

## METABOLISMO DE ETANOL Y ACETATO EN RATAS "BEBEDORAS" Y "NO BEBEDORAS", EN AUSENCIA DE SOBRECARGA DE SUBSTRATO

Ethanol and acetate metabolism in "drinker" and "nondrinker" rats, without substrate overload.

NATIVIDAD SEGOVIA-RIQUELME, IRIS FIGUEROLA-CAMPS, IRIS CAMPOS-HOPPE  
y JORGE MARDONES

*Instituto de Investigaciones sobre Alcoholismo, Universidad de Chile, Casilla 12967,  
Santiago, Chile.*

Recibido para publicación el 23 de Marzo de 1966.

### RESUMEN

Se estudió la proporción de los pozos metabólicos intermedios entre etanol y CO<sub>2</sub> que van directamente a CO<sub>2</sub> y su velocidad de recambio, mediante la administración de dosis de 0,001 mmole/kg de etanol-2-C<sup>14</sup>, analizando la actividad recuperada en el CO<sub>2</sub> cada hora, en ratas de ambos sexos de los linajes "bebedor" y "no bebedor". Como testigo de los pozos de los metabolitos intermedios entre acetato y CO<sub>2</sub>, se estudiaron estas características mediante la administración de igual dosis de acetato-2-C<sup>14</sup>.

Los resultados no mostraron diferencias significativas entre sexos ni entre linajes con respecto a ninguna de estas características. La proporción de los pozos metabólicos intermedios del etanol que van directamente a CO<sub>2</sub>, fue significativamente menor que la de acetato. Esto sugiere que las vías laterales que parten de metabolitos intermedios entre etanol y acetato pueden revestir importancia. Los resultados son además compatibles con la idea de que el acetato libre puede ser una etapa metabólica del etanol.

### INTRODUCCIÓN

En trabajos anteriores (1, 2) hemos mostrado que no existe diferencia entre las ratas de los linajes "bebedor" y "no bebedor" con respecto a la velocidad del metabolismo del etanol y del acetato. En los experimentos referidos se administró una sobrecarga de etanol o acetato marcado con C<sup>14</sup>. Esta sobrecarga representa un aumento del pozo metabólico, la que es especialmente importante en el caso del alcohol cuyo pozo normal, si existe, es despreciable. Por consiguiente, era interesante estudiar si las ratas de los dos linajes tienen alguna diferencia en la proporción de los pozos de los distintos metabolitos intermedios entre alcohol y CO<sub>2</sub> en la vía que va directamente a CO<sub>2</sub>, así como en la velocidad de recambio de estos pozos. Como hemos discutido en un trabajo anterior (3), es posible obtener una información en este sentido administrando cantidades mínimas de substratos

marcados y estudiando la recuperación de la actividad en el CO<sub>2</sub>. En estas condiciones si se expresa gráficamente el logaritmo del porcentaje de la actividad administrada que se recupera en el CO<sub>2</sub> en cada hora, el fenómeno queda representado por una línea recta de ecuación  $y = a - bx$  en que  $y$  es el logaritmo del porcentaje de lo recuperado cada hora y  $x$  el tiempo en horas,  $a$  representa el logaritmo del porcentaje de los pozos metabólicos del substrato y sus metabolitos intermedios que llegan a CO<sub>2</sub> respiratorio por una vía directa, y la velocidad de recambio del conjunto de estos pozos es igual a  $100 (1 - 1/\text{antilog de } b)$  por ciento, por hora.

En el presente trabajo se estudia el valor de los coeficientes  $a$  y  $b$  en experimentos en que se administró etanol marcado con C<sup>14</sup>. Como indicador de los pozos metabólicos que van de acetato a CO<sub>2</sub> se estudió también el acetato marcado. Como en experimentos anteriores (1) se

TABLA I

Porcentaje de la actividad administrada en forma de etanol-2-C<sup>14</sup> en dosis de 0,001 mmole/kg i.p., recuperada en el CO<sub>2</sub> expirado en ratas de los linajes "no bebedor" (A) y "bebedor" (B).

Tiempo minutos	Linaje A		Linaje B	
	machos (4) * %	hembras (4) * %	machos (3) * %	hembras (4) * %
0 - 30	18,8 ± 3,8	14,5 ± 1,3	12,3 ± 1,8	16,3 ± 3,5
30 - 60	16,3 ± 1,5	14,5 ± 0,3	16,3 ± 2,7	16,3 ± 2,9
60 - 120	13,5 ± 1,2	12,0 ± 1,0	12,3 ± 1,4	12,5 ± 1,1
120 - 180	5,5 ± 0,4	5,0 ± 0,4	7,7 ± 1,2	6,2 ± 0,3
180 - 240	2,5 ± 0,3	2,7 ± 0,3	3,3 ± 0,3	2,7 ± 0,3
240 - 300	2,0 ± 0,4	2,3 ± 0,3	2,0 ± 0,0	2,7 ± 0,9

\* Las cifras entre paréntesis indican el número de casos. Media aritmética ± su error típico.

había demostrado que el carbono 2 del etanol y acetato se recupera más lentamente en el CO<sub>2</sub>, se utilizaron metabolitos marcados en este carbono, porque parecía más posible encontrar diferencias en ellos.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en ratas blancas adultas de ambos sexos pertenecientes a los linajes "no bebedor" (A) y "bebedor" (B) de nuestro Instituto (4). Las ratas fueron mantenidas al menos 90 días antes del experimento con dieta purificada, en condiciones de elegir libremente entre agua y solución de etanol al 10% V/V. El consumo voluntario de etanol se registró diariamente al menos 30 días antes del experimento y sólo se utilizaron los animales pertenecientes al linaje "bebedor" que consumían dia-

riamente más de 0,4 ml de etanol puro por 100 g de peso corporal y los animales del linaje "no bebedor" que bebían menos de 0,2 ml de etanol puro. En estos experimentos se utilizaron las generaciones de consanguinidad estrecha (inbreeding) número 24 del linaje A y 21 del linaje B. Las ratas no consumían alcohol ni comida desde 15 horas antes del experimento, pero sí agua destilada a voluntad.

Se empleó etanol marcado en el carbono 2 y acetato de sodio marcado en el mismo carbono (Calbiochem) en dosis de 0,001 mmole/kg i.p., administrándose en cada animal una actividad de 40.000 a 45.000 cpm por kg de peso corporal.

Cada grupo estuvo formado por ratas del mismo sexo y linaje. El número de animales que constituyó cada grupo aparece en las Tablas respectivas. Las condiciones experimentales con respecto al respirómetro, la recolección del CO<sub>2</sub>, y la medida de la actividad fueron, como en trabajos anteriores, las

TABLA II

Porcentaje de la actividad administrada en forma de acetato-2-C<sup>14</sup> en dosis de 0,001 mmole/kg i.p., recuperada en el CO<sub>2</sub> expirado en ratas de los linajes "no bebedor" (A) y "bebedor" (B).

Tiempo minutos	Linaje A		Linaje B	
	machos (4) * %	hembras (4) * %	machos (4) * %	hembras (4) * %
0 - 30	16,5 ± 3,3	21,3 ± 2,7	14,5 ± 2,6	15,5 ± 2,6
30 - 60	21,0 ± 0,7	22,3 ± 5,0	20,5 ± 6,9	18,3 ± 1,9
60 - 120	24,3 ± 0,7	19,0 ± 3,8	24,0 ± 3,6	22,5 ± 4,9
120 - 180	7,8 ± 0,6	6,5 ± 0,5	9,0 ± 0,4	8,8 ± 1,4
180 - 240	4,0 ± 0,4	3,8 ± 0,3	4,0 ± 0,4	4,0 ± 0,4
240 - 300	2,8 ± 0,5	2,3 ± 0,4	3,0 ± 0,4	3,5 ± 0,9

\* Las cifras entre paréntesis indican el número de casos. Media aritmética ± su error típico.

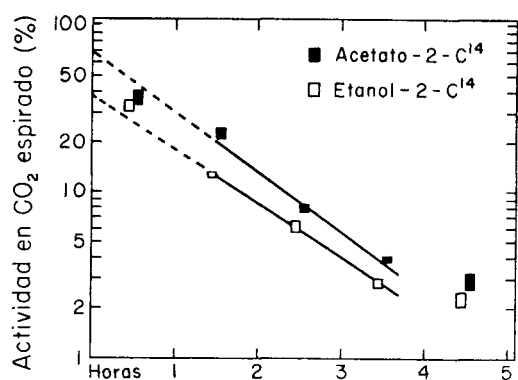


Fig. 1. Recuperación de la actividad inyectada en forma de acetato-2-C<sup>14</sup> o etanol-2-C<sup>14</sup> en ratas de ambos sexos y linajes consideradas en conjunto. Escala semilogarítmica. Los rectángulos representan la media aritmética  $\pm$  un error típico. Las líneas han sido calculadas con los tres datos centrales. Los valores de los parámetros aparecen en la Tabla III.

descritas por Vitale *et al.* (5). En cada animal se midió la actividad recuperada en el CO<sub>2</sub> a los 30, 60, 120, 180, 240 y 300 minutos y se expresó en porcentaje de la actividad inyectada. El análisis estadístico de los resultados se realizó con el método descrito en el trabajo anterior (3).

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en los experimentos con etanol-2-C<sup>14</sup> aparecen resumidos en la Tabla I y los con acetato-2-

C<sup>14</sup>, en la Tabla II. En ellas puede apreciarse que para un mismo sustrato no se observaron diferencias entre sexos y linajes, lo que confirma lo encontrado en los experimentos en que los animales recibieron sobrecarga de estos mismos sustratos.

Para el cálculo de los valores de *a* y de *b* se consideraron solamente los datos de la segunda, tercera y cuarta horas, pues, como puede apreciarse en los datos de las Tablas I y II y de la Fig. 1, al parecer, en la primera hora no se ha establecido el equilibrio y en la quinta puede recogerse en el CO<sub>2</sub> una actividad proveniente de caminos metabólicos más largos.

Los valores de *a* y de *b* calculados según el método de los cuadrados menores, aparecen resumidos en la Tabla III. Como puede apreciarse, no se observaron diferencias entre sexos ni linajes en ninguno de los sustratos ni parámetros estudiados. Si se comparan los resultados obtenidos con etanol y con acetato considerando en conjunto los experimentos obtenidos con ratas de ambos sexos y linajes, se observa que no hay diferencia significativa en el valor de *b* ( $2P > 0.2$ ), lo que muestra que la velocidad de intercambio de los pozos de los metabolitos intermedios entre alcohol y CO<sub>2</sub> y acetato y CO<sub>2</sub> no son diferentes. La compa-

TABLA III

Valores de los parámetros *a* y *b* y su error típico, en ratas de ambos sexos y linajes, correspondiente a los carbonos 2 del etanol y del acetato \*

Linaje	Sexo	<i>a</i>	<i>b</i>
Acetato-2-C <sup>14</sup>			
A	M	1,65 $\pm$ 0,10	0,363 $\pm$ 0,038
A	H	1,54 $\pm$ 0,06	0,324 $\pm$ 0,024
B	M	1,54 $\pm$ 0,11	0,290 $\pm$ 0,040
B	H	1,69 $\pm$ 0,04	0,370 $\pm$ 0,016
A + B	M + H	1,59 $\pm$ 0,04	0,333 $\pm$ 0,015
Etanol-2-C <sup>14</sup>			
A	M	1,86 $\pm$ 0,08	0,368 $\pm$ 0,032
A	H	1,75 $\pm$ 0,11	0,355 $\pm$ 0,042
B	M	1,94 $\pm$ 0,12	0,389 $\pm$ 0,045
B	H	1,83 $\pm$ 0,14	0,355 $\pm$ 0,051
A + B	M + H	1,84 $\pm$ 0,05	0,365 $\pm$ 0,021

\*  $y = a - b x$ . Donde *y* = log porcentaje recuperado en CO<sub>2</sub> y *x* = tiempo en horas.

ración de los valores de  $a$  muestra que éste fue significativamente mayor en el caso del acetato que del etanol ( $2 P < 0,001$ ), lo que sugiere que este sustrato o un metabolito intermedio entre él y el acetato, sigue en mayor proporción que el acetato vías metabólicas que no conducen a  $\text{CO}_2$  directamente. Es posible que este metabolito intermedio sea el acetaldehído o el acetaldehído activo.

Estos resultados experimentales son compatibles con la idea de que el acetato libre pueda constituir un metabolito intermedio en la combustión del etanol en el organismo.

#### SUMMARY

Experiments previously reported (1, 2) did not show a significant difference in the rate of combustion of ethanol and acetate between rats belonging to the "drinker" and "nondrinker" strains. These experiments were performed with a substrate overload. It was pertinent to study whether a strain difference in the proportion of the pools of the metabolites of the direct pathway from ethanol to  $\text{CO}_2$  or in the turnover rate of these pools could exist. It is possible to have an information about such characteristics by giving a very small dose of labeled substrate and studying the proportion of the activity recovered in  $\text{CO}_2$  each hour. When the log of the per cent recovered each hour it plotted against time, the line representing the phenomenon is  $y = a - bx$ . The parameters  $a$  and  $b$  can be calculated according with the least square method. The antilog of  $a$  is the per cent of the

pools of the intermediate metabolites going to  $\text{CO}_2$  by direct pathway, and the turnover rate (per cent per hour) =  $100 \times (1 - 1/\text{antilog } b)$ .

As a control of the characteristics of the pools of metabolites intermediate between acetate and  $\text{CO}_2$ , similar experiments with labeled acetate were performed. Ethanol and acetate were labeled in the second carbon.

The results did not show either sex or strains differences in any of these parameters (Tables I, II and III).

The proportion of the pools of ethanol metabolites going directly of  $\text{CO}_2$  was significantly lower ( $2 P < 0.001$ ) than the corresponding to acetate (Fig. 1).

This last result shows that lateral pathways starting with metabolites intermediate between ethanol and acetate could be important. On the other hand, they are consistent with the idea that free acetate could be an intermediate product in the oxydation of ethanol.

#### REFERENCIAS

- 1.— SEGOVIA-RIQUELME, N., VITALE, J. J., HEGSTED, D. M. y MARDONES, J. — *J. Biol. Chem.* **223** : 399, 1956.
- 2.— SEGOVIA-RIQUELME, N., CAMPOS, I., SOLODKOWSKA, W., GONZÁLEZ, G., ALVARADO, R. y MARDONES, J. — *J. Biol. Chem.* **237** : 2038, 1962.
- 3.— SEGOVIA-RIQUELME, N., FIGUEROLA-CAMPS, I., CAMPOS-HOPPE, I., JARA, N., NEGRETE, E. y MARDONES, J. — *Arch. Biol. Med. Exper.* **2** : 74, 1965.
- 4.— MARDONES, J., SEGOVIA, N. y HEDERRA, A. — *Quart. J. Stud. Alcohol.* **14** : 1, 1953.
- 5.— VITALE, J. J., DI GIORGIO, J., McGRATH, H., MAY, J. y HEGSTED, D. M. — *J. Biol. Chem.* **204** : 257, 1953.