

11261

13



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION  
DEPTO. BIOQUIMICA, FACULTAD DE MEDICINA

**EFFECTO DE ALGUNOS ANTI-INFLAMATORIOS  
SOBRE EL METABOLISMO DEL ETANOL**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS  
B I O M E D I C A S  
(AREA: BIOQUIMICA)  
P R E S E N T A :  
BIOL. HECTOR RIVEROS ROSAS

**DIRECTOR DE TESIS:  
DR. ENRIQUE PIÑA GARZA**



MEXICO, D.F.

MAYO DE 1996

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 Adriana**

*mi amada y pequeña esposa  
por su gran ayuda, apoyo y comprensión  
y porque la amo hoy y siempre*

**A mis Padres**

por su cariño, apoyo y ejemplo

**A todos a quienes estimo  
y cuya lista es tan larga . . .  
que prefiero no comenzarla**

Quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas que de una u otra manera, han influido positivamente en mi formación académica y en el largo desarrollo de este trabajo, todas ellas están vinculadas a nuestra Universidad, a la cual hago extensiva mi gratitud.

A riesgo de cometer omisiones injustas, y por las cuales pido de antemano una disculpa, no quisiera dejar de hacer especialmente patente mi agradecimiento a: el Dr. Enrique Piña, por todo el apoyo, libertad, confianza y paciencia (casi infinita) que me ha tenido durante el desarrollo de mis estudios de maestría, amén de las deliciosas discusiones y la concienzuda revisión del trabajo escrito; al Dr. Rafael Villalobos, por sus pacientes y cuidadosas revisiones al trabajo, y su desinteresado apoyo y aliento durante los ya muchos años de larga amistad; al Dr. Juan Pablo Pardo, por su continuo interés sobre el desarrollo del trabajo, y sus muy atinadas observaciones y correcciones; a los Drs. Rolando Hernández y Salvador Uribe por la cuidadosa revisión del trabajo y sus valiosos comentarios y sugerencias; a los Drs. Alfredo Saavedra y Martha Zentella, por la colaboración y apoyo que me han brindado siempre; al Dr. Javier Garfias, quien aunque no participó directamente en este trabajo, también me ha brindado todo su apoyo, innumerables consejos, y me enseñó el placer por tratar de escribir y hacer las cosas siempre lo mejor posible (¡bueno! en mi caso, al menos por intentarlo) y al Dr. Héctor Riveros (mi padre), por despertar en mi el gusto por la ciencia. Por último, quisiera mencionar muy especialmente a la Biol. Adriana Julián (mi esposa), por su singular apoyo, comprensión y ayuda durante *nuestros* estudios y el largo desarrollo de este casi interminable trabajo (sin mencionar muchas otras cosas que quedarán -disculpenme queridos lectores- únicamente entre ella y yo).

*Este es el vino que se llama octli,  
que es raíz y principio de todo mal y toda perdición,  
porque este octli y esta borrachería  
es causa de toda discordia y distensión,  
y de todas las revueltas  
y desasosiegos de los pueblos y reinos;  
es como un torbellino que todo lo revuelve y desbarata;  
es como una tempestad infernal,  
que trae consigo todos los males juntos <sup>1</sup>.*

---

<sup>1</sup> Fragmento del discurso con el cual los emperadores aztecas, se dirigían a su pueblo inmediatamente después de su elección (Sahagún: *Historia general de las cosas de la Nueva España*).

# índice

## Resumen

---

<i>versión en español</i>	viii
<i>versión en inglés</i>	ix

## Introducción

---

Alcoholismo	
<i>consumo de bebidas alcohólicas</i>	xi
<i>mortalidad atribuible al alcohol</i>	xiv
<i>incidencia del síndrome de alcohol fetal</i>	xxiii
<i>perdidas económicas atribuibles al alcohol</i>	xxiv
<i>comentarios finales</i>	xxvi
<i>el consumo de bebidas alcohólicas en el México antiguo</i>	xxvii
<i>referencias</i>	xxix
Metabolismo del etanol	
<i>aspectos generales</i>	xxxii
<i>absorción</i>	xxxiv
<i>metabolismo del etanol</i>	xxxvi
<i>sistema de las alcohol deshidrogenasas</i>	xxxvii
<i>sistema microsomal oxidante de etanol (MEOS)</i>	xlvii
<i>catalasa</i>	xlviii
<i>oxidación no enzimática</i>	l
<i>metabolismo no oxidativo</i>	lii
<i>metabolismo del acetaldehído</i>	lii
<i>sistema de las aldehído deshidrogenasas</i>	liii
<i>aldehído oxidasa</i>	lviii
<i>corolario</i>	lix
<i>referencias</i>	lx

## Antecedentes

---

Mecanismos de toxicidad	1
Objetivo	4

## Material y métodos

---

6

## Resultados y discusión

---

### Parte I: Bioenergética

<i>recambio de equivalentes reductores</i>	8
<i>efecto del piroxicam sobre el consumo de oxígeno mitocondrial</i>	11
<i>piroxicam y su efecto sobre el potencial de membrana en mitocondria</i>	13
<i>piroxicam: efectos sobre mitocondrias <i>in vivo</i></i>	17
<i>efecto del piroxicam sobre la actividad de la alcohol deshidrogenasa</i>	18
<i>piroxicam y su efecto sobre la síntesis de citrulina</i>	19
<i>efecto del piroxicam sobre el transporte de calcio en mitocondria</i>	20
<i>efecto de la dipirona sobre el consumo de oxígeno mitocondrial</i>	20

### Parte II: Farmacocinética

<i>descripción del modelo</i>	24
<i>primera aproximación: cinética de primer orden</i>	27
<i>caso general: <math>k_2 - a \neq 0</math></i>	30
<i>caso particular: <math>k_2 - a = 0</math></i>	36
<i>análisis cualitativo del modelo</i>	39
<i>efecto de la dosis inicial de etanol</i>	39
<i>efecto de la velocidad de absorción</i>	39
<i>efecto del metabolismo hepático</i>	42
<i>efecto del metabolismo de primer paso</i>	42
<i>análisis matemático del modelo</i>	46
<i>tiempo al que se alcanza la concentración máxima de etanol en sangre</i>	46
<i>valor de la concentración máxima de etanol</i>	48
<i>pendiente inicial de las curvas de etanol en sangre</i>	50
<i>área bajo la curva (AUC)</i>	51
<i>segunda aproximación: cinética de saturación de tipo Michaelis-Menten</i>	55
<i>ecuaciones de velocidad</i>	57
<i>análisis gráfico del segundo modelo</i>	60
<i>efecto de la dosis inicial de etanol</i>	60
<i>efecto de la velocidad de absorción</i>	61
<i>efecto del metabolismo hepático</i>	62
<i>efecto del metabolismo de primer paso</i>	63
<i>aplicación de los modelos a resultados experimentales</i>	65
<i>comparación entre los dos modelos</i>	65

**Conclusiones**

---

81

**Referencias**

---

84

**Apéndice I**

---

97



# Resumen

## ***Efecto de algunos anti-inflamatorios sobre el metabolismo del etanol.***

El alcoholismo y sus consecuencias es uno de los principales problemas de salud pública. Estimaciones preliminares en este trabajo colocan a la mortalidad atribuible al alcohol entre las tres principales causas de muerte en la población general en México, siendo responsable de más de 46 000 decesos en 1992, cifra que corresponde a poco más del 10% de la mortalidad total para ese año.

En concordancia con la gravedad de este problema son numerosos los estudios tendente a describir y comprender los efectos tóxicos del etanol. Así, se han propuesto diferentes mecanismos de toxicidad para explicar los efectos tóxicos del etanol, sin embargo, aún no se aclara la importancia relativa de cada uno de ellos. Uno de los mecanismos más aceptados, involucra el desarrollo de procesos inflamatorios en hígado y la producción de derivados del ácido araquidónico; razón por la cual, se han empleado (con éxito) antiinflamatorios no esteroideos (*AINEs*) para revertir algunos de los efectos deletéreos del etanol.

Por otra parte, la administración del *AINE* piroxicam en animales intoxicados en forma aguda con alcohol, disminuye de manera significativa la concentración de etanol en sangre, lo cual sugiere que este *AINE* en particular, podría además estimular el metabolismo del etanol. Para verificar esto último, se realizaron experimentos tendentes a determinar el mecanismo a través del cual el piroxicam disminuye los niveles de etanol en sangre de animales intoxicados con alcohol. Los resultados se contrastaron con los obtenidos al emplear el *AINE* dipirona, el cual también reduce los efectos deletéreos del alcohol, pero no disminuye los niveles de etanol en sangre.

Para ello se realizaron dos series de experimentos, en la primera se estudio *in vitro* el efecto de estos *AINEs* sobre algunas actividades relacionadas con el recambio de equivalentes reductores en mitocondria (principal factor limitante de la velocidad de oxidación del etanol en hígado), y la actividad de la alcohol deshidrogenasa hepática (el principal sistema responsable de la oxidación del etanol); en la segunda serie, se analizó *in vivo* el efecto de diferentes dosis de piroxicam sobre la farmacocinética del etanol en sangre, administrado por vía orogástrica. Los resultados obtenidos se ajustaron a un modelo matemático de dos compartimentos en el que se consideró: 1) el metabolismo de primer-paso, 2) la velocidad de absorción y, 3) el metabolismo hepático del etanol.

Los resultados obtenidos muestran que el piroxicam (y no así la dipirona), incrementa el recambio de equivalentes reductores en mitocondria en el intervalo de concentraciones observado durante su empleo como agente terapéutico. Este incremento se debe: 1) a una mayor producción de citrulina (actividad que demanda a la mitocondria, gran cantidad de energía en forma de *ATP*) y 2) a la acción del piroxicam como un desacoplante débil, el cual aumenta discretamente el consumo de oxígeno mitocondrial en condiciones de reposo. El piroxicam no produce ningún efecto sobre la actividad de la alcohol deshidrogenasa.

Los resultados obtenidos *in vivo*, a través de la aplicación del modelo matemático, muestran que el piroxicam disminuye la velocidad de absorción del etanol, posiblemente por un retraso en el vaciamiento gástrico.

Estos dos tipos de efectos combinados (disminución en la velocidad de absorción y aumento en el recambio de equivalentes reductores), explican la disminución en las curvas de etanol en sangre de animales intoxicados con alcohol, al administrar simultáneamente piroxicam.

Adicionalmente se muestra en forma general que: 1) las curvas de etanol en sangre se ajustan mejor a un modelo con cinética de saturación de Michaelis-Menten que a uno con cinética de primer orden, 2) la determinación de la velocidad de oxidación del etanol *in vivo*, a partir de la simple medición de la pendiente en la fase de eliminación, carece de significado fisiológico definido, y 3) a partir de una sola curva de etanol en sangre es imposible determinar con precisión el metabolismo hepático y de primer paso en forma simultánea.

#### ***Effect of some anti-inflammatory on ethanol metabolism.***

*The alcoholism and its consequences is one of the most important public health problems. Preliminary estimations in this work collocate total alcohol related mortality as one of three main causes of mortality on general population in México. Alcohol related mortality is responsible of more than 46 000 deceases in 1992; this figure corresponds to more than 10% of all deceases in this year.*

*In correspondence with the severity of this problem numerous studies have been developed to describe and understand the alcohol mechanism of toxicity. Several mechanisms of ethanol toxicity have been proposed, however, is not clear which is the relative relevance of each one of them. One of the most accepted mechanisms is related with the development of inflammatory process and the production of arachidonic acid derivatives. For this reason, non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) have been employed with succes to revert some ethanol deleterious effects.*

*Furthermore, the administration of NSAID piroxicam decrease significantly blood ethanol levels on acutely intoxicated animals. This suggest that piroxicam can stimulate ethanol metabolism. In order to test this last possibility, were developed experiments to elucidate the mechanism by wich piroxicam reduced blood ethanol concentration. The results obtained with this NSAID were contrasted with those of dypirone, a NSAID that also decreased deleterious effects of ethanol, but do not diminished blood ethanol concentrations.*

*Two series of experiments were performed, in the first series the in vitro effects of NSAIDs on hepatic mitochondrial activities related with reducing-equivalent transfer were performed (this transfer to mitochondria is considered as the first rate-limiting step on ethanol metabolism), as well as the activity of alcohol dehydrogenase (the main system responsible of ethanol oxidation). The second series of experiments, the in vivo effect of different doses of piroxicam on the pharmacokinetic of blood ethanol administrated intragastrically were analyzed. The results were fitted to a two-compartment mathematical model. This model takes in consideration: 1) first-pass ethanol metabolism, 2) ethanol absorption rate, and 3) hepatic metabolism of ethanol.*

The obtained result show that piroxicam (no dypirone) increases reducing-equivalent transfer in mitochondria at concentrations observed at therapeutically dosages. This increase is due to: 1) an increase on citrulline production in mitochondria (an activity that need great quantities of energy as ATP), and 2) the activity of piroxicam as a weak uncoupling agent that produce a discrete increment on oxygen consumption of resting mitochondria. On other side, piroxicam does not change liver alcohol dehydrogenase activity.

The results obtained in vivo, after applying the mathematical model, show that piroxicam reduced ethanol absorption rate, probably by a diminution on gastric emptying rate.

The combination of these effects (diminished ethanol absorption and increased reducing-equivalent transfer in mitochondria) explains the observed reduction on blood ethanol concentration when ethanol and piroxicam are administrated simultaneously.

Additionally it is showed in general terms that: 1) blood ethanol curves fit better to a saturable Michaelis-Menten kinetic model than to a first order kinetic model, 2) estimation in vivo of ethanol oxidation rate on basis to slope measurements of blood ethanol curves do not have physiological significance, and 3) from a single blood ethanol curve it is no feascible to estimate simultaneously and accuracily ethanol first-pass metabolism and ethanol hepatic metabolism.

# Alcoholismo

## Consumo de bebidas alcohólicas.

De todas las drogas conocidas, el etanol constituye sin lugar a dudas desde tiempos inmemoriales, la primera sustancia enviciante empleada por el hombre, y su consumo es legalmente aceptado por la mayoría de los gobiernos y religiones del mundo. El consumo de etanol o alcohol etílico esta tan ampliamente generalizado, que en algunos países la ingestión *per capita* de bebidas alcohólicas como cerveza, vino y destilados sobrepasa los 150 litros anuales: en la ex Rep. Democrática Alemana por ejemplo, el consumo *per capita* solo de cerveza es de 145 litros anuales, mientras que el de bebidas destiladas es de 12.5 litros al año<sup>1</sup>; Italia en cambio, presentan el mayor consumo *per capita* de vino, con 79 litros anuales; sin embargo, debido a los distintos tipos de bebidas alcohólicas ingeridas en diferentes naciones y sus amplias diferencias en cuanto contenido alcohólico, la mejor manera de comparar el consumo de etanol entre diferentes poblaciones, es a través de la estimación del consumo total de alcohol etílico puro, considerando por tanto, además del tipo de bebida ingerido, el porcentaje de etanol puro presente en esta; así las cervezas por ejemplo, contienen alrededor de 3.5 - 6.0% de etanol puro, los vinos en general de 12 -14% y las bebidas destiladas 40%. La tabla I muestra a manera de ilustración el consumo *per capita* anual de bebidas alcohólicas y su equivalente en litros de alcohol absoluto, para algunas de las naciones con mayor consumo de bebidas alcohólicas: de esta forma puede observarse que en 1987, Francia y Luxemburgo fueron los países con mayor consumo de etanol (13 litros anuales), seguidos de España y Suiza (con 12.7 y 11.0 litros respectivamente). En México, el consumo *per capita* de etanol se estimó para 1984 en alrededor de 5.4 litros anuales (Souza y Machorro, 1988), que no corresponde a un consumo muy elevado en comparación con otros países; sin embargo es importante hacer notar que la mortalidad por cirrosis hepática, un indicador clásico del abuso en el consumo de bebidas alcohólicas, presenta en nuestro país una de las tasas más elevadas a nivel mundial (ver Tabla II), por lo que no es de extrañar que el alcoholismo en México sea un problema de Salud Pública de primer orden; de hecho, la mortalidad por cirrosis hepática en México, se ha ubicado en las últimas décadas dentro de las diez primeras causas de muerte en la población general (Narro-Robles *et al.*, 1992).

La Tabla III muestra las causas de mortalidad más importantes para la población general en México correspondientes a 1992, en donde la cirrosis hepática ocupó el séptimo lugar, siendo responsable de la muerte de 19 105 personas ese año (Secretaría de Salud, 1994)<sup>2</sup>. Si se

---

<sup>1</sup> Es importante tener presente que el consumo *per capita* considera al total de la población, incluyendo niños y personas que habitualmente no ingieren bebidas alcohólicas, por lo que el consumo promedio real entre la población bebedora debe ser mucho mayor.

<sup>2</sup> Si bien es cierto que no todas las muertes por cirrosis hepática son atribuibles al abuso en el consumo de bebidas alcohólicas, también es cierto que no todas las muertes por cirrosis

considera ahora exclusivamente a la población económicamente activa, es decir aquella comprendida entre los 15 y 65 años de edad (ver Tabla IV), su relevancia es aún más dramática, ya que la cirrosis hepática ocupó en la población masculina el tercer lugar, colocándose solo después de los accidentes y homicidios como causas de mortalidad; en la población femenina en cambio, ocupó el sexto lugar<sup>3</sup>. Esta diferencia en cuanto a sexo, se debe principalmente a los distintos hábitos de consumo de bebidas alcohólicas en hombres y mujeres. En la tabla V se muestran los patrones de consumo de bebidas alcohólicas, para la población urbana de 18 a 65 años de edad de acuerdo con los resultados obtenidos en la Encuesta Nacional de Adicciones realizada en 1988 (Tapia-Conyer *et al.*, 1990; Sistema Nacional de Encuestas de Salud, 1990). En ella puede observarse que más de la mitad de la población general (en este rango de edades) ingiere bebidas alcohólicas y de ésta, 2/3 corresponde a individuos de sexo masculino, quienes además constituyen casi la totalidad de los bebedores consuetudinarios; de esta manera, no es de extrañar la gran diferencia en mortalidad por sexos.

**Tabla I.** Consumo anual *per capita* de etanol total (calculado como alcohol absoluto), vino, cervezas y bebidas destiladas en algunos países con mayor consumo.

País	Consumo total de alcohol (litros de etanol absoluto)	Consumo de vino (litros)	Consumo de bebidas destiladas (litros de etanol al 40% Vol/Vol)	Consumo de cerveza (litros)
Francia	(14.2) 13.0	75.1	5.75	56.2
Luxemburgo	13	58.5	6.25	116.5
España	12.7	54	7.5	64.5
Suiza	(11.1) 11.0	49.5	5	69.3
Hungría	(11.5) 10.7	21.5	11.75	100.2
Bélgica	10.7	23	5.5	121.1
Rep. Fed. Alemana	(11.9) 10.6	25.8	5.5	144.2
Portugal	(12.9) 10.5	64.3	1.8	40
Rep. Dem. Alemana	10.5	10	<b>12.5</b>	<b>145.0</b>

(continúa)

alcohólica son diagnosticadas correctamente, por lo que es probable que ambos errores se compensen mutuamente. De cualquier manera, la mortalidad por cirrosis hepática siempre guarda un estrecho paralelismo con el consumo de bebidas alcohólicas dentro de una misma población.

<sup>3</sup> Debe mencionarse que en 1983, la cirrosis hepática ocupó el primer lugar como causa de mortalidad en la población general de 15 a 65 años (Cavazos-Ortega *et al.*, 1989).

**Tabla I.**  
*continuación.*

Italia	10	79.0	2.75	33.3
Austria	(11.0) 9.9	32.1	3.75	118.3
Dinamarca	(10.4) 9.6	20.6	3.75	118.1
Bulgaria	8.9	22.5	7	66.4
Argentina	8.9	58.1	≤3.25	≤40.0
Australia	(9.4) 8.8	21.5	3.25	108.2
Checoslovaquia	(9.5) <sup>a</sup> 8.6	13.7	8.25	130
Holanda	(8.6) 8.3	14.6	5.25	84.3
Nueva Zelanda	(8.1) 8.3	15.3	4	121.7
Canada	(8.0) 7.8	9.8	6.5	81.1
Rumania	7.6	28	5	44
Estados Unidos	(7.9) 7.6	9.1	6	90.1
Yugoslavia	7.6	25	5	51
Gran Bretaña	7.3	11	4.25	110.5
Polonia	(6.2) 7.2	8.4	11.75	≤40.0
Finlandia	(6.6) 7.1	≤8.4	8	68.1
Japón	(5.9) 6.3	≤8.4	5.75	43.2
Chipre	6.3	13.2	6	46.6
Uruguay	5.5	25.7	4	≤27.2
Suecia	(5.2) 5.4	11.8	5	51.5
Grecia	5.4	31.8	≤3.25	≤40.0
<b>México</b>	<b>5.4</b>	<sup>b</sup>		

*Datos tomados de Pyörälä (1990), de acuerdo a estimaciones realizadas en 1987. Los datos entre paréntesis de consumo total de alcohol etílico puro son tomados de Skog (1988) y corresponden a estimaciones efectuadas en 1984 (es importante considerar que las diferencias entre los consumos reportados por un estudio y otro, reflejan en la mayor parte de los casos, cambios reales en las tendencias de consumo de etanol per capita, y no errores o incertidumbre en la estimación.*

<sup>a</sup> Tomado de Nerad y Neradoba (1991), de acuerdo a una estimación realizada en 1985.

<sup>b</sup> Tomado de Souza y Machorro (1988), de acuerdo a una estimación realizada en 1984.

Por otra parte, se estima que el 12.5% de la población masculina de 18 a 65 años cumple los criterios de dependencia, mientras que en la población femenina el porcentaje es de 0.6%, lo que determina que el 5.9% de la población total en ese rango de edad debe ser considerada como alcohólica. Este porcentaje extrapolado tentativamente al total de la población mexicana tanto urbana como rural (lo cual no es necesariamente válido, pero es una buena aproximación), arroja una cifra de alrededor de 4 millones de personas con problemas de alcoholismo<sup>4</sup> (esto último no hace más que resaltar al alcoholismo como uno de los principales problemas de salud en México).

#### Mortalidad atribuible al alcohol.

Si consideramos además que la cirrosis hepática no es la única causa de muerte para los

individuos alcohólicos (de hecho ni siquiera es la más importante), y que existen otras causas de

**Tabla II.** Mortalidad por cirrosis hepática en la población general de algunos países.

País	Tasa de Mortalidad por Cirrosis hepática (por 100 000 hab.)
Hungría (1983)	39.2
Austria (1983)	30.2
Portugal (1982)	30.1
Francia (1981)	27.6
ex Rep. Fed. Alemana (1982)	25.2
<b>México (1985)</b>	<b>22.2</b>
Japón (1982)	14.0
Suiza (1984)	12.3
Dinamarca (1984)	12.1
Estados Unidos (1982)	12.0
Polonia (1984)	11.3
Canada (1984)	8.8
Suecia (1984)	8.2
Australia (1983)	7.6
Finlandia (1984)	7.0
Noruega (1984)	6.1
Holanda (1983)	5.3
Nueva Zelanda (1983)	3.8

*La tabla fue elaborada en base a los datos reportados por Skog (1988) y Narro-Robles (1992).*

<sup>4</sup> Si consideramos que los individuos alcohólicos a su vez afectan a otras personas como familiares, amigos, compañeros de trabajo entre otros, el número de individuos afectados se multiplica sensiblemente: suponiendo solo 5 personas afectadas por cada alcohólico, tenemos alrededor de 20 millones de personas afectadas por problemas de alcoholismo, casi una de cada cuatro personas en todo el país.

muerte como por ejemplo: neoplasmas malignos, desordenes mentales, enfermedades cardiovasculares, accidentes, homicidios, etc.; es claro entonces que la mortalidad total atribuida a problemas de alcoholismo es mucho mayor que la asociada solo a cirrosis hepática, causa que ya de por sí es muy importante entre la población general mayor de 15 años.

El Cuadro I muestra las causas de mortalidad relacionadas al consumo de etanol clasificadas por categoría diagnóstica, así como también la fracción de mortalidad atribuible al alcohol para cada una de estas causas; en este se observa que una gran proporción de las enfermedades y neoplasmas malignos del aparato digestivo son producidos por el abuso del alcohol (10-100%), así como también una proporción considerable de homicidios (46%), suicidios (28%) y accidentes diversos, principalmente vehiculares (42%). De esta manera, se tiene que en los EE.UU. por ejemplo (uno de los países con estudios más completos al respecto), el número total de muertes atribuibles al alcohol en 1987 fue de 104 984, con una tasa de mortalidad para la población general de 43.1 por cada 100 000 habitantes, mientras que la cirrosis hepática por si sola produjo en ese mismo año 26 351 muertes (solo la cuarta parte de la mortalidad total atribuible al etanol) con una tasa de mortalidad de 10.8 por cada 100 000 habitantes (Stinson y DeBakey, 1992). Así, la mortalidad relacionada al consumo de etanol en ese país comprende

**Tabla III.** Principales causas de mortalidad en la población general en México, (1992)

Causa	Tasa de mortalidad (por 100 000 habitantes)
Total	472.3
Enf. del corazón	64.1
Tumores malignos	50.4
Accidentes	44.1
Diabetes	32.6
Afecciones perinatales	25.1
Enf. Cerebrovascular	24.7
<b>Cirrosis y Enf. Crónicas del hígado</b>	22.0
Neumonía e influenza	21.5
Homicidios	19.1
Enf. Infec. Intestinales	16.4
Deficiencias de la nutrición	11.8
Nefritis, síndrome nefrótico y nefrosis	10.6
Anomalías congénitas	10.1
Bronquitis, enfisema y asma	9.6
Tuberculosis	5.2
Anemias	4.7
Úlceras gástrica y duodenal	3.5
Síndrome de depend. del alcohol	3.0
SIDA	2.9
Septicemia	2.8

*Basado en las Estadísticas Vitales de 1992, publicadas por la Secretaría de Salud (1994)*



**Tabla IV.** Principales causas de defunción entre la población de 15 a 65 años de edad, según sexo en México (1992).

Total		Hombres		Mujeres	
Causa	Tasa	Causa	Tasa	Causa	Tasa
Accidentes	48.7	Accidentes	83.8	Tumores malignos	45.0
Tumores malignos	38.0	Homicidios	52.4	Enf. del corazón	23.2
Enf. del corazón	29.4	<b>Cirrosis y enf. crónicas del hígado</b>	<b>43.4</b>	Diabetes mellitus	22.7
Homicidio	28.4	Enf. del corazón	35.6	Accidentes	13.8
<b>Cirrosis y enf. crónicas del hígado</b>	<b>26.6</b>	Tumores malignos	30.9	Enf. cerebrovasc.	10.5
Diabetes mellitus	22.5	Diabetes mellitus	22.2	<b>Cirrosis y enf. crónicas del hígado</b>	10.0
Enf. cerebrovasc.	10.6	Trastornos mentales	13.6	Nefritis, sind. nefrótico y nefrosis	6.9
Trastornos mentales	7.3	Enf. cerebrovasc.	10.7	Compl. embarazo, parto y puerperio	5.3
Nefritis, sind. nefrótico y nefrosis	7.1	SIDA	8.2	Enf. Inf. Intestinales	4.6
Tuberculosis	6.0	Tuberculosis	7.7	Enf. sist. nervioso	4.5

*Tasas de mortalidad calculadas por 100 000 habitantes.*

*Cálculos elaborados en base a la información asentada en las Estadísticas Vitales y de Mortalidad 1992, publicadas por la Secretaría de Salud (1994).*

aproximadamente el 5% de la mortalidad total, constituyendo una de las primeras causas de muerte en la población general de éste país.

La Tabla VI muestra para el caso particular del estado de California en EE.UU., las tasas de mortalidad atribuibles al consumo de etanol, por sexo, categoría diagnóstica y tipo de población en 1989; en ella puede observarse que: la población masculina presenta un riesgo mucho mayor de mortalidad en comparación con la femenina; que la mortalidad total atribuible al etanol es alrededor de 4 veces mayor a la atribuible solo a cirrosis hepática; y que existen algunas diferencias significativas en las tasas de mortalidad por categoría diagnóstica entre las poblaciones blanca, negra e hispánicas<sup>5</sup>: resaltando la población negra como la más propensa a mortalidad por

<sup>5</sup> La población asiática en este caso está poco muestreada como para obtener conclusiones al respecto.

**Tabla V.** Población urbana de 18 a 65 años según patrón de consumo de alcohol, por sexo.

Patrón de Consumo	Población urbana (%)		
	Masculina	Femenina	Total
Bebedor Consuetudinario	14.2	0.6	6.8
Bebedor frecuente de alto nivel	13.1	1.4	6.8
Bebedor frecuente de bajo nivel	3.8	3.1	3.4
Bebedor moderado alto	20.9	2.7	11.1
Bebedor moderado bajo	6.9	7.2	7.1
Bebedor poco frecuente	14.5	21.5	18.3
Abstemio	26.6	63.5	46.5

El total de la población urbana estimada es 12 893 600 individuos de sexo masculino y 15 088 100 individuos de sexo femenino (27 981 700 individuos en total): los resultados obtenidos corresponden a una muestra representativa de la población urbana que incluye todas las poblaciones con al menos 2 500 habitantes.

La clasificación de los patrones de consumo se realizó de acuerdo a los siguientes criterios:

*Abstemios:* Personas que reportaron no consumir bebidas alcohólicas o hacerlo con una frecuencia menor de una vez al año.

*Bebedores poco frecuente:* Personas que reportaron consumir una vez al año, o con mayor frecuencia, pero menos de una vez al mes.

*Bebedores moderados de bajo nivel:* Personas que reportan consumir una vez al mes o con mayor frecuencia, pero menos de una vez por semana y nunca consume más de 5 copas por ocasión de consumo.

*Bebedores moderados de alto nivel:* Personas que reportan consumir una vez al mes o con mayor frecuencia, pero menos de una vez a la semana y que consumen 5 copas o más por ocasión de consumo, por lo menos una vez al año.

*Bebedores frecuentes de bajo nivel:* Personas que reportan consumir una vez por semana o con mayor frecuencia y que nunca consumen 5 copas o más por ocasión de consumo.

*Bebedores frecuentes de alto nivel:* Personas que reportan consumir 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.

*Bebedores consuetudinarios:* Personas que reportan consumir 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.

Fuente: Encuesta Nacional de Adicciones (1990).

neoplasmas malignos, la población hispánica como la de menor riesgo de mortalidad por enfermedades cardiovasculares y respiratorias, y la población blanca como la de menor mortalidad por lesiones intencionales (en particular homicidios). La tabla VII muestra el porcentaje de mortalidad atribuible al alcohol por categoría diagnóstica en California, EE.UU. (Sutocky *et al.*, 1993) y España (Yáñez *et al.*, 1993), en donde se observa claramente que las enfermedades digestivas en conjunto (incluyendo la mortalidad por cirrosis hepática) corresponden solo a una fracción de la mortalidad total (23.6-24.5%), de esta manera se resalta también la importancia de las otras causas de mortalidad atribuibles al alcohol. Por otra parte es importante mencionar, que las lesiones en conjunto (intencionales y no intencionales), son la primera causa de mortalidad en la población alcohólica, sin embargo, existen importantes diferencias en este rubro entre California y España (54% vs 26.1%); de cualquier manera el porcentaje de mortalidad atribuible al alcohol con respecto a la mortalidad total es similar (6%), convirtiéndose tanto en España como en California, en la segunda causa de muerte en la población general (dentro del grupo de causas prevenibles), ubicándose solo después de la mortalidad por tabaquismo, que produce entre el 13% (España) y 20% (EE.UU.) del total de muertes. Estas cifras ya de por sí significativas, es posible que estén muy subestimadas (Petersson *et al.*, 1982; Pollock *et al.*, 1987; Romelsjö *et al.*, 1993; Sutocky *et al.*, 1993), ya que existen considerables discrepancias entre los diagnósticos clínicos empleados cotidianamente para determinar las causas de mortalidad, con los corroborados a través de autopsia, además de que en general solo se reporta la causa de muerte subyacente o fundamental, sin atender la posibilidad de causas múltiples; de hecho Petersson *et al.*, (1982) estima que el número real de muertes atribuibles al alcohol puede ser seis u ocho veces mayor al reportado oficialmente.

**Cuadro I.** Causas de mortalidad relacionadas al consumo de etanol, clasificadas por categoría diagnóstica, de acuerdo a la Clasificación Internacional de Enfermedades, novena edición (ICD - 9) y fracción de la mortalidad atribuible al alcohol (FAA).

Categoría Diagnóstica	Causas de mortalidad (código ICD - 9)	FAA
Neoplasmas malignos	Cáncer de los labios, cavidad bucal y faringe (140-149)	0.50 <sup>a</sup>
	Cáncer del esófago (150)	0.75
	Cáncer del estomago (151)	0.20
	Cáncer del hígado y los conductos biliares intrahepáticos (155)	0.15
	Cáncer de la laringe (161)	0.50 <sup>a</sup>
Desordenes mentales	Psicosis alcohólica (291)	1.00
	Síndrome de dependencia al alcohol (303)	1.00
	Abuso no dependiente del alcohol (305.0)	1.00
Enfermedades cardiovasculares	Hipertensión esencial (401)	0.076
	Cardiomiopatía alcohólica (425.5)	1.0
	Enfermedad cerebrovascular (430-438)	0.065

(Continúa)

**Cuadro I. Cont.**

Enfermedades respiratorias	Tuberculosis respiratoria (011, 012)	0.25
	Neumonía e influenza (480-487)	0.05
Enfermedades digestivas	Enfermedades del esófago, estómago y duodeno (530-537, excepto 535.3)	0.10
	Gastritis alcohólica (535.3)	1.00
	Hígado graso alcohólico (571.0)	1.00
	Hepatitis alcohólica aguda (571.1)	1.00
	Cirrosis hepática alcohólica (571.2)	1.00
	Daños no especificados al hígado por alcohol (571.3)	1.00
	Cirrosis hepática sin mención del alcohol (571.5)	0.50
	Pancreatitis aguda (577.0)	0.42
Pancreatitis crónica (577.1)	0.60	
Daños no intencionales	Accidentes vehiculares (E810-E825)	0.42
	Accidentes con bicicletas y otros accidentes en caminos vehiculares (E826, E829)	0.20
	Accidentes en transportes acuáticos (E830-E838)	0.20
	Accidentes en transportes aéreos y espaciales (E840-E845)	0.16
	Envenenamiento por alcohol (E860.0, E860.1)	1.00
	Caidas accidentales (E880-E888)	0.35
	Accidentes causados por fuego (E890-E899)	0.45
	Ahogamiento accidental (E910)	0.38
	Otros daños (frío excesivo (E901); obstrucción del tracto respiratorio por comida (E911); accidentes causados por objetos, maquinaria o instrumentos punzocortantes (E917-E920); accidentes causados por arma de fuego (E922); envenenamiento por líquidos o sólidos con motivación indeterminada (E980)	0.25
Daños intencionales	Suicidios (E950-E959)	0.28
	Homicidios (E960-E969)	0.46
Otras causas diagnósticas	Diabetes mellitus (250)	0.05
	Polineuropatía alcohólica (357.5)	1.00
	Exceso de etanol en sangre (790.3)	1.00

Basada en la información proporcionada por Sutocky *et al.*, (1993) y Stinson & DeBakey (1992).

<sup>a</sup> Para el caso de mujeres el valor estimado es 0.40

**Tabla VI.** Tasas de mortalidad atribuibles al consumo de alcohol, por sexo, categoría diagnóstica y tipo de población en California, EE.UU. (1989)<sup>a</sup>.

Categoría Diagnóstica	Población Total			Población Blanca	Población Negra	Población Hispánica	Población Asiática y otras
	Hombres	Mujeres	Total				
Neoplasmas malignos	18	7.6	<b>12.5</b>	13.4	20.1	6.7	11.2
Desordenes mentales	4.4	1.3	<b>2.8</b>	2.7	5	3.1	1.1
Enfermedades cardiovasculares	7.7	9.3	<b>8.6</b>	9.7	12.1	4	5.2
Enfermedades respiratorias	4.1	4.2	<b>4.2</b>	4.9	4.2	2.1	2.3
Enfermedades digestivas	23.6	10.9	<b>16.2</b>	17.7	19.5	17.8	7.1
Lesiones no intencionales	17.4	7.1	<b>12.1</b>	12.7	12.1	12.3	7.9
Lesiones intencionales	18.1	4.5	<b>11.1</b>	8.9	33	12.7	5.7
Otras	1.2	1.3	<b>1.3</b>	1.2	2.7	1.4	0.9
Total	63.21	28.63	<b>45.68</b>	50.28	66.63	36.28	24.62
Número total de muertes relacionadas con el alcohol	9 058	4 218	<b>13 276</b>	8 591	1 454	2 551	680

Tasas de mortalidad calculadas por cada 100 000 habitantes.

Como referencia, la tasa de mortalidad por cirrosis hepática fue para la población total fue 11.4 (15.6 para hombres y 7.5 para mujeres); para la población blanca: 11.9; para la población negra: 12.0; para la población hispanica: 12.5 y para la población asiática y otras: 5.1

<sup>a</sup> Calculadas a partir de datos de Sutocky *et al.*, (1993).

**Tabla VII. Porcentajes de mortalidad atribuibles al consumo de alcohol, por sexo y categoría diagnóstica.**

Categoría Diagnóstica	California, EE.UU. (1989) <sup>a</sup>			España (1986) <sup>b</sup>		
	Hombres	Mujeres	Total	Hombres	Mujeres	Total
Neoplasmas malignos	12.4%	12.4%	<b>12.4%</b>	29.3%	16.2%	<b>26.0%</b>
Desordenes mentales	5.3%	3.6%	<b>4.8%</b>	2.1%	0.5%	<b>1.6%</b>
Enfermedades cardiovasculares	5.9%	15.6%	<b>9.0%</b>	10.5%	31.1%	<b>17.1%</b>
Enfermedades respiratorias	2.8%	6.9%	<b>4.1%</b>	2.9%	4.3%	<b>3.3%</b>
Enfermedades digestivas	24.7%	23.9%	<b>24.5%</b>	25.6%	19.4%	<b>23.6%</b>
Lesiones no intencionales	26.1%	23.2%	<b>25.2%</b>	23.1%	16.9%	<b>21.1%</b>
Lesiones intencionales	21.9%	12.2%	<b>18.8%</b>	5.4%	3.9%	<b>5.0%</b>
Otras	0.8%	2.2%	<b>1.3%</b>	1.1%	4.7%	<b>2.3%</b>
Número total de muertes relacionadas con el alcohol	9 058	4 218	<b>13 276</b>	12 852	6 141	<b>18 993</b>
Porcentaje respecto al total de muertes	<b>8.00%</b>	<b>4.10%</b>	<b>6.2%</b>	<b>7.90%</b>	<b>4.20%</b>	<b>6.10%</b>

<sup>a</sup> Sutocky *et al.*, (1993)<sup>b</sup> Yáñez *et al.*, (1993)

En México, no existen estimaciones de la mortalidad total atribuible al alcohol, aunque si puede elaborarse una estimación provisional, aplicando las fracciones de mortalidad atribuibles al alcohol (FAA) publicadas por Stinson y DeBakey (1992) a las principales causas de mortalidad en la población mexicana reportadas por la Secretaría de Salud (1994) para 1992.

La estimación preliminar obtenida en este trabajo (ver Tabla VIII), indica que la mortalidad total atribuible al alcohol en la población general, es alrededor de 55.2 por cada 100 000 habitantes, colocándose solo por debajo de la mortalidad atribuida a las enfermedades del corazón, y ligeramente por arriba de la atribuida a los tumores malignos, que ocupan en principio el primer y

**Tabla VIII.** Estimación del número de decesos atribuibles al consumo de alcohol, por sexo y categoría diagnóstica en México (1992).

Categoría Diagnóstica	Población total		
	Hombres	Mujeres	Total
Neoplasmas malignos	1 394	767	2 161
Desordenes mentales (sind. dependencia del alcohol)	2 403	184	2 587
Enfermedades cardiovasculares (enf. cerebrovasc.)	860	1 049	1 909
Enfermedades respiratorias (neumonía y tuberculosis)	980	614	1 594
Enfermedades digestivas (cirrosis hepática)	14 891	4 307	19 198
Lesiones no intencionales (Acc. tráfico, caídas, ahogamiento acc., etc.)	8 234	2 155	10 389
Lesiones intencionales (homicidios y suicidios)	7 633	1 056	8 689
Otras (Diabetes mellitus)	626	783	1 409
<b>Total de decesos atribuibles al alcohol</b>	<b>37 021</b>	<b>10 915</b>	<b>47 936</b>
<b>Tasa de mortalidad total atribuible al alcohol</b>	<b>85.26</b>	<b>25.18</b>	<b>55.24</b>
<b>Porcentaje respecto al total de muertes</b>	<b>15.82%</b>	<b>6.22%</b>	<b>11.70%</b>

Estimación realizada en base a las estadísticas vitales y de mortalidad de 1992, publicadas por la Secretaría de Salud (1994), y aplicando las fracciones de mortalidad atribuibles al alcohol publicadas por Stinson y DeBakey (1992). Para el caso de homicidios y acc. de tráfico se consideró una FAA de 0.5, tomando en cuenta los informes de la Secretaría de Gobernación (Consejo Nacional contra las Adicciones (1987)).

segundo lugar como causas de mortalidad. Este valor preliminar de mortalidad atribuible al alcoholismo comprende alrededor del 11.7% de todos los decesos ocurridos en 1992 para individuos de todas las edades, o sea 47 936 muertes, siendo más afectada la población masculina en comparación con la femenina, ya que la tasa de mortalidad para los hombres es casi 4 veces mayor que la de las mujeres.

Este porcentaje de mortalidad atribuible al alcohol -11.7%- en la población general de México en 1992, es mayor que el 5% estimado en los EE.UU. en 1988 (Stinson y DeBakey, 1992), el 6.1% estimado en España en 1986 (Yáñez *et al.*, 1993), o el 9% estimado en Francia en 1985 (Pignon y Hill, 1991), que son países que presentan un consumo de alcohol *per capita* mucho mayor que el nuestro.

Si consideramos ahora, solo la población comprendida entre los 15 y 64 años de edad, que es la más afectada por problemas de alcoholismo (ver Tabla IX), tenemos que la tasa de mortalidad atribuible al alcohol para la población masculina, es alrededor de 109.4 por cada 100 000, mientras que la correspondiente a la población femenina es 22.7, quedando en 65.8 la tasa correspondiente a la población total en ese rango de edad. Estas cifras, colocan a la mortalidad atribuible al alcohol, muy por encima de cualesquier otra causa de mortalidad previamente identificada para la población masculina y total, en éste rango de edad. De hecho, resulta casi increíble el constatar que estas tasas de mortalidad comprenden el 27.55% del total de las muertes en la población masculina, y el 21.85% para la población total de 15 a 64 años de edad.

#### **Incidencia del síndrome de alcohol fetal.**

Este cuadro se torna aún más dramático, si a todos los problemas de mortalidad asociada al alcoholismo, se añaden ahora, los relacionados con las malformaciones en el desarrollo embrionario inducidas por el consumo de alcohol durante el embarazo. En este sentido, el síndrome de alcohol fetal tiene el triste récord de estar colocado entre las tres principales causas de malformaciones en niños, con una incidencia del orden de 0.33 a 2 casos por cada 1000 niños nacidos vivos (Abel y Sokol, 1984, 1991; Miller *et al.*, 1995), lo que la coloca al mismo nivel de incidencia que el síndrome de Down o el de la espina bífida<sup>6</sup>. Los niños que nacen con síndrome de alcohol fetal se caracterizan por presentar un retraso mental medio o moderado<sup>7</sup>, un crecimiento deficiente, una mayor incidencia de malformaciones en diversas partes de su cuerpo y en una importante proporción de los casos, presentan una apariencia facial peculiar (Webster, 1988); de hecho, la quinta parte de estos niños, muere a las pocas semanas de vida, y se sospecha que muchos otros mueren antes de nacer. Además, si consideramos que una importante cantidad de niños están afectados en menor grado por la exposición fetal a alcohol, resulta que la incidencia de niños con efectos fetales por alcohol puede ser 3 o 4 veces mayor que la incidencia del síndrome de alcohol fetal como tal (Webster, 1988), lo que coloca al etanol, como la principal causa de malformaciones en niños, siendo además, la única entre las tres más importantes, que es

---

<sup>6</sup> Por comparación, la incidencia de síndrome de Down es de 1.5 casos por cada 1000, y el de espina bífida es 1 de cada 1000 niños nacidos vivos.

<sup>7</sup> Estos niños tienen un IQ promedio de 68-70 (Warren y Bast, 1988)



perfectamente evitable<sup>8</sup>. Todo esto, no hace más que subrayar la imperiosa necesidad de controlar los problemas derivados del alcoholismo, un mal que en principio es perfectamente evitable.

### **Pérdidas económicas atribuibles al alcohol.**

Por último, es importante mencionar que el alcoholismo, además de producir un importante número de pérdidas humanas tal y como se describió en párrafos anteriores, genera también una gran cantidad de pérdidas económicas para la sociedad, y que incluyen una gran diversidad de rubros tales como gastos médicos, destrucción y pérdida de bienes, mayor índice de criminalidad, disminución en la productividad por enfermedades y muerte prematura entre otros rubros, por lo que al integrar todo el conjunto de pérdidas bajo una base económica, el costo social resulta exorbitante; en los EE.UU. por ejemplo, se estima que las pérdidas anuales derivadas por problemas de alcoholismo oscilan entre \$ 85 800 y \$ 150 000 millones de dólares<sup>9</sup> (National Institute of Alcohol Abuse and Alcoholism, 1987; Bowen, 1988; Burke, 1988; Rice *et al.*, 1991; Miller y Blincoe, 1994), lo que equivale en promedio a una erogación equivalente a \$ 1 dólar por cada ocasión que "alguien" consume una "bebida" alcohólica (lo más dramático, es que la mayor parte de esa erogación no la realizará ese "alguien", sino otra persona ajena).

Cuando se compara la magnitud de las pérdidas económicas derivadas del abuso del alcohol, con las ocasionadas por otros problemas sociales también prevenibles, resulta que ninguno de ellos es equiparable al problema de alcoholismo: por ejemplo: los costos sociales derivados del consumo de drogas ilícitas en los EE.UU., se estima en alrededor de \$ 60 000 millones de dolares anuales (Bowen, 1988; Burke, 1988; Rice *et al.*, 1991); el tabaquismo, que produce anualmente 400 000 muertes directas entre fumadores, y 53 000 muertes indirectas entre fumadores pasivos, produce pérdidas económicas del orden de \$ 51 600 millones de dolares anuales (Lesmes y Donofrio, 1992); e inclusive los problemas de contaminación tienen un impacto mucho menor: en California por ejemplo, el estado de nuestro vecino país con mayores problemas de contaminación, se estima que el número total de muertes prematuras por contaminación es de alrededor de 1 600 al año<sup>10</sup>, y las pérdidas económicas totales ascienden a \$ 10 000 millones de dolares anuales (Hall *et al.*, 1992); por comparación, en ese mismo estado el alcoholismo ocasiona más de 13 000 muertes anuales (ver tabla VI), con pérdidas económicas del orden de los \$ 15 000 millones de dolares (Sutocky *et al.*, 1993).

Con toda esta información, resulta muy cuestionable entender cuales son los motivos que tiene nuestra sociedad para considerar al alcohol, no solo como una droga legalmente aceptada, si no como una droga cuyo "consumo" es ampliamente promocionado en los medios masivos de

---

<sup>8</sup> A estos problemas se debe añadir el hecho que los niños de padres alcohólicos, están más propensos a padecer por problemas físicos, emocionales y de salud mental en comparación con el resto de los niños (Woodside, 1988).

<sup>9</sup> Para dar una idea de la cifra, \$ 150 000 millones de dolares equivale al total de la deuda externa de nuestro país al mes de mayo de 1995.

<sup>10</sup> Resulta un tanto inesperado que esta cifra de muertes al año se deba más que a problemas por ozono, a la presencia de partículas suspendidas con diámetro menor a 10 micras.

**Tabla IX.** Estimación del número de decesos atribuibles al consumo de alcohol, por sexo y categoría diagnóstica en México para la población comprendida entre los 15 y 64 años de edad (1992).

Categoría Diagnóstica	Población de 15-64 años		
	Hombres	Mujeres	Total
Neoplasmas malignos	526	290	<b>816</b>
Desordenes mentales (Sind. dependencia del alcohol)	1 893	123	<b>2 016</b>
Enfermedades cardiovasculares (enf. cerebrovasc.)	249	250	<b>499</b>
Enfermedades respiratorias (neumonía y tuberculosis)	515	290	<b>805</b>
Enfermedades digestivas (cirrosis hepática)	11 318	2 656	<b>13 947</b>
Lesiones no intencionales (Acc. tráfico, caídas y ahogamiento acc.)	6 350	1 090	<b>7 440</b>
Lesiones intencionales (homicidios y suicidios)	7 259	939	<b>8 198</b>
Otras (Diabetes mellitus)	288	298	<b>586</b>
<b>Total de decesos atribuibles al alcohol</b>	<b>28 398</b>	<b>5 936</b>	<b>34 307</b>
<b>Tasa de mortalidad total atribuible al alcohol</b>	<b>109.4</b>	<b>22.69</b>	<b>65.83</b>
<b>Porcentaje respecto al total de muertes</b>	<b>27.55%</b>	<b>11.03%</b>	<b>21.85%</b>

Estimación realizada en base a las estadísticas vitales y de mortalidad de 1992, publicadas por la Secretaría de Salud (1994), y aplicando las fracciones de mortalidad atribuibles al alcohol publicadas por Stinson y DeBakey (1992). Para el caso de homicidios y acc. de tráfico se consideró una FAA de 0.5, tomando en cuenta los informes de la Secretaría de Gobernación (Consejo Nacional contra las Adicciones (1987)).

comunicación, y de la cual se transmite persistentemente una imagen positiva de su consumo. Solo en los Estados Unidos, se invierten alrededor de \$ 8 000 millones de dolares anuales en campañas de publicidad (Howard *et al.*, 1988); en México los fabricantes de bebidas alcohólicas invirtieron en

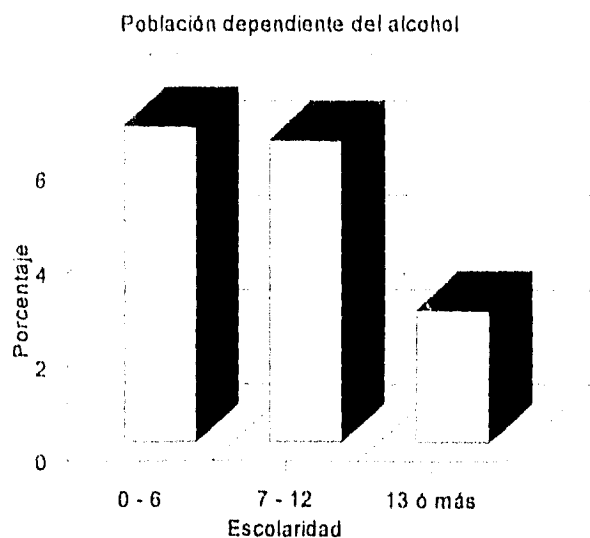
1991, solo en publicidad televisiva \$ 1 210 597 millones de pesos, que les permitieron promocionar sus productos en promedio, poco más de 20 minutos diarios durante todo el año (Instituto Nacional del Consumidor, 1992).

Si bien es cierto que el consumo moderado de bebidas alcohólicas proporciona un considerable placer, además de ciertos beneficios para la salud, como por ejemplo una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares (Shaper, 1993; Stampfer *et al.*, 1993), también es cierto que el abuso en el consumo de esta droga, conlleva un sinnúmero de problemas que minimizan cualquier aspecto positivo. En este sentido, es claro que algo no está funcionando en nuestras políticas de control, ya que en nuestro país, tenemos más de 4 millones de personas con problemas de alcoholismo. No es posible permitir la libre promoción y consumo de bebidas alcohólicas, cuando un segmento

mayoritario de la población, no ha recibido una educación que le permita al menos tener la oportunidad de decidir en forma razonada, cuánto y cómo beber. No es comprensible como el abuso de esta droga sea tolerado, y no está penalizado, cuando las consecuencias de su abuso rebasan con mucho a todo el resto de las drogas.

### Comentarios finales.

Con esto, no se quiere decir que se trate de un problema de fácil solución, la mera prohibición de su consumo, no haría más que incrementar la lista de drogas cuyo consumo es ilícito, generando un mercado negro de bebidas alcohólicas tal vez aún más peligroso que los ya existentes. Debe considerarse además, que un segmento importante de la población se resistiría a cualquier tipo de prohibición generalizada sobre el consumo y producción de bebidas alcohólicas, amén de que esta industria, da ocupación a miles de empleados y es una importante fuente de recursos para el estado. Este es un problema multifactorial (y multinacional), y que por lo mismo debe ser atacado de manera simultánea desde diferentes frentes; los esfuerzos no deben centrarse exclusivamente en la rehabilitación de las personas alcohólicas, porque en términos generales solo uno de cada 10 acepta someterse a tratamiento en un año dado, y de estos, solo unos cuantos obtienen resultados positivos (Nathan, 1988). En este sentido, los esfuerzos de prevención suelen tener un mayor impacto en términos de efectividad, aunque es necesario aclarar que no se han desarrollado estudios que permitan estimar la relación costo-beneficio, de cada uno de los



**Figura 1.** Porcentaje de la población que presenta síntomas de dependencia al alcohol como función de la escolaridad, medida como número de años cursados.

Datos tomados de la Encuesta Nacional de Adicciones 1990.

diferentes programas instrumentados en contra del alcoholismo<sup>11</sup> (Wallen, 1988). Aquí, es importante señalar que la única variable significativa, que guarda una relación inversa con la incidencia de alcoholismo, es el nivel de educación (Sistema Nacional de Encuestas en Salud, 1990; Tapia-Conyer *et al.*, 1990). La Figura 1 muestra la incidencia de alcoholismo como función del nivel de escolaridad alcanzado por cada individuo. En ella puede observarse que conforme el nivel de estudios de un individuo es mayor, la probabilidad de padecer por problemas de alcoholismo disminuye sensiblemente. Esto no quiere decir que la educación sea una *vacuna mágica* contra el alcoholismo, pero sí es un paliativo que incide poderosamente sobre éste problema (amén de muchos otros derivados de la marginación y falta de educación). En éste punto, debe quedar claro, que el término educación no debe ser interpretado solo como un mayor conocimiento de los problemas derivados del alcoholismo, ya que no es raro que en ocasiones ésta información se traduce en un mayor abuso del alcohol (Howard *et al.*, 1988). El término educación debe ser referido a un concepto más integral, que comprenda no solo un mayor acúmulo de conocimientos, sino un cambio de actitud y comportamiento de los individuos. Esta tarea no es sencilla y es tal vez utópica, pero a mi manera de ver, es una tarea que vale la pena intentar. Resulta paradójico, que el México actual con tantos problemas de alcoholismo, sea al mismo tiempo descendiente de la única cultura que penalizó severamente el abuso en el consumo de bebidas alcohólicas (ver cuadro II).

#### **Cuadro II. El consumo de bebidas alcohólicas en el México antiguo.**

En todas las culturas del mundo, la elaboración de bebidas embriagantes a tenido una gran importancia en su historia y el México precolombino no es la excepción. Antes de la conquista, se elaboraban diversas bebidas fermentadas a partir de miel o maíz, como por ejemplo el *balché* de los mayas y lacandones, o el *tesgüino* de los tarahumaras. Sin embargo, la bebida más importante sin lugar a dudas, fue el *octli* (o *pulque* en su denominación actual), bebida que se fabricó y consumió desde épocas muy tempranas en la mayor parte de las culturas mesoamericanas, y a la cual se le atribuyó un origen divino.

El *pulque* es obtenido a través de la fermentación del aguamiel o jugo de maguey, motivo por el cual se le adjudicó a ésta planta una gran importancia, ocupando también un lugar privilegiado tanto en la vida ritual, como en la vida económica.

Existen diversos mitos acerca del descubrimiento del *octli* o *pulque* en las diferentes culturas mexicanas: algunas de ellas señalan que el *tlacuache* fue el primero que descubrió los efectos del aguamiel fermentado, y lo regaló a los hombres enseñándoles a prepararlo; Fernando de Alva Ixtlilxóchitl en cambio, relata

---

<sup>11</sup> Este tipo de información, es esencial para la toma de decisiones y la definición de las políticas más adecuadas para prevenir los problemas derivados del abuso del alcohol.

otra historia derivada de la tradición indígena tolteca, en donde se dice que a finales del primer milenio de nuestra era, *Tecpancáltzin*, rey de Tula, recibió diversos regalos por parte de *Papántzin*, entre los cuales se destacó un jarro de *pulque* elaborado por el mismo *Papántzin*, y que fue entregado al monarca de manos de su hija *Xóchitl*. *Tecpancáltzin* se enamoró de la hermosa doncella y la hizo suya. De sus amores resultó un niño de nombre *Meconétzin* (cuyo nombre significa "muchacho del maguey"), y quién de acuerdo a las profecías, marcaría el inicio de la destrucción del reino de Tula y el derrumbe de la civilización tolteca.

Para los *mexicas*, el *octli* representó a los dioses lunares y terrestres de la abundancia y de las cosechas, llamados los *Centzon Totochtin* (cuatrocientos [innumerables] conejos), quienes al igual que la diosa del maguey *Mayáhuel*, desempeñaron un papel capital en la mitología azteca.

Si bien las historias acerca del *octli* resultan fascinantes en cada una de las culturas mexicanas, también es cierto que los antiguos mexicanos conocían perfectamente el peligro que significaba para ellos y su civilización las bebidas alcohólicas, atribuyéndoles la raíz y principio de todo mal y toda perdición, fuente de adulterio y estupro, corrupción de vírgenes y violencia entre parientes. De hecho se dice que el *octli* fue el causante de la ruina del reino de *Tula*, y marcó el fin de *Ce-Acatt-Topiltzin Quetzalcoatl*. Por tal motivo, se estableció una política represiva en donde se prohibía beber *octli* al pueblo; los únicos que podían beberlo eran los viejos y los nobles, quienes debían hacerlo esporádicamente y sin emborracharse. Cuando un mancebo era encontrado con *octli* o borracho, se le azotaba en la plaza frente a los demás mancebos para infundirles temor a emborracharse; esto sucedía si era la primera vez que infringía la ley, pero cuando sucedía por segunda ocasión, era azotado hasta causarle la muerte; este mismo destino sufrían los nobles si se les encontraba borrachos.

Si bien estas restricciones tuvieron éxito en un principio, a la llegada de los españoles estas fueron quedando poco a poco en el olvido, por lo que ahora el *pulque*, despojado de su carácter ritual, se consume en grandes cantidades, sobre todo en las zonas rurales, en donde resulta una bebida barata y fácil de obtener.

*Elaborado en base a información proporcionada por: Soustelle, 1983; Roman Celis, 1984 y Ramírez Castañeda, 1994a, 1994b.*

## REFERENCIAS

- Abel, E.L. y Sokol, R.J. (1984) Incidence of fetal alcohol syndrome and economic impact of FAS-related anomalies. *Drug Alcohol Depend.* **19**: 51-70.
- Abel, E.L. y Sokol, R.J. (1991). A revised conservative estimate of the incidence of FAS and its economic impact. *Alcohol.: Clin. Exp. Res.* **15**: 151-157.
- Bowen, O.R. (1988). Raising public awareness about the extent of alcohol-related problems: an overview. *Public Health Rep.* **103**: 559-563.
- Burke, T.R. (1988). The economic impact of alcohol abuse and alcoholism. *Public Health Rep.* **103**: 564-568.
- Cavazos-Ortega, N.; Del Rio-Zolezzi, A.; Izazola-Licea, J.A.; Lezana-Fernández, M.A.; Valdespino-Gómez, J.L. (1989). Años de vida potencial perdidos: su utilidad en el análisis de la mortalidad en México. *Salud Pública Méx.* **31**: 610-624.
- Consejo Nacional contra las Adicciones (1987). *Programa contra el alcoholismo y el abuso de bebidas alcohólicas*. Secretaría de Salud. México.
- Hall, J.V.; Winer, A.M.; Kleinman, M.T.; Lurmann, F.W.; Brajer, V.; Colome, S.D. (1992). Valuing the health benefits of clean air. *Science* **255**: 812-817.
- Howard, J.; Taylor, J.A.; Ganikos, M.L.; Holder, H.D.; Godwin, D.F. y Taylor, E.D. (1988). An overview of prevention research: issues, answers, and new agendas. *Public Health Rep.* **103**: 674-683.
- Instituto Nacional del Consumidor (1992) Gasto Publicitario en bebidas alcohólicas en 1991. *Rev. Consumidor No.* **182**: 11 (abril).
- Lesmes, G.R.; Donofrio, K.H. (1992). Passive smoking: The medical and economic issues. *Am. J. Med.* **93**(suppl 1A): 38s-42s.
- Miller, T.R.; Blincoe, L.J. (1994). Incidence and cost of alcohol-involved crashes in the United States. *Accid. Anal. Prev.* **26**: 583-591.
- Miller, L.A.; Shaikh, T.; Stanton, C.; Montgomery, A.; Rickard, R.; Keefer, S. y Hoffman, R. (1995). Surveillance for fetal alcohol syndrome in Colorado. *Public Health Rep.* **110**: 690-697.
- Narro-Robles, J.; Gutiérrez-Avila, J.H.; López-Cervantes, M.; Borges, G.; Rosovsky, H. (1992). La mortalidad por cirrosis hepática en México I. Características epidemiológicas relevantes. *Salud Públ. Méx.* **34**: 378-387.
- Nathan, P.E. (1988). Alcohol dependency prevention and early intervention. *Public Health Rep.* **103**: 683-689.
- National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (1987). Sixth special report to Congress on alcohol and health. DHHS publication No. (ADM) 87-1519. U.S. Government Printing Office, Washington, DC. Revisado en: Nathan, P.E. (1988). Alcohol dependency prevention and early intervention. *Public Health Rep.* **103**: 683-689.
- Nerad, J.; Neradova, L. (1991). Alcohol and drug problems in Czechoslovakia. *J. Subst. Abuse Treat.* **8**: 83-88.
- Petersson, B.; Kristensson, H.; Krantz, P.; Trell, E.; Sternby, N.H. (1982). Alcohol-related death: a major contributor to mortality in urban middle-aged men. *Lancet* **ii**: 1088-1090.
- Pignon, J.P. y Hill, C. (1991) Nombre de deces attribuables a l'alcool, en France, en 1985. *Gastroenterol. Clin. Biol.* **15**: 51-56.

- Pollock, D.; Boyle, C.; De Stefano, F.; Moyer, L.; Kirk, M. (1987). Underreporting of alcohol-related mortality on death certificates of young US Army veterans. *JAMA* **258**: 345-348.
- Pyörälä, E. (1990). Trends in alcohol consumption in Spain, Portugal, France and Italy from the 1950s until the 1980s. *Br. J. Addict.* **85**: 469-477.
- Ramírez Castañeda, E. (1994a). El maguey y el pulque. En: *Bebidas Nacionales, Guía México desconocido*, No. 18: 10-19.
- Ramírez Castañeda, E. (1994b). Otras bebidas anteriores a la conquista. En: *Bebidas Nacionales. Guía México desconocido*, No. 18: 20-28.
- Rice, D.P.; Kelman, S.; Miller, L.S. (1991). Estimates of economic costs of alcohol and drug abuse and mental illness, 1985 and 1988. *Public Health Rep.* **106**: 280-292.
- Romelsjö, A.; Karlsson, G.; Henningsohn, L.; Jacobsson, S.W. (1993). The prevalence of alcohol-related mortality in both sexes: variation between indicators, Stockholm, 1987. *Am. J. Public Health* **83**: 838-844.
- Roman Celis, C. (1984). Pulque. En: Molina Piñeiro, V. y Sánchez Medal, L. (Eds.). *El alcoholismo en México, Vol. IV: Historia y legislación*. Fundación de Investigaciones Sociales A.C., México. pp 10-132.
- Secretaría de Salud (1994). *Estadísticas Vitales 1992*. Subsecretaría de Coordinación y Desarrollo. Dirección General de Estadística, Información y Evaluación. México.
- Secretaría de Salud (1994). *Mortalidad 1992*. Subsecretaría de Coordinación y Desarrollo. Dirección General de Estadística, Información y Evaluación. México.
- Shaper, A.G. (1993). Editorial: Alcohol, the heart, and health. *Am. J. Public Health* **83**: 799-801.
- Sistema Nacional de Encuestas de Salud (1990). *Encuesta Nacional de Adicciones: Alcohol*. Secretaría de Salud, Dirección General de Epidemiología, Instituto Mexicano de Psiquiatría. México. 358 pp.
- Skog, O.-J. (1988). Interpreting trends in alcohol consumption and alcohol related damage. *Alcohol & Alcohol.* **23**: 193-202.
- Soustelle, J. (1983). *La vida cotidiana de los Aztecas en vísperas de la conquista*. Cap. IV: El día de un mexicano. Segunda edición, décima reimpresión. Fondo de Cultura Económica. México. pp 128-166.
- Souza y Machorro, M. (1988). *Alcoholismo: Conceptos básicos*. El Manual Moderno. México. 212 pp.
- Stampfer, M.J.; Rimm, E.B. y Chapman Walsh, D. (1993). Commentary: Alcohol, the heart, and public policy. *Am. J. Public Health* **83**: 801-804.
- Stinson, F.S.; DeBakey, S.M. (1992). Alcohol-related mortality in the United States, 1979-1988. *Br. J. Addict.* **87**: 777-783.
- Sutocky, J.W.; Shultz, J.M.; Kizer, K.W. (1993). Alcohol-related mortality in California, 1980 to 1989. *Am. J. Public Health* **83**: 817-823.
- Tapia-Conyer, R.; Medina-Mora, M.E.; Sepúlveda, J.; De La Fuente, R.; Kumate, J. (1990). La Encuesta Nacional de Adicciones de México. *Salud Pública Méx.* **32**: 507-522.
- Wallen, J. (1988). Alcoholism treatment service systems: A health services research perspective. *Public Health Rep.* **103**: 605-611.
- Warren, K.R. y Bast, R.J. (1988). Alcohol-related birth defects: an update. *Public Health Rep.* **103**: 638-642.
- Webster, W.S. (1988). Alcohol as a teratogen: a teratological perspective of the fetal alcohol syndrome. En: Crow, K.E. y Batt, R.D. (eds). *Human metabolism of alcohol*. Vol. I: Pharmacokinetics, Medicolegal Aspects, and General Interest. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp 133-153.

Woodside, M. (1988). Children of alcoholics: helping a vulnerable group. *Public Health Rep.* **103**: 643-648.

Yáñez, J.L.; Del Río, M.C.; Alvarez, F.J. (1993). Alcohol-related mortality in Spain. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **17**: 253-255.



# El metabolismo del etanol

## Aspectos Generales.

El etanol, alcohol etílico o simplemente alcohol, es un líquido incoloro y volátil de olor característico, que se produce principalmente a través de la fermentación de azúcares o carbohidratos por acción de microorganismos, como por ejemplo, bacterias y levaduras. Es un líquido de naturaleza polar, soluble en agua, cloroformo y acetona, entre otros solventes, y resulta prácticamente insoluble en grasas y aceites<sup>12</sup>. La Tabla X resume algunas de sus principales propiedades físico-químicas.

El etanol en los mamíferos es un metabolito que normalmente está presente dentro de las células en concentraciones bajas, del orden de 0.1 a 1 mM y su presencia no se debe exclusivamente a la actividad de fermentación de la flora gastrointestinal, sino también a una pequeña producción endógena en diferentes tejidos, especialmente en hígado (McManus *et al.*, 1960; Krebs & Perkins, 1970; Baraona *et al.*, 1986). Sin embargo, la principal fuente de etanol en el hombre, no es su producción endógena, sino su consumo directo<sup>13</sup>.

El alcohol etílico es actualmente consumido en grandes cantidades a través de la ingestión de diversos tipos de bebidas alcohólicas, de esta manera en algunos países el consumo *per capita* de bebidas alcohólicas, como por ejemplo la cerveza, puede sobrepasar los 120 litros al año en países como Alemania, Checoslovaquia, Nueva Zelanda y Bélgica (en el capítulo anterior se ilustraron con más detalle los consumos *per capita* de las principales bebidas alcohólicas en diferentes países (ver Tabla I), así como también se discutieron algunos de los problemas sociales relacionados).

---

<sup>12</sup> Es importante recalcar esto último, porque el etanol en algunas publicaciones ha sido erróneamente descrito como una sustancia soluble en lípidos (e. g. Erickson, 1979; Passmore, 1979; Agarwal & Goedde, 1989). Esta mal concepción posiblemente tiene su origen en el hecho de que el etanol, por su pequeño tamaño, es capaz de atravesar libremente las membranas biológicas, tal y como lo hacen también las moléculas de agua, para las cuales sí es ampliamente reconocida su insolubilidad en lípidos.

<sup>13</sup> Únicamente en casos raros, en pacientes con una asa intestinal ciega, y en donde hay una sobreproducción de la flora intestinal con *Candida* y otras levaduras, se pueden observar niveles elevados de etanol en sangre por fermentación de carbohidratos, que incluso pueden producir una embriaguez manifiesta.

**Tabla X.** Algunas propiedades físico-químicas del etanol.

Propiedad	Valor característico	Ref.
Sinónimos	Alcohol etílico, alcohol absoluto, alcohol anhidro, alcohol deshidratado, hidrato etílico, hidróxido etílico, EtOH	a
Fórmula	$C_2H_6O$ $CH_3CH_2OH$	a, b, c
Peso molecular	46.0695 g mol <sup>-1</sup>	c
Composición porcentual	C : 52.14% H : 13.13% O : 34.74%	a
Densidad	0.7893 g cm <sup>-3</sup> (20 °C) 0.798 g cm <sup>-3</sup> (20 °C)	c d
Punto de ebullición	78.3 °C 78.5 °C	b a, c
Punto de fusión	-117.3 °C -114.1 °C	b, c a
Índice de refracción (20 °C con luz de sodio)	1.3611 1.36242	a, c d
Solubilidad en agua	infinita (altamente higroscópico)	a, c
Solubilidad en otros solventes	eter, acetona, benceno, metanol	b, c
Presión de vapor (EtOH 95%)	43 mm Hg (20 °C)	b
Tensión superficial	24.05 dinas cm <sup>-1</sup> (0 °C)	c
Constante dieléctrica	24.30 (25 °C)	c
Momento dipolar	1.69 debye	c
Viscosidad (20 °C)	0.01200 poises 0.0141 poises (EtOH 95%)	c b
Calor específico (EtOH 95%) <sup>u</sup>	0.618 cal g <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> (23 °C)	b
Entalpía de fusión ( $\Delta H_{fus}$ )	26.05 cal g <sup>-1</sup>	c
Entalpía de vaporización ( $\Delta H_{vap}$ )	10.11 Kcal mol <sup>-1</sup> (25 °C) 9.21 Kcal mol <sup>-1</sup> (78.4 °C)	c

(cont.)

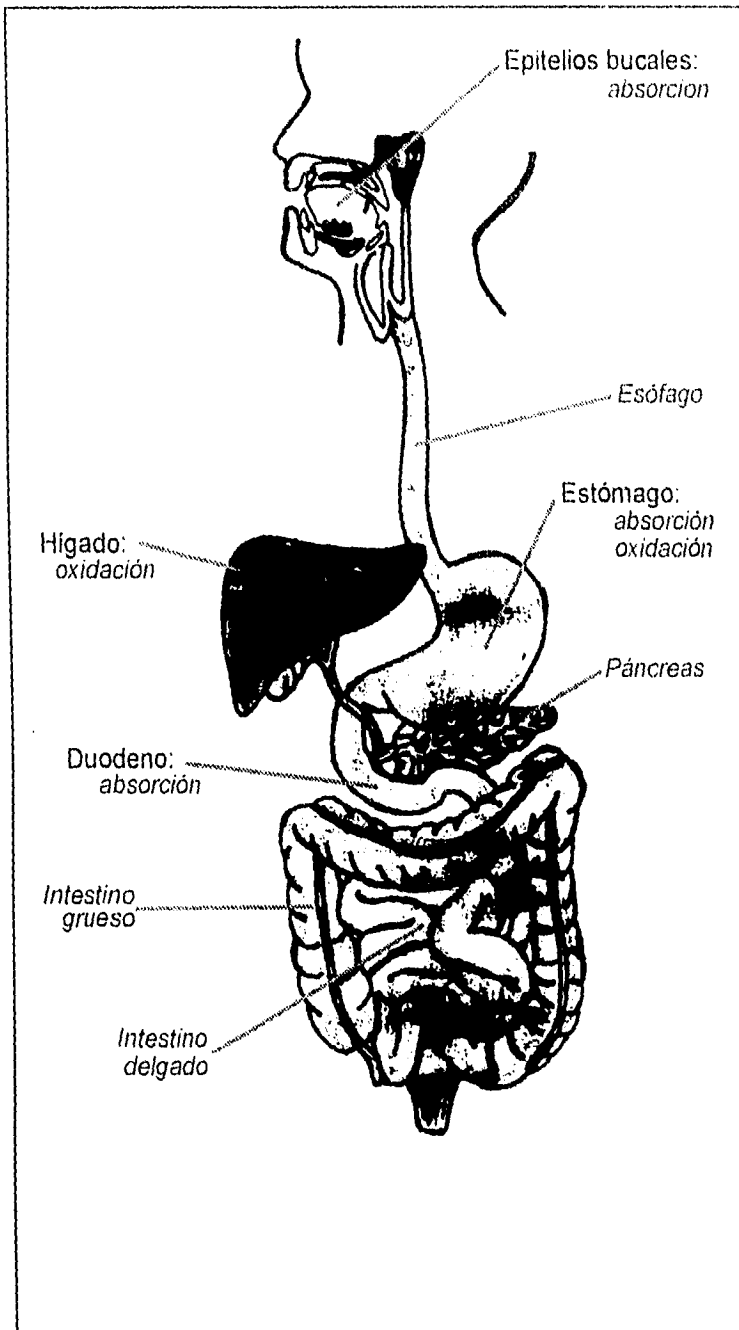
Tabla X. continuación.

Energía de enlace H-CH(CH <sub>3</sub> )OH		93 ± 1 kcal mol <sup>-1</sup> (298 K)	c
Entalpía estandar de formación ( $\Delta H_f^\circ$ )	gas	-51.969 Kcal mol <sup>-1</sup> (0 °C)	c
		-56.19 Kcal mol <sup>-1</sup> (25 °C)	
	líquido	-66.37 Kcal mol <sup>-1</sup> (25 °C)	
	acuoso (m=1)	-68.9 Kcal mol <sup>-1</sup> (25 °C)	
Energía libre estandar de formación ( $\Delta G_f^\circ$ )	gas	-40.29 Kcal mol <sup>-1</sup> (25 °C)	c
	líquido	-41.80 Kcal mol <sup>-1</sup> (25 °C)	
	acuoso (m=1)	-43.44 Kcal mol <sup>-1</sup> (25 °C)	
	acuoso (M=1, pH 7)	-43.39 Kcal mol <sup>-1</sup> (25 °C)	
Entropía térmica ( $S^\circ$ ) (25 °C)	gas	67.54 cal grado <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup>	c
	líquido	34.8 cal grado <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup>	
	acuoso (m=1)	35.5 cal grado <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup>	
Potencial de reducción estándar ( $E_o'$ ) acetaldehído + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> $\rightleftharpoons$ etanol		- 0.197 V (25 °C, pH 7)	e
		- 0.163 V (25 °C, pH 7)	f
Temperatura de inflamación (EtOH 95%) (flash point)		12.7 °C	b
Temperatura de autoinflamación (EtOH 95%)		422 °C	b
Dosis letal 50 (LD <sub>50</sub> )	ratas jóvenes	10.6 g kg <sup>-1</sup> (vía oral)	a
	ratas viejas	7.06 g kg <sup>-1</sup> (vía oral)	

Referencias: a: *Merck Index* (1989); b: *Hawley's Condensed Chemical Dictionary* (1993); c: *CRC Handbook of Chemistry and Physics* (1990); d: *CRC Handbook of Biochemistry and Molecular Biology* (1976); e: Lehninger, A. L. (1975); f: Segel, I. H. (1975).

### Absorción.

El etanol una vez que se ingiere, comienza a ser absorbido de inmediato a través de los epitelios mucosos de la boca y en forma de vapor en los alvéolos pulmonares (Batt, 1989), sin embargo, la cantidad de etanol que se absorbe por estas dos vías es prácticamente despreciable, por lo que puede considerarse que la totalidad del etanol ingerido llega hasta el estómago, a partir del cual se absorbe por difusión simple a través de los epitelios que recubren el propio estómago y los intestinos, en forma completamente similar a como lo hace el agua (Batt, 1989; Watson, 1989). Así, el etanol una vez que llega a estómago, se absorbe en una pequeña proporción hacia al torrente sanguíneo a través de la mucosa gástrica (aproximadamente 20% - 30%), mientras que la mayor parte de éste es canalizado por el mismo vaciamiento gástrico hacia el intestino delgado (Cooke y Birchall, 1969; Batt, 1989; Smith *et al.*, 1992). Es en intestino delgado (principalmente



**Figura 2.** Principales vías de absorción y sitios de oxidación del etanol administrado por vía oral.

duodeno y yeyuno) en donde se lleva a cabo la mayor parte de la absorción del etanol, el cual es rápidamente canalizado hacia la vena porta y de ahí, llevado directamente a hígado para ser metabolizado. La Figura 2 muestra las principales rutas de absorción del etanol.

Una vez que el etanol está en sangre, éste se distribuye sobre todos los líquidos corporales, atravesando libremente todas las membranas biológicas (Watson, 1989), de esta forma las mujeres, por poseer menor proporción de líquidos corporales en comparación con los hombres (53% contra 61.8%), suelen alcanzar niveles más altos de etanol en sangre al ingerir ambas dosis equivalentes de alcohol (Batt, 1989; Watson, 1989); y de hecho, el etanol prácticamente no se distribuye dentro de las grasas corporales (Batt, 1989).

La velocidad con que se absorbe el etanol depende principalmente de la velocidad con que éste transita desde el estómago hasta el intestino delgado, lo cual a su vez depende principalmente de la velocidad con que se lleva a cabo el vaciamiento gástrico. En general, la presencia de alimentos sólidos retrasa el vaciamiento gástrico, y por ende la velocidad de absorción del etanol (Horowitz

*et al.*, 1989). Por otra parte, la concentración a la que se dosifica el etanol también influye en su absorción, de tal forma que las altas concentraciones de etanol suelen retrasar el vaciado de los alimentos (Horowitz *et al.*, 1989; Roine *et al.*, 1991); de hecho, existen muchos otros factores que también pueden influir en mayor o menor medida en la velocidad de absorción del etanol, la Tabla XI muestra algunos de ellos.

### Metabolismo del etanol

El etanol, al ser absorbido mayoritariamente en intestino, es canalizado a través de la vena porta directamente hacia hígado antes de pasar a la circulación sistémica y el resto del cuerpo. El hígado es el

principal órgano responsable de la oxidación y eliminación del alcohol ingerido, así como también de la mayoría de los fármacos y compuestos xenobióticos que pueden estar presentes en sangre.

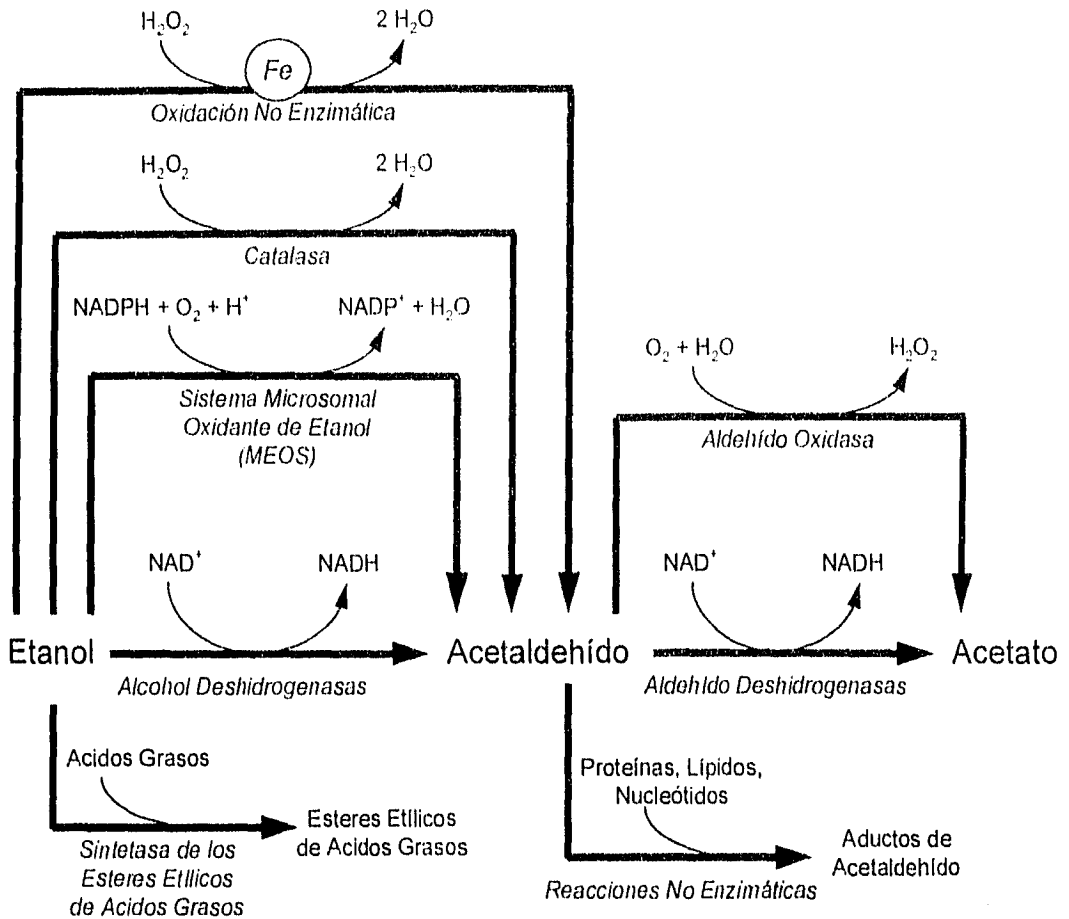
En hígado existen tres sistemas metabólicos capaces de efectuar la oxidación del etanol: el primer sistema esta constituido por una serie de enzimas especializadas denominadas genéricamente como *alcohol deshidrogenasas* o *ADHs*, las cuales se localizan en el citosol de los diferentes tejidos que conforman nuestro cuerpo, principalmente hepático, y promueven la oxidación del etanol a acetaldehído, acoplando esta oxidación a la reducción de un dinucleótido de nicotina y adenina; el segundo sistema esta localizado en los peroxisomas de las células hepáticas, y en éste la oxidación de una molécula de etanol a acetaldehído esta acoplada a la descomposición simultánea de una molécula de peróxido de hidrógeno, en una reacción catalizada por la enzima *catalasa*; el tercer y último sistema oxidante se denomina el *sistema microsomal oxidante de etanol* también conocido como *MEOS*, por sus siglas en ingles (*Microsomal Ethanol Oxidizing System*), el cual esta localizado en el interior de los microsomas y requiere la participación de citocromos P-450, quienes acoplan la oxidación del etanol, y de un dinucleótido de nicotinadenin fosfato, a la reducción de una molécula de oxígeno para formar peróxido de hidrógeno. Estos tres sistemas trabajan de manera simultánea en presencia de etanol, aunque con diferentes actividades y afinidades. La Figura 3 muestra el tipo de transformación catalizado por cada uno de los sistemas oxidantes de etanol.

Existe además de los tres sistemas enzimáticos antes descritos para la oxidación del etanol, un mecanismo de oxidación no enzimático que probablemente sea funcional *in vivo*, y que depende de la participación de quelatos de hierro en presencia de radicales hidroxilo (Koop, 1989).

### Tabla XI. Factores que afectan la absorción del etanol

Vaciamiento gástrico
Presencia de alimentos
Concentración de etanol
Flujo sanguíneo en tracto digestivo
Propiedades irritantes del etanol
Velocidad de ingestión
Tipo de bebida
Deficiencia de proteínas
Temperatura corporal
Ejercicio físico
Ciclo menstrual

Modificado de Agarwal & Goedde (1989).



**Figura 3.** Principales vías metabólicas relacionadas con el metabolismo del etanol y el acetaldehído.

Por último, existe una vía metabólica no oxidativa (Lange *et al.*, 1981; Koop, 1989), en donde el etanol forma ésteres etílicos de acil grasos, a través de una sintetasa de ésteres de acil graso. Si bien, es probable que su contribución al metabolismo total del etanol no sea significativa (Koop, 1989), queda a discusión su participación en el desarrollo de alteraciones patológicas en órganos que carecen de sistemas oxidantes de etanol con alta actividad, tales como el páncreas, corazón y cerebro (Laposata & Lange, 1986).

**Sistema de las alcohol deshidrogenasas:** Este sistema en mamíferos, está constituido por la familia de las alcohol deshidrogenasas de "cadena media y larga" <sup>14</sup>, que esta dividida a su vez en

<sup>14</sup> Existe otra familia de alcohol deshidrogenasas de "cadena corta", que esta presente caracterís-ticamente en *Drosophyla* y otros insectos, y que constituye una linea evolutiva separada de la familia de las alcohol deshidrogenasa de "cadena media y larga" característica de mamíferos y vertebrados en general, cefalópodos, hongos, plantas y

6 clases distintas, las cuales comprenden al menos una veintena de isoenzimas diferentes codificadas por más de 7 genes distintos (Danielsson *et al.*, 1994; Arnon *et al.*, 1995). Estas enzimas, como puede observarse en la Tabla XII, están ampliamente distribuidas en los diferentes tejidos de nuestro cuerpo (Boleda *et al.*, 1989), y todas ellas se caracterizan por ser moléculas dimericas con subunidades de aproximadamente 40 kDa; cada subunidad se caracteriza por contener 2 átomos de Zn unidos por cisteinas, los cuales ayudan a estabilizar la estructura de la enzima (Jelokova *et al.*, 1994), además de que uno de ellos forma parte del sitio activo (Eklund *et al.*, 1976, 1981; Arnon *et al.*, 1995). La Tabla XIII muestra las diferentes clases de ADH hasta ahora descritas, así como los distintos genes y subunidades que comprenden.

Todas estas enzimas utilizan  $NAD^+$  como coenzima aceptora de electrones, para catalizar la oxidación del etanol a acetaldehído (EC 1.1.1.1), y su mecanismo de reacción ha sido descrito como de tipo bi bi ordenado (e. g. Shearer *et al.*, 1993), en donde el  $NAD^+$  o  $NADH$  deben penetrar al sitio de

**Tabla XII.** Actividad de alcohol deshidrogenasa en diferentes órganos de rata a pH 7.5 con 33 mM de etanol y 4 mM de  $NAD^+$  como sustratos.

Órgano	Actividad	
	mU/g tejido	Total (mU/órgano)
Ojos	5.87±0.7	1.5 ± 0.2
Mucosa del oído	8.9 ± 1.3	2.0 ± 0.3
Mucosa Nasal	15.3 ± 2.6	1.3 ± 0.2
Traquea	5.3 ± 0.7	1.2 ± 0.1
Pulmón	8.1 ± 1.4	13.5 ± 2
Mucosa Bucal	3.8 ± 0.8	0.3 ± 0.1
Lengua	5.4 ± 0.5	4.0 ± 0.3
Esófago	16.1 ± 3.2	3.7 ± 0.7
Estómago	11.8 ± 1.7	19.6 ± 3
Intestino Delgado	19.3 ± 4.5	58.0 ± 14
Colon	13.5 ± 1.3	30.0 ± 3
Recto	37.3 ± 7.0	28.5 ± 6
Hígado	260.0 ± 50	3500.0 ± 640
Glándula Suprarrenal	4.0 ± 0.5	0.8 ± 0.3
Riñón	16.0 ± 7.0	26.0 ± 13
Vesícula Urinaria	10.0 ± 2	1.8 ± 0.5
Testículos	26.2 ± 9.0	60.0 ± 20
Epidídimo	10.5 ± 4.1	40.0 ± 16
Pene	17.5 ± 8.09	4.44 ± 1.16
Ovarios	7.0 ± 5.0	0.9 ± 0.7
Útero	17.4 ± 7.2	9.6 ± 4
Vagina	12.5 ± 4.6	3.0 ± 1
Piel	2.8 ± 0.3	88.0 ± 15

Datos reportados por Boleda *et al.*, (1989). Los valores representan la media ± error estándar.

algunas bacterias. Esta otra familia presenta una estructura totalmente distinta, carece de zinc e involucra un mecanismo de reacción diferente, y esta estructuralmente relacionada a otras deshidrogenasas como la ribitol deshidrogenasa y la glucosa deshidrogenasa bacteriana (Jörnvall *et al.*, 1984, 1989). Por otra parte, se ha descrito un tercer tipo de alcohol deshidrogenasa en bacterias (Scopes, 1983), que es activada por fierro y que tampoco guarda relación con ninguna de las dos familias antes mencionadas.

unión de la coenzima antes de que el etanol o el acetaldehído entren al dominio catalítico (ver Figura 3). La cinética que muestran todas las isoenzimas de ADH es de tipo Michaelis-Menten con respecto al etanol (Burnell & Bosron, 1989), y únicamente las isoenzimas  $\gamma\gamma$  parecen exhibir una cooperatividad negativa para la unión del etanol. La disociación del *NADH* es la etapa limitante en la velocidad máxima de estas enzimas (Burnell & Bosron, 1989; Fan & Plapp, 1995).

**Tabla XIII.** Polimorfismo de las deshidrogenasas alcohólicas (ADH).

Clase	Locus Genético	Alelos	Subunidades	Distribución
I	ADH - 1	<i>ADH1</i>	$\alpha_1$	Hígado
I	ADH - 2	<i>ADH2*1</i>	$\beta_1$	Hígado
I		<i>ADH2*2</i>	$\beta_2$	y
I		<i>ADH2*3</i>	$\beta_3$	pulmón
I	ADH - 3	<i>ADH3*1</i>	$\gamma_1$	Hígado y
I	ADH - 3	<i>ADH3*2</i>	$\gamma_2$	estómago
II	ADH - 4	<i>ADH4</i>	$\pi$	Hígado, cornea, riñón y pulmón
III	ADH - 5	<i>ADH5</i>	$\chi$	todos los tejidos
IV	ADH - 7	<i>ADH<math>\sigma</math></i>	$\sigma$	Hígado, estómago, piel, cornea
IV	?	<i>ADH<math>\mu</math></i>	$\mu$	Hígado, estómago, piel
V	ADH - 6	<i>ADH6</i>	?	Hígado, estómago
VI	?	?	?	Hígado

Modificado de Aron et al. (1995).



Actualmente se conoce por cristalografía de rayos X, la estructura tridimensional de la *ADH* de clase I de caballo (Eklund *et al.*, 1976, 1981; Ramaswamy *et al.*, 1994a) y la *ADH*  $\beta_1\beta_2$ , humana (Hurley *et al.*, 1991; 1994)<sup>15</sup>, las cuales son muy similares entre sí. La Figura 5 muestra la estructura tridimensional de la alcohol deshidrogenasa de clase I de caballo.

Las *ADHs*, debido a que tienen su sitio de unión al sustrato al fondo de una hendidura hidrofóbica de 20 Å (ver Figura 5), catalizan no solo la oxidación de moléculas pequeñas como el etanol o metanol, sino también una gran variedad de moléculas hidrofóbicas hidroxiladas como alcoholes de cadena larga, ya sean primarios, secundarios, ramificados o cíclicos (Pietruszko, 1979), participan también en la deshidrogenación de esteroides (Waller *et al.*, 1965) y en la  $\omega$ -oxidación de los ácidos grasos (Björkhem, 1972) e incluso pueden catalizar la oxidación de aldehídos a ácidos por dismutación (Heneham & Oppenheimer, 1993; Shearer *et al.*, 1993; Oppenheimer & Heneham, 1995).

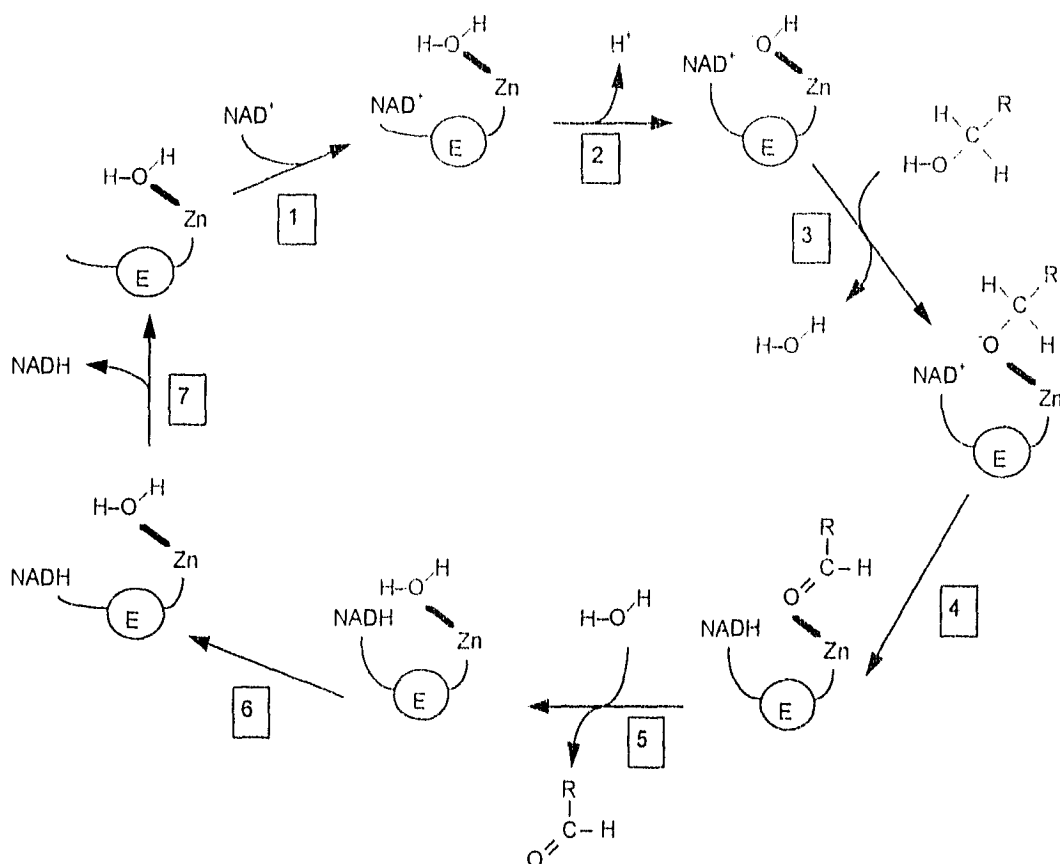
Las alcohol deshidrogenasas de cadena "media y larga" se clasifican en clases, en base a sus diferencias estructurales, de esta forma cada una de las *ADHs* de clases distintas presentan entre ellas, una homología de aproximadamente 60%, mientras que las que pertenecen a una sola clase su grado de homología es de al menos 85% (Jörnvall *et al.*, 1987; Parés *et al.*, 1994). La Figura 6 muestra las posibles relaciones filogenéticas que existen entre los diferentes tipos de *ADHs*. De todas las clases descritas, las 5 primeras ya han sido encontradas en tejidos humanos (Parés *et al.*, 1994; Kedishvili *et al.*, 1995), únicamente la clase VI recientemente descrita aún no ha sido caracterizada. A continuación se describen brevemente las características más relevantes de cada una de las clases de alcohol deshidrogenasa de mamíferos:

**Clase I:** Esta es la clase más estudiada de este grupo de enzimas, y comprende a la "clásica" enzima hepática. Incluye 3 locus génicos distintos (*ADH-1*, *ADH-2* y *ADH-3*) localizados en el cromosoma 4 (Jörnvall *et al.*, 1989), que a su vez codifican para 3 tipos de subunidades ( $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  respectivamente, ver Tabla XIII). Las variantes alélicas para las subunidades  $\beta$  y  $\gamma$  difieren entre sí por unos cuantos residuos de aminoácidos ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$  y  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ), de tal forma que todas las subunidades que conforman la clase I presentan entre sí, al menos un 85-90% de homología. Estas subunidades pueden formar indistintamente tanto homodímeros como heterodímeros, contribuyendo por tanto a la generación de un gran polimorfismo con numerosas isoformas. Cada isoforma presenta variantes en cuanto a sus propiedades cinéticas (ver Tabla XIV), lo cual explica en parte la gran heterogeneidad en cuanto a la capacidad para metabolizar etanol que exhiben las poblaciones humanas<sup>16</sup>.

---

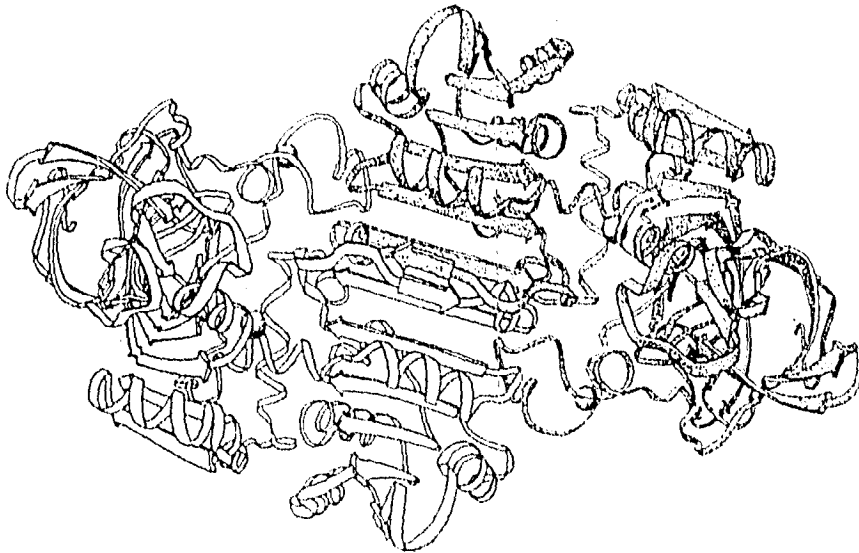
<sup>15</sup> También se han cristalizado las *ADH* de clase I y III de bacalao, y próximamente se conocerá también con detalle su estructura tridimensional (Ramaswamy *et al.*, 1994b).

<sup>16</sup> De hecho, en cada población se presentan ciertos genes alelos característicos; así por ejemplo, la *ADH2\*1* es común en las poblaciones caucásicas y afro-americanas, mientras que la *ADH2\*2* y *ADH3\*1* son predominantes en las poblaciones chinas y japonesas (Burnell & Bosron, 1989).



**Figura 4.** Mecanismo de reacción de la alcohol deshidrogenasa. La ADH posee un sitio de unión para el NAD<sup>+</sup> o NADH, y un sitio activo constituido por una cavidad hidrofóbica en donde está ubicado uno de los átomos de Zn, el cual une una molécula de agua. La reacción inicia con la formación de un complejo abortivo E-NAD<sup>+</sup> [1], en donde por una rotación, el sitio activo se aproxima al sitio de unión de la coenzima, promoviendo la liberación de un H<sup>+</sup> [2]; posteriormente, entra al sitio activo la molécula de alcohol, que desplaza a la molécula de agua, ocupando su sitio, formando ahora un complejo ternario E-NAD<sup>+</sup>-alcoholato [3]; el alcoholato se oxida, transfiriendo un ión hidruro a la coenzima para formar NADH y acetaldehído [4]; éste último sale del sitio activo y se intercambia por una molécula de agua [5]; la siguiente etapa, es el paso limitante de la velocidad de la reacción, en donde la enzima debe rotar nuevamente para recuperar su conformación original [6], y así permitir finalmente la liberación del NADH [7].

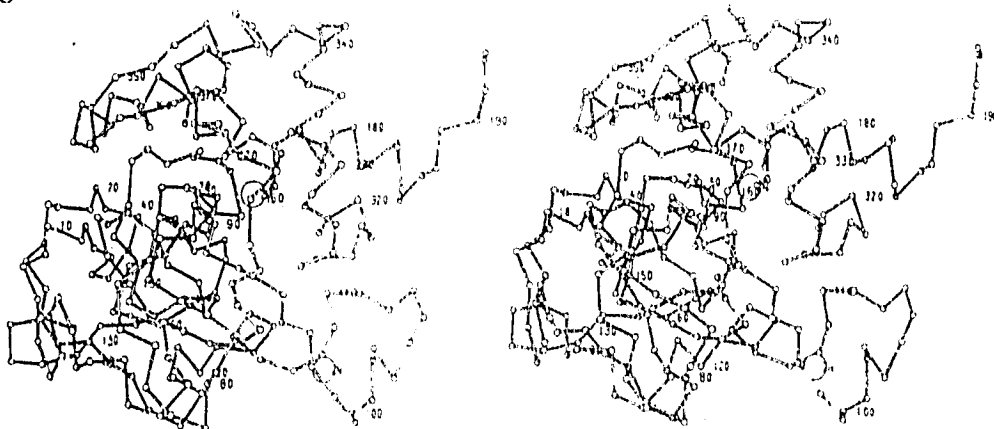
a



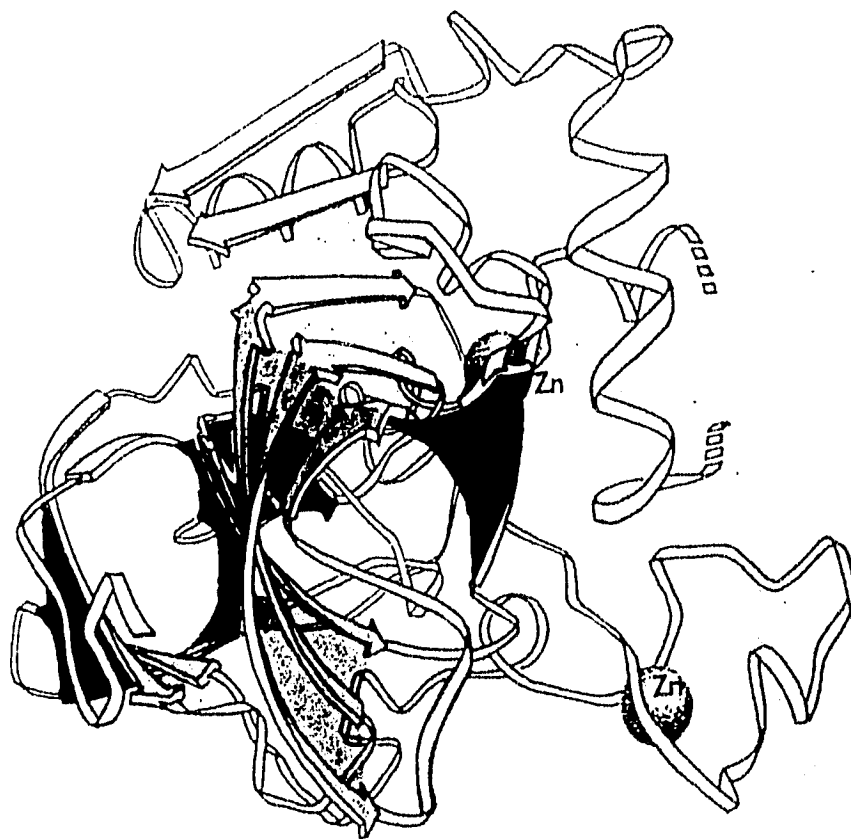
**Figura 5.** Estructura tridimensional de la alcohol deshidrogenasa de caballo de clase I: a) Diagrama esquemático de la enzima dimerica (una subunidad esta sombreada); b) Diagrama estereoscópico de una sola subunidad, mostrando el esqueleto de átomos de C<sub>α</sub> y c) Diagrama esquemático de esta misma subunidad y El átomo de zinc del dominio catalítico esta representado en negro. Figuras tomadas de Brändén et al., 1975 y Eklund et al., 1976, 1981).

La enzima es un dímero con un peso molecular de 80 000. Cada subunidad posee un sitio de unión a la coenzima y un dominio catalítico. Los sitios de unión a la coenzima tiene una estructura similar a la de otras deshidrogenasas dependientes de NAD<sup>+</sup>; y constituyen el núcleo central del dímero formando una lámina β plegada de 12 cadenas (Eklund et al., 1976). Los dos sitios activos están colocados en hendiduras intermedias entre el sitio de unión a las coenzimas, y los dominios catalíticos; el sustrato se une a la enzima en una cavidad hidrofóbica dentro de estas hendiduras, con sus átomos de oxígeno ligados a los átomos de zinc de los dominios catalíticos (Ramaswamy et al., 1994). Cuando las coenzimas se unen, las hendiduras del sitio activo con todo y sus dominios catalíticos, se acercan por medio de una rotación de cuerpo rígido hacia el sitio de unión a las coenzimas (Eklund et al., 1981).

b



c



**Tabla XIV.** Propiedades cinéticas de algunas isoenzimas de ADH humanas (oxidación del etanol).

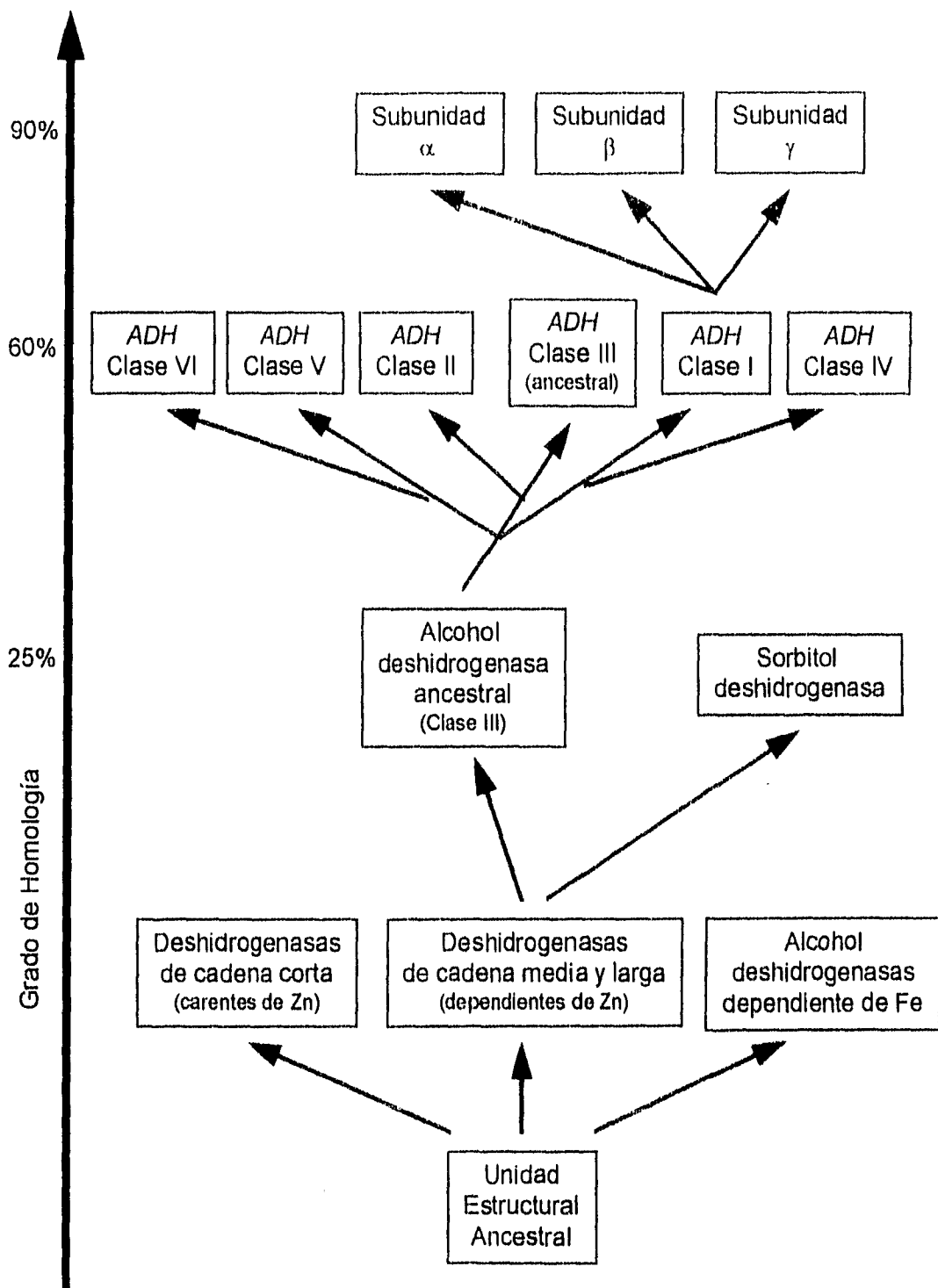
Isoenzima	Constantes cinéticas			pH óptimo
	NAD <sup>+</sup> Km (μM)	Etanol Km (mM)	Vmax (min <sup>-1</sup> )	
αα	13	4.2	27	10.5
β <sub>1</sub> β <sub>1</sub>	7.4	0.049	9.2	10.5
β <sub>2</sub> β <sub>2</sub>	180	0.94	400	8.5
β <sub>3</sub> β <sub>3</sub>	712	36	300	7.0
γ <sub>1</sub> γ <sub>1</sub>	7.9	1.0	87	10.5
γ <sub>2</sub> γ <sub>2</sub>	8.7	0.63	35	10.5
ππ	14	34	20	10.5
XX		≥ 2000	?	

Modificado de Burnell & Bosron, 1989.

→ → → → → → → →

**Figura 6.** Relaciones filogenéticas entre los diferentes tipos de alcohol deshidrogenasas. La familia de las ADHs de "cadena corta" parece estar presente solo en insectos, mientras que la familia de las ADHs de "cadena media y larga" esta mucho más ampliamente distribuida, encontrándose tanto en procariontes como en eucariontes, entre los que podemos mencionar hongos, plantas, cefalópodos y vertebrados. La única ADH de "cadena media y larga" reportada en insectos corresponde a la clase III, y es equivalente a la octanol deshidrogenasa de insectos previamente reportada (Danielsson et al., 1994). Esta clase de enzimas esta altamente conservada en las diferentes especies, por lo que es probable corresponda a una forma ancestral que pudo dar origen a los diferentes tipos de ADHs. De hecho se estima que la divergencia entre las principales clases de ADH debió ocurrir hace aproximadamente 600 millones de años (Sun & Plapp, 1992), que corresponde también a la época en que los vertebrados surgieron, por lo que puede especularse la existencia de las diferentes clases de ADHs en todos los grupos de vertebrados; de igual manera, la divergencia entre las diferentes isoenzimas de ADH de clase I, ocurrió hace aproximadamente 80 millones de años, por lo que presumiblemente éstas esten presentes en los diferentes grupos de primates (Sun & Plapp, 1992).

Esquema elaborado en base a la información proporcionada por Jörnvall et al., (1987); Parés et al., (1994) y Danielsson et al., (1994).



Todas las isoenzimas de esta clase son altamente sensibles a la inhibición por pirazol (Danielsson *et al.*, 1994), y muestran inhibición por sustrato ([etanol] > 20 mM), debido a que el exceso de etanol disminuye la velocidad de disociación del *NADH* de la enzima (Kamlay & Shore, 1983). Participan también en la deshidrogenación de esteroides (Waller *et al.*, 1965) y en la  $\omega$ -oxidación de los ácidos grasos (Björkhem, 1972).

Clase II: Esta clase comprende a la isoenzima homodimérica *rrr*, y se encuentra en diversos órganos como hígado, córnea, riñón y pulmón. Participa activamente en la degradación de la epinefrina y norepinefrina circulante (Mardh *et al.*, 1986). Posee un alta afinidad por el etanol y es poco sensible a la inhibición por pirazol (Bosron *et al.*, 1979).

Clase III: Esta clase comprende a la isoenzima *xx*, que es un homodímero codificado por el gen *ADH5*, y que probablemente corresponde a la forma ancestral que dio origen al resto de las *ADHs* (Danielsson *et al.*, 1994; Arnon *et al.*, 1995). Posee una alta capacidad para metabolizar alcoholes de cadena larga, mientras que su capacidad para oxidar el etanol es en cambio muy limitada (Bosron *et al.*, 1988). Además, esta clase es aún menos sensible a la inhibición por pirazol que la clase II (Jörnvall *et al.*, 1989). Por otra parte, debido a su amplia distribución tanto en las diferentes especies de organismos, como en los diferentes tejidos de nuestro cuerpo, ajen a su baja capacidad para oxidar el etanol, se ha sugerido que esta enzima desarrolla funciones especiales distintas al resto de las otras clases de *ADHs* (Beisswenger *et al.*, 1985). De hecho, esta enzima es idéntica a la formaldehído deshidrogenasa dependiente de glutatión (EC 1.2.1.1) (Koivusalo *et al.*, 1989a).

Clase IV: Esta clase se expresa preferencialmente en estómago (Danielsson *et al.*, 1994), aunque puede encontrarse en cantidades menores en otros tejidos como hígado, piel y córnea (Arnon *et al.*, 1995). Comprende a las isoenzimas *oo* y *μμ*, que esta codificada por el gen *ADHc*, ubicado en el locus *ADH-7* (Arnon *et al.*, 1995). Presenta una *K<sub>m</sub>* muy elevada para el etanol, y se piensa que participa activamente en el metabolismo de primer paso del etanol a nivel gástrico. Se inhiben por acción de la cimetidina, ranitidina, nizatidina y aspirina (Caballeria *et al.*, 1989, 1991; Roine *et al.*, 1990; DiPadova *et al.*, 1992;).

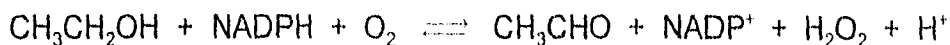
Clase V: Esta clase se ha encontrado expresada en epitelio gástrico, y comprende a la isoenzima *μμ* (Arnon *et al.*, 1995). Posee una *K<sub>m</sub>* para el etanol muy elevada y se piensa también que participa en el metabolismo del etanol de primer paso en mucosa gástrica.

Clase VI: Esta es la más reciente de las clases de *ADH* descrita en mamíferos (Zheng *et al.*, 1993). Fue identificada por primera vez en *Peromyscus maniculatus* (deer mouse), y está presente tanto en los genotipos *ADH*-positivo como *ADH*-negativo (que carecen de la alcohol deshidrogenasa "típica" de clase I). Se expresa mayoritariamente en hígado y en cantidades mínimas en riñón, y su papel en el metabolismo del etanol aún permanece incierto. No existen hasta ahora reportes de su existencia en humanos, aunque ya ha sido identificada

también en ratas (Höög & Brandt, 1995). La mayor homología (67%) la presenta con la *ADH6* de clase V.

**Sistema microsomal oxidante de etanol (MEOS):** Este sistema fue estudiado por primera vez por Lieber y col. a finales de la década de los sesentas (Lieber & DeCarli, 1968; Rubin *et al.*, 1968) a partir de un reporte inicial de Orme-Johnson & Ziegler (1965), en donde describieron incrementos paralelos en la capacidad para metabolizar fármacos y etanol, con la actividad total de citocromo P450 en retículo endoplásmico liso de células hepáticas. De esta forma, a partir de estos trabajos iniciales, rápidamente se demostró la existencia de una nueva vía de oxidación del etanol dependiente de citocromos P450.

Actualmente se ha descrito la presencia del MEOS en microsomas de células de diferentes tejidos (Gonzalez, 1992), y se conoce que involucra la participación de varias enzimas de la ahora superfamilia de citocromos P450 (ver cuadro 1), las cuales catalizan la oxidación del etanol a acetaldehído, acoplado esta reacción a la oxidación de una molécula de *NADPH* y la reducción de una molécula de oxígeno para formar peróxido de hidrógeno (Zentella de Piña & Piña Garza, 1987)<sup>17</sup>.



Existen diferentes tipos de citocromos P450 capaces de catalizar la oxidación del etanol, aunque el más eficiente es el citocromo P450 2E1 (Koop *et al.*, 1985; Koop, 1989), también llamado CYP2E1, o simplemente 2E1 de acuerdo a la nomenclatura recomendada por Nebert y colaboradores (Nebert *et al.*, 1989, 1991; Nelson *et al.*, 1993)<sup>18</sup>.

El citocromo 2E1 es el constituyente básico del sistema MEOS (Lasker *et al.*, 1987; Lieber, 1994), que posee actividad para oxidar además del etanol, otros alcoholes como el butanol o pentanol (Morgan *et al.*, 1982), además de otros compuestos xenobióticos como anilina, acetaminofen,  $\text{CCl}_4$ , acetona, benceno, fenol y N-nitrosodimetilamina, entre otros (Morgan *et al.*, 1982, 1983; Ingelman-Sundberg & Johansson, 1984; Koop & Casazza, 1985; Yang *et al.*, 1985; Koop & Tierney, 1990). Este sistema posee una baja afinidad por el etanol, con una  $K_m$  de 8-10

<sup>17</sup> El peróxido de hidrógeno formado durante la actividad del sistema MEOS, estimula también la oxidación no enzimática del etanol, a través de la formación de radicales hidroxilo en presencia de quelatos férricos (ver más adelante la sección correspondiente), por lo que durante muchos tiempo se consideró que el sistema MEOS poseía dos mecanismos de reacción: uno dependiente y otro independiente de la formación de radicales hidroxilo. Actualmente es claro que el mecanismo dependiente corresponde en realidad a una oxidación no enzimática.

<sup>18</sup> Originalmente este citocromo fue referido como "3a" en conejos y ratas, y "j" en humanos, y se conservan estos nombres solo para poder referirse a literatura anterior a la clasificación propuesta por Nebert y col. (1989, 1991).



mM (Lieber, 1994), por lo que se considera que en individuos no alcohólicos, su participación es importante solo a altas concentraciones tisulares del sustrato.

El sistema MEOS es el único cuya actividad se induce significativamente (5 a 10 veces) por la presencia de etanol u otras moléculas como piridina, acetona y pirazol (Lieber, 1994; Koop & Tierney, 1990). Este incremento se debe a una mayor estabilidad del RNA<sub>m</sub> y la enzima misma, o bien a través de una mayor traducción del RNA<sub>m</sub> (Koop & Tierney, 1990).

### La Superfamilia de Citocromos P450

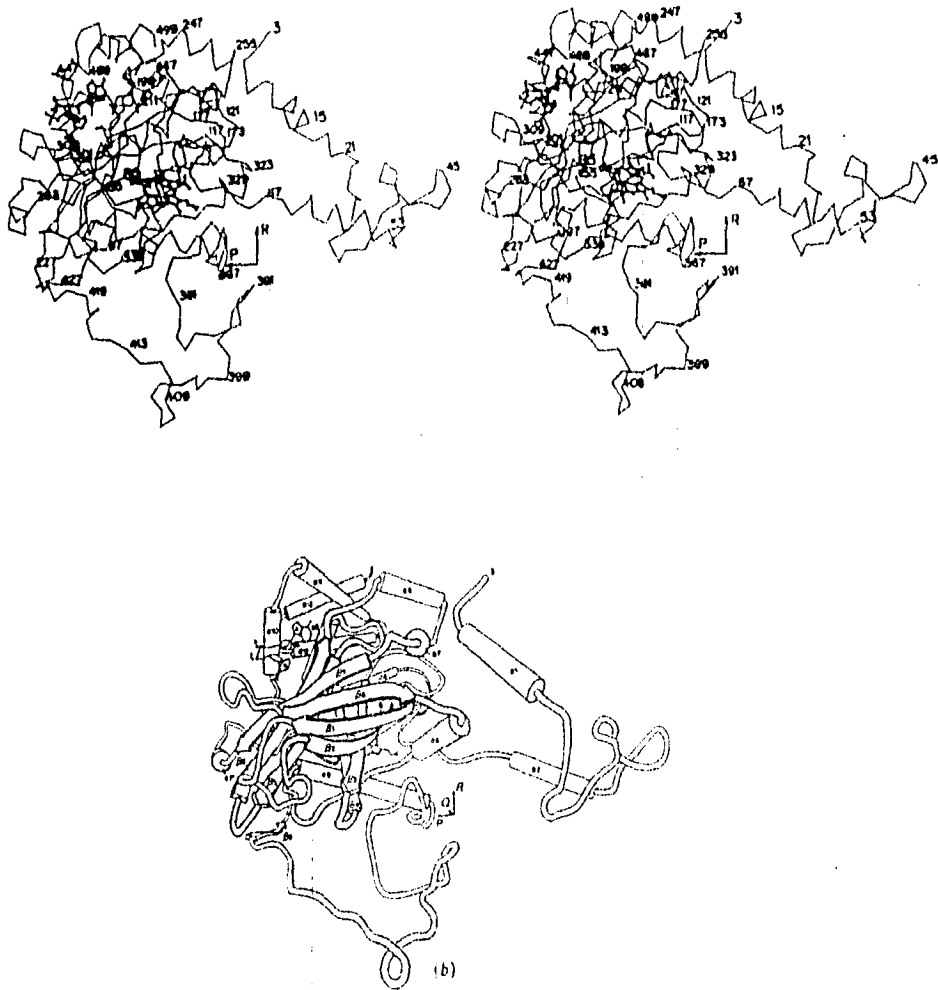
La superfamilia P450 esta constituida por alrededor de 230 genes y pseudogenes, distribuidos en 36 familias distintas, de las cuales al menos 10 están presentes en mamíferos (Gonzalez, 1992; Degtyarenko & Archakov, 1993; Beaune, 1993); estas familias estan definidas en base a sus similitudes en cuanto a secuencia de aminoácidos, de tal forma que todos los miembros de una familia presentan al menos un 55% de homología en sus secuencias, y alrededor de 40% de homología con los miembros de otras familias (Gonzalez, 1992).

Los citocromos P450 estan divididos en dos clases principales desde el punto de vista funcional: la primera clase (que comprende en mamíferos a las clases CYP1, CYP2, CYP3 y CYP4), está involucrada en el metabolismo de compuestos xenobióticos, mientras que la segunda (familias CYP7, CYP11, CYP17, CYP19, CYP21 y CYP27), está relacionada con la síntesis de esteroides y ácidos biliares (Gonzalez, 1992).

**Catalasa:** Esta enzima<sup>19</sup> (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidoreductasa; EC 1.11.1.6) es una proteína oligomérica de 4 subunidades (de aproximadamente 60 kDa cada una) arregladas en forma tetrahédrica; cada subunidad funciona de manera independiente, y posee como grupos prostéticos una protoporfirina férrica IX (Schonbaum & Chance, 1976) y una molécula de NADP<sup>+</sup> (Fita *et al.*, 1986)<sup>20</sup>. La Figura 7 muestra la estructura tridimensional de esta enzima.

<sup>19</sup> La catalasa fue una de las primeras enzimas en ser aislada en forma altamente purificada, y su cristalización (Summer & Dounce, 1937) a partir de extractos de hígado marcó todo un hito en la historia de la bioquímica (Schonbaum & Chance, 1976).

<sup>20</sup> Existen otras formas diferentes de catalasa (von Ossowski *et al.*, 1993), sobre todo en procariontes, en donde podemos encontrar estructuras hexaméricas (*Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*), subunidades de peso molecular mayor (*E. coli*), con isómeros del grupo hemo en lugar de la protoporfirina IX (*E. coli*; *B. subtilis* y *Neurospora crassa*), e inclusive catalasas sin grupo hemo que contienen manganeso (*Lactobacillus plantarum* y *Thermoleophilum album*). No obstante esto, en eucariotes y animales superiores, la catalasa es una enzima altamente conservada, que probablemente surgió hace aproximadamente 2 000 millones de años, cuando la atmósfera se transformó de reductora a oxidante (von Ossowski *et al.*, 1993)



reacción que cataliza con una extraordinaria eficiencia; no obstante es también altamente eficiente en la oxidación dependiente de peróxidos de: los ácidos nitroso, fórmico e hidrazóico; los alcoholes alifáticos de cadena corta; y la hidroxilamina (Schonbaum & Chance, 1976). Todas estas reacciones (excepto la oxidación del ácido nitroso e hidrazóico), pueden representarse en una ecuación general del tipo:

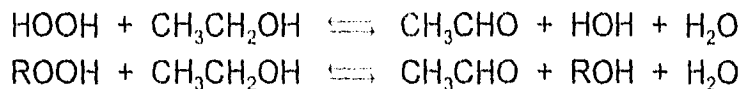


en donde:

R = [ H, alquilo, acilo]

X = [O, NH, C=O, (CH<sub>2</sub>)<sub>n=1,2,3</sub>]

En el caso particular del etanol, la oxidación de éste puede estar acoplada a la descomposición de una molécula de peróxido de hidrógeno, o bien a la descomposición de un peróxido orgánico, en donde:



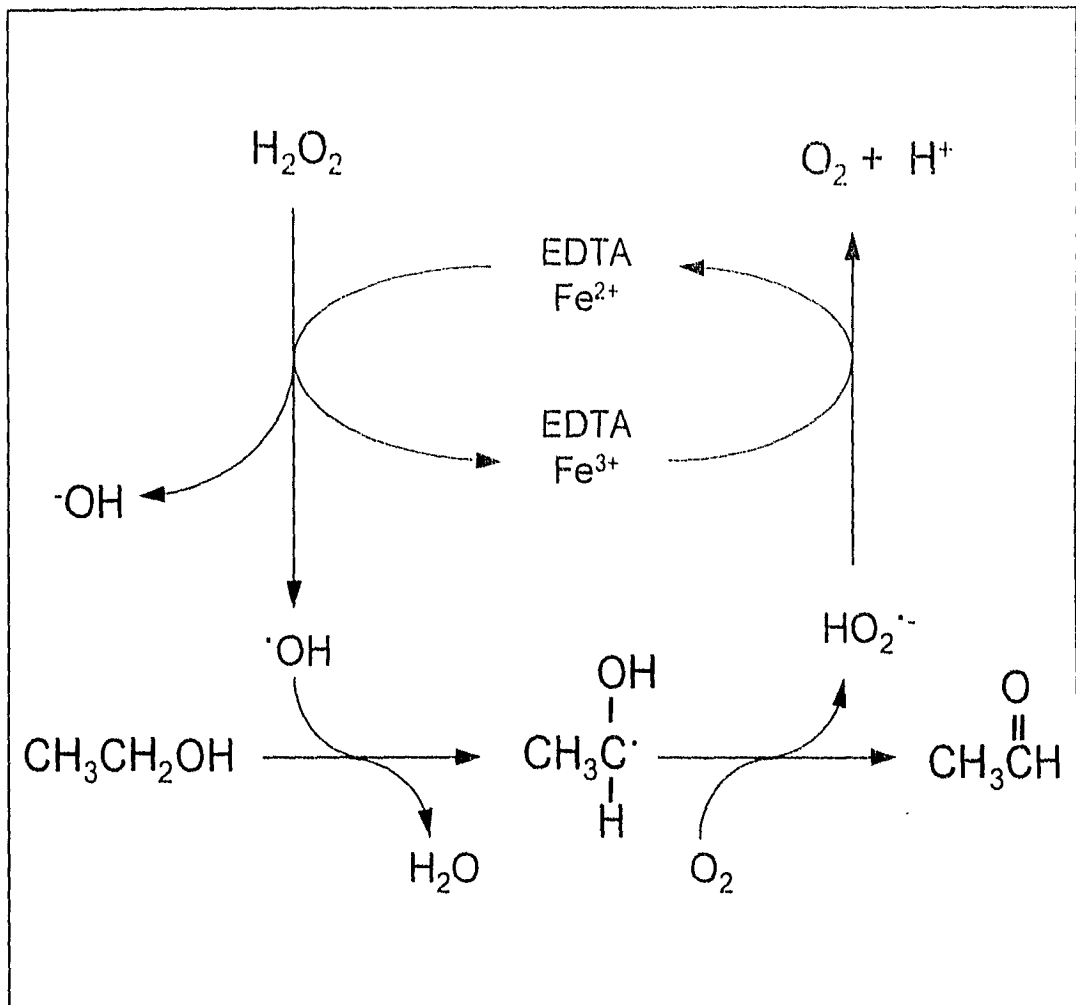
Sin embargo, el principal factor limitante en la velocidad de oxidación del etanol por la catalasa, es la disponibilidad de peróxidos, por lo que se considera que en condiciones normales, su participación en el metabolismo del etanol es mínima (Lieber, 1994).

**Oxidación No enzimática:** *In vitro*, se ha demostrado que la oxidación del etanol en microsomas se estimula significativamente en presencia de algunos quelatos de fierro, como por ejemplo Fe<sup>3+</sup>-EDTA, sin la participación directa de citocromos P450 (e. g. Cederbaum & Dicker, 1983; Ingelman-Sundberg & Johansson, 1984; Koop, 1989; Dicker & Cederbaum, 1990). Esta oxidación no enzimática, depende de la formación de radicales hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ) a partir del peróxido de hidrógeno, en donde a través de una reacción espontánea entre el radical hidroxilo y el etanol, se forma agua y un radical alcoholilo, el cual a su vez, reacciona rápidamente con el oxígeno para formar finalmente acetaldehído y un ión superóxido protonado ( $\text{HO}_2^-$ ), en una serie de reacciones como las ilustradas en la Figura 8 (Ingelman-Sundberg & Johansson, 1984).

La adición *in vitro*, de enzimas como la catalasa o peroxidasas, o bien, la presencia de atrapadores de radicales hidroxilo como por ejemplo, el benzoato, el manitol o el dimetil sulfóxido, disminuyen sensiblemente la velocidad de oxidación no enzimática del etanol (Dicker & Cederbaum, 1990), tal y como se esperaría de acuerdo al mecanismo de reacción previamente descrito (ver Figura 8); en cambio, la presencia de la enzima superóxido dismutasa (*op cit.*), provoca efectos insignificantes, por lo que es probable que las reacciones del tipo Heber-Weiss tengan poca significancia en este mecanismo de oxidación.

Es importante tener presente que el etanol por sí solo, es un excelente atrapador de radicales hidroxilo (Cederbaum, 1987), por lo que esta serie de reacciones está limitada solo por la disponibilidad de radicales hidroxilo, que a su vez depende de: 1) La presencia de quelatos de

Fe y un sistema reductor de estos, susceptibles de catalizar la formación de radicales hidroxilo a partir de peróxido de hidrógeno; y 2) La disponibilidad del peróxido de hidrógeno mismo, necesario para la formación de los radicales hidroxilo.



**Figura 8.** Mecanismo de oxidación no enzimático del etanol (modificado de Ingelman-Sundberg & Johansson, 1984). Los radicales hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ) necesarios para la oxidación del etanol, se forman a partir del peróxido de hidrógeno, través de la reacción de Fenton catalizada por hierro ( $\text{M}^{n+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{M}^{(n+1)+} + \cdot\text{OH} + \cdot\text{OH}$ ). El radical hidroxilo, al reaccionar con el etanol, forma transitoriamente un radical alcohólico, el cual en presencia de oxígeno se transforma en acetaldehído, formando un nuevo ión superóxido protonado ( $\text{HO}_2^{\cdot-}$ ). Estos nuevos radicales libres, pueden ser tomado por la enzima superóxido dismutasa, quien cataliza su dismutación a peróxido de hidrógeno, en una reacción no ilustrada ( $2\text{HO}_2^{\cdot-} \rightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$ ); o bien, este ión superóxido reacciona con el complejo Fe-EDTA, reduciéndolo para que esté listo nuevamente en la formación de radicales hidroxilo en una reacción de tipo Haber-Weiss ( $\text{Fe}^{3+} + \text{O}_2^{\cdot-} \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{O}_2$  /y/  $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \cdot\text{OH} + \cdot\text{OH}$ ).

De esta manera, las enzimas y actividades que promueven la formación de  $H_2O_2$ , o del ión superóxido, promueven indirectamente la oxidación no enzimática del etanol. Entre estas últimas, podemos mencionar la xantina oxidasa, la dihidroorotato deshidrogenasa, la diamino oxidasa, la triptofano deshidrogenasa, y los citocromos P450, entre otras, o bien actividades celulares como el proceso de fagocitosis por los leucocitos, o la misma actividad de la cadena de transporte de electrones mitocondrial.

Por otra parte, es probable que este mecanismo de oxidación *in vivo*, tenga una participación poco significativa, ya que los posibles complejos orgánicos de hierro que pudieran estar presentes dentro de las células (e. g.  $Fe^{3+}$ -citrato,  $Fe^{3+}$ -ADP,  $Fe^{3+}$ -ATP), son poco eficientes para estimular la oxidación del etanol (Feierman *et al.*, 1985; Dicker & Cederbaum, 1990)<sup>21</sup>. Sin embargo, es importante considerar este mecanismo porque la generación de radicales libres durante la oxidación del etanol, puede ser una de las vías a través de la cual el etanol induce daños en los tejidos hepáticos (ver sección de antecedentes para una discusión más amplia).

**Metabolismo no oxidativo:** Lange y cols. demostraron en 1981, que el etanol puede reaccionar con los ácidos grasos para formar ésteres etílicos de ácidos grasos a través de una reacción catalizada enzimáticamente en donde:



en esta reacción, R corresponde a la cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos, como por ejemplo: oleico, linoleico y araquidónico. La enzima responsable de esta última reacción es la sintetasa de los ésteres etílicos de ácidos grasos, y se caracteriza por ser una enzima dimérica de 50 KDa, que no requiere la participación de ATP y coenzima A para catalizar la reacción (Mogelson & Lange, 1984).

La afinidad de esta enzima por el etanol, es relativamente baja, con una  $K_m > 0.2$  M (Mogelson & Lange, 1984), y su capacidad para metabolizar el etanol, es apenas del orden de  $0.137 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$  en homogenados de hígado humano (ver la Tabla XII para una comparación), por lo que puede concluirse que su participación en el metabolismo global del etanol es poco significativa (Koop, 1989); sin embargo, no deja de llamar la atención la acumulación de éste tipo de ésteres, en órganos que carecen de una actividad oxidante de etanol significativa y que sin embargo muestran daños por la administración crónica de etanol, como por ejemplo: corazón, páncreas, y cerebro, entre otros (Laposata & Lange, 1986).

### Metabolismo del acetaldehído

El acetaldehído es el principal metabolito generado en la primera etapa del catabolismo hepático del etanol; éste es una molécula muy reactiva y puede formar numerosos aductos con

---

<sup>21</sup> Recientemente se ha reportado que el grupo hemo de la oxihemoglobina, también puede catalizar la oxidación del etanol a acetaldehído (Chen *et al.*, 1994), sin embargo, su contribución al metabolismo global del etanol aún no ha sido evaluada.

diversas moléculas, especialmente proteínas (Sorrell & Tuma, 1985; Lucas *et al.*, 1988; Hernández-Muñoz *et al.*, 1989; Worrall *et al.*, 1990). De esta manera, gran parte de los efectos tóxicos asociados a la ingestión del etanol se atribuyen a la formación de aductos de acetaldehído que inactivan diversas moléculas biológicas (Sorrell & Tuma, 1985).

El acetaldehído producido principalmente en el hígado, es metabolizado a través de dos vías metabólicas: la primera de ellas esta constituida por un sistema de enzimas conocidas genéricamente como *aldehído deshidrogenasas* o *ALDHs*, las cuales catalizan la oxidación del acetaldehído en acetato, en una reacción acoplada a la reducción de una molécula de  $NAD^+$ ; la segunda vía esta constituida por la *aldehído oxidasa*, enzima poco estudiada que cataliza la oxidación del acetaldehído en acetato en una reacción que depende de oxígeno.

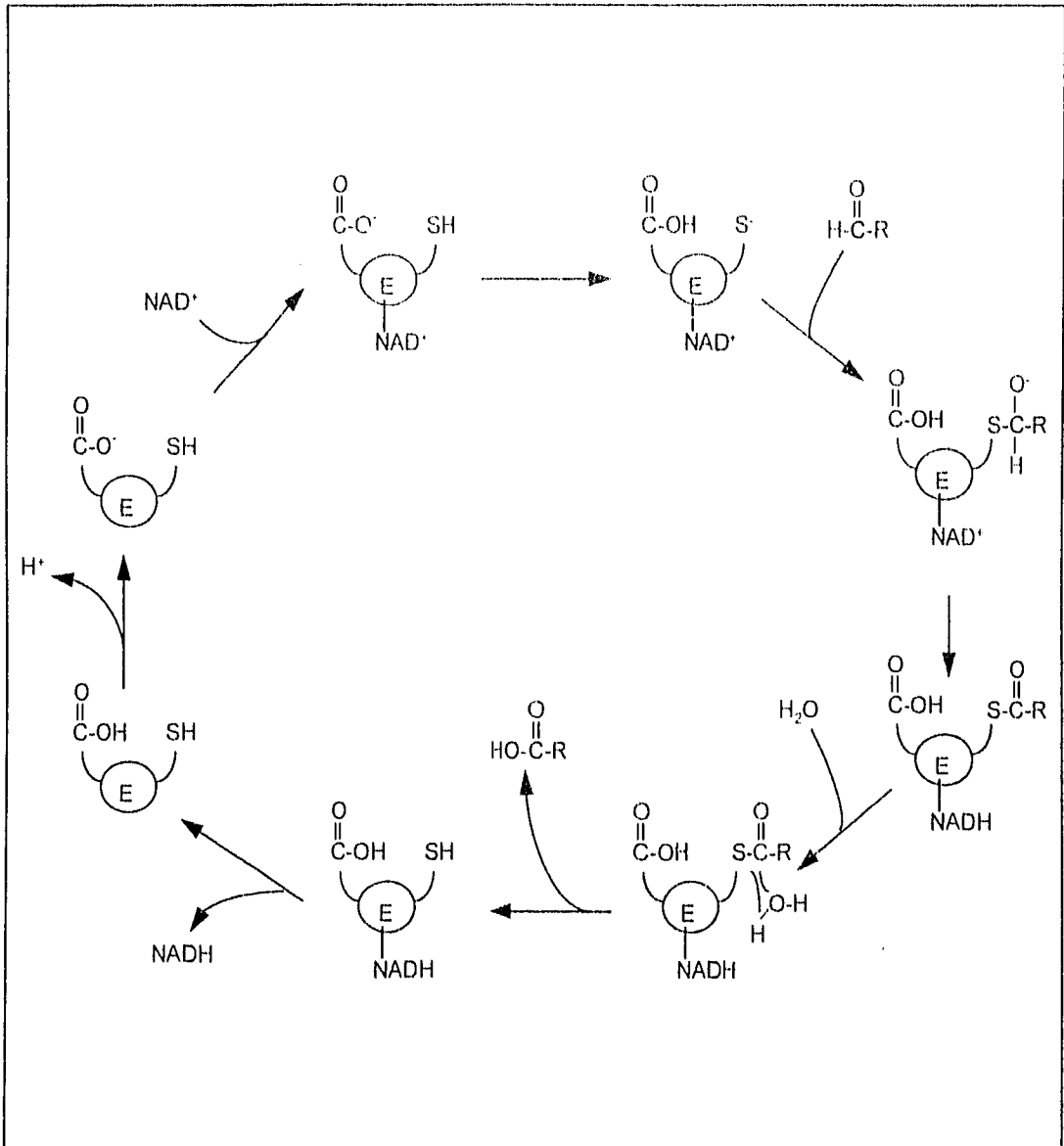
**Sistema de las aldehído deshidrogenasas:** Este sistema, esta constituido por una serie de enzimas, denominadas como aldehído deshidrogenasas (*ALDH*; aldehído:  $NAD^+$  oxidorreductasa, EC 1.2.1.3), las cuales se encargan de oxidar más del 90% del acetaldehído formado durante la oxidación del etanol, transformándolo en acetato, en una reacción acoplada a la reducción de una molécula de  $NAD^+$ :



Esta reacción al igual que la oxidación del etanol, es de tipo bi bi ordenado, en donde la unión previa del  $NAD^+$  es indispensable para que el acetaldehído penetre al sitio activo (Farrés *et al.*, 1995; Wang & Weiner, 1995), sin embargo, la etapa limitante en la velocidad de reacción de estas enzimas, no es la disociación del  $NADH$ , sino la disociación del grupo acilo de la enzima (*op cit.*). El mecanismo de reacción de las aldehído deshidrogenasas se muestra en la Figura 9.

La *ALDH* es responsable no solo de la oxidación del acetaldehído, sino también de otros grupos aldehído presentes en monoaminas, diaminas y poliaminas biogénicas (Ambroziak & Pietruszko, 1991), en el metabolismo del ácido retinoico, o bien, de grupos aldehído generados durante procesos de lipoperoxidación de las membranas (Mitchell & Petersen, 1989). Además, la *ALDH* posee una actividad de esterasa en ausencia de  $NAD^+$  en el mismo sitio catalítico que la actividad de deshidrogenasa (Pietruszko *et al.*, 1993; Kitson *et al.*, 1995).

Actualmente, se tienen ya estudios preliminares de la estructura tridimensional de la aldehído deshidrogenasa a baja resolución (Sun *et al.*, 1995), la cual se ilustra en la Figura 10. Sin embargo queda aún pendiente la asignación e identificación de las cadenas laterales de los aminoácidos en esta estructura, y por ende, la identificación de los aminoácidos que conforman el sitio catalítico (*op cit.*).



**Figura 9.** Mecanismo de reacción de la aldehído deshidrogenasa. La reacción se inicia con la entrada de NAD<sup>+</sup> al sitio catalítico de la enzima, en donde se encuentran los residuos de glutamato 268 y cisteína 302 (tomando como referencia la enzima humana de clase II). El papel del glutamato 268 es favorecer la ionización del grupo sulfhidrilo de la cisteína 302, y así facilitar la entrada del aldehído. Este inicia un ataque nucleofílico sobre la cisteína 302, formando un intermediario tiohemiacetal, el cual es entonces deshidrogenado para formar un grupo acilo. Posteriormente, la entrada de una molécula de agua, permite la liberación del grupo acilo como un ácido, para que finalmente el NADH sea removido de la enzima. (Pietruszko et al., 1993; Wang & Weiner, 1995; Farrés et al., 1995).



**Figura 10.** Estructura tridimensional de la aldehído deshidrogenasa de clase III de rata: a) Diagrama esquemático de una sola subunidad, mostrando los extremos terminales; b) Diagrama estereoscópico de esa misma subunidad mostrando solo el esqueleto de C<sub>(α)</sub>. (Figuras tomadas de Sun et al., 1995)



Existen dentro de los mamíferos diferentes isoenzimas, las cuales se agrupan en cinco clases distintas (posiblemente ocho), dependiendo de su estructura, sus características catalíticas y su localización subcelular (Arnon *et al.*, 1995). En general, el grado de similitud dentro de cada clase es mayor de 90%, mientras que la similitud entre clases es de aproximadamente 70%. La Tabla XV muestra una clasificación de las aldehído deshidrogenasas hasta ahora descritas<sup>22</sup>.

**Clase I:** Esta clase está constituida por enzimas homotetraméricas con subunidades de 54 kDa de peso molecular; se localizan en la fracción citosólica y poseen una  $K_m$  para el acetaldehído de 30  $\mu$ M (Lundquist, 1983; Arnon *et al.*, 1995). Están codificadas por el gen *ALDH-1*, el cual está localizado en el cromosoma 9 (Hsu *et al.*, 1995). La ALDH1 posee una alta afinidad por el retinal, que es la forma activa de la vitamina A, a quien oxida transformándolo en ácido retinoico, con una  $K_m$  de 60 nM a pH 7.5 (Yoshida *et al.*, 1992). Este dato, aunado al hecho de que el gen que codifica para su síntesis presenta elementos de respuesta a hormonas, sugiere que su papel fisiológico está primariamente relacionado con la generación de ácido retinoico, y la modulación de la diferenciación celular en los tejidos sensibles a este metabolito (Yoshida *et al.*, 1992).

**Clase II:** Esta clase posee también una estructura tetramérica con subunidades de 54 kDa. Se localiza principalmente en la matriz mitocondrial, y corresponde a las isoenzimas de mayor afinidad por el acetaldehído, con una  $K_m$  del orden de 3  $\mu$ M, por lo que se considera que son las principales responsables de la oxidación del acetaldehído. Están codificadas por el gen *ALDH-2*, ubicado en el cromosoma 12, el cual posee dos alelos *ALDH2\*1* y *ALDH2\*2*: el primero de ellos manifiesta una elevada capacidad de oxidación del etanol, mientras que el segundo es considerado el fenotipo "deficiente", por su baja capacidad para oxidar al acetaldehído. Este último alelo "deficiente" de tipo dominante (Crabb *et al.*, 1989), es característico de poblaciones asiáticas e indias de Sudamérica, con una prevalencia de aproximadamente 50%

La presencia del alelo *ALDH2\*2*, determina en los individuos que lo poseen, una deficiente capacidad para eliminar acetaldehído, el cual se acumula durante la ingestión de bebidas alcohólicas produciendo diversos síntomas como taquicardia, náuseas, dolor de cabeza, vómito, y enrojecimiento de la cara y pecho entre otros (Arnon *et al.*, 1995), lo cual explica la aversión a la ingestión de bebidas alcohólicas observada en aquellos individuos que portan este fenotipo "deficiente".

**Clase III:** Comprende varias isoenzimas de tipo dímérico localizadas en el citosol, con subunidades de 50 kDa; están codificadas por el gen *ALDH-3* (Hsu & Yoshida, 1993). Presentan una  $K_m$  relativamente alta para el acetaldehído (en el rango de mM). Son enzimas inducibles, cuya síntesis se estimula por la presencia de dioxinas e hidrocarburos policíclicos (Marselos &

---

<sup>22</sup> Es interesante hacer notar que cada clase posee una localización celular específica, la cual se conserva aún en especies diferentes, lo que sugiere una divergencia muy temprana en la evolución de las aldehído deshidrogenasas (Arnon *et al.*, 1995).

Lindahl, 1988; Hempel *et al.*, 1989; Kiovusalo *et al.*, 1989b; Vasiliou *et al.*, 1993; Takimoto *et al.*, 1994).

Clase IV: Estas enzimas están localizadas en mitocondrias, y están codificadas por el gen *ALDH-4*, el cual ha sido identificado también como la  $\gamma$ -semialdehído glutámico deshidrogenasa -EC 1.5.1.12- (Forte-McRobbie & Pietruszko, 1986; Agarwal *et al.*, 1993). Presentan al igual que las *ALDHs* de clase III, una baja afinidad por el acetaldehído, y sus sustratos óptimos son el benzaldehído y los aldehídos alifáticos de cadena media (Yin *et al.*, 1991).

**Tabla XV.** Polimorfismo de las aldehído deshidrogenasas (*ALDH*).

Clase	Locus Genético	Alelos	Estructura	Distribución
I	<i>ALDH-1</i>	<i>ALDH1</i>	Tetramero	Citosol: Mayoría de los tejidos
II	<i>ALDH-2</i>	<i>ADH2*1</i>	Tetramero	Mitocondrias:
II		<i>ADH2*2</i>	Tetramero	Mayoría de los tejidos: (Hígado > riñón > corazón)
III	<i>ALDH-3</i>	<i>ALDH3</i>	Dímero	Estómago, pulmón e hígado
IV	<i>ALDH-4</i>	<i>ALDH4</i>	Dímero	Hígado y riñón
?	<i>ALDH-5</i> ( <i>ALDH-x</i> )	?	?	Hígado, testículo, cerebro, estómago y otros.
?	<i>ALDH-6</i>	?	?	Glándula salival
?	<i>ALDH-7</i>	?	?	Riñón y pulmones
?	<i>ALDH-8</i>	?	?	Glándula parótida

Modificado de Arnon *et al.*, 1995.

Por último, en lo que se refiere a los genes *ALDH-5*, *ALDH-6*, *ALDH-7* y *ALDH-8*, éstos fueron identificados a través de transcripción reversa por la reacción en cadena de la polimerasa (Hsu *et al.*, 1995).

El gen *ALDH-5*, inicialmente denominado *ALDH-x*, fue identificado por Hsu & Chang (1991) y está localizado en el cromosoma 9. Este gen codifica para una cadena polipeptídica de 517 aa, que muestra su mayor similitud hacia las *ALDH1*, *ALDH2* y *ALDH6* (63-74%). Se expresa en diferentes tejidos entre los que podemos mencionar hígado, cerebro, glándula suprarrenal, testículo, estómago y glándula parótida (Hsu *et al.*, 1995).

El gen *ALDH-6*, se localiza en el cromosoma 15 (15q26), y codifica para una cadena polipeptídica de 512 aa. Su mayor similitud se presenta con las *ALDH1*, *ALDH2* y *ALDH5* (63-70%). Se expresa en pequeñas cantidades en diversos tejidos, y solo a niveles altos en glándulas salivales, estómago y riñón (Hsu *et al.*, 1995).

El gen *ALDH-7*, se expresa principalmente en riñón y pulmón, y codifica para una cadena polipeptídica de 468 aa. Está localizado en el cromosoma 11 (11q13), y la mayor homología (87%) la presenta con el gen *ALDH-8* (Hsu *et al.*, 1995).

El gen *ALDH-8* se expresa solo en la glándula parótida, y presenta la misma localización cromosómica que el gen *ALDH-7*, con quien además comparte la mayor homología (Hsu *et al.*, 1995), por lo que es posible correspondan a una misma clase de *ALDHs*. Este gen codifica para un polipéptido de 466 aa.

**Aldehído oxidasa:** Esta enzima (aldehído:oxígeno oxidoreductasa; EC 1.2.3.1) está localizada en el citosol de la célula, presenta un peso molecular de 300 kDa y posee 8 átomos de hierro, 2 de molibdeno, 2 moléculas de FAD y una o dos moléculas de coenzima  $Q_{10}$  (Rajagopalan *et al.*, 1962).

La aldehído oxidasa cataliza la oxidación del acetaldehído para convertirlo en acetato, en una reacción acoplada al consumo de oxígeno y la formación de peróxido de hidrógeno, y posee un  $K_m$  para el acetaldehído del orden de 1 mM (Rajagopalan & Handler, 1964).



Además del acetaldehído, esta enzima también puede catalizar la oxidación de una amplia variedad de compuestos heterocíclicos que contengan nitrógeno, como por ejemplo derivados de purinas y pirimidinas (Rajagopalan & Handler, 1964; Krenitsky *et al.*, 1972; Hall & Krenitsky, 1986).

Si bien la participación de esta enzima, no es significativa en comparación con el sistema de las aldehído deshidrogenasas para la oxidación global del acetaldehído, es importante considerarla puesto que parte de los efectos tóxicos de éste metabolito se han asociado a la generación de radicales libres derivados de la producción de peróxido de hidrógeno por la aldehído oxidasa (Shaw & Jayatilleke, 1990; Mira *et al.*, 1995).

**Corolario.**

Es muy significativo el hecho de que a pesar de estar muy bien estudiados los sistemas a través de los cuales pueden ser metabolizados el etanol y el acetaldehído, no es aún claro el mecanismo o los mecanismos por los que el etanol induce sus efectos tóxicos; de hecho ni siquiera es claro el papel fisiológico de los sistemas de alcohol y aldehído deshidrogenasas: no es razonable esperar que estos sistemas enzimáticos tan complejos, con una amplia diversidad de isoenzimas y posibles sustratos, se hayan formado en el transcurso de la evolución de los vertebrados con la única finalidad de oxidar un solo metabolito exógeno, que se presenta en condiciones naturales en cantidades mínimas. En este sentido, es mucho aún lo que queda por definir, y posiblemente la comprensión del papel fisiológico de estos sistemas enzimáticos arrojará una luz importante sobre los mecanismos de toxicidad del etanol.

## Referencias

- Agarwal, D. P.; Goedde, H. W. (1989). Enzymology of alcohol degradation. En: Goedde, H. W.; Agarwal, D. P. (eds). **Alcoholism: Biomedical and Genetic Aspects**. Pergamon Press. New York. pp 3-20.
- Agarwal, D. P.; Eckey, R.; Hempel, J.; Goedde, H. W. (1983). Human liver high Km aldehyde dehydrogenase (ALDH4): Properties and structural relationship to the glutamic  $\gamma$ -semialdehyde dehydrogenase. **Adv. Exp. Med. Biol.** 328: 191-197.
- Ambroziak, W.; Pietruszko, R. (1991). Human aldehyde dehydrogenase: Activity with aldehyde metabolites of monoamines, diamines, and polyamines. **J. Biol. Chem.** 266: 13011-13018.
- Arnon, R.; Degli Esposti, S.; Zern, M. A. (1995). Molecular biological aspects of alcohol-induced liver disease. **Alcohol: Clin. Exp. Res.** 19: 247-256.
- Baraona, E.; Julkunen, R.; Tannenbaum, L.; Lieber, C.S. (1986). Role of intestinal bacterial overgrowth in ethanol production and metabolism in rats. **Gastroenterol.** 90: 103-110.
- Batt, R.D. (1989). Absorption, distribution, and elimination of alcohol. En: Crow, K. E.; Batt, R. D. (eds). **Human Metabolism of Alcohol, Vol. I: Pharmacokinetics, Medicolegal Aspects, and General Interest**. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp 3-8.
- Beaune, P. (1993). Les cytochromes P450 humains: Applications en pharmacologie. **Therapie** 48: 521-526.
- Belsswenger, T. B.; Holmquist, B.; Vallee, B. L. (1985).  $\chi$ -ADH is the sole alcohol dehydrogenase isozyme of mammalian brains: Implications and inferences. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 82: 8369-8373.
- Björkhem, I. (1972). On the role of alcohol dehydrogenase in  $\omega$ -oxidation of fatty acids. **Eur. J. Biochem.** 30: 441-451.
- Boleda, M. D.; Julià, P.; Moreno, A.; Parés, X. (1989). Role of extrahepatic alcohol dehydrogenase in rat ethanol metabolism. **Arch. Biochem. Biophys.** 274: 74-81.
- Bosron, W. F.; Li, T.-K.; Dofeldecker, W.; Vallee, B. L. (1979). Human liver pi-alcohol dehydrogenase: Kinetics and molecular properties. **Biochemistry** 18: 1101-1105.
- Bosron, W. F.; Lumeng, L.; Li, T.-K. (1988). Catalytic properties of human liver dehydrogenase isoenzymes. **Mol. Aspects Med.** 10: 147-158.
- Brändén, C.-I.; Jörnvall, H.; Eklund, H.; Furugren, B. (1975). Alcohol dehydrogenases. En: Boyer, P. D. (ed). **The Enzymes, Vol. XI: Oxidation-Reduction, part A: Dehydrogenases (I), Electron Transfer (I)**. Academic Press. New York. pp 103-190.
- Burnell, J. C.; Bosron, 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 Metabolites of Ethanol**. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp 65-75.
- Caballeria, J.; Baraona, E.; Rodamllans, M.; Lieber, C. S. (1989). Effects of cimetidine on gastric alcohol dehydrogenase activity and blood ethanol levels. **Gastroenterology** 96: 388-392.
- Caballeria, J.; Baraona, E.; Deulofeu, R.; Hernández-Muñoz, R.; Rodes, J.; Lieber, C. S. (1991). Effects of H<sub>2</sub>-receptor antagonists on gastric alcohol dehydrogenase activity. **Dig. Dis. Sci.** 36: 1673-1679.
- Coderbaum, A. I.; Dicker, E. (1983). Inhibition of microsomal oxidation of alcohols and of hydroxyl-radical-scavenging agents by the

- iron-chelating agent desferrioxamine. *Biochem. J.* **210**: 107-113.
- Cederbaum, A. I. (1987). Microsomal generation of hydroxyl radicals: Its role in microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) activity and requirement for iron. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **492**: 35-49.
- Chen, H. M.; Lin, W. W.; Ferguson, K. H.; Scott, B. K.; Peterson, C. M. (1994). Studies of the oxidation of ethanol to acetaldehyde by oxyhemoglobin using fluorogenic high-performance liquid chromatography. *Alcohol.: Clin. Exp. Res.* **18**: 1202-1206.
- Cooke, A. R.; Birchall, A. (1969). Absorption of ethanol from the stomach. *Gastroenterol.* **57**: 269-272.
- Crabb, D. W.; Edenberg, H. J.; Bosron, W. F.; Li, T.-K. (1989). Genotypes for aldehyde dehydrogenase deficiency and alcohol sensitivity: The inactive *ALDH2*<sup>2</sup> allele is dominant. *J. Clin. Invest.* **83**: 314-316.
- CRC Handbook of Biochemistry and Molecular Biology** (1976). Vol. I: Physical and chemical data. 3ra. edición. Editado por: Fasman, G.D.. CRC Press. Boca Raton, Florida.
- CRC Handbook of Chemistry and Physics** (1990). 71ava edición. Editado por: Lide, D. R. CRC Press. Boca Raton, Florida.
- Danielsson, O.; Atrian, S.; Luque, T.; Hjelmqvist, L.; González-Duarte, R.; Jörnvall, H. (1994). Fundamental molecular differences between alcohol dehydrogenases classes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**: 4980-4984.
- Degtyarenko, K. N.; Archakov, A. I. (1993). Molecular evolution of P450 superfamily and P450-containing monooxygenase systems. *FEBS Lett.* **332**: 1-8.
- Dicker, E.; Cederbaum, A. I. (1990). Generation of reactiveoxygen species and reduction of ferric chelates by microsomes in the presence of a reconstituted system containing ethanol, NAD<sup>+</sup> and alcohol dehydrogenase. *Alcohol.: Clin. Exp. Res.* **14**: 238-244.
- DiPadova, C.; Roine, R.; Frozza, M.; Gentry, R. T.; Baraona, E.; Lieber, C. S. (1992). Effects of ranitidine on blood alcohol levels after ethanol ingestion: Comparison with other H<sub>2</sub>-receptor antagonists. *JAMA* **267**: 83-86.
- Eklund, H.; Nordström, B.; Zeppezauer, E.; Söderlund, G.; Ohlsson, I.; Bojwe, T.; Söderberg, B.-O.; Tapia, A.; Brändén, C.-I.; Åkeson, Å. (1976). Three-dimensional structure of horse liver alcohol dehydrogenase at 2.4 Å resolution. *J. Mol. Biol.* **102**: 27-59.
- Eklund, H.; Samama, J.-P.; Wallén, L.; Brändén, C.-I.; Åkeson, Å.; Jones, T. A. (1981). Structure of a triclinic ternary complex of horse liver alcohol dehydrogenase at 2.9 Å resolution. *J. Mol. Biol.* **146**: 561-587.
- Erickson, C.K. (1979). Factors affecting the distribution and measurements of ethanol in the body. En: Majchrowicz, E.; Noble, E. P. (eds). **Biochemistry and Pharmacology of ethanol**. Plenum Press. New York. pp 9.
- Fan, F.; Plapp, B. V. (1995). Substitutions of isoleucine residues at the adenine binding site activate horse liver alcohol dehydrogenase. *Biochemistry* **34**: 4709-4713.
- 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. *Biochemistry* **34**: 2592-2598.
- Feierman, D.E.; Winston, G.W. y Cederbaum, A.I. (1985). Ethanol oxidation by hydroxyl radicals: role of iron chelates, superoxide, and hydrogen peroxide. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **9**: 95-102.
- Fita, I.; Silva, A.M.; Murthy, M. R. N.; Rossmenn, M. G. (1986). The refined structure of beef liver catalase at 2.5 Å resolution. *Acta Cryst.* **B42**: 497-515.

- Forte-McRobbie, C. M.; Pietruszko, R. (1986). Purification and characterization of human liver "high Km" aldehyde dehydrogenase and its identification as glutamic-semialdehyde dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* **261**: 2154-2163.
- Gonzalez, F. J. (1992). Human cytochromes P450: problems and prospects. *Trends Pharmacol. Sci.* **13**: 346-352.
- Hall, W. W.; Krenitsky, T. A. (1986). Aldehyde oxidase from rabbit liver: Specificity toward purines and their analogs. *Arch. Biochem. Biophys.* **251**: 36-46.
- Hawley's Condensed Chemical Dictionary** (1993). Doceava edición, Revisada por: Lewis, R. J.. Van Nostrand Reinhold. New York.
- Hempel, J.; Harper, K.; Lindahl, R. (1989). Inducible (class III) aldehyde dehydrogenase from rat hepatocellular carcinoma and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-treated liver: Distant relationship to the class 1 and 2 enzymes from mammalian liver cytosol/mitochondria. *Biochemistry* **28**: 1160-1167.
- Henehan, G. T. M.; Oppenheimer, N. J. (1993). Horse liver alcohol dehydrogenase-catalyzed oxidation of aldehydes: Dismutation precedes net production of reduced nicotinamide adenine dinucleotide. *Biochemistry* **32**: 735-738.
- Hernández-Muñoz, R.; Baraona, E.; Blacksberg, I.; Lieber, C.S. (1989). Characterization of the increased binding of acetaldehyde to red blood cells in alcoholics. *Alcohol: Clin. Exp. Res.* **13**: 654-659.
- Höög, J.-O.; Brandt, M. (1995). Mammalian class VI alcohol dehydrogenase: Novel types of the rodent enzymes. *Adv. Exp. Med. Biol.* **372**: 355-364.
- Horowitz, M.; Maddox, A.; Bochner, M.; Wishart, J.; Bratasiuk, R.; Collins, P.; Shearman, D. (1989). Relationships between gastric emptying of solid and caloric liquid meals and alcohol absorption. *Am. J. Physiol.* **257** (Gastrointest. Liver Physiol. 20): G291-G298.
- Hsu, L. C.; Chang, W.-C. (1991). Cloning and characterization of a new functional human aldehyde dehydrogenase gene. *J. Biol. Chem.* **266**: 12257-12265.
- Hsu, L. C.; Yoshida, A. (1993). Human stomach aldehyde dehydrogenase, ALDH<sub>3</sub>. *Adv. Exp. Med. Biol.* **328**: 141-152.
- Hsu, L. C.; Chang, W.-C.; Lin, S. W.; Yoshida, A. (1995). Cloning and characterization of genes encoding four additional human aldehyde dehydrogenase isozymes. *Adv. Exp. Med. Biol.* **372**: 159-168.
- Hurley, T. D.; Bosron, W. F.; Hamilton, J. A.; Amzel, L. M. (1991). Structure of human  $\beta_1\beta_2$  alcohol dehydrogenase: Catalytic effects of non-active-site substitutions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**: 8149-8153.
- Hurley, T. D.; Bosron, W. F.; Stone, C. L.; Amzel, L. M. (1994). Structures of three human beta alcohol dehydrogenase variants: Correlations with the functional differences. *J. Mol. Biol.* **239**: 415-429.
- Ingelman-Sundberg, M.; Johansson, I. (1984). Mechanisms of hydroxyl radical formation and ethanol oxidation by ethanol-inducible and other forms of rabbit liver microsomal cytochromes P-450. *J. Biol. Chem.* **259**: 6447-6458.
- Jelokova, J.; Karlsson, C.; Estonius, M.; Jörnvall, H.; Hoog, J. O. (1994). Features of structural zinc in mammalian alcohol dehydrogenase. Site-directed mutagenesis of the zinc ligands. *Eur. J. Biochem.* **225**: 1015-1019.
- Jörnvall, H.; von Bahr-Lindström, H.; Jany, K.-D.; Ulmer, W.; Fröschle, M. (1984). Extended super family of "short" alcohol-polyol-sugar dehydrogenases: structural similarities between glucose and ribitol dehydrogenases. *FEBS Lett.* **165**: 190-196.

- Jörnvall, H.; Höög, J.-O.; von Bahr-Lindström, H.; Vallee, B. L. (1987). Mammalian alcohol dehydrogenases of separate classes: Intermediates between different enzymes and intraclass isozymes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**: 2580-2584.
- Jörnvall, H.; von Bahr-Lindström, H.; Höög, J.-O. (1989). Alcohol dehydrogenases-structure. En: Crow, K. E.; Batt, R. D. (eds). *Human Metabolism of Alcohol, Vol. II: Regulation, Enzymology, and Metabolites of Ethanol*. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp 43-64
- Kamlay, M. T.; Shore, J. D. (1983). Transient kinetic studies of substrate inhibition in the horse liver alcohol dehydrogenase reaction. *Arch. Biochem. Biophys.* **222**: 59-66.
- Kedishvili, N. Y.; Bosron, W. F.; Stone, C. L.; Hurley, T. D.; Peggs, C. F.; Thomasson, H. R.; Popov, K. M.; Carr, L. G.; Edenberg, H. J.; Li, T. K. (1995). Expression and kinetic characterization of recombinant human stomach alcohol dehydrogenase. Active-site amino acid sequence explains substrate specificity compared with liver isozymes. *J. Biol. Chem.* **270**: 3625-3630.
- Kitson, K. E.; Blythe, T. J.; Kitson, T. M. (1995). Studies of the esterase activity of cytosolic aldehyde dehydrogenase using sterically hindered and cyclic substrates. *Adv. Exp. Med. Biol.* **372**: 45-52.
- Koivusalo, M.; Baumann, M.; Uotila, L. (1989a). Evidence for the identity of glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase and class III alcohol dehydrogenase. *FEBS Lett.* **257**: 105-109.
- Koivusalo, M.; Aarnio, M.; Baumann, M.; Rautoma, P. (1989b). NAD(P)-Linked aromatic aldehydes preferring cytoplasmic aldehyde dehydrogenases in the rat. Constitutive and inducible forms in liver, lung, stomach and intestinal mucosa. *Prog. Clin. Biol. Res.* **290**: 19-33.
- Koop, D. R.; Casazza, J. P. (1985). Identification of ethanol-inducible P-450 isozyme 3a as the acetone and acetol monooxygenase of rabbit microsomes. *J. Biol. Chem.* **260**: 13607-13612.
- Koop, D. R. (1989). Minor pathways of ethanol metabolism. En: Crow, K. E.; Batt, R. D. (eds). *Human Metabolism of Alcohol, Vol. II: Regulation, Enzymology, and Metabolites of Ethanol*. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp 133-145.
- Koop, D. R.; Tierney, D. J. (1990). Multiple mechanisms in the regulation of ethanol-inducible cytochrome P450IIE1. *BioEssays* **12**: 429-435.
- Krebs, H. A.; Perkins, J. R. (1970). The physiological role of liver alcohol dehydrogenase. *Biochem. J.* **118**: 635-644.
- Krenitsky, T. A.; Neil, S. M.; Elion, G. B.; Hitchings, G. H. (1972). A comparison of the specificities of xanthine oxidase and aldehyde oxidase. *Arch. Biochem. Biophys.* **150**: 585-599.
- Lange, L. G.; Bergman, S. R.; Sobel, B. E. (1981). Identification of fatty acid ethyl esters as products of rabbit myocardial ethanol metabolism. *J. Biol. Chem.* **256**: 12968-12973.
- Laposata, E. A.; Lange, L. G. (1986). Presence of nonoxidative ethanol metabolism in human organs commonly damaged by ethanol abuse. *Science* **231**: 497-499.
- Lasker, J. M.; Raucy, J.; Kubota, S.; Boswick, B. P.; Black, M.; Lieber, C. S. (1987). Purification and characterization of human liver cytochrome P-450-ALC. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **148**: 232-238
- Lehninger, A. L. (1975). *Biochemistry: The Molecular Basis of Cell Structure and Function*. Worth Publishers. New York.
- Lieber, C. S.; DeCarli, L. M. (1968). Ethanol oxidation by hepatic microsomes: adaptive increase after ethanol feeding. *Science* **162**: 917-918.
- Lieber, C. S. (1994). Alcohol and the liver: 1994 update. *Gastroenterol.* **106**: 1085-1105.



- Lucas, D.; Ménez, J. F.; Bodénez, 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.
- Lundquist, F. (1983). Acetaldehyde and aldehyde dehydrogenases: Central problems in the study of alcoholism. *Eur. J. Clin. Invest.* **13**: 183-184.
- Mardh, G.; Dingley, A. L.; Auld, D. S.; Vallee, B. L. (1986). Human class II (pi) alcohol dehydrogenase has a redox-specific function in norepinephrine metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**: 8908-8912.
- Marselos, M.; Lindahl, R. (1988). Substrate preference of a cytosolic aldehyde dehydrogenase inducible in rat liver by treatment with 3-methylcholanthrene. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **95**: 339.
- McManus, I. R.; Contag, A. O.; Olson, R. E. (1960). Characterization of endogenous ethanol in the mammal. *Science* **131**: 102-103.
- Merck index: an Encyclopedia of Chemical, Drugs, and Biologicals** (1989). Onceava edición, editada por: Budavari, S. Merck & Co., Rahway, New Jersey.
- Mira, L.; Maia, L.; Barreira, 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.
- Mitchell, D. Y.; Petersen, D. R. (1989). Oxidation of aldehydic products of lipid peroxidation by rat liver microsomal aldehyde dehydrogenase. *Arch. Biochem. Biophys.* **269**: 11-17.
- Mogelson, S.; Lange, L. G. (1984). Nonoxidative ethanol metabolism in rabbit myocardium: Purification to homogeneity of fatty acyl ethyl ester synthase. *Biochemistry* **23**: 4075-4081.
- Morgan, E. T.; Koop, D. R.; Coon, M. J. (1982). Catalytic activity of cytochrome P-450 isozyme 3a isolated from liver microsomes of ethanol-treated rabbits. *J. Biol. Chem.* **257**: 13951-13957.
- Morgan, E. T.; Koop, D. R.; Coon, M. J. (1983). Comparison of six rabbit liver cytochrome P-450 isozymes in formation of a reactive metabolite of acetaminophen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **112**: 8-13.
- Nebert, D. W.; Nelson, D. R.; Adesnik, M.; Coon, M. J.; Estabrook, R. W.; Gonzalez, F. J.; Guengerich, F. P.; Gunsalus, I. C.; Johnson, E. F.; Kemper, B.; Levin, W.; Phillips, I. R.; Sato, R.; Waterman, M. R. (1989). The P450 superfamily: Updated listing of all genes and recommended nomenclature for the chromosomal loci. *DNA* **8**: 1-13.
- Nebert, D. W.; Nelson, D. R.; Coon, M. J.; Estabrook, R. W.; Feyereisen, R.; Fujii-Kuriyama, Y.; Gonzalez, F. J.; Guengerich, F. P.; Gunsalus, 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.; Gonzalez, F. J.; Coon, M. J.; Gunsalus, I. C.; Gotoh, O.; Okuda, K.; Nebert, D. W. (1993). The P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. *DNA Cell Biol.* **12**: 1-51.
- Oppenheimer, N. J.; Henahan, G. T. M. (1995). Horse liver alcohol dehydrogenase-catalyzed aldehyde oxidation. *Adv. Exp. Med. Biol.* **372**: 407-415.
- Orme-Johnson, W. H.; Ziegler, D. M. (1965). Alcohol mixed function oxidase activity of mammalian liver microsomes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **21**: 78-82.
- Parés, X.; Cederlund, E.; Moreno, A.; Hjelmqvist, L.; Farrés, J.; Jörnvall, H. (1994). Mammalian class IV alcohol dehydrogenase (stomach alcohol

- dehydrogenase): Structure, origin, and correlation with enzymology. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **91**: 1893-1897.
- Passmore, R. (1979). The energy value of alcohol. En: Gastineau, C. F.; Darby, W. J.; Turner, T. B. (eds). *Fermented Food Beverages in Nutrition*. Academic Press. New York. pp 213.
- Pietruszko, R. (1979). Nonethanol substrates of alcohol dehydrogenase. En: Majchrowicz, E.; Noble, E. P. (eds). *Biochemistry and Pharmacology of Ethanol, Vol. 1*. Plenum Press. New York. pp 87-106.
- Pietruszko, R.; Abriola, D. P.; Blatter, E. E.; Mukerjee, N. (1993). Aldehyde dehydrogenase: aldehyde dehydrogenation and ester hydrolysis. *Adv. Exp. Med. Biol.* **328**: 221-231.
- Rajagopalan, K. V.; Fridovich, I.; Handler, P. (1962). Hepatic aldehyde oxidase: I. Purification and properties. *J. Biol. Chem.* **237**: 922-928.
- Rajagopalan, K. V.; Handler, P. (1964). Hepatic aldehyde oxidase: III. The substrate binding site. *J. Biol. Chem.* **239**: 2027-2035.
- Ramaswamy, S.; Eklund, H.; Plapp, B. V. (1994a). Structures of horse liver alcohol dehydrogenase complexed with NAD<sup>+</sup> and substituted benzyl alcohols. *Biochemistry* **33**: 5230-5237.
- Ramaswamy, S.; El-Ahmad, M.; Danielsson, O.; Jörnvall, H.; Eklund, H. (1994b). Crystallisation and crystallographic investigations of cod alcohol dehydrogenase class I and class III enzymes. *FEBS Lett.* **350**: 122-124.
- Roine, R.; Gentry, R. T.; Hernández-Muñoz, R.; Baraona, E.; Lieber, C. S. (1990). Aspirin increases blood alcohol concentrations in humans after ingestion of ethanol. *JAMA* **264**: 2406-2408.
- Roine, R. P.; Gentry, T.; Lim Jr, R. T.; Baraona, E.; Lieber, C. S. (1991). Effect of concentration of ingested ethanol on blood alcohol levels. *Alcohol: Clin. Exp. Res.* **15**: 734-738.
- Rubin, E.; Hutterer, F.; Lieber, C. S. (1968). Ethanol increases hepatic smooth endoplasmic reticulum and drug metabolizing enzymes. *Science* **159**: 1469-1470.
- Schonbaum, G. R.; Chance, B. (1976). Catalase. En: Boyer, P. D. (ed.). *The enzymes. Vol. XIII: Oxidation-reduction, part C: Dehydrogenases (II), Oxidases (II), Hydrogen peroxide cleavage*. Tercera edición. Academic Press. New York. pp 363-408.
- Scopes, R. K. (1983). An iron-activated alcohol dehydrogenase. *FEBS Lett.* **156**: 303-.
- Segel, I. H. (1975). *Biochemical calculations: How to solve mathematical problems in general biochemistry*. 2da edición. Wiley. New York.
- Shaw, S.; Jayatilake, E. (1990). The role of aldehyde oxidase in ethanol-induced hepatic lipid peroxidation in the rat. *Biochem. J.* **268**: 579-583.
- Shearer, G. L.; Kim, K.; Lee, K. M.; Wang, C. K.; Plapp, B. V. (1993). Alternative pathways and reactions of benzyl alcohol and benzaldehyde with horse liver alcohol dehydrogenase. *Biochemistry* **32**: 11186-11194.
- Smith, T.; DeMaster, E. G.; Furne, J. K.; Springfield, J.; Levitt, M. D. (1992). First-pass gastric mucosal metabolism of ethanol is negligible in the rat. *J. Clin. Inv.* **89**: 1801-1806.
- Sorrell, M. F.; Tuma, D. J. (1985). Hypothesis: alcohol liver injury and the covalent binding of acetaldehyde. *Alcohol: Clin. Exp. Res.* **9**: 306-309.
- Sumner, J. B.; Dounce, A. L. (1937). Crystalline catalase. *J. Biol. Chem.* **121**: 417-424.
- Sun, H.-W.; Plapp, B. V. (1992). Progressive sequence alignment and molecular evolution of the Zn-containing alcohol

- dehydrogenase family. *J. Mol. Evol.* **34**: 522-535.
- Sun, J.; Hempel, J.; Lindahl, R.; Perozich, J.; Rose, J.; Wang, B.-C. (1995). Progress toward the tertiary structure of (class III) aldehyde dehydrogenase. *Adv. Exp. Med. Biol.* **372**: 71-77.
- Takimoto, K.; Lindahl, R.; Dunn, T. J.; Pitot, H. C. (1994). Structure of the 5' flanking region of class 3 aldehyde dehydrogenase in the rat. *Arch. Biochem. Biophys.* **312**: 539-546.
- Vasilioiu, V.; Reuter, S. F.; Kozak, C. A.; Nebert, D. W. (1993). Mouse dioxin-inducible cytosolic aldehyde dehydrogenase-3: AHD4 cDNA sequence, genetic mapping, and differences in mRNA levels. *Pharmacogenetics* **3**: 281-290.
- von Ossowski, I.; Hausner, G.; Loewen, P. C. (1993). Molecular evolutionary analysis based on the amino acid sequence. *J. Molec. Evol.* **37**: 71-76.
- Waller, G.; Theorell, H.; Sjövell, J. (1965). *Arch. Biochem. Biophys.* **111**: 671-684.
- Wang, X.; Weiner, H. (1995). Involvement of glutamate 268 in the active site of human liver mitochondrial (class 2) aldehyde dehydrogenase as probed by site-directed mutagenesis. *Biochemistry* **34**: 237-243.
- Watson, P. E. (1989). Total body water and blood alcohol levels: updating the fundamentals. En: Crow, K. E.; Batt, R. D. (eds). *Human metabolism of alcohol, Vol. I: Pharmacokinetics, medico legal aspects, and general interest*. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp 41-56.
- Worral, S.; De Jersey, J.; Shanley, B. C.; Wilco, P. A. (1990). Antibodies against acetaldehyde-modified epitopes: Presence in alcoholic, non-alcoholic liver disease and control subjects. *Alcohol Alcohol.* **25**: 509-517.
- Yang, C. S.; Tu, Y. Y.; Koop, D. R.; Coon, M. J. (1985). Metabolism of nitrosamines by purified rabbit liver cytochrome P-450 isozymes. *Cancer Res.* **45**: 1140-1145.
- Yin, S.-J.; Vagelopoulos, N.; Wang, S.-L.; Jörnvall, H. (1991). Structural features of stomach aldehyde dehydrogenase distinguish dimeric aldehyde dehydrogenase as a "variable" enzyme: "Variable" and "constant" enzymes within the alcohol and aldehyde dehydrogenase families. *FEBS Lett.* **283**: 85-88.
- Yoshida, A.; Hsu, L. C.; Dave, V. (1992). Rotinal oxidation activity and biological role of human cytosolic aldehyde dehydrogenase. *Enzyme* **46**: 239-244.
- Zentella de Piña, M.; Piña Garza, E. (1987). Metabolitos del etanol. *Mensaje Bioquímico* **10**: 143-175.
- Zheng, Y.-W.; Bey, M.; Liu, H.; Felder, M. R. (1993). Molecular basis of the alcohol dehydrogenase-negative deer mouse: Evidence for deletion of the gene for class I enzyme and identification of a possible new enzyme class. *J. Biol. Chem.* **268**: 24933-24939.

# Antecedentes

En nuestro país, el alcoholismo y sus consecuencias son uno de los principales problemas de salud pública, de hecho se estima que más de la mitad de la población general entre los 15 y 65 años de edad, consume alcohol de manera regular (Consejo Nacional Antialcohólico, 1985; Tapia-Conyer *et al.*, 1990; Sistema Nacional de Encuestas de Salud, 1990), por lo que no debe extrañar que en México, la cirrosis alcohólica se encuentra entre las 10 primeras causas de muerte en la población en general, y en la población masculina de 15 a 65 años de edad, ocupa el primer lugar (Narro-Robles *et al.*, 1992). En 1980 la mortalidad debida solo a cirrosis hepática fue de 22.9 por 100 mil habitantes para la población total, y constituye una de las más altas de América (Velazco-Fernández, 1986; Narro-Robles *et al.*, 1992). Además, los resultados preliminares obtenidos en este trabajo<sup>1</sup>, señalan que la mortalidad total asociada al abuso de bebidas alcohólicas podría ser del orden del 11 % de todas las causas de muerte en México para la población en general<sup>2</sup>.

El etanol al ser ingerido se absorbe totalmente sin alteraciones a través del estómago y el intestino delgado por difusión simple, y su presencia puede ser detectada en sangre dentro de los cinco minutos posteriores a su ingestión, difundiendo rápidamente al resto del organismo (Zentella y Piña, 1987). El etanol es metabolizado fundamentalmente por el hígado, aunque otros órganos también tienen una cierta capacidad para eliminarlo, como por ejemplo: estómago, riñón y músculo esquelético (Boleda *et al.*, 1989).

El etanol una vez dentro del cuerpo, produce una gran diversidad de alteraciones en los diferentes órganos, aparatos y sistemas que lo conforman, las cuales han sido ampliamente documentadas (para una revisión ver: Lieber, 1984, 1991, 1994; Bloor, *et al.*, 1994; Goldin, 1994). Sin embargo, solo hasta fechas relativamente recientes, se ha comenzado a tener algunas ideas sobre los mecanismos a través de los cuales el etanol ejerce sus efectos tóxicos.

## ***Mecanismos de toxicidad del etanol.***

Históricamente, el primer mecanismo de acción propuesto para explicar los efectos tóxicos producidos por el etanol, fue el de la desnutrición primaria inducida por éste, a través de la sustitución de otros nutrientes por el etanol (Lieber, 1984). De esta manera, todos los demás efectos tóxicos del etanol sobre el metabolismo, fueron explicados como efectos secundarios de la desnutrición observada casi invariablemente en los individuos alcohólicos.

Este punto de vista comenzó a cambiar a finales de la década de los cincuenta, quedando demostrado años más tarde, que el etanol *per se*, es capaz de producir severas alteraciones en el hígado del hombre, aún cuando este reciba una dieta balanceada (Lieber *et al.*, 1963, 1965), o

---

<sup>1</sup> Ver capítulo de "Alcoholismo" en este trabajo.

<sup>2</sup> Cifra tal vez solo por debajo de la mortalidad total asociada al tabaquismo, y del mismo orden de magnitud que la asociada a enfermedades gastrointestinales..

incluso enriquecida con proteínas, vitaminas y minerales. (Lieber y Rubin, 1968). A partir de este momento, las investigaciones tendientes a evaluar las alteraciones observadas en individuos alcohólicos, se enfocaron principalmente sobre los efectos tóxicos provocados directamente por el etanol y los productos que resultan de su metabolismo (principalmente acetaldehído), así como también las diferentes vías por las que puede ser metabolizado.

Actualmente, se identifica al acetaldehído (principal producto derivado del metabolismo del etanol), como uno de los efectores primarios que desencadena gran parte de los efectos tóxicos del etanol sobre el metabolismo (Donohue, *et al.*, 1983; Mauch *et al.*, 1984; Medina *et al.*, 1985; Sorrell *et al.*, 1985; Shaw *et al.*, 1990; Niemela *et al.*, 1994, 1995). Esta molécula altamente reactiva, es capaz de inactivar a los grupos sulfhidrilo de enzimas, además de producir aductos en las diferentes proteínas y fosfolípidos de la membrana, alterando su estructura y por ende, su función.

Sin embargo, a pesar de conocer con bastante detalle los efectos tóxicos del acetaldehído, no se tiene la certeza de que este metabolito por sí mismo, sea el principal responsable de los efectos tóxicos del etanol en hígado, ya que las concentraciones de éste dentro de la célula nunca exceden el orden micromolar (concentración generalmente 1,000 veces por abajo de la que alcanza el etanol) y, además, el acetaldehído es rápidamente metabolizado por el sistema de las aldehído deshidrogenasas, lo que impide su acumulación en tejido hepático, principal sitio de oxidación del etanol (Boleda *et al.*, 1989). Los individuos que tienen una actividad deficiente en esta enzima, desarrollan una severa intolerancia y rechazo al etanol, puesto que los efectos tóxicos agudos del acetaldehído se manifiestan con todo su esplendor.

Otro mecanismo alternativo a la toxicidad ejercida directamente por el acetaldehído, y que explica los efectos tóxicos inducidos por la ingestión y metabolismo del etanol, se basa en el desarrollo de procesos de lipoperoxidación (Torrielli *et al.*, 1978; Videla y Valenzuela, 1982; Kawase *et al.*, 1989; Zloch, 1994; Araki *et al.*, 1994; Sozmen *et al.*, 1994), que son inducidos por la generación de radicales libres durante el metabolismo del etanol y el acetaldehído (Cederbaum y Cohen, 1984; Reinke *et al.*, 1987, 1990, 1991; Cederbaum, 1991; Bondy, 1992; Bondy y Pearson, 1993; Mufti *et al.*, 1993; Kukielka y Cederbaum, 1992; Kukielka *et al.*, 1994). De esta forma, se considera que el mecanismo de acción a través del cual el etanol induce sus efectos tóxicos, es mediante la generación de radicales libres. Esto último está en concordancia con la disminución en los niveles de metabolitos antioxidantes como el glutatión reducido y  $\alpha$ -tocoferol, que se observa en animales tratados crónicamente con etanol (Videla y Valenzuela, 1982; Bjørneboe *et al.*, 1987; Kawase *et al.*, 1989; Shaw *et al.*, 1990; Fernández-Chaca *et al.*, 1991; Bell *et al.*, 1992; Bondy y Pearson, 1993; Koch y Cravero de Koch, 1994; Zentella de Piña *et al.*, 1994), o con los reportes en donde la administración de antioxidantes limitan la toxicidad del etanol (Kawase *et al.*, 1989; Girre *et al.*, 1990; Wenzel *et al.*, 1993; Wisniewska-Knypl y Wronska-Nofer, 1994).

Sin embargo, no es claro a la fecha el origen de los radicales libres producidos durante el metabolismo del etanol. Se ha sugerido que estos pueden ser producidos directamente a partir del acetaldehído (Mazzanti *et al.*, 1989; Canuto *et al.*, 1994; Fujita *et al.*, 1994), o bien como una consecuencia derivada de la hipoxia inducida en las zonas centrilobulares del hígado (Thurman *et al.*, 1984; Adachi *et al.*, 1994); de hecho, la generación de radicales libres durante los procesos de anoxia y reoxigenación está ampliamente documentada. También se ha sugerido la participación

de las células de Kupffer, a través de la inducción de un proceso inflamatorio en hígado mediado por la cascada del ácido araquidónico (Earnest *et al.*, 1993; Basista *et al.*, 1993; Adachi *et al.*, 1994; Nebert, 1994; Fukui *et al.*, 1993), en donde también está ampliamente documentada la participación de radicales libres<sup>3</sup>. Inclusive se ha sugerido que los cambios en el estado redox de la célula (modificado durante el metabolismo del etanol) pueden también favorecer la reducción directa del oxígeno en microsomas, con la consecuente producción de radicales libres derivados del oxígeno (Cohen y Cederbaum, 1980; Kukielka y Cederbaum, 1992; Bondy y Naderi, 1994).

Es por este motivo, que una de las posibles estrategias para atenuar y controlar los efectos tóxicos inducidos por la ingestión del etanol, consiste en la administración simultánea de agentes antiinflamatorios, con la idea de reducir al mínimo los problemas derivados por el desarrollo de procesos inflamatorios en hígado, que están antecedidos por un aumento en la producción de prostaglandinas. De esta manera, se ha demostrado que la administración de algunos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), es capaz de revertir en animales algunos de los efectos deletéreos ocasionados por la intoxicación con etanol, tales como: una disminución en el tiempo de hipnosis inducida por alcohol (George y Collins, 1979; George *et al.*, 1983; Greizerstein, 1984; Vázquez-Osornio *et al.*, 1993), una reducción en la mortandad y número de malformaciones prenatales en ratones (Randall y Anton, 1984; Randall *et al.*, 1987), un antagonismo a la hiperactividad (Ritz *et al.*, 1981) e hipotermia (George *et al.*, 1981; Morato *et al.*, 1986) inducida por etanol, una disminución en la acumulación de triglicéridos hepáticos (Zentella de Piña *et al.*, 1992, 1993), una disminución del efecto hipoglucemiante provocado por el etanol (Morato *et al.*, 1986), una reversión en la disminución de los niveles de glutatión reducido inducido por la intoxicación con etanol<sup>4</sup> (Zentella de Piña *et al.*, 1994), además de una menor producción de malondialdehído, un indicador de daño por lipoperoxidación (Zentella de Piña *et al.*, 1992, 1993). De hecho, en este último punto, es importante señalar además que varios antiinflamatorios están identificados como atrapadores de radicales libres (Sagone y Husney, 1987; Aruoma y Halliwell, 1988; Saldanha *et al.*, 1990; Twomey y Dale, 1992; Augustin *et al.*, 1992; Maffei Facino *et al.*, 1993), y por lo mismo, reducen la formación de productos de la lipoperoxidación inducida por agentes químicos, o inclusive aún, la lipoperoxidación en condiciones basales (Shimizu *et al.*, 1981; Weglarz *et al.*, 1990; Bilodeau *et al.*, 1995)<sup>5</sup>.

---

<sup>3</sup> En tejido nervioso, la estimulación en la producción de prostaglandinas por el etanol también ha sido estudiada en detalle (Collier *et al.*, 1975; Rotrosen *et al.*, 1980; George y Collins, 1985; George *et al.*, 1986; Anton y Randall, 1987), lo que sugiere que éste es un mecanismo general de toxicidad independiente del sitio en donde se metaboliza el etanol.

<sup>4</sup> Es importante señalar que el glutatión reducido constituye uno de los principales sistemas celulares encargado del atrapamiento de peróxidos y radicales libres, antes de que éstos puedan producir daños por lipoperoxidación.

<sup>5</sup> Si bien los AINEs están identificados como inhibidores de la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa (Vane, 1971; Seigel *et al.*, 1979), enzimas responsables de la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos (que actúan como mediadores en los procesos de

Esto concuerda con los estudios en donde se ha demostrado la capacidad de los AINEs como agentes quimiopreventivos en el desarrollo de procesos de tumorigénicos inducidos por agentes químicos (Rao y Hussain, 1988; Moorghen *et al.*, 1988; Reddy *et al.*, 1987; Tanaka *et al.*, 1989; Pepin *et al.*, 1992; Jalbert y Castonguay, 1992).

Todos estos resultados en principio, refuerzan la idea de que el etanol induce el desarrollo de procesos inflamatorios en hígado y otros tejidos, los cuales eventualmente desencadenan la generación de radicales libres, proceso que es atenuado, al menos parcialmente por la administración simultánea de antiinflamatorios.

Por otra parte, es importante señalar también, que los AINEs producen alteraciones sobre los niveles séricos de etanol: así por ejemplo, la administración del AINE piroxicam, produce un importante decremento en los niveles séricos de etanol en comparación con los animales control (Zentella de Piña *et al.*, 1992; Vázquez-Osornio *et al.*, 1993), mientras que en contraste, la administración del AINE dipirona en condiciones similares, produce un ligero incremento en los niveles séricos de etanol (Zentella de Piña *et al.*, 1993). Estos resultados sugieren que el piroxicam, y no así la dipirona, estimula la oxidación del etanol<sup>6</sup>, lo cual a su vez señala importantes diferencias en el mecanismo de acción de estos dos fármacos sobre el metabolismo del etanol, a pesar de que ambos AINEs comparten algunos efectos comunes como por ejemplo, una disminución en la acumulación de triglicéridos hepáticos inducida por etanol, y una menor lipoperoxidación medida como producción de malondialdehído (Zentella de Piña *et al.*, 1992, 1993).

### **Objetivos.**

Tomando esto último como punto de partida, se realizaron experimentos tendentes a elucidar el mecanismo a través del cual el piroxicam y la dipirona modifican los niveles séricos de etanol, con la idea de obtener información que permita posteriormente plantear nuevos experimentos para comprender los mecanismos de toxicidad del etanol, y el efecto protector de los AINEs.

---

inflamación), no en todos los AINEs, su capacidad como antagonistas de los procesos inflamatorios, está correlacionada con su capacidad para inhibir a estas enzimas (Hess, 1984; Brooks y Day, 1991; McCormack y Brune, 1991; Cronstein y Weissmann, 1995), por lo que presumiblemente, deben existir además, efectos sobre otros mecanismos inductores de inflamación, como por ejemplo: una reducción en la capacidad de respuesta de los neutrófilos a estímulos, que se refleja en una menor producción de ión superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ) por parte de los neutrófilos, que son las células más abundantes en una inflamación aguda y constituyen la primera línea de defensa contra agentes patógenos (Edelson *et al.*, 1982; Abramson *et al.*, 1984, 1985, 1989; Capsoni *et al.*, 1987; Weglarz *et al.*, 1990; Weissmann, 1991), o bien, a través de una inhibición en la activación del factor nuclear de transcripción NF- $\kappa$ B, que regula la síntesis de citosinas y otros mediadores de los procesos de inflamación (Kopp y Ghosh, 1994).

<sup>6</sup> Esta última interpretación se apoya también en el hecho de que el piroxicam no modifica la cantidad de alcohol eliminado por orina (Zentella de Piña *et al.*, 1992).

Para ello se analizó *in vitro*, el efecto de estos dos fármacos sobre algunas funciones mitocondriales relacionadas con el consumo y recambio de equivalentes reductores, ya que se considera que la velocidad de oxidación del etanol, está limitada principalmente por la capacidad de la célula para oxidar los equivalentes reductores formados durante el metabolismo del etanol (Rawat y Kuriyama, 1972; Israel *et al.*, 1975; Isselbacher Y Carter, 1976; Cederbaum *et al.*, 1977; Cronholm, 1985; Hernández-Muñoz *et al.*, 1987; Cronholm *et al.*, 1988; Sugano *et al.*, 1990), y es precisamente la mitocondria, el principal sitio en donde se consumen estos equivalentes reductores.

Adicionalmente, con la finalidad de obtener información complementaria sobre el mecanismo de acción de estos dos A/NEs, las curvas de farmacocinética de etanol en sangre de ratas intoxicadas en forma aguda con etanol, tanto en presencia como en ausencia de piroxicam y dipirona (Zentella de Piña *et al.*, 1992, 1993), se ajustaron a un modelo matemático de dos compartimentos, en el cual se tomó en consideración:

- i) el metabolismo de primer paso del etanol en el estómago e hígado.
- ii) la velocidad de absorción del etanol desde el primer compartimento (tracto digestivo) hasta la sangre y resto del cuerpo (segundo compartimento), y que esta determinada por la velocidad de vaciamiento gástrico.
- iii) el metabolismo hepático del etanol.

Así, los resultados obtenidos con el modelo matemático permitirán corroborar y ampliar los resultados obtenidos en mitocondrias y, de esta manera, poder elaborar un esquema más amplio sobre el mecanismo de acción de estos dos fármacos sobre el metabolismo del etanol.



## Material y métodos

Se utilizaron ratas macho Wistar de 180-220 g de peso corporal, las cuales se sacrificaron por decapitación. Los hígados fueron rápidamente removidos, picados y lavados con manitol 0.3 M, TES<sup>7</sup> 5 mM, EGTA<sup>8</sup> 0.5 mM y albúmina desgrasada 0.1% pH 7.35 (medio de aislamiento) a 0-4 °C. Las mitocondrias se aislaron por centrifugación diferencial por el método de Schneider y Hogeboom (1959), con las modificaciones propuestas por Siess (1983), tal y como se describe en Zentella de Piña *et al.*, (1989); en breve, el hígado picado fue disgregado con un homogeneizador de vidrio - teflón, utilizando 10 ml de medio de aislamiento frío por cada gramo de tejido. El homogenado se centrifugó a 625 x g durante 10 min; posteriormente el sobrenadante se centrifugó a 9250 x g durante 10 min, desechándose el sobrenadante y la capa floja sobre el paquete mitocondrial. Las mitocondrias se resuspendieron con medio de aislamiento y se centrifugaron nuevamente a 9250 x g por 10 min. Finalmente las mitocondrias se resuspendieron en medio de aislamiento para obtener una suspensión de aproximadamente 50 mg proteína/ml.

La determinación de proteína se efectuó con modificaciones mínimas de acuerdo a un método de biuret descrito previamente por Cleland y Slater (1953), utilizando albúmina de suero bovino como estándar y KCN para corregir por turbidez (Keyser y Vaughn, 1949).

El consumo de oxígeno mitocondrial se determinó polarográficamente con un electrodo de oxígeno tipo Clark (Yellow Springs Instruments Co.), utilizando succinato 6.6 mM ó malato 3.3 mM más glutamato 3.3 mM como sustratos, en un medio que contiene manitol 260 mM, TES 4.3 mM, EGTA 0.43 mM, albúmina desgrasada 0.087%, fosfato-Tris 3.3 mM, MgCl<sub>2</sub> 2.6 mM y KCl 3.3 mM. El control respiratorio y la relación ADP/O se calculó de acuerdo a Estabrook (1967).

El potencial de membrana mitocondrial se determinó de acuerdo con el método descrito por Åkerman y Wikström (1976), utilizando safranina como indicador, en un medio de incubación similar al empleado para determinar el consumo de oxígeno mitocondrial.

La actividad de alcohol deshidrogenasa hepática se determinó espectrofotométricamente en un sobrenadante de 100,000 x g de homogenados de hígado de rata frescos, tal y como se describe en Keegan y Batey (1993), en un medio de incubación que contiene 50 mM de Tris-HCl (pH 7.4), 2.5 mM de NAD<sup>+</sup> y 10 mM de etanol. La producción de NADH y el cambio de absorbancia a 340 nm se registró continuamente durante al menos 3 minutos. La actividad de alcohol deshidrogenasa se calculó como la velocidad inicial de reducción de NAD<sup>+</sup> u oxidación de etanol (considerando un coeficiente de extinción molar para el NADH de 6.22 x 10<sup>3</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>).

---

<sup>7</sup> [ácido N-tris-(hidroximetil)- 2-amino etano sulfónico].

<sup>8</sup> [ácido etilen-bis(oxietilen-nitrilo) -tetraacético].

La cuantificación de calcio libre en la matriz mitocondrial se hizo de acuerdo con Saavedra-Molina *et al.* (1990) utilizando Fluo-3 como indicador fluorescente de calcio, en un medio que contiene KCl 120 mM y MOPS<sup>9</sup> 20 mM (pH 7.4).

La incubación de las mitocondrias para ensayar la biosíntesis de citrulina se realizó de acuerdo a las condiciones descritas por Corvera y García-Sainz (1982), y la determinación de citrulina de acuerdo al método de Boyde y Rahmatulla (1980), tal y como se describe en Riveros-Rosas (1988) y Zentella de Piña *et al.* (1989).

Por último, en los experimentos donde se analizó el efecto de la administración *in vivo* del piroxicam sobre las mitocondrias de hígado de rata, se utilizó un diseño experimental similar al utilizado por Zentella de Piña *et al.* (1992), en donde se estudió el efecto del piroxicam sobre el metabolismo del etanol. Para ello se formaron cuatro grupos de animales, los cuales fueron ayunados 24 h antes de ser tratados: el primer grupo correspondió al control y recibió una cantidad isocalórica de sacarosa (como una solución al 40% p/v) con respecto a la dosis de etanol administrada a los grupos experimentales, además de una cantidad equivalente de la solución vehículo del piroxicam por vía intraperitoneal; el segundo grupo recibió una dosis de etanol de 5 g/kg (como una solución al 63% v/v) y una cantidad equivalente de la solución vehículo de piroxicam; el tercer grupo recibió una cantidad isocalórica de sacarosa y 10 mg/kg de piroxicam (como una solución que contiene 7.5 mg/ml en una mezcla glicerol-agua 1:4), y por último el cuarto grupo recibió 5 g/kg de etanol y 10 mg/kg de piroxicam. Al cabo de 12 h de tratamiento, los animales fueron sacrificados por decapitación, obteniéndose las mitocondrias de hígado por el procedimiento antes descrito.

---

<sup>9</sup> [ácido 4-morfolinpropano sulfónico].

# Resultados y discusión: parte I

## (Bioenergética)

### Recambio de equivalentes reductores.

Como se mencionó anteriormente, se considera que la velocidad de oxidación del etanol, está limitada principalmente por la capacidad de las mitocondrias para translocar los equivalentes reductores formados durante el metabolismo del etanol desde el citoplasma hasta la matriz mitocondrial (Rawat y Kuriyama, 1972; Isselbacher y Carter, 1976; Cederbaum *et al.*, 1977; Cronholm, 1985; Hernández-Muñoz *et al.*, 1987; Cronholm *et al.*, 1988; Sugano *et al.*, 1990).

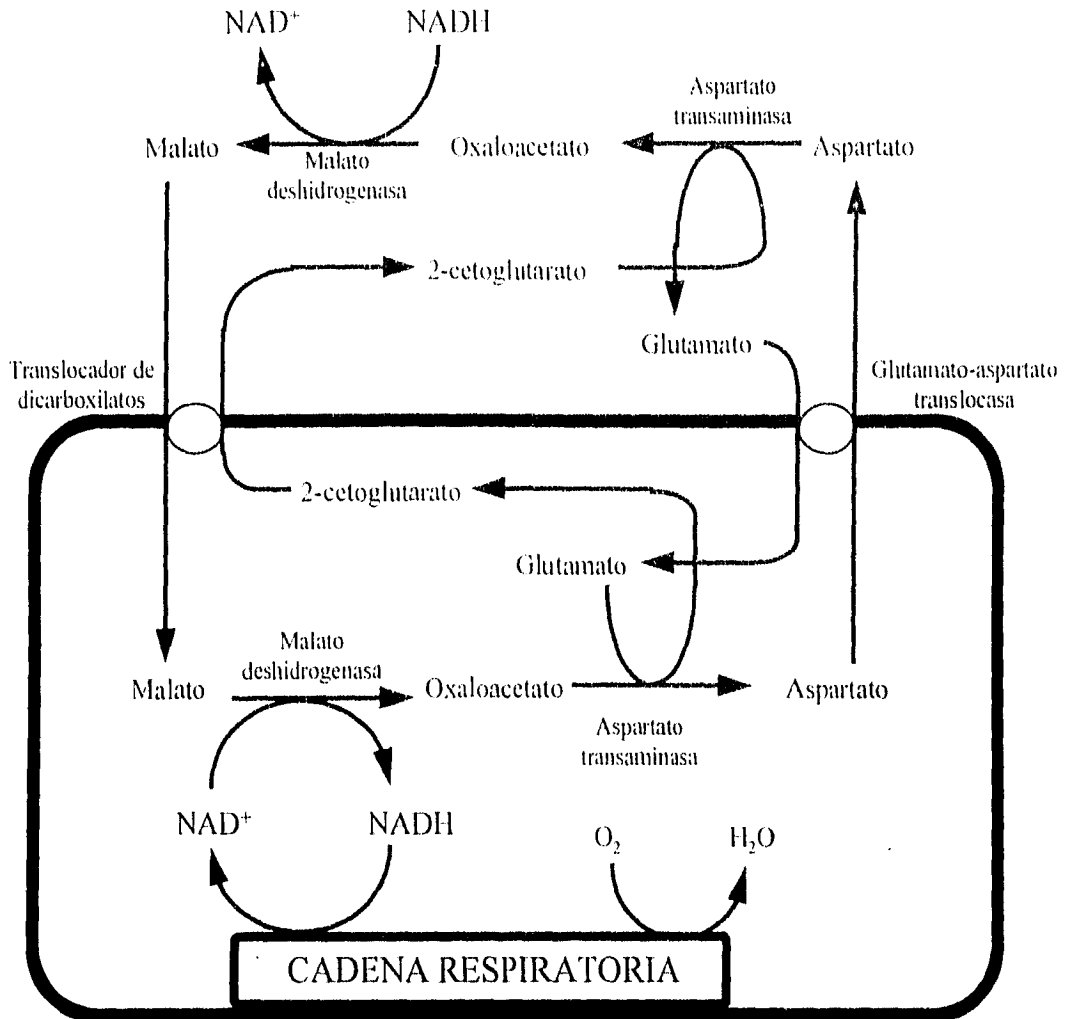
A su vez, la capacidad de las mitocondrias para translocar el exceso de *NADH* generado por el sistema de las alcohol deshidrogenasas en citosol, depende de la actividad de las lanzaderas de equivalentes reductores, de las cuales la más importante es la lanzadera de aspartato-malato, la cual se ilustra esquemáticamente en la Figura 1. En ella participan la malato deshidrogenasa y la aspartato transaminasa, localizadas tanto en el citosol como en la matriz mitocondrial, además del translocador de dicarboxilatos y la translocasa de glutamato-aspartato que están ubicados en la membrana interna mitocondrial.

De esta manera, una de las estrategias más empleadas para determinar la actividad de esta lanzadera, consiste en su reconstitución *in vitro* a partir de mitocondrias aisladas y la adición exógena de las enzimas citosólicas malato deshidrogenasa y aspartato transaminasa, junto con los sustratos (*NADH*, malato, aspartato y glutamato) necesarios para poner en funcionamiento la lanzadera (e. g. Rawat y Kuriyama, 1972; Cederbaum *et al.*, 1973a, 1973b; Isselbacher y Carter, 1976; Dawson, 1982; Hernández-Muñoz *et al.*, 1987, 1992; Kunz y Davis, 1991; Dietzen y Davies, 1993). Así, el decremento en la concentración de *NADH* como función del tiempo, es registrado espectrofotométricamente y refleja directamente la actividad de la lanzadera. Sin embargo, cuando se estudia el efecto de algún fármaco sobre la actividad de la lanzadera en un sistema reconstituido, no se puede descartar la posibilidad de que los efectos observados se deban solo a alteraciones en las enzimas añadidas exógenamente, sin necesidad de alterar el resto del sistema de la lanzadera. En estas condiciones, resulta necesario el desarrollar controles adicionales para descartar posibles artefactos (e.g. Hernández-Muñoz *et al.*, 1987), ya que en los ensayos de reconstitución, generalmente se añaden enzimas obtenidas comercialmente<sup>10</sup>, y que son extraídas de especies distintas a las utilizadas en los experimentos.

Por otra parte, si se toma en consideración que la poza mitocondrial de nicotin-adenin dinucleótidos es limitada, es claro que la velocidad con que son translocados los equivalentes reductores a mitocondria desde el citosol, muy rápidamente se equilibra con la velocidad con que estos equivalentes son consumidos dentro de la mitocondria por la cadena respiratoria, por lo que en un ensayo de actividad de la lanzadera de aspartato-malato *in vitro*, la velocidad con que se consume el *NADH* fuera de la mitocondria es igual a la velocidad con la que se consume este

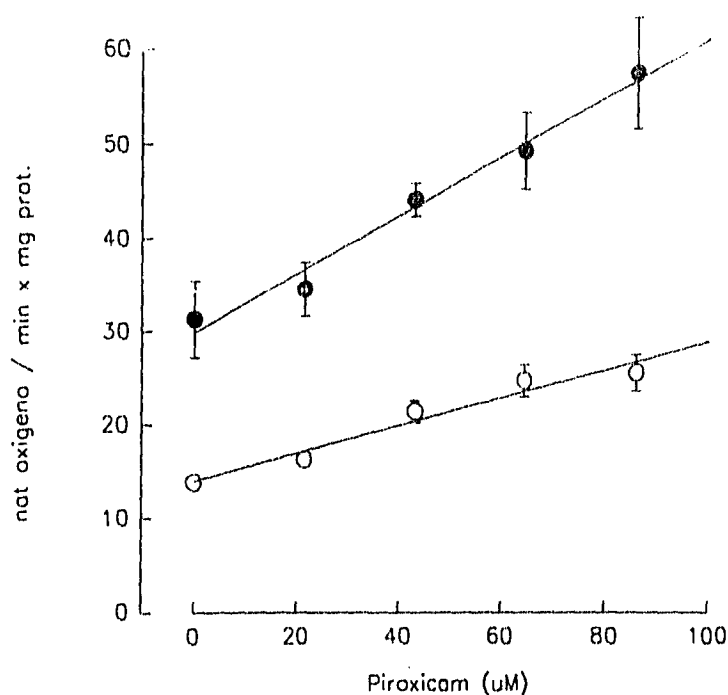
---

<sup>10</sup> Existen excepciones, como por ejemplo: Dawson, 1982.



**Figura 1.** Diagrama de la lanzadera de aspartato-malato, incluyendo la actividad acoplada de la cadena respiratoria.

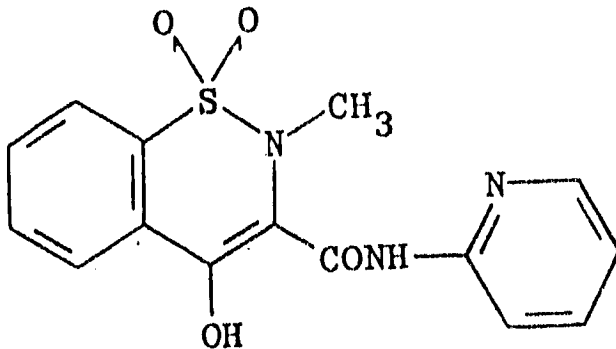
mismo metabolito dentro de la cadena respiratoria en mitocondria, por lo que en estas condiciones, la determinación del consumo de oxígeno por la cadena respiratoria debe reflejar también fielmente la actividad de la lanzadera (es importante señalar que esto último no se puede extrapolar a condiciones *in vivo*, ya que el *NADH* y el resto de los metabolitos citosólicos de la lanzadera se comparten con otras vías metabólicas).



**Figura 2.** Efecto del piroxicam sobre el consumo de oxígeno mitocondrial en condiciones de reposo (edo. 4), utilizando glutamato + malato (○) o succinato (●) como sustratos (los puntos representan el promedio de 4 animales  $\pm$  error estándar). El consumo de oxígeno en presencia de piroxicam, es estadísticamente diferente del control ( $p < 0.02$ ) a partir de concentraciones por arriba de 40  $\mu$ M del antiinflamatorio.

Si lo que se quiere ahora, es descartar la posibilidad de artefactos por la adición de enzimas exógenas en el ensayo de actividad de la lanzadera, una alternativa viable y muy sencilla de instrumentar, es la adición directa de malato y glutamato a una suspensión de mitocondrias aisladas, ya que éstos son los respectivos productos de la malato deshidrogenasa y la aspartato transaminasa empleadas en el sistema de reconstitución de la lanzadera antes descrito. De esta manera, resulta que si se registra el consumo de oxígeno de mitocondrias aisladas en presencia de malato y glutamato como sustratos en cantidades no limitantes, se tiene automáticamente un registro libre de artefactos, de la actividad de la porción mitocondrial de la lanzadera de aspartato-malato. Por esta razón, se descartó en este trabajo el realizar experimentos de reconstitución de la lanzadera y se prefirió estudiar en su lugar, el consumo de oxígeno mitocondrial con malato-glutamato como sustratos, que es un sistema más sencillo y fácil de interpretar<sup>11</sup>.

<sup>11</sup> Es importante considerar que el consumo de oxígeno de mitocondrias en reposo (en ausencia de ADP), está limitado principalmente por el consumo interno de ATP dentro de



**Figura 3.** Estructura del piroxicam (4-Hidroxi-2-metil-N-2-piridinil-2H-1,2-benzotiazina-3-carboxamida 1,1-dioxido). Peso molecular: 331.35 .

Este resultado es relevante, si se considera que la concentración de piroxicam reportada en el plasma de ratas tratadas con éste AINE, a una dosis igual a la empleada para reducir los niveles de etanol en sangre ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ), es del orden de  $50 \mu\text{M}$  cuando se administra por vía orogástrica (Lermioğlu *et al.*, 1990), y significativamente mayor cuando se administra por vía intraperitoneal (Roskos y Boudinot, 1990)<sup>12</sup>, con un tiempo de vida media de 6 a 46 hrs (Roskos y Boudinot, 1990; Boudinot *et al.*, 1993), lo que implica para fines prácticos, que la concentración de este fármaco se mantiene casi constante durante todo el proceso de oxidación del etanol, ya que además, la concentración máxima de piroxicam al administrarlo aún por vía orogástrica se alcanza en 1 h aproximadamente (Lermioğlu *et al.*, 1990). De esta manera, el piroxicam alcanza concentraciones que pueden fácilmente estimular el consumo de equivalentes reductores en mitocondria. En este punto, es necesario señalar también, que el piroxicam (ver Figura 3), es una molécula relativamente hidrofóbica e insoluble en medio ácido, por lo que atraviesa fácilmente las membranas biológicas, y tiende a permanecer asociado a proteínas o en el interior de las membranas, por lo que en principio, no debe tener ningún obstáculo para alcanzar la membrana mitocondrial en el interior de las células, y estimular así el consumo de equivalentes reductores, que a su vez podría explicar la estimulación observada en la oxidación del etanol.

La Figura 2 muestra también, el efecto del piroxicam sobre el consumo de oxígeno mitocondrial en condiciones de reposo, utilizando ahora succinato como sustrato. Puesto que con este otro sustrato se observa también una estimulación, debe pensarse que el efecto del piroxicam sobre el recambio de equivalentes reductores, no está restringido a una modificación en la

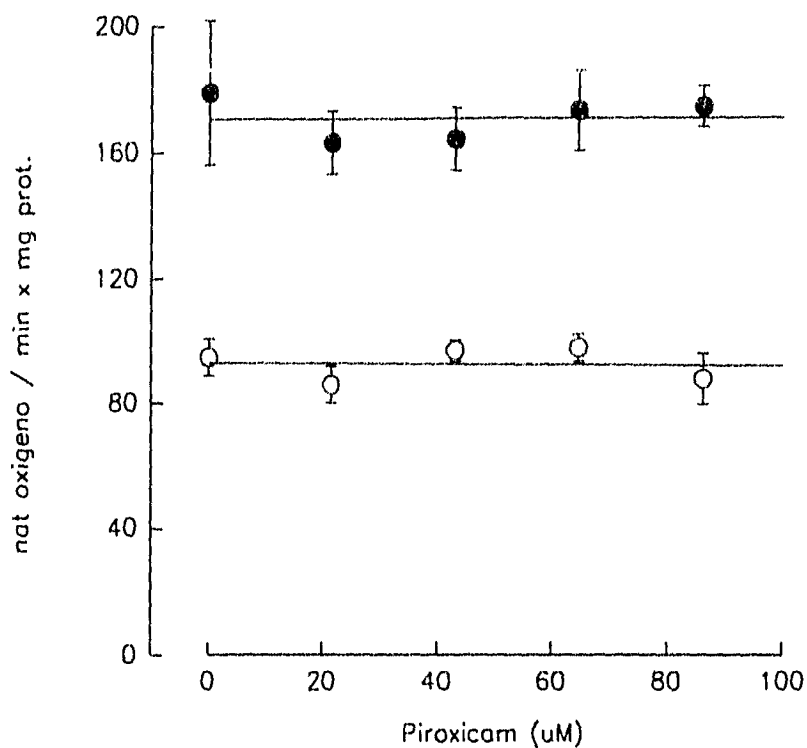
---

la misma mitocondria, y el reciclamiento pasivo de protones a través de la membrana mitocondrial interna (Groen *et al.*, 1982; Masini *et al.*, 1983; Brand y Murphy, 1987; Brand *et al.*, 1988; Riveros-Rosas *et al.*, 1989), ya que esta última no es completamente impermeable a los protones (Gutknecht, 1987; Julián-Sánchez y Riveros-Rosas, 1988)

<sup>12</sup> Una dosis intraperitoneal de piroxicam de solo  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  genera concentraciones en sangre del orden de  $90 \mu\text{M}$ .

### **Efecto del Piroxicam sobre el consumo de oxígeno mitocondrial:**

La Figura 2 muestra el efecto de la adición de piroxicam, sobre el consumo de oxígeno mitocondrial en condiciones de reposo o de estado 4; en ella puede observarse que el piroxicam a concentraciones por arriba de  $40 \mu\text{M}$ , estimula significativamente en forma dosis dependiente el consumo de oxígeno.

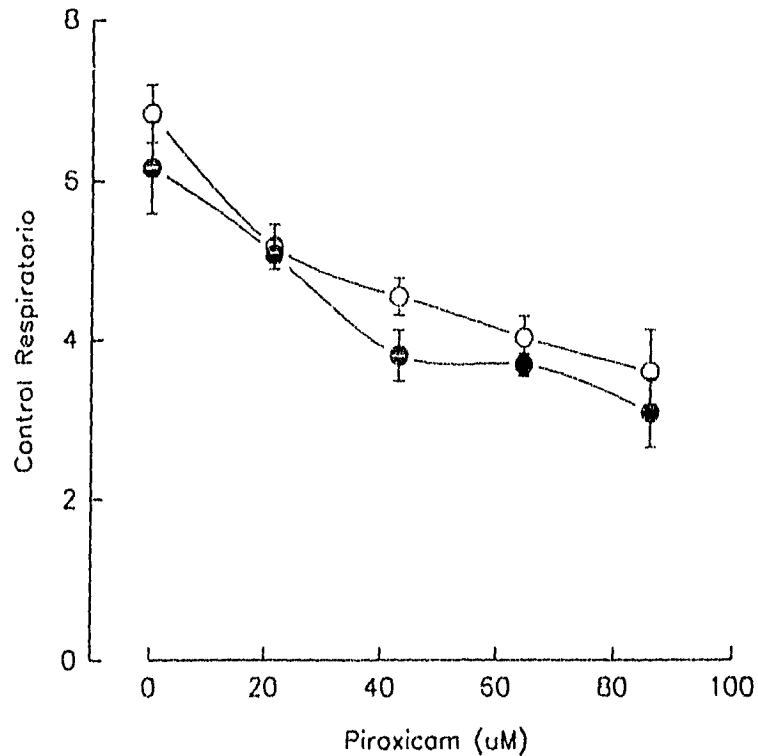


**Figura 4.** Efecto del piroxicam sobre el consumo de oxígeno mitocondrial estimulado por ADP (edo. 3), utilizando succinato (●), o glutamato + malato (○) como sustratos (los puntos representan el promedio de 4 animales  $\pm$  error estandard). El consumo de oxígeno en presencia de piroxicam no difiere estadísticamente del control a ninguna de las concentraciones estudiadas.

lanzadera de aspartato-malato, sino que corresponde a un efecto más general sobre la actividad mitocondrial.

La Figura 4, muestra el efecto del piroxicam sobre el consumo de oxígeno mitocondrial en condiciones de estado 3 o estimulado por ADP, utilizando glutamato-malato o succinato como sustratos. En ella puede observarse que el piroxicam, no ejerce ningún efecto sobre el consumo de oxígeno mitocondrial, lo que implica que su efecto estimulador está restringido solo a la respiración en condiciones basales.

La estimulación en el consumo de oxígeno en condiciones de estado 4, sin modificar el consumo de oxígeno en condiciones de estado 3, determina un descenso en el control respiratorio (ver Figura 5), el cual se acompaña también de un descenso en la relación ADP/O (ver Figura 6).



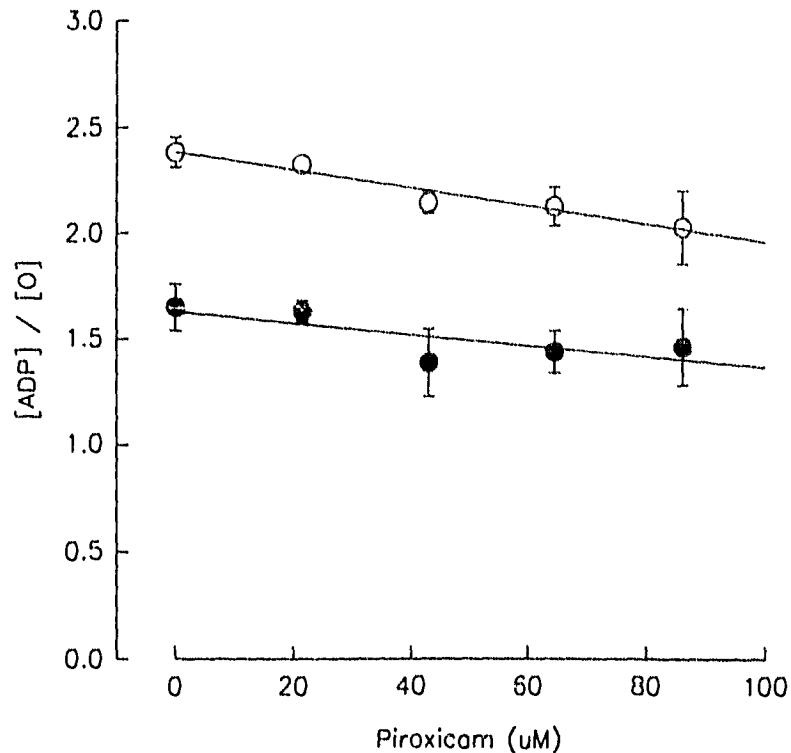
**Figura 5.** Efecto del piroxicam sobre el control respiratorio, utilizando succinato (●) o glutamato + malato (○) como sustratos (los puntos representan el promedio de 4 animales  $\pm$  error estandar). Todas las concentraciones de piroxicam estudiadas, difieren significativamente del control ( $p < 0.01$ ), al emplear glutamato + malato como sustratos; y en el caso del succinato, estas son estadísticamente diferentes a partir de concentraciones mayores a  $40 \mu\text{M}$ .

#### **Piroxicam y su efecto sobre el potencial de membrana en mitocondria:**

Estos efectos, analizados en su conjunto sugieren que el piroxicam actúa como un desacoplante parcial<sup>13</sup> de la fosforilación oxidativa. Con la intención de verificar esta última posibilidad, se determinó el efecto del piroxicam sobre el potencial de membrana en mitocondria. La Figura 7 muestra el efecto del piroxicam sobre el potencial de membrana, utilizando succinato como sustrato

<sup>13</sup> Se decidió emplear el término desacoplante parcial, con la idea de enfatizar el hecho que el piroxicam, por las concentraciones empleadas en éste trabajo, solo estimula parcialmente el consumo de oxígeno en condiciones basales, sin que ello implique la existencia de una fracción de la respiración que pueda ser o no estimulada, tal y como se tiene en el caso análogo de los inhibidores parciales de enzimas; es claro que si se emplean concentraciones mayores de piroxicam, el efecto se incrementa proporcionalmente.





**Figura 6.** Efecto del piroxicam sobre la relación ADP/O, utilizando succinato (●) o glutamato + malato (○) como sustratos (los puntos representan el promedio de 4 animales  $\pm$  error estándar). Ninguno de los ensayos con piroxicam difiere significativamente del control, excepto al emplear piroxicam 40  $\mu$ M y glutamato + malato como sustratos.

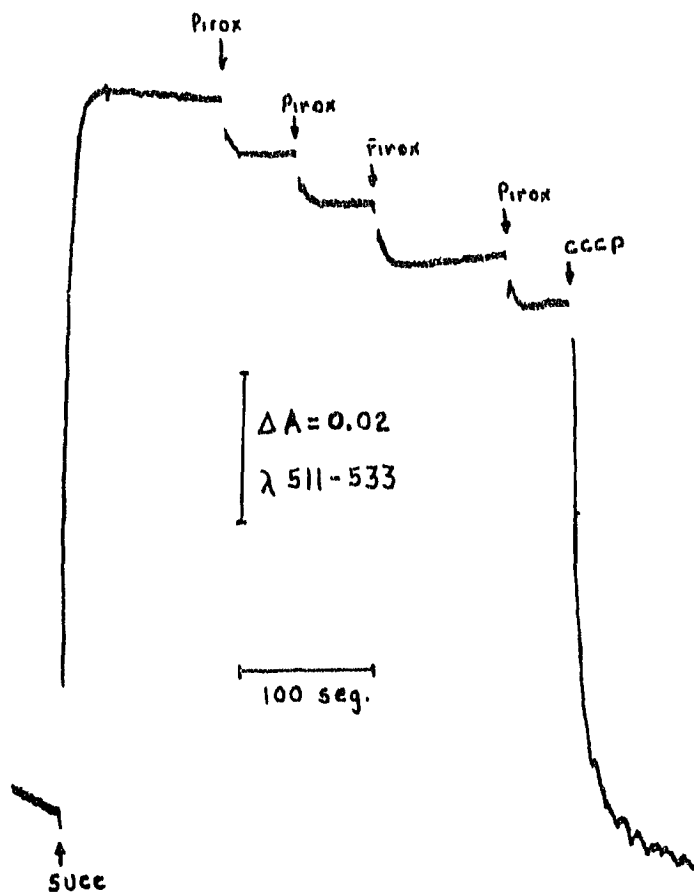
para energizar la membrana y safranina como indicador. En ella puede observarse que efectivamente, el piroxicam produce un abatimiento gradual del potencial de membrana por adiciones sucesivas del mismo. Esta última propiedad del piroxicam puede entenderse si se revisa con detalle la estructura de éste fármaco (ver Figura 3), ya que este AINE corresponde a una molécula relativamente hidrofóbica, que posee un grupo hidroxilo disociable con un valor de pK de 6.3<sup>14</sup>, el cual podría permitir al piroxicam actuar como un acarreador de protones, explicando así la estimulación en el consumo de oxígeno mitocondrial.

Estos resultados están en concordancia con los obtenidos previamente por Baños y Reyes (1989), quienes también observaron un abatimiento en el control respiratorio y el potencial de membrana en mitocondrias, aunque a concentraciones de piroxicam mucho más elevadas que las empleadas en el presente estudio (0.1 -0.3 mM). De hecho, es importante señalar que otros

<sup>14</sup> medido en una mezcla de dioxano-agua 2:1 (Merck Index, 1989).

antiinflamatorios también poseen actividad como desacoplantes de la fosforilación oxidativa en mitocondrias, aunque esta característica no guarda ninguna relación con su actividad como antiinflamatorios (van den Berg y Nauta, 1975).

La Tabla I lista algunos de los antiinflamatorios estudiados, y su efecto sobre el consumo de oxígeno mitocondrial. En esta Tabla, puede observarse que no todos los AINEs poseen actividad como desacoplantes, y algunos de estos inclusive, inhiben el consumo de oxígeno estimulado por ADP o dinitrofenol, lo que implica probablemente efectos inhibitorios sobre la actividad de la cadena de transporte de electrones<sup>15</sup>. La Tabla I muestra también a manera de comparación, la concentración necesaria de 2,4-dinitrofenol para estimular 50% el consumo de oxígeno en condiciones de estado 4, valor que está apenas 4 veces por debajo de la concentración de piroxicam necesaria para obtener un efecto similar, lo cual proporciona una idea más clara de su capacidad como desacoplante.



**Figura 7.** Efecto del piroxicam sobre el potencial de membrana en mitocondrias energizadas con succinato 6.6 mM. Cada adición de piroxicam equivale a un aumento en la concentración final de 20  $\mu\text{M}$ ; la adición de CCCP corresponde a una concentración final de 1.25  $\mu\text{M}$ .

<sup>15</sup> Al menos para el caso de la indometacina y la fenilbutazona esto último puede ser válido, ya que no estimulan el consumo de oxígeno en condiciones de estado 4, e inhiben el consumo de oxígeno estimulado por desacoplantes.

**Tabla I.** Efecto de algunos antiinflamatorios sobre el consumo de oxígeno en mitocondrias de hígado.

Antiinflamatorio	Efecto (%) sobre el consumo de oxígeno mitocondrial		Referencia
	basal (edo. 4)	estimulado por	
Acido flufenámico 8.4 µM	+ 50%	--	e
10 µM	+ 260%	N.S. <sub>(DNP)</sub>	a
Ibuprofen 0.1 mM	+ 180%	N.S. <sub>(DNP)</sub>	a
Aspirina 1 mM	+ 173%	N.S. <sub>(DNP)</sub>	a
Acido tiaprofénico 0.3 mM	+ 128%	- 43% <sub>(ADP)</sub>	b
Diclofenac-K 0.3 mM	+ 128%	- 62% <sub>(ADP)</sub>	b
Diclofenac-Na 0.1 mM	+ 86%	- 34% <sub>(ADP)</sub>	b
Diflunisal 14.1 µM	+ 50%	--	e
50 µM	+ 197%	N.S. <sub>(ADP)</sub>	b
70 µM	+ 106%	- 46% <sub>(ADP)</sub>	e
100 µM	+ 298%	- 34% <sub>(ADP)</sub>	b
Piroxicam 44 µM	+ 50%	N.S. <sub>(ADP)</sub>	f
100 µM	+ 89%	N.S. <sub>(ADP)</sub>	b
300 µM	+ 245%	N.S. <sub>(ADP)</sub>	b
Pirprofen 100 µM	+ 266%	N.S. <sub>(ADP)</sub>	b
6 mM	+ 54%	--	d
Tenoxicam 100 µM	+ 266%	+ 76% <sub>(ADP)</sub>	b
2-fenil-1,3-indandiona 200 µM	+ 350%	N.S. <sub>(ADP)</sub>	c
Butazolidina 6 mM	+ 226%	--	d
Sulindac 3 mM	+ 54%	--	d
Acido mefenámico 38.6 µM	+ 50%	--	e
Fenil-butazona 50-300 µM	N.S.	- 54% <sub>(DNP)</sub>	a
Indometacina 50-300 µM	N.S.	- 67% <sub>(DNP)</sub>	a
288 µM	--	- 44% <sub>(ADP)</sub>	c
Naproxen 50-100 µM	N.S.	N.S. <sub>(ADP)</sub>	b
Aminopirina 1 mM	N.S.	N.S. <sub>(DNP)</sub>	a
2,4-Dinitrofenol 10 µM	+ 50%		e

a (Tokumitsu *et al.*, 1977); b (Baños y Reyes, 1989); c (van den Berg y Nauta, 1975); d (Reyes *et al.*, 1986); e (McDougall *et al.*, 1983); f (este trabajo). N.S.: Efecto no significativo.

**Piroxicam: Efectos sobre mitocondrias *in vivo*:**

Puesto que los resultados de estos ensayos *in vitro*, no pueden extrapolarse directamente a lo que ocurre *in vivo*, se decidió analizar también en un modelo de animal íntegro, el efecto de la administración intraperitoneal de piroxicam (10 mg/kg) sobre el acoplamiento de las mitocondrias de hígado, tanto en animales controles como intoxicados con etanol. La Tabla II muestra los resultados obtenidos con el control respiratorio en estos experimentos *in vivo*. En ella puede observarse que la intoxicación aguda con etanol (5 g/kg), causa un pequeño decremento en el control respiratorio, tal y como ha sido reportado previamente, aunque lo más significativo, es que la administración de piroxicam *in vivo*, produce un decremento en el control respiratorio, tanto en animales controles a los que sólo se les administró sacarosa, como en los animales intoxicados con etanol. Si bien esta última diferencia no es estadísticamente significativa, el resultado está en concordancia con lo que debería esperarse por los resultados antes descritos *in vitro*. Además, es importante tener presente que en el proceso de aislamiento de las mitocondrias, se emplea albúmina con la finalidad de atrapar los ácidos grasos que se liberan durante el aislamiento y que pueden desacoplar a las mitocondrias; esta misma albúmina puede también tomar al piroxicam y extraerlo de las mitocondrias, lo que explicaría al menos en parte, el poco efecto desacoplante del piroxicam en éstos ensayos *in vivo*.

**Tabla II.** Efecto del piroxicam sobre el control respiratorio en mitocondrias de hígado de rata, tanto en animales controles como intoxicados en forma aguda con etanol.

Tratamiento	Sustrato oxidable			
	glutamato-malato		succinato	
	Control Resp.	Efecto (%)	Control Resp.	Efecto (%)
Sacarosa	4.83 ± 0.51 (6)	0	4.45 ± 0.65 (7)	0
Etanol	4.43 ± 0.49 (9)	- 8%	3.92 ± 0.50 (8)	- 12%
Sacarosa + Piroxicam	3.98 ± 0.58 (7)	- 18%	2.92 ± 0.20 (5)	- 34% <sup>a</sup>
Etanol + Piroxicam	3.87 ± 0.49 (6)	- 20%	2.81 ± 0.16 (5)	- 37% <sup>b</sup>

Los resultados están expresados como media ± error estándar.

<sup>a</sup>  $p < 0.05$  con respecto a su grupo control con sacarosa.

<sup>b</sup>  $p < 0.02$  con respecto a su grupo control con sacarosa.

<sup>c</sup>  $p < 0.05$  con respecto al grupo con etanol sin piroxicam.

Por lo que se refiere a la relación  $ADP/O$  en estos experimentos *in vivo*, es importante señalar que si bien las diferencias no son estadísticamente significativas (ver Tabla III), se observa una tendencia similar a la obtenida con el control respiratorio, mostrando un ligero decremento en la relación  $ADP/O$  al administrar piroxicam.

Estos resultados en conjunto, concuerdan con la idea de que el piroxicam actúe como un desacoplante parcial no solo *in vitro*, sino también *in vivo*, el cual a su vez podría inducir, una mayor oxidación de equivalentes reductores provenientes del citoplasma en mitocondria, y por tanto estimular indirectamente una mayor oxidación del etanol. Esto explicaría en última instancia, la disminución de los niveles de etanol en sangre al administrar piroxicam.

**Tabla III.** Efecto del piroxicam sobre la relación  $ADP/O$  en mitocondrias de hígado de rata, tanto en animales controles como intoxicados en forma aguda con etanol.

Tratamiento	Sustrato oxidable			
	glutamato-malato		succinato	
	$ADP/O$	Efecto (%)	$ADP/O$	Efecto (%)
Sacarosa	$2.44 \pm 0.54$ (6)	0	$1.93 \pm 0.48$ (7)	0
Etanol	$2.50 \pm 0.35$ (9)	+ 2%	$2.26 \pm 0.39$ (8)	+ 5%
Sacarosa + Piroxicam	$2.23 \pm 0.16$ (7)	- 9%	$1.98 \pm 0.33$ (5)	+ 3%
Etanol + Piroxicam	$2.21 \pm 0.08$ (6)	- 9%	$1.56 \pm 0.25$ (5)	- 19%

Los resultados están expresados como media  $\pm$  error estándar.

Nota: Las diferencias entre los diferentes grupos no son estadísticamente significativas.

#### **Efecto del piroxicam sobre la actividad de la alcohol deshidrogenasa:**

Es importante resaltar que la capacidad del piroxicam para acelerar el recambio de equivalentes reductores, es suficiente para explicar por sí misma, una mayor velocidad de oxidación del etanol sin modificar necesariamente la actividad de la alcohol deshidrogenasa; de hecho, es conocido que la administración de desacoplantes en pequeñas dosis, también acelera la oxidación del etanol (Israel *et al.*, 1975; Isselbacher y Carter, 1976; Cederbaum *et al.*, 1977). No obstante con la idea de verificar la posibilidad de que el piroxicam pudiera estar ejerciendo algún efecto sobre la actividad de la alcohol deshidrogenasa, se analizó en sobrenadantes de 100,000 x g de homogenados de hígado de rata, el efecto del piroxicam sobre la actividad de esta enzima. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla IV. En ella puede observarse que el piroxicam a

concentraciones de 7.5  $\mu\text{M}$  y 75  $\mu\text{M}$ , no ejerce ningún efecto sobre la actividad de la ADH, por lo que el efecto estimulador del piroxicam sobre la velocidad de oxidación del etanol, se restringe a su efecto sobre el recambio de equivalentes reductores en mitocondria.

**Tabla IV.** Efecto del piroxicam sobre la actividad de alcohol deshidrogenasa hepática.

Condición	Actividad
	nmolas etanol oxidado $\text{min}^{-1}$ (mg prot) $^{-1}$
No $\text{NAD}^+$	0.085 $\pm$ 0.07
Etanol	3.04 $\pm$ 0.50
Etanol + Piroxicam 7.5 $\mu\text{M}$	3.02 $\pm$ 0.51
Etanol + Piroxicam 75 $\mu\text{M}$	3.32 $\pm$ 0.37

Las mediciones de actividad de ADH, se determinaron en base a la pendiente inicial de reducción de  $\text{NAD}^+$  a 340 nm, restando la actividad residual en ausencia de etanol.

Los resultados están expresados como la media  $\pm$  error estándar de 4 animales diferentes.

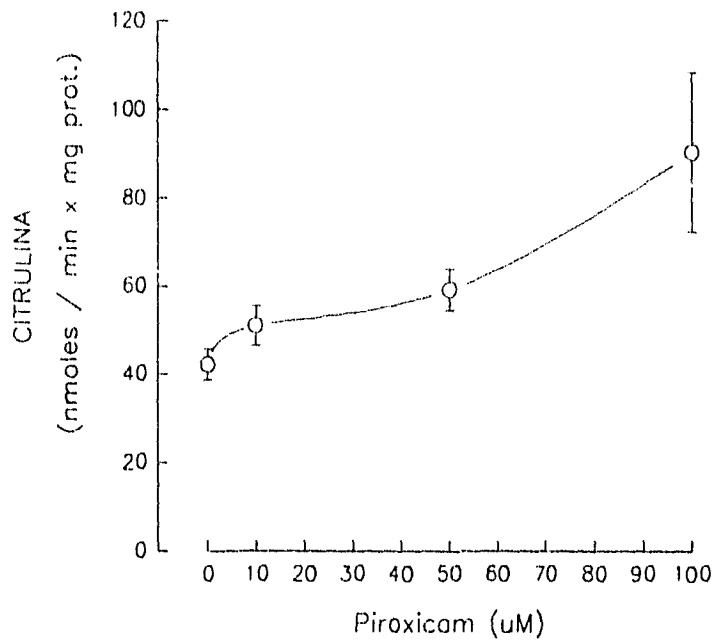
Los ensayos en presencia de piroxicam no muestran diferencia estadística con respecto al control.

#### **Piroxicam y su efecto sobre la síntesis de citrulina:**

Dado que el piroxicam puede actuar como un desacoplante parcial en mitocondrias, se decidió analizar si la presencia de este antiinflamatorio no esteroideo produce un deterioro en otras funciones desarrolladas por la mitocondria, como por ejemplo, la síntesis de citrulina, que es un proceso que requiere de gran cantidad de energía por parte de la mitocondria, y es indispensable para la detoxificación del amonio en el ciclo de la urea<sup>16</sup>.

La Figura 8 muestra el efecto del piroxicam *in vitro*, sobre la síntesis de citrulina en mitocondrias de hígado de rata. En ella puede observarse que este antiinflamatorio, estimula la síntesis de citrulina, lo cual indica que la presencia de piroxicam a concentraciones parcialmente desacoplantes, no es lo suficientemente tóxica como para impedir otras actividades mitocondriales. De hecho, esta estimulación debe coadyuvar aún más a acelerar el recambio de equivalentes reductores, y por ende, la oxidación del etanol.

<sup>16</sup> La importancia relativa de la síntesis de citrulina dentro del total de las actividades desarrolladas por la mitocondria, es evidente si se considera que el 20% de la proteína total mitocondrial corresponde a la carbamil fosfato sintetasa (Rajman y Jones, 1976; Villalobos-Molina y Saavedra-Molina, 1985), que es la principal enzima reguladora de la síntesis de citrulina (Wanders *et al.*, 1984).



**Figura 8.** Efecto del piroxicam sobre la síntesis de citrulina en mitocondrias de hígado de rata.

#### **Efecto del piroxicam sobre el transporte de calcio en mitocondria:**

Puesto que la concentración de calcio mitocondrial, es uno de los principales factores reguladores de la actividad de las enzimas involucradas en la síntesis de citrulina (Saavedra-Molina, 1992), se decidió estudiar si el piroxicam pudiera ejercer algún efecto sobre la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  mitocondrial, que pudiera explicar la estimulación observada en la síntesis de citrulina. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 9; en ella puede observarse que el piroxicam, desde concentraciones del orden de  $20 \mu\text{M}$ , produce una disminución importante en la concentración de calcio intramitocondrial, efecto que explica al menos en parte, la estimulación en la síntesis de citrulina por piroxicam<sup>17</sup>, ya que la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en mitocondrias, es un modulador negativo de esta vía (*op. cit.*).

#### **Efecto de la Dipirona sobre el consumo de oxígeno mitocondrial:**

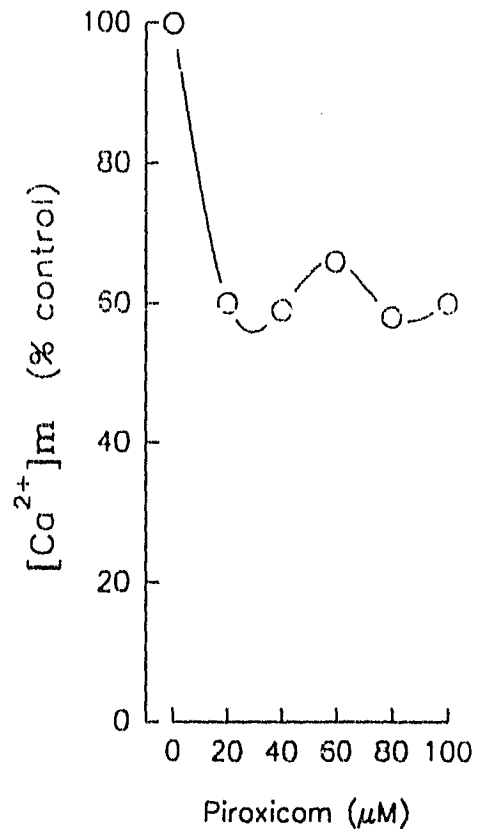
Como se indicó en la sección de antecedentes, la dipirona a diferencia del piroxicam, no solo no disminuye los niveles de etanol en sangre, sino que inclusive los aumenta ligeramente

<sup>17</sup> En este punto, es necesario hacer notar que no se tiene una correlación exacta entre los cambios en la concentración de calcio libre mitocondrial, y la estimulación en la síntesis de citrulina, por lo que probablemente estén involucrados otros factores no identificados.

(Zentella de Piña *et al.*, 1993), por lo que no es de esperar en estas condiciones, un aumento en la velocidad de oxidación del etanol inducido por dipirona. Con el fin de corroborar esta última suposición, se analizó el efecto de la dipirona *in vitro* sobre el consumo de oxígeno mitocondrial con malato-glutamato o succinato como sustratos, con la idea de conocer su efecto sobre la capacidad de las mitocondrias para oxidar equivalentes reductores, principal factor limitante de la velocidad de oxidación del etanol<sup>18</sup>.

Las Figuras 10 y 11 muestran el efecto de la dipirona sobre el consumo de oxígeno mitocondrial en condiciones de reposo (estado 4), y estimulado por *ADP* (estado 3). En ellas puede observarse que la dipirona estimula el consumo de oxígeno en condiciones de estado 4 solo a concentraciones por arriba de 4 mM, y no tiene ningún efecto sobre la respiración de estado 3.

Es importante señalar que si bien la dipirona muestra un efecto similar al piroxicam sobre el consumo de oxígeno mitocondrial, las concentraciones requeridas de dipirona, para obtener un efecto similar al producido por piroxicam, son del orden de 100 veces mayores, y se observan en un intervalo de concentraciones que nunca se observan durante su uso como agente terapéutico, por lo que para fines prácticos, la dipirona a las dosis administradas para disminuir los indicadores de daño hepático, no ejerce ningún efecto sobre el recambio de equivalentes reductores<sup>19</sup>, lo cual es razonable de



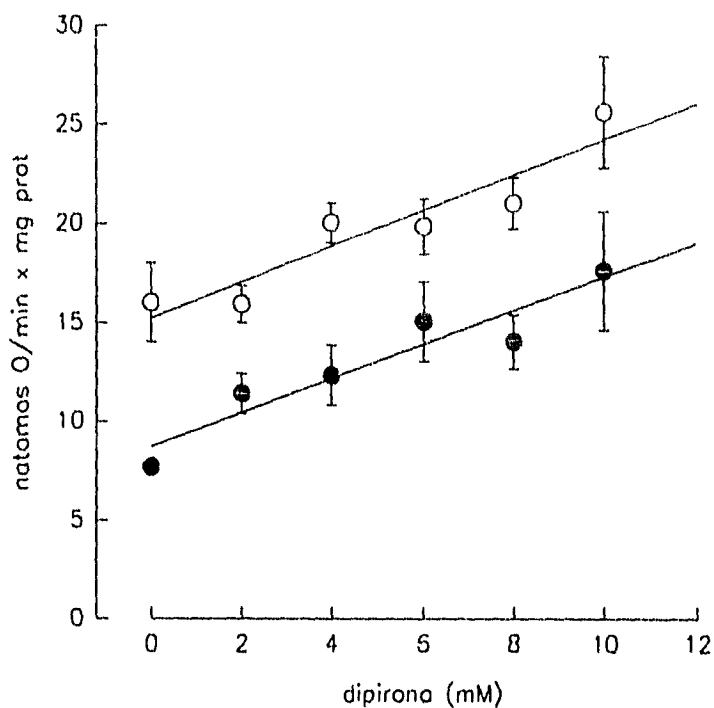
**Figura 9.** Disminución del contenido de  $\text{Ca}^{2+}$  libre en la matriz mitocondrial inducido por piroxicam. Las mitocondrias fueron cargadas previamente con el indicador fluorescente Fluo-3, e incubadas en un medio que contiene KCl 120 mM, MOPS 20 mM y la concentración indicada de piroxicam (pH 7.4).

<sup>18</sup> Además, no se han publicado datos sobre los efectos de la dipirona en la respiración mitocondrial.

<sup>19</sup> La dipirona administrada por vía orogástrica, a dosis de 43 mg/kg es suficiente para disminuir en ratas, algunos de los daños inducidos por etanol en hígado (Zentella de Piña *et al.*, 1993). Si consideramos que el volumen de distribución de la dipirona es 0.58 L/kg (Zylber-Katz *et al.*, 1995), resulta que la máxima concentración de dipirona que puede alcanzarse (aun



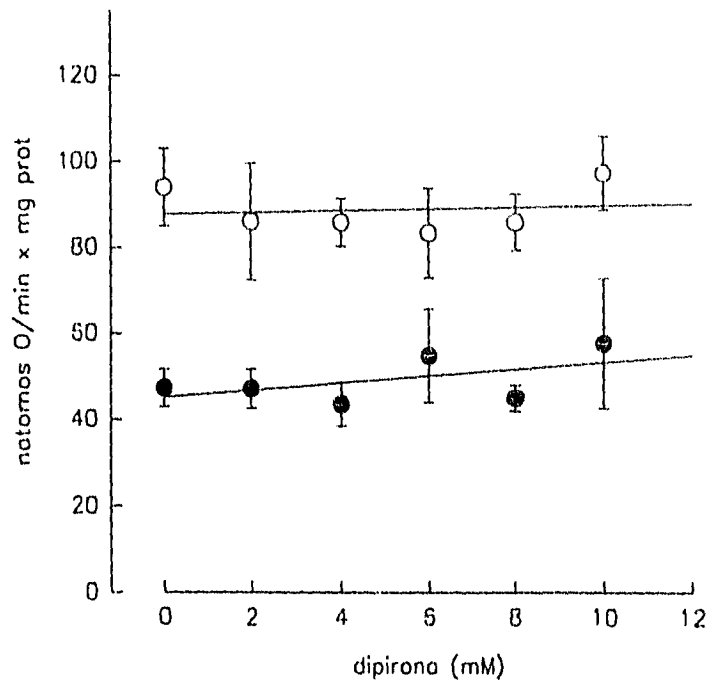
esperar si consideramos que la dipirona no disminuye los niveles de etanol en sangre (Zentella de Piña *et al.*, 1993). De esta forma, los resultados obtenidos con piroxicam y dipirona son congruentes entre sí, ya que la estimulación en la oxidación de equivalentes reductores se observa solo en el AINE que promueve una mayor eliminación del etanol.



**Figura 10.** Efecto de la dipirona sobre el consumo de oxígeno mitocondrial en condiciones de reposo o de estado 4, con glutamato-malato (●), o succinato (○) como sustratos (los puntos representan el promedio de 6 animales  $\pm$  error estandar). Los ensayos en presencia del antiinflamatorio difieren significativamente del control a partir de 4 mM de dipirona, utilizando glutamato + malato como sustrato, y de 8 mM al utilizar succinato.

---

suponiendo una absorción y distribución inmediata) es de 210  $\mu$ M, concentración que es insuficiente para producir algún efecto sobre el recambio de equivalentes reductores.



**Figura 11.** Efecto de la dipirona sobre el consumo de oxígeno mitocondrial en estado 3 o estimulado con ADP, utilizando glutamato-malato (●), o succinato (○) como sustratos (los puntos representan el promedio de 6 animales  $\pm$  error estandard). Ninguno de los ensayos en presencia de dipirona difiere significativamente de su control sin dipirona.

# Resultados y discusión: parte II

## (Farmacocinética)

### Descripción del modelo.

Una de las técnicas más utilizada para determinar la capacidad metabólica de oxidación del etanol o cualesquier otro compuesto xenobiótico *in vivo*, consiste en administrar una dosis conocida del metabolito a estudiar (en este caso etanol), y determinar subsecuentemente los niveles de etanol en sangre a diferentes tiempos. De esta forma, a través del análisis matemático de las curvas de farmacocinética en sangre, es posible obtener información sobre la capacidad metabólica del organismo completo.

Existen en términos generales, tres grandes tipos de aproximaciones para el tratamiento de los datos, y en cada una de ellas se emplea una filosofía diferente (Wellings, 1986). Las técnicas modelo-independientes, son las más sencillas y socorridas, e implican la medición del área bajo la curva, y el valor de la pendiente durante la fase de eliminación, suponiendo que esta última obedece a una cinética de orden "uno" o "cero", dependiendo del metabolito a estudiar (ver Figura 12)<sup>20</sup>. Sin embargo, esta aproximación aunque es fácil de instrumentar, aporta poca información y su interpretación fisiológica, como se discutirá más adelante, es complicada e involucra generalmente varios procesos que actúan de forma simultánea.

Otra aproximación comprende modelos de dos o más compartimentos, en donde a partir de la aplicación de modelos matemáticos más complejos es posible obtener información más específica. Estos modelos para fines prácticos, pueden ser agrupados en dos grandes categorías: la primera<sup>21</sup> comprende modelos relativamente sencillos de solo dos o tres compartimentos, en donde las curvas de farmacocinética se utilizan para estimar el valor de unos cuantos parámetros cinéticos considerados como los más relevantes<sup>22</sup>; la segunda categoría, que agrupa a los denominados "modelos fisiológicos" comprende modelos mucho más complejos, con numerosos compartimentos y múltiples parámetros cinéticos previamente definidos, de tal forma que lo único que se analiza es si la predicción teórica se ajusta a los valores experimentales. Esta última aproximación, si bien es útil para predecir curvas de farmacocinética en diferentes condiciones

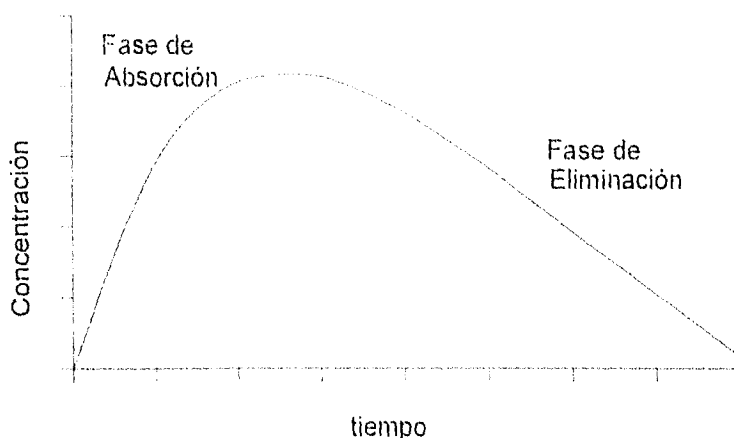
---

<sup>20</sup> Esta aproximación, para el caso del etanol es razonable si se considera que la alcohol deshidrogenasa de clase 1, principal responsable del metabolismo hepático del etanol posee una  $K_m$  de alrededor de 1 mM, valor que está muy por debajo de los niveles alcanzados durante una intoxicación aguda con etanol (30 - 40 mM).

<sup>21</sup> Corresponde a los comúnmente denominados "modelos de compartimentos".

<sup>22</sup> En este trabajo el término parámetro se empleará no en su connotación como punto de referencia, que es la acepción más empleada en biología, sino como una constante o variable arbitraria que aparece en una expresión matemática y que, al cambiarla, da varios casos del fenómeno representado, y que es la acepción más empleada en matemáticas y para la cual no existe otro término equivalente.

experimentales, tiene el inconveniente de que su aplicación no es sencilla e implica una estimación independiente de cada uno de los diferentes parámetros cinéticos a considerar<sup>23</sup>, además de ser una aproximación poco adecuada cuando se estudia la influencia de alguna variable de la cual se ignora el tipo de efectos que producirá sobre el metabolismo del fármaco a estudiar.



**Figura 12.** Perfil típico de concentración de etanol en sangre contra tiempo al administrarse por vía oral. La primera parte de la curva está determinada esencialmente por la velocidad de absorción, mientras que la parte final por la velocidad de oxidación hepática. La concentración máxima corresponde al tiempo en que las velocidades de absorción y eliminación son iguales.

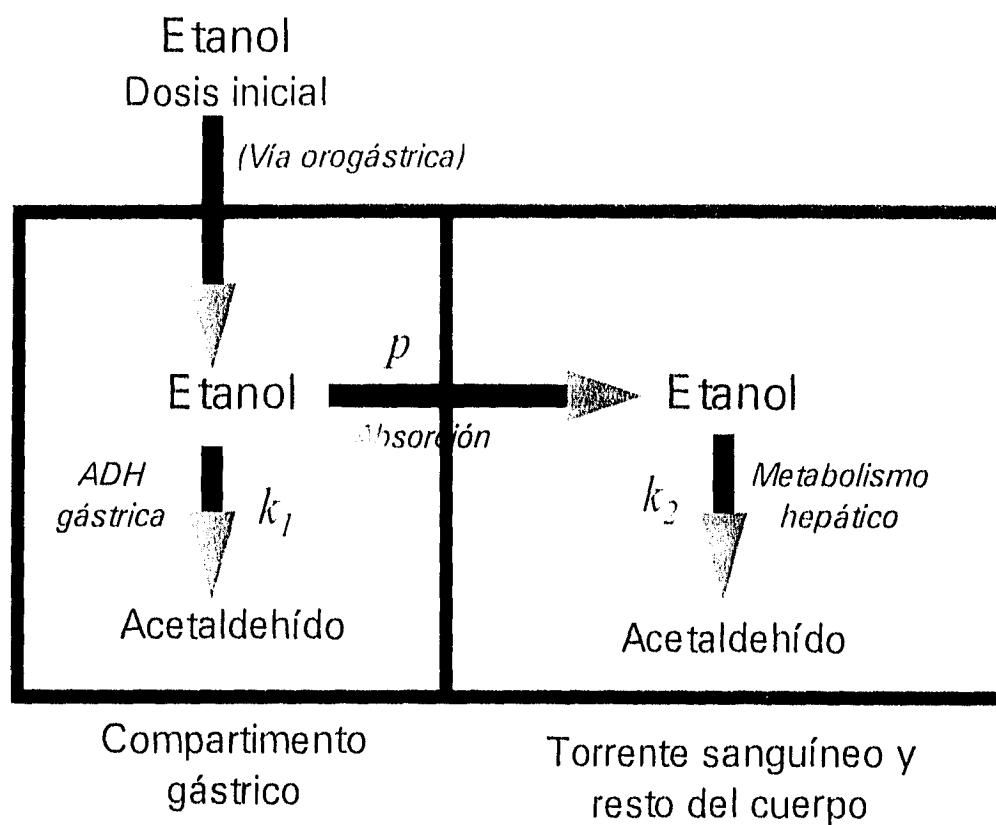
Por estas razones, se decidió en el presente trabajo, plantear un modelo de pocos compartimentos, en donde las curvas experimentales nos permitieran estimar algunos parámetros cinéticos, y así poder obtener información referente al mecanismo de acción de los AINEs sobre el metabolismo del etanol.

Se seleccionó en particular un modelo de dos compartimentos, considerando que la administración inicial del etanol se realizó por vía oral, y a que existe un importante metabolismo de primer paso en el tracto digestivo e hígado, antes de que el etanol difunda al resto del cuerpo por medio de la circulación sanguínea (e. g. Julkunen *et al.*, 1985; Caballería *et al.* 1987, 1989; DiPadova *et al.*, 1987; Levitt *et al.*, 1994). De esta manera, se definió como un primer compartimento el estómago o tracto digestivo, en donde una fracción significativa se metaboliza

---

<sup>23</sup> De hecho, no es raro que algunas de estas últimas estimaciones por su dificultad para evaluar, deban elaborarse a través de extrapolaciones sin una base experimental sólida y que por lo mismo, arrojan cierta incertidumbre sobre las predicciones de este tipo de modelos.

ahí mismo a través de la alcohol deshidrogenasa gástrica, mientras que el resto es canalizado por el vaciamiento gástrico al segundo compartimento (ver Figura 13). El segundo compartimento comprende al resto del cuerpo en donde el etanol difunde, por difusión simple a todos los fluidos corporales; en este segundo compartimento, el principal sitio de oxidación del etanol es el hígado, el cual posee más del 90% de la actividad total de alcohol deshidrogenasa<sup>24</sup>, además, los otros sistemas oxidantes de etanol tienen una participación menor en una intoxicación alcohólica aguda (Mezey, 1984; Zentella de Piña y Piña, 1987; Lieber, 1984, 1991, 1994) y es despreciable la cantidad de etanol que puede eliminarse por orina, sudor o evaporación en pulmones (Zentella de Piña y Piña, 1987).



**Figura 13.** Esquema general del modelo de dos compartimentos empleado en el presente trabajo.

<sup>24</sup> Este valor es calculado a partir de los datos reportados por Boleda *et al.*, (1989), en donde se determina la actividad de alcohol deshidrogenasa de diferentes tejidos (la tabla de datos esta reproducida en la Tabla III del capítulo *Metabolismo del etanol*).

Para traducir a ecuaciones el esquema metabólico de la Figura 13, se elaboraron dos aproximaciones: la primera se planteó de manera que su manejo matemático fuera relativamente sencillo y pudiera ser analizada con detalle, para que con la información obtenida por este modelo se planteara una segunda aproximación más apegada a las condiciones reales, aunque su manejo matemático fuera más complicado.

A continuación se presenta el análisis completo de la primera aproximación, así como una discusión general sobre el significado fisiológico de las mediciones de la capacidad metabólica *in vivo* a partir de las áreas bajo la curva y el valor de la pendiente en la fase de eliminación.

### **Primera aproximación** **("Cinética de primer orden")**

Es importante considerar que dada una dosis inicial de etanol en el estómago (primer compartimento), ésta se elimina a través de dos vías: una es la oxidación *in situ* por la alcohol deshidrogenasa gástrica, enzima que posee una  $K_m$  por el etanol del orden de 3 M o más (Julia *et al.*, 1987; Parés *et al.*, 1994)<sup>25</sup>, y que por tanto, nunca alcanza a saturarse ni aún en los instantes iniciales cuando se administra el etanol (éste generalmente se introduce por medio de una sonda gástrica a una concentración de 30% a 60% (v/v), que equivale a concentraciones en el rango de 5.15 a 10.3 M, valores ligeramente por arriba de la  $K_m$ ), por lo cual es muy razonable el suponer que la oxidación de etanol en el estómago sigue una cinética de primer orden<sup>26</sup>. La segunda vía de eliminación corresponde al transporte de etanol hacia el segundo compartimento, a través de los epitelios que recubren el estómago e intestinos; este transporte se lleva a cabo por medio de difusión simple y obedece por tanto, a una cinética de primer orden.

El segundo compartimento recibe el etanol proveniente del estómago, y lo distribuye por todo el cuerpo a través de la circulación sanguínea (el etanol por su pequeño tamaño, atraviesa libremente todas las membranas celulares y su volumen de distribución aparente corresponde al total de líquidos corporales (Watson, 1989; Batt, 1989), excluyendo por ende las grasas corporales)<sup>27</sup>. En este compartimento, el etanol es oxidado principalmente por el sistema de las

---

<sup>25</sup> Existen diferentes *ADH* gástricas, las cuales muestran una notable variabilidad en cuanto a sus características cinéticas (Parés *et al.*, 1994), en mandril por ejemplo, se ha descrito una *ADH* gástrica con una  $K_m$  por el etanol del orden de 500 mM (Algar *et al.*, 1992), y en el hombre, se han descrito varias *ADH* gástricas, cuya  $K_m$  para el etanol varía desde 41 mM hasta 2 M (Hernández-Muñoz *et al.*, 1990; Parés *et al.*, 1994). El capítulo sobre metabolismo del etanol, presenta una discusión más completa sobre las diferentes clases de *ADH*.

<sup>26</sup> Es importante considerar además que la alcohol deshidrogenasa no se excreta, sino que esta localizada dentro de las células que componen la mucosa gástrica, por lo que la concentración de etanol a que están expuestas estas células es menor que la concentración de etanol en la luz del estómago.

<sup>27</sup> Por esta razón las mujeres, al poseer una menor proporción de líquidos corporales en comparación con los hombres (53% contra 61.8%), suelen alcanzar niveles más altos de

alcohol deshidrogenasas hepáticas, al cual por fines de simplificación, supondremos inicialmente que obedece también a una cinética de primer orden (no es la mejor suposición inicial, pero nos simplificará mucho el análisis matemático subsecuente y sirve como un punto de partida razonable).

De esta manera, la derivada de la cantidad de etanol en el estómago  $EtOH_g$ , con respecto al tiempo, esta determinada por una ecuación del tipo<sup>28</sup>:

$$\dot{EtOH}_g = -pEtOH_g - k_1EtOH_g \quad \dots (1)$$

en donde:

$p$  = coeficiente de difusión del etanol desde el primer compartimento hacia el segundo compartimento.

$k_1$  = coeficiente de primer orden para la oxidación de etanol en estómago.

Si esta ecuación (1) se divide en ambos lados de la igualdad por el volumen de líquido contenido en el primer compartimento ( $vol_g$ ), se obtiene la derivada de la concentración de etanol con respecto al tiempo:

$$[EtOH]_g = \frac{\dot{EtOH}_g}{vol_g} = \frac{-pEtOH_g - k_1EtOH_g}{vol_g} \quad \dots (1a)$$

Ambas ecuaciones son equivalentes si consideramos constante el volumen de este compartimento.

La dinámica de la cantidad de etanol  $EtOH_s$  en el segundo compartimento, esta descrita por:

$$\dot{EtOH}_s = pEtOH_g - k_2EtOH_s \quad \dots (2)$$

En donde:

$p$  = coeficiente de difusión del etanol; es el mismo que el de la ecuación (1).

$k_2$  = coeficiente de primer orden para la oxidación hepática del etanol.

Si esta ecuación (2) se divide también a ambos lados de la igualdad por el volumen de distribución del segundo compartimento ( $Vol$ ), se obtiene una función equivalente pero en términos de concentración:

etanol en sangre al ingerir ambas dosis equivalentes de etanol (Batt, 1989; Watson, 1989)

<sup>28</sup> En esta ecuación, se estima que la entrada inicial de etanol es lo suficientemente rápida como para ser considerada instantánea en comparación con los procesos de absorción y oxidación.

$$[EtOH]_s = \frac{EtOH_s}{Vol} = \frac{p EtOH_p - k_2 EtOH_s}{Vol} \quad \dots (2a)$$

Así, la cinética de eliminación del etanol esta dada por un par de ecuaciones diferenciales<sup>29</sup>:

$$EtOH_p = -p EtOH_p - k_1 EtOH_p \quad \dots (3)$$

$$EtOH_s = p EtOH_p - k_2 EtOH_s$$

Este par de ecuaciones diferenciales, guarda cierta semejanza con el modelo de dos compartimentos propuesto por Janků (1971), o el modelo de un compartimento abierto de Welling (1986), quienes proponen al cuerpo como un solo compartimento con cinéticas de absorción y eliminación de primer orden, y un sitio de absorción o segundo compartimento, de volumen muy pequeño en comparación con el resto del cuerpo. No obstante las semejanzas, estos modelos no consideran un metabolismo de primer paso en el sitio de absorción, tal y como se propone en este trabajo.

Sea  $x = EtOH_p$  y  $y = EtOH_s$  entonces, el sistema de ecuaciones (3) se transforma en:

$$\begin{aligned} \dot{x} &= - (p + k_1) x \\ \dot{y} &= p x - k_2 y \end{aligned} \quad \dots (4)$$

El sistema de ecuaciones anterior (4), puede ser transformado en una única ecuación diferencial si consideramos que:

$$\frac{dy}{dx} = \frac{\dot{y}}{\dot{x}} = \frac{p x - k_2 y}{- (p + k_1) x} \quad \dots (5)$$

<sup>29</sup> Si se desea considerar un sistema de ecuaciones que emplee concentraciones de etanol en lugar de la cantidades, es necesario tomar en cuenta, no solo los volúmenes de cada compartimento, sino también el hecho de que el segundo compartimento es mucho más grande que el primero, por lo que existe un efecto de dilución importante al introducir etanol de un compartimento a otro. Para corregir esto, sería necesario introducir para el etanol proveniente del estómago, un factor de dilución  $R \cdot [EtOH]_p$ , que equivaldría al volumen del primer compartimento dividido entre el volumen del segundo compartimento. Por esta razón y con la idea de mantener el sistema de ecuaciones diferenciales en su expresión más simple, se manejarán durante la integración de este sistema, cantidades en lugar de concentración, en el entendido de que estas ecuaciones pueden en cualquier momento ser expresadas como concentraciones si se dividen por los volúmenes de los compartimentos correspondientes.



Y puesto que  $dx/dt$  es una exponencial simple, si se obtiene  $y=f(x)$ , automáticamente se puede obtener  $y=f(t)$ .

Sea  $u$  una función tal que  $u=y/x$ , entonces  $y=ux$  y por tanto:

$$\frac{dy}{dx} = u + x \cdot \frac{du}{dx} \quad \dots \dots (6)$$

∴ sustituyendo (6) en (5) se obtiene:

$$\frac{dy}{dx} = \frac{p}{-(p+k_1)} + \frac{k_2}{p+k_1} \cdot \frac{y}{x} = \frac{p}{-(p+k_1)} + \frac{k_2}{p+k_1} \cdot u = u + x \cdot \frac{du}{dx} \quad \dots \dots (7)$$

Si definimos  $a = p + k_1$ , entonces:

$$u + x \frac{du}{dx} = \frac{-p}{a} + \frac{k_2}{a} u \quad \dots \dots (8)$$

ecuación que puede reescribirse como:

$$x \frac{du}{dx} = \frac{-p}{a} + u \left( \frac{k_2 - a}{a} \right) \quad \dots \dots (9)$$

separando variables se obtiene:

$$\frac{dx}{x} = \frac{a \cdot du}{-p + (k_2 - a) u} \quad \dots \dots (10)$$

La forma de integrar esta última ecuación depende de si  $k_2 - a = 0$  ó  $k_2 - a \neq 0$ , por lo que en cada caso se obtendrá un sistema de ecuaciones solución diferente. A continuación se presenta la integración de ambos casos:

### Caso general:

$$k_2 - a \neq 0$$

En este caso la ecuación (10) puede reescribirse como:

$$\frac{a \, du}{-p + (k_2 - a) u} = \frac{dx}{x} \quad \dots \dots (11)$$

ecuación que puede integrarse directamente si se efectúa un cambio de variable.

Sea:

$$z = \left( \frac{k_2 - a}{a} \right) u - \frac{p}{a} \quad \dots (12)$$

entonces:

$$dz = \left( \frac{k_2 - a}{a} \right) du \quad \dots (13)$$

Sustituyendo (13) en (11):

$$\frac{a}{(k_2 - a)} \cdot \frac{dz}{z} = \frac{dx}{x} \quad \dots (14)$$

Integrando:

$$\frac{a}{(k_2 - a)} \cdot \int_{z_0}^z \frac{dz}{z} = \int_{x_0}^x \frac{dx}{x} \quad \dots (15)$$

$$\frac{a}{(k_2 - a)} \cdot [\ln z]_{z_0}^z = [\ln x]_{x_0}^x \quad \dots (16)$$

$$\frac{a}{(k_2 - a)} \cdot \left[ \ln \left( \frac{z}{z_0} \right) \right] = \ln \left( \frac{x}{x_0} \right) \quad \dots (17)$$

Reescribiendo se obtiene:

$$\left[ \frac{z}{z_0} \right]^{\frac{a}{(k_2 - a)}} = \left[ \frac{x}{x_0} \right] \quad \dots (18)$$

Sea:

$$m = \frac{a}{(k_2 - a)} \quad \dots (19)$$

Entonces:

$$\left[ \frac{z}{z_0} \right]^m = \left[ \frac{x}{x_0} \right] \quad \dots (20)$$

Sustituyendo el valor original de  $z$  (12) y  $m$  en (20):

$$\frac{\left[ \begin{pmatrix} 1 \\ m \end{pmatrix} \cdot \frac{y}{x} - \frac{p}{a} \right]^m}{\left[ \begin{pmatrix} 1 \\ m \end{pmatrix} \cdot \frac{y_0}{x_0} - \frac{p}{a} \right]^m} = \frac{x}{x_0} \quad \dots (21)$$

Sustituyendo ahora el valor original de  $n$  (6) en (21):

$$\frac{\left[ \begin{pmatrix} 1 \\ m \end{pmatrix} \cdot \frac{y}{x} - \frac{p}{a} \right]^m}{\left[ \begin{pmatrix} 1 \\ m \end{pmatrix} \cdot \frac{y_0}{x_0} - \frac{p}{a} \right]^m} = \frac{x}{x_0} \quad \dots (22)$$

Reescribiendo y elevando ambos miembros de la ecuación al exponente  $1/m$ :

$$\left[ \begin{pmatrix} 1 \\ m \end{pmatrix} \cdot \frac{y}{x} - \frac{p}{a} \right] = \left[ \begin{pmatrix} 1 \\ m \end{pmatrix} \cdot \frac{y_0}{x_0} - \frac{p}{a} \right] \cdot \left[ \frac{x}{x_0} \right]^{\frac{1}{m}} \quad \dots (23)$$

Despejando la variable  $y$ :

$$y = \left[ \left[ \begin{pmatrix} 1 \\ m \end{pmatrix} \cdot \frac{y_0}{x_0} - \frac{p}{a} \right] \cdot \left( \frac{x}{x_0} \right)^{\frac{1}{m}} + \frac{p}{a} \right] \cdot m x \quad \dots (24)$$

Reescribiendo:

$$y = \left[ \left( \frac{y_0 a - p m x_0}{m x_0 a} \right) \cdot \left[ \frac{x}{x_0} \right]^{\frac{1}{m}} + \frac{p}{a} \right] \cdot m x \quad \dots (25)$$

$$y = \left( \frac{y_0 a - p m x_0}{x_0 a} \right) \cdot \frac{x^{\frac{1}{m} + 1}}{x_0^{\frac{1}{m}}} + \frac{p m x}{a} \quad \dots (26)$$

y como:

$$\frac{1}{m} + 1 = \frac{k_2 - a}{a} + 1 = \frac{k_2}{a} \quad \dots (27)$$

La ecuación (26) puede reescribirse también como:

$$Y = \left[ \frac{Y_0}{X_0} - \frac{p \cdot m}{a} \right] \cdot \frac{X^a}{X_0^a} + \frac{p \cdot m \cdot X}{a} \quad \dots (28)$$

Sustituyendo el valor original de  $m$ :

$$Y = \left[ \frac{Y_0}{X_0} - \frac{p}{k_2 - a} \right] \cdot \frac{X^a}{X_0^a} + \frac{p \cdot X}{k_2 - a} \quad \dots (29)$$

Puesto que:

$$\frac{X^a}{X_0^a} = \left( \frac{X}{X_0} \right)^a = \frac{X^a}{X_0^a} \quad \dots (30)$$

Entonces, sustituyendo en (29):

$$Y = \left[ \frac{Y_0}{X_0} - \frac{p}{k_2 - a} \right] \cdot \left( \frac{X}{X_0} \right)^a + \frac{p \cdot X}{k_2 - a} \quad \dots (31)$$

$$Y = \left[ Y_0 - \frac{p \cdot X_0}{k_2 - a} \right] \cdot \left[ \frac{X}{X_0} \right]^a + \frac{p \cdot X}{k_2 - a} \quad \dots (32)$$

De esta manera, (32) corresponde a la solución de la ecuación (5) cuando  $k_2 - a \neq 0$ .

Puesto que:

$$X' = - (p + k_1) X = - a X$$

entonces:

$$\frac{dX}{X} = - a dt \quad \dots (33)$$

Por tanto, al integrar:

$$\int_{x_0}^x \frac{dX}{X} = - a \int_0^t dt \quad \dots (34)$$

Se obtiene:

$$\ln X \Big|_{x_0}^x = - a \cdot [t]_0^t \quad \dots (35)$$

Por tanto:

$$\ln\left(\frac{x}{x_0}\right) = -a \cdot (t - 0) \quad \dots (36)$$

$$x_{(t)} = x_0 \cdot e^{-at} \quad \dots (37)$$

Así, (37) corresponde a la solución de la primera ecuación del sistema de ecuaciones (4). Sustituyendo esta ecuación en (32) se obtiene:

$$y = \left[ y_0 - \frac{p \cdot x_0}{k_2 - a} \right] \cdot \left[ \frac{x_0 \cdot e^{-at}}{x_0} \right]^k + \frac{p \cdot x_0 \cdot e^{-at}}{k_2 - a} \quad \dots (38)$$

$$y = \left( y_0 - \frac{p \cdot x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-k_2 t} + \frac{p \cdot x_0}{k_2 - a} \cdot e^{-at} \quad \dots (39)$$

Por tanto, el par de ecuaciones solución del sistema de ecuaciones diferenciales (4), para el caso general  $k_2 - a \neq 0$ , es:

$$\begin{aligned} x_{(t)} &= x_0 \cdot e^{-at} \\ y_{(t)} &= \left( y_0 - \frac{p \cdot x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-k_2 t} + \frac{p \cdot x_0}{k_2 - a} \cdot e^{-at} \quad \dots (40) \end{aligned}$$

Si la última ecuación de este sistema se divide a ambos lados de la igualdad por el volumen total de distribución del etanol (*Vol*), que corresponde aproximadamente al 70% del peso corporal, entonces esta ecuación indicará, en lugar de solo la cantidad, la dinámica de la concentración de etanol en sangre<sup>30</sup>.

$$[y]_{(t)} = \frac{y_{(t)}}{Vol} = \frac{1}{Vol} \cdot \left[ \left( y_0 - \frac{p \cdot x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-k_2 t} + \frac{p \cdot x_0}{k_2 - a} \cdot e^{-at} \right] \dots (40a)$$

El cuadro 1, desarrolla una demostración en la que se comprueba que efectivamente el sistema de ecuaciones (40) corresponde a una solución del sistema de ecuaciones diferenciales propuesto.

<sup>30</sup> Implícitamente se asume que la distribución de etanol en el cuerpo alcanza un equilibrio rápido y una distribución homogénea.

**Cuadro 1:** Verificación del sistema de ecuaciones (40) como una solución al sistema de ecuaciones diferenciales propuesto.

Dado el sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{aligned} \dot{x} &= - (p + k_1) x = - a x \\ \dot{y} &= p x - k_2 y \end{aligned}$$

Se propone como solución del mismo el sistema de ecuaciones:

$$\begin{aligned} x_{(t)} &= x_0 \cdot e^{-at} \\ y_{(t)} &= \left( y_0 - \frac{p x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-k_2 t} + \frac{p x_0}{k_2 - a} \cdot e^{-at} \end{aligned}$$

Derivando este sistema de ecuaciones contra tiempo, se obtiene:

$$\begin{aligned} \dot{x} &= - a x_0 \cdot e^{-at} = - a x = - (p + k_1) x \\ \dot{y} &= - k_2 \cdot \left( y_0 - \frac{p x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-k_2 t} - a \left( \frac{p x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-at} \end{aligned}$$

Con lo cual se demuestra que efectivamente, la primera ecuación  $x_{(t)}$  corresponde a la solución de  $dx/dt$ .

Por lo que se refiere a  $dy/dt$ , sumando y restando  $k_2 \cdot (p \cdot x_0 / (k_2 - a)) \cdot e^{-at}$  se tiene:

$$\begin{aligned} \dot{y} &= - k_2 \left( y_0 - \frac{p x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-k_2 t} - k_2 \left( \frac{p x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-at} + k_2 \left( \frac{p x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-at} - a \left( \frac{p x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-at} \\ \dot{y} &= - k_2 \left[ \left( y_0 - \frac{p x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-k_2 t} + \left( \frac{p x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-at} \right] + (k_2 - a) \left( \frac{p x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-at} \end{aligned}$$

Cancelando los términos semejantes:

$$\dot{y} = - k_2 \left[ \left( y_0 - \frac{p x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-k_2 t} + \left( \frac{p x_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-at} \right] + p x_0 \cdot e^{-at}$$

Sustituyendo finalmente por los valores originales de  $y_{(t)}$  y  $x_{(t)}$ , se demuestra que la solución propuesta es correcta.

$$\dot{y} = -k_2 y + p x$$

**Caso particular:**

$$k_2 - a = 0 \quad \Rightarrow \quad k_2 = p + k_1$$

Este caso en particular es poco probable que se presente en una situación real, ya que teóricamente siempre existirá alguna diferencia entre dos parámetros experimentales; sin embargo, es conveniente considerar esta posibilidad ya que representa una situación en la cual el sistema de ecuaciones solución (40) anteriormente desarrollado no se aplica<sup>29</sup>.

De la ecuación (10) se estableció que:

$$\frac{dx}{x} = \frac{a \cdot du}{-p + (k_2 - a) u}$$

Si  $k_2 = p + k_1$ , entonces esta ecuación se transforma en:

$$\frac{dx}{x} = \frac{a \cdot du}{-p} \quad \dots \dots (41)$$

Rearreglando se obtiene:

$$du = \frac{-p}{a} \cdot \frac{dx}{x} \quad \dots \dots (42)$$

Por lo que al integrar esta última ecuación:

$$\int_{u_0}^u du = \frac{-p}{a} \cdot \int_{x_0}^x \frac{dx}{x} \quad \dots \dots (43)$$

$$u \Big|_{u_0}^u = \frac{-p}{a} \cdot \left[ \ln x \right]_{x_0}^x \quad \dots \dots (44)$$

$$u - u_0 = \frac{-p}{a} \cdot \left[ \ln \frac{x}{x_0} \right] \quad \dots \dots (45)$$

<sup>29</sup> Este tipo de limitaciones suele ignorarse en la mayor parte de los trabajos en donde se desarrollan o aplican modelos de farmacocinética. Inclusive los textos clásicos de farmacocinética presentan erróneamente las ecuaciones solución como si se aplicaran en cualquier situación (e.g. Rowland & Tozer, 1989; Goodman Gilman *et al.*, 1990; Wingard Jr, *et al.*, 1991). Son excepcionales los trabajos donde se analizan este tipo de cuestiones (e.g. Welling, 1986).

Sustituyendo el valor original de  $u$ :

$$\frac{y}{x} - \frac{y_0}{x_0} = -\frac{p}{a} \cdot \left[ \ln \frac{x}{x_0} \right] \quad \dots (46)$$

despejando  $y_{(t)}$  se obtiene:

$$y = \left[ -\frac{p}{a} \cdot \left( \ln \frac{x}{x_0} \right) + \frac{y_0}{x_0} \right] \cdot x \quad \dots (47)$$

Y puesto que:

$$x_{(t)} = x_0 \cdot e^{-at}$$

Sustituyendo esta equivalencia en la ecuación (46):

$$y_{(t)} = \left[ -\frac{p}{a} \cdot \left( \ln \left( \frac{x_0 \cdot e^{-at}}{x_0} \right) \right) + \frac{y_0}{x_0} \right] \cdot x_0 \cdot e^{-at} \quad \dots (47)$$

$$y_{(t)} = \left[ -\frac{p}{a} \cdot (-at) + \frac{y_0}{x_0} \right] \cdot x_0 \cdot e^{-at} \quad \dots (48)$$

$$y_{(t)} = \left[ pt + \frac{y_0}{x_0} \right] \cdot x_0 \cdot e^{-at} \quad \dots (49)$$

Esta última ecuación también puede reescribirse como:

$$y_{(t)} = \left[ x_0 pt + y_0 \right] \cdot e^{-at} \quad \dots (50)$$

Por tanto, para el caso en que  $k_2 = a = p + k_1$ , la solución del sistema de ecuaciones diferenciales (4) es:

$$\begin{aligned} x_{(t)} &= x_0 \cdot e^{-at} \\ y_{(t)} &= \left[ x_0 pt + y_0 \right] \cdot e^{-at} \end{aligned} \quad \dots (51)$$



Este último sistema de ecuaciones es muy diferente del primer sistema solución (40), puesto que existe un término lineal que no se presentó antes, aunque el comportamiento cualitativo de ambos sistemas es muy similar. Es importante llamar la atención sobre el hecho de que el primer sistema solución (40), no se aplica para el caso  $k_2 = a$ , ya que en esta situación, los términos exponenciales de  $Y(t)$  se cancelan, prediciendo erróneamente una absorción nula de etanol hacia el segundo compartimento.

El cuadro 2, desarrolla una demostración en la que se comprueba que efectivamente el sistema de ecuaciones (51) corresponde a una solución del sistema de ecuaciones diferenciales originalmente propuesto.

**Cuadro 2:** Verificación del sistema de ecuaciones (51) como una solución al sistema de ecuaciones diferenciales propuesto.

Dado el sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\dot{x} = -(p + k_1)x$$

$$\dot{y} = px - k_2y$$

Se propone como solución del mismo el sistema de ecuaciones:

$$x(t) = x_0 \cdot e^{-(p+k_1)t}$$

$$y(t) = [x_0 p t + y_0] \cdot e^{-(p+k_1)t}$$

Derivando este sistema de ecuaciones contra tiempo, se obtiene:

$$\dot{x} = -(p + k_1)x_0 \cdot e^{-(p+k_1)t} = -(p + k_1)x$$

$$\dot{y} = e^{-(p+k_1)t} [x_0 p] + [x_0 p t + y_0] \cdot (-(p+k_1) \cdot e^{-(p+k_1)t})$$

Con lo cual se demuestra que efectivamente la primera ecuación es correcta. Por lo que se refiere a la segunda ecuación, esta se puede reescribir como:

$$\dot{y} = px_0 e^{-(p+k_1)t} - (p+k_1)[x_0 p t + y_0] \cdot e^{-(p+k_1)t}$$

**Cuadro 2: Continuación.**

Sustituyendo los valores originales de  $x_{(t)}$  y  $y_{(t)}$  se tiene:

$$x' = p x - (p + k_1) y$$

Y puesto que  $k_2 = p + k_1$ :

$$x' = p x - k_2 y$$

Con lo cual se verifica que la solución es correcta.

**Análisis cualitativo del modelo:**

Una vez resuelto el sistema de ecuaciones diferenciales (4), se procedió a analizar con detalle el comportamiento teórico del par de sistemas de ecuaciones solución (40 y 51), con la finalidad de obtener una mayor comprensión del modelo, y lograr una mejor interpretación de los resultados proporcionados por éste al ajustarlo a los datos experimentales. Para ello, inicialmente, se efectuaron simulaciones numéricas en los dos sistemas de ecuaciones solución, tanto con el caso general (40) como con el caso particular (51), observando gráficamente, el efecto de diferentes condiciones iniciales sobre las curvas de etanol contra tiempo.

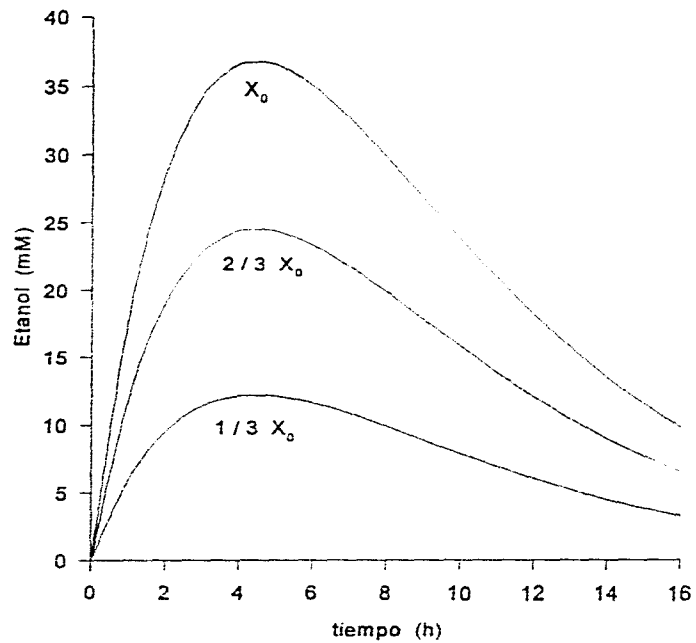
**Efecto de la dosis inicial de etanol:** La Figura 14 muestra el curso temporal de la concentración de etanol en sangre predicha por los sistemas de ecuaciones solución (40) y (51) a diferentes dosis de etanol inicial. En ella puede observarse que ambos sistemas de ecuaciones solución presentan un comportamiento similar al seleccionar valores parecidos en los parámetros cinéticos de las ecuaciones solución<sup>31</sup>. Por otra parte, en lo que se refiere al efecto de las diferentes dosis iniciales de etanol, es muy notorio su efecto sobre las áreas bajo la curva y la concentración máxima de etanol alcanzada.

**Efecto de la velocidad de absorción:** Si lo que se modifica ahora es el parámetro  $p$ , que determina la velocidad de absorción de etanol de un compartimento a otro, las curvas que se obtienen se muestran en la Figura 15. En ella puede observarse que conforme decrece el valor del parámetro  $p$ , la pendiente inicial de las curvas disminuye al igual que la concentración máxima y el área bajo la curva; además, el tiempo al cual se alcanza la máxima concentración aumenta y lo

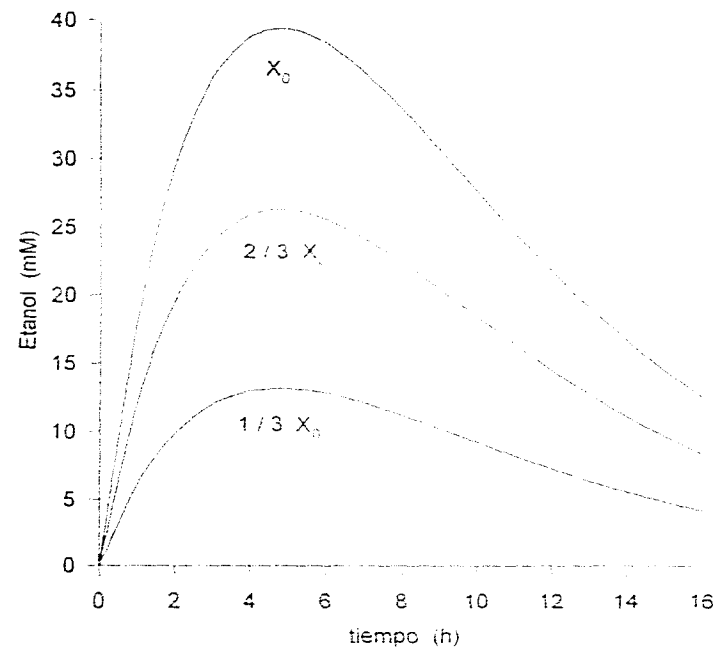
---

<sup>31</sup> Recuérdese que no es posible seleccionar valores idénticos para los parámetros cinéticos al efectuar la comparación entre ambos sistemas, ya que es imposible cumplir simultáneamente las condiciones  $k_2 \neq p + k_1$  y  $k_2 = p + k_1$ .

a

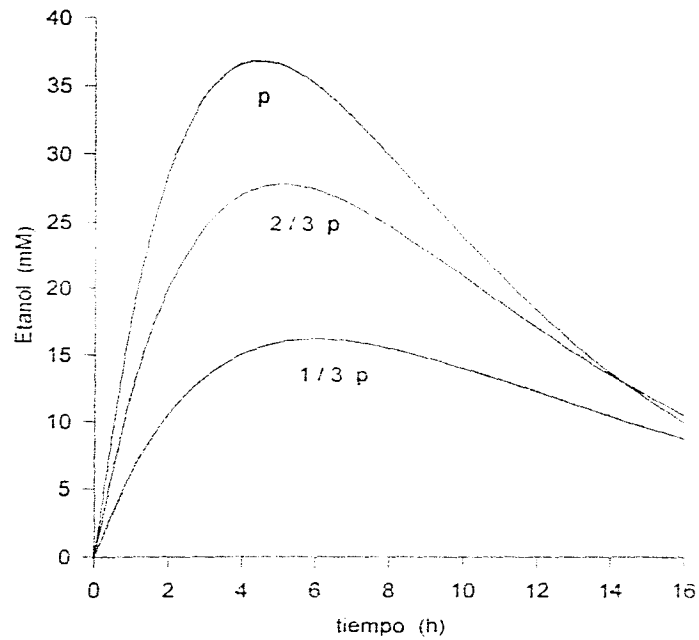


b

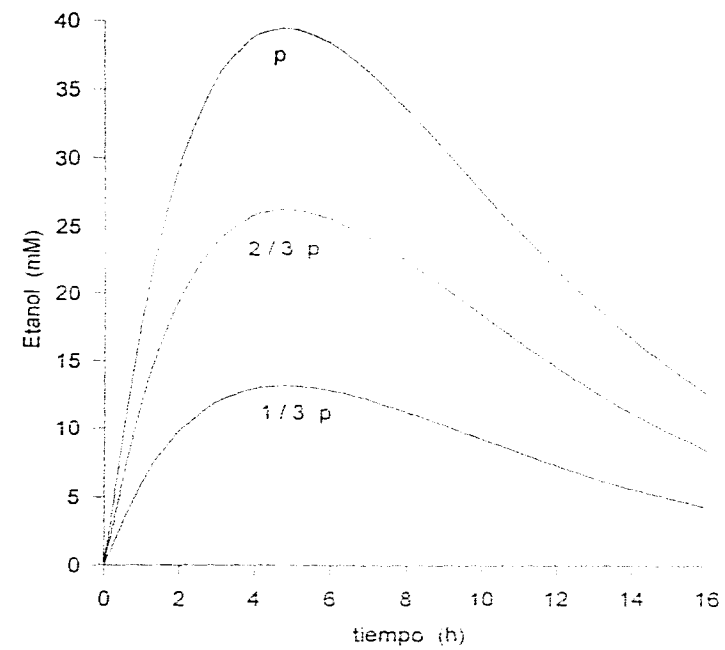


**Figura 14.** Curso temporal de la concentración de etanol en sangre a diferentes dosis iniciales de etanol: **a)** Simulación realizada con el sistema de ecuaciones (40: caso general) considerando las siguientes condiciones:  $p=0.15$ ;  $k_1=0.06$ ;  $k_2=0.24$ ,  $X_0=21.7 \text{ mmol} / 0.14 \text{ L}$ ; **b)** Simulación realizada con el sistema de ecuaciones (51: caso particular), considerando las siguientes condiciones:  $p = 0.15$ ;  $k_1 = 0.06$ ;  $k_2 = 0.21$ ;  $X_0 / \text{Vol} = 21.7 \text{ mmol} / 0.14 \text{ L}$ .

a



b



**Figura 15.** Efecto de las variaciones en el parámetro cinético de absorción  $p$ , sobre las curvas de etanol en sangre: **a)** caso general, sistema de ecuaciones (40) y **b)** caso particular, sistema de ecuaciones (51); en esta última simulación se mantuvo constante el parámetro de oxidación hepática  $k_2$ , lo que implicó necesariamente modificar de manera implícita el parámetro de oxidación de primer paso  $k_1$ , ya que en este sistema se debe cumplir la condición  $k_2 = p + k_1$ . Las condiciones iniciales de las simulaciones son idénticas a las de la figura 14.

más significativo, es que para el caso general, el valor de la pendiente en la aparente "fase de eliminación" disminuye sensiblemente, dando la impresión falsa de una menor velocidad de oxidación cuando ésta no se ha modificado<sup>32</sup>. Esto se observa más claramente cuando se grafican esos mismos datos en escala semilogarítmica (ver Figura 16), ya que en estas condiciones, se supone de acuerdo con algunos autores (e.g. Wellings, 1986), que "la porción terminal de la curva está dominada exclusivamente por la cinética de eliminación en hígado". La Figura 16 demuestra claramente que esta última afirmación es falsa si se producen modificaciones en la velocidad de absorción<sup>33</sup>. Esto implica que las estimaciones modelo-independiente de la velocidad de oxidación *in vivo*, a partir de la sola medición de la pendiente en la fase final de eliminación, pueden estar significativamente distorsionadas por alteraciones en la velocidad de absorción, e inducir a conclusiones totalmente erróneas. Este problema afecta en potencia, a la mayor parte de los reportes sobre mediciones *in vivo* del metabolismo de etanol, por lo que deben ser revisadas cuidadosamente antes de ser consideradas como válidas (e. g. Wendell y Thurman, 1979; Adachi *et al.*, 1989; Zorzano y Herrera, 1990. Faulkner *et al.*, 1990; Roine *et al.*, 1991; Panès *et al.*, 1992; Yap *et al.*, 1993; Smith *et al.*, 1993; Bradford *et al.*, 1993).

**Efecto del metabolismo hepático:** La oxidación de etanol en el hígado está determinada por el valor del parámetro cinético de primer orden  $k_2$ . La Figura 17 muestra las curvas de etanol en sangre que se obtienen al modificar este parámetro, en ella puede observarse que conforme se incrementa  $k_2$ , el área bajo la curva y el máximo de etanol en sangre disminuyen; además, el tiempo al cual se alcanza el máximo de concentración de etanol también disminuye y, paradójicamente, la pendiente en la fase de eliminación disminuye conforme el metabolismo hepático aumenta, esta última observación refuerza aún más los argumentos antes expuestos sobre la poca utilidad del valor de la pendiente en la fase de eliminación, como una herramienta para estimar la capacidad metabólica *in vivo*.

**Efecto del metabolismo de primer paso:** Este metabolismo está determinado por el valor del parámetro  $k_1$ ; la Figura 18 ilustra la modificación que se observa en las curvas de etanol en sangre al modificar este parámetro en el sistema de ecuaciones (40), que corresponde al caso general, en ella se observa al disminuir el valor de  $k_1$ , el área bajo la curva se incrementa al igual que la concentración máxima de etanol y el tiempo que se requiere para alcanzar el máximo.

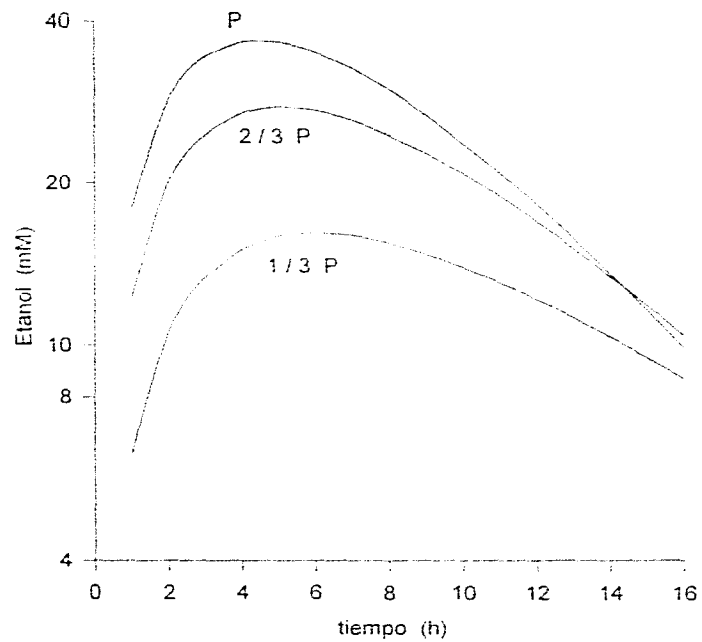
En el caso del sistema de ecuaciones (51), no se elaboraron curvas debido a que las Figuras 4 y 6 ya contienen cambios en el valor del parámetro cinético  $k_1$ , puesto que no es posible modificar de manera independiente los parámetros  $p$  o  $k_2$ . La Figura 15 muestra un incremento en

---

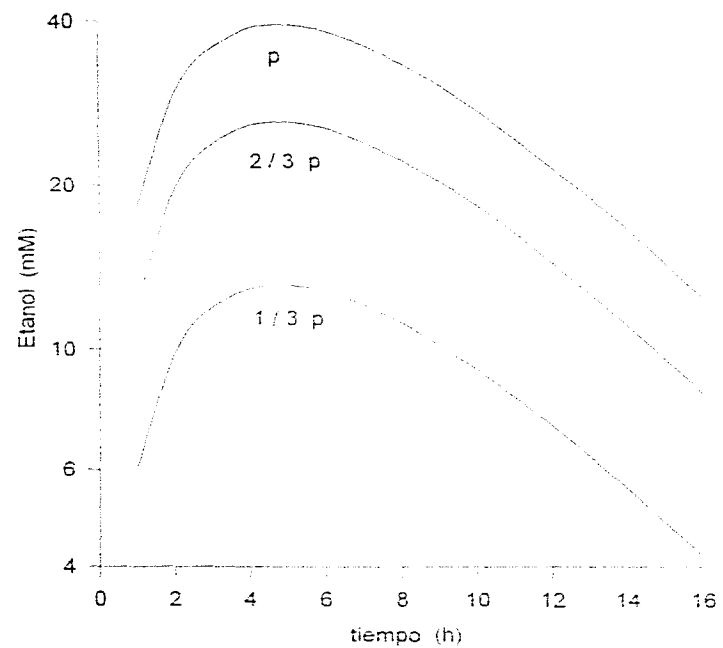
<sup>32</sup> Esto es especialmente válido para el caso general (Fig. 15a); para el caso particular (Fig. 15b), es conveniente recordar que la condición  $k_2 = p + k_1$  implica necesariamente que al disminuir el valor del parámetro  $p$ , el coeficiente  $k_2$  debe disminuir, o el parámetro  $k_1$  aumentar en la misma proporción (ver aclaración al pie de la Figura 15).

<sup>33</sup> El caso particular  $k_2 = p + k_1$ , no tiene este problema como puede observarse también en la Figura 16, sin embargo es poco probable que este caso se aplique a una situación real en comparación con el caso general.

a

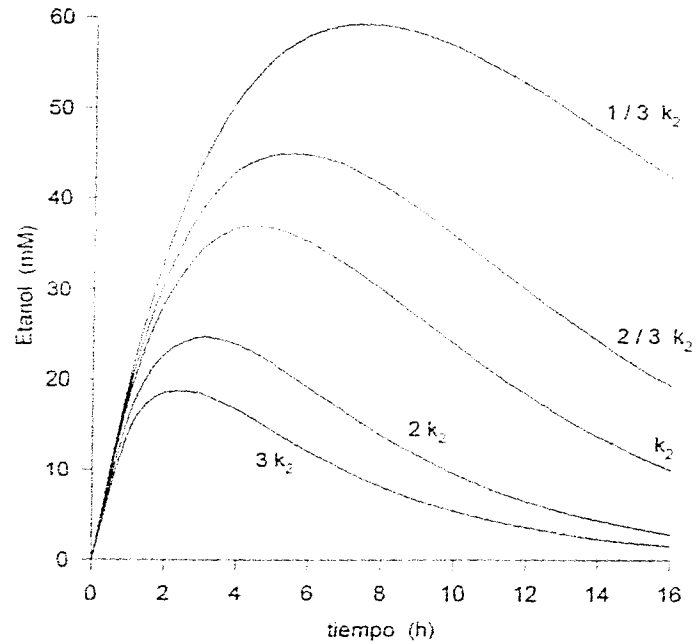


b

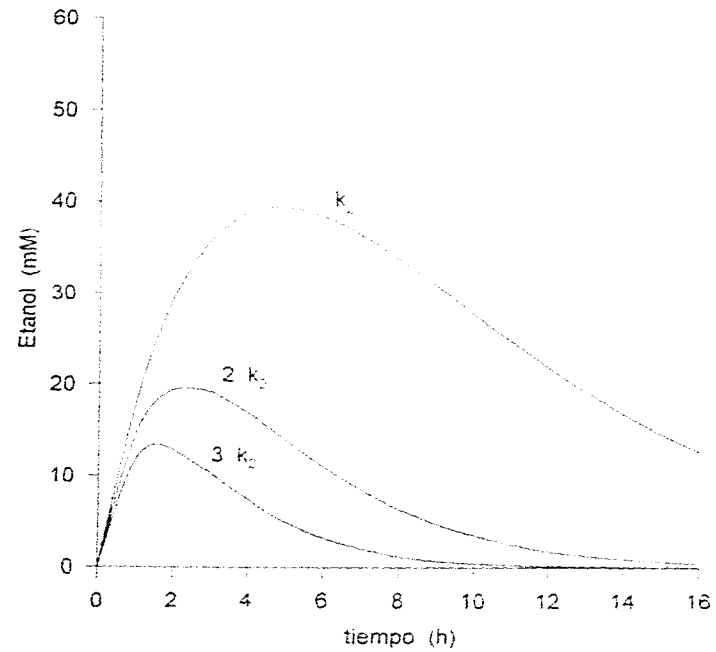


**Figura 16.** Efecto de las variaciones en el parámetro cinético de absorción  $p$ , sobre las curvas de etanol en sangre a escala semilogarítmica. Estas curvas corresponden solo a un regráfico de la Figura 15.

a

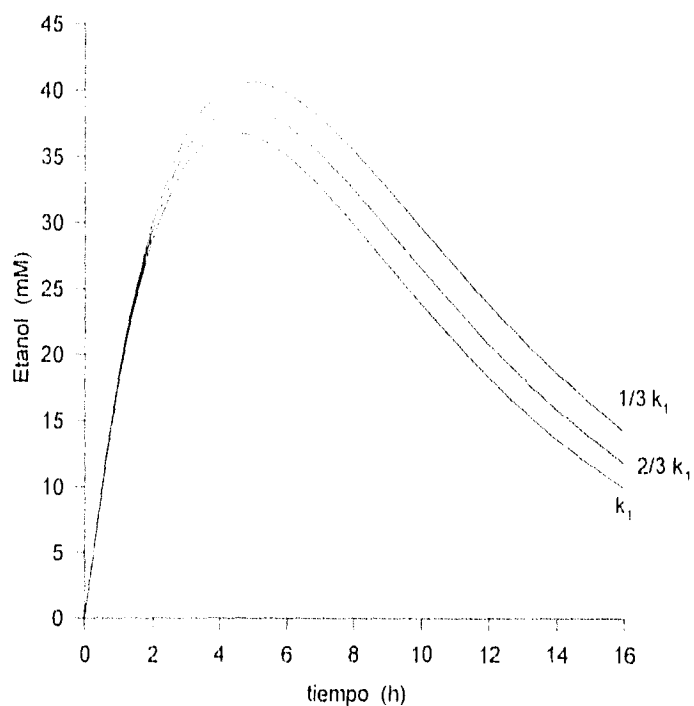


b



**Figura 17.** Efecto de las modificaciones en el metabolismo hepático sobre las curvas de etanol en sangre: **a)** caso general, sistema de ecuaciones (40) y **b)** caso particular, sistema de ecuaciones (51); en esta última simulación se mantuvo constante el parámetro cinético de absorción  $p$ , lo que modificó implícitamente el parámetro de oxidación de primer paso  $k_1$ , ya que en este sistema se debe cumplir la condición  $k_2 = p + k_1$ . Las condiciones iniciales de las simulaciones son idénticas a las de la Figura 14.

el valor de  $k$ , conforme el valor del parámetro  $\rho$  disminuye, y la Figura 17 muestra también incrementos en el valor de  $k$ , conforme  $k_2$  aumenta.



**Figura 18.** Efecto de las modificaciones en el metabolismo de primer paso sobre las curvas de etanol en sangre determinadas por el sistema de ecuaciones (40: caso general). Las condiciones iniciales de la simulación son idénticas a las de la Figura 14.



**Análisis matemático del modelo.**

En forma paralela al análisis gráfico de los sistemas de ecuaciones solución, se estudió analíticamente la relación entre los parámetros cinéticos y algunas características de las curvas de etanol en sangre, con la idea de adquirir una visión más integral de los sistemas de ecuaciones solución.

**Tiempo al que se alcanza la concentración máxima de etanol en sangre.** Matemáticamente esto ocurre cuando la derivada de la concentración de etanol en sangre con respecto al tiempo es igual a cero, por tanto, derivando con respecto al tiempo cada una de las ecuaciones solución se tiene:

Caso general:  $k_2 \neq p + k_1$ .

La ecuación solución correspondiente a este caso es:

$$Y(t) = \left( Y_0 - \frac{p X_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-k_2 t} + \frac{p X_0}{k_2 - a} \cdot e^{-a t} \quad \dots (40)$$

Derivando con respecto al tiempo:

$$Y' = -k_2 \left( Y_0 - \frac{p X_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-k_2 t} - (p + k_1) \cdot \frac{p X_0}{k_2 - a} \cdot e^{-a t} \quad \dots (52)$$

Igualando esta última ecuación a cero, y considerando que en nuestras condiciones experimentales  $Y_0 = 0$ , se tiene:

$$Y' = +k_2 \left( \frac{p X_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-k_2 t} - a \cdot \frac{p X_0}{k_2 - a} \cdot e^{-a t} = 0 \quad \dots (53)$$

$$k_2 \left( \frac{p X_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-k_2 t} = a \cdot \frac{p X_0}{k_2 - a} \cdot e^{-a t} \quad \dots (54)$$

$$k_2 \cdot e^{-k_2 t} = a \cdot e^{-a t} \quad \dots (55)$$

Por tanto:

$$\ln(k_2) - k_2 t = \ln(a) - a t \quad \dots (56)$$

Despejando finalmente  $t$ , y recordando que  $a = p + k_1$ :

$$t = \frac{\ln\left(\frac{a}{k_2}\right) - \ln\left(\frac{p + k_1}{k_2}\right)}{a - k_2} = \frac{\ln\left(\frac{p + k_1}{k_2}\right)}{(p + k_1) - k_2} \quad \dots (57)$$

De esta manera, el tiempo al cual la concentración de etanol es máxima, depende exclusivamente de los parámetros cinéticos  $p$ ,  $k_1$  y  $k_2$ , y es independiente de la dosis inicial de etanol.

Caso particular:  $k_2 = p + k_1$ .

La ecuación solución correspondiente a este caso es:

$$Y_{(t)} = [x_0 p t + Y_0] \cdot e^{-at} \quad \dots (51)$$

Derivando con respecto al tiempo y sustituyendo  $p + k_1$  por  $k_2$  se obtiene:

$$\dot{Y} = (x_0 p) e^{-k_2 t} + x_0 p t (-k_2) e^{-k_2 t} - k_2 Y_0 e^{-k_2 t} \quad \dots (58)$$

Igualando esta última ecuación a cero y considerando que en nuestras condiciones experimentales  $Y_0 = 0$ :

$$\dot{Y} = [(x_0 p) - (k_2 x_0 p t)] \cdot e^{-k_2 t} = 0 \quad \dots (59)$$

En condiciones de tiempo finito, esta última ecuación será igual a cero sólo si el término entre paréntesis es nulo, es decir, cuando:

$$(x_0 p) - (k_2 x_0 p t) = 0$$

Por tanto:

$$k_2 t = 1$$

$$t = \frac{1}{k_2} = \frac{1}{p + k_1} \quad \dots (60)$$

De esta manera, al igual que en el caso general, el tiempo al cual se alcanza el máximo depende exclusivamente de los parámetros cinéticos y no de la dosis inicial.

Es importante recalcar que, si bien esta última ecuación (60) es fácilmente utilizable, la ecuación (57) que corresponde al caso general, es mucho más compleja y difícil de resolver, por lo que ésta ecuación tiene poca utilidad práctica para evaluar los parámetros cinéticos experimentales.

**Valor de la concentración máxima de etanol:** El tiempo al cual se alcanza la concentración máxima está dado por las ecuaciones (57) para el caso general, y (60) para el caso particular, por lo que sustituyendo estos valores en sus respectivas ecuaciones se obtiene:

Caso general:  $k_2 \neq p + k_1$ .

La ecuación solución correspondiente es:

$$Y(t) = \left( Y_0 - \frac{pX_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-k_2 t} + \frac{pX_0}{k_2 - a} \cdot e^{-at} \quad \dots (40)$$

Considerando que en nuestras condiciones experimentales  $Y_0 = 0$ , esta ecuación puede reescribirse como:

$$Y(t) = \left( \frac{pX_0}{k_2 - a} \right) \cdot [-e^{-k_2 t} + e^{-at}] \quad \dots (61)$$

Sustituyendo el valor de  $t$  de la ecuación (57) en (61) se tiene:

$$Y(t) = \left( \frac{pX_0}{k_2 - a} \right) \cdot \left[ e^{-\frac{a}{k_2} \ln\left(\frac{a}{k_2}\right)} - e^{-\frac{k_2}{k_2} \ln\left(\frac{a}{k_2}\right)} \right] \quad \dots (62)$$

$$Y(t) = \left( \frac{pX_0}{k_2 - a} \right) \cdot \left[ e^{\ln\left(\frac{a}{k_2}\right) \frac{-a}{k_2}} - e^{\ln\left(\frac{a}{k_2}\right) \frac{-k_2}{k_2}} \right] \quad \dots (63)$$

$$Y_{\max} = \frac{p X_0}{k_2 - a} \left[ \left( \frac{a}{k_2} \right)^{a/k_2} - \left( \frac{a}{k_2} \right)^{a/k_1} \right] \quad \dots (64)$$

Así, la concentración máxima de etanol para el caso general, es directamente proporcional a la dosis inicial de etanol, y es una función compleja de los parámetros cinéticos  $k_1$ ,  $k_2$  y  $p$ .

Caso particular:  $k_2 = p + k_1$ .

La ecuación solución correspondiente a este caso es:

$$Y(t) = [X_0 p t + Y_0] \cdot e^{-k_2 t} \quad \dots (51)$$

Sustituyendo el valor de  $t$  (60) correspondiente a la máxima concentración de etanol en esta última ecuación, y considerando que en nuestras condiciones experimentales  $Y_0 = 0$ , se tiene:

$$Y_{\max} = \left[ X_0 p \left( \frac{1}{k_2} \right) \right] \cdot e^{-k_2 \frac{1}{k_2}} \quad \dots (65)$$

$$Y_{\max} = \left[ \frac{X_0 p}{k_2} \right] \cdot e^{-1} \quad \dots (66)$$

$$Y_{\max} = \frac{X_0 p}{k_2 e} = \frac{X_0 p}{(p + k_1) e} \quad \dots (67)$$

En este caso, la concentración máxima de etanol es directamente proporcional a la dosis inicial de etanol y la relación  $p/k_2$  (coeficiente de absorción sobre coeficiente de oxidación hepática). De cualquier manera, aunque esta última ecuación es sencilla y fácil de interpretar, el caso general (64) que debe corresponder a la mayor parte de las situaciones experimentales, es una ecuación complicada y por lo mismo, poco útil desde un punto de vista práctico.

**Pendiente inicial de las curvas de etanol en sangre.** Esta pendiente corresponde al valor inicial de la derivada de etanol en sangre con respecto al tiempo, en el instante inicial  $t = 0$ .

Caso general:  $k_2 \neq p + k_1$ .

De la ecuación (52), sabemos que la derivada de  $Y_{ij}$  es:

$$y' = -k_2 \left( y_0 - \frac{p X_0}{k_2 - a} \right) \cdot e^{-k_2 t} - (p + k_1) \cdot \frac{p X_0}{k_2 - a} \cdot e^{-at} \quad (52)$$

Por lo que sustituyendo  $t = 0$  y  $Y_0 = 0$  se obtiene:

$$y' = \frac{k_2 p X_0}{k_2 - a} - \frac{a p X_0}{k_2 - a} \quad \dots \dots (68)$$

$$y' = p X_0 \left[ \frac{k_2}{k_2 - a} - \frac{a}{k_2 - a} \right] \quad \dots \dots (69)$$

Por tanto:

$$y' = p X_0 \quad \dots \dots (70)$$

La velocidad inicial de entrada de etanol del primer al segundo compartimento depende exclusivamente del parámetro de absorción  $p$  y la dosis inicial  $X_0$ , lo que implica que gráficamente es posible estimar el valor del coeficiente de absorción a partir de las curvas de etanol contra tiempo, y es independiente del metabolismo hepático y de primer paso.

Caso particular:  $k_2 = p + k_1$ .

De la ecuación (58), sabemos que la derivada con respecto al tiempo de la ecuación solución correspondiente a este caso es:

$$y' = (x_0 p) e^{-k_2 t} + x_0 p t (-k_2) e^{-k_2 t} - k_2 y_0 e^{-k_2 t} \quad \dots (58)$$

Sustituyendo el valor de  $t = 0$  y definiendo  $Y_0 = 0$  se obtiene:

$$Y = p \cdot X_0$$

Esta ecuación es idéntica a la ecuación (70) obtenida para el caso general. Por tanto, el valor de la pendiente inicial de las curvas de etanol en sangre ante una dosis dada de etanol representa la magnitud del coeficiente de absorción, independientemente del sistema de ecuaciones que se aplique.

**Área bajo la curva (AUC):** El área bajo la curva de la concentración de etanol como función del tiempo, es un indicador importante puesto que señala el grado de exposición a etanol, y matemáticamente equivale a la integral de la concentración de etanol con respecto al tiempo.

Caso general:  $k_2 \neq p \cdot k_1$ .

De la ecuación (61), se estableció que si la concentración de  $Y_0 = 0$ , entonces la ecuación solución correspondiente puede escribirse como:

$$Y(t) = \left( \frac{p \cdot X_0}{k_2 - a} \right) \cdot \left[ e^{-k_2 t} + e^{-at} \right] \quad \dots (61)$$

Por lo que entonces, el área bajo la curva (AUC) debe ser equivalente a:

$$AUC = \int_0^{\infty} \frac{Y(t)}{\text{vol}} \cdot dt = \frac{1}{\text{vol}} \int_0^{\infty} \left( \frac{p \cdot X_0}{k_2 - a} \right) \cdot \left[ e^{-k_2 t} + e^{-at} \right] dt \quad \dots (71)$$

Esta ecuación puede reescribirse como:

$$AUC = \int_0^{\infty} [y] dt = \int_0^{\infty} \frac{Y}{\text{Vol}} dt = \frac{1}{\text{Vol}} \cdot \left( \frac{p \cdot X_0}{k_2 - a} \right) \left[ \int_0^{\infty} e^{-at} \cdot dt + \int_0^{\infty} e^{-k_2 t} \cdot dt \right] \quad \dots (72)$$

Sea

$$f = -at \quad \text{y} \quad g = -k_2 t$$

entonces:

$$df = -a dt \quad \text{y} \quad dg = -k_2 dt$$

Sustituyendo en (72):

$$AUC = \frac{1}{Vol} \cdot \left( \frac{p X_0}{k_2 - a} \right) \left[ \int_0^{\infty} \frac{e^{-at}}{-a} \cdot df - \int_0^{\infty} \frac{e^{-k_2 t}}{k_2} \cdot dg \right] \quad \dots (73)$$

Por tanto:

$$AUC = \frac{1}{Vol} \cdot \left( \frac{p X_0}{k_2 - a} \right) \left[ -\frac{1}{a} \left[ e^{-at} \right]_0^{\infty} + \frac{1}{k_2} \left[ e^{-k_2 t} \right]_0^{\infty} \right] \quad \dots (74)$$

Sustituyendo por el valor original de  $f$  y  $g$

$$AUC = \frac{1}{Vol} \cdot \left( \frac{p X_0}{k_2 - a} \right) \left[ -\frac{1}{a} \left[ e^{-at} \right]_0^{\infty} + \frac{1}{k_2} \left[ e^{-k_2 t} \right]_0^{\infty} \right] \quad \dots (75)$$

$$AUC = \frac{1}{Vol} \cdot \left( \frac{p X_0}{k_2 - a} \right) \left[ -\frac{1}{a} [-1] + \frac{1}{k_2} [-1] \right] \quad \dots (76)$$

$$AUC = \frac{1}{Vol} \cdot \left( \frac{p X_0}{k_2 - a} \right) \left[ \frac{k_2 - a}{k_2 a} \right] \quad \dots (77)$$

Por lo que finalmente se obtiene:

$$AUC = \frac{1}{Vol} \cdot \left( \frac{p X_0}{k_2 a} \right) = \frac{X_0}{Vol} \cdot \left( \frac{p}{k_2 (p + k_1)} \right) \quad \dots (78)$$

De esta manera es claro que el área bajo la curva es directamente proporcional a la dosis inicial de etanol, e inversamente proporcional a la constante de oxidación hepática y al volumen de distribución del etanol; y por lo que se refiere a los parámetros  $p$  y  $k_1$ , el área bajo la curva es proporcional a la relación  $p/(p + k_1)$ .

Nótese que si  $k_1 \ll p$ , entonces los términos  $p$  y  $k_1$  desaparecen de la ecuación (78), y esta se convierte en:

$$AUC = \frac{X_0}{Vol \cdot k_2} \quad \dots (79)$$

ecuación que es idéntica a la descrita por Wellings (1986), para un modelo que considera cinéticas de absorción y eliminación de primer orden sin metabolismo de primer paso. En esta última ecuación, el área bajo la curva es independiente de la velocidad de absorción, por lo que, de manera general en gran parte de los trabajos en donde se estudia el metabolismo de primer paso del etanol, se supone que la diferencia en el área bajo la curva al administrar etanol por vía intravenosa y orogástrica, responden exclusivamente al metabolismo de primer paso en estómago e hígado (e. g. Julkunen *et al.*, 1985; DiPadova *et al.*, 1987; Caballería *et al.*, 1989; Hernández-Muñoz *et al.*, 1990; Frezza *et al.*, 1990; Roine *et al.*, 1991). Esta interpretación es incorrecta a la luz de la ecuación (78), en donde se demuestra que cuando existe metabolismo de primer paso, el área bajo la curva depende tanto del coeficiente de absorción ( $p$ ), como del de metabolismo de primer paso ( $k_1$ ), y si consideramos que entre una dosificación orogástrica y una intravenosa, existen notables diferencias en la velocidad de absorción del etanol, es claro que las diferencias en las áreas bajo la curva pueden ser explicadas sin necesidad de implicar modificaciones en el metabolismo de primer paso.

Caso particular:  $k_2 = p + k_1$ .

La ecuación solución correspondiente a este caso es:

$$y_{(t)} = [x_0 p t + y_0] \cdot e^{-k_2 t} \quad \dots (51)$$

considerando que en nuestras condiciones experimentales  $y_0 = 0$ , se tiene:

$$y = [x_0 p t] \cdot e^{-k_2 t} \quad \dots (65)$$

Por lo que entonces, el área bajo la curva (AUC) debe ser equivalente a:

$$AUC = \int_0^t [y_{(t)}] \cdot dt = \int_0^t \frac{y_{(t)}}{Vol} \cdot dt = \frac{1}{Vol} \cdot \int_0^t x_0 p t e^{-k_2 t} \cdot dt \quad \dots (80)$$

Esta última ecuación puede resolverse aplicando la fórmula de integración por partes.

Sean dos funciones  $u$  y  $v$  tales que:

$$\begin{aligned} u &= x_0 p t \\ dv &= e^{-at} \cdot dt \end{aligned} \quad \dots (81)$$

Entonces:

$$\begin{aligned} du &= x_0 p dt \\ v &= \int dv = \int e^{-at} \cdot dt = \frac{1}{-a} \cdot e^{-at} \end{aligned} \quad \dots (82)$$



De esta manera, la ecuación (80) se puede escribir como:

$$AUC = \frac{1}{Vol} \cdot \int_0^t x_0 p t e^{-k_2 t} \cdot dt = \frac{1}{Vol} \cdot \int_0^t u \cdot dv = \frac{1}{Vol} \left[ [uv]_0^t - \int_0^t v \cdot du \right] \quad (83)$$

Sustituyendo por las equivalencias de  $u$ ,  $v$  y  $du$ , se tiene:

$$AUC = \frac{1}{Vol} \left[ \left[ x_0 p t \cdot \left( \frac{e^{-at}}{-a} \right) \right]_0^t - \int_0^t \left( \frac{e^{-at}}{-a} \right) \cdot x_0 p dt \right] \quad (84)$$

$$AUC = \frac{1}{Vol} \left[ \left[ x_0 p t \cdot \left( \frac{e^{-at}}{-a} \right) \right]_0^t + \frac{x_0 p}{a} \int_0^t e^{-at} \cdot dt \right] \quad (85)$$

$$AUC = \frac{1}{Vol} \left[ \left[ x_0 p t \cdot \left( \frac{e^{-at}}{-a} \right) \right]_0^t + \frac{x_0 p}{-a^2} \cdot [e^{-at}]_0^t \right] \quad (86)$$

y como  $e^0 = 1$  y  $e^{-\infty} = 0$ , entonces:

$$AUC = \frac{1}{Vol} \left[ 0 + \frac{x_0 p}{-a^2} \cdot [-1] \right] \quad (87)$$

$$AUC = \frac{1}{Vol} \left[ \frac{x_0 p}{a^2} \right] \quad (88)$$

Y como  $a = k_2 = p + k_1$ , la ecuación (88) se puede escribir también como:

$$AUC = \frac{1}{Vol} \left[ \frac{x_0 p}{k_2 (p + k_1)} \right]$$

Con lo cual se obtiene una ecuación igual a (78), demostrando que el valor del área bajo la curva es el mismo en ambos casos, y por tanto independiente de la ecuación solución que se integre.

## Segunda aproximación ("Cinética de saturación de tipo Michaelis-Menten")

Una vez que se estudió el primer modelo con cinéticas de primer orden, se procedió a elaborar otro modelo más complejo y apegado a la realidad. Para ello, se consideró conveniente el efectuar las siguientes modificaciones:

**I. Absorción del etanol:** El alcohol etílico es una molécula que puede atravesar libremente por difusión simple las membranas celulares, por lo que en principio, una cinética de absorción de primer orden debería ser una buena aproximación. Sin embargo, es necesario considerar que la mayor parte de la absorción del etanol no se lleva a cabo en estómago, sino en las primeras porciones del intestino delgado (Smith *et al.*, 1992), en donde el etanol difunde libremente de manera similar a como lo hace el agua. De esta manera, resulta que el vaciamiento gástrico es un factor mucho más determinante en la velocidad de absorción del etanol, que la simple difusión del alcohol a través de la mucosa gástrica (Horowitz *et al.*, 1989). Por lo que se refiere al vaciamiento gástrico, son numerosos los factores que pueden modificarlo, e inclusive el etanol mismo puede alterar la velocidad de este proceso<sup>34</sup>, por lo que la cinética de absorción del etanol desde el tracto digestivo hasta el torrente sanguíneo, comprende un fenómeno relativamente complejo, el cual se complica aún más si se considera que paralelamente al transporte del alcohol, se efectúa también el transporte de agua con la misma cinética. En estas condiciones es de esperar que al ser transportados soluto y solvente al mismo tiempo, la concentración de etanol en el compartimento gástrico, se mantenga al principio aproximadamente constante, hasta que la secreción natural de líquidos dentro del aparato digestivo diluyan la concentración inicial del etanol.

Por estas razones, se prefirió antes que proponer un modelo que considerara en forma simultánea todos estos aspectos, el utilizar alguna aproximación empírica que se adecuara a las observaciones experimentales sobre la cinética de absorción del etanol. En este punto, deben mencionarse los trabajos de Roine *et al.* (1991) y Maier *et al.* (1995), quienes estudiaron el efecto de la concentración del etanol ingerido sobre los niveles de alcohol en sangre, al administrar una misma dosis de etanol. De las curvas reportadas en dichos estudios, puede observarse (aunque los autores no elaboran ningún comentario al respecto) que la velocidad de absorción del etanol a juzgar por la pendiente inicial de las curvas, es casí constante y depende poco de la concentración a la que se administra la dosis inicial del etanol. Esto contrasta con otros trabajos en donde es claro que la velocidad de absorción, sí depende de la dosis inicial de etanol que se administra (e. g. Wagner y Patel, 1972). Estas dos observaciones pueden entenderse si se toma en consideración que es el vaciamiento gástrico y no la difusión simple, el factor determinante en la velocidad de absorción. Así, si se toma en cuenta que las concentraciones elevadas de etanol retrasan el vaciamiento gástrico, y que los volúmenes altos de líquidos en el estómago por el contrario, lo aceleran, resulta difícil visualizar en primera instancia, un modelo que pueda tomar en cuenta estas observaciones, y proponer un mecanismo de absorción tal que, la

---

<sup>34</sup> La Tabla II del capítulo *Metabolismo del etanol* enumera algunos de estos factores.

velocidad de absorción depende de la cantidad de etanol, pero no de la concentración con que se administra, y más si se toma en cuenta que por regla general, todos los fenómenos de difusión simple dependen de la concentración. Para fines de éste modelo, esta aparente paradoja fue considerada como un hecho, por lo que la ecuación de absorción para el etanol, se planteó como dependiente de la cantidad de etanol ingerido, y se calculó con la idea de tener más información sobre este problema, la concentración de etanol correspondiente a este primer compartimento, con base en las ecuaciones de cinética de agua y etanol en este compartimento.

Así, el par de ecuaciones propuesto para la cinética del agua y etanol en el primer compartimento es:

$$\overset{0}{H_2O}_c = - p \cdot H_2O_c + s \quad \dots \dots (89)$$

$$\overset{0}{EtOH}_c = - p EtOH_c - v_1 EtOH_c \quad \dots \dots (90)$$

en donde:

$p$  = coeficiente de absorción de primer orden ( $h^{-1}$ ), y presenta un valor similar tanto para la absorción de agua como de etanol.<sup>35</sup>

$s$  = secreción de agua por el epitelio gástrico. Se consideró que esta permanece constante, con un valor de  $0.81 \text{ ml } h^{-1} \text{ kg}^{-1}$  (Machella y Griffith JR, 1949) y que equivale a  $9 \text{ mmol agua } h^{-1}$ , considerando que el peso de los animales empleados en los experimentos fue de 200 g.

$v_1$  = coeficiente de primer orden para la oxidación del etanol en el primer compartimento ( $h^{-1}$ ); es equivalente al coeficiente  $k_1$  del primer modelo.

Obsérvese en este par de ecuaciones, que la ecuación (90) es idéntica a la ecuación (1) del primer modelo, sólo que en este caso la dinámica de la concentración de etanol es distinta, ya que el volumen de líquidos dentro del compartimento gástrico se modifica en función del tiempo.

**II. Metabolismo hepático.** Dado que la mayor parte del etanol metabolizado por el hígado se oxida a través del sistema de la alcohol deshidrogenasa, se consideró más conveniente el suponer para este proceso una cinética de tipo "michaeliano", que pudiera así explicar la aparente cinética de orden cero a concentraciones elevadas de etanol, y de primer orden a concentraciones bajas. De esta manera se consideró como constante el valor de la  $K_m$ , y como parámetro a ajustar el valor de la velocidad máxima.

---

<sup>35</sup> Puesto que se empleó el mismo parámetro cinético  $p$  en ambas ecuaciones, se utilizaron también las mismas unidades de cantidad para ambos líquidos (mmolas).

Por tanto, la ecuación que describe la cinética de la cantidad de etanol en el segundo compartimento es:

$$\dot{EtOH}_s = p EtOH_c - \frac{v_2 EtOH_s}{Km + EtOH_s} \quad \dots (91)$$

En donde:

$p$  = coeficiente de absorción del etanol desde el primer compartimento hacia el segundo compartimento ( $h^{-1}$ ). Es igual al ya citado parámetro  $p$  de las ecuaciones (1) y (2).

$v_2$  = velocidad máxima de oxidación del etanol en hígado ( $mmol h^{-1}$ ).

$Km$  = constante de afinidad para el etanol del sistema de la alcohol deshidrogenasa en hígado ( $mmol$ ). Si esta constante se divide entre el volumen total de distribución del etanol, es equivalente a la constante de Michaelis ( $mM$ ). Se consideró como un parámetro constante con un valor de  $1 mM$ .

Si esta última ecuación (91) se divide a ambos lados de la igualdad por el volumen de distribución del segundo compartimento ( $Vol$ ), se obtiene una función equivalente pero en términos de concentración<sup>36</sup>:

$$[EtOH]_s = \frac{EtOH_s}{Vol} = \frac{1}{Vol} \left[ p EtOH_c - \frac{v_2 EtOH_s}{Km + EtOH_s} \right] \quad \dots (91a)$$

#### **Ecuaciones de velocidad.**

Así, el sistema de ecuaciones diferenciales que define esta nueva aproximación es:

$$\dot{H}_2O_c = - p \cdot H_2O_c + s$$

$$\dot{EtOH}_c = - p EtOH_c - v_1 EtOH_c \quad \dots (92)$$

$$\dot{EtOH}_s = p EtOH_c - \frac{v_2 EtOH_s}{Km + EtOH_s}$$

<sup>36</sup> En este segundo compartimento, se está considerando como constante el volumen de distribución del etanol, aproximación que es razonable si se considera que el volumen de líquidos aportado por el compartimento gástrico es despreciable en comparación al contenido total de líquidos del cuerpo.

Sea:

$$H = H_2O,$$

$$X = EtOH,$$

$$Y = EtOH,$$

Entonces, el sistema de ecuaciones (92) se transforma en:

$$\begin{aligned} \dot{H} &= -p H + s \\ \dot{X} &= -p X - v_1 X \\ \dot{Y} &= p X - \frac{v_2 Y}{K_m + Y} \end{aligned} \quad \dots (93)$$

Por lo expuesto anteriormente en el análisis del primer modelo, la ecuación solución correspondiente a la segunda ecuación de este sistema (93) es del tipo:

$$X_{(t)} = X_0 e^{-(p + v_1)t} \quad \dots (94)$$

De manera análoga, se puede demostrar que la solución a la primera ecuación del sistema (93) es del tipo:

$$H_{(t)} = \left( H_0 - \frac{s}{p} \right) \cdot e^{-p t} + \frac{s}{p} \quad \dots (95)$$

Así, la dinámica de la concentración de etanol en el primer compartimento debe estar dada por una ecuación del tipo:

$$[X]_{(t)} = \frac{X_{(t)}}{vol_{(t)}} \quad \dots (96)$$

En donde  $vol_{(t)}$  corresponde al volumen de líquidos contenidos en el primer compartimento como función del tiempo.

Esta última función equivale a la suma de volúmenes de agua y etanol en el compartimento gástrico<sup>37, 38</sup>, por lo que se obtiene:

$$vol_{(t)} = C_H \cdot H_{(t)} + C_A \cdot X_{(t)} \quad \dots (97)$$

donde:

$C_H$  - factor de conversión de la cantidad de agua a volumen y equivale a  $1.8 \times 10^{-5}$  Litros/mmol.

$C_A$  - factor de conversión de la cantidad de etanol a volumen, y equivale a  $5.82 \times 10^{-5}$  Litros/mmol.

Sustituyendo las ecuaciones (94) y (95) en (97) se obtiene:

$$vol_{(t)} = C_H \cdot \left[ \left( H_0 - \frac{s}{p} \right) \cdot e^{-pt} + \frac{s}{p} \right] + C_A \cdot \left[ X_0 e^{-(p+v_1)t} \right] \quad \dots (98)$$

Por lo que la ecuación (96) se transforma finalmente en:

$$[X]_{(t)} = \frac{X_0 e^{-(p+v_1)t}}{C_H \cdot \left[ \left( H_0 - \frac{s}{p} \right) \cdot e^{-pt} + \frac{s}{p} \right] + C_A \cdot \left[ X_0 e^{-(p+v_1)t} \right]} \quad \dots (99)$$

Por último, en lo que se refiere a la solución de la tercera ecuación del sistema (93), esta es lo suficientemente compleja como para no poder resolverse de manera analítica, por lo que esta última ecuación solo se analizó en base a soluciones numéricas. La ecuación sin embargo, se modificó para poder trabajar directamente unidades de concentración, para ello, se dividió a ambos lados de la igualdad por el volumen total de distribución del etanol, en forma similar a como se obtuvo la ecuación (91a), para que a continuación se sustituyeran las cantidades de etanol en el segundo compartimento  $Y$ , por la concentración de etanol  $[Y]$ , considerando que  $Y = [Y] \cdot vol$ .

<sup>37</sup> No es posible despreciar el volumen del etanol, ya que las soluciones de alcohol que se administran para intoxicar en forma aguda a los animales, poseen una elevada concentración de alcohol (30% a 60% (v/v) de etanol).

<sup>38</sup> Se esta considerando además, que el volumen total es igual a la suma de los volúmenes de etanol y agua; si bien esto último no es estrictamente cierto, la corrección es lo suficientemente pequeña como para no considerarla. Observece también que los factores de conversión  $C_H$  y  $C_A$  tal y como están definidos, son equivalentes al volumen molar parcial del agua y el etanol.

Así, la ecuación que se obtiene es:

$$[Y]' = \frac{Y}{Vol} = p \frac{X}{Vol} - \left[ \frac{v_2}{Vol} \right] \cdot \frac{[Y] \cdot Vol}{^*Km + [Y]} \quad (100)$$

Esta ecuación puede también reescribirse como:

$$[Y]' = \frac{Y}{Vol} = p \frac{X}{Vol} - \left[ \frac{v_2}{Vol} \right] \cdot \frac{[Y]}{^*Km/Vol + [Y]} \quad (101)$$

Si se define una nueva constante  $v_2 = ^*v_2 / Vol$  y una nueva constante  $Km = ^*Km / Vol$ , la ecuación (100a) se transforma en:

$$[Y]' = p \frac{X}{Vol} - \frac{v_2 [Y]}{Km + [Y]} \quad (102)$$

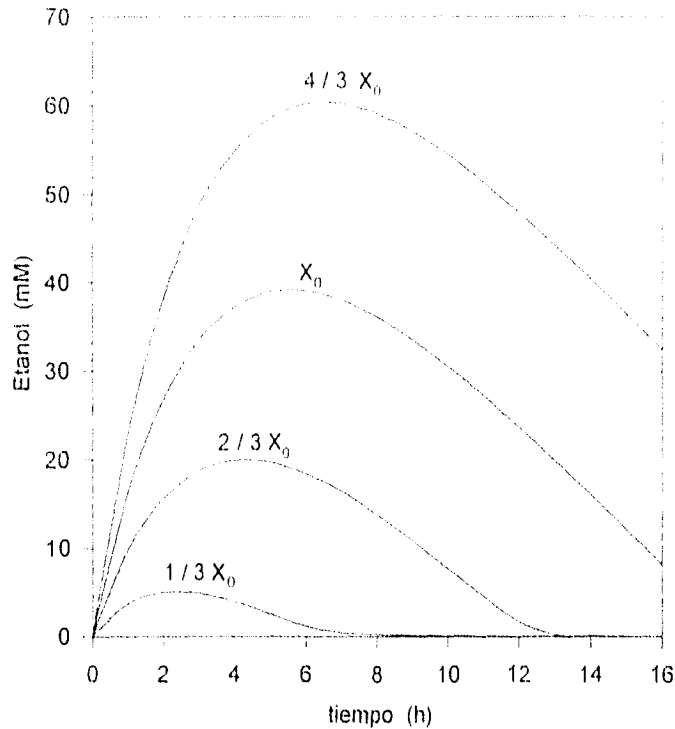
Esta última ecuación (102) tiene la ventaja de que los parámetros cinéticos  $v_2$  y  $Km$ , se pueden interpretar directamente como las constantes de velocidad máxima y de Michaelis-Menten, y pueden entonces compararse con los valores ya reportados para la alcohol deshidrogenasa.

#### Análisis gráfico del segundo modelo.

Este análisis se efectuó observando cualitativamente, el efecto de diferentes condiciones iniciales sobre las curvas de etanol contra tiempo, desarrollando para ello, un programa para integrar numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales, empleando el lenguaje de programación proporcionado por el paquete *Mathematica ver. 2.0*<sup>39</sup>.

**Efecto de la dosis inicial de etanol.** La Figura 19 muestra el curso temporal de las concentraciones de etanol en sangre predichas por el segundo modelo, con diferentes dosis iniciales de etanol. En ellas puede observarse que conforme se incrementa la dosis, la velocidad de absorción, la concentración máxima de etanol y el área bajo la curva también se incrementan, al igual que el tiempo necesario para alcanzar la concentración máxima.

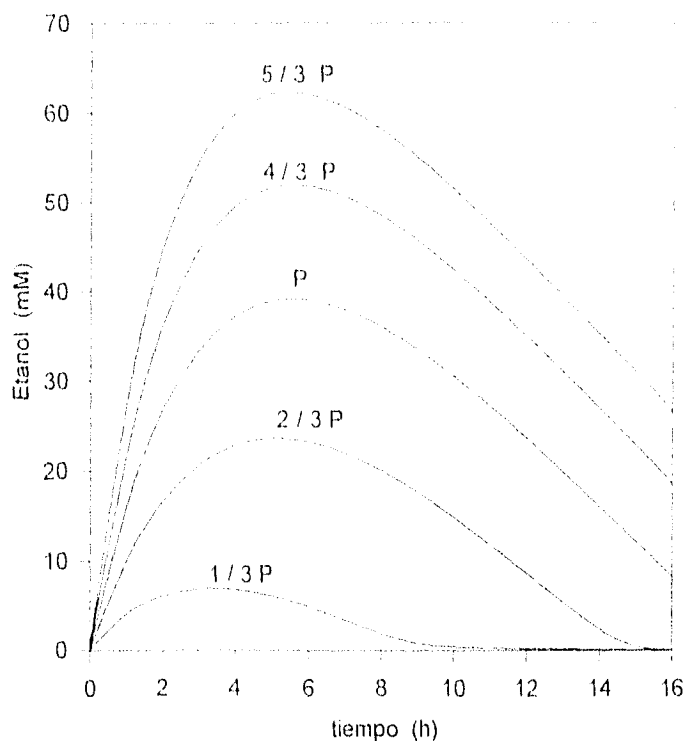
<sup>39</sup> El listado del programa empleado está ilustrado en el apéndice I.



**Figura 19.** Curso temporal de la concentración de etanol en sangre a diferentes dosis iniciales de etanol. Los cálculos se efectuaron de acuerdo con la ecuación (102) del segundo modelo. La simulación numérica se realizó considerando las siguientes condiciones:  $X_0 = 21.7 \text{ mmol}$ ,  $H_0 = 88 \text{ mmol}$ ;  $Y_0 = 0 \text{ mmol}$ ;  $p = 0.15 \text{ h}^{-1}$ ;  $V_1 = 0.15 \text{ h}^{-1}$ ;  $V_2 = 4.5 \text{ mmol h}^{-1}$ ;  $Vol = 0.14 \text{ L}$  (peso de los animales: 200g).

**Efecto de la velocidad de absorción:** La Figura 20 muestra el efecto de la velocidad de absorción sobre el curso temporal de las curvas de etanol en sangre; en ellas puede observarse un incremento en el área bajo la curva y la concentración máxima de etanol, conforme aumenta la velocidad de absorción. El tiempo al cual se alcanza la concentración máxima también se modifica conforme varía  $p$ , aunque de manera compleja. Por otra parte, es importante resaltar también, que las pendientes de estas curvas en la fase de eliminación parecen seguir una cinética de orden cero, tal y como se observa experimentalmente; sin embargo, el valor de estas pendientes se modifica significativamente por variaciones en la velocidad de absorción, lo que reafirma lo ya discutido anteriormente para el primer modelo, sobre la poca utilidad de la medición de estas pendientes para estimar la capacidad de oxidación del etanol *in vivo*.

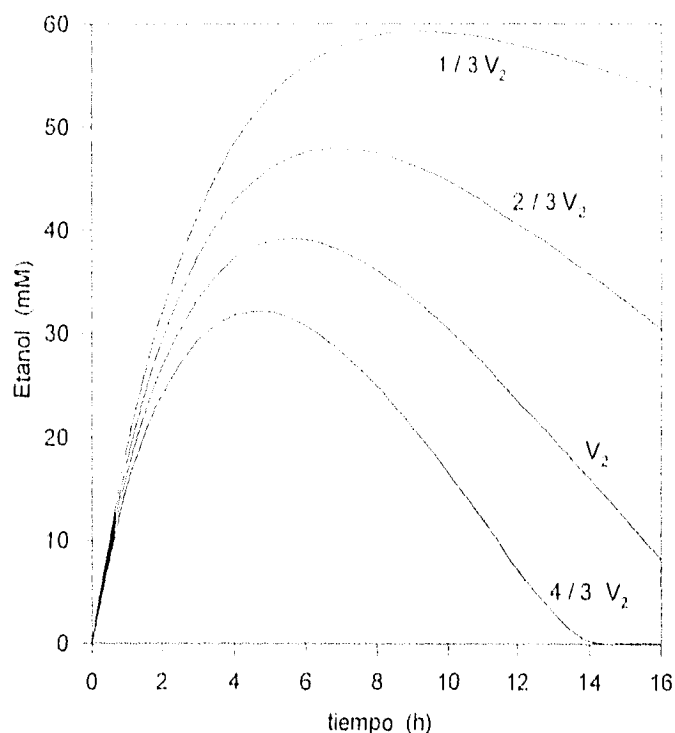




**Figura 20.** Efecto de la velocidad de absorción sobre el curso temporal de la concentración de etanol en sangre, calculadas de acuerdo con el segundo modelo. Las condiciones iniciales de la simulación numérica son idénticas a las de la Figura 19.

**Efecto del metabolismo hepático:** La velocidad de oxidación del etanol en hígado está determinada principalmente por la actividad del sistema de las alcohol deshidrogenasas, y en nuestro modelo, por el parámetro cinético  $v_2$ , que equivale a la  $V_{max}$  de este sistema. La Figura 21 muestra el efecto de las modificaciones en la velocidad de oxidación hepática sobre las curvas de etanol en sangre. En ellas puede observarse como el área bajo la curva y la concentración máxima de etanol disminuyen conforme aumenta la velocidad de oxidación; el tiempo requerido para alcanzar la concentración máxima también disminuye, y el valor de las pendientes en la fase de eliminación se modifica proporcionalmente al aumentar  $v_2$ . Si bien en este caso, el valor de la pendiente en la fase de eliminación si es proporcional a la velocidad de oxidación, siguiendo una aparente cinética de orden "cero", es preciso recalcar que las modificaciones en el valor de esta pendiente, no pueden ser consideradas como una prueba de alteraciones en el metabolismo

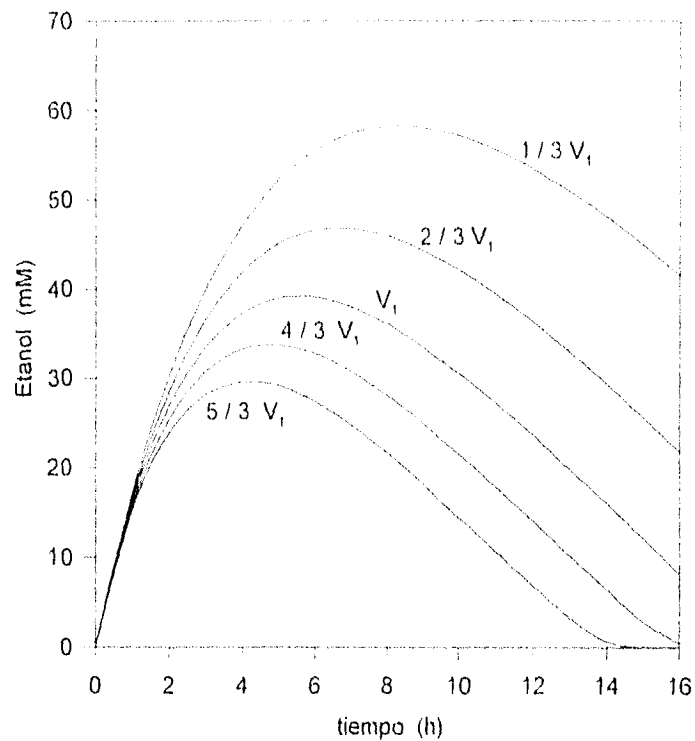
hepático, ya que como se demostró anteriormente, las alteraciones en la velocidad de absorción también modifican el valor de esta pendiente.



**Figura 21.** Efecto de las modificaciones en el metabolismo hepático, sobre las curvas de etanol en sangre, calculadas de acuerdo con la ecuación (102) del segundo modelo. Las condiciones iniciales de las simulaciones numéricas son idénticas a las de la Figura 19.

**Efecto del metabolismo de primer paso:** Este metabolismo está determinado por la constante cinética de primer orden  $v_1$ , y es análoga a la constante  $k_1$  del primer modelo. La Figura 22 muestra las alteraciones en las curvas de etanol en sangre, que deben esperarse al modificar el metabolismo de primer paso. En ellas puede observarse que las alteraciones en este metabolismo, modifican el área bajo la curva, la concentración máxima de etanol y el tiempo al cual se alcanza ésta concentración; sin embargo, no modifican la velocidad inicial de absorción ni la pendiente de las curvas en la fase de eliminación. De esta manera, tal y como se esperaba, su efecto radica principalmente en controlar la cantidad de etanol que efectivamente ingresa al torrente sanguíneo;

de hecho, el comportamiento cualitativo de estas curvas es muy similar a las obtenidas cuando se modifica únicamente la dosis inicial de etanol (ver Figura 19).



**Figura 22.** Efecto de las modificaciones en el metabolismo de primer paso, sobre las curvas de etanol en sangre, calculadas de acuerdo con la ecuación (102) del segundo modelo. Las condiciones iniciales de las simulaciones numéricas son idénticas a las de la Figura 19.

### **Aplicación de los modelos a resultados experimentales.**

Para analizar el efecto del piroxicam sobre el metabolismo del etanol, se contó con dos series de datos experimentales: una de ellas corresponde a resultados previamente publicados por Zentella de Piña *et al.* (1992), en donde se estudió el efecto de una dosis de piroxicam (10 mg/Kg: administrado tanto por vía intraperitoneal como por vía orogástrica) sobre el curso temporal de la concentración de etanol en sangre de ratas intoxicadas en forma aguda con etanol. La segunda serie de datos, comprende un estudio similar en donde se estudiaron también las curvas de etanol en sangre, pero a diferentes dosis de piroxicam; los resultados preliminares de éste segundo estudio ya fueron presentados en congreso (Caballero *et al.*, 1994; Julián-Sánchez *et al.*, 1994; Riveros-Rosas *et al.*, 1995).

De esta manera, se decidió realizar en primera instancia, un análisis comparativo entre los dos modelos empleando para ello la primera serie de datos, y una vez definido el modelo más adecuado, aplicarlo a la segunda serie de datos que comprenden un estudio más detallado a diferentes dosis de piroxicam.

Por lo que se refiere a la dipirona, sólo se contó con un par de curvas con pocos datos cada una, que fueron publicadas previamente por Zentella de Piña *et al.* (1993); por esta razón se analizaron únicamente en base al modelo considerado como más adecuado en el análisis previo con piroxicam.

### **Comparación entre los dos modelos.**

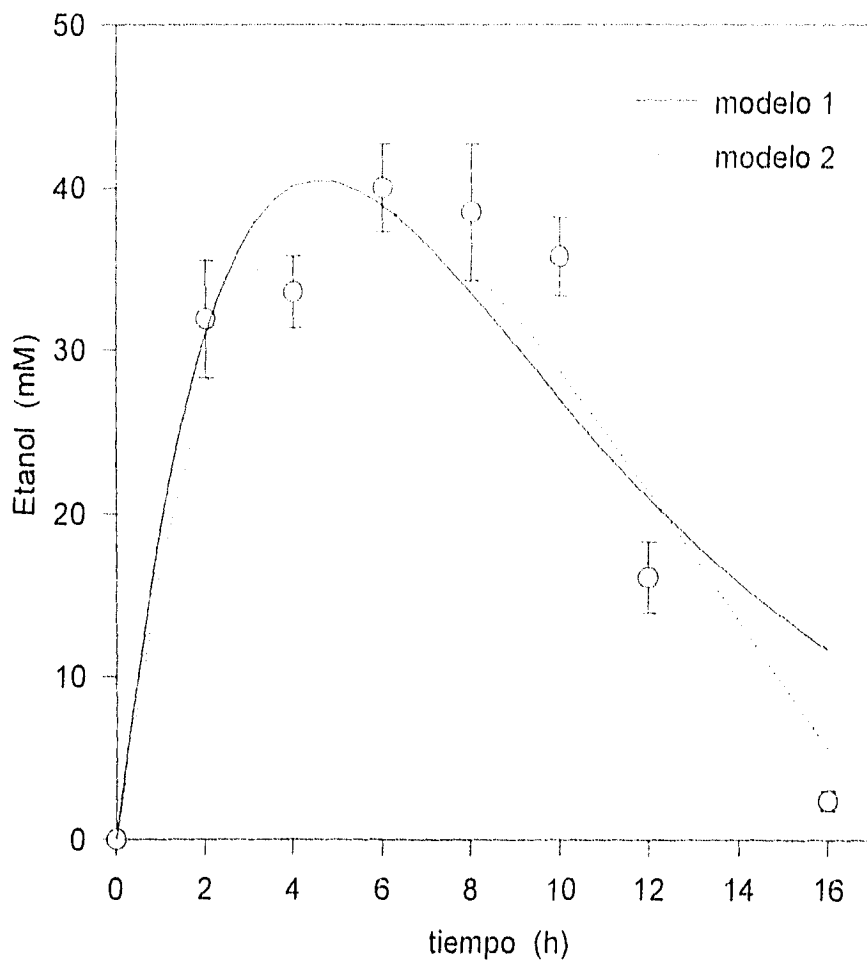
La Figura 23 muestra el curso temporal de la concentración de etanol en sangre de ratas intoxicadas con alcohol por vía orogástrica ( $5\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) y las curvas teóricas obtenidas al ajustar cada uno de los modelos a los resultados experimentales. En ella puede observarse que el ajuste obtenido es bastante adecuado para ambos modelos, a juzgar por los valores de los coeficientes de correlación<sup>40</sup>, aunque el segundo modelo, con una cinética de saturación de tipo Michaelis-Menten, proporciona un mejor ajuste en comparación con el primero. El primer modelo difiere de los datos experimentales, principalmente en la porción terminal de la curva.

Por lo que se refiere a los animales intoxicados con etanol y tratados simultáneamente con piroxicam, los resultados experimentales, así como las curvas teóricas correspondientes se muestran en las Figuras 24 y 25.

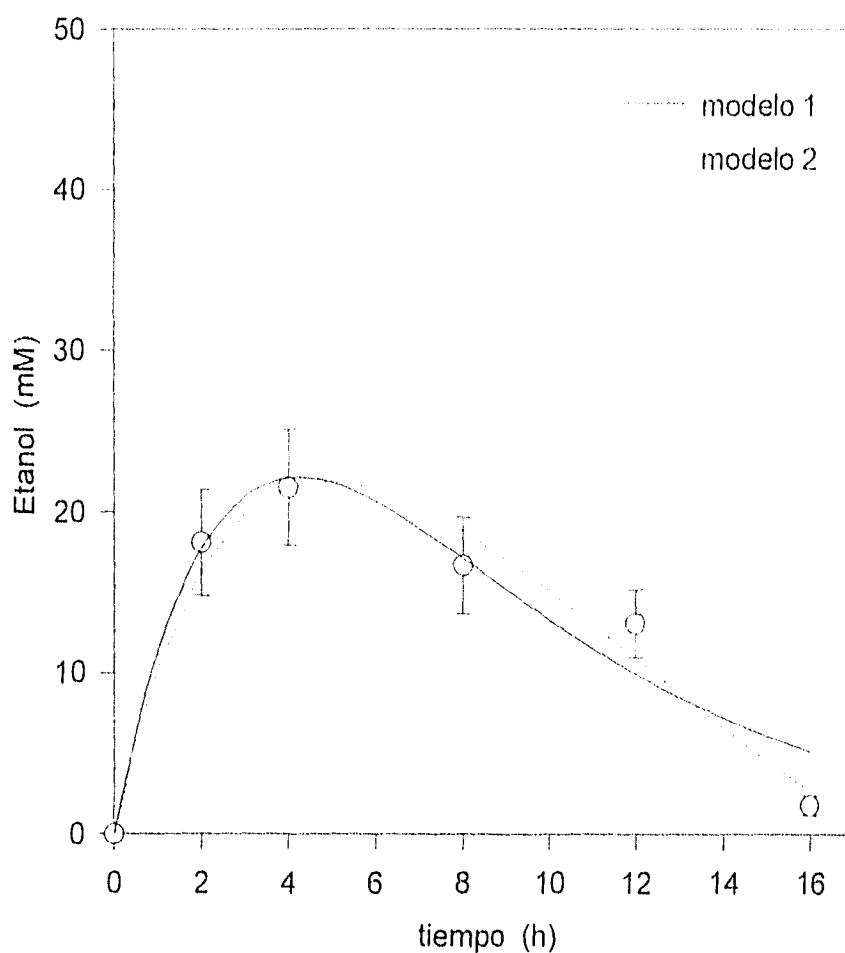
En la Figura 24 se ilustran los cambios obtenidos en la concentración de etanol en sangre al administrar simultáneamente piroxicam por vía orogástrica, mientras que la Figura 25 muestra los cambios obtenidos al administrarlo por vía intraperitoneal. Nuevamente es claro que ambos modelos dan un ajuste satisfactorio a los resultados experimentales, aunque el segundo modelo proporciona otra vez, como debiera de esperarse, un mejor ajuste en comparación con el primer modelo, que es mucho más sencillo y menos realista.

---

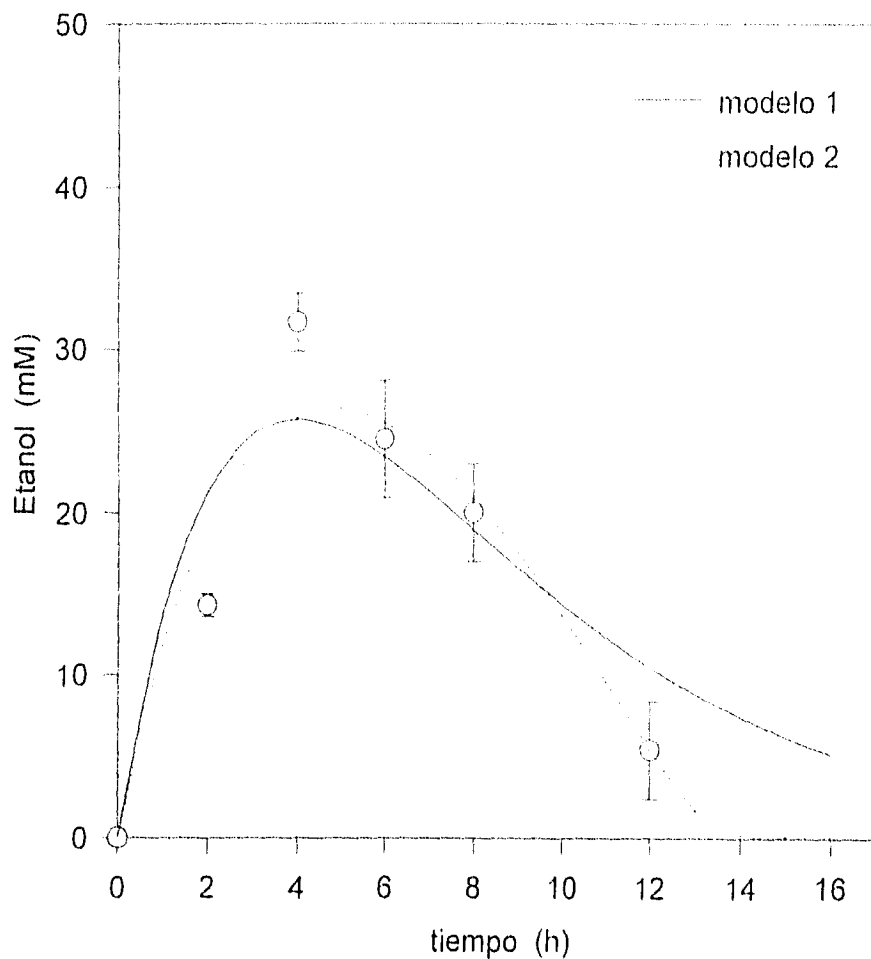
<sup>40</sup> En modelos no lineales, el coeficiente de correlación se puede calcular, como el cociente entre la varianza explicada por el modelo y la varianza total de los datos.



**Figura 23.** Curso temporal de la concentración de etanol en sangre de ratas intoxicadas con etanol ( $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) por vía oral, así como las curvas teóricas obtenidas al ajustar el primer y segundo modelo a los datos experimentales. El coeficiente de correlación obtenido para el primer modelo (caso general con cinéticas de primer orden) es  $r^2 = 0.862$ , mientras que el obtenido para el segundo modelo (con cinética de saturación de tipo Michaelis-Menten) es:  $r^2 = 0.944$  (datos experimentales tomados de Zentella de Piña *et al.*, 1992).



**Figura 24.** Curso temporal de la concentración de etanol en sangre de ratas intoxicadas con etanol ( $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) por vía orogástrica, y tratadas simultáneamente con proxicam ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), administrado también por vía orogástrica. Las líneas corresponden a las curvas teóricas obtenidas al ajustar el primer y segundo modelo a los datos experimentales. El coeficiente de correlación obtenido para el primer modelo (caso general con cinéticas de primer orden) es  $r^2 = 0.945$ , mientras que el obtenido para el segundo modelo (con cinética de saturación de tipo Michaelis-Menten) es:  $r^2 = 0.968$  (datos experimentales tomados de Zentella de Piña *et al.*, 1992).



**Figura 25.** Curso temporal de la concentración de etanol en sangre de ratas intoxicadas con etanol ( $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) por vía orogástrica, y tratadas simultáneamente con piroxicam ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), administrado por vía intraperitoneal. Las líneas corresponden a las curvas teóricas obtenidas al ajustar el primer y segundo modelo a los datos experimentales. El coeficiente de correlación obtenido para el primer modelo (caso general con cinéticas de primer orden) es  $r^2 = 0.842$ , mientras que el obtenido para el segundo modelo (con cinética de saturación de tipo Michaelis-Menten) es:  $r^2 = 0.916$  (datos experimentales tomados de Zentella de Piña *et al.*, 1992).

Sin embargo, no obstante haber obtenido resultados satisfactorios con ambos modelos, y no tener problemas debidos a la posible existencia de mínimos locales<sup>41</sup> en la estimación de los valores óptimos de los parámetros ajustados en cada uno de los sistemas de ecuaciones estudiados, es necesario señalar que, con excepción del parámetro de absorción  $p$ , la incertidumbre asociada a la estimación del resto de los parámetros es tan alta, que pierden toda su capacidad de predicción, resultando inútiles para proporcionar información adicional sobre las características de los sistemas experimentales analizados.

Este último problema (no visualizado inicialmente<sup>42</sup>), se debe a que la estimación de los parámetros  $k_1$  y  $v_1$  del metabolismo de primer paso, depende de la estimación de los parámetros  $k_2$  y  $v_2$  del metabolismo hepático, y viceversa; es decir, existe toda una serie de valores  $k_1 - k_2$  y  $v_1 - v_2$  cuyo ajuste, estimado por la suma total de residuos al cuadrado<sup>43</sup>, es muy semejante al óptimo, y por lo mismo, no pueden ser estadísticamente diferenciados unos de otros.

De esta manera, al modificar el valor del parámetro de metabolismo de primer paso, es posible encontrar un nuevo valor para el parámetro de metabolismo hepático, que compense y prácticamente anule el posible cambio en el curso temporal de la concentración de etanol en sangre. Esto se observa con claridad en las Figuras 26 y 27, en donde se grafica la suma total de los residuos al cuadrado<sup>44</sup>, como función de los parámetros  $v_1$  y  $v_2$  del segundo modelo (Figura 26), o bien, en función de los parámetros  $k_1$  y  $k_2$  del primer modelo (Figura 27).

→ → → → → → →

**Figura 26.** Suma total de residuos al cuadrado (que resulta al ajustar el modelo 2 a los datos experimentales de la Figura 23) como función de los parámetros cinéticos  $v_1$  y  $v_2$ . El inserto de la izquierda, corresponde a la misma figura principal, vista a menor amplificación; y el inserto de la derecha, corresponde a una vista vertical de la figura principal, en donde la franja sombreada comprende parejas de valores  $v_1$  y  $v_2$ , cuyo coeficiente de correlación es mayor a 0.90 (la franja sombreada en el inserto, en realidad se extiende por ambos extremos, pudiendo alcanzar inclusive, valores nulos de  $v_1$ , al prolongarse). El parámetro  $p$  se mantuvo constante, con un valor de 0.165 que corresponde al óptimo.

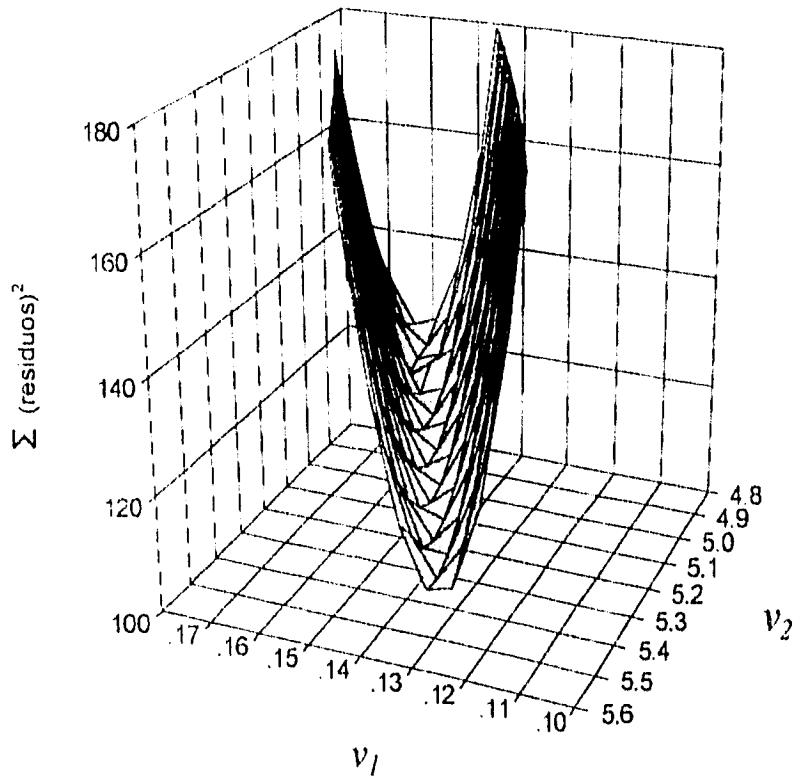
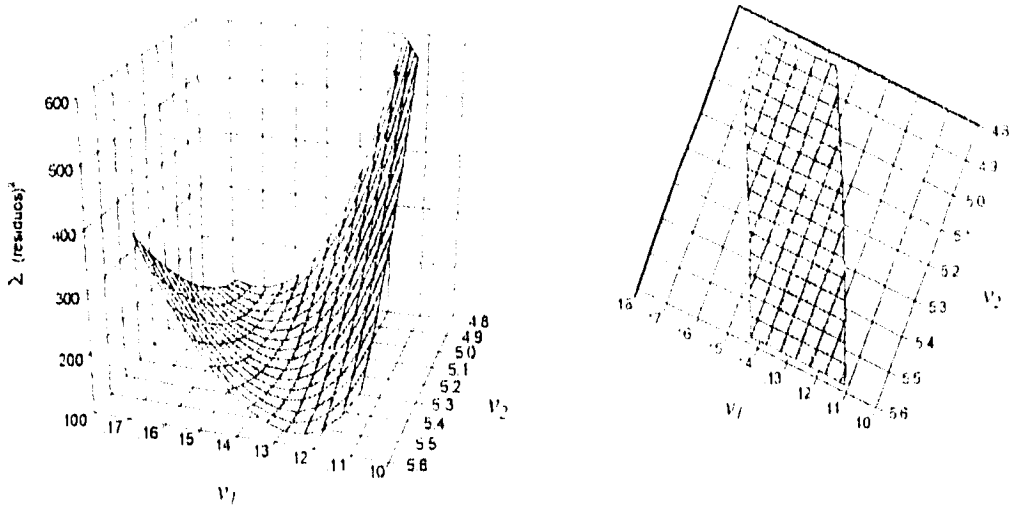
<sup>41</sup> Un problema que es inherente a todos los métodos de ajuste de ecuaciones por procesos iterativos. Para una revisión ver Motulsky y Ransnas (1987).

<sup>42</sup> De hecho, en los reportes previos a la finalización de este trabajo, reportamos estimaciones para el metabolismo hepático y de primer paso, empleando el segundo modelo aquí descrito; los valores reportados no son válidos por los argumentos que se expondrán más adelante.

<sup>43</sup> Se entiende por residuo, la diferencia entre el valor observado experimentalmente, y el valor esperado o predicho por el modelo.

<sup>44</sup> Esta suma corresponde también a la varianza "no explicada" por el modelo, puesto que la varianza "explicada" más la "no explicada", es igual a la varianza total de los datos.





→ → → → → → → →

**Figura 27.** Suma total de residuos al cuadrado (que resulta al ajustar el modelo 1 a los datos experimentales de la Figura 23) como función de los parámetros cinéticos  $k_1$  y  $k_2$ . El inserto de la izquierda, corresponde a la misma figura principal, vista a menor amplificación; y el inserto de la derecha, corresponde a una vista vertical de la figura principal, en donde la franja sombreada comprende parejas de valores  $k_1$  y  $k_2$ , cuyo coeficiente de correlación es mayor a 0.80 (la franja sombreada en el inserto, en realidad se extiende por ambos extremos, pudiendo alcanzar inclusive, valores nulos de  $k_1$ , al prolongarse). El parámetro  $p$  se mantuvo constante, con un valor de 0.155, que corresponde al óptimo.

Así, resulta que el único parámetro en ambos modelos, que puede estimarse de manera confiable, es el coeficiente de absorción  $p$ , parámetro para el cual sólo existe un punto óptimo, con un margen de incertidumbre estrecho (<20%), tal y como se demuestra en la Figura 28, en donde se ilustran los efectos de la variación del coeficiente de absorción sobre la calidad del ajuste (estimada como la suma total de residuos al cuadrado), utilizando como ejemplo el modelo 2: con el primer modelo se obtiene una relación semejante, por lo cual no se ilustra.

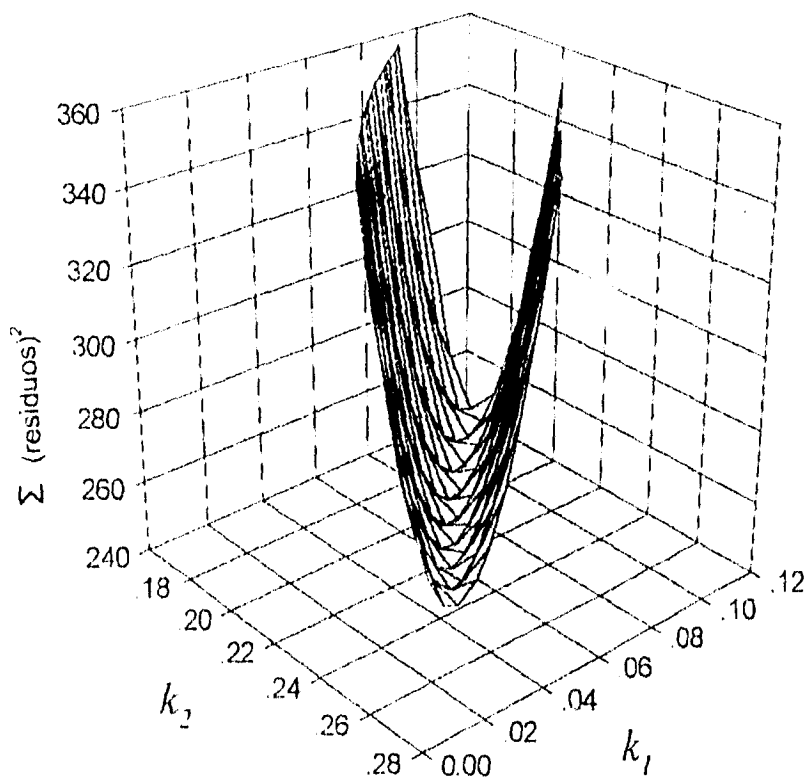
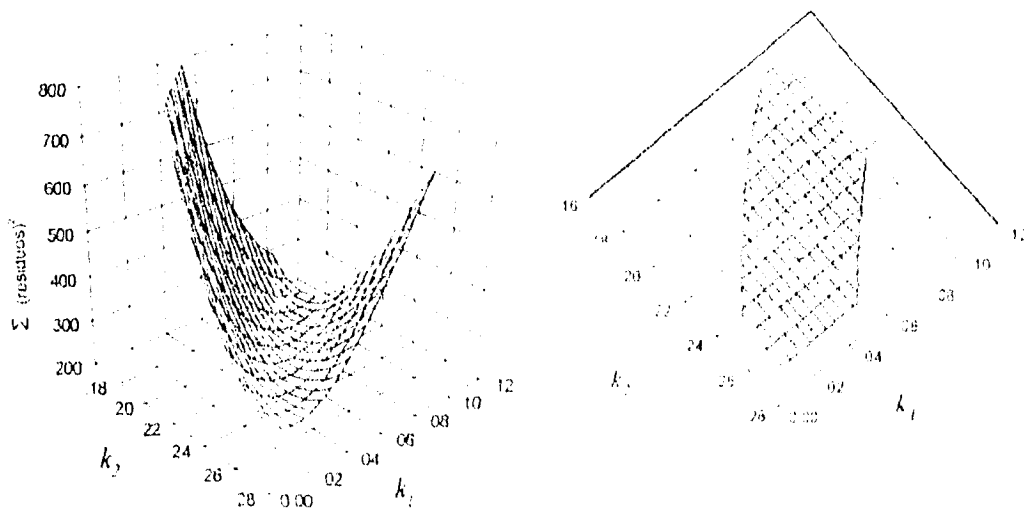
Por esta razón, de aquí en adelante sólo se presentarán estimaciones de los coeficientes de absorción, enfatizando con esto, la imposibilidad de evaluar a partir de solo una curva de etanol en sangre, el metabolismo de primer paso. Para poder estimarlo, se requieren datos sobre el curso temporal de la cantidad de etanol en el estómago, lo cual en general, no es considerado en los trabajos que han elaborado "estimaciones" del metabolismo de primer paso del etanol (e.g. Julkunen *et al.*, 1985; DiPadova *et al.*, 1987; Caballería *et al.*, 1989; Hernández-Muñoz *et al.*, 1990; Frezza *et al.*, 1990; Roine *et al.*, 1991), lo que aunado a los problemas antes expuestos sobre la velocidad de absorción, arroja como conclusión, el que estas estimaciones carezcan de validez<sup>45</sup>.

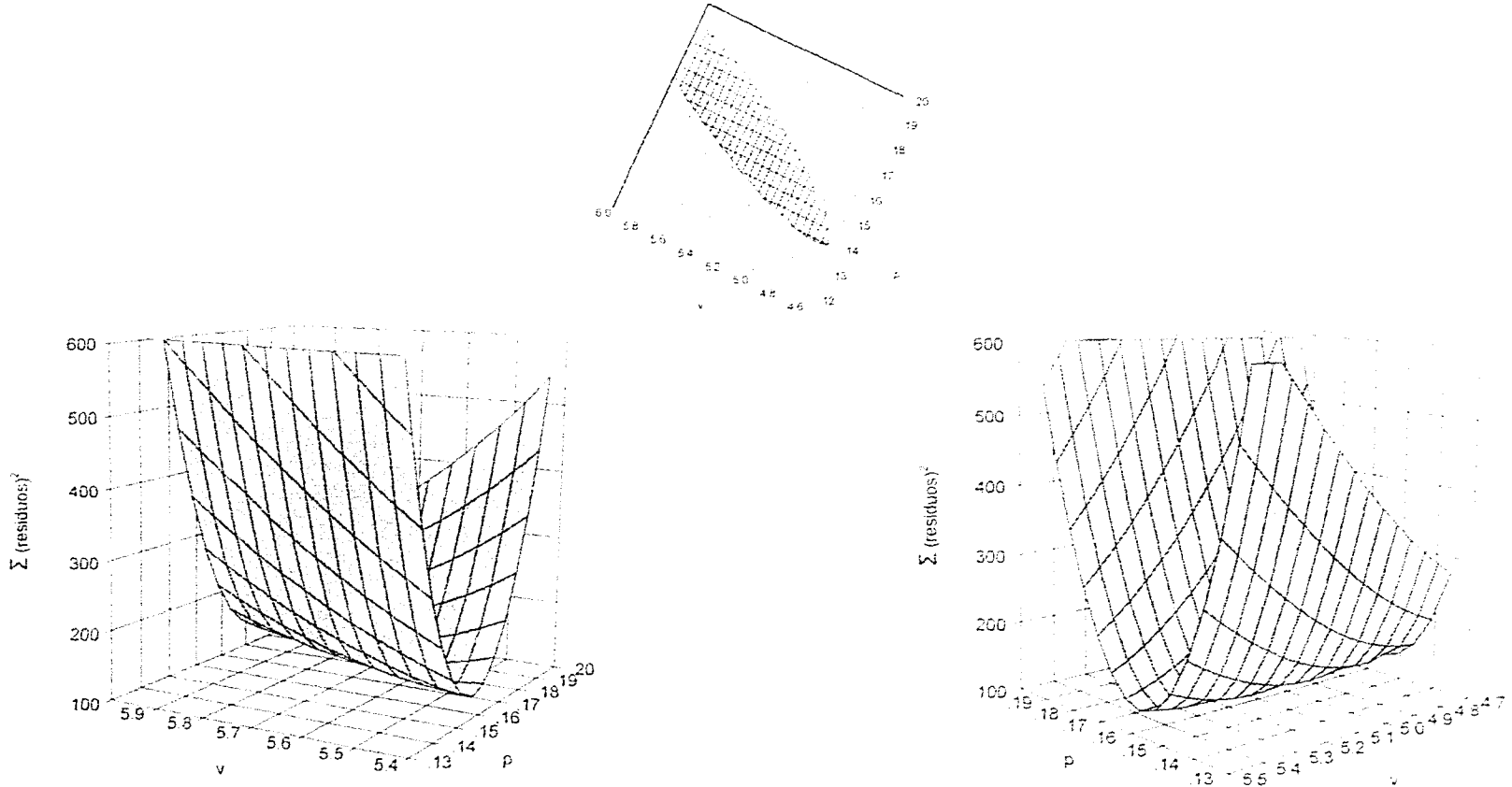
La Tabla V muestra el efecto de la administración de piroxicam (10 mg · kg<sup>-1</sup>), sobre la velocidad de absorción del etanol. En ella puede observarse que el piroxicam retrasa la absorción del etanol desde el compartimento gástrico, efecto que es más notable cuando el antiinflamatorio es administrado por vía orogástrica.

Dado que el etanol se absorbe por difusión simple, el efecto del piroxicam debe centrarse primordialmente en modificaciones sobre la velocidad de vaciamiento gástrico, factor que como ya se mencionó anteriormente, es determinante para la velocidad de absorción del alcohol.

Esto implica además, que la disminución en el área bajo la curva del curso temporal de etanol en sangre, no se debe exclusivamente a una mayor velocidad de oxidación del etanol, ya que simultáneamente se está alterando también la velocidad de absorción, lo que contribuye a su vez a disminuir los niveles de etanol en sangre. De esta manera, el piroxicam ejerce un doble efecto: por un lado, estimula en hígado la oxidación del etanol, mientras que en tracto digestivo, retrasa la velocidad de absorción. Estos dos efectos actúan de manera aditiva para abatir la concentración de etanol en sangre.

<sup>45</sup> Pocos son los métodos alternativos que no adolecen de estos problemas, resaltando en especial los desarrollados por Caballería *et al.* (1987), y Levitt *et al.* (1994).





**Figura 28.** Suma total de residuos al cuadrado (que resulta al ajustar el modelo 2 a los datos experimentales de la Figura 23) como función de los parámetros cinéticos  $p$  y  $v_2$  (se consideró  $v_1$  como constante, con un valor óptimo de 0.133). La Figura esta cortada por la mitad para facilitar su visualización; observe que el valor óptimo de  $p$  esta localizado dentro de un surco muy estrecho, casi perpendicular al eje  $p$ , lo que determina que solo un intervalo muy pequeño de valores de  $p$  se aproximan al óptimo. El inserto central muestra con una área sombreada, todas aquellas parejas de valores  $p$  y  $v_2$ , cuyo coeficiente de correlación es mayor a 0.90. Una figura equivalente se obtiene si lo que se modifica es  $v_1$ , en lugar de  $v_2$ .

**Tabla V.** Efecto de la administración del piroxicam ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ) sobre la velocidad de absorción del etanol en ratas intoxicadas con etanol.

Condición experimental	Velocidad de absorción (mmol etanol $\text{h}^{-1}$ )	
	modelo 1 (cinética de primer orden)	modelo 2 (cinética de Michaelis-Menten)
Etanol	$0.155 \pm 0.054$	0.165
Etanol + piroxicam intraperitoneal	$0.113 \pm 0.062$	0.121
Etanol + piroxicam orogástrico	$0.092 \pm 0.012$	0.095

Las estimaciones se efectuaron con base en las curvas mostradas en las Figuras 23 a 25. con los datos experimentales reportados por Zentella de Piña et al. (1992).

El etanol ( $5 \text{ g kg}^{-1}$ ) se administró por vía orogástrica con una solución al 30% (v/v) en ratas macho Wistar de 200-225 g, ayunadas previamente 16 h.

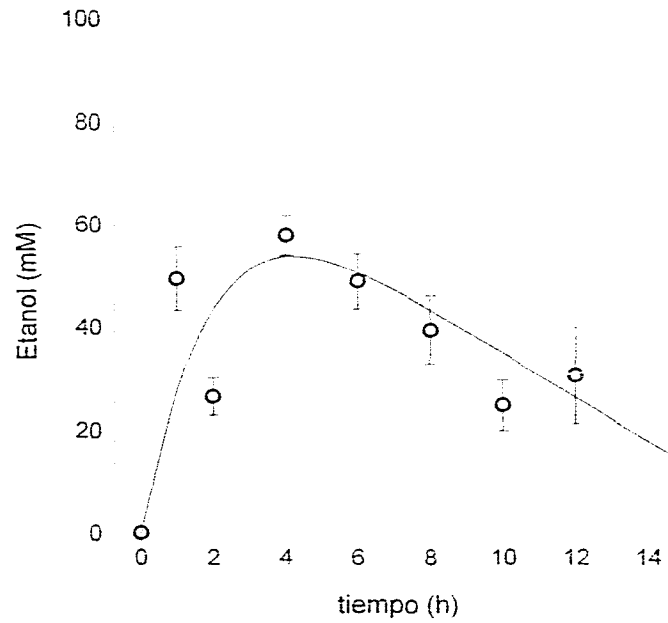
El modelo 1 se ajustó a través de una regresión no lineal iterativa, empleando el algoritmo de Marquardt para optimizar el ajuste. Los cálculos se efectuaron con las herramientas de ajuste de curvas del programa Sigma-Plot, y corroboradas con los resultados obtenidos con las rutinas equivalentes del programa Systat Ver. 5.0. Las incertidumbres reportadas son solo ilustrativas, ya que los procedimientos establecidos para calcular el error asociado a los parámetros estimados, son solo válidos para modelos lineales.

El modelo 2 se ajustó a través de una regresión no lineal iterativa, empleando una optimización por pasos descendente. Los cálculos se efectuaron con el programa listado en el apéndice 1, empleando las herramientas de cálculo del programa Mathematica Ver. 2.0. En este caso, no se efectuó ningún cálculo de la incertidumbre asociada a los parámetros calculados.

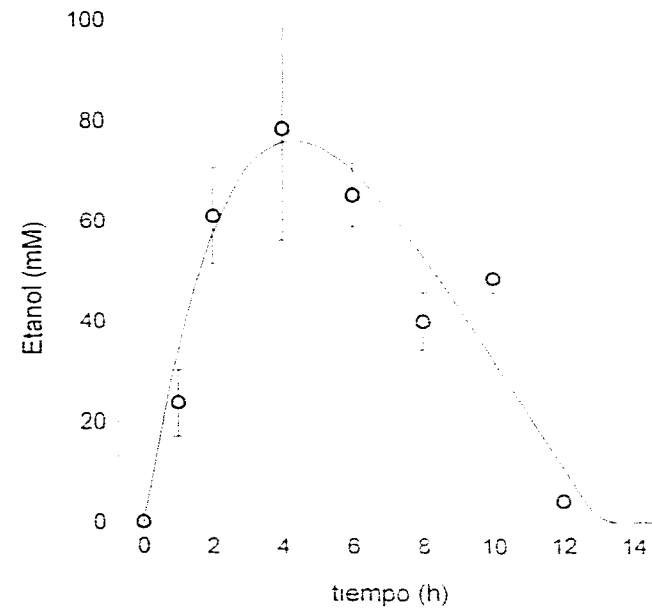
Por lo que se refiere a la segunda serie de datos, las Figuras 29 a 31 muestran el efecto de diferentes dosis de piroxicam, sobre el curso temporal de la concentración de etanol en sangre de ratas intoxicadas con alcohol por vía orogástrica ( $5 \text{ g kg}^{-1}$ ), así como las curvas teóricas obtenidas al ajustar el segundo modelo a estos datos<sup>46</sup>. En ellas puede observarse que el ajuste de las curvas teóricas es satisfactorio al igual que en la primera serie de datos, aunque sigue vigente el problema de no poder estimar con precisión la magnitud del metabolismo hepático y de primer paso.

<sup>46</sup> Los cálculos se efectuaron únicamente en base al segundo modelo, ya que éste resultó ser el más adecuado de acuerdo a los resultados obtenidos con la primera serie de datos.

a

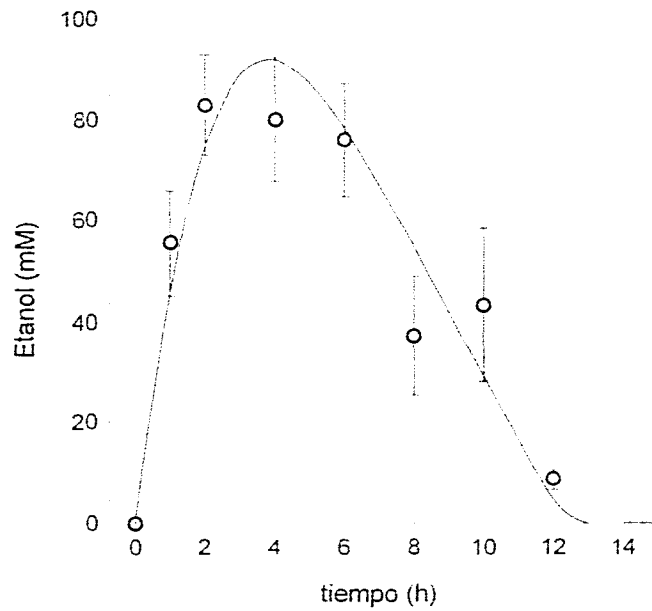


b

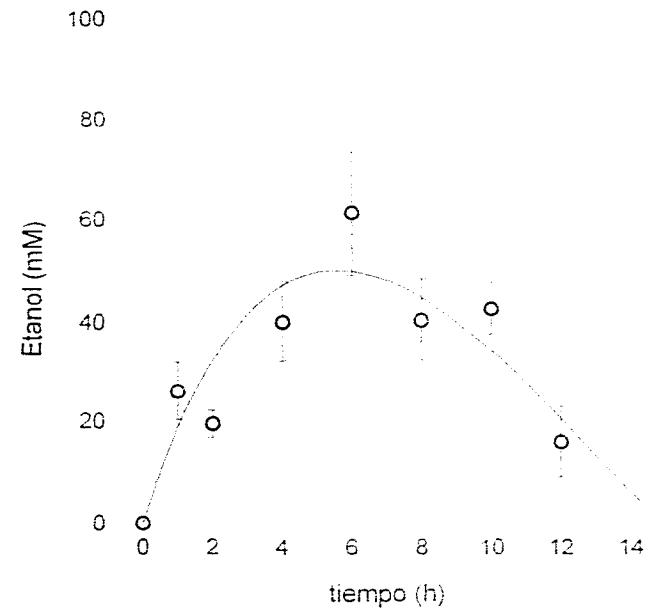


**Figura 29.** Efecto del piroxicam sobre la farmacocinética de etanol en sangre. Los animales recibieron  $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  de etanol por vía oral, más: a)  $0.1 \text{ ml}$  de solución salina, b)  $0.005 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$  de piroxicam ( $1.65 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) en  $0.1 \text{ ml}$  de solución salina. Las líneas corresponden a la curva teórica obtenida al ajustar el segundo modelo a los datos experimentales.

a

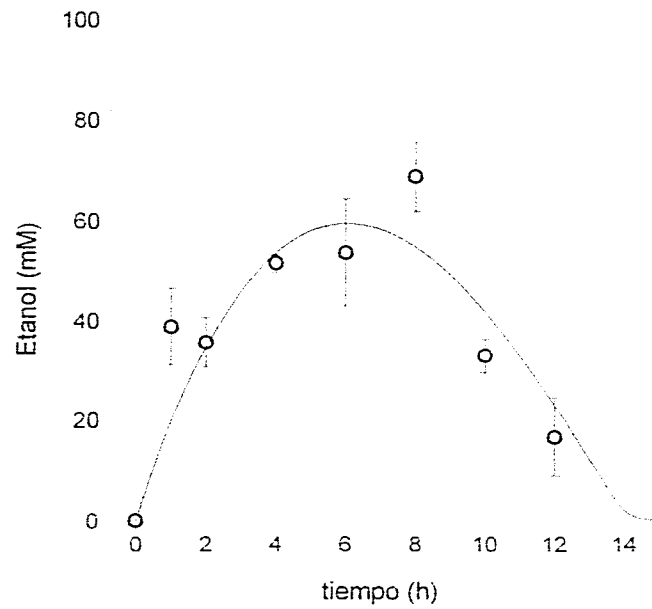


b

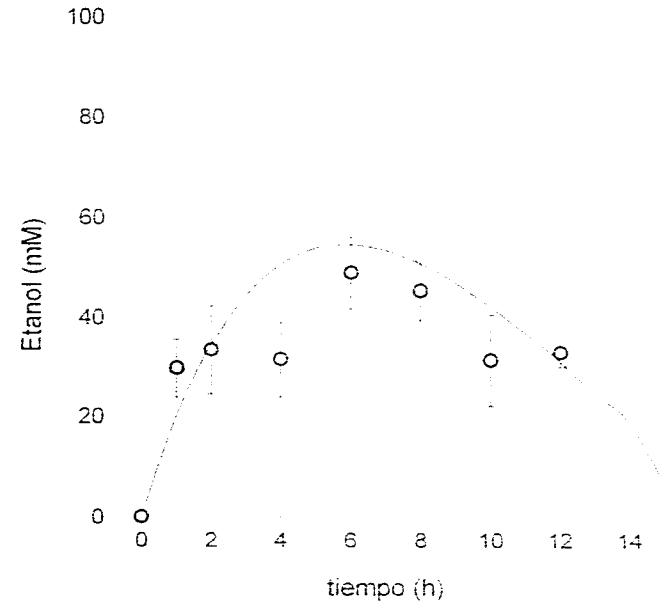


**Figura 30.** Efecto del piroxicam sobre la farmacocinética de etanol en sangre. Los animales recibieron  $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  de etanol por vía oral, más: a)  $0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$  de piroxicam ( $16.5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) en 0.1 ml de solución salina, b)  $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$  de piroxicam ( $165 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) en 0.1 ml de solución salina. Las líneas corresponden a la curva teórica obtenida al ajustar el segundo modelo a los datos experimentales.

a



b



**Figura 31.** Efecto del piroxicam sobre la farmacocinética de etanol en sangre. Los animales recibieron  $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  de etanol por vía orogástrica, más: a)  $5.0 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$  de piroxicam ( $1.65 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) en 0.1 ml de solución salina. b)  $50.0 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$  de piroxicam ( $16.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) en 0.1 ml de solución salina. Las líneas corresponden a la curva teórica obtenida al ajustar el segundo modelo a los datos experimentales.



La Tabla VI muestra el efecto de diferentes dosis de piroxicam sobre la velocidad de absorción del etanol, empleando ahora, los resultados experimentales de la segunda serie de datos (Figuras 29 a 31), los cuales ya habían sido presentados anteriormente en forma preliminar (Caballero *et al.*, 1994; Julián-Sánchez *et al.*, 1994; Riveros-Rosas *et al.*, 1995). En esta Tabla puede observarse que la administración de piroxicam a dosis bajas ( $1.65 - 16.5 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), estimula significativamente la absorción del etanol, mientras que a dosis mayores, disminuye la velocidad de absorción, tal y como se demostró con el análisis de la primera serie de datos.

**Tabla VI.** Efecto de la administración de piroxicam a diferentes dosis, sobre el coeficiente de absorción del etanol en ratas.

Piroxicam	Coefficiente de absorción (mmol etanol $\cdot$ h $^{-1}$ )
0	0.249 $\pm$ 0.024 (10)
0.005 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (1.65 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	0.328 $\pm$ 0.037 <sup>*</sup> (5)
0.05 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (16.5 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	0.428 $\pm$ 0.031 <sup>***</sup> (5)
0.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (165 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	0.189 $\pm$ 0.007 <sup>**</sup> (5)
5.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (1.65 mg $\cdot \text{kg}^{-1}$ )	0.232 $\pm$ 0.006 (5)
50 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (16.5 mg $\cdot \text{kg}^{-1}$ )	0.188 $\pm$ 0.005 <sup>**</sup> (5)

El etanol (5 g  $\cdot$  kg $^{-1}$ ) se administró por vía oral en una solución al 63% (v/v), en ratas macho Wistar de 200-220 g, ayunadas previamente por 16 h.

Las estimaciones se efectuaron con base en las curvas mostradas en las Figuras 29 a 31, ajustando los datos experimentales a una cinética de saturación de tipo Michaelis-Menten (modelo 2).

El ajuste se realizó a través de una regresión no lineal iterativa, empleando un proceso de optimización por pasos descendente. Los cálculos se efectuaron con el programa listado en el apéndice 1, empleando las herramientas de cálculo del programa Mathematica Ver. 2.0

Los resultados mostrados representan la media  $\pm$  E.S. con el número de curvas analizadas indicado entre paréntesis.

<sup>\*</sup>  $p < 0.10$ ; <sup>\*\*</sup>  $p < 0.05$ ; <sup>\*\*\*</sup>  $p < 0.01$ : todas con respecto al control.

No es sencillo interpretar el por qué de estos efectos antagónicos del piroxicam sobre la velocidad de absorción, aunque puede presumirse de antemano que se trata de un fenómeno complejo. En este sentido, debe recordarse que la producción local de prostaglandinas y leucotrienos en estómago, juega un papel determinante en la secreción de ácidos, el vaciamiento gástrico y el proceso de digestión en general, por lo que resulta en cierta manera comprensible, el que la interacción simultánea de dos fármacos que alteran la síntesis de prostaglandinas como son el alcohol y los AINEs, produzcan efectos con una dinámica compleja.

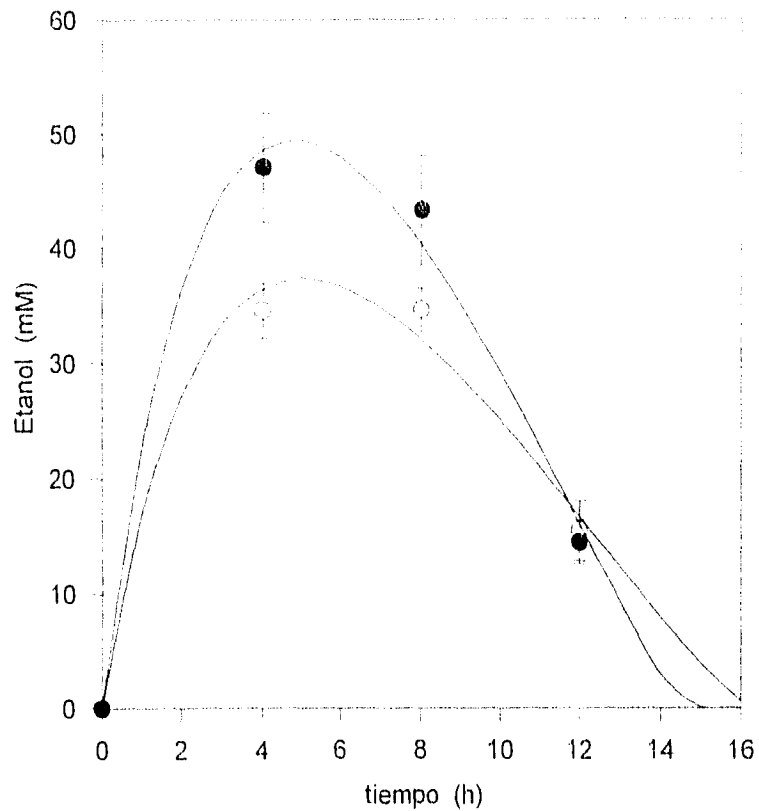
Por otra parte, al comparar los resultados de las Tablas V y VI, no debe soslayarse la importante diferencia (50%) que existe entre la velocidad de absorción del etanol en los animales del grupo control de la primera serie de datos (Tabla V), con los animales del grupo control correspondientes a la segunda serie de datos (Tabla VI). La diferencia observada entre ambos se debe muy probablemente, a la diferencia en la concentración con que se administró el etanol en dichos grupos (30% vs 63% respectivamente). De esta forma, si la absorción del etanol es un proceso que depende (al menos en parte) de fenómenos de difusión simple, es de esperar que la velocidad con que se lleva a cabo esta absorción, responda de manera proporcional a la concentración inicial con que se administra el etanol. Puesto que un incremento en la concentración inicial de etanol de más del 100%, solo se refleja en alrededor de un 50% de incremento en la velocidad con que se absorbe el etanol, resulta claro que existen otros factores que también son determinantes en la velocidad de absorción de éste, y que son "independientes" de la concentración. Esta última observación esta en concordancia con los reportes ya mencionados de Roine *et al.* (1991) y Maier *et al.* (1995), quienes muestran que la velocidad de absorción del etanol (en un intervalo de concentraciones de 4 a 40%), responde poco a los cambios en la concentración inicial con que se administra el etanol.

En cuanto al efecto de la dipirona sobre la farmacocinética del etanol, parece que ésta aumenta la velocidad de absorción del etanol, aunque se consideró conveniente no elaborar ninguna conclusión al respecto, ya que por un lado, los modelos aplicados fueron incapaces de proporcionar información sobre la velocidad de oxidación del etanol, y por otro, los pocos datos reportados no incluyeron determinaciones de etanol en sangre a tiempos cortos, por lo que tampoco pueden elaborarse estimaciones fidedignas del efecto de la dipirona sobre la velocidad de absorción del etanol. La Figura 32 muestra, a manera de ilustración, el efecto de la dipirona sobre la farmacocinética del etanol con los problemas antes expuestos.

Por último, debe señalarse que la disminución en la exposición a etanol por la administración simultánea de piroxicam, no guarda relación con el efecto protector de los antiinflamatorios<sup>47</sup>, ya que la dipirona, que aumenta la exposición a etanol y no modifica la velocidad de oxidación de éste, protege también de igual manera contra los efectos deletéreos del etanol, por lo que puede concluirse que la capacidad para metabolizar el etanol, es independiente de la generación de efectos tóxicos en hígado. Esta última conclusión es importante, porque refuerza las evidencias que sugieren que el etanol *per se*, no es el responsable de los efectos deletéreos observados en una intoxicación etilica.

---

<sup>47</sup> Medidos como una menor producción de malondialdehído, o una menor acumulación de triglicéridos en hígado (Zentella de Piña *et al.*, 1992, 1993)



**Figura 32.** Efecto de la dipirona sobre el curso temporal de la concentración de etanol en sangre de ratas intoxicadas con etanol. Todos los animales recibieron  $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  de etanol más una cantidad equivalente del vehículo en que se disolvió el AINE(○); el grupo experimental recibió además  $53 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  de dipirona disueltos en  $\text{NaCl} 0.9\%$  como vehículo (●). Los animales fueron ayunados 24 h antes de iniciar los tratamientos.

## Conclusiones

Las conclusiones obtenidas en este trabajo, ya han sido presentadas a lo largo del desarrollo del mismo, y pueden dividirse en tres aspectos: i) aquellas relacionadas con el alcoholismo como un problema de salud en México, ii) las relacionadas con el efecto de los AINEs sobre el metabolismo del etanol, y finalmente, iii) las relacionadas con aspectos generales de farmacocinética.

I. Por lo que se refiere al primer grupo de conclusiones, es importante señalar que en éste trabajo se elabora por primera vez una estimación de la mortalidad total atribuible al alcohol, resaltando lo siguiente:

El número total de muertes en México atribuibles al consumo de alcohol en 1992, fue de 46 569, cifra que equivale al 11.36% de la mortalidad total para ese año colocándose entre las tres primeras causas de muerte para la población general. La mortalidad total atribuible al alcohol es 2.4 veces mayor que la mortalidad atribuible solo a cirrosis hepática.

La tasa de mortalidad total atribuible al alcohol para la población masculina es de 83.6 contra 23.5 para la población femenina.

II. Por lo que se refiere al segundo grupo de conclusiones, debe señalarse lo siguiente:

La reducción en la concentración de etanol (en sangre de ratas intoxicadas con alcohol), que se produce al administrar piroxicam, se debe a dos tipos de efectos que actúan de manera independiente:

- i) a nivel de tracto digestivo el piroxicam disminuye la velocidad de absorción de etanol desde el compartimento gástrico;
- ii) a nivel hepático, el piroxicam estimula la oxidación de equivalentes reductores en mitocondria, lo que a su vez permite una mayor velocidad de oxidación del etanol. Estos dos efectos actúan de manera simultánea, provocando una notable reducción en los niveles de etanol en sangre.

La menor velocidad de absorción del etanol en presencia de piroxicam ( $10-16.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) es muy probable que esté relacionada con una menor velocidad de vaciamiento gástrico, aunque el mecanismo involucrado debe ser complejo, ya que el piroxicam a dosis menores ( $1.65-16.5 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) acelera la absorción del etanol.

Por lo que se refiere a la estimulación por piroxicam de la oxidación de equivalentes reductores en mitocondrias de hígado, ésta se debe también a dos procesos diferentes:

- i) el piroxicam estimula en mitocondrias la producción de citrulina, una de las actividades mitocondriales que más demanda energía en forma de *ATP*, y que por lo mismo, consume una gran cantidad de equivalentes reductores (esta estimulación muy probablemente esta relacionada con la salida de calcio de la mitocondria, acción que también es inducida por la presencia de piroxicam).
- ii) el piroxicam puede actuar como un desacoplante "parcial" de la respiración mitocondrial, ya que tanto *in vivo* como *in vitro*, la administración de este AINE disminuye el control respiratorio y la relación *ADP/O* en mitocondrias aisladas. Este efecto, se debe a que el piroxicam es un ácido debil de naturaleza hidrofóbica (con un *pK* de 6.1), y que por lo mismo puede acarrear protones de un lado a otro de la membrana, disipando por tanto, el potencial de membrana en mitocondrias, y estimulando el consumo de oxígeno en condiciones de reposo y no así el estimulado por *ADP*. De hecho, la capacidad desacoplante del piroxicam está apenas 4 veces por debajo de la ejercida por el 2,4-dinitrofenol, un desacoplante clásico.

De esta manera, el piroxicam promueve una mayor oxidación de equivalentes reductores, lo que a su vez permite una mayor velocidad en la oxidación hepática del etanol.

Por otra parte, es importante señalar que el piroxicam no afecta la actividad de la alcohol deshidrogenasa, por lo que los efectos sobre el metabolismo del etanol no están mediados por cambios en la actividad de esta enzima.

Por lo que se refiere a la dipirona, ésta produce también efectos desacoplantes en la respiración mitocondrial, pero a concentraciones en el orden mM, muy por encima de las concentraciones empleadas con fines terapéuticos, dos órdenes de magnitud por arriba de las requeridas por el piroxicam para producir efectos similares. Esto último esta en concordancia con el hecho que la dipirona no solo no disminuye los niveles de etanol en sangre, sino que inclusive los aumenta (aunque éste último posiblemente se debe a efectos sobre la velocidad de absorción).

III. Por último, en lo que se refiere a las conclusiones generales sobre farmacocinética, destaca lo siguiente:

Las curvas de etanol en sangre contra tiempo, se ajustan mejor a un modelo en el cual el metabolismo hepático corresponde a una cinética de saturación de tipo Michaelis-Menten, en lugar de una cinética de primer orden.

La determinación de la velocidad de oxidación del etanol *in vivo*, a partir de la simple medición de la pendiente en la fase de eliminación (de las curvas de

farmacocinética de etanol en sangre), carece de un significado fisiológico definido. Esto es debido a que el valor de la pendiente no responde de manera proporcional a cambios en la velocidad de absorción y/o oxidación, por lo que los reportes con este tipo de determinaciones deben ser considerados con reservas.

Cuando existe metabolismo de primer paso, el área bajo la curva de etanol en sangre contra tiempo si depende de la velocidad de absorción, lo que implica que todas aquellas estimaciones del metabolismo de primer paso elaboradas a partir de las diferencias en el área bajo la curva cuando el etanol se administra por vía oral y intravenosa están mal planteadas y por ende, podrían no ser válidas.

A partir de una sola curva de etanol en sangre, no es posible estimar con precisión el metabolismo hepático y de primer paso en forma simultánea, ya que al efectuar el ajuste para estimar el valor de los parámetros cinéticos, no existe una solución única si no toda una familia de posibles soluciones.

## Referencias

- Abell, M.L. y Braselton, J.P. (1992). *Mathematica by example*. Academic Press. San diego. 654 pp.
- Abramson, S., Edelson, H.; Kaplan, H.; Ludewig, R. y Weissmann, G. (1984). Inhibition of neutrophil activation by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am. J. Med.* **77**(suppl 4B): 3-6.
- Abramson, S.; Korchak, H.; Ludewig, R.; Edelson, H.; Haines, K.; Levin, R.I.; Herman, R.; Rider, L.; Kimmel, S. y Weissmann, G. (1985). Modes of action of aspirin-like drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **82**: 7227-7231.
- Abramson, S. y Weissmann, G. (1989). The mechanism of action of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Clin. Exp. Rheumatol.* **7** (suppl. 3): 163-170.
- Adachi, J.; Mizoi, Y.; Fukunaga, T.; Ogawa, Y. y Imamichi, H. (1989). Comparative study on ethanol elimination and blood acetaldehyde between alcoholics and control subjects. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **13**: 601-604.
- Adachi, Y.; Bradford, B.U.; Gao, W.; Bojes, H.K. y Thurman, R.G. (1994). Inactivation of Kupffer cells prevents early alcohol-induced liver injury. *Hepatology* **20**: 453-460.
- Åkerman, K.E.O. y Wikström, M.K.F. (1976). Safranin as a probe of the mitochondrial membrane potential. *FEBS Lett.* **68**: 191-197.
- Algar, E.M.; Vandeberg, J.L. y Holmes, R.S. (1992). A gastric alcohol dehydrogenase in the baboon. Purification and properties of a 'High-K<sub>m</sub>' enzyme, consistent with a role in 'first pass' alcohol metabolism. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **16**: 922-927.
- Anton, R.F. y Randall, C.L. (1987). Central nervous system prostaglandins and ethanol. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **11**: 17-18.
- Araki, K.; Fukase, O.; Yamamoto, A.; Fujiwara, T.; Murayama, H.; Yamaguchi, H.; Inagaki, H. y Okochi, T. (1994). Relationships between serum lipid peroxide levels (serum TBA levels) and smoking, alcohol drinking, food frequency, serum vitamin C and E in subjects with multiphasic screening. *Nippon Kosho Eisei Zasshi* **41**: 311-322.
- Aruoma, O.I. y 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.; Milz, J. Y Lutz, J. (1992). Influence of anti-inflammatory drugs and free radical scavengers on intestinal ischemia induced oxidative-tissue damage. *Adv. Exp. Med. Biol.* **316**: 239-251.
- Baños, G. y Reyes, P.A. (1989). A comparative study of the effect of ten non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDS) upon some mitochondrial and platelet functions. *Int. J. Biochem.* **21**: 1387-1394.

- Basista, M.H.; Gavalier, J.; Stieffenhofer, A.; Love, K.; Rosenblum, E. y Dindzans, V. (1993). Effect of ethanol on Kupffer cell function. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **17**: 556-560.
- Batt, R.D. (1989). Absorption, distribution, and elimination of alcohol. En: Crow, K. E.; Batt, R. D. (eds). *Human Metabolism of Alcohol, Vol. I: Pharmacokinetics, Medicolegal Aspects, and General Interest*. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp 3-8.
- Bell, H.; Bjørneboe, A.; Eidsvoll, B.; Norum, K.R.; Raknerud, N.; Try, K.; Thomassen, Y. y Drevon, C.A. (1992). Reduced concentration of hepatic  $\alpha$ -tocopherol in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Alcohol Alcohol.* **27**: 39-46.
- Bilodeau, J.-F.; Wang, M.; Chung, F.-L. y Castonguay, A. (1995). Effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs on oxidative pathways in AJJ mice. *Free Rad. Biol. Med.* **18**: 47-54.
- Bjørneboe, G.-E. Aa.; Bjørneboe, A.; Hagen, B.F.; Mørland, J. Y Drevon, C.A. (1987). Reduced hepatic  $\alpha$ -tocopherol after long-term administration of ethanol to rats. *Biochim. Biophys. Acta* **918**: 236-241.
- Bloor, J.H.; Mapoles, J.E. y Simon, F.R. (1994). Alcoholic liver disease: new concepts of pathogenesis and treatment. *Adv. Intern. Med.* **39**: 49-42.
- Boleda, M.D.; Julià, P.; Moreno, A. y Parès, X. (1989). Role of extrahepatic alcohol dehydrogenase in rat ethanol metabolism. *Arch. Biochem. Biophys.* **274**: 1101-1105.
- Bondy, S.C. (1992). Ethanol toxicity and oxidative stress. *Toxicol. Lett.* **63**: 231-241.
- Bondy, S.C. y Pearson, K.R. (1993). Ethanol-induced oxidative stress and nutritional status. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **17**: 651-654.
- Bondy, S.C. y Naderi, S. (1994). Contribution of hepatic cytochrome p450 systems to the generation of reactive oxygen species. *Biochem. Pharmacol.* **48**: 155-159.
- Boudinot, S.G.; Funderburg, E.D. y Boudinot, F.D. (1993). Effects of age on the pharmacokinetics of piroxicam in rats. *J. Pharm. Sci.* **82**: 254-257.
- Boyde, T.R.C. y Rahmatullah, M. (1980). Optimization of condition for the colorimetric determination of citrulline using diacetyl monoxime. *Anal. Biochem.* **107**: 424-431.
- Bradford, B.U.; Seed, C.B.; Handler, J.A.; Forman, D.T. y Thurman, R.G. (1993). Evidence that catalase is a major pathway of ethanol oxidation *in vivo*: Dose-response studies in deer mice using methanol as a selective substrate. *Arch. Biochem. Biophys.* **303**: 172-176.
- Brand, M.D. y Murphy, M.P. (1987). Control of electron flux through the respiratory chain in mitochondria and cells. *Biol. Rev.* **62**: 141-193.
- Brand, M.D.; Hafner, R.P. y Brown, G.C. (1988). Control of respiration in non-phosphorylating mitochondria is shared between the proton leak and the respiratory chain. *Biochem. J.* **255**: 535-539.
- Brooks, P.M. y Day, R.O. (1991). Nonsteroidal antiinflammatory drugs-Differences and similarities. *New Eng. J. Med.* **324**: 1716-1725.



- Caballeria, J.; Baraona, E. y Lieber, C.S. (1987). The contribution of the stomach to ethanol oxidation in rat. *Life Sci.* **41**: 1021-1027.
- Caballeria, J.; Frezza, M.; Hernández-Muñoz, R.; DiPadova, C.; Korsten, M.A.; Baraona, E. y Lieber, C.S. (1989). Gastric origin of the first-pass metabolism of ethanol in humans: effect of gastrectomy. *Gastroenterol.* **97**: 1205-1209.
- Caballero, M.; Riveros-Rosas, H.; Julián de Riveros, A.; Hernández-Tobias, A. y Piña, E. (1994). A mathematical model to describe the influence of piroxicam over the pharmacokinetics of ethanol in rats. *Faseb J.* **8**(7): A1467.
- Caceci, M.S. y Cacheris, W.P. (1984). Fitting curves to data: The simplex algorithm is the answer. *Byte* **9**: 340-362.
- Canuto, R.A.; Ferro, M.; Muzio, G. y Bassi, A.M. (1994). Role of aldehyde metabolizing enzymes in mediating effects of aldehyde products of lipid peroxidation in liver cells. *Carcinogenesis* **15**: 1359-1364.
- Cassoni, F.; Venegoni, E.; Minonzio, F.; Ongari, A.M.; Maresca, V. Y Zanussi, C. (1987). Inhibition of neutrophil oxidative metabolism by nimesulide. *Agents Actions* **21**: 121-129.
- Cederbaum, A.I.; Lieber, C.S.; Beattie, D.S. y Rubin, E. (1973a). Characterization of shuttle mechanisms for the transport of reducing equivalents into mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.* **158**: 763-781.
- Cederbaum, A.I.; Lieber, C.S.; Toth, A.; Beattie, D.S. y Rubin, E. (1973b). Effects of ethanol and fat on the transport of reducing equivalents into rat liver mitochondria. *J. Biol. Chem.* **248**: 4977-4986.
- Cederbaum, A.I.; Dicker, E. y Rubin, E. (1977). Transfer and reoxidation of reducing equivalents as the rate-limiting steps in the oxidation of ethanol by liver cells isolated from fed and fasted rats. *Arch. Biochem. Biophys.* **183**: 638-646.
- Cederbaum, A.I. y Cohen, G. (1984). Microsomal oxidant radical production and ethanol oxidation. *Methods Enzymol.* **105**: 516-522.
- Cederbaum, A.I. (1991). Microsomal generation of reactive oxygen species and their possible role in alcohol hepatotoxicity. *Alcohol Alcohol.* (Suppl. 1): 291-296.
- Cleland, K.W. y Slater, E.C. (1953). Respiratory granules of heart muscle. *Biochem. J.* **53**: 547-556.
- Cohen, G. y Cederbaum, A.I. (1980). Microsomal metabolism of hydroxyl radical scavenging agents: Relationship to the microsomal oxidation of alcohols. *Arch. Biochem. Biophys.* **199**: 438-447.
- Collier, H.O.J.; McDonald-Gibson, W.J. y Saeed, S.A. (1975). Stimulation of prostaglandin biosynthesis by capsaicin, ethanol and tyramine. *Lancet* **1**: 702.
- Consejo Nacional Antialcohólico (1985). *Programa contra el alcoholismo y el abuso de bebidas alcohólicas*. Secretaría de Salud, Consejo Nacional Antialcohólico e Instituto Mexicano de Psiquiatría (eds). México. 111 pp.
- Corvera, S. Y García Sáinz, J.A. (1982). Vasopressin and angiotensin II stimulate ureogenesis through increased citrulline production. *Life Sci.* **31**: 2493-2498.
- Cronholm, T. (1985). Hydrogen transfer between ethanol molecules during oxidoreduction *in vivo*. *Biochem. J.* **229**: 315-322.

- Cronholm, T.; Jones, A.W. y Skagerberg, S. (1988). Mechanism and regulation of ethanol elimination in humans: Intermolecular hydrogen transfer and oxidoreduction in vivo. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **12**: 683-686.
- Cronstein, B.N. y Weissmann, G. (1995). Targets for antiinflammatory drugs. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **35**: 449-462.
- Dawson, A.G. (1982). Rapid oxidation of NADH via the reconstituted malate-aspartate shuttle in systems containing mitochondrial and soluble fractions of rat liver: Implications for ethanol metabolism. *Biochem. Pharmacol.* **31**: 2733-2738.
- Dietzen, D.J. y Davis, E.J. (1993). Oxidation of pyruvate, malate, citrate, and cytosolic reducing equivalents by AS-30D hepatoma mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.* **305**: 91-102.
- DiPadova, C.; Worner, T.M.; Julkunen, R.J.K. y Lieber, C.S. (1987). Effects of fasting and chronic alcohol consumption on the first-pass metabolism of ethanol. *Gastroenterol.* **92**: 1169-1173.
- Donohue, T.M.; Tuma, D.J. y Sorrell, M.F. (1983). Acetaldehyde adducts with proteins: binding of [<sup>14</sup>C]acetaldehyde to serum albumine. *Arch. Biochem. Biophys.* **220**: 239-246.
- Earnest, D.L.; Abril, E.R.; Jolley, C.S. y Martinez, F. (1993). Ethanol and diet-induced alterations in Kupffer cell function. *Alcohol Alcohol.* **28**: 73-83.
- Edelson, H.S.; Kaplan, H.B.; Korchak, H.M.; Smolen, J.E. y Weissmann, G. (1982). Dissociation by piroxicam of degranulation and superoxide anion generation from decrements in chlortetracycline fluorescence of activated human neutrophils. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **104**: 247-253.
- Estabrook, R.W. (1967). Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurements of ADP/O ratios. *Meth. Enzymol.* **10**: 41-47.
- Faulkner, T.P.; Cantieberry, S.B., Watis, V.J. y Hussain, A.S. (1990). Comparative pharmacokinetics of ethanol in inbred strains of mice using doses based on total body water. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **14**: 82-86.
- Fernández-Chaca, J.C.; Garcia-Ruiz, C.; Ookters, M. y Kaplowitz, N. (1991). Impaired uptake of glutathione by hepatic mitochondria from chronic ethanol-fed rats. *J. Clin. Invest.* **87**: 397-405.
- Freeza, M.; Di Padova, C.; Pozzato, G.; Terpin, M.; Baraona, E. y Lieber, C.S. (1990). High blood alcohol levels in women: The role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first-pass metabolism. *New Engl. J. Med.* **322**: 96-99.
- Fukui, H.; Kitano, H.; Tsujii, T.; Morimura, M.; Kikuchi, E.; Matsumoto, M.; Tsujita, T.; Kikukawa, M.; *et al.* (1993). Effect of alcohol on the functions of Kupffer cells and splenic macrophages in rats. *Alcohol Alcohol. (suppl 1B)*: 53-57.
- Fujita, M.; Sano, M.; Yoshino, K. y Tomita, T. (1994). Effects of alcohol dehydrogenase and glutathione on the degradation of (E)-4-hydroxy-2-nonenal and N-hexanal in rat liver. *Biochem. Mol. Biol. Int.* **32**: 429-434.
- George, F.R. y 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.
- 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. y Collins, A.C. (1985). Ethanol's behavioral effects may be partially due to increases in brain prostaglandin production. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **9**: 143-146.
- George, F.R.; Ritz, M.C.; Elmer, G.I. y Collins, A.C. (1986). Time course of ethanol's effects on brain prostaglandins in LS and SS mice. *Life Sci.* **39**: 1069-1075.
- Girre, C.; Hispard, E.; Therond, P.; Guedj, S.; Bourdon, R. y Dally, S. (1990). Effect of abstinence from alcohol on the depression of glutathione peroxidase activity and selenium and vitamin E levels in chronic alcoholic patients. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **14**: 909-912.
- Goldin, R. (1994). Rodent models of alcoholic liver disease. *Int. J. Exp. Pathol.* **75**: 1-7.
- Goodman Gilman, A.; Rall, T.W.; Nies, A.S. y Taylor, P. (1990). *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Octava edición. Pergamon Press. New York, pp 3-32.
- Greizerstein, H.B. (1984). Ethanol and indomethacin interactions in motor impairment, hypnosis, and body temperature. *Psychopharmacology* **84**: 101-104.
- Groen, A.K.; Wanders, R.J.A.; Westerhoff, H.V.; van der Meer, R. Y Tager, J.M. (1982). Quantification of the contribution of various steps to the control of mitochondrial respiration. *J. Biol. Chem.* **257**: 2754-2757.
- Gutknecht, J. (1987). Proton conductance through phospholipid bilayers: Water or weak acids? *J. Bioenerg. Biomemb.* **19**: 413-426.
- Hernández-Muñoz, R.; Díaz-Muñoz, M. y Chagová de Sánchez, V. (1987). In vivo and in vitro adenosine stimulation of ethanol oxidation by hepatocytes, and the role of the malate-aspartate shuttle. *Biochim Biophys. Acta* **930**: 254-263.
- Hernández-Muñoz, R.; Caballería, J.; Baraona, E.; Uppal, R.; Greenstein, R. y Lieber, C.S. (1990). Human gastric alcohol dehydrogenase: Its inhibition by H<sub>2</sub> receptor antagonists, and its effect on the bioavailability of ethanol. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **14**: 946-950.
- Hernández-Muñoz, R.; Díaz-Muñoz, M. y Chagová de Sánchez, V. (1992). Effects of adenosine administration on the function and membrane composition of liver mitochondria in carbon tetrachloride induced cirrhosis. *Arch. Biochem Biophys.* **294**: 160-167.
- Hess, E.V. (1984). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: New perspectives in the inflammatory process and immunologic function. *Am. J. Med.* **77**(suppl 4B): 1-2.
- Hockenbery, D.M.; Oltvai, Z.N.; Yin, X.M.; Milliman, C.L. y Korsmeyer, S.J. (1993).

- Bcl-2 functions in an antioxidant pathway to prevent apoptosis. *Cell* **75**: 241-251.
- Horowitz, M.; Maddox, A.; Bochner, M.; Wishart, J.; Bratasiuk, R.; Collins, P.; Shearman, D. (1989). Relationships between gastric emptying of solid and caloric liquid meals and alcohol absorption. *Am. J. Physiol.* **257** (Gastrointest. Liver Physiol. 20): G291-G298.
- Israel, Y.; Videla, L. Y Bernstein, J. (1975). Liver hypermetabolic state after chronic ethanol consumption: Hormonal interrelations and pathogenic implications. *Fed. Proc.* **34**: 2052-2059.
- Isselbacher, K.J. y Carter, E.A. (1976). Effect of propranolol on ethanol metabolism - Evidence for the role of mitochondrial NADH oxidation. *Biochem. Pharmacol.* **25**: 169-174.
- Jalbert, G. y Castonguay, A. (1992). Effects of NSAIDs on NNK-induced pulmonary and gastric tumorigenesis in A/J mice. *Cancer Lett.* **66**: 21-28.
- Janků, I. (1971). Pharmacokinetics. En: Bacq, Z.M. (ed). *Fundamentals of Biochemical Pharmacology*. Pergamon Press. Braunschweig, Belgium. pp 203-219.
- Juliá, P.; Farrés, J. y Parés, X. (1987). Characterization of three isoenzymes of rat alcohol dehydrogenase: Tissue distribution and physical and enzymatic properties. *Eur. J. Biochem.* **162**: 179-189.
- Julián-Sánchez, A. Y Riveros-Rosas, H. (1988). ¿Son las membranas biológicas impermeables a los protones? *Bol. Educ. Bioquím.* **7**: 54-58.
- Julián-Sánchez, A.; Riveros-Rosas, H.; Caballero, M. y Hernández-Tobías, A. (1994). Modelo matemático que describe la influencia del piroxicam sobre la farmacocinética del etanol en ratas. *Memorias del XX Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica*: p. 240. Universidad Autónoma de Zacatecas. (octubre 30 - noviembre 4). Zacatecas, Zac.
- Julkunen, R.J.K.; DiPadova, C. y Lieber, C.S. (1985). First pass metabolism of ethanol - a gastrointestinal barrier against the systemic toxicity of ethanol. *Life Sci.* **37**: 567-573.
- Kawase, T., Kato, S. y Lieber, C.S. (1989). Lipid peroxidation and antioxidant defense systems in rat liver after chronic ethanol feeding. *Hepatology* **10**: 815-821.
- Keegan, A. y Batey, R. (1993). Dietar, carbohydrate accelerates ethanol elimination, but does not alter hepatic alcohol dehydrogenase. *Alcohol.: Clin Exp. Res.* **17**: 431-433.
- Keyser, J.W. y Vaughn, J. (1949). Turbidities the estimation of serum proteins by the biuret method. *Biochem. J.* **44**: XXII. (*Proceedings of the Biochemical Society*)
- Koch, O.R. y Cravero de Koch, A. (1994). Estrés oxidativo hepático inducido por etanol. *Rev. Gastroenterol. Méx.* **59**: 44-45
- Kopp, E. y Ghosh, S. (1994). Inhibition of NF- $\kappa$ B by sodium salicylate and aspirin. *Science* **265**: 956-959.
- Kukielka, E. y Cederbaum, A.I. (1992). The effect of chronic ethanol consumption on NADH and NADPH-dependent generation of reactive oxygen intermediates by isolated

- rat liver nuclei. *Alcohol Alcohol.* **27**: 233-239.
- Kukielka, E.; Dicker, E. y Cederbaum, A.I. (1994). Increased production of reactive oxygen species by rat liver mitochondria after chronic ethanol treatment. *Arch. Biochem. Biophys.* **309**: 377-386.
- Kunz, W.S. y Davis, E.J. (1991). Control of reversible intracellular transfer of reducing potential. *Arch. Biochem. Biophys.* **284**: 40-46.
- Lermioğlu, F.; Berkan, T.; Yasa, M.; Kerry, Z.; Yalçinkaya, C. y Özer, A. (1990). The effect of cigarette smoke on the plasma toxicam concentrations in rats. *J. Pharm. Pharmacol.* **42**: 802-803.
- Levitt, M.D.; Levitt, D.G.; Furne, J. y DeMaster, E.G. (1994). Can the liver account for first-pass metabolism of ethanol in the rat? *Am. J. Physiol.* **267** (3Pt1): G452-G457.
- Lieber, C.S.; Jones, D. P.; Mendelson, J. *et al.* (1963). Fatty liver, hyperlipemia and hyperuricemia produced by prolonged alcohol consumption despite adequate dietary intake. *Trans. Assoc. Am. Phys.* **76**: 289-300.
- Lieber, C.S. y DeCarli, L.M. (1965). Effects of prolonged ethanol intake: Production of fatty liver despite adequate diets. *J. Clin. Invest.* **44**: 1009-1021.
- Lieber, C.S. y Rubin, E. (1968). Alcoholic fatty liver in man on a high protein and low fat diet. *Am. J. Med.* **44**: 200-206.
- Lieber, C.S. (1984). Alcohol and the liver: 1984 update. *Hepatology* **4**: 1243-1260.
- Lieber, C.S. (1991). Hepatic, metabolic and toxic effects of ethanol: 1991 update. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **15**: 573-592.
- Lieber, C.S. (1994). Alcohol and the liver: 1994 update. *Gastroenterology* **106**: 1085-1105.
- Machella, T.E. y Griffith J., J.Q. (1949). The digestive system. En: Farris, E.J. y Griffith J., J.Q. (eds.). *The rat in laboratory investigation*. Segunda edición. J.B. Lippincott Co. Philadelphia. pp 166-180.
- Maffei Facino, R.; Carini, M.; Aldini, G.; Saibene, L. Y Macciocchi, A. (1993). Antioxidant profile of nimesulide, indomethacin and diclofenac in phosphatidylcholine liposomes (PCL) as membrane model. *Int. J. Tissue React.* **15**: 225-234.
- Maier, S.E.; Strittmatter, M.A.; Chen, W.-J. A. West, J. R. (1995). Changes in blood alcohol levels as a function of alcohol concentration and repeated alcohol exposure in adult female rats: Potential risk factors for alcohol-induced fetal brain injury. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **19**: 923-927.
- Masini, A.; Ceccarelli-Stanzani, D. Y Muscatello, U. (1983). Phosphorylating efficiency of isolated rat liver mitochondria respired under the conditions of steady-state. *Biochim. Biophys. Acta* **724**: 251-257.
- Mauch, T.J.; Donohue, T.M.; Zetterman, R.F. Sorrell, M.F. y Tuma, D.J. (1984). Covalent binding of acetaldehyde to purified enzymes. *Fed. Proc.* **43**: 960.
- Mazzanti, R.; Moscarella, S.; Bensi, G.; Altavilla E. y Gentilini, P. (1989). Hepatic lipid peroxidation and aldehyde dehydrogenase activity in alcoholic and

- non alcoholic liver disease. *Alcohol Alcohol.* **24**: 121-128.
- Medina, V.A.; Donohue, T.M., Sorrell, M.F. y Tuma, D.J. (1985). Covalent binding of acetaldehyde to hepatic proteins during ethanol oxidation. *J. Lab. Clin. Med.* **105**: 5-10.
- McCormack, K. y Brune, K. (1991). Dissociation between the anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of the nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a survey of their analgesic efficacy. *Drugs* **41**: 533-547.
- McDougall, P.; Markam, A.; Cameron, I. y Sweetman, A.J. (1983). The mechanism of inhibition of mitochondrial oxidative phosphorylation by the non-steroidal anti-inflammatory agent diflunisal. *Biochem. Pharmacol.* **32**: 2595-2598.
- Merck Index: an Encyclopedia of Chemical, Drugs, and Biologicals** (1989). Onceava edición, editada por: Budavari, S. Merck & Co., Rahway, New Jersey.
- Mezey, E. (1984). Metabolic Effects of alcohol. *Fed. Proc.* **44**: 134-138.
- Morato, 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.
- Moorghen, M.; Ince, P.; Finney, K.J.; Sunter, J.P.; Appleton, D.R. y Watson, A.J. (1988). A protective effect of sulindac against chemically-induced primary colonic tumours in mice. *J. Pathol.* **156**: 341-347.
- Motulsky, H.J. y Ransnas, L.A. (1987). Fitting curves to data using nonlinear regression: a practical and nonmathematical review. *FASEB J.* **1**: 365-374.
- Mufti, S.I.; Eskelson, C.D., Odeleye, O.E. y Nachiappan, V. (1993). Alcohol-associated generation of oxygen free radicals and tumor promotion. *Alcohol Alcohol.* **28**: 621-628.
- Narro-Robles, J.; Gutiérrez-Avila, J.H.; López-Cervantes, M.; Borges, G. y Rosovsky, H. (1992). La mortalidad por cirrosis hepática en México I. Características epidemiológicas relevantes. *Salud Publ. Méx.* **34**: 378-387.
- Nebert, D.W. (1994). Drug metabolism and signal transduction: possible role of Ah receptor and arachidonic acid cascade in protection from ethanol toxicity. *EXS* **71**: 231-240.
- Niemela, O.; Parkkila, S.; Yla-Herttuala, S.; Halsted, C.; Witztum, J.L.; Lanca, A.; Israel, Y. (1994). Covalent protein adducts in the liver as a result of ethanol metabolism and lipid peroxidation. *Lab Invest.* **70**: 537-546.
- Niemela, O.; Parkkila, S.; Yla-Herttuala, S.; Villanueva, J.; Ruebner, B. Y Halsted, C.H. (1995). Sequential acetaldehyde production, lipid peroxidation, and fibrogenesis in micropig model of alcohol-induced liver disease. *Hepatology* **22**: 1208-1214.
- Panés, J.; Caballería, J.; Guitart, R.; Parés, A.; Soler, X.; Rodamilans, M.; Navasa, M.; Parés, X.; Bosch, J. y Rodés, J. (1992). Determinants of ethanol and acetaldehyde metabolism in chronic alcoholics. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **17**: 48-53.
- Parés, X.; Cederlund, E.; Moreno, A.; Hjelmqvist, L.; Farrés, J. y Jörnvall, H. (1994). Mammalian class IV alcohol dehydrogenase (stomach alcohol dehydrogenase): Structure, origin, and

- correlation with enzymology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**: 1893-1897.
- Pepin, P.; Bouchard, L.; Nicole, P. Y Castonguay, A. (1992). Effects of sulindac and oltipraz on the tumorigenicity of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone in A/J mouse lung. *Carcinogenesis* **13**: 341-348.
- Rajjman, L. y Jones, M.E. (1976). Purification, composition and some properties of rat liver carbamyl phosphate synthetase (ammonia). *Arch. Biochem. Biophys.* **175**: 270-278.
- Randall, C.L. y Anton, R.F. (1984). Aspirin reduces alcohol-induced prenatal mortality and malformations in mice. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **8**: 513-515.
- Randall, C.L.; Anton, R.F. y Becker, H.C. (1987). Effect of indomethacin on alcohol-induced morphological anomalies in mice. *Life Sci.* **41**: 361-369.
- Rao, A.R. y Hussain, S.P. (1988). Modulation of methylcholanthrene-induced carcinogenesis in the uterine cervix of mouse by indomethacin. *Cancer Lett.* **43**: 15-19.
- Rawat, A.K. y Kuriyama, K. (1972). Contribution of "substrate shuttles" in the transport of extramitochondrial reducing equivalents by hepatic mitochondria from chronic alcohol-fed mice. *Arch. Biochem. Biophys.* **152**: 44-52.
- Reddy, B.S. Maruyama, H. Y Kelloff, G. (1987). Dose-related inhibition of colon carcinogenesis by dietary piroxicam, a nonsteroidal antiinflammatory drug, during different stages of rat colon tumor development. *Cancer Res.* **47**: 5340-5346.
- Reinke, L.A.; Lai, E.K.; DuBose, C.M. y McCay, P.B. (1987). Reactive free radical generation *in vivo* in heart and liver of ethanol-fed rats: Correlation with radical formation *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**: 9223-9227.
- Reinke, L.A.; Rau, J.M. y McCay, P.B. (1990). Possible roles of free radicals in alcoholic tissue damage. *Free Rad. Res. Comm.* **9**: 205-211.
- Reinke, L.A.; Kotake, Y.; McCay, P.B. y Janzen, E.G. (1991). Spin-trapping studies of hepatic free radicals formed following the acute administration of ethanol to rats: *in vivo* detection of 1-hydroxyethyl radicals with PBN. *Free Rad. Biol. Med.* **11**: 31-39.
- Reyes, P.A.; Chavez, E.; Gil, H.A. y Bravo, C. (1986). Anti-inflamatorios no esteroideos y sus acciones sobre la función mitocondrial. *Gacet. Med. Méx.* **122**: 157-164.
- Ritz, M.C.; George, F.R. y Collins, A.C. (1981). Indomethacin antagonizes ethanol but not pentobarbital-induced behavioral activation. *Subst. Alcohol Actions-Misuse* **2**: 289-299.
- Riveros-Rosas, H. (1988). Efectos de la ingesta crónica moderada de etanol en mitocondrias de hígado de rata a lo largo de 8 semanas de tratamiento. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Riveros-Rosas, H.; Julián-Sánchez, A. y Piña-Garza, E. (1989). Factores que determinan la respiración mitocondrial en reposo. *Memorias de la VI Reunión de Bioenergética y Biomembranas de la*

- Sociedad Mexicana de Bioquímica*, p. 28. (26-30 noviembre) Taxco, Gro.
- Riveros-Rosas, H.; Zentella de Piña, M.; Saavedra-Molina, A.; Julián de Riveros, A.; Hernández-Tobías, A. y Piña, E. (1993). El piroxicam y su efecto sobre algunas funciones mitocondriales implicadas con el metabolismo del etanol. *Memorias del VIII Congreso de Bioenergética y Biomembranas de la Sociedad Mexicana de Bioquímica*: p. 108. Hotel Hacienda Cocoyoc. (7 - 11 noviembre). Cocoyoc, Mor.
- Riveros-Rosas, H.; Saavedra-Molina, A.; Zentella de Piña, M.; Julián-Sánchez, A.; Rinetti-Vargas, G.; Hernández-Tobías, A. y Piña, E. (1994). Efecto de algunos anti-inflamatorios no esteroideos sobre actividades mitocondriales relacionadas con el metabolismo del etanol. *Memorias del XX Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica*: p. 240. Universidad Autónoma de Zacatecas (octubre 30 - noviembre 4). Zacatecas, Zac.
- 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.
- Roskos, L.K. y Boudinot, F.D. (1990). Effects of dose and sex on the pharmacokinetics of piroxicam in the rat. *Biopharm. Drug Dispos.* **11**: 215-225.
- Rotrosen, J.; Mandio, D.; Segarnick, D.; Traficante, L.J. y Gershon, S. (1980). Ethanol and prostaglandin E1: Biochemical and behavioral interactions. *Life Sci.* **26**: 1867-1876.
- Rowland, M. y Tozer, T.N. (1989) *Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications*. Second edition. Lea & Febiger. Philadelphia. pp 297-322.
- Saavedra-Molina, A.; Uribe, S. y Devlin, T.M. (1990). Control of mitochondrial matrix calcium: studies using Fluo-3 as a fluorescent calcium indicator. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **167**: 148-153.
- Saavedra-Molina, A. (1992). Relationship between intra-mitochondrial free calcium and citrulline synthesis and ornithine uptake in rat liver. *VII Panamerican Association of Biochemical Societies y XIX Congreso de la Sociedad Mexicana de Bioquímica*. (27 sept - 2 oct). Ixtapa México.
- Sagone Jr, A.L. y 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.
- Saldanha, L.A.; Elias, G. Y Rao, M.N. (1990). Oxygen radical scavenging activity of phenylbutenones and their correlation with antiinflammatory activity. *Arzneimittelforschung* **40**: 89-91.
- Schneider, W.C. y Hogeboom, G.H. (1956). Intracellular distribution of enzymes. I. Further studies on the distribution of cytochrome C in rat liver homogenate. *J. Biol. Chem.* **183**: 123-128.
- Seigel, M.I.; McConnell, R.T. y Cuatrecasas, P. (1979). Aspirin-like drugs interfere with arachidonate metabolism by inhibition of the 12-hydroperoxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid peroxidase activity of the lipoxygenase pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **76**: 3774-3778.



- Shaw, S.; Herbert, V.; Colman, N. y Jayatilke, E. (1990). Effect of ethanol-generated free radicals on gastric intrinsic factor and glutathione. *Alcohol* **7**: 153-157.
- Shimizu, T.; Kondo, K. y Hayaishi, O. (1981). Role of prostaglandin endoperoxides in the serum thiobarbituric acid reaction. *Arch. Biochem. Biophys.* **206**: 271-276.
- Siess, E.A. (1983). Influence of isolation media on the preservation of mitochondrial functions. *Hope Seylers Z. Physiol. Chem.* **364**: 279-290.
- Sistema Nacional de Encuestas de Salud (1990). *Encuesta Nacional de Adicciones: Alcohol*. Secretaría de Salud: Dirección General de Epidemiología e Instituto Mexicano de Psiquiatría (eds). México. 358 pp.
- Smith, T.; DeMaster, E.G.; Furne, J.K.; Springfield, J.; Levitt, M.D. (1992). First-pass gastric mucosal metabolism of ethanol is negligible in the rat. *J. Clin. Invest.* **89**: 1801-1806.
- Smith, G.D.; Shaw, L.J.; Maini, P.K.; Ward, R.J.; Peters, T.J. y Murray, J.D. (1993). Mathematical modelling of ethanol metabolism in normal subjects and chronic alcohol misusers. *Alcohol* **28**: 25-32.
- Sozmen, E.Y.; Tanyalcin, T.; Onat, T.; Kutay, F. Y Erlacin, S. (1994). Ethanol induced oxidative stress and membrane injury in rat erythrocytes. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **32**: 741-744.
- Sorrell, M.F. y Tuma, D.J. (1985). Hypothesis: alcoholic liver injury and the covalent binding of acetaldehyde. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **9**: 306-309.
- Sugano, T.; Handler, J.A.; Yoshihara, H.; Kizaki, Z. y Thurman, R.G. (1990). Acute and chronic ethanol treatment increases malate-aspartate shuttle capacity in perfused rat liver. *J. Biol. Chem.* **265**: 21549-21553.
- Tanaka, T.; Nishikawa, A.; Mori, Y.; Morishita, Y. Y Mori, H. (1989). Inhibitory effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs piroxicam and indomethacin on 4-nitroquinoline 1-oxide-induced tongue carcinogenesis in male ACl/N rats. *Cancer Lett.* **48**: 177-182.
- Tapia-Conyer, R.; Medina-Mora, M.E.; Sepúlveda J.; De la Fuente, R. y Kumate, J. (1990). La Encuesta Nacional de Adicciones de México. *Salud Públ. Méx.* **32**: 507-522.
- Thurman, R.G.; Ji, S.; Matsumura, T.; Lemasters, J.J. (1984). Is hypoxia involved in the mechanism of alcohol induced liver injury? *Fund. Appl. Toxicol.* **4**: 125-133.
- Tokumitsu, Y.; Lee, S. y Ui, M. (1977). *In vitro* effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on oxidative phosphorylation in rat liver mitochondria. *Biochem. Pharmacol.* **26**: 2101-2106.
- Torrielli, M.V.; Gabriel, L. y Dianzani, M.U. (1978). Ethanol-induced hepatotoxicity: experimental observations on the role of lipid peroxidation. *J. Pathol.* **126**: 11-25.
- Twomey, B.M. y Dale, M.M. (1992). Cyclooxygenase-independent effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the neutrophil respiratory burst. *Biochem Pharmacol.* **43**: 413-418.
- van den Berg, G. y Nauta, W.T. (1975). Effects of anti-inflammatory 2-aryl-1,3-indandiones on oxidative phosphorylation in rat 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.
- Vázquez-Osornio, L.; Miranda-Sánchez, S.; Pérez-Tapia, E.; Rodríguez-Rodríguez, C.; Rivera-Aguilar, A.; Allende-Herrera, F.; Ruiz-Soto, R.; Lorenzana-Jiménez, M. y Ramírez-González, M.D. (1993) Effect of piroxicam and tenoxicam on ethanol metabolism in tachycic mice. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* **36**: 329-332.
- Velazco Fernández, R. (1986). Alcohol and alcohol problems, research 7: Latin America. *Br. J. Addicc.* **81**: 11-15.
- Videla L.A. y Valenzuela, A. (1982). Alcohol ingestion, liver glutathione and lipoperoxidation: metabolic interrelations and pathological implications. *Life Sci.* **31**: 2395-2407.
- Villalobos Molina, R. y Saavedra Molina, A. (1985). Regulación enzimática del metabolismo. *Mensaje Bioquímico* **8**: 145-169.
- Wagner, J.G. y Patel, J.A. (1972). Variations in absorption and elimination rates of ethyl alcohol in a single subject. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* **4**: 61-76.
- Wanders, R.J.A.; van Roermund, W.T. y Meijer, A.J. (1984). Analysis of the control of citrulline synthesis in isolated rat-liver mitochondria. *Eur. J. Biochem.* **142**: 247-254.
- Watson, P. E. (1989). Total body water and blood alcohol levels: updating the fundamentals. En: Crow, K. E.; Batt, R. D. (eds). *Human metabolism of alcohol, Vol. I: Pharmacokinetics, medico legal aspects, and general interest*. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp 41-56
- Weglartz, L., Drozd, M y Goss, M. (1990). Effect of anti-inflammatory drugs on the activity of antioxidant enzymes and in vivo peroxidation products in the liver and kidney of rat. *Comp. Biochem. Physiol.* **96C**: 83-85.
- Weissmann, G. (1991). Aspirin. *Sci. Am.* **264**: 84-90 (enero).
- Welling, P.G. (1986). *Pharmacokinetics. Processes and mathematics*. ACS Monograph 185. American Chemical Society. Washington. 290 pp.
- Wendell, G.D. y Thurman, R.G. (1979). Effect of ethanol concentration on rates of ethanol elimination in normal and alcohol-treated rats *in vivo*. *Biochem. Pharmacol.* **28**: 273-279.
- Wenzel, G.; Kuklinski, B.; Ruhlmann, C., Ehrhardt, D. (1993). [Alcohol-induced toxic hepatitis - a "free radical" associated disease: Lowering fatality by adjuvant antioxidant therapy]. *Z. Gesamte Inn Med.* **48**: 490-496.
- Wingard Jr., L.B.; Brody, T.M.; Larner, J., Schwartz, A. (1991). *Human Pharmacology: molecular-to-clinical* Mosby Year Book. St Louis, Missouri. pp 33-49.
- Wisniewska-Knypl, J.M. y Wronska-Nofer, T. (1994). Biological markers of oxidative stress induced by ethanol and iron overload in rat. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* **7**: 355-363.

- Wolfram, S. (1991). *Mathematica: A system for doing mathematics by computer*. Segunda edición. Addison-Wesley. Redwood City, California. 959 pp.
- Yap, M.; Mascord, D.J.; Starmer, G.A. y Whitfield, J.B. (1993). Studies on the chronopharmacology of ethanol. *Alcohol Alcohol*, **28**: 17-24.
- Zentella de Piña, M. y Piña, E. (1987). Metabolitos del etanol. *Mensaje Bioquímico* **10**: 143-175.
- Zentella de Piña, M.; Villalobos-Molina, R.; Saavedra-Molina, A.; Riveros-Rosas, H. y Piña, E. (1989). Effects of moderate chronic ethanol consumption on rat liver mitochondrial functions. *Alcohol* **6**: 3-7.
- Zentella de Piña, M.; Hernández-Tobías, A.; Saldaña-Balmori, Y.; Díaz-Belmont, A. y Piña, E. (1992). Biochemical ethanol effects affected by a non-steroidal anti-inflammatory drug. *FEBS letters* **298**: 123-125.
- Zentella de Piña, M.; Saldaña-Balmori, Y.; Hernández-Tobías, A. y Piña, E. (1993). Nonsteroidal antiinflammatory drugs lower ethanol-mediated liver increase in lipids and thiobarbituric acid reactive substances. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **17**: 1228-1232.
- Zentella de Piña, M.; Corona, S.; Rocha-Hernández, A.E.; Saldaña-Balmori, Y. y Cabrera, G. y Piña, E. (1994). Restoration by piroxicam of liver glutathione levels decreased by acute ethanol intoxication. *Life Sci.* **54**: 1433-1439.
- Zloch, Z. (1994). Temporal changes of the lipid peroxidation in rats after acute intoxication by ethanol. *Z. Naturforsch* **49**: 359-362.
- Zorzano, A. y Herrera, E. (1990). In vivo ethanol elimination in man, monkey and rat. A lack of relationship between the ethanol metabolism and the hepatic activities of alcohol and aldehyde dehydrogenases. *Life Sci.* **46**: 223-230.
- Zylber-Katz, E.; Caraco, Y.; Granit, L. y Levy, M. (1995). Dipyrone metabolism in liver disease. *Clin. Pharmacol. Ther.* **58**: 198-209.

# Apendice I

**Listado del programa utilizado para resolver el sistema de ecuaciones correspondiente a la cinética de saturación de tipo "Michaelis-Menten".**

El programa esta escrito empleando el lenguaje de programación proporcionado por el paquete *Mathematica Ver. 2.0* (Wolfrand. 1991; Abell y Braselton, 1992). Las intrucciones del programa estan encerradas en recuadros, los cuales estan intercalados con textos explicativos.

La optimización del ajuste se efectuó semi-manualmente utilizando el método por pasos descendente<sup>48</sup>, en el cual a partir de la asignación arbitraria de valores iniciales para los parámetros  $p$ ,  $v_1$  y  $v_2$ , se procede a modificar uno de ellos hasta obtener un mínimo en la suma de residuos al cuadrado, una vez optimizado el primer parámetro se procede a optimizar el segundo parámetro y posteriormente el tercero. El proceso se repite cuantas veces sea necesario hasta obtener una serie de valores tal que la suma de residuos al cuadrado corresponda al mínimo absoluto. Para tener la seguridad de haber identificado el mínimo absoluto, se debe partir desde distintos valores iniciales de los parámetros, y obtener en todos ellos la misma solución óptima (Motulsky y Ransnas 1987).

## **Listado:**

Simulación Numérica de la Farmacocinética de Etanol en Sangre.

Modelo que considera una cinética de saturación de tipo "Michaelis-Menten".

Datos experimentales de: \_\_\_\_\_;

Ajuste con multiples parámetros de "p", "k" y "v"

La lista de datos experimentales, junto con el número de datos en cada punto es la siguiente (esta ilustrado un conjunto hipotético de datos; cada conjunto representa muestras a un determinado tiempo: 2 h, 4 h, 6 h, . . . . , 16 h).

```
e2={14.3}; n2=Length[e2];  
e4={31.7}; n4=Length[e4];  
e6={24.5}; n6=Length[e6];  
e8={20.0}; n8=Length[e8];  
e10={}; n10=Length[e10];  
e12={5.4}; n12=Length[e12];  
e16={}; n16=Length[e16];
```

---

<sup>48</sup> No es el procedimiento más eficiente para obtener el ajuste óptimo, pero es el más facil de programar. Actualmente se esta implementando la aplicación de un método más eficiente en base a los algoritmos desarrollados en el método simplex (Caceci y Cacheris *et al* 1984).

La lista de variables empleadas es:

```
Clear[Xo,Yo,vol,km,ho,s,
  p1,p2,p3,k1,k2,k3,v1,v2,v3,
  vp1,vp2,vp3,vk1,vk,vk3,vv1,vv3,
  resp1,tpa1,tpa2,tpa3,tpa4,tpa5,tpa6,tpa7,
  resp2,tp21,tp22,tp23,tp24,tp25,tp26,tp27,
  resp3,pc1,pc2,pc3,pc4,pc5,pc6,pc7,
  sumk1,tk1,tk2,tk3,tk4,tk5,tk6,tk7,
  sumk3,lk1,lk2,lk3,lk4,lk5,lk6,lk7,
  totv1,tv1,tv2,tv3,tv4,tv5,tv6,tv7,
  totv3,uv1,uv2,uv3,uv4,uv5,uv6,uv7,
  x1,x2,x3,x4,x5,x6,x7,
  y1,y2,y3,y4,y5,y6,y7]
```

Las condiciones iniciales son las siguientes:

```
Xo=21.7; Yo=0;
vol=0.140; km=1;
p1=0.120; p2=0.121; p3=0.122;
k1=0.119; k2=0.120; k3=0.121;
v1=6.07; v2=6.08; v3=6.09;
```

La integración de las ecuaciones solución es:

```
sol1=NDSolve[{x1'[t]== -(p1 + k2) (x1[t]),
  y1'[t]== (p1/vol) x1[t] - v2 y1[t]/(km + y1[t]),
  x1[0]==Xo, y1[0]==Yo},
  {x1[t],y1[t]}, {t,0,16},
  MaxSteps->1000];
vp1=Table[Evaluate[y1[t] /. sol1], {t,0,16}];
```

```
sol2=NDSolve[{x2'[t]== -(p2 + k2) (x2[t]),
  y2'[t]== (p2/vol) x2[t] - v2 y2[t]/(km + y2[t]),
  x2[0]==Xo, y2[0]==Yo},
  {x2[t],y2[t]}, {t,0,16},
  MaxSteps->1000];
vp2=Table[Evaluate[y2[t] /. sol2], {t,0,16}];
```

```

sol3=NDSolve[{x3'[t]== -(p3 + k2) (x3[t]),
              y3'[t]== (p3/vol) x3[t] - v2 y3[t]/(km + v3[t]),
              x3[0]==Xo, y3[0]==Yo},
             {x3[t],y3[t]}, {t,0,16},
             MaxSteps->1000];
vp3=Table[Evaluate[y3[t] /. sol3], {t,0,16}];

```

```

sol4=NDSolve[{x4'[t]== -(p2 + k1) (x4[t]),
              y4'[t]== (p2/vol) x4[t] - v2 y4[t]/(km + y4[t]),
              x4[0]==Xo, y4[0]==Yo},
             {x4[t],y4[t]}, {t,0,16},
             MaxSteps->1000];
vk1=Table[Evaluate[y4[t] /. sol4], {t,0,16}];

```

```

sol5=NDSolve[{x5'[t]== -(p2 + k3) (x5[t]),
              y5'[t]== (p2/vol) x5[t] - v2 y5[t]/(km + y5[t]),
              x5[0]==Xo, y5[0]==Yo},
             {x5[t],y5[t]}, {t,0,16},
             MaxSteps->1000];
vk3=Table[Evaluate[y5[t] /. sol5], {t,0,16}];

```

```

sol6=NDSolve[{x6'[t]== -(p2 + k2) (x6[t]),
              y6'[t]== (p2/vol) x6[t] - v1 y6[t]/(km + y6[t]),
              x6[0]==Xo, y6[0]==Yo},
             {x6[t],y6[t]}, {t,0,16},
             MaxSteps->1000];
vv1=Table[Evaluate[y6[t] /. sol6], {t,0,16}];

```

```

sol7=NDSolve[{x7'[t]== -(p2 + k2) (x7[t]),
              y7'[t]== (p2/vol) x7[t] - v3 y7[t]/(km + y7[t]),
              x7[0]==Xo, y7[0]==Yo},
             {x7[t],y7[t]}, {t,0,16},
             MaxSteps->1000];
vv3=Table[Evaluate[y7[t] /. sol7], {t,0,16}];

```

La estimación de los residuos es:

```

tpa1=Table[vp1[[3]] i/i, {i,1,n2}];
tpa2=Table[vp1[[5]] i/i, {i,1,n4}];
tpa3=Table[vp1[[7]] i/i, {i,1,n6}];
tpa4=Table[vp1[[9]] i/i, {i,1,n8}];
tpa5=Table[vp1[[11]] i/i, {i,1,n10}];
tpa6=Table[vp1[[13]] i/i, {i,1,n12}];
tpa7=Table[vp1[[17]] i/i, {i,1,n16}];
resp1= Apply[Plus,(e2-tpa1)^2] + Apply[Plus,(e4-tpa2)^2] +
        Apply[Plus,(e6-tpa3)^2] + Apply[Plus,(e8-tpa4)^2] +
        Apply[Plus,(e10-tpa5)^2] + Apply[Plus,(e12-tpa6)^2] +
        Apply[Plus,(e16-tpa7)^2];

```

```

tp21=Table[vp2[[3]] i/i, {i,1,n2}];
tp22=Table[vp2[[5]] i/i, {i,1,n4}];
tp23=Table[vp2[[7]] i/i, {i,1,n6}];
tp24=Table[vp2[[9]] i/i, {i,1,n8}];
tp25=Table[vp2[[11]] i/i, {i,1,n10}];
tp26=Table[vp2[[13]] i/i, {i,1,n12}];
tp27=Table[vp2[[17]] i/i, {i,1,n16}];
resp2= Apply[Plus,(e2-tp21)^2] + Apply[Plus,(e4-tp22)^2] +
        Apply[Plus,(e6-tp23)^2] + Apply[Plus,(e8-tp24)^2] +
        Apply[Plus,(e10-tp25)^2] + Apply[Plus,(e12-tp26)^2] +
        Apply[Plus,(e16-tp27)^2];

```

```

pc1=Table[vp3[[3]] i/i, {i, 1, n2}];
pc2=Table[vp3[[5]] i/i, {i, 1, n4}];
pc3=Table[vp3[[7]] i/i, {i, 1, n6}];
pc4=Table[vp3[[9]] i/i, {i, 1, n8}];
pc5=Table[vp3[[11]] i/i, {i, 1, n10}];
pc6=Table[vp3[[13]] i/i, {i, 1, n12}];
pc7=Table[vp3[[17]] i/i, {i, 1, n16}];
resp3= Apply[Plus, (e2-pc1)^2] + Apply[Plus, (e4-pc2)^2] +
        Apply[Plus, (e6-pc3)^2] + Apply[Plus, (e8-pc4)^2] +
        Apply[Plus, (e10-pc5)^2] + Apply[Plus, (e12-pc6)^2] +
        Apply[Plus, (e16-pc7)^2];

```

```

tk1=Table[vk1[[3]] i/i, {i, 1, n2}];
tk2=Table[vk1[[5]] i/i, {i, 1, n4}];
tk3=Table[vk1[[7]] i/i, {i, 1, n6}];
tk4=Table[vk1[[9]] i/i, {i, 1, n8}];
tk5=Table[vk1[[11]] i/i, {i, 1, n10}];
tk6=Table[vk1[[13]] i/i, {i, 1, n12}];
tk7=Table[vk1[[17]] i/i, {i, 1, n16}];
sumk1= Apply[Plus, (e2-tk1)^2] + Apply[Plus, (e4-tk2)^2] +
        Apply[Plus, (e6-tk3)^2] + Apply[Plus, (e8-tk4)^2] +
        Apply[Plus, (e10-tk5)^2] + Apply[Plus, (e12-tk6)^2] +
        Apply[Plus, (e16-tk7)^2];

```

```

lk1=Table[vk3[[3]] i/i, {i, 1, n2}];
lk2=Table[vk3[[5]] i/i, {i, 1, n4}];
lk3=Table[vk3[[7]] i/i, {i, 1, n6}];
lk4=Table[vk3[[9]] i/i, {i, 1, n8}];
lk5=Table[vk3[[11]] i/i, {i, 1, n10}];
lk6=Table[vk3[[13]] i/i, {i, 1, n12}];
lk7=Table[vk3[[17]] i/i, {i, 1, n16}];
sumk3= Apply[Plus, (e2-lk1)^2] + Apply[Plus, (e4-lk2)^2] +
        Apply[Plus, (e6-lk3)^2] + Apply[Plus, (e8-lk4)^2] +
        Apply[Plus, (e10-lk5)^2] + Apply[Plus, (e12-lk6)^2] +
        Apply[Plus, (e16-lk7)^2];

```



```

tv1=Table[vv1[[3]] i/i, {i, 1, n2}];
tv2=Table[vv1[[5]] i/i, {i, 1, n4}];
tv3=Table[vv1[[7]] i/i, {i, 1, n6}];
tv4=Table[vv1[[9]] i/i, {i, 1, n8}];
tv5=Table[vv1[[11]] i/i, {i, 1, n10}];
tv6=Table[vv1[[13]] i/i, {i, 1, n12}];
tv7=Table[vv1[[17]] i/i, {i, 1, n16}];
totv1=Apply[Plus,(e2-tv1)^2] + Apply[Plus,(e4-tv2)^2] +
      Apply[Plus,(e6-tv3)^2] + Apply[Plus,(e8-tv4)^2] +
      Apply[Plus,(e10-tv5)^2] + Apply[Plus,(e12-tv6)^2] +
      Apply[Plus,(e16-tv7)^2];

```

```

uv1=Table[vv3[[3]] i/i, {i, 1, n2}];
uv2=Table[vv3[[5]] i/i, {i, 1, n4}];
uv3=Table[vv3[[7]] i/i, {i, 1, n6}];
uv4=Table[vv3[[9]] i/i, {i, 1, n8}];
uv5=Table[vv3[[11]] i/i, {i, 1, n10}];
uv6=Table[vv3[[13]] i/i, {i, 1, n12}];
uv7=Table[vv3[[17]] i/i, {i, 1, n16}];
totv3= Apply[Plus,(e2-uv1)^2] + Apply[Plus,(e4-uv2)^2] +
      Apply[Plus,(e6-uv3)^2] + Apply[Plus,(e8-uv4)^2] +
      Apply[Plus,(e10-uv5)^2] + Apply[Plus,(e12-uv6)^2] +
      Apply[Plus,(e16-uv7)^2];

```

Los resultados finales de la suma de los residuos al cuadrado es :

```

Print ["p \t\t k \t\t v \t\t suma de residuos"]
Print [p1, "\t\t", k2, "\t\t", v2, "\t\t", resp1]
Print [p2, "\t\t", k2, "\t\t", v2, "\t\t", resp2]
Print [p3, "\t\t", k2, "\t\t", v2, "\t\t", resp3]
Print [p2, "\t\t", k1, "\t\t", v2, "\t\t", sumk1]
Print [p2, "\t\t", k3, "\t\t", v2, "\t\t", sumk3]
Print [p2, "\t\t", k2, "\t\t", v1, "\t\t", tolv1]
Print [p2, "\t\t", k2, "\t\t", v3, "\t\t", tolv3]

```

(Ejemplo de una tabla de resultados calculada por el programa:)

p	k	v	suma de residuos
0.12	0.12	6.08	{59.8884}
0.121	0.12	6.08	{59.2044}
0.122	0.12	6.08	{59.3867}
0.121	0.119	6.08	{59.2184}
0.121	0.121	6.08	{59.3941}
0.121	0.12	6.07	{59.2056}
0.121	0.12	6.09	{59.2402}

Las Tablas finales de resultados son:

ho=88; s=9;

```
sol=NDSolve[ {h'[t]== (- p2 h[t]) + s,
              x'[t]== -(p2 + k2) (x[t]),
              y'[t]== (p2/vol) x[t] - v2 y[t]/(km + y[t]),
              h[0]==ho, x[0]==Xo, y[0]==Yo},
            {h[t],x[t],y[t]}, {t,0,16}, MaxSteps->1000];
```

```
vy=Table[Evaluate[y[t] /. sol], {t,0,16}];
vx=Table[Evaluate[x[t] /. sol], {t,0,16}];
vh=Table[Evaluate[h[t] /. sol], {t,0,16}];
Print["Concentraciones de etanol en sangre:"]
Print[vy]
Print["Cantidad de etanol en el compartimento gástrico"]
Print[vx]
Print["Cantidad de agua en el primer compartimento"]
Print[vh]
```

(Ejemplo de las tablas de datos obtenidas al final del ajuste.)

Concentraciones de etanol en sangre:

{0.}, {11.752}, {19.1387}, {23.6209}, {25.8637}, {26.3628},

{25.5024}, {23.5849}, {20.8509}, {17.4962}, {13.6884},

{9.58999}, {5.41686}, {1.70599}, {0.179193}, {0.0959642},

{0.0734204}}

Cantidad de etanol en el compartimento gástrico

{21.7}, {17.0528}, {13.4008}, {10.5309}, {8.2756},

{6.50331}, {5.11058}, {4.0161}, {3.15602}, {2.48013},

{1.94899}, {1.5316}, {1.20359}, {0.945834}, {0.743276},

{0.584097}, {0.459008}}

Cantidad de agua en el primer compartimento

{88.}, {86.4478}, {85.0725}, {83.8539}, {82.7742},

{81.8176}, {80.97}, {80.219}, {79.5536}, {78.964},

{78.4416}, {77.9787}, {77.5686}, {77.2052}, {76.8833},

{76.598}, {76.3452}}