

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE VITAMINAS ANTIOXIDANTES EN LA REVERSIÓN DE LA INHIBICIÓN DE LA REGENERACIÓN HEPÁTICA OCASIONADA POR EL CONSUMO DE ETANOL.

Gramlich Martínez Ingrid, Martínez Cruz Maricela, Ramírez Farias Carlett, Rodríguez Sánchez Nidia, Valle Jones Ilse, Gutiérrez Salinas José* y Morales González José Antonio* *Escuela de Dietética y Nutrición ISSSTE. *Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. México, D.F.*

INTRODUCCIÓN. El etanol ocasiona alteración en los sistemas antioxidantes y por lo tanto, un incremento en la lipoperoxidación, siendo estas alteraciones las responsable del daño al hígado. En los alcohólicos existe un bajo nivel circulante de vitaminas (A, C y E) y un aumento importante de lipoperóxidos. Un buen modelo para estudiar los efectos del etanol, es la regeneración hepática (RH) inducida por hepatectomía parcial (HP) en la rata. En la actualidad no existen reportes del efecto de las vitaminas antioxidantes como protectoras de la inhibición que ocasiona el etanol a la regeneración hepática. **OBJETIVOS.** Estudiar los efectos protectores de las vitaminas antioxidantes en la regeneración hepática durante el consumo de etanol. **METODOLOGÍA.** Se utilizaron ratas macho cepa Wistar de un peso de 250 ± 20 gr. Se les realizó HP por la técnica clásica de Higgins y Anderson. Posterior a la HP se dividieron en 3 grupos: a) ratas con HP únicamente; b) ratas con HP más etanol y c) ratas con HP más etanol y la combinación de una vitamina (A, C ó E). Como controles se utilizaron ratas falsamente operadas (sham). Se administró etanol a una concentración del 36% v/v por 7 días. Diariamente, se les administró las vitaminas a las dosis recomendadas: A (3,300 UI), E (15 UI) y C (60 mg). A los 7 días se obtuvo el hígado y el suero para determinar la cantidad de malondialdehído (MDA). En los hígados además, se cuantifico la ganancia de peso. El análisis estadístico se realizó utilizando la prueba de T- Student. **RESULTADOS.** Durante la RH se incrementa la cantidad de MDA en hígado (244%), siendo mayor cuando se administró etanol (330%), la administración de vitaminas C y E revierten el incremento de MDA por etanol, pero no así la administración de vitamina A. Se encontró este mismo efecto en los niveles séricos de MDA. Por

otro lado, el etanol inhibe la ganancia de peso en un 40% en comparación con la RH normal, mientras que la administración de las vitaminas C y E recuperan esta ganancia de peso, no siendo así con la vitamina A. **CONCLUSIONES.** Estos datos demuestran que las vitaminas C y E revierten la inhibición de la regeneración hepática ocasionada por el etanol, esto a través de la disminución de radicales libres, en cambio la vitamina A no tiene este efecto de reversión probablemente por un mecanismo de hepatotoxicidad.

INTRODUCCIÓN

RADICALES LIBRES

En los elementos y en las moléculas los electrones se encuentran apareados y cada electrón del par muestra una rotación o giro opuesto. Un radical libre es una especie química que contiene uno o más electrones desapareados ya sea por pérdida o ganancia de ellos. La presencia de electrones desapareados modifica la reactividad química de un átomo o de una molécula y la hace generalmente más reactiva que su correspondiente “no radical”. Cuando por alguna razón aumenta en exceso la producción de radicales libres en el organismo y la capacidad de las defensas antioxidantes resulta ser ineficiente, se establece la situación conocida como estrés oxidativo, en la cual existe daño celular que llega a ser muy severo y puede conducir a la muerte celular.ⁱ

Se reconoce que los radicales libres forman parte del metabolismo intermedio y fármacos y factores xenobióticos y que independientemente del daño que puedan causar a las estructuras celulares, también son necesarios para la realización de numerosas funciones.ⁱⁱ

ANTIOXIDANTES

Son sustancias capaces de captar las moléculas inestables (radicales libres) que se liberan en muchas de las reacciones que realiza el organismo.²

Vitamina E

Existen dos clases de vitamina E:

-Los tocoferoles (caracterizados por un sistema de anillo y una cadena lateral saturada).

Hay 4 miembros pertenecientes a los tocoferoles: alfa, beta, gamma y delta tocoferoles, que difieren tan solo en el número y posición de los grupos metilo en el anillo.

-Los tocotrienoles (difieren con los tocoferes en que su cadena lateral es insaturada). (*Fig. 1*)

La forma química más activa de vitamina E es el alfa-tocoferol, y es la forma más abundante en la naturaleza.

Se conoce que los tocoferoles son antioxidantes; es decir, evitan la propagación de la oxidación de los ácidos grasos insaturados atrapando los radicales libres de peróxido.

El tocoferol se encuentra en las membranas celulares asociado con ácidos grasos poliinsaturados en fosfolípidos.

La absorción del alfa-tocoferol es relativamente baja (de 20% a 80%).

La eficiencia de la absorción parece decrecer conforme la dosis administrada aumenta.

El tocoferol es secretado a la linfa en quilomicrones, posteriormente es llevado al hígado con los remantes de quilomicrones y secretado a la sangre en VLDLs. Conforme se metabolizan las VLDLs, el tocoferol se transfiere a LDLs y des. Los tejidos toman el alfa-tocoferol de las lipoproteínas.

Los tejidos con alto contenido de tejido adiposo contienen mayor cantidad de vitamina E.

El requerimiento para vitamina E aumenta cuando la ingesta de los AGPI (ácidos grasos poliinsaturados) se incrementa. Un nivel adecuado de vitamina E en la dieta implica que el ratio de tocoferol con AGPI en los tejidos protege a los lípidos de la peroxidación, permite la función fisiológica normal y permite variaciones individuales de lípidos en los tejidos.

Es indispensable en la reproducción de algunos animales y previene el aborto espontáneo. Se conoce que los tocoferoles son antioxidantes; es decir, evitan la propagación de la oxidación de los ácidos grasos insaturados atrapando los radicales libres de peróxido.

Gracias a su capacidad para captar el oxígeno, actúa como antioxidante en las células frente a los radicales libres presentes en nuestro organismo. Al impedir la oxidación de las membranas celulares, permite una buena nutrición y regeneración de los tejidos.ⁱⁱⁱ

Vitamina A

La vitamina A es un alcohol, el retinol, que existe como isómero *11-cis* o isómero *todo-trans*.^{iv} Se encuentra predominantemente en el hígado, sobre todo en los aceites de hígado de pescado. El caroteno es un pigmento naranja que se encuentra en las zanahorias y otros tejidos vegetales. Tiene la potencia biológica de la vitamina A. Es disociado por la mucosa intestinal de modo oxidativo en dos moléculas de retinal, cada una de las cuales es posteriormente reducida a todo-transretinol. El retinol libre es absorbido por la mucosa intestinal, donde es esterificado con un ácido graso, como el palmitato, y luego transportado en la linfa al hígado. El retinol es transportado en la sangre a los tejidos, mediante una proteína plasmática que liga retinol. Cuando esta proteína contiene retinol, se une a la prealbúmina, otra proteína presente en pequeñas cantidades en el plasma sanguíneo. Ésta forma un complejo proteína-proteína que se cree protege de algún modo al retinol. Las células de la retina separan al retinol de esta unión y el todo-trans-retinol es oxidado a todo-trans-retinal, como se refleja en el ciclo visual. (*Fig. 2*)

Excepto en este caso, el modo de acción de la vitamina A es desconocido. Su deficiencia conduce a alteraciones en el crecimiento y remodelación del hueso, lesiones cutáneas, queratinización de numerosas células epiteliales y funcionamiento anormal de las células de la corteza adrenal.

Vitamina C

La vitamina C es una cetona cíclica que corresponde a la forma enólica de la 3-ceto-1-gulofurnolactona; contiene un enol entre los carbonos 2 y 3 que la hace un agente ácido y muy reductor, por lo que se oxida fácilmente (*Fig. 3*) Se encuentra principalmente en alimentos de origen vegetal; los cereales, al igual que las carnes y los pescados y sus derivados, no la contienen, por lo que el consumo rutinario de frutas y verduras frescas aporta la vitamina C requerida diariamente, ya que al ser hidrosoluble el hombre la almacena escasamente.

Su actividad biológica es muy variada y en este sentido es la vitamina que más controversias causa; se sabe que es necesaria para la síntesis del tejido conectivo colágena, ya que participa en la hidroxilación de la prolina para formar hidroxiprolina^v; para la formación de los huesos, de la

dentina de los dientes, de los cartílagos y de las paredes de los capilares sanguíneos; interviene en reacciones de oxidación-reducción y de hidroxilación de hormonas esteroidales y de aminoácidos aromáticos. Igualmente, ayuda a la absorción de hierro (distinto al del grupo hemo de la mioglobina).^{vi} La vitamina C es esencial para la oxidación de la Fenilalanina y la tirosina, en la conversión de la folacina al ácido tetrahidrotriptófano y al neurotransmisor serotonina, y en la formación de norepinefrina a partir de dopamina. Esta vitamina favorece la resistencia a infecciones mediante la actividad inmunológica de los leucocitos, la producción de interferón, el proceso de reacción inflamatoria, o la integridad de las membranas mucosas.¹

El ácido ascórbico se absorbe rápida y completamente en el tracto intestinal, de manera que se encuentra muy poco en heces. La absorción es excelente por las vías parenterales pero puede producir escaras por su acidez, lo que obliga a emplear el ascorbato de sodio, cuyas soluciones son prácticamente neutras.

Una vez absorbido, el ácido ascórbico pasa a la sangre donde la concentración es mucho más alta en los leucocitos que en el plasma. Dicha concentración aumenta después de la administración de ácido ascórbico, pero rápidamente desciende debido al almacenamiento en los tejidos, su destrucción en el organismo y la excreción urinaria.

El almacenamiento se realiza en todos los órganos, pero su concentración es mayor en los de gran actividad metabólica como la hipófisis, suprarrenal, timo (joven), hígado, cerebro, glándulas sexuales y tiroides.

La vitamina C es metabolizada y destruida parcialmente en los tejidos, normalmente en un 50-70% de la cantidad requerida, y el resto se excreta especialmente en la orina.

El ácido ascórbico pasa a la leche, la de mujer contiene más que la de vaca, por lo que debe suministrarse sistemáticamente ácido ascórbico a los niños alimentados con leche de vaca.

Cuando existe aumento de los requerimientos de vitamina C por aumento del metabolismo, como sucede en las fiebres infecciosas, tuberculosis, hipertiroidismo, embarazo o lactancia, o por

dificultades en la absorción, como en las diarreas, es conveniente suplementar la alimentación suministrando 100 a 200 mg de ácido ascórbico por día.^{vii}

Como antioxidante, recicla radicales tocoferilo. Es buen atrapador de radicales libres, detoxifica contaminantes del aire (ozono, óxidos de nitrógeno y humo de cigarro).¹

En experimentos de Ginter y colaboradores realizados con conejillos de Indias, se ha demostrado que al administrar una dosis elevada de vitamina C (0.5% p/p) se reducen significativamente los niveles séricos de etanol y de acetaldehído en el hígado y en el cerebro, también se disminuye el contenido de triglicéridos y de colesterol en el suero sanguíneo y a nivel hepático, llegando a la conclusión de que la administración de vitamina C en grandes cantidades acelera el metabolismo del etanol y del acetaldehído, reduciendo sus efectos adversos en la salud.^{viii}

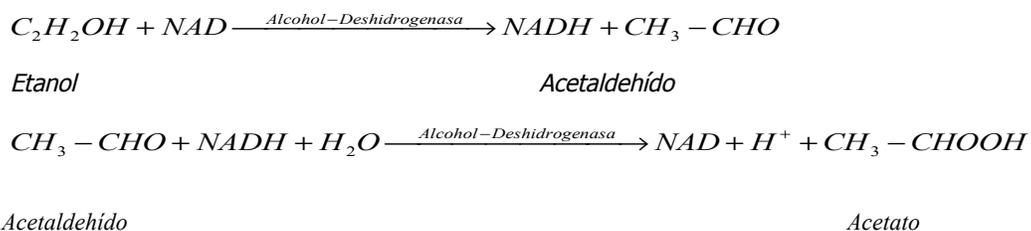
METABOLISMO DEL ETANOL

El etanol es un medicamento psicoactivo, pero detrás de su acción farmacológica, tiene un valor energético importante (7.1 kcal/g). En un bebedor consuetudinario, el alcohol representa el 50% de su ingesta energética diaria. Como consecuencia, el alcohol desplaza varios de los nutrientes normales de la dieta, resultando en malnutrición primaria y su sintomatología. El alcohol también empeora la activación y la utilización de nutrientes, pudiendo dar como resultado una malnutrición secundaria ocasionada por malabsorción, causada por complicaciones gastrointestinales asociadas con el alcoholismo. En un principio, se consideraba que el daño en el hígado del alcohólico se daba únicamente por la malnutrición, sin embargo, diferentes estudios e investigaciones de Best y colaboradores^{ix} se observó que en las ratas a las que se daba alcohol como parte de su dieta líquida, no había daño hepático, siempre y cuando su dieta fuera adecuada. El primer paso de la enfermedad hepática (llamada hígado graso) se desarrolla únicamente cuando hay una dieta deficiente. Las ratas presentaron una aversión natural al alcohol cuando éste era totalmente su dieta líquida. Pero aún continuaba la interrogante de la causa de la cirrosis, ya que era responsable de una elevada tasa de mortalidad en los bebedores consuetudinarios. Sin embargo, posteriormente, Lieber y sus colaboradores demostraron por primera vez que el alcohol puede

causar cirrosis en el hígado, aun en la ausencia de deficiencias nutricionales.^{x, xi} Este descubrimiento tuvo consecuencias importantes en la prevención y en el tratamiento del alcoholismo. Se trataron de corregir las deficiencias nutricionales para moderar los daños causados por el consumo de alcohol y el desarrollo de nuevas técnicas terapéuticas por medio del mejor entendimiento del mecanismo de la hepatotoxicidad.^{xii} (*Fig. 4*)

El etanol es metabolizado en el hígado por la alcohol deshidrogenasa (ADH); tal actividad ocasiona la producción de acetaldehído con la transferencia de hidrógeno al dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD), que lo reduce a NADH. Después de lo anterior el acetaldehído pierde hidrógeno y es transformado en acetato del cual la mayor parte pasa a la sangre. Muchas perturbaciones metabólicas surgen por el exceso de NADH que supera la capacidad de la célula para conservar un estado redox normal; pueden ser hiperlacticacidemia, acidosis, hiperuricemia, cetonemia e Hiperlipidemia. Hay deterioro del ciclo del ácido tricarboxílico que necesita del dinucleótido de nicotinamida y adenina. Las mitocondrias a su vez utilizan hidrógeno del etanol y no de la oxidación de ácidos grasos y se acumulen triglicéridos. Además, el NADH puede de hecho estimular la síntesis de ácidos grasos.

La hipoglucemia también surge en la hepatopatía alcohólica temprana como consecuencia de la supresión del ciclo del ácido tricarboxílico, junto con una menor gluconeogénesis causada por el etanol.⁴



Oxidación de etanol por radicales libres:

Uno de los sistemas que participan en la oxidación inicial del etanol es la vía de los radicales libres. Hay evidencia suficiente para considerar la oxidación del etanol mediada por radicales libres, específicamente por el radical $\cdot\text{OH}$ como otra vía alterna cuya importancia aún está en estudio. Normalmente en las mitocondrias y en el retículo endoplásmico, se producen radicales $\cdot\text{OH}$ *in vivo*, que proceden del peróxido de hidrógeno generado por las mitocondrias y en menor cantidad por el retículo endoplásmico, esto sucede vía la reacción de Fenton.¹ En estudios de Chance^{xiii} se ha demostrado que aproximadamente 82 nmolas/min/g de agua oxigenada se producen en el hígado de rata en condiciones normales, de manera que siempre hay $\cdot\text{OH}$ disponibles, capaces de oxidar el etanol y dar lugar al radical 1-hidroxietilo y agua.

La sustracción de un átomo de H de etanol puede conducir a la producción de otros radicales libres principalmente 2-hidroxietilo y el radical etoxilo.¹

HIPÓTESIS

El consumo crónico de etanol tiene como efecto la producción de radicales libres, proceso que se ve disminuido con la administración de vitaminas A, C y E por su efecto antioxidante, permitiendo la regeneración de hígado en ratas hepatectomizadas.

OBJETIVOS:

Comprobar y comparar la eficacia de las vitaminas A, E y C como antioxidantes ante los radicales libres formados por el consumo crónico de etanol para incrementar la velocidad de la regeneración hepática.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se emplearon 25 ratas Wistar machos, cuyos pesos oscilaban entre 250 y 300 g, las cuales se dividieron en ___ grupos, a los que se expusieron a diferentes circunstancias: GRUPO 1) Control. GRUPO 2) Ratas hepatectomizadas. GRUPO 3) Ratas hepatectomizadas con una ingestión de una solución de etanol al 36%; GRUPO 4) Ratas hepatectomizadas con ingestión de una solución de etanol al 36% y con administración diaria de vitamina C (60 mg). ; GRUPO 5) Ratas hepatectomizadas con ingestión de una solución de etanol al 36% y con administración diaria de vitamina E (15 UI); GRUPO 6) Ratas hepatectomizadas con ingestión de una solución de etanol al 36% y con administración diaria de vitamina A (3,300 UI).

La RDA de vitaminas para un adulto de 70 kg se adecuó al peso de las ratas. Las ratas que se sometieron a la hepatectomía se les extirpó el 70% del hígado el cual fue pesado para poder determinar posteriormente la masa total hepática. Toda la muestra fue expuesta a las condiciones propias de su grupo durante una semana (7 días). En el transcurso de ésta se pesaron los sujetos diariamente y se midió el volumen del líquido ingerido para posteriormente ser comparado. Al término de este periodo las ratas fueron sacrificadas obteniendo una muestra de sangre y extrayendo la totalidad del hígado, el cual fue pesado y después homogeneizado en una solución buffer. Las muestras sanguíneas fueron centrifugadas para separar el suero. Posteriormente a las muestras recolectadas se les realizaron diferentes pruebas bioquímicas. Al homogeneizado del hígado se le determinó la cantidad de proteína por el método de Lowry. La determinación de malondialdehído (MDA) se practicó tanto en las muestras de suero como en las de hígado.

RESULTADOS

En la *Tabla 1* puede observarse la ganancia de peso al establecer como referencia a las ratas que fueron hepatectomizadas únicamente, se observa que las ratas a las que se les practicó HP y que consumieron etanol, solamente hubo una regeneración del 60%. En el caso de los grupos a los que se les administró una vitamina, se obtuvo como resultado que las ratas con HP, consumo de etanol y

administración de vitamina C, hubo una regeneración mayor del 100%, lo que significa que el hígado regeneró un poco más que en aquellas a las que sólo se les practicó HP. Las ratas a las que además de ser hepatectomizadas y de consumir alcohol, se les administró vitamina E, tuvieron una ganancia de peso mayor al 90%, mientras que en el grupo con HP, ingesta de etanol y administración de vitamina A, la ganancia del peso fue del 60%.

En la *Tabla 2* se representan los niveles de MDA en hígado respecto al grupo control que se toma como 100%. En el grupo con HP, los niveles de MDA fueron del 250% sobre el control. En las ratas con HP y consumo de etanol, estos niveles ascendieron al 325%. En el caso del grupo al que se le practicó HP, consumieron etanol y se les dio vitamina C los niveles de MDA en hígado fueron del 125% sobre el control. En el grupo al que se le administró vitamina E, los niveles de MDA fueron iguales a los del grupo control (100%). Las ratas que tomaron vitamina A, tuvieron niveles de 250% de MDA en hígado sobre el control.

En la *Tabla 3* se observan los resultados obtenidos de MDA en suero y se comparan con los del grupo control, obteniendo que el grupo que solamente fue hepatectomizado, tuvo niveles de 120%; el grupo con HP y consumo de etanol tuvo niveles de MDA en suero de 180% sobre el control. En el grupo al que además se le administró vitamina C, E y A, los niveles de MDA en suero fueron de 130%, 125% y 170% sobre el control, respectivamente.

DISCUSIÓN

Como se observa en los resultados, la vitamina A es la que menor efecto protector tiene contra la formación de radicales libres en la reversión de la inhibición de la regeneración hepática ocasionada por el consumo de etanol; esto es debido a que el retinol es el componente principal de la vitamina A, y es un alcohol, éste es catalizado por varias enzimas en aldehído utilizando las mismas o similares vías enzimáticas que el etanol. Al utilizar las mismas vías, el almacén de vitamina A y de etanol en las células hepáticas se ve alterado. La deficiencia de vitamina A puede ocasionar ceguera

nocturna, pero el exceso de vitamina A y su interacción con el alcohol aumentan la capacidad de producir tejido fibroso, que a largo plazo podrían ocasionar una cirrosis. Esta hepatotoxicidad de la vitamina A también podría ocasionar inflamación hepática, necrosis y aumento de algunas enzimas séricas.¹

Sin embargo, la vitamina C presentó un mayor efecto benéfico al disminuir la oxidación tanto en hígado como en suero, lo que se refleja en los niveles de MDA.

De acuerdo con los resultados, la vitamina E es la que evita con mayor eficacia la oxidación. La vitamina E es un eficaz captador de radicales libres pero la interacción de la vitamina E con un radical puede resultar en un decremento de la actividad de ésta y puede formar un radical de la vitamina E. El estrés oxidativo puede reducir significativamente los niveles de vitamina E en los tejidos, sin embargo, la vitamina E puede ser reciclada a su estado normal por diferentes antioxidantes.

Estos datos demuestran que las vitaminas C y E revierten la inhibición de la regeneración hepática ocasionada por el etanol, esto a través de la disminución de radicales libres, en cambio la vitamina A no tiene este efecto de reversión probablemente por un mecanismo de hepatotoxicidad.

ⁱREFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

[□] ZENTELLA, M, SALDAÑA, Y., *Papel Fisiológico de los Radicales Libres.*, Bol Educ Bioq., México., Vol. 15., No. 4:152-161.

ⁱⁱ CASANUEVA, E. Et al., *Nutriología Médica.*, Editorial Panamericana., 2^ª edición., México, D.F., 2001., pp. 457-458.

ⁱⁱⁱ Recommended Dietary Allowances (10th Edition)/ Editorial: National Research Council/ pp.: 99-102

^{iv} LEHNINGER, A. L.; *Bioquímica*; Ed. Ediciones Omega, S.A.; 2^ª edición; Barcelona, España; 1991; pp. 358-362.

^v MAHAN, K., ESCOTT-STUMP, S., *Nutrición y dietoterapia de Krause.*, Edit, Mc Graw Hill – Interamericana., México., 9^ª edición, 2000 pp. 111-113.

^{vi} BADUI, S., *Química de los alimentos.*, Edit. Pearson Educación., México, D.F., 1999., pp. 125.

1

^{vii} LITTER, M., *Compendio de Farmacología.*, Edit. El Ateneo., 2^ª Edición., Barcelona, España., 1978., pp.367-369

^{viii} GINTER, E., ZLOCH, Z., ONDREICKA, R., *Influence of vitamin C status on ethanol metabolism in guinea-pigs.*, *Physiol Res.*, 1998; Vol. 47., No. 2:137-4

- ix BEST, CH., HARTROF, WS., LUCAS, CC., RIDOUT, JH., *Liver damage produced by feeding alcohol or sugar and its prevention by choline.* *Britannic Medical Journal.*, 1949., 2:1001-1006
- x LIEBER, CS., DeCARLI, LM., *An experimental model of alcohol feeding and liver injury in the baboon.* *J Med Primatol.*, 1974; 3:153-163
- xi LIEBER, CS., DeCARLI, LM., RUBIN, E., *Sequential production of fatty liver, hepatitis and cirrhosis in subhuman primates fed ethanol with adequate diets.* *Proc Natl Acad Sci USA.*, 1975; 72:437-441.
- xii LIEBER, CS., *Alcohol and the liver: Metabolism of alcohol and its role in hepatic and extrahepatic diseases.* *The Mount Sinai Journal of Medicine.*, 2000; Vol. 67., No. 1:84-94
- xiii HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, JMC., *Free Radicals in biology and medicine.* Clarendon Press, Oxford, 1989., pp. 368-415.
- xiv. LEO, A MARÍA, LIEBER C., *Alcohol, vitamin A , and B-carotene: adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity.* *AM J Clin Nutr USA:* 1999; 69; 1071-85.

TABLAS

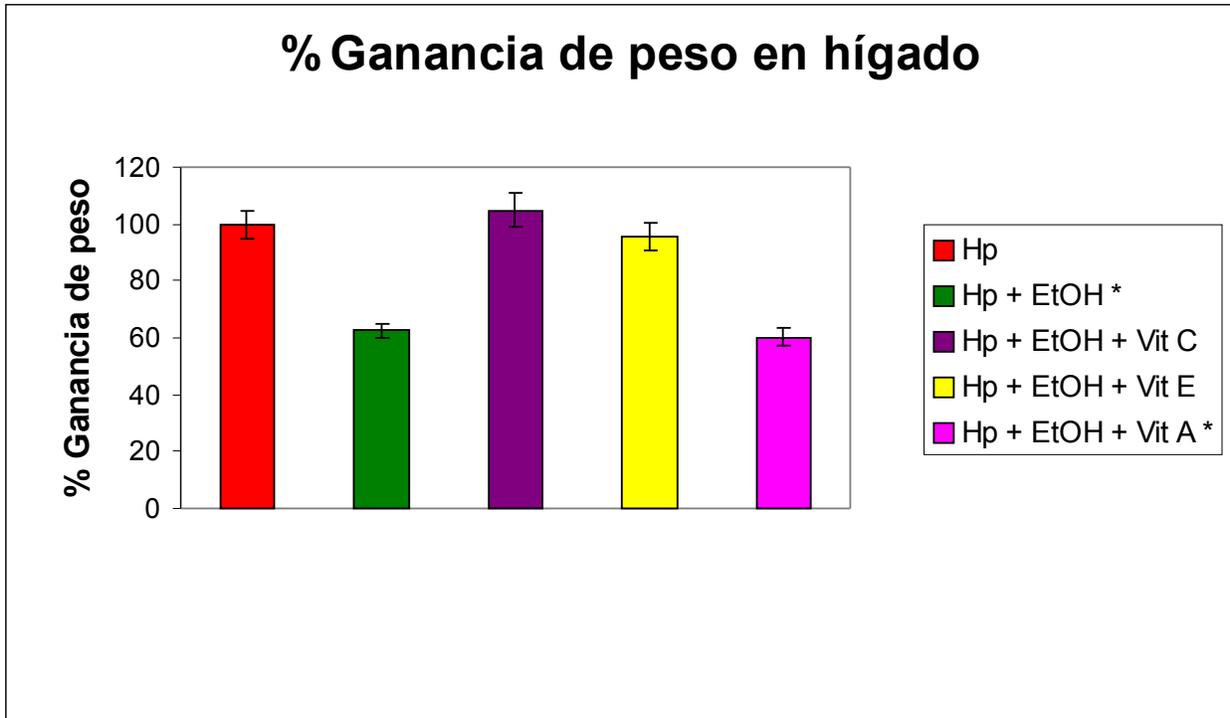


Tabla 1. Porcentaje de la ganancia del peso del hígado obtenida por la regeneración hepática .

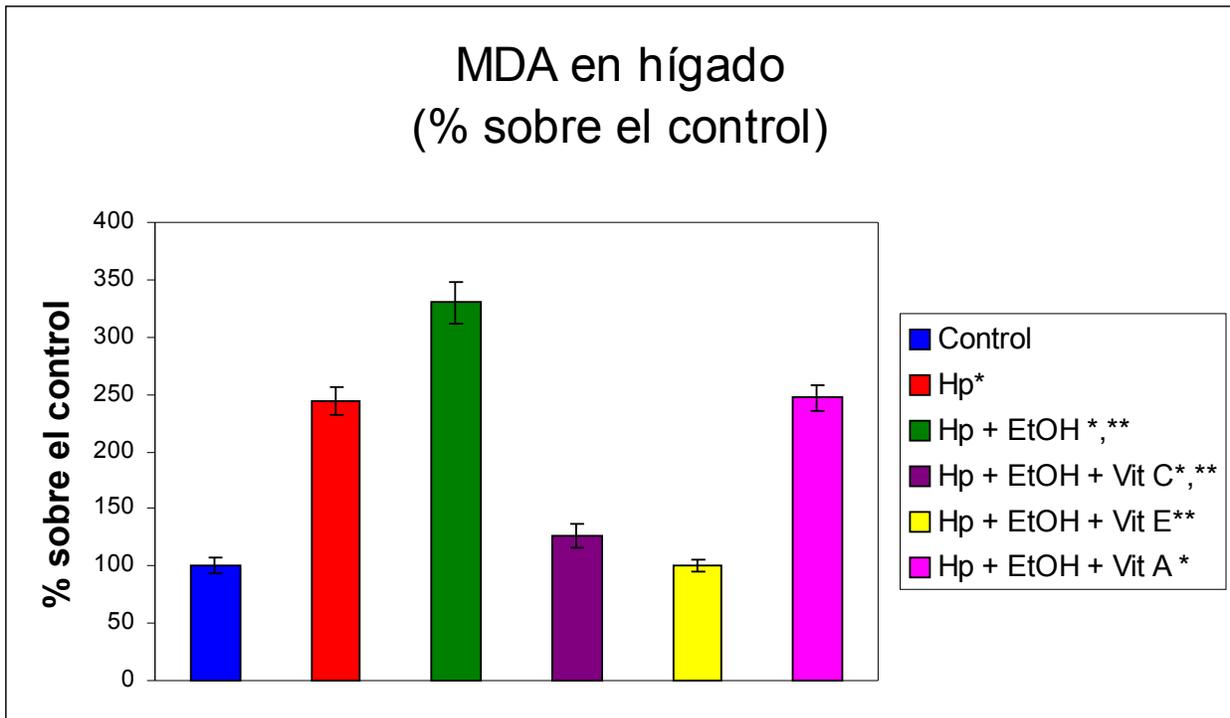


Tabla 2. Porcentaje del MDA producido en hígado comparándose con el control y con el grupo de ratas hepatectomizado.

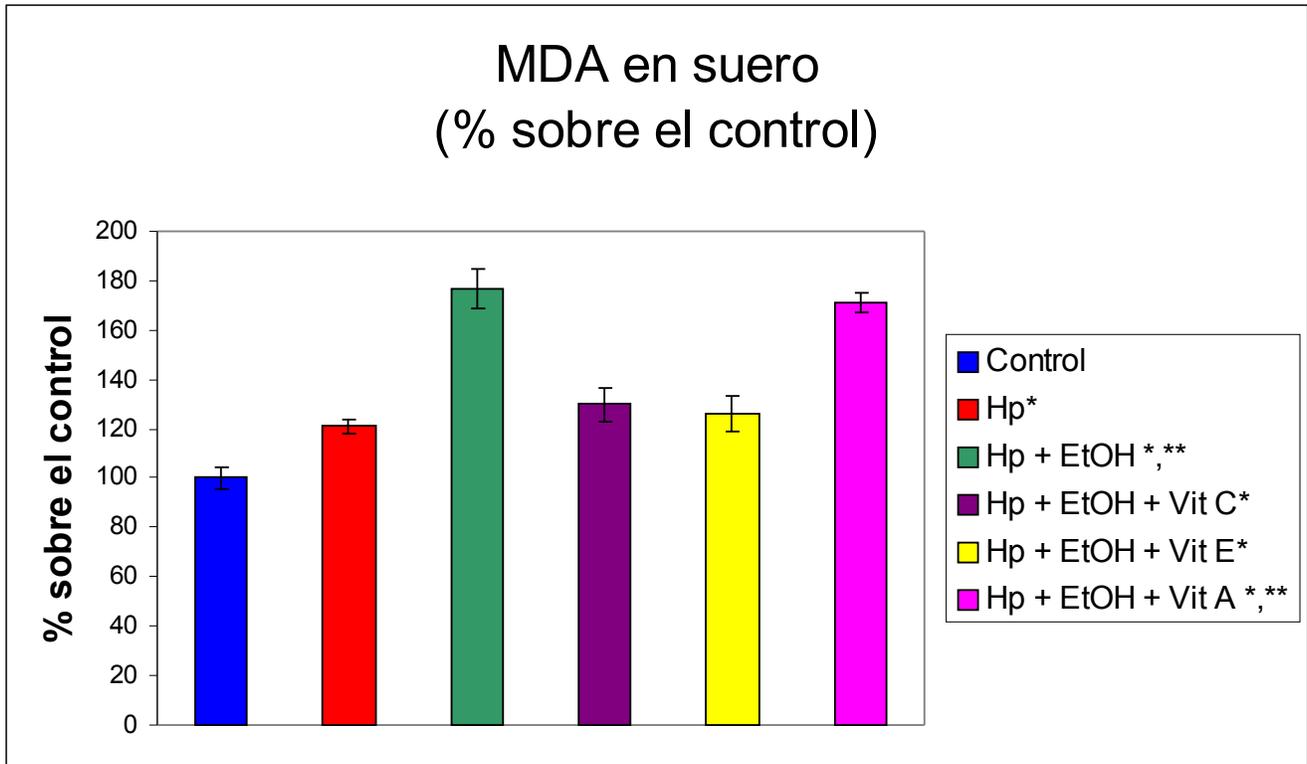


Tabla 3. Porcentaje del MDA producido en suero comparándose con el control y con el grupo de ratas hepatectomizado.