar el papel (balanza analítica):** Este método consume mucho tiempo, pero puede ser bastante preciso para picos asimétricos. Su principal desventaja es que se destruyen los cromatogramas, además de que el grosor del papel debe de ser constante.

5) **Integrador de disco:** Es el más empleado. Se conecta mecánicamente una pluma integradora a una rueda sobre un disco rotatorio. La rotación de la rueda se transmite mecánicamente a la pluma del integrador. Debido a que el disco rota a una razón proporcional con base en el tiempo que corre la carta del registrador, la pluma del integrador dibuja líneas que representan el área del recorrido de la pluma. Este método es preciso y rápido. La reproducibilidad es muy buena.

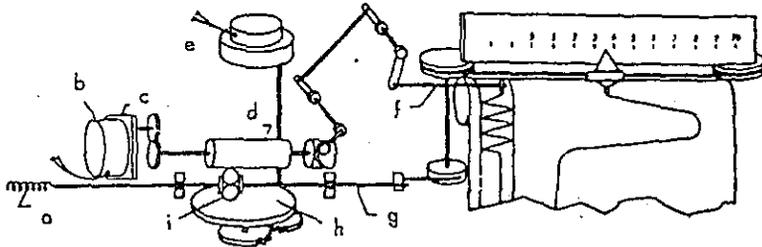


Figura 27. Integrador electrónico digital a: resorte., b: salida eléctrica., c: interruptor rotatorio de pulso., d: rodillo., e: motor de tiempo., f: pluma., g: unión de entrada., h: disco., i: bola.

**6) Integrador electrónico digital:** La señal cromatográfica llega a un convertidor de voltaje a frecuencia, que genera un pulso de salida proporcional al área del pico, figura 26.

#### ERRORES POSIBLES EN LA CROMATOGRÁFIA DE GASES:

Los errores determinados puede llegar a corregirse y son:

1.- Diferencia en respuesta entre distintos detectores, 2.- Cambio en la respuesta de un detector debidos a cambios de temperatura, 3.- ontaminación de la muestra antes de la inyección, 4.- Perdida de la muestra ofraccionamiento de ésta durante su inyección en la columna, 5.- Uso de una curva de calibración, incorrecta, 6.- Errores de cálculo, 7.- Toma de la muestra equivocada, 8.- Prejuicio: cambiar el resultado porque el operador piensa que conoce el resultado.

Los errores indeterminados no se pueden eliminar, y se deben al azar (Milck 1995).

#### DETERMINACION CROMATOGRÁFICA DE ALCOHOL EN SANGRE:

Oficialmente se ha reconocido que la cromatografía de gases es una técnica válida para cuantificar etanol en sangre por su rapidez, precisión y utilización de pocos reactivos, además de poder cuantificar otras sustancias volátiles de forma simultánea (Machata, 1972; Eriksson y cols. 1975). En las técnicas cromatográficas para determinar etanol en sangre se requiere de la extracción del mismo (con n-butanol o dioxano), por destilación (con n-butanol o tolueno) o la desproteínización de la sangre, pero no son recomendables.

Algunas desventajas de la desproteínización son:

**Por ultrafiltración:** Su costo es elevado, el empleo de **ácido tricloroacético**: retarda el análisis ya que esta sustancia queda retenida en la columna. El **ácido perclórico** a concentraciones suficientes para lograr la desproteínización actúa como un potente oxidante que transforma el etanol en acetaldehído y el isopropanol en acetona. El **tungstato de sodio y ácido sulfúrico** (Warnet, 1990; Beljeam, 1989) permite la liberación del etanol intraentrocitario.

## MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA EL ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE ETANOL APLICABLES COMO PRUEBAS DE RUTINA:

Existen dos métodos posibles que podrían aplicarse rutinariamente en las cuales hay la necesidad de preparar las muestras, siendo necesario poner un estándar interno:

1.- **La inyección directa de la muestra con un estándar interno:** Esta técnica puede emplearse bastante bien, pero después de un tiempo las muestras de sangre pueden contaminar el puerto de inyección. Esto se evita diluyendo las muestras de sangre al añadir el estándar interno y utilizando una precolumna, la cual deberá cambiarse frecuentemente (Penton, 1985). El hecho de inyectar grandes cantidades de agua limita las opciones de columnas y la jeringa debe lavarse entre una y otra inyección para que no se tape, este método es el óptimo para análisis individuales y la calibración es mínima.

2.- **Análisis de espacio de cabeza caliente (Head- space):** Analiza el vapor presente sobre una solución a una determinada temperatura de equilibrio y que contiene un estándar interno. Esta técnica tiene la ventaja de poder analizar muestras biológicas sin previa extracción o separación (Jones, 1988; Brien, 1980). Los problemas que pudieran presentarse al inyectar la muestra directamente podrían resolverse inyectando la fase presente en el llamado espacio de cabeza (Penton, 1985). En este método no existe la necesidad de limpiar las jeringas entre una y otra determinación, sin embargo se sugiere hacerlo.

El empleo de Porapak Q como empaque de la columna se sugiere por tener la propiedad de separar bien, moléculas pequeñas como el etanol e isopropanol (Jones, 1989; Machata, 1972).

Los estándares internos de etanol e isopropanol pueden conservarse a 4°C sin cambiar su concentración hasta por varias semanas (Coldwell, 1971).

Para obtener la curva de calibración se emplearán cantidades de alcohol e isopropanol conocidas y que varíaran de acuerdo a la cantidad de alcohol que se espera encontrar en las muestras problema. Dicha curva se obtiene por ensayo - error.

### MANEJO DE LA MUESTRA:

La cuantificación de etanol puede realizarse tanto en muestras heparinizadas como en las coaguladas (Senkowski, 1990). Sin embargo la coagulación puede interferir parcialmente con los resultados, por lo que se recomienda heparinizar las muestras de sangre al momento de colectarlas (Jones, 1989).

El tiempo que tarde en procesar la muestra debe ser menor a 24 horas (Coldwell, 1971) debido a una tendencia a aumentarse el acetaldehído.

El nivel máximo de acetaldehído en la muestra se obtiene a los 3-4 días. Algunos estudios demuestran que la pérdida de etanol por evaporación u oxidación enzimática es mínima. Sin embargo la aplicación de Tiourea y ácido perclórico puede utilizarse para prevenir la oxidación enzimática del etanol (Hammond, 1975; Eriksson, 1975). En este proceso existe la formación de acetaldehído durante la desproteínización de las muestras (Stowell, 1977; Garrow, 1982).

El empleo del sonicated y desproteínización son procesos importantes para liberar el etanol y acetaldehído intraeritrocitario, con lo cual se asegura una mejor linealidad de la curva de calibración (Beljean, 1989).

Las concentraciones de etanol e isopropanol se obtienen midiendo las alturas de los picos respectivos y por determinación del área bajo la curva (ABC) a

través de un integrador se obtiene la relación ABC del etanol/ABC de isopropanol (Beljean, 1989). Este procedimiento permite mayor tolerancia cuando las desviaciones estándar aumentan debido a que la concentración de etanol de la muestra aumenta (Jones, 1989).

**Aspectos que hay que considerar antes de trabajar (experiencias propias):**

1. Revisar que no haya fugas en la tubería que conecta los gases al cromatógrafo. Esto se detecta con un líquido especial para detección de fugas.
2. Medir con un flujómetro (burbuja de jabón) que el volumen de los gases sea la adecuada a través de la columna y el detector.
3. Verificar con un espejo que el detector de flama esté encendido (se puede observar el vapor de agua).
4. Dejar encendido el cromatógrafo 30 minutos o más para estabilizar las condiciones de trabajo.
5. Las jeringas que se van a emplear para inyectar las muestras es recomendable llenarlas de aire e inyectarlo al cromatógrafo para verificar que estén limpias.
6. Cambiar la septa del inyector cada 50 inyecciones o menos para evitar que por el uso excesivo se pierda la muestra al inyectarla al cromatógrafo.
7. Verificar que la temperatura del baño maría permanezca constante (70 °C).
8. Si llegan a salir picos inespecíficos en el cromatograma, se recomienda incrementar la temperatura y dejar el aparato prendido por una noche, o bien inyectar metanol de 1 a 3  $\mu$ l o más.
9. Verificar que el graficador esté conectado al cromatógrafo y que las plumillas tengan tinta.
10. Apuntar en el cromatograma la muestra inyectada y las condiciones de trabajo.

Estas son algunas recomendaciones que sugiero ayudarán a evitar la pérdida de muestras y optimizarán el material.