

23477

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
SECRETARIA GENERAL

T.D.  
C/146

Queda registrada en el Libro Doctoral  
al año 47 número 211 del libro  
correspondiente a 1967  
Sevilla, 1967

El Jefe del Departamento de Teoría,

*Pérez Staffile*

**EFFECTO EN EL PERFIL LIPIDICO EN SANGRE  
DE LA INGESTA DE ETANOL  
EN SUJETOS SANOS Y  
EN ALCOHOLICOS CRONICOS**



MERCEDES CABELLO RAMIREZ

**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

**FACULTAD DE MEDICINA**

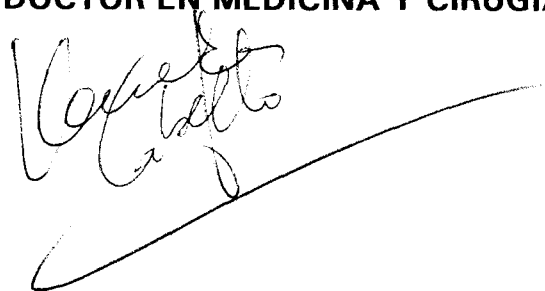
**"EFECTO EN EL PERFIL LIPIDICO EN SANGRE  
DE LA INGESTA DE ETANOL  
EN SUJETOS SANOS Y  
EN ALCOHOLICOS CRONICOS"**

**Tesis Doctoral presentada por:**

**Mercedes Cabello Ramírez**

**para optar al grado de**

**DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGIA**

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Mercedes Cabello', is written over a long, sweeping horizontal line that extends across the bottom right of the page.

DON JUAN MANUEL HERRERIAS GUTIERREZ, PROFESOR TITULAR DEL  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA

CERTIFICA:           Que bajo su dirección y en el Departamento de  
Medicina, ha sido realizado el trabajo titulado:  
"EFECTO EN EL PERFIL LIPIDICO EN SANGRE DE LA  
INGESTA DE ETANOL EN SUJETOS SANOS Y EN  
ALCOHOLICOS CRONICOS", por D<sup>a</sup>. Mercedes Cabello  
Ramírez, para optar al grado de Doctor en  
medicina y Cirugía.

Y para que así conste, expido el presente certificado en Sevilla, a veintisiete  
de Julio de mil novecientos noventa y cinco.



**DEDICATORIA**  
**Y**  
**AGRADECIMIENTOS**

A Román, mi marido, y  
a Elena y Mercedes, mis hijas.

**LO MAS IMPORTANTE**

## **AGRADECIMIENTOS:**

Quiero expresar mi gratitud a todas las personas que directa o indirectamente, han contribuido a la realización de este trabajo, y de modo especial:

\* Al Prof. Juan M. Herrerías Gutiérrez, Director de esta Tesis, por su amistad y estímulo constante, sin el cual no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

\* Al Dr. Fernando Fabiani, por su inestimable colaboración al poner a nuestra disposición el material utilizado en el Laboratorio de la Unidad de Lípidos de Bioquímica, que ha hecho posible la realización de la Tesis.

\* A todos los miembros del Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Universitario Virgen Macarena, en general, porque entre todos me han enseñado lo que significa la Profesionalidad.

**INDICE**

## INDICE:

### INTRODUCCION:

CONCEPTO DE ALCOHOLISMO . . . . .	4
EPIDEMIOLOGIA DEL ALCOHOLISMO . . . . .	6
QUIMICA DEL ETANOL . . . . .	12
METABOLISMO DEL ETANOL . . . . .	15
MECANISMO DE INDUCCION DE LAS LESIONES	
HEPATICAS POR ALCOHOL . . . . .	39
LIPOPROTEINAS PLASMATICAS . . . . .	46
SINTESIS Y SECRECION DE LIPOPROTEINAS	
RECEPTORES LIPOPROTEICOS . . . . .	51
APOPROTEINAS . . . . .	57
CARACTERISTICAS DE LAS LIPOPROTEINAS . . . . .	64
EFECTO DEL ALCOHOL EN EL METABOLISMO	
DE LOS LIPIDOS . . . . .	79
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA . . . . .	110
MATERIAL Y METODO . . . . .	114
RESULTADOS . . . . .	120
DISCUSION . . . . .	172
CONCLUSIONES . . . . .	181
BIBLIOGRAFIA . . . . .	185



## INTRODUCCION

## CONCEPTO DE ALCOHOLISMO

El alcohol ha sido la droga más utilizada desde antiguo por la sociedad. Ya Vesalio, en la Antigua Grecia, conocía la asociación del alcohol con el daño hepático (1). También se conocía dicha asociación en la India, como se demuestra en el estudio que Ravi Varma (2) realizó de los antiguos manuscritos del sistema de Medicina Ayurvada.

Pero no fue hasta el siglo pasado cuando se introdujo el término de "Alcoholismo" por el sueco Magnus Huss, y aunque con posterioridad la Asamblea Mundial de la Salud, en 1976, propuso sustituirlo por el de "Alcohol-dependencia", lo cierto es que se sigue utilizando el de alcoholismo (3).

El concepto de Alcoholismo ha variado mucho a lo largo del tiempo hasta la actualidad, en que se considera que es una enfermedad con consecuencias perjudiciales tanto para la sociedad, para la familia, como para sí mismos (3). En 1960, Jellinek (4) daba la siguiente definición: "Alcoholismo es todo uso de bebidas que causa un daño de cualquier tipo al individuo, a la sociedad o a ambos". Pero ésta es una definición de escaso valor. El problema para definir el alcoholismo deriva de la falta de consenso entre los expertos, además de que cualquier definición posee una validez limitada, ya que sólo cubren a un grupo de enfermos con unas características determinadas, pero no a todos los enfermos alcohólicos, ya que éstos forman un grupo muy atípico (5).

La Asamblea Mundial de la Salud, como ya se ha dicho, intentó cambiar el término de "Alcoholismo" por el de "Alcohol-Dependencia", para el que dio una definición: "Es un estado psíquico y habitualmente físico resultante de beber alcohol, caracterizado por una conducta y otras respuestas que siempre incluyen compulsión para tomar alcohol de una manera continua o periódica, con objeto de experimentar efectos psíquicos, algunas veces para evitar las molestias producidas por su ausencia, pudiendo estar presente o no la tolerancia".

Estas definiciones son muy complicadas, y el incluir a un paciente en el grupo de alcohólicos o no es muy subjetivo. En general se considera "Alcohólico" el que ingiere más de un 20% de las calorías diarias en forma de etanol (6). Duhamel y cols. (7) incluyen en un estudio sobre alteraciones en alcohólicos crónicos a los pacientes con consumo de etanol superior a los 100 g/día durante los últimos 5 años al menos. La fórmula para llegar al cálculo exacto de la cantidad ingerida de etanol puro en gramos es la siguiente:

$$\text{Etanol en g/día} = \frac{\text{Bebidas consumidas ml/día} \times \text{graduación} \times 0.8}{100}$$

100

Con estas últimas definiciones se obtienen parámetros que son constatables objetivamente y, por tanto, comparables unos con otros para poder realizar un estudio comparativo de las consecuencias de tal ingesta.

## EPIDEMIOLOGIA DEL ALCOHOLISMO

Está más que comprobado que el alcohol es la droga preferida de la Sociedad Humana, constituyendo en el momento actual uno de los principales problemas de Salud Pública con que se enfrentan las comunidades (3). La importancia de este hecho se incrementa por la posibilidad de evitar tales alteraciones mediante la prevención, eliminando el hábito. La Sociedad contempla el fenómeno del alcoholismo como una enfermedad a curar y un problema socio-económico que exige prevención, lo que es una realidad que raramente se ejerce (8).

Durante las últimas décadas, coincidiendo con el aumento del nivel de vida, se ha podido comprobar un incremento en el consumo de alcohol en todos los países occidentales. En España, el problema es altamente preocupante, ya que se ha pasado del 5º lugar dentro de los países consumidores de alcohol en 1965, al 3º en 1970 (tras Francia y Portugal) y al 2º en 1988, sólo precedida por Francia (FIG. 1) (9).

En España en 1957 había un consumo de 9,7 l. de alcohol puro por adulto y año, con un 5 % de bebedores de mas de 1 l vino/día de 10 grados, un 1.4 % de bebedores de mas de 2 l vino/día de 10 grados y un 0.6 % que consume mas de 3 l vino/día de 10 grados, o bien, sus equivalentes en otras bebidas alcohólicas. Si consideramos alcohólicos a los que consumen mas de 1 l. de vino al día de 10 grados o su equivalente en otras bebidas alcohólicas, tendríamos que el 7 % de la población adulta

española estaba afecta de alcoholismo en 1957. Igualmente, estudios más recientes demuestran que en nuestro país hay entre un 7 y 10 % de bebedores excesivos. Los resultados de numerosos estudios demuestran que las cifras de alcoholismo en determinada región van paralelas al consumo de alcohol puro (10). En nuestro país existen más de 3 millones de alcohólicos y estimándose en 200.000 el incremento anual, de los cuales 9000 fallecen al año por causas relacionadas con el alcohol. Mientras que en el período entre 1950 y 1979, el consumo de alcohol sufrió un aumento del 69 %, en el período de 1962 a 1980, el consumo de cerveza se ha incrementado en un 357 %. Este aumento se ha extendido últimamente al sexo femenino, donde el alcoholismo ha crecido con mayor rapidez que entre los varones, pasando de una proporción varones:hembras de 15:1 en 1971, a 7:1 en 1985 (9).

La distribución geográfica del alcoholismo dentro de nuestro país sitúa la mayor tasa en el Norte, una tasa intermedia en el Centro y Sur y la menor incidencia de alcoholismo en el Este (10).

En Galicia, Vázquez Iglesias (3) encuentra una incidencia del 20,7 % de alcoholismo entre la población adulta, siendo el 50 % de ellos menores de 40 años, y más del 80 % de la población de La Coruña consume alcohol de una manera regular. El cuestionario que utilizó en este estudio fue el CAGE test, descrito por Ewing y Rose, que consta de 4 preguntas:

1. ¿Ha tenido usted alguna vez la impresión de que debería beber menos?
2. ¿Le ha molestado alguna vez la gente criticándole por su forma de beber?
3. ¿Se ha sentido alguna vez mal o culpable por su costumbre de beber?
4. ¿Alguna vez lo primero que ha hecho por la mañana ha sido beber para calmar sus nervios o librarse de la resaca?

Se considera positivo a partir de dos respuesta afirmativas (10).

Nuestros alcohólicos en general, pertenecen a tres grupos:

- a) Alcohólicos continuos, que ingieren diariamente alcohol.
- b) Alcohólicos periódicos, que sólo lo hacen intermitentemente, en especial los fines de semana pero con gran intensidad.
- c) Ambas cosas.

La relación del alcohol con el daño hepático se conoce desde muy antiguo, ya que fue descrita por los griegos (1). La relación entre el alcohol y el hígado graso se describe por primera vez en el siglo pasado por Addison (11) y Rokitanski (12). Jolliffe y Jellinek (13) en 1942, recogen una extensa literatura sobre la cirrosis alcohólica, cubriendo la clínica, patología y factores experimentales, y concluyen que la asociación entre el alcoholismo crónico y la cirrosis del hígado



estaba ya claramente establecida. Desde entonces numerosas revisiones y libros han cubierto la epidemiología (14), etiología (15), así como la estadística, demografía y aspectos clínicos de la enfermedad alcohólica (16).

La relación entre el alcohol y la enfermedad hepática está probada, pero dar una cifra cirrógica es muy difícil, ya que para que se produzca cirrosis, además del alcohol intervienen otros factores, como los genéticos, estado nutricional, etc. Pequignot (17) propone una clasificación bastante lógica:

- 1) Menos de 80 gr etanol/día (no peligrosa)
- 2) Entre 80 y 160 gr etanol/día (peligrosa)
- 3) Mas de 160 gr etanol/día (muy alto riesgo)

Sheila Sherlock dice que el consumo máximo de alcohol sin riesgo de hepatopatía se considera de 60 gr. de etanol al día para el varón, y de 20 gr/día en la mujer (18), ya que se ha establecido que la mujer es más susceptible al desarrollo de cirrosis alcohólica que el hombre, aún con historias de abuso de etanol similares (19,20). Una ingesta superior a esto significa un aumento estadísticamente significativo de la incidencia de cirrosis en una población correctamente alimentada (FIG. 2) (17).

Por otro lado, Lelbach (21) no encontró en su estudio ni un sólo caso de cirrosis entre los que llevaban menos de 5 años de alcoholismo, en tanto que la incidencia de cirrosis tras un período de más de 22 años de consumo era del 51%.

Por tanto, la lesión hepática producida por el alcohol está directamente relacionada con el consumo del mismo, siendo la dosis ingerida, la susceptibilidad del individuo, y el tiempo que dure el hábito factores más decisivos que el tipo de bebida ingerida (8).

El efecto lesivo del alcohol se ejerce, al menos, por las siguientes vías:

a) Como tóxico directo.

b) A través de metabolitos que derivan de su degradación, tales como acetaldehído y acetato.

c) Por cambio del potencial redox celular inducido por el metabolismo del etanol, el cual interfiere en distintos pasos del metabolismo intermediario en las propias células.

d) Finalmente otros alcoholes, aldehídos y moléculas orgánicas presentes en las bebidas alcohólicas, pueden contribuir al menos parcialmente, a la aparición de diversas lesiones que producen las bebidas alcohólicas.

En España, se considera que el alcoholismo causa entre el 30 y 50 % de las cirrosis hepáticas, lo cual es superponible a lo que pasa en otros países europeos. En el período de 1972-1973, la mortalidad atribuible a cirrosis fue de un 38,8 por 100.000 habitantes, siendo el consumo de alcohol de 11,7 l. por habitante y año (8).



En un estudio realizado en Madrid (22), se encuentran alteraciones a consecuencia del etilismo en solo el 3 % de los alcohólicos. En otro estudio en la región gallega se llega a encontrar lesiones en un 25 % de los alcohólicos y un 14 % de cirrosis (3). En Navarra hay un 18 % de alcohólicos con complicaciones somáticas o psíquicas propias del alcoholismo crónico (10).

Jolliffe y Jellinek (13) en 1941 realizan un estudio en 45 Estados de Estados Unidos, donde comprueban que existe una correlación positiva entre el consumo de alcohol/habitante/año y la mortalidad por cirrosis hepática, siendo de 3-4 muertes por cirrosis cada 100.000 habitantes entre los menos bebedores y de 16-17 muertes por cirrosis por 100.000 habitantes en los lugares de mayor consumo. A la misma conclusión llegó Terris (22) en 1964, evaluando factores tales como la edad, sexo, raza, clase social, naturaleza urbana o rural de la población y consumo de alcohol.

Pell y D'Alonso (23), siguen a 77.000 empleados de una factoría durante 22 años, entre los que encuentran a 922 alcohólicos desde el principio. La cirrosis se presentó en el 31 % de los alcohólicos, con una incidencia 28 veces superior que entre los no bebedores.

La mortalidad por cirrosis varía ampliamente de unos países a otros, y el papel etiológico del alcohol en la cirrosis es mayor en el Norte y Sur de América que en Europa (66 % y 42 %

respectivamente), en tanto que en Asia es sólo del 11 %, aunque parece que está incrementándose (24).

Con respecto a la raza, la mortalidad por cirrosis entre la población negra es del doble al menos que entre la población blanca en las áreas urbanas de Estados Unidos (25).

En 1972, la OMS aporta una mortalidad de 7,5 por 100.000 habitantes en Finlandia, y de 57,2 por 100.000 habitantes en Francia, siendo la correspondencia del consumo de alcohol por habitante y año de 5,1 y 16,8 l, respectivamente (26).

La mortalidad por cirrosis en el período comprendido entre 1950 y 1974 ha aumentado un 71.7 % en Estados Unidos y desde entonces se ha mantenido, o incluso ha descendido algo, aunque este descenso podría ser entre las cirrosis no alcohólicas (27). En Canadá es la cirrosis la causa de muerte que más ha aumentado en los últimos años entre los mayores de 25 años, seguida del cáncer pulmonar y bronquial, y del suicidio (14), siendo ahora la 5ª causa de muerte entre los varones en edad productiva (de 25 a 65 años) en Canadá (28), al igual que en Baltimore (25) y la 3ª en New York (29).

#### QUIMICA DEL ETANOL

El etanol es un compuesto químico perteneciente al grupo de los alcoholes, el más conocido de todos ellos y su representante más genuino, por lo que recibe la denominación genérica de

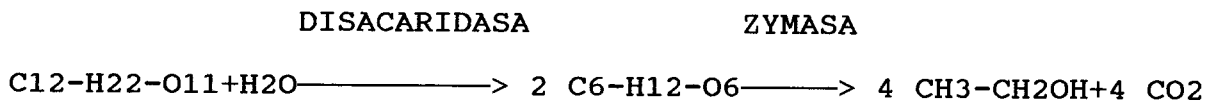
"alcohol". En Medicina también aceptamos el hecho de identificar etanol con alcohol y a la ingesta mantenida de grandes dosis, con creación de dependencia hacia él, se le denomina alcoholismo (30).

Los alcoholes resultan de la sustitución de un radical -H de un hidrocarburo por un radical hidroxilo -OH, recibiendo el mismo nombre que el hidrocarburo con la terminación en "ol". En el caso concreto del etanol sería:



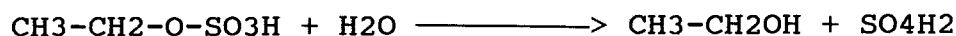
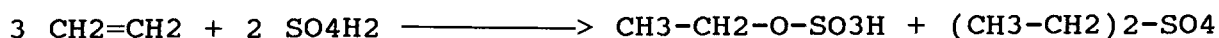
Comercialmente el alcohol etílico o etanol es producido por dos métodos generales: Fermentación y Síntesis.

a) FERMENTACION: Se realiza a partir de los azúcares contenidos en determinados productos alimenticios, siendo en nuestro medio fundamentalmente la uva. Las reacciones químicas generales son las siguientes:

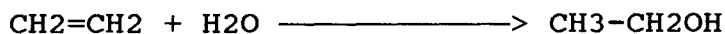
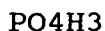


A partir del Disacárido se obtienen dos moléculas de glucosa y de cada una de estas dos de etanol.

b) SINTESIS: La obtención de etanol por síntesis se efectúa en Estados Unidos desde 1931, aumentando y generalizándose su producción desde entonces, con el desarrollo industrial. El procedimiento consiste en la absorción de etileno por ácido sulfúrico. Posteriormente este intermediario es hidrolizado a etanol y sulfúrico.



Otro método es la hidratación directa del etileno, utilizando ácido fosfórico como catalizador:



El etanol comercial obtenido por estos procedimientos resulta a una concentración del 95% en agua. Utilizando benceno puede desecharse el agua, obteniendo etanol anhidrico al 100%.

La ingestión de 80 gr. de etanol puro produce claros efectos tóxicos en el organismo humano, y esta ingesta mantenida a lo largo del tiempo da lugar a una compleja patología en el etílico crónico, donde destaca la importante alteración producida en el hígado.

## METABOLISMO DEL ETANOL

El alcohol no es un metabolito extraño a nuestro organismo. Krebs y Perkins (31) demostraron que diariamente las bacterias presentes en el tracto digestivo producen de 10 a 40 g de etanol al día, que tras ser absorbido es transportado por la vena porta y metabolizado por nuestro organismo. Quizás este hecho justifica la localización casi exclusiva (90 %) del sistema oxidativo del alcohol en el parénquima hepático (3,31,32). Otra pequeña parte del alcohol endógeno procede del acetaldehído producido en el paso metabólico normal de la degradación de Treonina, fosfato-deoxirribosa y beta-alanina (9).

Lo más importante para que se produzca lesión hepática por alcohol es que éste sea ingerido. Si esto ocurre se absorbe rápidamente el 20 % en el estómago y el 80 % restante en el yeyuno alto. Los principales factores que influyen en esta fase son la cantidad, concentración y composición de la bebida alcohólica, la presencia de alimentos en el estómago, y la capacidad de vaciado gástrico. Se incorpora a la sangre entre 5 y 10 minutos después de ser ingerido y alcanza su máximo nivel entre los 30 y 90 minutos, para luego descender. Se distribuye por toda el agua corporal, intra y extracelular, es decir, por todos los tejidos del organismo (al ser el agua corporal mayor en los hombres que en las mujeres, en éstas se alcanzan mayores niveles de alcoholemia a igual cantidad de etanol ingerida). No se une a las proteínas plasmáticas y es miscible con las grasas. Por tanto, la concentración de alcohol en las distintas

estructuras viscerales está en proporción directa al contenido acuoso de las mismas, e inversamente a su riqueza en lípidos. El líquido cefalorraquídeo alcanza la misma concentración que la sangre (9). El valor energético del etanol es de 7 Kcal/g y aunque los índices de metabolización varían de una persona a otra, la media estaría en unos 100 mg/Kg/hora. Con estos datos se puede calcular el aclaramiento plasmático de etanol. Su concentración en sangre desciende a razón de 15-20 mg % y por hora (33). La cuantía excretada del total de etanol ingerido es de un 10% aproximadamente, que es eliminado a través de los riñones y pulmones. El resto es oxidado en el cuerpo, como ya se ha dicho principalmente en el hígado (8,9,34). La proporción de aclaramiento de etanol desde la sangre está notablemente disminuida e incluso detenida si se ha realizado hepatectomía previa o existe o un grave daño hepático. La especificidad del alcohol por el hígado y la falta de un mecanismo de "feed-back" que ajuste la proporción de oxidación al estado metabólico del hepatocito, así como la incapacidad del etanol para ser almacenado en el hígado, o para ser metabolizado o almacenado en otros tejidos periféricos, son los factores determinantes de la producción de la lesión hepática (9,34).

La oxidación del etanol ocurre principalmente en dos pasos, de etanol a acetaldehído y de acetaldehído a acetato (FIG. 3).

El primero de estos pasos, de etanol a acetaldehído, se realiza en la porción soluble del hepatocito por tres mecanismos diferentes de reacción, con sistemas enzimáticos diferentes, y

localizados en diferentes compartimentos subcelulares: la enzima Alcohol Deshidrogenasa (ADH) en el citosol, el Sistema Microsomal de Oxidación de Etanol (MEOS), localizado en el retículo endoplásmico, y por último, el Sistema Catalasa en los peroxisomas (32). El segundo paso, de acetaldehído a acetato, se realiza en la mitocondria, catalizado por la enzima Aldehído Deshidrogenasa (ALDH).

Aunque en condiciones normales la mayor parte del etanol es oxidado por la enzima ADH, la persistencia de cierta capacidad de metabolizar alcohol en presencia de Pirazol (un potente inhibidor de la ADH in vitro e in vivo), fue el primer hallazgo experimental de la existencia de vías adicionales de oxidación de etanol distintas a la ADH (35). En condiciones de sobrecarga alcohólica o tras un consumo continuado, las otras dos vías alternativas, especialmente el MEOS, desempeñan un papel importante. De hecho en los alcohólicos crónicos se produce una proliferación del retículo endoplásmico junto con un aumento en la capacidad oxidativa del MEOS (8).

## **ADH**

Este es uno de los enzimas del organismo más intensamente estudiados y con una literatura encaminada a la investigación, para clarificar su estructura y su mecanismo de acción. Es el principal camino para la oxidación de etanol, cataliza la conversión de etanol a acetaldehído. La "razón de ser" de este enzima puede residir en liberar al cuerpo de las pequeñas

cantidades de alcohol producido por fermentación en el tracto gastrointestinal (36).

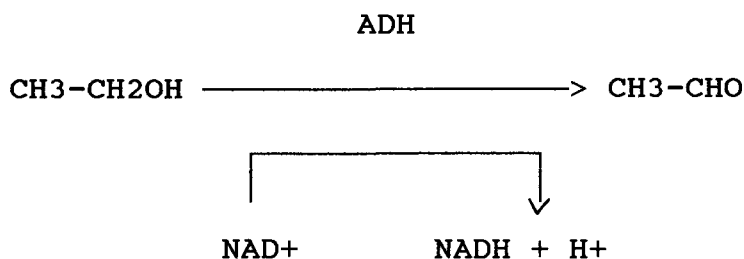
La ADH tiene una amplia especificidad de substrato, entre los que se incluye la deshidrogenación de esteroides y la omega-oxidación de ácidos grasos. Estos compuestos pueden representar el substrato fisiológico para la ADH (35). Se considera que la ADH hepática juega un importante papel en la biosíntesis de ácidos biliares desde colesterol (37). Pero no significa necesariamente que tenga un papel obligatorio en la síntesis normal de los ácidos biliares, ya que éstos existen en ratones con un déficit congénito de ADH (38).

Existen múltiples formas de ADH, isoenzimas, los cuales pueden ser diferenciados por su distinta movilidad electroforética. Para los isoenzimas hepáticos humanos existen al menos tres locus genéticos, ADH-1, ADH-2 y ADH-3, cada uno de los cuales codifica a una cadena polipeptídica, alfa, beta y gamma, respectivamente. La ADH es un dímero formado por la asociación de dos de estas cadenas polipeptídicas. La ADH normal tiene solamente la subunidad Beta-1, pero existen subunidades Beta-2 atípicas, hecho aportado independientemente desde hígados de Caucasianos y de asiáticos (Beta-2 Berna y Beta-2 Oriental) (39,40). Ambas subunidades, Beta-1 y Beta-2, son controladas por el locus ADH-2. La ADH atípica se presenta con una frecuencia del 5 al 20% en la población europea: En Inglaterra 10%, en Suiza 20% y en Alemania 9%. Entre la población mongol de Asia es superior al 90% (34).



El pH óptimo de actividad es distinto para la ADH normal (10.5) y para la ADH atípica (8.8), lo cual significa que en condiciones normales tendrían diferente actividad, siendo mayor la actividad de la ADH atípica (41). Pero esto sólo explicaría la elevación de los niveles de acetaldehído que se produce tras la ingesta de etanol en los individuos con ADH atípica. Sin embargo, en los individuos con ADH atípica no se produce un metabolismo del etanol anormalmente alto in vivo (42).

La reacción catalizada por la ADH es la siguiente:



Esta reacción implica la formación de un complejo terciario, de etanol, NAD<sup>+</sup> y ADH, la transferencia de un Hidrógeno (H<sup>+</sup>) y la subsiguiente disociación de este complejo entre enzima y productos. Hay un número de posibles secuencias en los que podría ocurrir estos pasos, pero generalmente está convenido que existe un mecanismo ordenado siguiendo una secuencia específica favorecido termodinámicamente, y que las otras secuencias tienen una pobre probabilidad (43).

La ADH humana parece constar de dos átomos funcionales de Zinc (44) y de dos cadenas polipeptídicas similares, cada una de las cuales contiene un radical -SH en una cisteína (45). Este

grupo -SH, junto con el Zn y otro aminoácido no identificado, están involucrados en la ligazón al substrato (46). La ADH típica humana presenta una máxima actividad in vitro a concentraciones de etanol de 1,7/100 M (78 mg/100 ml) con inhibición a muy altas concentraciones. Además, la ADH humana es capaz de oxidar metanol, 2-propanol y glicoetileno (44,47). El metanol es oxidado a más alta proporción aún que el etanol.

El amplio rango de substratos que la ADH puede oxidar o reducir, y las diferencias manifiestas en la especificidad entre los isoenzimas de ADH, sugieren que éste no es realmente un enzima, sino una colección de enzimas con muchas características en común. Por consiguiente continúa abierto el debate sobre la función real de la ADH in vivo (48). Sin embargo no hay duda que una de sus funciones es la interconversión de alcohol y aldehído, ya que pequeñas cantidades de etanol pueden detectarse en sangre, orina y tejidos de sujetos que no han consumido alcohol. Con métodos altamente específicos y sensibles se detecta la concentración de etanol endógena, la cual es inferior a 0,15 mg/100 ml en el hombre (49,50) y que no parece formado por microorganismos intestinales, sino que parece proceder del hígado por decarboxilación del piruvato a acetaldehído y la subsiguiente reducción a etanol por la ADH más el cofactor NADH (54). Sin embargo, posteriormente se obtuvieron los niveles de etanol en individuos que no lo habían ingerido, en la vena porta y en las suprahepáticas, siendo superiores los niveles de etanol en la vena porta, lo que sugiere que la ADH hepática tiene una función detoxificante para los bajos niveles de etanol formado

fisiológicamente en el tubo digestivo, como ya se dijo al principio. Además estos niveles estaban marcadamente reducidos por la administración oral de antibióticos (36).

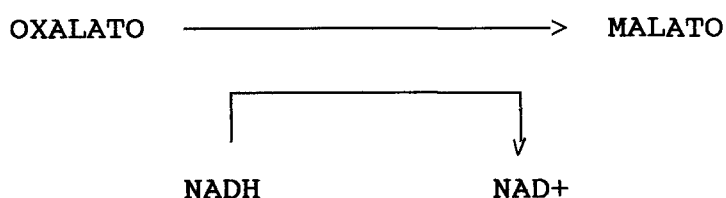
En la oxidación de etanol mediada por ADH, es transferido un H<sup>+</sup> del substrato al cofactor nicotinamin-adenin-dinucleótido (NAD<sup>+</sup>) que tras aceptar el H<sup>+</sup> se transforma en la forma reducida del mismo, NADH, y se produce acetaldehído. La disociación del complejo NADH-enzima parece ser el paso limitante de esta reacción (52). Como resultado neto el primer paso en la oxidación de etanol genera un exceso de equivalentes reducidos en el citosol, como NADH. En ratas normales, a las que se les da etanol hay un marcado cambio en el potencial redox del citosol, medido por cambios en la proporción lactato:piruvato (53). El estado de oxidación-reducción (redox) alterado es responsable de una variedad de anormalidades metabólicas en el hepatocito, tal como hiperlactacidemia, que están ligadas a la utilización del exceso de NADH del citosol (FIG. 4). Por cada Mol de alcohol oxidado por la ADH se reduce un Mol de NAD<sup>+</sup> por lo que el cociente NADH/NAD<sup>+</sup> aumenta hasta 4 veces su valor normal.

Para estudiar la variación del potencial redox en el citoplasma y en la mitocondria tras el metabolismo del etanol se ha tomado como reflejo la proporción de lactato:piruvato (ya que la membrana del hepatocito es permeable a ambos) y Beta-hidroxi-butirato:acetoacetato, respectivamente, en la vena porta por cateterización, viéndose un incremento en ambas proporciones

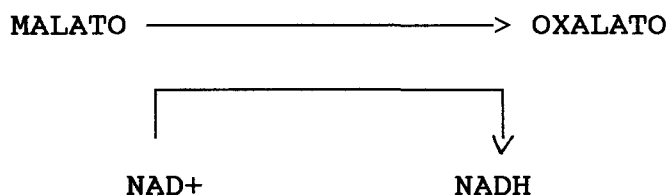
tras administrar etanol (54,55). Forsande (56) descubrió en 1970 que la infusión de etanol a un medio con homogeneizado de hígado de rata, reduce las proporciones de  $\text{NAD}^+:\text{NADH}$  en el citosol de un valor de 358:1 a otro de 58:1 y en la mitocondria la proporción disminuía desde un control de 9,7:1 a otro de 3,4:1. Por otro lado, Redetzki (57) estableció que cuando eritrocitos humanos o de conejos eran incubados con etanol, (300-900 mg/100 ml) la proporción  $\text{NAD}^+:\text{NDAH}$  disminuye, aunque estas células carecen de enzima ADH y no desaparece el etanol del medio, por lo que el cambio en el estado redox sería, además de por el metabolismo del etanol, por efecto directo del mismo sobre la permeabilidad de la membrana celular en la cual se aumenta la entrada de Sodio, estimulando los mecanismos de transporte catiónico requeridos para el mantenimiento de la integridad osmótica de la célula, lo cual conduce a la acumulación de cofactores reducidos.

El déficit de  $\text{NAD}^+$ , con incremento de su forma reducida traerá como consecuencia la inhibición de aquellas reacciones del metabolismo intermediario que utilicen el  $\text{NAD}^+$  como cofactor (Reacciones de oxidación) tales como oxidación de etanol por ADH, y favorecerá las reacciones en las que se verifique la reoxidación de  $\text{NADH}$  a  $\text{NAD}^+$  (9). La reoxidación del  $\text{NADH}$  debe hacerse dentro de la mitocondria, pero la membrana de ésta no es permeable al  $\text{NADH}$ . Por ello se vale de reacciones auxiliares que facilitan esta oxidación y transporte. Todas ellas se realizan sobre un substrato que es reducido por el  $\text{NADH}$  en el citoplasma a otra sustancia que pueda penetrar en la mitocondria a través

de su membrana para ser oxidada dentro de ella y generar nuevamente  $\text{NAD}^+$  en el citoplasma (30) (FIG. 5). El principal sistema utilizado parece ser el ciclo del malato (58). En el citoplasma, el oxalato se transforma en malato según la siguiente reacción:



El malato sí puede atravesar la membrana mitocondrial y penetrar al interior de la mitocondria, donde por reacción inversa es nuevamente transformado en oxalato y  $\text{NADH}$  por reducción del  $\text{NAD}^+$ :



El oxalato se transforma en aspartato que sale al citoplasma donde inicia nuevamente el ciclo tras transformarse en oxalato nuevamente, en tanto que el  $\text{NADH}$  está dentro de la mitocondria para reoxidarse en la cadena respiratoria.

Otro sistema es el ciclo del Alfa-glicerofosfato (59,60). El fosfato de hidroxiacetona es reducido por  $\text{NADH}$  en el citosol generando Alfa-glicerofosfato, que puede penetrar en la mitocondria. Allí es reoxidado a fosfato de hidroxiacetona, que vuelve al citosol para poder repetir el ciclo. Utiliza como

cofactor intramitocondrial el  $\text{FAD}^+$  que se reduce a  $\text{FADH}$ . Este sistema no parece jugar un papel importante en condiciones normales, aunque su actividad puede aumentar si se aumenta la actividad de la enzima glicerofosfato deshidrogenasa, como ocurre en el hipertiroidismo o en los tratamientos con clofibratos.

El papel de los ácidos grasos es aún menos importante (61). En la membrana externa de la mitocondria el ácido graso alarga su cadena tras reaccionar con acetil-CoA, transformando el  $\text{NADH}$  en  $\text{NAD}^+$ . Tras el ingreso en la mitocondria se produce la oxidación, que nuevamente libera el ácido graso y el acetil CoA y los equivalentes hidrogeniones que han sido transportados al interior de la mitocondria suplantando al ciclo del ácido cítrico como fuente donante de hidrogeniones (61).

Por tanto la velocidad del metabolismo del etanol depende del suministro de  $\text{NAD}^+$  y de la disociación del complejo  $\text{ADH-NADH}$  así como de la reoxidación del  $\text{NADH}$  (61).

Sin embargo una reducción de la actividad de la  $\text{ADH}$ , disminuye la proporción de la oxidación del etanol, como por ejemplo una dieta pobre en proteínas disminuye los niveles de  $\text{ADH}$  en las ratas (62). Se han sugerido factores distintos para la limitación de la oxidación de etanol en las ratas, dependiendo que éstas estén alimentadas o estén en ayunas (63). El incremento en la oxidación de etanol tras añadir componentes del ciclo malato-aspartato o del ciclo Alfa-glicerofosfato, y su inhibición por adición de los inhibidores de dichos ciclos

sugieren que la oxidación del etanol en los hepatocitos aislados está limitado por la proporción de la transferencia de equivalentes reducidos desde el citosol a la mitocondria, y que dicho transporte es regulado por la concentración intracelular de los componentes de los sistemas de reoxidación de NADH descritos anteriormente. La inhibición de la cadena de transporte de electrones por la adición de Amobarbital conduce a una reducción significativa de la oxidación de etanol, sugiriendo que el flujo a través de la cadena respiratoria también regula la proporción de metabolismo de etanol.

Es interesante ver como en muchas especies, incluida el hombre, la proporción de metabolismo de etanol calculada según la actividad de la enzima ADH es menor que la proporción que se observa in vivo (64), por lo que la identificación directa de la actividad de la ADH con la proporción del metabolismo, puede conducir a error (43).

Si podemos concluir que el volumen de etanol consumido por diferentes individuos se relaciona con el grado de cambio del estado redox hepático. Esto apoya que los mecanismos mitocondriales para la regeneración de NADH citoplasmático, normalmente gobiernen la proporción de metabolismo de etanol (65).

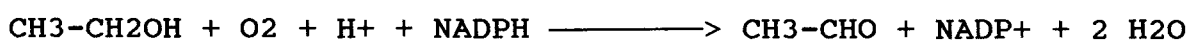
## **MEOS**

La primera indicación de una intervención del etanol en la fracción microsomal del hepatocito se apoyaba en la observación

de que en ratas alimentadas con etanol, había una proliferación del Retículo Endoplásmico Liso (REL) (66,67). Esto es muy parecido al cambio observado tras la administración de muchos compuestos químicos, incluyendo hepatotoxinas, agentes terapéuticos y aditivos alimenticios (68). Muchas de estas sustancias que estimulan el REL eran metabolizadas, al menos en parte, en la fracción mitocondrial del hepatocito, lo que hacía suponer la posibilidad de que además de la oxidación del etanol por la ADH en el citosol, éste pueda ser también metabolizado por los microsomas (32,34,43). Tal sistema microsomal para metabolizar etanol fue descrito en 1965 por Orme-Johnson y Ziegler (69), pero con una capacidad para metabolizar etanol extremadamente baja. Posteriormente se estudio un MEOS con una proporción de oxidación de etanol 10 veces superior al descrito por Orme-Johnson y Ziegler.

Parecía que tal oxidación del etanol al acetaldehído se realizaba por un sistema monooxigenasa citocromo P-450 NADPH dependiente (la enzima P-450 oxigenasa) (70,71). El sistema requiere NADPH y O<sub>2</sub>. Hay unas evidencias obtenidas con la fracción purificada del citocromo P-450 que demuestran que esta hemoproteína es capaz de oxidar alcoholes (71,72). La reacción sería:

#### MEOS





Este isoenzima también tiene la capacidad de oxidar anilinas, acetaminofen, tetracloruro de carbono, acetona, dimetildinitrosamina y p-nitrofenol, lo cual tiene implicaciones importantes ya que puede potenciar la activación de estos compuestos a sus derivados tóxicos (71).

El MEOS se diferencia de la catalasa por su habilidad para oxidar alcoholes alifáticos en cadena larga, los cuales no son substrato para la catalasa (73) y por ser sensible al Monóxido de carbono (70,74,75) y al SKF 525-A (76).

Las diferencias con la ADH hepática estriban en su localización en los microsomas, su pH óptimo in vitro y los cofactores requeridos (34). La Km del MEOS es de 8-10 nM (77) en tanto que la Km de la ADH es de 0,26-2,0 mM (78). Esta Km in vitro de MEOS concuerda con el valor correspondiente del cambio metabólico invariable (no sensible) al pirazol, de 9 nM in vivo, y con un valor similar en los hepatocitos aislados, sugiriendo que MEOS juega un papel significativo en el metabolismo del etanol (70,79). Al administrar pirazol a una dosis que inutiliza totalmente la enzima ADH, la inhibición en la oxidación de etanol no es completa, permaneciendo un 20-25 % de la misma, tanto en organismos intactos como en hígados aislados. Esta oxidación se realiza por otra vía distinta a la ADH, ya que el cociente NADH:NAD<sup>+</sup> no se afecta en estas condiciones, siendo su alteración absolutamente característica de la oxidación por la ADH (30,61,75).

Estudios con otros inhibidores indicaban que una importante fracción era oxidada en los microsomas independientemente de la catalasa (80). Este concepto de que los microsomas hepáticos contienen un sistema metabólico catalasa independiente para la oxidación de etanol se aporta en varios estudios más (81,82). Posteriormente el MEOS ha sido solubilizado y separado de la activadas ADH y catalasa por una columna de cromatografía de dietileno-etil celulosa (84). Por un método específico y sensitivo, la actividad MEOS era claramente diferenciada de los procesos enzimáticos que involucran actividad peroxidasa, como catalasa (83). Por tanto MEOS está ligado a la actividad oxidasa que requiere NADPH microsomal y el cual genera H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en los microsomas.

Los microsomas hepáticos de ratones en los que se ha anulado la actividad catalasa por someterlos a inactivación por calor, mostraban actividad catalítica disminuida pero la actividad MEOS NADPH-dependiente permanece activa e inafectada (84). Aún sin inactivación por calor, en el grupo sin catalasa el metabolismo NADPH-dependiente era mucho más activo que el mediado por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, además, los microsomas de los ratones control mostraban igual proporción de oxidación de etanol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y NADPH-dependiente (85). Esto apoya la conclusión de que los microsomas hepáticos de los ratones normales y de los que no tienen catalasa contienen un sistema de oxidar etanol NADPH mediado y catalasa independiente.

Este importante potencial de un camino metabólico diferente a la ADH, que es la actividad MEOS, para el metabolismo del

etanol in vivo, estaba apoyado por la demostración de que a pesar de la falta de ADH congénita en algunas especies de ratones, éstos metabolizan cantidades sustanciales de etanol, particularmente después de un consumo crónico (86,87). Lo importante era saber la contribución de los distintos caminos del metabolismo del etanol en presencia de ADH.

La contribución cuantitativa de los distintos caminos en la proporción de la oxidación de etanol se examinó primero en hepatocitos aislados de ratones con y sin 4-metilpirazol. El 4-metilpirazol reducía significativamente la oxidación de etanol en ambos tipos de hepatocitos. La contribución de los caminos diferentes a la ADH son el 28% del metabolismo con una concentración de 10 mM de etanol (concentración a la cual queda saturada la ADH), y del 57% con 50 mM de etanol. Se calcula que MEOS participa en el 35% de la oxidación con bajas concentraciones de etanol y casi en el 70% con las altas (30, 88). Una de las formas de averiguar la participación de MEOS es determinando el Hidrógeno marcado (3H) desde el 3H-etanol, con lo que se comprueba que en las ratas supone el 50% del metabolismo (89,90). Todo esto conduce a resultados similares: Los mecanismos metabólicos distintos a la ADH juegan un papel significativo en la oxidación de etanol, aún en presencia de una ADH normal. También era conocido que en ratones, al igual que en las ratas, el tratamiento crónico con etanol causaba la inducción microsomal del citocromo P-450 (88), el cual estaba incrementado en aquellos animales que recibían una dieta con etanol (91). El pirazol, potente inhibidor de la ADH, se usa

frecuentemente para tasar los efectos que se producen en el metabolismo por la oxidación por la ADH. sin embargo este compuesto puede afectar a otros enzimas hepáticos de modo diferente, tal como el metabolismo de diferentes drogas por el citocromo P-450 monooxigenasa (92), al que puede inducir (93). Este hecho hay que tenerlo en cuenta en los estudios en los que se utiliza el pirazol, ya que la inducción del metabolismo microsomal de los alcoholes puede ser significativa. El etanol y la Isoniacida también eran presentados como agentes capaces de incrementar la actividad de citocromo P-450 del sistema microsomal hepático con propiedades similares con respecto a substrato e inhibidores y con propiedades diferentes de aquellas observadas después de un tratamiento con inductores clásicos (94). Recientemente se ha purificado una forma principal de citocromo P-450 microsomal hepático, el citocromo P-450 etanol-inducible (P-4502E1), la cual contribuye no sólo al metabolismo del alcohol y la tolerancia, sino también a la selectividad de la toxicidad hepática perivenular (95). La administración crónica de etanol y fenobarbital inducen proliferación de la actividad MEOS, incluyendo la inducción del citocromo P-450 (96). Un pretratamiento de ratas y ratones con SKI-525 A (un inhibidor de MEOS) en la dosis conocida para inhibir el sistema microsomal de metabolismo de droga y para prolongar el tiempo de hexobarbital no tuvo efecto en la proporción de aclaramiento de etanol desde la sangre ni en la conversión del etanol-14C (marcado) al  $^{14}\text{CO}_2$  in vivo (45). Con un tratamiento crónico con fenobarbital o clorciclicina, ambos inductores altamente específicos del metabolismo microsomal de drogas y estimulantes

de la actividad MEOS, también faltó el incremento en la proporción de desaparición de etanol desde la sangre o la producción de  $^{14}\text{CO}_2$  desde el etanol- $^{14}\text{C}$  (45,97). Sin embargo, Lieber y DeCarli (74) establecieron una alta proporción de aclaramiento de etanol en ratas alimentadas con una dieta que contiene alcohol durante 24 días al menos, determinando una actividad MEOS aumentada. Esta mayor rapidez en el aclaramiento de etanol in vivo permanecía aún cuando las ratas fueron tratadas con pirazol. Esto concuerda con la observación de que el tratamiento crónico causaba incremento en la cantidad visible del REL (98). Esta proliferación del REL en respuesta a la ingestión de alcohol, parece ser la causa de la tolerancia metabólica al etanol (al igual que la tolerancia al pentobarbital y otras drogas) que se desarrollan en los alcohólicos (99).

El uso del mismo sistema detoxificante microsomal para el alcohol y otros fármacos permite explicar parte de los fenómenos de interacción medicamentosa y potenciación de drogas que se producen cuando el alcohol y la droga oxidable por el mismo sistema se consumen simultáneamente. Además si una sustancia precarcinogénica se transforma en carcinogénica por activación microsomal, serían activadas mas rápidamente en los alcohólicos, lo que permitiría explicar la mayor incidencia de cánceres en los alcohólicos crónicos (32).

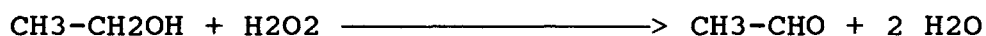
#### **CATALASA**

El hepatocito contiene catalasa primariamente en los peroxisomas y mitocondrias. Las pequeñas cantidades de catalasa

halladas en los microsomas aislados eran consideradas como un contaminante más bien que como un componente del REL (34).

La catalasa es capaz de oxidar etanol in vitro y en presencia de un sistema generador de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peroxidativo). La reacción sería:

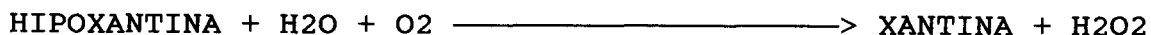
#### CATALASA



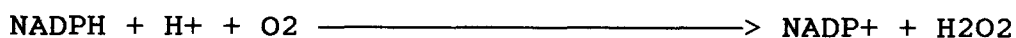
El sistema utiliza como oxidante el agua oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y tiene lugar en los peroxisomas. La idea de que la catalasa juegue un importante papel en el metabolismo del etanol es rechazada por muchos, ya que la oxidación de etanol por la catalasa está limitada por la escasa proporción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que se genera en el organismo (31,34).

En el hepatocito existen dos sistemas capaces de generar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: El hipoxantina-xantina y el NADPH-oxidasa en la fracción soluble del citoplasma y en los microsomas respectivamente (30).

#### XANTINA - OXIDASA



#### NADPH - OXIDASA





La proporción fisiológica de producción de  $H_2O_2$  se estima en 3,0-3,6  $\mu\text{mol}/\text{H}/\text{g}$  de hígado, lo que representa el 2% de la proporción de la oxidación de etanol in vivo (100,101).

Esta ruta no es específica para el etanol, pues el metanol también es un buen substrato (43), al menos en la rata éste se oxida mediante la catalasa. La actividad catalasa en el hígado está contenida sólo en los peroxisomas, los cuales sedimentan con la fracción mitocondrial. En algunas otras células, como eritrocitos, parecen estar presentes también en el citoplasma soluble.

En el cuerpo existe una gran cantidad de catalasa y varios sistemas generadores de peróxido, por lo que sería razonable pensar que, al menos alguna oxidación de etanol in vivo pudiera ocurrir por esta vía; sin embargo esto no fue comprobado, ya que en los estudios de Lundquist (102) se comprueba que aunque una reacción catalasa pueda suceder in vitro, la posibilidad de dicha reacción in vivo es mínima, pues la formación de peróxido de hidrógeno es demasiado limitada.

El 3-amino-1,2,4-Triazole, un inhibidor de la catalasa, se ha utilizado para demostrar que tras su administración no se afecta el metabolismo del etanol ni el de la sobrecarga del mismo en los hígados de ratas controles, pero sí causa una inhibición significativa del metabolismo en las ratas tratadas crónicamente con etanol (103). Pero el Aminotriazole no es un inhibidor específico de la catalasa.

Estas evidencias sólo indican que la catalasa es capaz de la oxidación del etanol bajo condiciones apropiadas, pero no demuestra la existencia de dichas condiciones in vivo (48).

En resumen, en los sujetos no alcohólicos sólo a una concentración de alcohol superior a 80 mg/ 100 ml en sangre, la oxidación por catalasa jugaría cierto papel (104).

### **RUTAS MISCELANEAS**

Existen otras rutas metabólicas menores para la oxidación de etanol. La excreción urinaria de una pequeña cantidad de etanol como un conjugado de sulfato y glucurónico ha sido establecida, a parte del que se excreta sin conjugarse (105). También se ha observado la formación in vitro de ácidos grasos a partir del etanol, y también durante el metabolismo in vivo (43). Por otro lado, una reacción de hidroxilación del etanol con formación de glicoetileno teóricamente podría ser posible, pero no hay evidencias actualmente de que dicha reacción tenga lugar (103).

El significado cuantitativo de estas reacciones es mínimo in vitro e in vivo. Puede tener más importancia la interacción de dichos caminos o sus productos ya que si el etanol compite por el sistema de conjugación de glucurónico, esto puede ser causa de interacción farmacológica de drogas in vivo (106).



## ALDH

El metabolismo del acetaldehído se realiza predominantemente en el hígado y aunque se sabe que en los animales tal metabolismo tiene lugar en las mitocondrias, en los humanos está aún por resolver. Recientemente se han hechos estudios para averiguar la localización subcelular de los isoenzimas de la ALDH mediante métodos electrofotométricos sobre tejido hepático humano (107). La ALDH I tiene una Km alta para el acetaldehído, en tanto que la ALDH II tiene una Km inferior para el acetaldehído. Ambas isoenzimas, se detectan por igual en citosol y mitocondria. Tipton y cols. (108) revelan que esencialmente el isoenzima de baja Km (Km menor de 1 micro-Mol) tiene su actividad localizada en la mitocondria, en tanto que la del citosol presentaba una Km de 270 micro-Moles. La actividad funcional y la distribución subcelular de los isoenzimas humanos son discutidas aún. En las ratas se han detectado 4 isoenzimas de ALDH con distintas Km para sustratos distintos, dos de ellos localizados en la mitocondria y otros dos en los microsomas. Hay diferencias significativas de especie en la distribución subcelular de ALDH hepática entre ratas, ratones y conejos. En las tres especies la mayor parte de la actividad de la ALDH se localiza en la mitocondria y microsomas (109).

Tras un consumo crónico de etanol puede haber una disminución en la actividad de ALDH hepática, hecho observado en animales alimentados con etanol (110) al igual que en humanos tras una ingestión crónica de etanol. Nuutinen y cols. (111)

encuentran una disminución de la actividad de la ALDH, tanto de baja  $K_m$ , como de alta  $K_m$  en alcohólicos. Jenkins y cols. (112) llegan a la conclusión de que el consumo de alcohol por sí deprime la actividad de la ALDH hepática y este hecho es el responsable de la disminución del metabolismo de acetaldehído. Pero además los cambios cuantitativos en la actividad de la ALDH, el consumo crónico de etanol, al menos en modelos animales, conducen también a cambios cualitativos en el patrón hepático de los isoenzimas de ALDH. El mecanismo de estos cambios es desconocido (113).

Estudios en orientales que carecen de ALDH de baja  $K_m$ , sugieren que el enzima citosólico es el responsable de la oxidación del acetaldehído y su actividad probablemente determina la variación individual de la respuesta psicológica mediada por acetaldehído (114).

El acetaldehído es un compuesto muy activo con una zona de unión a proteínas hepáticas y otra a fosfolípidos microsomales y si son estas uniones las que tienen un efecto perjudicial es aún objeto de debate (115). Parece que estas uniones no tienen efecto sobre el metabolismo celular o la función de membrana pero sí causan cambios físicos en las propiedades de las membranas, lo cual activa la cascada del complemento y conduce a un daño hepatocelular (116). El acetaldehído puede contribuir al síndrome alcohólico fetal, puesto que el ascenso de acetaldehído en sangre materna está aumentado hacia el final del embarazo y aún más en la lactancia (117).

En el hombre se detectan concentraciones significativas de acetaldehído (2-20 micro-Moles) en las venas hepáticas de caucasianos no alcohólicos intoxicados moderadamente, con ausencia de niveles detectables (menor de 2 micro-Moles) en sangre antecubital tomada simultáneamente. En 13 alcohólicos crónicos la evaluación de acetaldehído sanguíneo era más constante en las venas suprahepáticas que en las periféricas (118).

Las trampas de mediciones de acetaldehído en aire espirado están ya muy claras y confirmadas, ya que además del equilibrio entre aire alveolar y sangre pulmonar hay otros factores con gran importancia que influyen en esto (119).

#### **EFEECTO DE PRIMER PASO EN EL METABOLISMO DE ETANOL**

El consumo de alcohol en ratas alimentadas con dietas líquidas conteniendo etanol es considerablemente mayor que la proporción de aclaramiento de etanol en la sangre, sugiriendo que una fracción significativa del alcohol ingerido no entra en la circulación sistémica. Para tasar la magnitud del efecto de primer paso, se comparaban las curvas de la concentración de etanol en sangre después de la administración de varias dosis, por distintas vías, en ratas control y en ratas alimentadas con etanol crónicamente. En ambos grupos la concentración alcanzada en sangre era significativamente inferior después de la administración intragástrica que tras la administración intraportal o intrafemoral. Por el contrario, el aumento de acetato en sangre

estaba adelantado después de la administración intragástrica. Estos resultados indican que hay un significativo efecto de primer paso de etanol, el cual tiene lugar en el tracto gastrointestinal, particularmente en el estómago (70). La administración crónica de etanol disminuye la actividad de la ADH hepática, un efecto igualmente distribuido entre los hepatocitos periportales y perivenulares (120). También se disminuye la actividad de la ADH gástrica, probablemente de modo secundario al daño de la mucosa gástrica. Y de igual modo, se disminuye la magnitud del efecto de primer paso (121). Estos estudios se realizaron en humanos alcohólicos y no alcohólicos (122,123). Con esto se demuestra que la mayor parte del etanol ingerido en pequeñas dosis era metabolizado antes de alcanzar la circulación sistémica, al menos en individuos no alcohólicos. En alcohólicos, el efecto de primer paso está reducido por la disminución de la ADH gástrica puesto que la alteración en el vaciamiento gástrico no parece contribuir (124). El abuso prolongado del alcohol daña la barrera protectora gastrointestinal, lo que contribuye a disminuir el efecto de primer paso, aumentando la biodisponibilidad de etanol, lo que aumenta los efectos tóxicos en el alcohólico. También la flora bacteriana puede aumentar la conversión del etanol a su metabolito tóxico, acetaldehído, con lo que también contribuye a la hepatotoxicidad (125).

## **ALTERACIONES DEL METABOLISMO DEL ETANOL EN EL ALCOHOLICO**

### **CRONICO**

Como es sabido el consumo de etanol conduce a una mayor tolerancia o posibilidad de tomar grandes cantidades de alcohol sin que se manifiesten los efectos tóxicos que éste produce. Esta tolerancia se debe, además de una adaptación del sistema nervioso central (tolerancia celular), a un incremento en la velocidad de eliminación del etanol (tolerancia metabólica). Esta última se debe principalmente a una inducción del MEOS, así como a una aceleración de los sistemas que dependen de la ADH, por un aumento en la reoxidación del NADH, creando un estado hipermetabólico (8).

Además de la inducción del MEOS, dos son los efectos metabólicos potencialmente tóxicos tras la ingesta prolongada de alcohol: Alteración en el cociente NADH/NAD<sup>+</sup>, y elevación de los niveles de acetaldehído, y son los que provocan las alteraciones del hepatocito.

### **MECANISMO DE INDUCCION DE LAS LESIONES HEPATICAS POR ALCOHOL**

El alcohol y los metabolitos producidos durante su oxidación pueden inducir fenómenos tóxicos y cambios adaptativos en el organismo, dando lugar a la hepatopatía alcohólica. Esta está caracterizada clínicamente por un deterioro de la función hepática debido a la acumulación de grasa, aumento del tamaño de los hepatocitos, necrosis, formación de cuerpos de Mallory, así

como infiltrado por células mononucleares y polimorfonucleares, los cuales serían causantes de la perpetuación de la lesión hepática, ya que en hepatocitos aislados tratados con etanol aparecen en la superficie celular antígenos que pueden ser reconocidos por anticuerpos del suero de pacientes con diferentes hepatopatías (8).

Tres son los principales efectos metabólicos potencialmente tóxicos originados tras el consumo de alcohol (8,9,32):

- a) Inducción del MEOS
- b) Acumulación de NADH y disminución de NAD<sup>+</sup>
- c) Producción de acetaldehído

#### **INDUCCION DEL MEOS**

Este sistema enzimático además de participar en la oxidación de etanol, metaboliza un gran número de compuestos como tranquilizantes, anticoagulantes, aditivos, etc., por tanto, su inducción se reflejaría en un incremento de la metabolización de estos compuestos, así por ejemplo, sustancias precarcinogénicas que se transforman en carcinogénicas en el sistema microsomal, serían rápidamente activadas en los alcohólicos. Por otro lado, la inducción del MEOS conduce a una alteración del metabolismo de los esteroides y de ciertas vitaminas (A,D), produciendo unos niveles muy bajos de vitamina A en los alcohólicos.

Al mismo tiempo, el incremento de la actividad del MEOS, aumenta los requerimientos de oxígeno, lo que provoca una hipoxemia, que es más acentuada en los hepatocitos de la zona pericentral (8).

#### ALTERACION DEL COCIENTE NADH/NAD<sup>+</sup>

\* En el hígado se reduce un Mol de NAD<sup>+</sup> por cada Mol de alcohol oxidado por la ADH, lo cual altera la proporción NADH/NAD<sup>+</sup>. Las consecuencias metabólicas de dicho aumento son un incremento en la relación lactato/piruvato, lo que implica una hiperlactacidemia (126,127), tanto por una utilización disminuida como por una producción aumentada de lactato en el hígado. La hiperlactacidemia contribuye a la acidosis y también reduce la capacidad del riñón para excretar ácido úrico, conduciendo secundariamente a una hiperuricemia (127). Este aumento de ácido úrico explicaría la observación de que el alcohol desencadena ataques de gota (128). La hiperuricemia puede deberse también a una cetosis inducida por etanol (129).

\* El estado redox alterado, también empeora la neoglucogenosis desde los aminoácidos, favoreciendo la hipoglucemia, sobretodo si el alcohol es consumido en ayunas. Además, los depósitos hepáticos de glucógeno están vacíos en el alcohólico (130).

\* La proporción aumentada de NADH/NAD<sup>+</sup> aumenta la concentración de Alfa-glicerofosfato (131) lo cual favorece la acumulación de triglicéridos a partir de ácidos grasos. Parece existir una mayor interacción del etanol con el ciclo del ácido cítrico en la mitocondria, sin embargo el potencial redox alterado asociado a la oxidación de etanol disminuye la concentración hepática de oxaloacetato, el cual controla la actividad de la citrato sintetasa (132). La mitocondria usará los equivalentes hidrógenos originados desde el etanol, por medio del ciclo del ácido cítrico. Por esto los ácidos grasos que normalmente sirven como la principal fuente de energía para el hígado, son suplantados por el etanol. Esta disminución en la oxidación de los ácidos grasos se ha demostrado en biopsias de hígados humanos, hígados perfundidos, en hepatocitos aislados e in vivo (132,133,134).

Esto puede ser considerado como la causa del desarrollo del hígado graso alcohólico, que es el primer estadio del daño hepático alcohólico. Cuando un hígado graso se desarrolla, la acumulación de grasa no aumenta indefinidamente aunque continúe el consumo de alcohol. Si el cambio redox inducido por el alcohol juega un importante papel en la acumulación de grasa hepática, se espera que la alteración redox se atenúe al tiempo que se estabiliza la acumulación de grasa. Este hecho ocurre en ratas alimentadas crónicamente con etanol: El cambio redox inducido por una dosis aguda de etanol en el hígado está atenuado después por la administración crónica de etanol (53,135).



\* El estado redox anormal puede también afectar al metabolismo de las proteínas. La inhibición de la síntesis proteica se ha observado tras la administración de etanol en varias preparaciones in vitro, aunque es menos manifiesta in vivo. El área perivenular del lóbulo hepático, el cual está algo hipóxica en estado normal, puede representar un área de toxicidad exagerada (136). Esta zona presenta una sorprendente exageración del cambio redox inducido por etanol, medido por cambios en la proporción lactato/piruvato, lo cual es suficiente para empeorar la síntesis proteica. Además existe una acumulación de proteínas dentro de la célula, principalmente en el Aparato de Golgi, sobretodo de albúmina, transferrina y proteína ligadora de ácidos grasos, debido a la disminución de la secreción proteica, por la alteración de la ATPasa Na<sup>+</sup> dependiente, que está inhibida. También se altera el sistema de microtúbulos contribuyendo todo ello a explicar la balonización del hepatocito.

\* Otros efectos del alcohol atribuidos a la generación de NADH incluyen la interferencia con el metabolismo de la galactosa, serotonina y otras aminos, el cual está disminuído (53,137).

\* El aporte incrementado de NADH altera también el metabolismo esteroideo, tanto hepático en favor de los compuestos reducidos, como en el testículo, en el cual el aumento de la concentración de NADH, altera posiblemente la esteroidogénesis de hormonas sexuales in situ.

\* Se ha creído que un aumento en el lactato, aumentaría la producción de colágeno en el hígado, ya que aumenta la actividad hepática de la colágeno-prolina-hidroxilasa, enzima importante en la acumulación de colágeno. A su vez el etanol inhibe a la enzima prolina oxidasa (32).

#### **EFFECTOS DIRECTOS DEL ACETALDEHIDO**

La oxidación del alcohol produce acetaldehido, compuesto que se encuentra en altas concentraciones en los alcohólicos. Es altamente tóxico por lo que se le ha considerado causante de algunos trastornos presentes en las intoxicaciones agudas y crónicas.

\* En la actualidad se piensa que en el desarrollo del hígado graso podría estar implicada la capacidad disminuida de oxidar ácidos grasos por la mitocondria que se observa tras la administración de acetaldehido. Este compuesto también daña las membranas celulares por la producción de peróxidos a partir de los lípidos de las mismas (138).

\* El acetaldehido interfiere con la absorción de las vitaminas B-6 y B-12, por lo que existe su déficit en los alcohólicos.

\* El acetaldehido podría interferir un gran número de caminos metabólicos por interacción de las enzimas que intervienen. Por ello se observa una disminución de glutatión,

que es mayor en el hígado que en la sangre (32). El glutatión reacciona con los peróxidos tóxicos protegiendo las membranas y otras estructuras celulares, es requerido para la síntesis de proteínas, protege a los enzimas con grupo -SH e interviene en varias funciones de membrana como transporte de azúcares, etc. Su déficit a consecuencia de la administración de alcohol produce alteraciones en el organismo y tejidos tales como cambios de membrana, alteraciones de la permeabilidad, lo que implica alteraciones mitocondriales y de la ATPasa de membrana, por lo que en algunas células entra un exceso de sodio, que se acompaña de un aumento del H<sub>2</sub>O celular, lo cual se manifiesta en la macrocitosis, típica del alcohólico.

\* Uno de los efectos más importante del consumo crónico de alcohol es el aumento de peso hepático, entre un 50 y 60%. Esto se produce por una hipertrofia del hepatocito y no por un aumento del número de los mismos y es debido al acúmulo en su interior de lípidos y proteínas en un 59 y 37% respectivamente. También aumenta el agua intracelular (139). Por esto se aumentan las presiones intrahepáticas y portal, ya que existe una compresión del sinusoides, produciéndose el síndrome de hipertensión portal. Además esto conlleva una alteración en la entrada de sangre en el hepatocito, lo que dificulta su nutrición, oxigenación y función detoxificante, y conduce a la necrosis de la célula, con un acúmulo de proteínas (140).

## LIPOPROTEINAS PLASMATICAS

Un lípido puede ser fundamentalmente definido como una sustancia que es soluble en un solvente no polar. Por tanto, los lípidos no pueden ser transportados de modo libre en un medio acuoso como es el plasma (141). Por ello, desde un punto de vista teleológico, las lipoproteínas (Lp) son el mecanismo por el cual los lípidos esenciales son transportados a los tejidos a través del medio acuoso del plasma. La parte proteica de las Lp es la que estabiliza a los lípidos en el plasma (141).

Según la prevalencia cuantitativa, la mayor cantidad de lípidos contenidos en las Lp plasmáticas son los triglicéridos, colesterol y fosfolípidos. Otros componentes menores como vitaminas liposolubles, se encuentran en pequeña cantidad en ciertas clases de Lp. Los lípidos plasmáticos y sus respectivas concentraciones están expresados en la Tabla 1 (142). Su determinación plasmática debe realizarse tras doce horas de ayuno nocturno. Hay que tener en cuenta la edad del sujeto, pues en general las concentraciones de las distintas fracciones, especialmente fosfolípidos y colesterol, aumentan con la edad hasta los 60 años, disminuyendo después gradualmente, así como el sexo, pues antes de los 30 años y después de los 47 años la mujer tiene cifras de colesterol algo más alta que el varón, mientras que entre los 30 y 47 años, son ligeramente inferiores (Tabla 2) (143).

Los triglicéridos (Tg) son una mezcla de diferentes especies moleculares con una estructura similar: Son tres moléculas de ácidos grasos esterificados con una molécula de glicerol. Las propiedades físicas de los triglicéridos dependen de los ácidos grasos que contienen. Todos los Tg son no polares y menos densos que otros lípidos. El destino de los Tg es la liberación de sus ácidos grasos, que una vez libres serán captados por los tejidos periféricos y utilizados como la principal fuente de energía.

Los fosfolípidos (Pl) son derivados del glicerol-fosfato y son estructuralmente similares a Tg, con dos ácidos grasos en unión éster con glicerol. Hay especificidad en la orientación de los ácidos grasos en la molécula de Pl, ya que los ácidos grasos insaturados se localizan selectivamente en la segunda porción. El grupo carbono terminal del glicerol se liga al grupo polar, generalmente a una base nitrogenada como serina, etanolamina, o colina, dando lugar a fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina y fosfatidilcolina o lecitina. La naturaleza anfipática de los Pl resulta por la yuxtaposición del ácido graso hidrofóbico al grupo polar hidrofílico.

El colesterol (C) plasmático circulante es el 3-hidroxi-delta 5-colesteno, del cual, el 70-75 % se encuentra esterificado con ácidos grasos de cadena larga, especialmente los insaturados linoleico y oleico. Una proporción disminuida de C esterificado sólo indica una mala función hepática, ya que el enzima que lo esterifica se sintetiza en el hígado y es la LCAT (144). De modo parecido a los fosfolípidos, el C contribuye a la estabilidad de

los lípidos vehiculizados en el plasma, y ambas fracciones lipídicas participan en la composición de las membranas celulares y ciertas estructuras tisulares (141,142).

Las Lp son un conjunto heterogéneo de partículas cuya estructura básica consiste en un núcleo central de lípidos no polares compuestos por ésteres de colesterol y triglicéridos hidrófobos, rodeados de un monoestrato hidrófilo o polar de fosfolípidos, colesterol libre y proteínas. La membrana hidrófila permite que los ésteres de colesterol y los triglicéridos, insolubles per se, sean transportados en la fase acuosa del plasma. En definitiva, las Lp son complejos hidrosolubles, de alto peso molecular, compuestas de lípidos (Tg, Pl, C) y una o más proteínas específicas, llamadas apoproteínas, con las cuales los lípidos son capaces de combinarse. La Lp representan la unidad funcional del transporte para los lípidos insolubles en agua, en la sangre (145).

La Lp se dividen en varias categorías según su densidad, determinada por ultracentrifugación (146), con un rango específico inferior a 0,9 mg/ml KBr (el bromuro de potasio es comúnmente empleado para ajustar la densidad del suero en la ultracentrifugación de Lp) de los lípidos, que tienen menor densidad que las proteínas, las cuales tienen un peso específico mayor de 1,28 g/ml KBr. Por consiguiente, los complejos de lípidos y proteínas asumen densidades situadas en la escala entre los valores extremos dados anteriormente.

Otra forma de clasificar las Lp es por su movilidad electroforética, la cual varía según la carga eléctrica de la proteína componente (FIG. 6 y Tabla 3). Se clasifican en:

\* Quilomicrones: Con las partículas grasas formadas en el intestino, que transportan Tg exógenos, procedentes de la dieta, compuestos en el 98-99,5% de lípidos y en el 0,5-2% de proteínas. Su densidad es inferior a 0,95 g/ml. Tras reposar el suero toda la noche los Q forman una capa superficial cremosa. En la electroforesis en gel agarosa, los Q son inmóviles.

\* VLDL: Son las Lp de muy baja densidad: de 0,95-1,006 g/ml. Están formadas en el hígado y transportan el pool de triglicéridos endógenos y contienen del 85-90% de lípidos y del 10-15% de proteínas. Por la electroforesis tienen una movilidad como las alfa-2-globulinas, que es la banda de las prebeta-lipoproteínas.

\* IDL: Lipoproteínas de densidad intermedia de 1,006-1,019 g/ml. En ausencia de enfermedad metabólica se encuentran en muy baja proporción ya que son productos metabólicos del catabolismo de VLDL, o precursores de las LDL. Su movilidad electroforética está entre la banda de las prebetas- y de las betalipoproteínas.

\* LDL: Es la lipoproteína de baja densidad: 1,019-1,063 g/ml. Transporta el pool de colesterol en sangre. La LDL aparece como un producto metabólico de la VLDL y contiene aproximadamente un 75% de lípidos y un 25% de proteínas. Su

movilidad en la electroforesis es hasta la banda de las beta-lipoproteínas, como las beta-globulinas.

\* HDL: Lipoproteínas de alta densidad: 1.063-1,15 g/ml. Contienen un 50% de lípidos y un 50% de proteínas. Son sintetizadas en el intestino e hígado en forma de precursores que se desarrollan plenamente en el plasma. Las HDL se dividen en HDL 1 (d: 1,065-1,085 g/ml), HDL 2 (d: 1,085-1,15 g/ml) y HDL 3 (d: 1,15-1,21 g/ml), que son distintas tanto por su composición variada como por sus propiedades funcionales y estructurales diferentes (141,145). Las HDL emigran como las alfa-1-globulinas, formando la banda de las alfa-lipoproteínas.

Esta clasificación de las lipoproteínas representa una segregación basada en los métodos de separación usados, más que en un criterio funcional o fisiológico. Usando una variedad de nuevas técnicas de separación y caracterización se hace patente que los distintos grupos de lipoproteínas son mucho más heterogéneos que los realizados previamente (147). Se pueden clasificar en base a su función. Las lipoproteínas poseen tres funciones mayores: 1) Transportar una fuente de energía primaria, los triglicéridos, desde el lugar de biosíntesis (hígado o intestino) a las células periféricas. 2) Transportar el colesterol requerido para las membranas celulares y síntesis de hormonas esteroideas desde el hígado hasta las células periféricas. 3) Transportar el exceso de colesterol desde los tejidos periféricos hasta el hígado para síntesis de la bilis o para el reciclaje de las lipoproteínas plasmáticas.



1) El transporte de los triglicéricos es claramente una función de los quilomicrones (de los triglicéridos exógenos) y de las VLDL (triglicéridos endógenos). 2) El colesterol es suministrado a las células periféricas por las LDL y 3) La retirada del exceso de colesterol celular se debe probablemente a las HDL. Esta clasificación funcional puede parecer repetitiva e innecesaria pero sirve para enfatizar la heterogenicidad de composición hallada dentro de cada clase de lipoproteína (141) así como la dinámica del metabolismo lipoproteico, ya que todas tienen en común la finalidad de transportar Tg, C y Pl, posibilidad de liberar ácidos grasos libres (AGL), intercambiar fracciones lipídicas y apoproteínas entre sí, así como la interconversión de unas en otras.

#### **SINTESIS Y SECRECION DE LIPOPROTEINAS**

El hígado contribuye de forma importante en el metabolismo lipoproteico y su papel incluye (a) síntesis de apoproteínas, las cuales son constituyentes de las Lp, así como cofactores esenciales para la activación de distintas enzimas claves en el metabolismo de dichas Lp, (b) síntesis y secreción de LCAT, la cual es responsable de la esterificación del colesterol, (c) captación y degradación de los Q remanentes, LDL y HDL y (d) regulación de la homeostasis del colesterol mediante la síntesis de ácidos biliares desde el colesterol y la excreción de éste con la bilis.

Excepto en el período postprandial, cuando los quilomicrones son sintetizados por el intestino, el hígado es la principal fuente de lipoproteínas ricas en triglicéridos o de VLDL (VLDLs). El hígado comparte con el intestino la síntesis de HDL, la cual es secretada como una partícula naciente discoidal. En humanos, la otra Lp principal, la LDL, se forma en el plasma como producto del catabolismo de VLDL.

Por otro lado el hígado contribuye formando las apoproteínas, que son componentes estructurales esenciales de las lipoproteínas y que sirven para estabilizar y solubilizar los lípidos en el plasma. Algunas de estas apoproteínas (Apo A-I y Apo C-II) tienen además una función de cofactor, activando enzimas esenciales para la esterificación de colesterol y lipólisis de los triglicéridos respectivamente, en tanto que otras (Apo B y Apo E) son esenciales para la captación por los receptores de los tejidos periféricos y del hígado de los productos finales del catabolismo plasmático de las lipoproteínas (148). También en el hígado se sintetiza el enzima Lecitin-Colesterol- Acyl- Transferasa (LCAT), que esterifica el colesterol libre.

Cuando las Lp son secretadas por el hígado o intestino tienen una composición lipídica y proteica diferente de la que tienen las Lp plasmáticas circulantes, lo cual indican que sufren una transformación metabólica que ocurre muy rápidamente después de la secreción, e involucra fenómenos de adquisición y pérdida de lípidos y proteínas, a través de reacciones enzimáticas y/o

por transferencia entre las distintas clases de Lp plasmáticas. Aunque estas reacciones ocurren en el plasma, es el hígado, como ya hemos dicho, el que lo hace posible, pues entre otras, sintetiza y secreta la enzima LCAT y su activador, la Apo A-I para la esterificación de colesterol. Este enzima utiliza la HDL naciente como substrato para formar colesterol esterificado convirtiendo la HDL naciente, de partícula discoidal, en una partícula esférica. La apo A-I es la apoproteína más importante de la HDL, y es secretada por el hígado e intestino con los quilomicrones (149). También el hígado sintetiza el activador de otro enzima muy importante, la Lipoprotein Lipasa (LpL), que es la Apo C-II. Este enzima se halla en el endotelio capilar de muchos tejidos (adiposo, músculo esquelético, pulmón) e hidroliza a los triglicéridos de los quilomicrones y de VLDL, para proporcionar energía a las células periféricas por medio de ácidos grasos libres. Por este medio la VLDL se transforma en una partícula de menor tamaño y mayor densidad, es decir, es metabolizada a LDL a través de la liberación de triglicéridos por acción de la LpL y pasando por IDL (148,150). Pero los Q y VLDL circulantes que contienen triglicéridos como el lípido principal contienen Apo-B como la apoproteína más importante o única. Por ello requieren una transferencia de apoproteínas del grupo C para su catabolismo normal. La Apo C-II se sintetiza en el hígado y es secretada a través de HDL. Tras la transferencia de Apo C-II desde HDL a Q y VLDL los triglicéridos ya pueden ser extraídos por la LpL activada. La VLDL da lugar a la LDL, pobres en triglicéridos y ricas en colesterol no esterificado. Los Q dan lugar a unos remanentes superficiales compuestos por fosfolípidos

y colesterol libre, que son transferidos a las HDL junto con las apoproteinas (150). Y por otro lado a remanentes centrales, ricos en colesterol esterificado, los cuales son separados exclusivamente por el hígado por un proceso mediado por receptor que depende del reconocimiento de la Apo E de Q remanentes (151). El colesterol esterificado contenido en estos Q remanentes es capaz de disminuir la actividad del enzima 3-hidroxi 3-metilglutaril CoA reductasa, enzima del paso limitante en la síntesis de colesterol (141). La secreción de VLDL por el hígado depende en gran medida de la dieta, como se comprobó en un estudio de Foster (152), tras cultivar células de animales, unas en ayunas y otras con dieta rica en grasas, viéndose que mientras en el primer grupo existía una baja secreción de Lp en el segundo se secretaba activamente VLDL. En este mismo estudio se confirma que la síntesis de colesterol presenta un control feed-back a través de la modulación del enzima 3-hidroxi 3-metilglutaril CoA reductasa (HMG-CoA-R). En el hígado existe la enzima triglicérido lipasa hepática (H-TGL) parecida a la LpL en cuanto a su función pero que no requiere activadores apoproteicos y es resistente a altas concentraciones salinas y a Protamina. Este enzima hidroliza los Tg que llegan al hígado. Se ha descrito su deficiencia en enfermedad hepática, asociándose con la aparición en plasma de una Lp rica en Tg semejante a la LDL (141).

En resumen, el metabolismo de las Lp se realiza fundamentalmente por dos vías: (1) la exógena, a partir de los lípidos aportados por la dieta a través del tracto gastrointestinal, y (2) la endógena, a partir de la síntesis hepática de VLDL.

La primera presupone la absorción intestinal de colesterol y ácidos grasos libres provenientes de los triglicéridos de la dieta y su transporte al hígado y a los tejidos periféricos. En la célula intestinal se forman los Q. En la vía endógena el hígado sintetiza partículas lipoproteicas, que luego transportan triglicéridos y colesterol a los tejidos extrahepáticos. Por ambas vías se suministra energía a los tejidos periféricos gracias a la hidrólisis de los triglicéridos y la liberación de los ácidos grasos libres (AGL) y colesterol para satisfacer los requerimientos estructurales y metabólicos de las células.

#### RECEPTORES LIPOPROTEICOS

Los receptores para Lp están situados en la superficie celular e intervienen en el metabolismo de ciertas Lp. La membrana plasmática del hepatocito posee al menos dos tipos de receptores lipoproteicos: Un receptor Apo E, relacionado con la captación de Q remanentes ricos en colesterol esterificado, que contienen Apo B-48 de origen intestinal, así como Apo E adquirida durante su metabolismo plasmático. El otro es el receptor Apo B-E, o receptor LDL, que reconoce a la Apo B-100 de la LDL y a la Apo E de otras Lp plasmáticas.

En un estudio (153) se concluye que la HDL puede actuar como un reservorio circulante de Apo E disponible para asociarse con Lp ricas en triglicéridos, y esta Apo E es imprescindible para la captación de los remanentes de los Q y VLDL, la cual se reduce casi un tercio tras la disminución de Apo E.

En otro estudio (154) utilizando Q y VLDL remanentes marcados con I-125 y perfundidas en ratas con dieta normal, dieta rica en colesterol y tratadas con 17-alfa-etinilestradiol, se vio que ambas partículas son captadas por un proceso mediado por receptor específico y saturable, sin embargo, en ratas alimentadas con colesterol se suprimía la captación hepática de VLDL y en las tratadas con 17-alfa-etinilestradiol se doblaba la captación, mientras que la captación de Q no se afectaba en ningún caso, lo que parece indicar que existen receptores semejantes pero distintos.

La HDL parece que es captada por el mismo receptor Apo E-dependiente de los Q remanentes y distinto del receptor Apo B,E de la LDL, aunque en estudios posteriores se ha sugerido la existencia de un receptor Apo A-I para la HDL (155).

El otro receptor conocido, receptor Apo B,E ó LDL se halla en la membrana plasmática de los hepatocitos y de células periféricas, y es de vital importancia para la homeostasis del colesterol (FIG. 7). La partícula LDL se une al receptor, y este complejo tras ser internalizado se fusiona con un lisosoma dando lugar al fagolisosoma donde la LDL sufre la digestión. Este receptor es la clave para la regulación del metabolismo del colesterol en las células periféricas y hepáticas (156).

## **APOPROTEINAS**

Las apoproteinas son globulinas que transportan lípidos (también la albúmina transporta ácidos grasos libres a razón de dos AGL por mol de albúmina, pero los complejos AGL-albúmina no son Lp). Cada Lp contiene un número de apoproteinas, las cuales son estructuralmente diferente (Tabla 4) (157) y cuya secuencia de aminoácidos y propiedades funcionales son conocidas. En la Tabla 5 se observa la distribución de las apoproteinas dentro de las Lp plasmáticas. Un análisis de las apoproteinas focalizando el significado de la estructura primaria (p.e. afinidad lipídica de regiones no polares, formación hereditaria de isoproteinas, actividad biológica de péptidos sintetizados) suministra un mayor conocimiento de la patofisiología de la estructura y metabolismo de varias Lp. En consecuencia algunos desórdenes del metabolismo lipídico pueden llamarse desórdenes apolipoproteicos (158,159).

### **APOLIPOPROTEINA A-I Y A-II**

La secuencia de aminoácidos de Apo A-I y Apo A-II es conocida (160,161). La Apo A-I es la principal apoproteína de la HDL, tiene un peso molecular de 28.000 con 245 aminoácidos y se caracteriza por una gran número de regiones helicoidales en su estructura secundaria. Una porción importante de la Apo A-I se sintetiza en células mucosas de duodeno y yeyuno desde donde pasa al plasma, inicialmente como componente de los Q (162). Una vez en la circulación general, los Q son objeto de una rápida degradación dando lugar a productos bajos en triglicéridos y

ricos en fosfolípidos, que contienen partículas lamelares de Apo A-I, llamadas remanentes superficiales o Q remanentes a los cuales se les considera precursores de la HDL plasmática.

La Apo A-I es un activador del enzima LCAT, enzima que transfiere el ácido graso insaturado (generalmente el ácido linoleico) desde la segunda porción o posición beta de la fosfatidilcolina (un fosfolípido) al grupo 3-beta-hidroxi del C (163,164). La actividad catalítica de este enzima es la responsable de transformar las partículas discoidales de HDL en la HDL esférica o pseudomiscelar por la síntesis de ésteres de colesterol (que se sitúan en el núcleo de la macromolécula) y lisolecitina (que se fija a la albúmina) (FIG. 8). Por tanto, la LCAT está involucrada en la biosíntesis de las subfracciones de HDL: HDL 1 y HDL 2 desde HDL 3 (165,166). Se han aportado variantes estructurales de la Apo A-I: Apo A-I Milano (167), Apo A-I Marburg (168) y Apo A-I Münster (169). En la enfermedad de Tangier, la Apo A-I está presente en concentraciones muy bajas en plasma (menos del 1% de la concentración normal) (Tabla 6) (170).

La Apo A-II también es una proteína estructural de las HDL y está formada por dos cadenas proteicas idénticas con 77 aminoácidos cada una, unidas por un puente disulfuro. El dímero tiene un peso molecular de 17.000 (161).

Ambas Apoproteínas A son capaces de ligar fosfolípidos (fosfatidilcolina, esfingomielina) para formar complejos



proteínas-fosfolípidos, lo que se acompaña de un aumento del carácter helicoidal, para la Apo A-I pasa del 55% al 69% y para la Apo A-II del 25% al 48% (171). Los complejos Apoprotienas-fosfolípidos son aislados por ultracentrifugación en un rango de densidad entre 1,063 a 1,21 g/ml y son capaces de ligar el colesterol celular por lo que se les llama HDL naciente discoidal. La Apo A-II interacciona más rápidamente con los fosfolípidos que la Apo A-I y ambas presentan una fuerte tendencia a asociarse entre sí.

#### **APOPROTEINA A-III (APO D)**

La Apo A-III, también llamada Apo D (172), tiene un peso molecular de 20.000 y se encuentra principalmente en la HDL (representa menos del 5% de las apoproteínas de HDL). Esta Apo D parece que activa la enzima LCAT aunque no está confirmado. La Apo D junto con la Apo A-I y la LCAT es un constituyente del complejo transformador de ésteres de colesterol, responsable de la transferencia de los ésteres de colesterol nuevamente sintetizados a otras Lp, ya que la proteína transportadora y la Apo D parecen ser idénticas (173). El colesterol esterificado recién sintetizado es transformado a HDL, LDL y a remanentes de partículas ricas en triglicéridos. Hay que determinar si el colesterol esterificado es transferido a otras Lp directamente desde el complejo transportador de colesterol esterificado o sólo tras la incorporación de éste a HDL (174).

### **APOPROTEINA A-IV**

La Apo A-IV se sintetiza en las células mucosas de intestino (probablemente yeyuno), con un peso molecular de 46.000. Es un componente de los Q y de la fracción plasmática de las Lp libres (175). El 10% de la población general presenta una isoforma hereditaria de Apo A-IV: isoapoproteína A-IV identificada por métodos isoeléctricos (169). No se le ha atribuido una función.

### **APOPROTEINA B**

La Apo B es una proteína estructural de los Q, VLDL, LDL y Lp(a). Se sintetiza en el intestino e hígado, siendo importante para la secreción y transporte de estas Lp. Esta apoproteína es difícil de analizar químicamente ya que es insoluble en agua. No hay información precisa de su peso molecular o estructura. Según Kane (176) y cols., al menos se pueden distinguir dos subtipos, la Apo B-100 (Pm 549.000) y Apo B-48 (Pm 265.000). La Apo B-48 es una apoproteína estructural de los Q y no está presente en las LDL. La Apo B-100 es una apoproteína estructural de las VLDL, IDL y LDL (177).

La Apo B-100 como componente estructural de las LDL interacciona con los receptores Apo B-E de las células periféricas, tal como fibroblastos cutáneos, células endoteliales de la íntima y del músculo liso de la pared arterial, así como con los receptores correspondientes de los hepatocitos, con lo cual la LDL es transportada al interior celular para ser

catabolizada allí. La modificación química de la arginina de la Apo B-100 por medio de la ciclo hexanediona incrementa la vida media de la LDL circulante (178).

En el caso de la Abetalipoproteinemia recesiva no existe en suero lipoproteína con Apo B (179). En la Abetalipoproteinemia normotrigliceridemia no existen en suero ni VLDL, IDL ni LDL (180). En la Abetalipoproteinemia recesiva y en la Hipobetalipoproteinemia homocigota se transportan vía Q los triglicéridos (179), lo cual indica que la biosíntesis de la Apo B se regula genéticamente (Tabla 6).

En individuos normales o con hipercolesterolemia aislada más del 90% de la Apo B se halla en la LDL. En la hipertrigliceridemia el 20-50% del total de Apo B está en VLDL o Q (181). En ocasiones la Lp(a) la cual contiene también Apo B, puede estar elevada, con lo que contribuye significativamente a la concentración plasmática de Apo B (182).

### **APOPROTEINA C**

Las apoproteínas C tienen relativamente menor peso molecular y se clasifican en: Apo C-I, C-II, C-III<sub>0</sub>, C-III-1 y C-III-2. Las Apo C-III<sub>0</sub>, C-III-1 y C-III-2 se distinguen por la variación del contenido del ácido N-acetilneuramínico. Al igual que la Apo A, las Apo C son capaces de formar complejos lipoproteicos con los fosfolípidos (183).

**APO C-I:** Aproximadamente el 10% de las proteínas totales de VLDL y alrededor del 20% de las proteínas totales de las HDL son Apo C-I. Esta apoproteína consta de 32 a 54 aminoácidos unidos a fosfolípidos. La Apo C-I activa la enzima LCAT, sin embargo el significado fisiológico de dicha activación aún no está claro.

**APO C-II:** Esta apoproteína compone casi el 10% de las proteínas totales de VLDL, así como el 1-2% de las proteínas de HDL-2 y menos del 1% de las proteínas de las HDL-3 (183). La Apo C-II es un cofactor específico de la Lipoprotein Lipasa (184) y durante la lipólisis es transferida a las lipoproteínas ricas en triglicéridos, Q y VLDL. Las propiedades de la Apo C-II de ligar fosfolípidos y activar a la enzima LpL, a diferencia de la Apo A-I se localizan en varios fragmentos de la estructura primaria (185). Una deficiencia genética de Apo C-II produce hipertrigliceridemia por hiperquilomicronemia (186).

**APO C-III:** Supone aproximadamente el 50% de las proteínas de las VLDL y casi el 2% de las HDL, pero en la hipertrigliceridemia con frecuencia se encuentra que la Apo C es más del 50% de las proteínas de la VLDL. En condiciones experimentales la Apo C-III es capaz de inhibir la enzima LpL, pero la importancia fisiológica de este hallazgo no se ha establecido (187).

## APOPROTEINA E

La Apo E es aproximadamente el 10-20% del total proteico de VLDL. Tiene 99 aminoácidos y un Pm de 34.000 y se encuentra en todas las Lp (188). Una parte de Apo E existe en forma de complejo con la Apo A-II. La Apo E se sintetiza en el hígado y su concentración plasmática está correlacionada con los triglicéridos plasmáticos como Hiperlipoproteinemia tipo III (189). La Apo E es importante en la interacción con receptores y en el metabolismo de varias Lp (Q remanentes, VLDL remanentes, HDL-1) (190). Parece que se debe a la Apo E contenida en los Q remanentes el que sean reconocidos por los receptores Apo E hepáticos, y posteriormente metabolizados en el hígado. Este receptor Apo E hepático también está involucrado en la interconversión de IDL a LDL. Además, la subfracción de HDL que contiene Apo E, la HDL-1, es reconocida tanto por los receptores Apo E del hígado como por los receptores LDL del hígado y de células periféricas. Los receptores LDL, interaccionan no sólo con la Apo B de LDL sino también con la Apo E de HDL-1 y posiblemente también con los Q remanentes por lo que se les denomina receptores Apo B,E (191). En la interacción con el receptor Apo E, las isoformas E-3 y E-4 son conocidas como componentes de varias Lp, por lo que dichas Lp son catabolizadas normalmente (192). Por otro lado, las Lp ricas en triglicéridos (Q remanentes y VLDL remanentes) tienen la isoforma E-2 en su superficie por lo que no se catabolizan normalmente y se acumulan en plasma como Beta-VLDL (190)

## CARACTERISTICAS DE LAS LIPOPROTEINAS

### QUILOMICRONES

Son unas gruesas partículas de 0,1 a 0,9 micras de diámetro, que se encuentran en la sangre y en la linfa en la fase absorptiva pero que desaparecen del plasma tras el ayuno nocturno de 12 horas. En la electroforesis en papel tienen movilidad cero, debido a su gran tamaño. Su densidad es muy pequeña (menor de 0,95 g/ml) y su constante de flotación de 400 (Sf: 400). Estas partículas se forman exclusivamente en las células mucosas de duodeno y yeyuno y proceden en su mayoría de los triglicéridos contenidos en la dieta (aunque también se producen fuera de los períodos absorptivos en muy pequeña cantidad a partir de la absorción de los ácidos grasos de la bilis). Sirven para transportar los triglicéridos y el colesterol de la dieta tras ser resintetizados en la pared intestinal (193). Los Q sintetizados en la pared intestinal son incompletos (nacientes), primero pasan a la linfa, con una composición de triglicéridos (90%), fosfolípidos (5%), colesterol y colesterol esterificado (3%) y proteínas, sólo Apo A y B-48 (2%). Las principales apoproteínas que contiene son aquellas sintetizadas en la mucosa intestinal, Apo A-I, A-II, A-IV y B-48 (193) mientras que las Apo C y E están en muy baja concentración y se incorporan a los Q sólo después de que lleguen al plasma, por interacción con otras Lp como la HDL (194, 195). La Apo B-48 parece esencial, ya que en la Abetalipoproteinemia faltan los Q.

Tras penetrar en la circulación general a través del conducto torácico, los Q tienen una vida media de pocos minutos (5-15 minutos) ya que actúa la LpL extrahepática, hidrolizando los triglicéridos, siendo degradados a dos tipos de remanentes: centrales, enriquecidos en colesterol esterificado y Apo E y B-48, sin Apo C, que se une a un receptor hepático específico y deja la circulación, y remanentes superficiales, enriquecidos en fosfolípidos, colesterol y Apo C. Este catabolismo es por acción de la LpL de la pared arterial. En ausencia de enfermedad catabólica, los Q están en el suero sólo tras una comida rica en grasas y no tras el ayuno.

Los remanentes superficiales de los Q son, al menos parcialmente, transferidos a HDL-3, dando lugar a la formación de grandes partículas (196). Los remanentes centrales de los Q se adhieren a los receptores Apo E hepáticos (197, 198). La unión de los remanentes de centrales a los receptores Apo E de los hepatocitos puede estar bloqueada en algunos lugares por la Apo C de estas partículas por lo que no se produce hasta que se ha perdido totalmente la Apo C y se ha formado el remanente central (197). La introducción de los Q a los hepatocitos produce la supresión de la biosíntesis hepática de colesterol por la inhibición de la 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa (HMG CoA R), enzima clave de la biosíntesis de colesterol, pues regula el paso limitante de la síntesis de colesterol tanto en hígado como en células periféricas y está bajo el control del colesterol exógeno transportado a las células, por LDL y Q. Existe en forma fosforilada (inactiva) y defosforilada (activa) (198,199). Se

ha observado que los Q remanentes al poseer Apo E, no sólo reaccionan con los receptores Apo E hepáticos, sino que también penetran en las células periféricas a través de los receptores Apo B,E (200,201), pero no los Q originales, ya que estos no poseen Apo E, por lo que a los Q remanentes se les considera potencialmente aterogénicos (202). Resumiendo, el catabolismo de Q tiene dos caminos: \* Lipólisis de triglicéridos contenidos en Q, catalizado por LpL, con formación de remanentes centrales y remanentes superficiales, con transferencia de estos últimos a HDL-3. \* Reconocimiento de los remanentes centrales por receptores Apo E con entrada al hígado.

Bajo condiciones patológicas los Q están presentes también en el suero después de 12 horas de ayuno, como ocurre en la hiperlipoproteinemia tipo I, III y V.

### VLDL

Las distintas clases de lipoproteínas pueden ser aisladas del plasma por ultracentrifugación y ser visualizadas por microscopía electrónica como partículas individuales de estructura y tamaño característicos (Tabla 3).

Con estudios de técnicas in vitro o perfusión hepática aislada se comprobó que el hígado es el lugar de mayor biosíntesis de VLDL (203). Los distintos pasos para la biosíntesis de Lp incluyen la síntesis de apoproteínas en los



ribosomas del retículo endoplásmico rugoso y su subsiguiente traslado a las cisternas del mismo, la síntesis de triglicéridos y colesterol, cuyo enzima implicado se localiza en el REL. La conjunción de lípidos y parte proteica probablemente ocurra en la unión del REL con el RER (204) en tanto que la conjunción final, concentración y glicosilación de las Lp tiene lugar en el Aparato de Golgi (205). Después de finalizado el ensamblaje de VLDL en el Golgi, las vesículas de la superficie conteniendo VLDL se trasladan a través del citoplasma hasta la membrana lateral del hepatocito con la cual se fusionan y la VLDL es secretada al interior del espacio de Disse por un proceso de exocitosis (FIG. 9).

Las VLDL, por su densidad (0,94-1,006 g/ml) son indistinguibles de los Q, pero se diferencian netamente por su localización en la región prebeta de la electroforesis (región de las alfa-2) en papel y por su unidad de flotación (Sf: 20-400).

Aproximadamente, el 90% de los triglicéridos presentes en el plasma tras el ayuno son sintetizados por el hígado y secretados a sangre como VLDL. La VLDL no es una partícula homogénea en composición química: entre el 60 y 70% de su masa son triglicéridos, entre el 10 y 15% son fosfolípidos y colesterol y casi el 10% son proteínas. En personas con normotrigliceridemia, la proporción entre triglicéridos y colesterol dentro de la VLDL es de 5:1 aproximadamente, la proporción de lecitina a esfingomiélinas es de 4:1, la de

colesterol esterificado a colesterol libre es de 1:1. Las proteínas de VLDL se componen en un 30-35% de Apo B, en más del 50% de Apo C (C-I, C-II, C-III-1 y C-III-2) y aproximadamente el 10% de Apo E y otras apoproteinas (141,145).

Una parte de las VLDL, la VLDL secretoria o naciente, conteniendo los triglicéridos sintetizados endógenamente, tiene una composición completamente diferente a la VLDL plasmática, y de la cual no se conoce su proporción de colesterol y fosfolípidos circulantes que representa dentro de la VLDL total (141), pero sí que contiene casi exclusivamente apo B (más del 97%). Adquiere la apo C y apo E en el compartimento plasmático desde la HDL naciente (206).

La síntesis de la VLDL de origen hepático puede ser inhibida por la puromicina o tetracloruro de carbono, con lo cual se inhibe el transporte de triglicéridos, que se quedan almacenados en el hígado provocando esteatosis. Los triglicéridos provienen de la hidrólisis de los Q durante los períodos postpandriales, y a partir de los ácidos grasos libres de la lipólisis del tejido adiposo en las fases no postpandriales.

La Apo B es imprescindible, pues en la Abetalipoproteinemia no existen las VLDL, y sin embargo sí existen en la Enfermedad de Tangier (207). Al tener poca Apo C, la VLDL naciente es poco activadora de la LpL, enzima que requiere Apo C-II para su activación. En estudios realizados en hepatitis severas etílicas

existen evidencias de que se acumula en plasma VLDL naciente, la cual es rica en Apo B (208).

La principal misión de VLDL es transportar a los tejidos periféricos triglicéridos donde libera AGL por acción de la LpL, que se activa por la Apo C-II que la VLDL adquiere secundariamente en el plasma. Por esta acción en el plasma, la VLDL se transforma en IDL, Lp de mayor densidad 81,006-1,019 G/ml) y menor tamaño, y posteriormente en LDL (1,019-1,063 g/ml). Durante el curso de esta interconversión, la Apo B-100 no se afecta, no es cambiada, así que toda la Apo B de las LDL deriva del metabolismo de las VLDL. Por otro lado, la Apo C, Apo E, el colesterol libre, el colesterol esterificado y fosfolípidos son liberados durante la lipólisis, o bien transferidos a HDL (209). La interconversión de IDL a LDL no se conoce con detalle, aunque se postula que se requiere la interacción con la Apo E o receptor Apo B,E hepático (FIG. 10). No cabe duda, sin embargo, que la lipasa hepática está involucrada en el metabolismo de la VLDL e IDL (210). La hidrólisis de VLDL está activada por la Apo C-II y probablemente inhibida por la Apo C-III (145).

Alimentando con una dieta rica en colesterol a perros, cerdos, conejos y primates se observa un aumento de las Lp con un rango de densidad menor de 1,006 g/ml en la ultracentrifugación y que emigran con las betalipoproteínas en la electroforesis. A estas Lp se las llama beta-VLDL. Cambios similares se observan en humanos alimentados con 750-1500 mg de colesterol al día. La beta-VLDL contienen un 40% de

triglicéridos, un 35% de colesterol y colesterol esterificado, y corresponden por su composición y propiedades físico-químicas a las betalipoproteínas detectadas en el suero de la Hiperlipoproteinemia familiar tipo III. Principalmente tienen Apo B y Apo E (211). La información en relación al origen de la beta-VLDL es escasa aunque parece que en conejos se forman desde la lipólisis de Q, por lo que serían Q remanentes. Pero se precisan más estudios para determinar si hay síntesis hepática de beta-VLDL estimulada por dieta alta en colesterol en humanos, lo que sería de considerable importancia para conocer la influencia de la dieta en el riesgo de aterosclerosis.

#### LDL

Aproximadamente el 65-70% del colesterol total es transportado en las LDL, que son las Lp cuya densidad oscila entre 1,019-1,063 g/ml por ultracentrifugación. Su composición es en el 75% lipídica, principalmente colesterol esterificado, colesterol libre y fosfolípidos, y en el 25% proteica. Su principal apoproteína es la Apo B y en la normolipidemia el 90-95% del total de Apo B está localizada en la LDL. Por electroforesis en gel agarosa u otro medio, la LDL emigra con las beta-globulinas, por lo que se las denomina betalipoproteínas. Son las Lp mejor estudiadas y caracterizadas. Su concentración en el plasma es de 300-400 mg/ 100 ml y su diámetro es de 200 a 300 Amstrons. Estructuralmente el colesterol esterificado y triglicéridos forman el núcleo hidrófobo, el cual está rodeado de una capa superficial de Apo B y los componentes polares de los

fosfolípidos orientados hacia el medio acuoso. Por estudios fisicoquímicos se ha comprobado que la configuración de los ésteres de colesterol en el núcleo de LDL es dependiente de la temperatura, siendo concéntrica a 10 °C y desestructurada a los 45 °C (142,145).

La LDL no es sintetizada directamente en el hígado, sino que se forma en el plasma por conversión metabólica de VLDL. De ésta deriva la Apo B (211). Los hepatocitos y las células mucosas de intestino delgado son los lugares de biosíntesis de Apo B. Una proporción considerable del colesterol necesario para la síntesis de las membranas en las células periféricas es sintetizado en el hígado y está disponible por el camino metabólico de VLDL a LDL (212). En la Abetalipoproteinemia, ni el hígado ni el intestino delgado son capaces de sintetizar Apo B por lo que los Q, VLDL y LDL no están presentes en el plasma de estos pacientes (179).

Goldstein y Brown (213), han aclarado el catabolismo de la LDL, ya que descubrieron los receptores de LDL en fibroblastos humanos, músculo liso de pared arterial y linfocitos. Estos receptores son la función clave de la regulación del metabolismo del colesterol en los tejidos y previene la sobreacumulación de colesterol en dichas células. Tras reaccionar con el receptor, la LDL es introducida al citoplasma donde sufre la hidrólisis lisosomal, con liberación de colesterol. El incremento celular de colesterol libre activa tres mecanismos reguladores para contrarrestarlo:

1.- La actividad de la 3-hidroxi 3-metilglutaril CoA reductasa, enzima clave en la síntesis de colesterol, es suprimida por inhibición de su síntesis.

2.- La actividad de Acil CoA colesterol aciltransferasa está aumentada, puesto que el colesterol puede ser almacenado en forma de ésteres de colesterol.

3.- La síntesis de receptores de LDL se inhibe.

Para la síntesis y función de los receptores de LDL se ha propuesto el siguiente modelo (ver fig. 5) (214):

a) El receptor LDL es una proteína situada en la membrana plasmática y sintetizada en los ribosomas asociados a la membrana.

b) El receptor LDL es glicosilado en el complejo de Golgi e incorporado a la membrana plasmática con una distribución fortuita.

c) El receptor LDL tiene dos regiones funcionales: La zona de unión para LDL extracelular, localizada en la parte externa de la membrana celular, y la zona de internalización apta para una afinidad particular por una determinadas proteína de la membrana por lo que los receptores subsiguientemente se arraciman en el "coated pits" (huecos revestidos de receptores).

d) Tras la internalización de LDL, los receptores pueden ser reincorporados a la membrana plasmática y reunirse en los "coated pits" (215).

Se han realizado estudios para ver la interacción que existe entre células o membranas plasmáticas aisladas de varios tejidos y la LDL modificada químicamente o marcada radiactivamente, con lo que se ha suministrado información en relación a la frecuencia numérica de receptores y el papel de la LDL- colesterol en la regulación metabólica del colesterol (216). En las membranas celulares de las glándulas adrenales y del cuerpo lúteo del ovario hay gran número de receptores LDL lo que puede significar que el metabolismo de los receptores LDL puede representar una importante fuente de colesterol para la biosíntesis de hormonas esteroideas (217).

Las propiedades de los receptores LDL son las siguientes: Es una proteína susceptible de sufrir modificaciones (acetilación, polimerización cruzada con glutaraldehído) pero no puede ser glicosilada ni hidrolizada (218). Los fibroblastos humanos contienen entre 20.000 y 50.000 receptores de este tipo en la membrana plasmática. Dicho receptor reconoce a la Apo B de la LDL y a la Apo E de la HDLc, por lo que también se llama receptor Apo B,E (190), pero mientras que a una partícula de LDL se une a un receptor, la HDLc se une a cuatro receptores (190). Si se modifica la lisina terminal o la arginina, se pierde la capacidad de unión con las Lp. Los receptores se agrupan en la

membrana plasmática en "coated pits", los cuales suponen el 2% de la superficie celular y contienen el 50-50% de los receptores (219).

### HDL

La HDL, que no es una estructura única, sino que consiste en una mezcla heterogénea de macromoléculas, de distinta composición química y propiedades fisicoquímicas, es sintetizada en el hígado, como HDL naciente. La HDL por ultracentrifugación presenta una densidad de 1,063-1,21 g/ml, y posee las siguientes propiedades: En la electroforesis emigra con la banda de las alfa, por lo que compone las alfa-lipoproteínas. Al microscopio electrónico aparece como una partícula globular de 80-120 Amstrons de diámetro, estando compuesta químicamente por Apo A-I en el 30-35%, Apo A-II en el 10-15%, Apo C en el 3-5% y lípidos en el 50%, y puede contener cantidades variables de Apo B.

La fracción HDL puede ser dividida en varias subfracciones por técnicas especiales de aislamiento, como centrifugación con gradiente de densidad con rotor zonal (220), cromatografía con cambio-ión (221), centrifugación con gradiente de CsCl<sub>2</sub> (222) y ultracentrifugación analítica (223). Las subfracciones de importancia clínica son la HDL 1 (d: 1,055-1,085 g/ml), HDL 2 (d: 1.063-1,125 g/ml) y HDL 3 (d: 1,125-1,21 g/ml). Se caracterizan por una composición lipídica y proteica diferentes, así como por sus propiedades fisicoquímicas y funcionales (Tabla 7).



La HDL 1 o naciente se aísla por técnicas de ultracentrifugación zonal, se incrementa en animales alimentados con una dieta rica en colesterol, por lo cual también se la llama HDLc (224). Un aumento en la concentración de HDL 1 (HDLc) también se observa en humanos que llevan varias semanas alimentándose con una dieta alta en colesterol y su principal apoproteína es la Apo E y relativamente poca cantidad de apo A-I.

Aproximadamente el 50% de la masa de HDL está compuesta por proteínas, el 30% por fosfolípidos, el 10-20% por colesterol y colesterol esterificado y el 5% por triglicéridos. La proporción de lecitina a esfingomielina es de 5:1 y de colesterol esterificado a colesterol libre de 3:1. La HDL 2 contiene aproximadamente un 60% de lípidos y un 40% de proteínas, mientras que la HDL 3 tiene sólo un 45% de lípidos y un 55% de proteínas. La proporción de lecitina a esfingomielina y de colesterol esterificado a colesterol libre es mayor en la HDL 2 que en la HDL 3 (221). En la HDL circulante casi el 90% de las proteínas son Apo A-I y Apo A-II, y la proporción relativa de estas dos apoproteínas varía de una fracción a otra de las HDL: En HDL 2, la Apo A-I es a la Apo A-II 9:1 y en la HDL 3 2:1 (225). Está reconocido que todas las partículas de HDL existen como partículas globulares con simetría y contienen los mismos constituyentes químicos en distintas proporciones y difieren en el tamaño y densidad. En la HDL, los grupos polares de la lecitina y esfingomielina, junto con las apoproteínas están orientados exclusivamente hacia la fase acuosa, en tanto que los lípidos apolares, como colesterol

esterificado y triglicéridos, se localizan en el núcleo de la partícula.

La HDL está formada esencialmente en el plasma (FIG. 11). Por esto, la biosíntesis de HDL está directamente asociada con las partículas de Q y su lipólisis, durante la cual, se forman las partículas discoidales de HDL, que consisten en una membrana bilamelar de lípidos asociados a Apo A-I (226). Estas partículas discoidales contienen sólo colesterol libre y ocasionalmente colesterol esterificado. La enzima Lecitin colesterol acil transferasa (LCAT) transforma estas partículas de HDL discoidal naciente en la forma globular de la HDL plasmática a través de la esterificación del colesterol que contienen (227). Estas partículas discoidales están presentes en el suero de pacientes con deficiencia congénita del enzima LCAT (228), así como en la hepatitis alcohólica severa y en la deficiencia secundaria de LCAT (229).

Hay evidencias de que son los Q la fuente de Apo A-I de la HDL, ya que los Q aislados en la linfa contienen gran cantidad de Apo A-I, mientras que los aislados en el suero tienen una pequeña cantidad de Apo A-I, además las células de la mucosa intestinal sintetizan y secretan Apo A-I. Una hora después de la inyección intravenosa de Q conteniendo Apo A-I marcada radiactivamente, más del 50% de la radioactividad se localiza en la HDL. En los individuos con alta proporción de lipólisis intravascular (mujer premenopáusicas, atletas, diabéticos insulino-dependientes) tienen probablemente un nivel alto de HDLc (230). Por tanto una lipólisis reducida conduce a una reducción de la

neosíntesis de HDL discoidal, y esto a una reducción de la salida de colesterol celular. Muchos detalles de la biosíntesis de HDL permanecen desconocidos, por ejemplo, no se sabe que proporción de HDL sintetiza el hígado y cual el intestino (229). Igualmente poco se conoce del origen de la Apo A-II.

En cuanto a la regulación de las subfracciones de HDL, se postula que la HDL 2 está formada desde la HDL 3 por incorporación a ésta de la Apo C, fosfolípidos y colesterol liberado en la lipólisis (231). Sin embargo no se duda que el enzima LCAT está involucrado en la conversión de HDL 3 a HDL 2 (FIG. 12) (165,166).

La fracción HDL 1 es rica en Apo E y en colesterol esterificado, por lo cual juega un papel decisivo en el metabolismo del colesterol. La HDL 1 es reconocida por los receptores Apo E hepáticos, y éste es el camino por el cual el colesterol originado en las células periféricas es utilizado por último para la síntesis de ácidos biliares. Por otro lado, la HDL 1 puede desplazar competitivamente a la LDL de los receptores Apo B,E de las células periféricas con lo cual la HDL 1 será apta para prevenir que la LDL entre en las células periféricas, y de este hecho proviene la teoría del papel antiaterogénico de la HDL 1 (232,233).

El hígado es el principal órgano involucrado en el catabolismo de HDL, o mejor dicho, de la fracción HDL 2 (230). Estudios con HDL total marcada radiactivamente han indicado una

vida media de casi 5 días en humanos, siendo la Apo A-I y Apo A-II extraídas del plasma en igual proporción.

### LIPOPROTEINA (a)

Es una variante genética de la LDL. Se trata de una glucoproteína (apoproteína (a)) con uniones covalentes por un puente disulfuro con la Apo B-100 de las LDL (234). Parece haber seis isoformas genéticas de Lp(a), de tamaños muy diferentes, con concentraciones sanguíneas inversamente proporcionales al tamaño de las partículas. Se sintetiza la mayor parte en el hígado, pero no se sabe en que momento se une con las LDL. Su catabolismo parece estar controlado al menos en parte por los receptores de LDL, sin embargo su degradación está mediada por monocitos y macrófagos (234). Los altos niveles de Lp(a) son claros indicadores de mayor riesgo de enfermedad coronaria, incluso se ha sugerido la posibilidad de que la Lp(a) sea un factor de riesgo independiente de enfermedad coronaria, sobretodo en individuos de raza negra y en la hipercolesterolemia familiar, y otras dislipemias. Para que la Lp(a) contribuya a elevar el riesgo coronario parece ser necesario que la Apo B-100 y las LDL alcancen determinadas concentraciones (235).

Los niveles de Lp(a) y sus distribuciones varían marcadamente entre diferentes grupos étnicos. Sus concentraciones sanguíneas dependen en gran medida de factores genéticos, aunque en cierto grado pueden intervenir otros factores como nefropatías y hormonas (embarazo, postmenopausia

o diabetes). Sus niveles pueden descender en el alcoholismo crónico. No se ha demostrado que sobre ellas graviten la dieta o la actividad física. La niacina es el único hipolipemiante que comprobadamente induce un leve descenso de los niveles de Lp(a) (236, 237).

### **EFFECTOS DEL ALCOHOL EN EL METABOLISMO DE LOS LIPIDOS**

Hasta hace 20 ó 30 años los cambios en la concentración sérica de los lípidos eran considerados como uno de los elementos claves para el diagnóstico de las enfermedades hepatobiliares. La elevación del colesterol en el suero era considerado como un signo importante de obstrucción biliar, y la disminución de la relación entre colesterol esterificado y colesterol libre era un dato importante para el diagnóstico de lesión hepatocelular (238).

La principal alteración que se produce en el metabolismo de los lípidos secundaria al consumo de alcohol es la acumulación excesiva de grasa tanto en el hígado como en el plasma, conocidas como esteatosis hepática e hiperlipemia alcohólica, respectivamente.

### **ESTEATOSIS HEPATICA EN EL ALCOHOLISMO**

Consiste en el depósito de grasa en el hepatocito y es una de las manifestaciones más precoces de la hepatopatía alcohólica y suele ser asintomática. El depósito de lípidos está formado

principalmente por triglicéridos, superando a los fosfolípidos, que son la fracción predominante en el hígado normal. Se pudo demostrar el efecto etiológico del alcohol después de su reproducción experimental mediante la administración de etanol y el mantenimiento de una dieta adecuada en voluntarios (238). Además se ha observado que la esteatosis es más intensa cuando la ingesta de alcohol se acompaña de una dieta normal o rica en grasas, pero que no se previene totalmente si la grasa de la dieta se disminuye hasta al mínimo necesario. El tipo de grasa que se ingiere sí es importante, así los triglicéridos con ácidos grasos de cadena media disminuyen la acumulación de lípidos en el hígado, quizás por la mayor tendencia de estos a experimentar una oxidación más que una esterificación. En cambio, los suplementos dietéticos con colesterol, acentúan los cambios inducidos por el alcohol por un mecanismo no conocido.

Un déficit proteico produce hígado graso en el niño (Kwashiorkor), pero su efecto en el adulto no está claro (239).

La acumulación excesiva de grasa en el hígado puede deberse a: a) un aumento en el aporte de lípidos al hígado desde el intestino o tejido adiposo, b) aumento de la síntesis hepática, c) disminución de la oxidación de los lípidos hepáticos, de su liberación como Lp o de su excreción biliar como colesterol y fosfolípidos.

**a) Aporte de lípidos al hígado:**

\* Desde el tejido adiposo. La composición de los ácidos grasos que se acumulan en el hígado después de una dosis única e importante de etanol es similar a la del tejido adiposo. Este efecto está mediado por la liberación de catecolaminas durante la intoxicación alcohólica. El ayuno potencia estos efectos del alcohol sobre el tejido graso y agrava el hígado graso agudo. Se ha sugerido que aunque la movilización de los ácidos grasos no se aumente, sí aumenta la fracción del flujo plasmático de AGL captada por el hígado por el efecto estimulante del etanol sobre el flujo hepático. Pero no parece que este mecanismo juegue un papel en el hígado graso del alcoholismo crónico (238).

\* Desde el tracto gastrointestinal. El hígado graso tanto agudo como crónico se ve agravado por la administración oral de grasas. La administración aguda de etanol tiene un efecto linfagogo, aumentando la incorporación a la linfa de lípidos procedentes o no de la dieta, debido al aumento de la circulación esplácnica. Pero este efecto desaparece después del consumo crónico de etanol a pesar de persistir el acúmulo de grasas en el hígado. Por tanto, el aporte de grasas con la dieta juega un papel favorecedor de la esteatosis hepática pero no es el mecanismo primario de esta alteración.

**b) Síntesis hepática de lípidos:**

La administración crónica de etanol junto a una dieta pobre en grasa produce la acumulación hepática de ácidos grasos de

origen endógeno. La incorporación aumentada de acetato a los ácidos grasos se debe principalmente a la estimulación del sistema mitocondrial para elongación de los ácidos grasos en respuesta el aumento de la relación NADH/NAD<sup>+</sup> generada por la oxidación del etanol y del acetaldehído, lo cual intenta ser un mecanismo para atenuar el cambio del equilibrio redox.

Por otro lado, el aumento de la relación NADH/NAD<sup>+</sup> durante la oxidación de etanol favorece la reducción de dihidroxiacetona fosfato a glicerol-3-fosfato, el cual es uno de los precursores para la síntesis de glicerolípidos (triglicéridos y fosfolípidos). Se ha comprobado que la administración de etanol provoca un rápido aumento de las actividades enzimáticas relacionadas con la síntesis de glicerolípidos (la esterificación, hidrólisis de triglicéridos, ramificación). El etanol condiciona no sólo un aumento en la disponibilidad de los ácidos grasos y de glicerol-3-fosfato, sino también un rápido aumento de la capacidad de esterificación de los mismos.

Además, debido al consumo crónico de etanol, prolifera el retículo endoplásmico, lo que provoca un aumento de la actividad de la hidroxil-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa, que es la enzima limitante para la síntesis de colesterol. El incremento en la síntesis de colesterol puede contribuir a la acumulación de ésteres de colesterol en el hígado.





**c) Catabolismo y secreción de los lípidos plasmáticos:**

Los lípidos hepáticos normalmente son eliminados por oxidación, excreción biliar o liberación al plasma en forma de lipoproteínas.

\* Oxidación de los ácidos grasos: Está inhibida por el etanol. Los ácidos grasos se oxidan en las mitocondrias a través de un proceso de Beta-oxidación que conduce a la formación de acetil CoA. Este a su vez es oxidado a CO<sub>2</sub> en el ciclo de Krebs, o bien se utiliza para la síntesis de cuerpos cetónicos u otros productos. La alteración de la oxidación de los ácidos grasos se debe a la inhibición de las reacciones NAD dependientes, por la excesiva producción de NADH a partir de la oxidación citosólica del etanol y mitocondrial del acetaldehído. Las alteraciones del equilibrio redox que se producen inhiben la beta-oxidación de los ácidos grasos favoreciendo la acumulación de acil CoA unida a grasas de cadena larga, que pueden ser utilizadas para síntesis de glicerolípidos o ésteres de colesterol. Este efecto es mayor en los hepatocitos perivenulares donde la tensión de O<sub>2</sub> es menor. El consumo crónico de etanol produce un daño estructural y funcional en la mitocondria, con disminución de la oxidación de los fragmentos bicarbonados de los ácidos grasos, pero no producen cambios en la beta-oxidación (240).

\* Lipólisis: Evidencias indirectas sugieren que la inhibición de la lipólisis no juega un papel primordial en la patogenia del hígado graso

\* **Excreción biliar:** Los principales lípidos excretados por la bilis son los fosfolípidos y el colesterol, la mayor parte convertida en sales biliares. La administración aguda de etanol tiene un efecto inhibitor sobre el flujo biliar y la producción de sales biliares y de colesterol. Este efecto también se ve en el consumo crónico de etanol, así como un menor intercambio entre ácido cólico y quenodesoxicólico. La inhibición en la producción de ácidos biliares (más que los cambios en la síntesis de colesterol) juega un papel importante en el establecimiento del depósito de colesterol esterificado.

\* **Secreción de lipoproteínas plasmáticas:** El etanol aumenta la salida de Lp transportadoras de triglicéridos a partir del hígado. Sería un efecto compensador disminuyendo el depósito de grasa hepático, pero ineficaz, ya que el etanol altera la secreción de proteínas plasmáticas por alteración de los microtúbulos, por lo que en realidad agrava el hígado graso.

#### **ALTERACIONES METABOLICAS DE LIPOPROTEINAS EN ETILICOS**

La hipercolesterolemia fue descrita por primera vez por Ducceschi en 1915 (241), y la hipertrigliceridemia tras episodios de consumo excesivo de alcohol por Feigi en 1918 (242).

En los pacientes etílicos, la VLDL está incrementada ya que se aumenta su síntesis y secreción, siendo su composición lipídica normal y sin embargo es deficiente en apo E y C y rica en apo B, por lo que realmente aumenta la VLDL naciente. La LDL

también contiene principalmente apo B, pero sus lípidos sí están alterados ya que está enriquecida en triglicéridos y pierde colesterol esterificado. También los Q tienen una vida media mayor por déficit en la hidrólisis de los triglicéridos por la menor actividad de la enzima LpL. También está disminuida la actividad plasmática de la enzima LCAT, lo cual explica la menor concentración de colesterol esterificado que presentan los pacientes alcohólicos.

La concentración plasmática de AGL varía según los niveles de etanol en plasma. Cantidades moderadas producen una rápida caída de la concentración de AGL debido al aumento plasmático del acetato que inhibe la lipólisis de los triglicéridos en el tejido adiposo. Por el contrario, los niveles plasmáticos de etanol superiores a 200 mg/dl aumentan los AGL.

Los triglicéridos, responsables de la turbidez del suero, aumentan dentro de todas las fracciones lipoproteicas, pero proporcionalmente más en las Lp ricas en triglicéridos: VLDL y quilomicrones. Si se toma más de 1 g/Kg de peso de etanol por la noche, el suero obtenido por la mañana muestra una elevación de los triglicéridos, por ello la hiperlipemia alcohólica se cataloga como tipo IV ó V. Se debe a un aumento de la síntesis de VLDL, aunque también se disminuye la actividad de la enzima LpL (236). La administración crónica de alcohol puede aumentar los triglicéridos hasta cuatro veces su valor normal.

El **colesterol** plasmático también suele estar aumentado. En el 30% de los alcohólicos que solicitan atención médica y en el 86% de los pacientes después de un episodio reciente de ingesta se encuentra aumentada la HDL, hecho que desaparece al cabo de 2 semanas de abstinencia, en cambio, el colesterol esterificado está disminuido, y casi ausente si existe un severo daño hepático por inhibición de la enzima LCAT. En cambio, la LDL suele estar disminuida en los alcohólicos. El aumento de HDL ha sido propuesto como uno de los marcadores de alcoholismo ya que se afecta poco por otros factores. Así mismo, el aumento de HDL se asocia a daño hepatocelular moderado, porque en la enfermedad hepática avanzada no se aprecia modificación de la HDL-colesterol. Si la ingesta etílica es reciente se aumenta la HDL-2, sin embargo, en el consumo moderado de etanol (50 g/día) aumenta la fracción HDL-3 y en los grandes consumidores de alcohol está disminuida la Lp(a) (238).

En definitiva, la hiperlipemia alcohólica no parece ser primariamente debida a una mayor absorción de grasas ni a síntesis de triglicéridos en el tracto gastrointestinal (243). En cambio se ha observado que tras la hidrólisis de la fracción quilomicrones-triglicéridos por la enzima LpL extrahepática, quedan los Q remanentes, ricos en colesterol. Estos, suelen ser captados por el hígado por endocitosis tras la unión a un receptor de superficie específico de la Apo E, y en los alcohólicos son deficientemente aclarados por el hígado. Puede deberse a una alteración a nivel del receptor o de la Apo E, así como a una saturación del mismo por las VLDL (238). El efecto

del alcohol en la producción hepática de Lp se manifiesta por un aumento de la síntesis de VLDL, la cual se correlaciona con la magnitud de la hipertrigliceridemia. Son partículas mayores que las de los controles, y no están en la vena porta, por tanto son secretadas por el hígado. Parece que la síntesis de HDL estaría aumentada, pero no está claro (244). Por otro lado, una ingesta aguda de etanol puede producir un ligero descenso de la actividad de la LpL extrahepática y algún retraso en el aclaramiento de los triglicéridos (245), en cambio, el consumo crónico de alcohol aumenta la actividad de la LpL extrahepática (246). Esto puede representar un mecanismo de adaptación para compensar el aumento del aporte de lípidos plasmáticos. Se ha demostrado recientemente que la elevación de los triglicéridos plasmáticos (principalmente VLDL) se asocia con un descenso inicial de la actividad de la LpL extrahepática, mientras que su normalización se asocia a un aumento de la actividad de dicha enzima, a pesar de persistir el consumo de etanol. La mayor producción de VLDL después del consumo crónico de etanol puede tener repercusión sobre el colesterol plasmático, ya que las VLDL y Q aportan colesterol libre a la HDL del plasma, para la conversión de HDL-3 a HDL-2. Este sería el principal mecanismo del aumento de la HDL-2 en los alcohólicos. La regeneración de la HDL-3 a partir de la HDL-2 se realiza por la LpL hepática, la cual no modifica su actividad, hasta que se establece una severa afección hepática que implica un descenso de actividad (238). Además al descender la actividad de la LCAT, no se metaboliza la HDL, por lo que se acumula en el plasma. En cuanto al colesterol, el consumo crónico de alcohol disminuye el aclaramiento del colesterol esterificado

desde las HDL, aumentándose la HDL-3 cuando el consumo es moderado (en torno a los 30 g/día) y la HDL-2 si es excesivo, por encima de 60-80 g/día (247). La HDL-3 va disminuyendo su concentración conforme aumenta el daño hepático, por lo que el cociente HDL-2 / HDL-3 se incrementa de forma paralela a la severidad del daño hepático.

En cuanto a las apoproteínas, en los alcohólicos sin daño hepático se aprecia un aumento de la concentración plasmática de apo A-I y A-II, ya que la HDL 2 está aumentada en estos casos. Sin embargo en los alcohólicos que presentan una cirrosis hepática o una hepatitis alcohólica hay una disminución tanto de Apo A-1 como de apo A-II, con diferencias significativas con respecto a los abstemios (248), así como un aumento de la Apo C-II. Este fenómeno se debe a la transferencia de Apo C-II desde las VLDL durante la lipólisis a las HDL, con el consiguiente desplazamiento de la Apo A-I, cuyo catabolismo está aumentado. El cociente apo A/C, que está disminuido en bebedores, podría considerarse un parámetro de ingesta etílica de gran sensibilidad, muy superior a los conocidos, VCM y GGT (249, 250). La apo B se encuentra aumentada ya que se aumenta la VLDL naciente, que contiene casi exclusivamente apo B (más del 97% de sus proteínas)

# EVOLUCION DEL CONSUMO DE ETANOL ENTRE 1960 y 1980

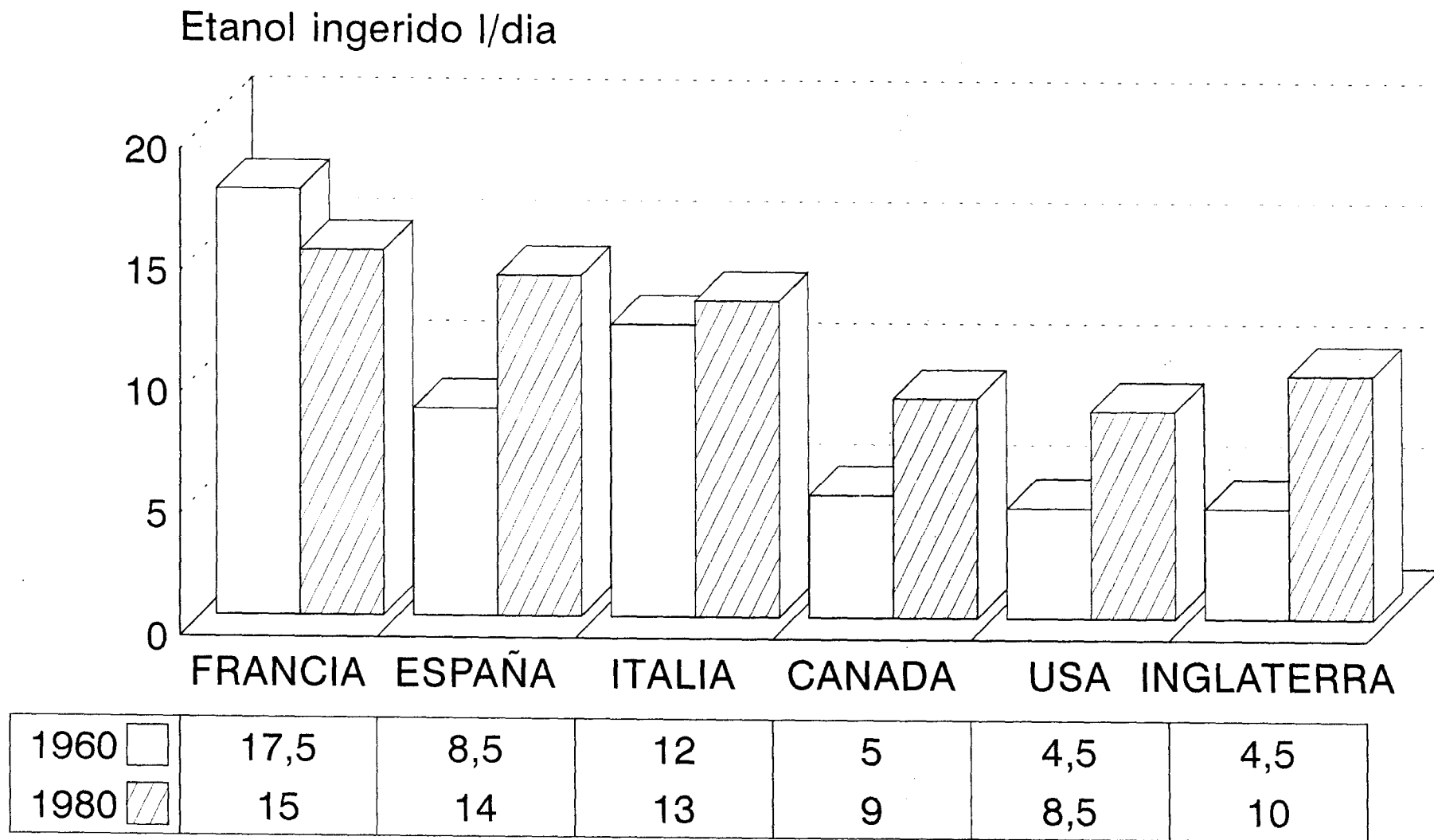
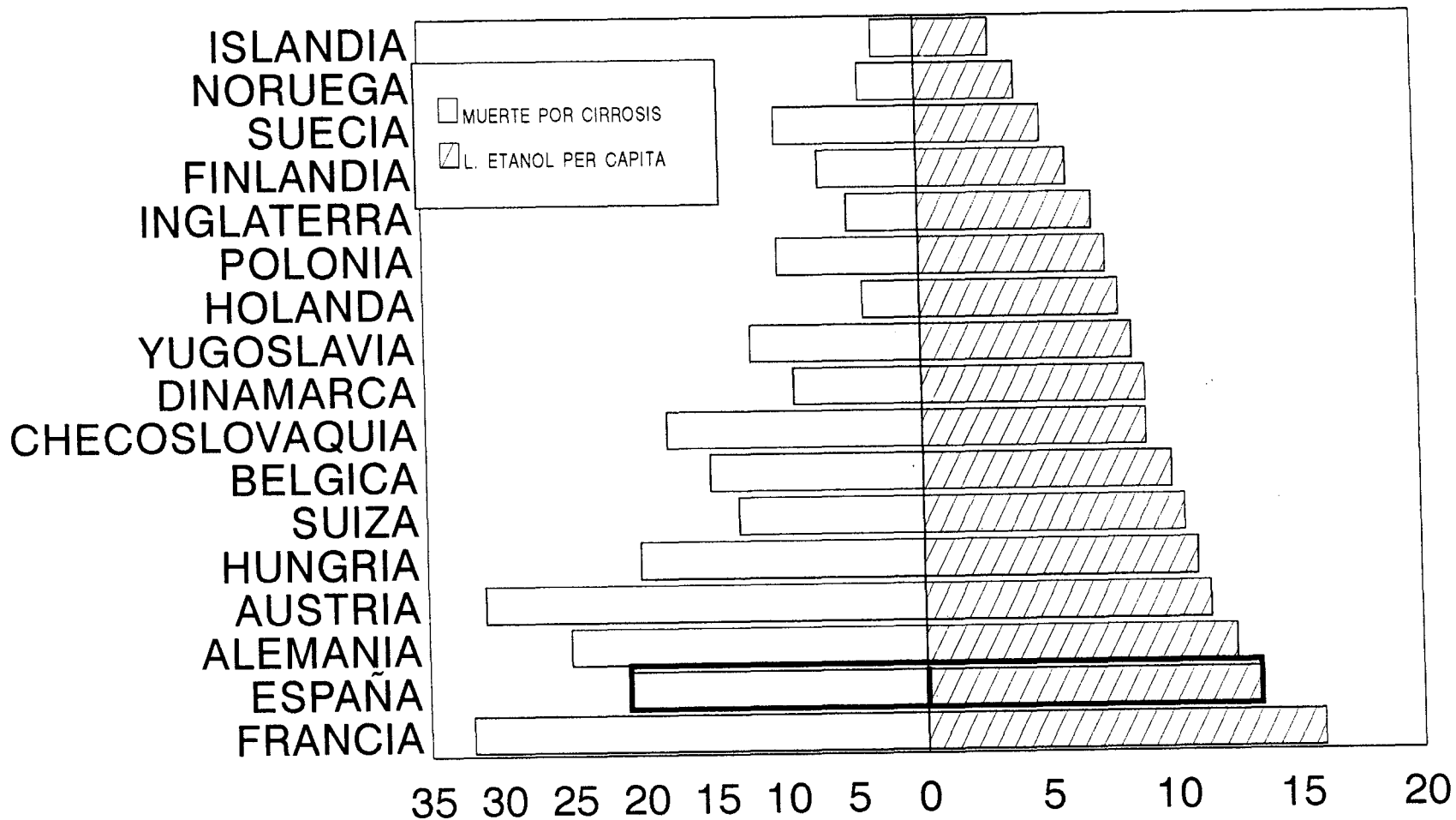


FIG. 1

# Relación entre muerte por cirrosis por 100000 habitantes y el consumo de etanol puro en L. per capita



**FIG. 2**



# VIAS DE OXIDACION DEL ETANOL

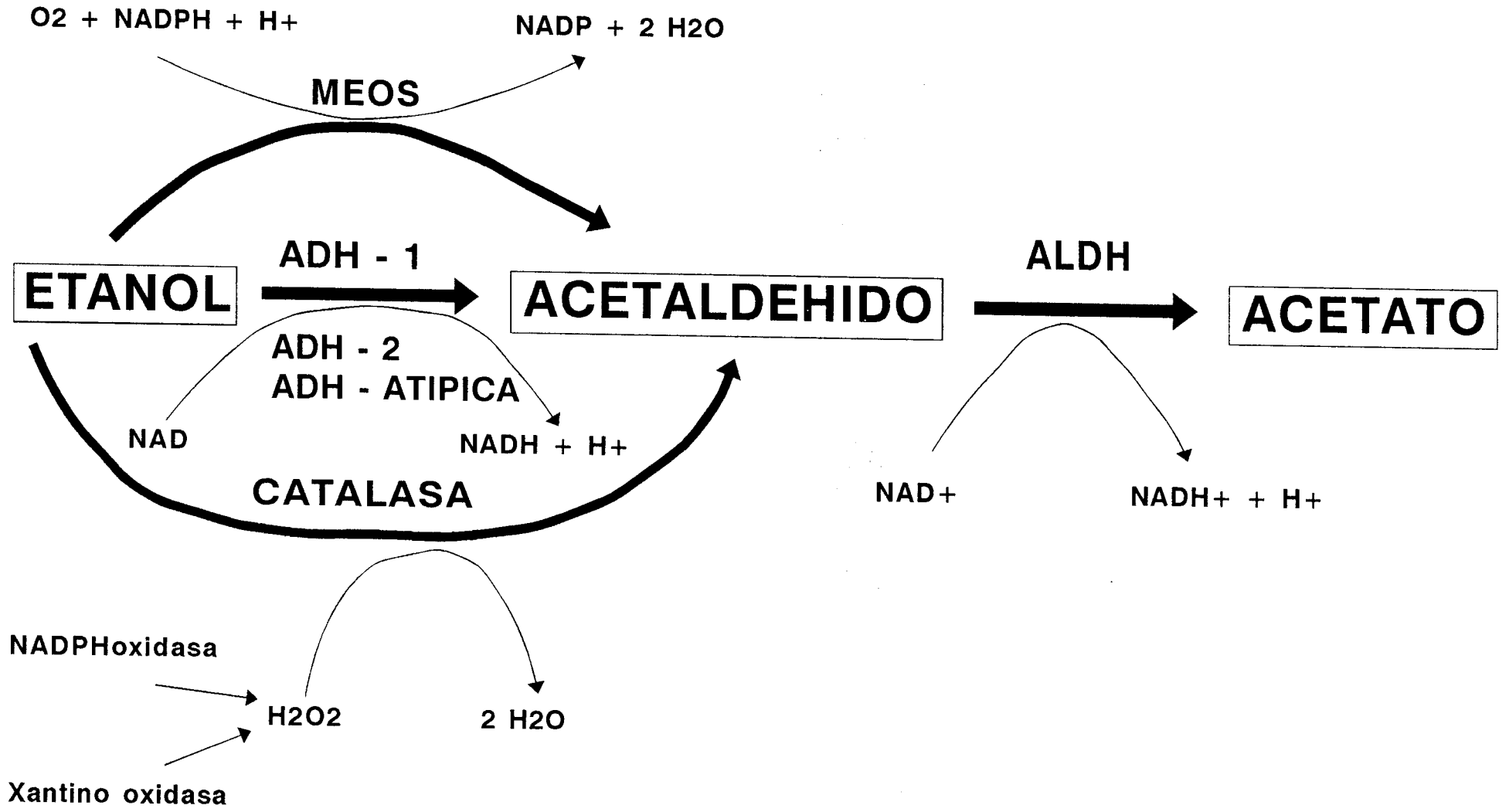
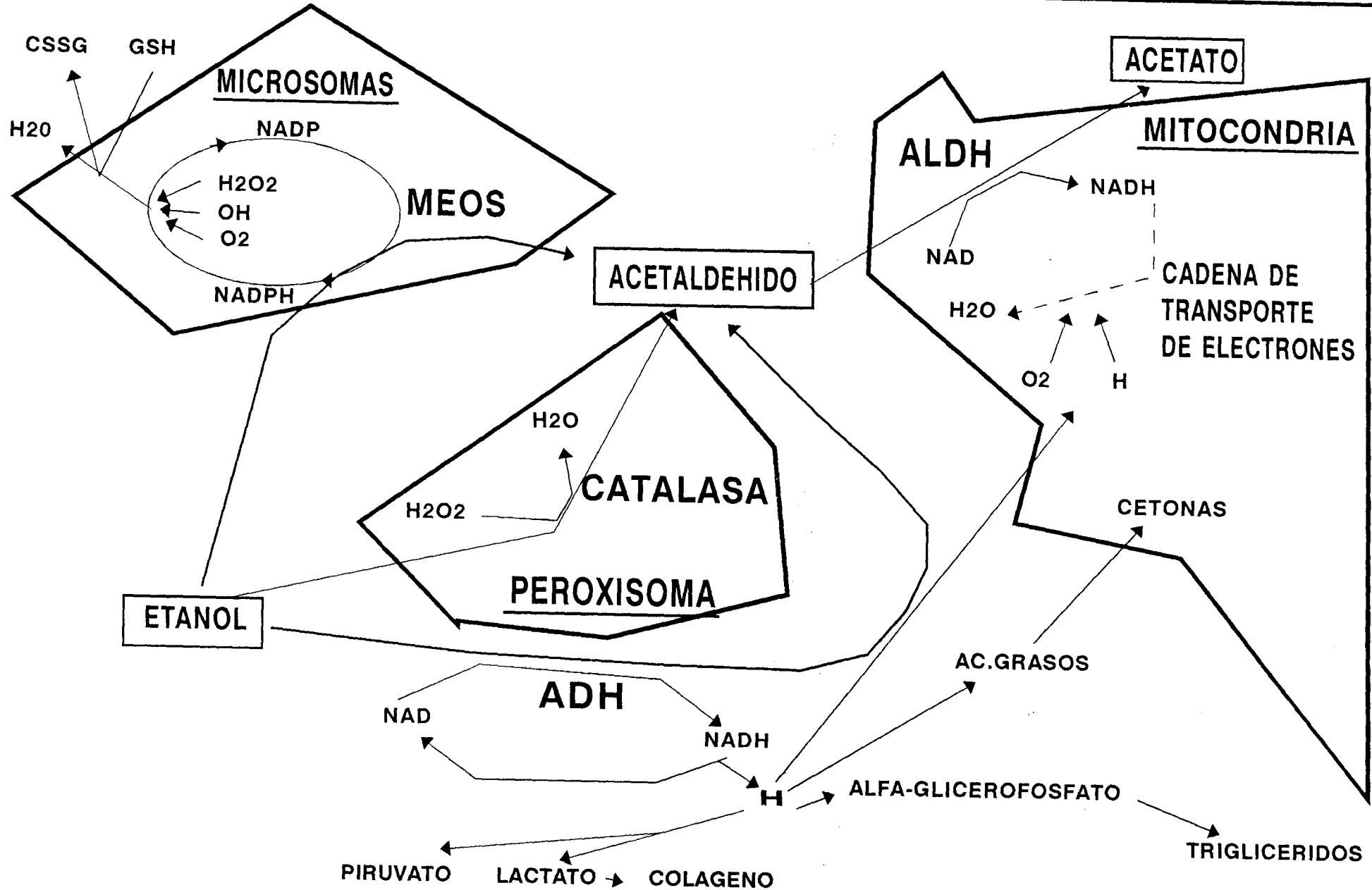


FIG. 3



**FIG. 5: Metabolismo del Etanol en la célula hepática**



# LIPIDOS PLASMATICOS

SEGUN FREDRICKSON Y LEES (1966)

---

LIPIDOS TOTALES	400-700 mg /100 ml
1. Fosfolípidos	270 +/- 60
2. Colesterol total	210 +/- 60
Colesterol esterificado	50-70 % del total
3. Triglicéridos	140 +/- 60
4. Acidos grasos libres	300-700 microEq./l
5. Otros	
Cerebrósidos	3,5-5,7
Carotenoides	0,007-0,2
Vitamina A	0,02-0,07

TABLA 1

# LIPIDOS PLASMATICOS

VALORES DEL PERCENTIL 95 (mg/100 ml)

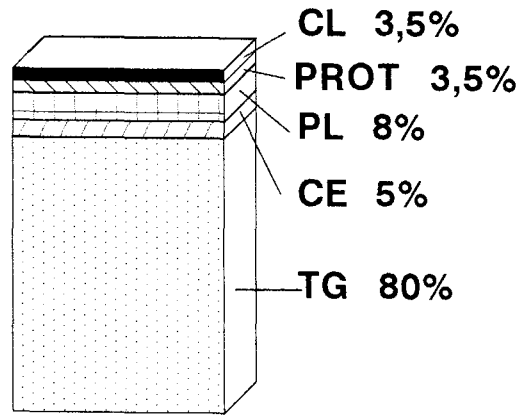
## HOMBRES

## MUJERES

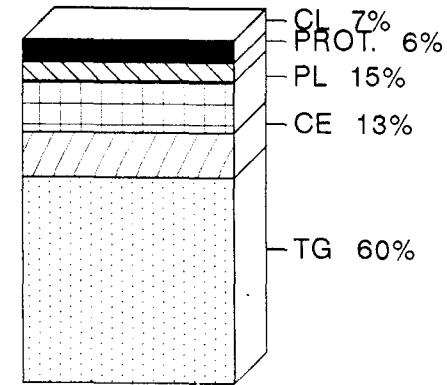
EDAD	COLESTEROL	COLEST-LDL	COLESTEROL	COLEST-LDL
15-19	197	130	203	137
20-24	218	147	228	159
25-29	244	165	229	164
30-34	254	185	238	156
35-44	269	187	249	173
45-54	277	200	277	193
55-64	276	207	295	217
+ 65	275	198	293	214

TABLA 2

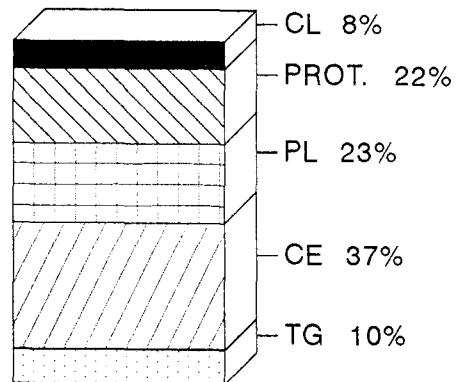
# COMPOSICION DE LAS LIPOPROTEINAS PLASMATICAS



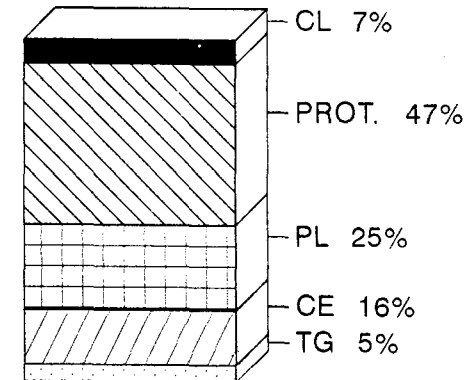
QUILOMICRONES



VLDL



LDL



HDL

FIG. 6

# CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS DE LAS LIPOPROTEINAS PLASMATICAS

<u>L P</u>	<u>DENSIDAD</u>	<u>Sf</u>	<u>ELECTROF.</u>	<u>AOPROT</u>	<u>PL</u>	<u>C</u>	<u>C E</u>	<u>TG</u>
<u>Q</u>	- 0,94	+ 400	ORIGEN	E,AI,AIV,C 1-2%	3-8	0,5-1	1-3	86-94
<u>VLDL</u>	0,95-1,006	20-400	PRE-BETA	B,E,C 5-10%	12-18	5-8	12-14	55-65
<u>LDL</u>	1,006-1,019	12-20	BETA ó PREB	B 20-24%	20-25	5-10	35-40	8-12
-	1,019-1,063	0-12	BETA	-	-	-	-	-
<u>HDL</u>	1,063-1,21	-	ALFA	AI,AII,C,E 45-50%	20-30	3-5	14-18	3-6
<u>PL</u>	+ 1,21	-	-	-	-	-	-	-
<u>FFA</u>	-	-	-	ALBUM 99%	-	-	-	-

TABLA 3

# SISTEMA DE RECEPTOR LDL

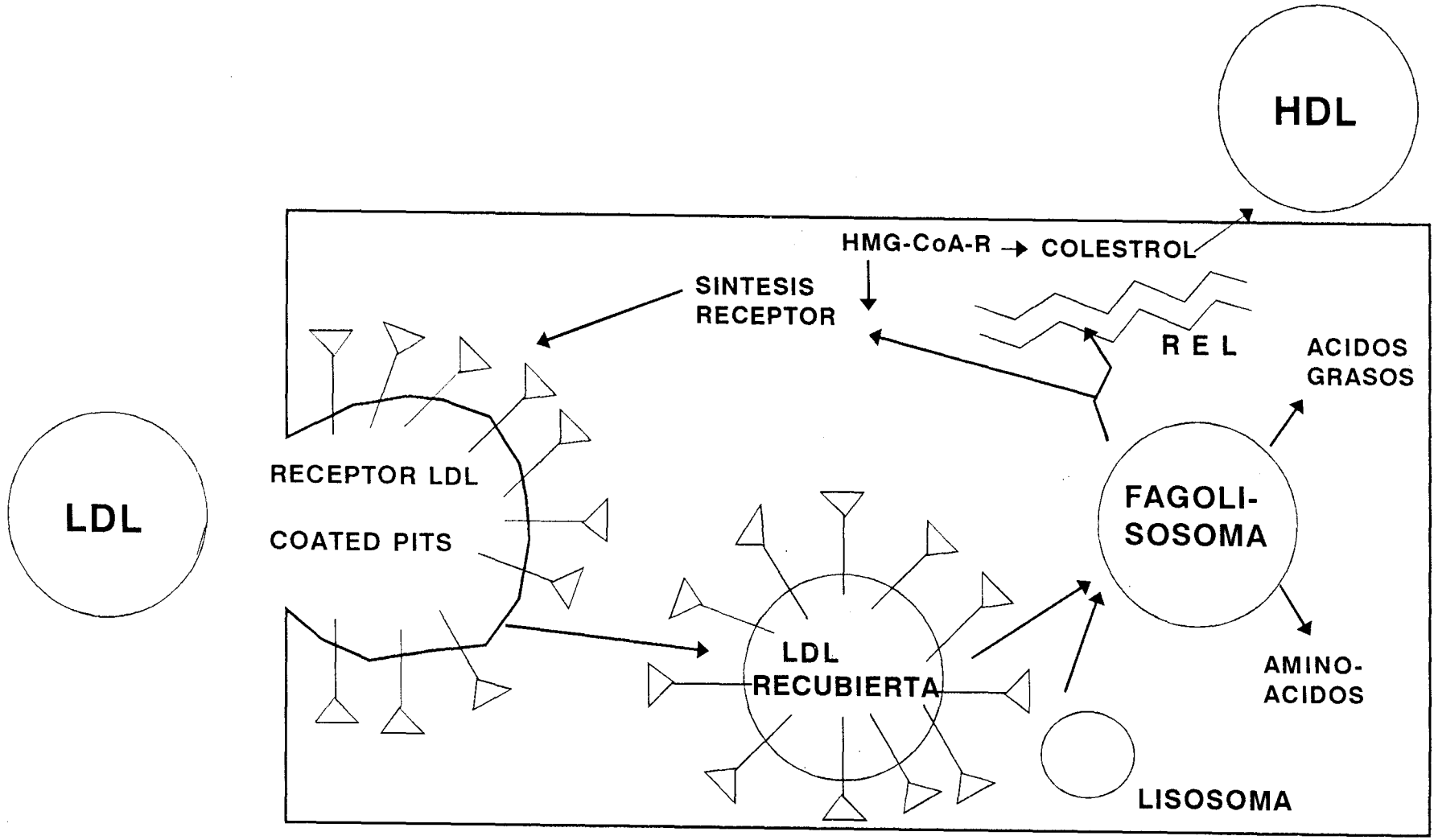


FIG. 7



# CARACTERISTICAS METABOLICAS Y BIOQUIMICAS DE LAS APOLIPOROTEINAS

APO	P molecular	LUGAR SINTESIS	CONCENTRACION MG / DL	FUNCION
A I	28,3	Intestino Higado	100-150	Cofactor de LCAT. Prot. estructural de HDL.
A II	17	Intestino Higado	30-50	Propiedad de ligar PL. Prot. estructural de HDL.
A IV	46	Intestino	15	Desconocida.
B 100	549	Higado	80-100	Formación intracelular y transporte cel.de VLDL.
B 48	265	Intestino Higado	?	Interacción recept. apo B,E
C I	6,5	Higado	10	Cofactor de LpL en tejidos periféricos.
C II	8,8	Higado	3-8	
C III	8,9	Higado	8-15	Desconocida.
D	20	?	10	Metabolismo de los ésteres de colesterol.
E	39	Higado	3-5	Receptor apo B,E y apo E. Inhibición de LpL.

TABLA 4

# REACCION DE LCAT

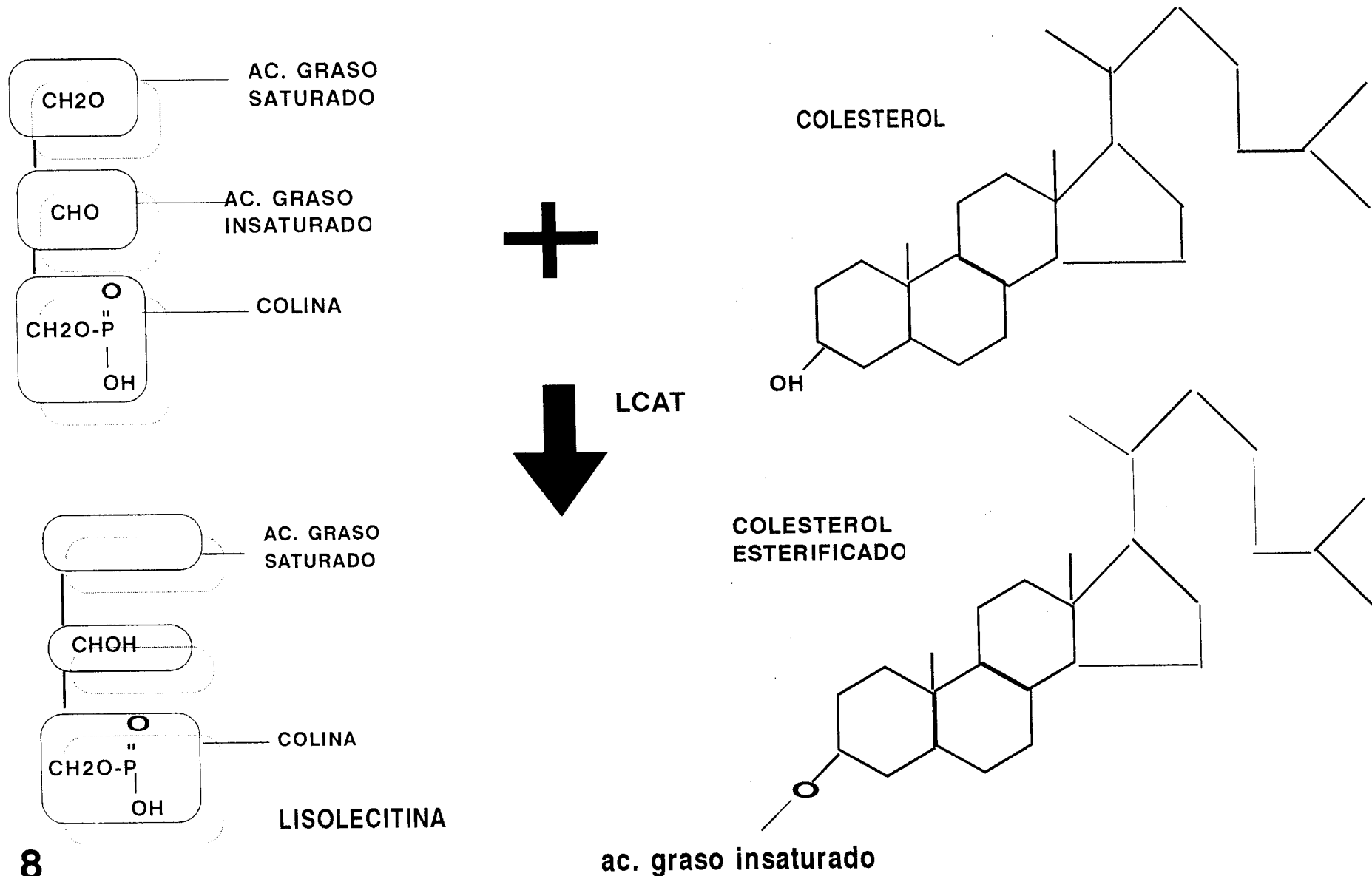


FIG. 8

# CONCENTRACIONES DE APOLIPOPROTEINAS EN PLASMA (g /100 ml)

AP	Q	VLDL	LDL	HDL2	HDL3
A-I	33	trazos	trazos	5	62
A-II	trazos	trazos	trazos	10	23
A-IV	14	-	-	?	trazos
B	5	25	90	3	-
C	32	55	2	13	5
D	?	?	?	2	4
E	10	15	3	3	1
Otros	6	5	5	4	5

**TABLA 5**

# DESORDENES DE APOLIPOPROTEINAS

APO	ENFERMEDAD
A-I	Enf. de Tangier Apo A-I Milano Apo A-I Marburg Apo A-I Münshi
B	Abetalipoproteinemia recesiva Hipobetalipoproteinemia homocigota Abetalipoproteinemia hormotrigliceridemic
C	Deficiencia Apo C-II
E	E-2 homocigota a) Disbetalipoproteinemia b) Hiperlipoproteinemia tipo III familiar

TABLA 6

# CATABOLISMO DE LAS LIPOPROTEINAS RICAS EN TRIGLICERIDOS

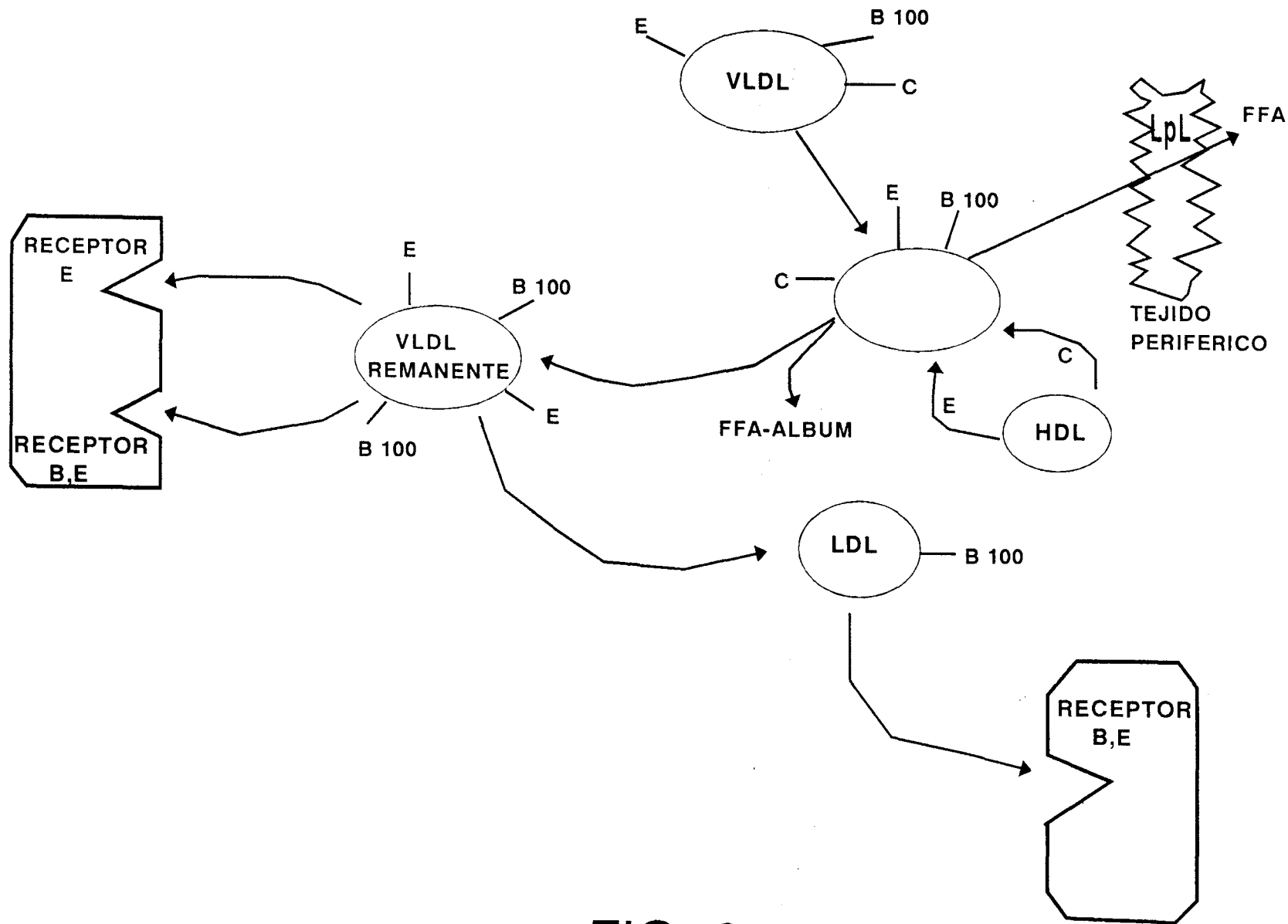


FIG. 9

# CATABOLISMO DE LA VLDL

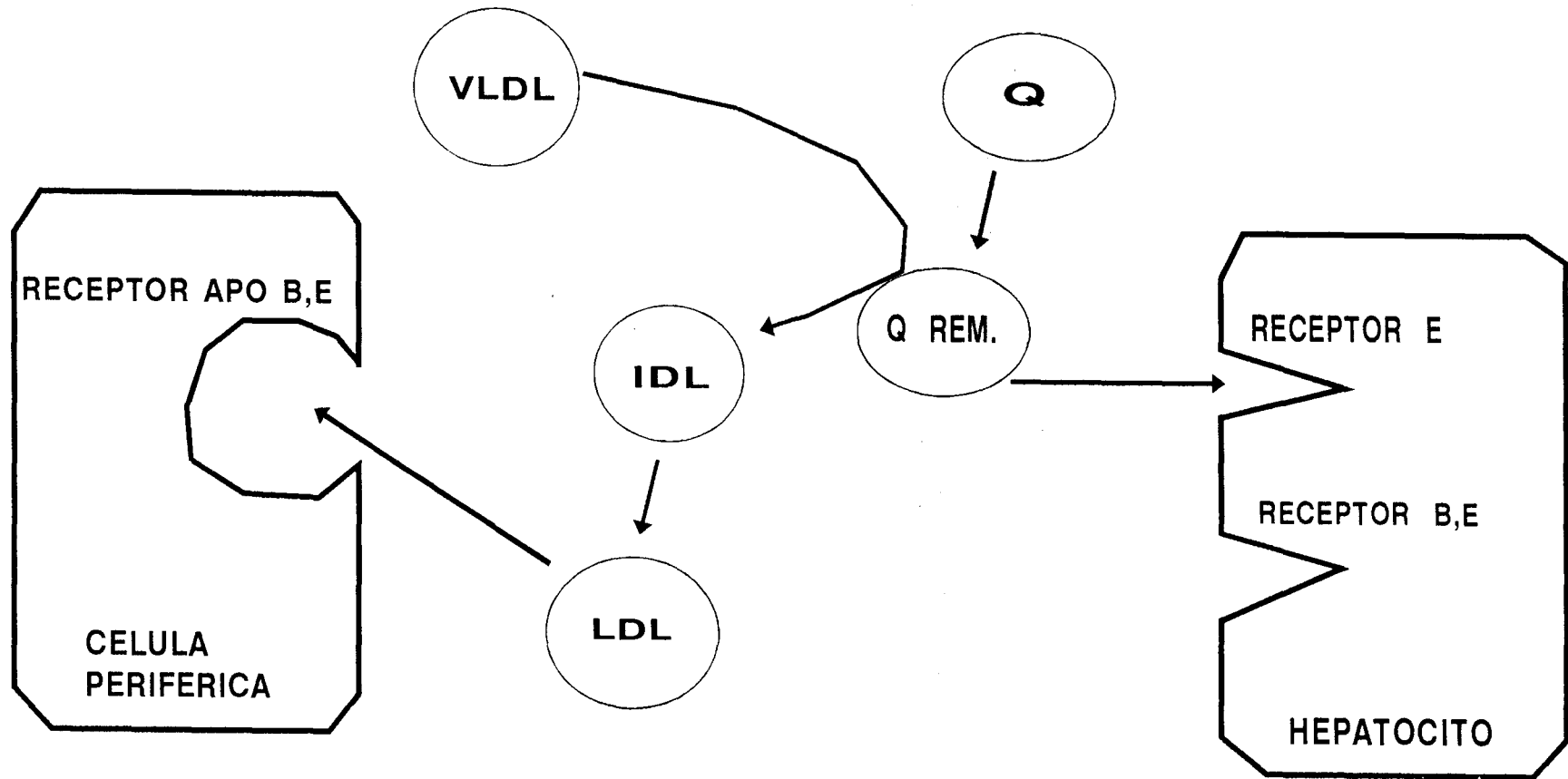


FIG. 10

# CARACTERISTICAS DE SUBFRACCIONES DE HDL Y LDL

	HDL <sub>1</sub> (=HDLc)	HDL <sub>2</sub>	LDL
Densidad(g/ml)	1.03-1.10	1.063-1.125	1.02-1.06
Movil.eléctrica	alfa-2	alfa-2	beta
Composición	rica en C	PL y prot.	rica en C
ApoLP	E. A-I	A-I,A-II	B
Tamaño	130-250	80-110	160-240
Precitabilidad en heparina	+	-	+
Regulación HMG-CoA-R	+	-	+
Unión a receptores de LDL	+	-	+

TABLA 7

# METABOLISMO DE LA HDL

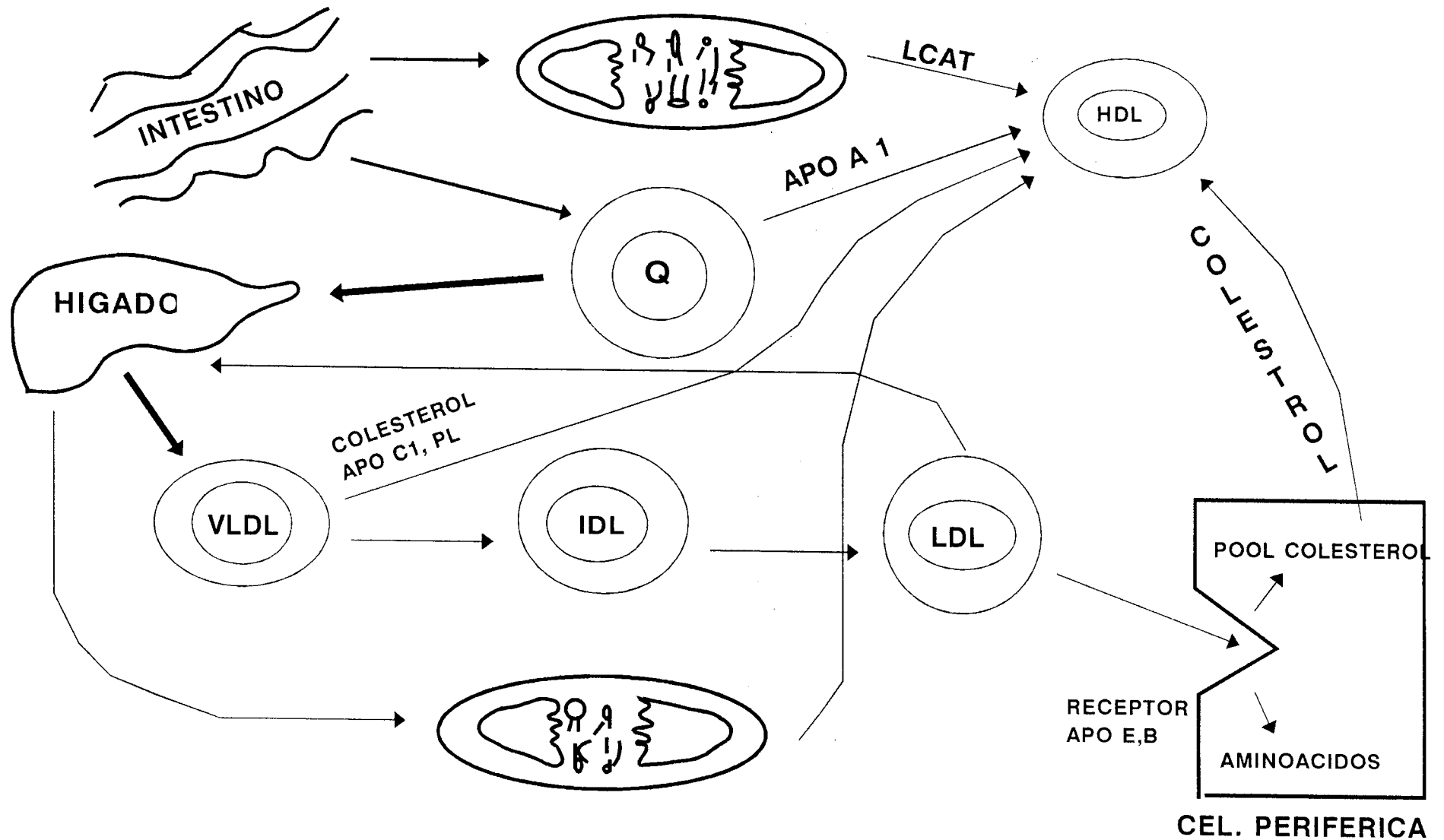


FIG. 11





**PLANTEAMIENTO  
DEL PROBLEMA**

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El alcoholismo es uno de los principales problemas con que se encuentran los servicios de Salud Pública de las comunidades, tanto desde el punto de vista socio-económico, como por su demostrada relación con determinadas enfermedades. Además, de la importancia que tiene por ello, se le añade el que tiene prevención, realidad que raramente se ejerce (3,8).

Está demostrado que la ingesta pesada de etanol, con carácter crónico, representa una carga multisistémica para la economía corporal, afectando a diversos órganos, como Sistema Nervioso Central y Periférico, corazón, músculos, gónadas y por supuesto, al aparato digestivo en sus diferentes áreas, como páncreas, esófago, estómago y principalmente en el hígado, donde se producen las alteraciones más llamativas, por ser el lugar donde se metaboliza todo el alcohol ingerido (8).

Así mismo afecta al metabolismo de las proteínas, purinas, hidratos de carbonos y lípidos, siendo de éste último del que nos ocupamos en este estudio (126-130).

En el alcoholismo crónico se producen importantes alteraciones en el metabolismo lipídico, que están bien constatadas, y que suponen un acúmulo de triglicéridos en el parénquima hepático, por la disminución en la oxidación de los ácidos grasos que provoca, ya que los desplaza como fuente de energía. Esto conduce a la esteatosis (131-134).

Por otro lado, el etanol produce modificaciones en el sistema de transporte de los lípidos, alterando tanto el metabolismo lipídico en el tejido hepático como en el extrahepático. Es conocido el importante papel que el hígado juega en el metabolismo lipídico, ya que ahí se forman triglicéridos y las VLDL, dando lugar a profundas alteraciones de la concentración y composición que sufren la lipoproteínas en las hepatopatías, ya sean por lesión hepatocelular o por colestasis (141,148).

Los últimos estudios en pacientes alcohólicos crónicos, demuestran que el etanol produce las siguientes alteraciones en las lipoproteínas:

**VLDL:** Su concentración está aumentada, por aumento de su síntesis y secreción, siendo su composición lipídica normal, pero no la proteica, ya que aumenta la apo B, y disminuye las apo E y C.

**LDL:** Mantiene una concentración normal aunque sí se altera la concentración de los lípidos, estando enriquecida en triglicéridos y deficitaria en colesterol esterificado. También aumenta la apo B.

**HDL:** Su concentración plasmática está aumentada, aunque si existe daño hepático, puede ser normal o disminuida, a expensas de la HDL 3. En el consumo moderado de etanol aumenta la HDL 3, y en alcoholismo pesado la HDL 2, estando el cociente HDL 2/HDL



3 en relación directa con el grado de daño hepático. La apo A-1 está aumentada en general pero puede disminuir si existe un severo daño hepático.

Por otro lado, los bajos niveles de actividad de la Lecitin-Colesterol- Acil- Transferasa (LCAT), en las hepatopatías alcohólicas, lo que se asocia a una deficiente esterificación de colesterol (que se manifiesta por el aumento de HDL 2). También se disminuye la actividad de la Lipoproteín - Lipasa (LpL), lo que se relaciona con el aumento de VLDL y HDL.

A la luz de estos estudios hay razones para suponer que el cociente HDL 2/HDL 3 podría ser un buen marcador para diferenciar a las diferentes subpoblaciones de alcohólicos crónicos, en función del grado de lesión hepática, ya que estos parámetros se modifican muy poco por otros factores distintos del etanol. También el cociente Colesterol esterificado / Colesterol libre en el plasma podría ser útil para diferenciar el grado de lesión hepática.

Por ello, nos proponemos estudiar los perfiles de las lipoproteínas plasmáticas y apolipoproteínas en diversas subpoblaciones de alcohólicos crónicos, investigando las razones de HDL 2/HDL 3 y de Colesterol esterificado / Colesterol libre, como parámetros fiables para diferenciar las subpoblaciones de etílicos crónicos así como averiguar si podemos conocer con ello el grado de regresión o progresión de la hepatopatía, y si son parámetros útiles para seguimiento de la enfermedad alcohólica (251).

**MATERIAL Y  
METODO**

## MATERIAL Y METODO

Los pacientes incluidos en el presente estudio, fueron seleccionados entre aquellos que eran atendidos en una consulta externa hospitalaria de Aparato Digestivo, específica para Enfermedades Hepáticas. A todos los pacientes se les sometió a un cuestionario para cuantificar el consumo de alcohol (252), efectuándose la conversión del volumen de bebida alcohólica a gramos según un criterio preestablecido (253). Se seleccionaron los individuos que presentaban una ingesta de etanol igual o superior a 100 gr al día, durante al menos los últimos 5 años, que constituyeron el grupo de **alcohólicos crónicos**. La distribución de los mismos se realiza en tres grupos: grupo A (n=30) formado por los alcohólicos crónicos sin evidencias de lesión hepática demostrable por estudios analíticos o de imagen. Grupo B (n=35) formado por los pacientes alcohólicos crónicos con lesión hepática no cirrótica, demostrada histológicamente. Grupo C (n=27) formado por alcohólicos crónicos con cirrosis hepática demostrada histológicamente, salvo en los casos en que existía una contraindicación para la biopsia hepática percutánea por alteraciones de la coagulación o por la existencia de ascitis, pero con datos analíticos e iconográficos muy sugestivos de cirrosis hepática. Así mismo se estudia un cuarto grupo, grupo D (n=30) constituido por pacientes no alcohólicos y sin enfermedad hepática, que constituirían el **grupo control**, seleccionados de otra consulta externa hospitalaria de Aparato Digestivo, a la que acudían por enfermedad banal inespecífica o leve controlada. Constituyeron causa de exclusión del estudio

la coexistencia de hiperlipemia primaria, diabetes u otra enfermedad metabólica, la obesidad, la insuficiencia renal o cardíaca, neoplasias conocidas, infecciones, incluido el poseer el AgHbS + y el AcVHC +, o el consumo de fármacos con influencia potencial sobre el metabolismo lipídico (hipolipemiantes, diuréticos, bloqueantes betadrenérgicos, disulfiram, barbitúricos o difenilhidantoína). Otro causa importante para la exclusión de un paciente del presente estudio fue el que presentara un período de abstinencia de alcohol superior a las 48 horas.

Se efectuaron a todos los individuos participantes, por métodos convencionales, un hemograma con determinación de la serie roja, blanca y plaquetaria, así como un estudio de la coagulación con tiempo de protrombina y tiempo parcial de tromboplastina, y las determinaciones de glucosa, nitrógeno ureico, proteínas totales, albúmina, fosfatasa alcalina, bilirrubina total y bilirrubina directa, gamma-glutamyl transpeptidasa, aspartato aminotransferasa (GOT), alanina aminotransferasa (GPT), proteinograma y estudio de las inmunoglobulinas.

El estudio Lipo y Apoproteico se realiza tras un ayuno de al menos 12 horas, y para ello se extraen a todos los pacientes unos 9-10 ml de sangre por venopunción, que posteriormente pasa a ser procesada según los métodos que se describen a continuación.



El **colesterol** se determina por métodos enzimáticos, que son los más empleados hoy en día, y los más exactos. Se utiliza suero o plasma con heparina o EDTA y se mezclan 0,02 ml. de la muestra con 2,0 ml. de monorreactivo, se agita vigorosamente e incuba durante 10 minutos a 20-50°C. Se basa en las siguientes reacciones:

Colesterol esterasa

Esteres de colesterol —————> colesterol + ácidos grasos

Colesterol oxidasa

Colesterol + O<sub>2</sub> —————> Delta 4 colesteno + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peroxidasa

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + aminofenona —————> colorante oxidado + H<sub>2</sub>O

Después de una hora se mide frente a un blanco del monorreactivo a 500 nm (254).

Los **triglicéridos** se determinan también mediante métodos enzimáticos, que están basados en la determinación del glicerol, contenido en las moléculas de triglicéridos tras su hidrólisis para eliminar los ácidos grasos.

Se utilizan reactivos con lipasas que hidrolizan totalmente los triglicéridos, siendo necesaria la presencia de proteasas, para que la hidrólisis sea completa, aunque su función no es conocida. Al igual que ocurría con el colesterol, todos los

reactivos se encuentran liofilizados en un monorreactivo, del que se mezclan 2,0 ml. con 0,02 ml. de suero o plasma, y se incuba a 20-25°C durante 10 minutos, midiéndose posteriormente la absorción a 500 nm., frente a un blanco de reactivos (254).

El perfil de las lipoproteínas se realiza determinando el colesterol en las fracciones obtenidas tras la ultracentrifugación del suero. Para ello utilizamos una ultracentrífuga Kontron con rotor 45.6. La VLDL se separa tras añadir 1,1 ml de solución 1.006, quedando como una capa cremosa superior. El volumen se calcula pesando la cantidad de VLDL extraídas. El resto sobrante se homogeniza en un Vortex 2 veces como mínimo con un intervalo de 20 min. La HDL se obtiene pipeteando 200 ul del sobrante y se le añade 500 ul de solución precipitante, se agita enérgicamente y luego se deja reposar 10 min. Después se centrifuga durante 10 min a 4°C y a 4.000 rpm. El sobrenadante es la HDL. La LDL se obtiene por diferencia del colesterol-VLDL y colesterol-HDL con el colesterol total (255).

Para determinar las subfracciones de HDL, HDL-2 y HDL-3, se utilizan métodos de doble precipitación con polianiones, que son rápidos, simples y económicos. Se utiliza heparina-cloruro de manganeso para precipitar las VLDL y LDL, y posteriormente con dextransulfato p.m. 15.000 daltons se precipita la HDL-2. El sobrenadante contiene HDL-3, cuyo colesterol se determina por un procedimiento enzimático. La HDL-2 se calcula según la fórmula:

$$\text{HDL-2} = \text{c-HDL} - \text{c-HDL-3}$$

Tanto la **apolipoproteína A-1** como la **apolipoproteína B-100**, se determinan mediante métodos inmunoturbidimétricos, basado en la reacción entre la apo A-1 o apo B-100 y un anticuerpo específico para cada una, y haciendo la medición mediante turbidimetría a 340 nm tras un período de 5 min. de incubación.

La cuantificación de los parámetros determinados fue realizada con un autoanalizador de la firma Bayer, modelo Technicon RA-XT.

Con los valores obtenidos en los distintos pacientes se ha realizado una media aritmética por grupo, con la desviación estándar. La comparación de porcentajes se realizó mediante el test de la Chi cuadrado de Pearson, y la comparación de las variables cuantitativas con el test de Neumann-Keuls, estableciendo la significación estadística por una  $p < 0,05$ .

**RESULTADOS**

## RESULTADOS

Este estudio se ha realizado con 122 pacientes, distribuidos en cuatro grupos:

\* **Grupo A:** con 30 pacientes, de alcohólicos sin lesión hepática.

\* **Grupo B:** con 35 pacientes, de alcohólicos crónicos con lesión hepática no cirrótica.

\* **Grupo C:** con 27 pacientes, de alcohólicos crónicos con cirrosis hepática.

\* **Grupo D:** con 30 pacientes no alcohólicos que han servido como grupo control.

La distribución por sexos se ve puede ver en la Tabla 8. En total son 30 mujeres (24.6%) y 92 varones (75.4%) con una diferencia estadísticamente significativa (DES) entre ambos ( $p = 0,014$ ) (Tabla 8). Esta gran diferencia entre varones y mujeres se aprecia en todos los grupos de pacientes etílicos crónicos, en los cuales se obtiene una proporción media de varones a mujeres de 5:1, pero no en el grupo de no bebedores, en el que las mujeres son el 46.7% (14) y los varones el 53.3% (16), sin DES, y con una proporción de 1:1 (FIG. 13 y FIG. 14). Esto se debe a que el alcoholismo es una enfermedad más frecuente entre los varones que entre las mujeres, aunque aumenta más rápidamente entre éstas, siendo la proporción de las últimas estadísticas de 7:1 (9).

La **edad media** del total de pacientes fue de 50.9 años, con un rango entre 25 y 75 años, y una desviación estándar de  $\pm 12.79$ , y un error estándar de 1.15. Por grupos (FIG. 15), la edad media en el grupo de etílicos sin lesión hepática fue de 45.1 años (27 a 64), en el grupo de etílicos con lesión no cirrótica de 50.8 años (26 a 75), en el grupo de cirróticos de 59.3 años (39 a 75), y en el grupo control fue de 49.8 años (25 a 71), lo cual se expresa en la Tabla 9. Se ha encontrado una DES entre el grupo C, de pacientes etílicos con cirrosis hepática y el resto de los grupos (A, B y D), sin que existan DES en la edad media del resto de los grupos entre sí, lo que se explica por el tiempo de ingesta de etanol continuada que se precisa para desarrollar el último grado de lesión hepática, la cirrosis.

La **cantidad de alcohol** ingerida en gramos por día en los grupos de pacientes alcohólicos presentó una media de 158.3 gr. de etanol puro por día, con un rango entre 100 y 250 gr. Entre estos tres grupos de pacientes no hubo diferencias significativas (DES). En cambio, el grupo control presentó una media de ingestión de etanol de 10.3 gr. / día, con una DES con respecto al resto de los grupos de pacientes etílicos crónicos (FIG. 16).

De todos los parámetros que se han determinado a los pacientes, se han analizado estadísticamente un grupo de ellos, unos porque su validez está aceptada ya para reflejar determinadas alteraciones o son indicativos de ingesta de etanol y otros por ser los que específicamente se han determinado siendo el medio para conseguir el objetivo planteado con este estudio,

es decir, intentar averiguar si existe una correlación entre los valores hallados y el grado de la lesión hepática ocasionada por la ingesta crónica de etanol. Entre las variables que hemos analizado están las siguientes: VCM, GGT, GOT, GPT, cociente GOT / GPT, Colesterol total (CT), Colesterol esterificado (CE), cociente CE / CL, TG, VLDL, LDL, HDL 2, HDL 3, cociente HDL 2 / HDL 3, APO A I y APO B 100.

Con respecto al VCM (volumen corpuscular medio), que es un parámetro que se correlaciona con la ingesta crónica de etanol, ya que ésta produce una alteración en los fosfolípidos de membrana, aumentando su permeabilidad, por lo que penetra en los eritrocitos más sodio y agua, produciéndose una macrocitosis. El valor medio total es de 96.58 fl. con una desviación estándar de 9.14, y un rango entre 76 y 110. El error estándar fue de 0.82. En el grupo A (etílicos sin lesión), la media del VCM fue de 101.2 fl. (98 a 106), en el grupo B (etílicos con lesión) fue de 97.2 fl. (81 a 110), en el grupo C ( etílicos con cirrosis) fue de 98.18 fl. (76 a 108) y en el grupo D (controles) la media fue de 89.76 fl. (83 a 96). Se ha encontrado que existe DES entre el grupo D, de controles, y el resto de los grupos de pacientes etílicos (A, B y C), sin que existan DES entre dichos grupos A, B y C, de etílicos, lo cual se correlaciona con los datos obtenidos al analizar el etanol ingerido (FIG. 17 y FIG. 18). Los valores se muestran en la Tabla 10, junto con los de IgA y GGT.

**Tabla 10:** Valores medios de VCM, GGT E IgA en los grupos estudiados.

	ETANOL	VCM (FL)	GGT (U/L)	IgA (mg/dl)
<b>GRUPO A</b>	144.6	101.2 ± 2.2	178.3 ± 53.7	390.0±101.7
<b>GRUPO B</b>	160.7	97.2 ± 10.6	219.0 ± 233.5	603.8±156.2
<b>GRUPO C</b>	170.3	98.1 ± 11.7	420.0 ± 552.1	894.1±699.8
<b>GRUPO D</b>	10.3	89.7 ± 9.1	23.1 ± 7.4	280.0±410.3
<b>TOTAL</b>		96.5 ± 9.1	205.3 ± 316.6	535.8±410.3

La GGT (Gamma-glutamyl transpeptidasa) es otra variable analizada, que se correlaciona con la ingesta crónica de alcohol, al igual que el VCM. Los valores obtenidos se expresan en la Tabla 10, siendo el valor medio de 205.35 U/L, con un rango que varía desde 6 a 2201 U/L, y una desviación estándar de 316.69, con un error estándar de 28.67. En el grupo de etílicos sin enfermedad hepática (ASL), la GGT tiene una media de 178.30 U/L (80 a 275), en el grupo de etílicos con enfermedad no cirrótica (ALNC), la media es de 219.08 U/L (20 a 940), en el grupo de etílicos con cirrosis (ACC) el valor medio de GGT es de 420.03 U/L (37 a 2201) y en el grupo de controles es de 23.16 U/L (6 a 36). Como se aprecia resulta que está elevada en los tres grupos de alcohólicos con independencia de que exista lesión o no en el hígado siendo normal en el grupo control. Se ha hallado DES entre el grupo D, control, y el resto de los grupos de



alcohólicos. Pero también se ha entrado DES entre el grupo C, de pacientes cirróticos, los cuales presentan valores más elevados, y los grupos de etílicos sin cirrosis, A y B, sin que exista esa DES entre estos dos grupos de pacientes como se ve en la FIG. 19. El grupo de cirróticos, que presenta una media de GGT más alta es en el grupo en que la media de ingesta de etanol en gr/día es mayor.

En definitiva, tenemos que en los pacientes etílicos crónicos, tanto el VCM como la GGT tienen valores más altos que en los controles, sin que existan grandes diferencias en los bebedores entre sí, aún con diferentes grados de lesión hepática.

Con respecto a las transaminasas, las cuales al estar por encima de lo normal, nos indican que se está produciendo una citolisis, es decir, que existe una necrosis hepatocelular, se han analizado tanto la GOT (Aspartato aminotransferasa), la GPT (alanino aminotransferasa), como el cociente GOT /GPT, lo cual se muestra en la Tabla 11. Por otro lado, el cociente entre GOT y GPT normalmente es menor de 1, pero cuando la enfermedad hepática está producida por alcohol, se invierte dicho cociente, siendo mayor de 2 (Tabla 11).

En nuestro estudio tanto la GOT como GPT tienen valores medios por encima de los límites normales en dos grupos de pacientes, ambos con lesión hepática, uno no cirrótica y el otro cirrótica. La GOT, tiene un valor medio de 68.36 U/L, con un rango entre 9 y 697 U/L, y una desviación estándar de 87.16 y un

**Tabla 11:** Datos obtenidos en este estudio de GOT, GPT, y GOT/ GPT en los diferentes grupos analizados.

	GOT (U/L)	GPT (U/L)	GOT/GPT
<b>GRUPO A</b>	25.7 ± 6.4	27.8 ± 5.9	0.9 ± 0.1
<b>GRUPO B</b>	96.9 ± 65.3	66.4 ± 34.7	1.4 ± 1.6
<b>GRUPO C</b>	129.8 ± 141.7	58.6 ± 61.3	3.2 ± 5.0
<b>GRUPO D</b>	22.3 ± 6.8	25.2 ± 7.8	0.9 ± 0.1

error estándar de 7.89. En el grupo A, de alcohólicos sin lesión, el valor medio de GOT fue de 25.7 U/L (14 a 35), en el grupo B de alcohólicos con lesión no cirrótica, fue de 96.97 U/L (35 a 340), en el grupo C, de alcohólicos con cirrosis, el valor medio fue 129.85 U/L (29 a 697) y en el grupo control D fue de 22.30 U/L (9 a 33) (Tabla 11). Analizando las diferencias estadísticas entre los grupos se aprecia que existe una DES entre los grupos de pacientes con diversos grado de lesión hepática y los grupos que no presentan enfermedad hepática, pero no hay DES entre los dos tipos de pacientes en que se han dividido los que presentan lesión hepática, es decir entre los que tienen daño no cirrótico y los que tienen cirrosis. Tampoco hay diferencias entre los que no tienen enfermedad hepática sean o no bebedores crónicos (FIG. 20 y FIG. 21).

Con respecto a la GPT, ocurre algo muy similar a lo descrito para la GOT, ya que está dentro de los límites de la normalidad en los pacientes sin enfermedad hepática, sean o no bebedores,

y sin DES entre ellos, estando por encima de la normalidad en los que presentan lesión hepática, con independencia del grado de la misma, ya que entre estos dos grupos tampoco existen DES. Esta si existe entre los que tienen enfermedad hepática en cualquier grado y los que carecen de ella, sean o no etílicos crónicos. En este estudio el valor medio de GPT es de 45.09 U/L, con un rango que varía entre 8 y 345 U/L, y una desviación estándar de 38.93. El error estándar es de 3.52. El grupo A, de alcohólicos sin lesión hepática, tiene una media de 27.80 U/L (15 a 37), el grupo B, de alcohólicos con hepatopatía no cirrótica, tiene una media de GPT de 66.45 U/L (25 a 190), el grupo C, de alcohólicos con cirrosis hepática tiene una media de 58.62 (13 a 345), y el grupo D, control, una media de 25.26 U/L (8 a 39). Se muestran estos datos en la Tabla 11 (FIG. 20 y FIG. 21).

En general, en los dos grupos de etílicos con lesión hepática, se elevan ambas transaminasas, como ya se ha expuesto, pero se eleva más proporcionalmente la GOT, que la GPT, lo cual se va a reflejar en el cociente GOT / GPT (FIG. 22).

El cociente GOT / GPT presenta una media de 1.59, con un rango entre 0.46 y 23.13, con un desviación estándar de 2.55 y un error estándar de 0.23. Por grupos se aprecia que existe, al igual que con las transaminasas, un cociente por encima de la normalidad ( $< 1$ ) en los dos grupos de alcohólicos con lesión hepática, que es aún más elevado en los que tienen cirrosis. La media en el grupo de alcohólicos sin lesión hepática de 0.92 (0.56 a 1.20), en el grupo de alcohólicos con lesión no cirrótica

de 1.46 (0.46 a 3.16), en el grupo de cirróticos de 3.25 (0.71 a 23.13) y en el grupo control la media es de 0.90 (0.57 a 1.50). Estos datos se aprecian más claramente en la Tabla 11. Analizando las diferencias estadísticas entre grupos obtenemos el existe una DES entre el grupo C de pacientes etílicos con cirrosis y el resto de los grupos, que no presentan diferencias estadísticamente significativas entre ellos, aunque en el grupo de etílicos con lesión no cirrótica también está elevado (FIG. 22).

En la Tabla 12 se muestran las características generales de los pacientes de este estudio en valores medios, y diferenciadas por grupos.

Los parámetros que a continuación se van a analizar son los que constituyen el objetivo más específico de este estudio.

El **Colesterol total (CT)**, como puede verse en la Tabla 13, muestra valores medios dentro de los valores normales salvo en el grupo de etílicos sin lesión hepática que el valor medio está algo por encima de la normalidad (255,6). El valor medio de 201.05 mg/dl, con un rango entre 79 y 370 mg/dl, y una desviación estándar de 61.87 con un error estándar de 5.60. En cuanto a los grupos, se aprecia que en el grupo A (etílicos sin lesión) como ya hemos dicho la media es de 255.60 mg/dl (185 a 305), en el grupo B (etílicos con lesión no cirrótica) la media de CT es de 230.71 mg/dl (175 a 370), en el grupo C (etílicos con cirrosis) hay una media de 113.88 mg/dl(79 a 179) y en el grupo D (control)

la media es de 190.36 mg/dl (126 a 230). El nivel de colesterol medio más bajo se halla en el grupo con cirrosis hepática (C) y el más alto en el grupo de etílicos sin lesión hepática. El grupo A tiene una diferencia estadísticamente significativa con respecto a los grupos B, C, y D. El grupo B también presenta DES con los grupos A, C y D. El grupo C por último, tiene una DES con respecto al grupo A, B y D, es decir, hay una DES entre todos los grupos, siendo lo más destacado como en los pacientes bebedores tienen cifras de CT más elevadas que en los controles, pero como éstas descienden al aumentar el grado de la lesión hepatocelular, teniéndose el nivel más bajo en los cirróticos, como se ve en la Tabla 14 y la FIG. 23.

Tabla 13: Valores medios de colesterol total, colesterol esterificado, cociente CE/CL y triglicéridos en los grupos estudiados.

	CT (mg/dl)	CE (MG/DL)	C.E./C.L.	TG (MG/DL)
<b>GRUPO A</b>	255.6±34.6	194.1±25.9	3.2±0.5	102.7±75.2
<b>GRUPO B</b>	230.7±41.8	170.2±25.1	3.1±0.2	115.7±100
<b>GRUPO C</b>	113.8±25.7	66.5±14.7	1.4±0.3	99.0±80.4
<b>GRUPO D</b>	190.3±28.1	139.8±23.3	2.7±0.5	91.4±57.0
<b>TOTAL</b>	201.0±61.8	145.6±51.7	2.7±0.8	109.2±78.2

Tabla 14: Diferencias estadísticas entre los grupos con respecto al colesterol total.

* = DES <u>CT</u>	G.A	G.B	G.C	G.D
G.A				
G.B	*			
G.C	*	*		
G.D	*	*	*	

Con el Colesterol esterificado (CE) ocurre algo parecido a lo expuesto para el CT, presentando en este estudio los niveles más altos en los bebedores, pero descendiendo conforme aumenta el grado de lesión hepática, hasta llegar a niveles inferiores a los normales en los cirróticos. El valor medio es de 145.68 mg/dl, con un rango entre 49 y 233 mg/dl, y una desviación estándar de 51.74 con un error estándar de 4.68. Por grupos obtenemos unos valores medios que son los siguientes: En el grupo de alcohólicos sin daño hepático presenta el nivel más alto, siendo la media de 194.10 mg/dl (140 a 233), en el grupo de alcohólicos con daño no cirrótico es de 170.25 mg/dl (134 a 224), en el grupo de cirróticos encontramos el valor medio más bajo de 66.55 mg/dl (49 a 96) y en el grupo control es de 139.80 mg/dl (90 a 172). Todo ello se expresa en la Tabla 13. Analizando la DES (Tabla 15), entre todos los grupos obtenemos que existe una DES entre todos los grupos, al igual que pasó con el CT (FIG. 24).

**Tabla 15:** Análisis de las diferencias estadísticas entre los grupos estudiados con respecto a la media de colesterol esterificado.

* = DES CE	G.A	G.B	G.C	G.D
G.A				
G.B	*			
G.C	*	*		
G.D	*	*	*	

Es interesante conocer lo que ocurre con el cociente entre el colesterol esterificado (CE) y el colesterol libre (CL), ( $CE / CL$ ), ya que este parámetro se ha relacionado con la lesión hepatocelular, ya que se esterificaría menos colesterol al haber una menor síntesis de enzimas hepáticos, y entre ellos la LCAT. En nuestro estudio el valor más bajo se ha hallado en el grupo de cirróticos, con DES con respecto al resto de grupos. El valor medio de este cociente ha sido de 2.71 con un rango entre 1.04 y 4.36, y una desviación estándar de 0.82, con un error estándar de 0.07. Por grupos (Tabla 13) se encuentra una media de 3.27 (1.27 a 4.36) en el grupo de etílicos sin lesión, de 3.14 (2.50 a 3.72) en el grupo de etílicos con lesión no cirrótica, de 1.45 (1.04 a 2.79) en el grupo de cirróticos, y de 2.79 (1.28 a 3.67) en el grupo control (FIG. 25). Se ha encontrado que existe una DES entre el grupo de cirróticos, C, donde los valores son más

bajos, y el resto de los grupos, A, B y C. Así mismo los grupos de etílicos sin cirrosis, A y B, tienen una DES con respecto al grupo de no etílicos, al presentar niveles más altos que los controles. Entre los grupos A y B no existen DES (Tabla 16)

**Tabla 16:** Diferencias estadísticas entre los grupos para la variable CE / CL.

* = DES CE/CL	G.A	G.B	G.C	G.D
G.A				
G.B				
G.C	*	*		
G.D	*	*	*	

Los triglicéridos (TG) presentan un valor medio de 109,2 mg/dl, con un rango de 75 a 789 mg/dl, con un desviación estándar de 210.3, y un error estándar de 18.8. Los datos se muestran en la Tabla 13, y FIG. 26. En el grupo A (etílicos sin lesión), la media de TG fue de 102.71 mg/dl (85 a 226), en el grupo B (etílicos con daño hepático) fue de 110.73 mg/dl (89 a 789), en el grupo C (cirróticos) de 99.06 mg/dl (75 a 158) y en el grupo D (controles) fue de 91.49 mg/dl (77 a 113). Existe una DES de todos los grupos con el grupo D (control), el cual presenta los niveles más bajos. No existen DES entre los distintos grupos de etílicos, aunque destaca en el grupo de bebedores con lesión no



cirrótica, el rango, lo cual se debe a que dos pacientes de este grupo presentaron Hipertriglicéridemias importantes, uno diagnosticado de Síndrome de Zieve, y otro de Hepatitis Aguda Alcohólica (Tabla 17).

Tabla 17: Diferencia estadística analizada entre los grupos para la variable TG.

* = DES TG	G.A	G.B	G.C	G.D
G.A				
G.B				
G.C				
G.D	*	*	*	

La VLDL-colesterol, en este estudio, nos muestra como en los pacientes alcohólicos crónicos está aumentada con respecto a los controles, pero conforme aparece lesión hepática, disminuye, y así en los que no tienen cirrosis, está como en los controles, y si ya tienen cirrosis se encuentra muy por debajo de los niveles de los controles. Los valores medios que se muestran en la Tabla 18 y Tabla 19. La media total es de 19.52 mg/dl, con un rango entre 4 y 46 mg/dl, una desviación estándar de 10.09 y un error estándar de 0.91. En el grupo de etílicos sin lesión, hay una media de 33.50 mg/dl, que es la más alta (15 a 46), en el grupo de etílicos con lesión no cirrótica, la media es de 18.17 mg/dl (10 a 29), en el grupo de cirróticos, la media de

VLDL es de 9.37 mg/dl, siendo la más baja (4 a 15) y en el grupo control se obtiene una media de 16.26 mg/dl (10 a 24). Hay una DES (Tabla 20) entre el grupo cirrótico y el resto de los grupos, al ser su valor muy inferior. Así como entre el grupo de etílicos sin lesión y el resto de los grupos, al presentar el primero niveles superiores al resto (FIG. 27)

Tabla 19: Datos de los valores medios obtenidos para las variables VLDL, LDL, HDL 2, HDL 3 expresados en mg/dl, y el cociente HDL 2/HDL 3, en todos los grupos estudiados.

	VLDL	LDL	HDL 2	HDL 3	HDL2/HDL3
	MEDIA±DE	MEDIA±DE	MEDIA±DE	MEDIA±DE	MEDIA±DE
G.A	33.5±8.4	156.3±16.2	30.5±5.9	35.3±6.6	0.8±0.0
G.B	18.1±4.0	142.8±20.1	31.9±7.1	31.5±6.4	1.0±0.0
G.C	9.3±3.2	81.1±19.8	15.8±3.7	7.7±2.1	2.0±0.3
G.D	16.2±3.8	116.7±23.1	17.2±3.4	40.0±8.6	0.4±0.0
TO	19.5±10.0	126.0±34.2	24.3±9.1	29.2±13.5	1.0±0.6

DE = Desviación estándar.

Tabla 20: Análisis de las diferencias estadísticas entre grupos para la VLDL.

*=DES <u>VLDL</u>	G.A	G.B	G.C	G.D
G.A				
G.B	*			
G.C	*	*		
G.D	*		*	

La LDL, presenta unos hallazgos similares a los expresados para la VLVL. El nivel más alto está en el grupo de etílicos sin lesión hepática, pero desciende conforme se produce la lesión, encontrándose con valores claramente disminuidos en los que ya tienen cirrosis hepática (Tabla 18). La media es de 126.05 mg/dl, con un rango entre 55 y 179 mg/dl, una desviación estándar de 34.21, con un error estándar de 3.09. En el grupo de alcohólicos sin lesión hepática la media de LDL fue de 156.30 mg/dl (120 a 175), en el grupo de etílicos con lesión, la media es de 142.82 mg/dl (110 a 179), en el grupo de cirróticos se tiene una media de 81.11 mg/dl (55 a 125) y en el grupo control, la media es de 116.70 mg/dl (75 a 150) (Tabla 19). Hay diferencia estadísticamente significativa entre todos los grupos cruzados entre sí, entre el grupo A de etílicos sin lesión que presentan los valores medios más altos y el resto de los grupos B, C y D. Entre el grupo de cirróticos, que tienen los niveles

más bajos, por debajo de la normalidad, y el resto de los grupos, como también entre los grupos de controles y de alcohólicos con lesión, aunque en ambos el valor medio está dentro de la normalidad (Tabla 21) (FIG. 28).

Tabla 21: Diferencias estadísticas entre los grupos para la variable LDL.

*=DES LDL	G.A	G.B	G.C	G.D
G.A				
G.B	*			
G.C	*	*		
G.D	*	*	*	

La HDL 2, (Tabla 19) presenta la misma evolución que las anteriores lipoproteínas analizadas, obteniéndose el valor medio más alto en etílicos y el más bajo en los que ya tienen una cirrosis establecida. El valor medio total es de 24.39 mg/dl, con un rango entre 7 y 49 mg/dl, un desviación estándar de 9.15 y un error estándar de 0.82. En los grupos (FIG. 29) se obtuvieron las siguientes medias: En el grupo de etílicos sin lesión hepática una media de 30.50 mg/dl (15-43), en el grupo de etílicos con lesión no cirrótica de 31.94 mg/dl (18 a 49), en el grupo de cirróticos de 15.81 mg/dl (11 a 25) y en el grupo control es de 17.20 mg/dl (7 a 24). Existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de etílicos, sin

lesión y con lesión no cirrótica, (A y B) con respecto a los grupos de cirróticos y de controles (C y D), sin que exista dicha DES entre el grupo A y el B, ni entre el C y el D, como se ve en la Tabla 22.

**Tabla 22:** Análisis de las diferencias estadísticas entre los grupos para la HDL 2.

*=DES HDL2	G.A	G.B	G.C	G.D
G.A				
G.B				
G.C	*	*		
G.D	*	*		

La HDL 3 (Tabla 19) presenta una media de 29.29 mg/dl, con un rango que varía entre 5 y 57 mg/dl, con una desviación estándar de 13.56 y un error estándar de 1.22. Los valores medios por grupos (FIG. 30) fueron, para los etílicos sin lesión, 35.30 mg/dl (17 a 44), para los etílicos con daño no cirrótico, 31.57 mg/dl (21 a 48), para los cirróticos, 7.74 mg/dl (5 a 14) y para los controles, 40.03 mg/dl (18 a 57). Es decir, el nivel más bajo, y con diferencia se encuentra en el grupo de cirróticos, el cual presenta una DES con respecto al resto de los grupos estudiados (Tabla 23).

**Tabla 23:** Diferencias estadísticas entre los cuatro grupos con respecto a la HDL 3.

*-DES HDL3	G.A	G.B	G.C	G.D
G.A				
G.B				
G.C	*	*		*
G.D				

En la FIG. 31, se pueden ver los valores de HDL 2 comparados con los de HDL 3, pudiéndose apreciar las diferencias entre ellas en los diferentes grupos, aunque esta diferencia se ve más claramente estudiando el cociente HDL 2 / HDL 3 (FIG. 32). El valor medio es de 1.06, con un rango que va desde 0.35 a 3.00), con una desviación estándar de 0.60 y un error estándar de 0.05. En el grupo de etílicos sin lesión, la media es de 0.86 (0.79 a 0.97), en el grupo de etílicos con lesión no cirrótica es de 1.00 (0.85 a 1.13), en el grupo de cirróticos es de 2.08 (1.57 a 3.00) y en el grupo control, la media es de 0.43 (0.35 a 0.46) (Tabla 19). Como se ve, existe una diferencia clara entre el valor medio del grupo de cirróticos con el resto de los grupos, sean etílicos o no, que es una DES, mientras que entre los demás grupos no existe dicha diferencia.

En la Tabla 24 se pueden apreciar un perfil lipídico general de los pacientes clasificados en los diferentes grupos de este estudio.

La Apoproteína A I (apo A I) (Tabla 25), principal apoproteína de las HDL, tiene un valor medio de 141.59 mg/dl, con un rango entre 80 y 187 mg/dl. La desviación estándar es de 32.15 y el error estándar de 2.91. En el grupo de etílicos sin lesión, la media es de 164.06 mg/dl (139 a 179). En el grupo de etílicos con lesión no cirrótica, la media es de 172.42 mg/dl (145 a 187). En el grupo de cirróticos, la media es de 97.59 mg/dl (80 a 120), y en el grupo control, es de 122.73 mg/dl (106 a 145). Como puede verse en la Tabla 25 y en la FIG. 33, en los pacientes etílicos crónicos, en principio la Apo A I aumenta con respecto a los controles, pero al existir una lesión hepática importante, del tipo de la cirrosis, estos valores disminuyen de forma mas marcada, por debajo de los niveles de los controles. Se ha encontrado que existe una DES entre el grupo de cirróticos y el resto de los grupos. Así mismo existe también una DES entre los grupos de etílicos con o sin lesión no cirrótica y el grupo control.

**Tabla 25:** Valores medios obtenidos para las variables Apo A I y Apo B 100, en los distintos grupos estudiados (mg/dl).

GRUPOS	APO A I (media±D.E.)	APO B 100 (media±D.E.)
A (etílicos sin lesión)	164.0±11.4	117.6±16.7
B (etílicos con lesión)	172.4±10.8	105.4±15.8
C (etílicos cirróticos)	97.5±11.4	84.4±7.0
D (controles)	122.7±9.2	88.5±4.9
<b>TOTAL</b>	141.5±32.1	99.6±17.8

La Apoproteína B 100 (apo B 100) (Tabla 25), también fue sometida a un análisis de varianza, obteniéndose un valor medio total de 99.64 mg/dl, con un rango que varía desde 72 a 140 mg/dl, siendo la desviación estándar de 17.87 y el error estándar de 1.61. En el grupo A, de etílicos sin lesión hepática, la media fue de 117.66 mg/dl (83 a 140). En el grupo B, de etílicos con lesión, fue de 105.48 mg/dl (75 a 132). En el grupo C, de cirróticos la media fue de 84.44 mg/dl (72 a 97) y en el grupo D, de controles, se tuvo una media de 88.50 mg/dl (80 a 99). Con estos resultados (FIG. 34) apreciamos que existe un aumento de los valores medios de Apo B 100, en los pacientes etílicos, pero que conforme se agrava la lesión hepática, los valores disminuyen, siendo los menores en la cirrosis hepática. Existen DES entre el grupo de cirróticos y el de controles, con respecto a los dos otros grupos de etílicos sin cirrosis. Existe además una DES entre estos dos últimos grupos de etílicos.



En la FIG. 35, se comparan ambas apoproteínas, la Apo A I y la Apo B 100, comprobándose como ambas descienden en los cirróticos.

En relación a las pruebas complementarias realizadas a los pacientes de este estudio, y que nos han servido sobre todo, para poder situar al paciente dentro de un grupo u otro, tenemos a la **Ecografía** y a la **Biopsia hepática percutánea**.

La **Ecografía** aporta datos sobre todo en los grupos B y C. En el grupo D (controles), la ecografía era normal o presentaba hallazgos sin relación con una hepatopatía, como son Quiste simple renal en 2 pacientes, Quiste simple hepático en 1 paciente, Litiasis vesicular en 3 pacientes, y fue dada como normal en 24 pacientes. En el grupo A (etílicos sin lesión hepática) se da como normal en 23 pacientes, Quiste simple renal en 2 pacientes, Litiasis vesicular en 1 paciente, Hipertrofia prostática en 1 paciente y Hepatomegalia con hígado brillante en 3 pacientes. En el grupo B (etílicos con lesión no cirrótica), la ecografía detecta en 33 pacientes signos de hepatopatía difusa, como esteatosis y hepatomegalia y en 6 de ellos con esplenomegalia. En los otros 2 pacientes se detecta una gran hepatomegalia con intensa esteatosis, siendo un paciente diagnosticado de Síndrome de Zieve y el otro de Hepatitis Aguda Alcohólica. En el grupo C (etílicos con cirrosis) la ecografía muestra en todos los pacientes (27) un hígado de contornos nodulares y ecogenicidad heterogénea. En 21 de ellos existen además signos de hipertensión portal en forma de aumento del

diámetro de la vena porta o en forma de esplenomegalia, o ambas. En 6 pacientes se apreció ascitis, en 2 de ellos muy importante.

La **Biopsia hepática percutánea** no se realizó en el grupo D (control) ni en el A (etílicos sin lesión hepática) por no estar indicada en ninguno de los casos. En el grupo B, (etílicos con lesión hepática no cirrótica) se pudo realizar en todos los pacientes apreciándose que en 33 de ellos había focos de necrosis hepatocitaria con infiltrado de polimorfonucleares y puentes de fibrosis entre los espacios porta y con las venas centrolobulillares. En 15 de ellos persistían signos de esteatosis. En 1 paciente, diagnosticado de Síndrome de Zieve la biopsia mostraba una esteatohepatitis, y en otro paciente, diagnosticado de hepatitis aguda alcohólica se detecta en la biopsia hepática necrosis perivenular con hialina de Mallory y formación de fibrosis alrededor de la vena central. En el grupo C (etílicos con cirrosis) no se pudo realizar la biopsia hepática percutánea en 17 pacientes por existir una contraindicación, que en 15 casos fue por el elevado riesgo de hemorragia, ya que existían unas plaquetas por debajo de 65000, o un tiempo de protrombina por debajo del 60%, o ambas. En los restantes 10 pacientes el diagnóstico anatomopatológico fue de cirrosis hepática.

# DISTRIBUCION POR SEXOS

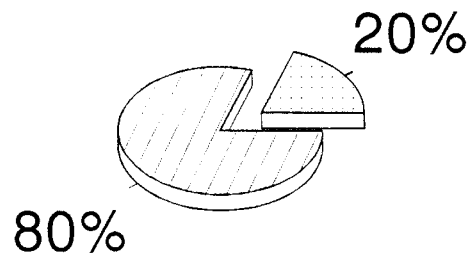
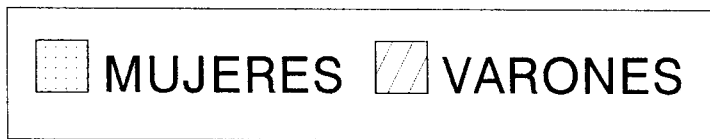
## GRUPOS

	A	B	C	D	TOTAL
	ETILICOS SIN DAÑO	ETILICOS CON DAÑO	ETILICOS CIRROTICOS	CONTROLES	
<b>N</b>	<b>30</b>	<b>35</b>	<b>27</b>	<b>30</b>	<b>122</b>
<b>MUJERES</b>	6	6	4	14	30
<b>%</b>	20	17.1	14.8	46.7	24.6
<b>VARONES</b>	24	29	23	16	92
<b>%</b>	80	82.9	85.2	53.3	75.4

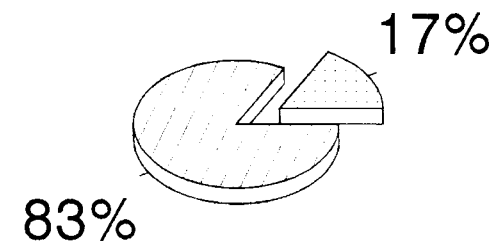
\* = P < 0.05

Tabla 8

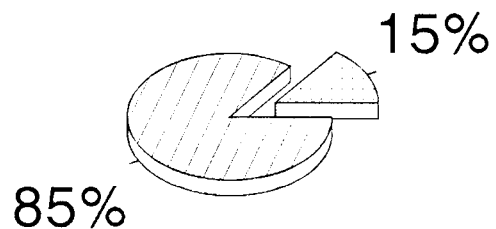
# DISTRIBUCION POR SEXO ENTRE LOS DISTINTOS GRUPOS



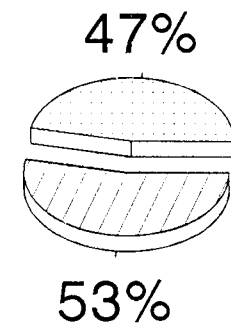
GRUPO A  
ETILICOS SIN LESION



GRUPO B  
ETILICOS CON LESION



GRUPO C  
ETILICOS CIRROTICOS



GRUPO D  
CONTROLES

FIG. 13

# DISTRIBUCION POR SEXO ENTRE LOS DISTINTOS GRUPOS

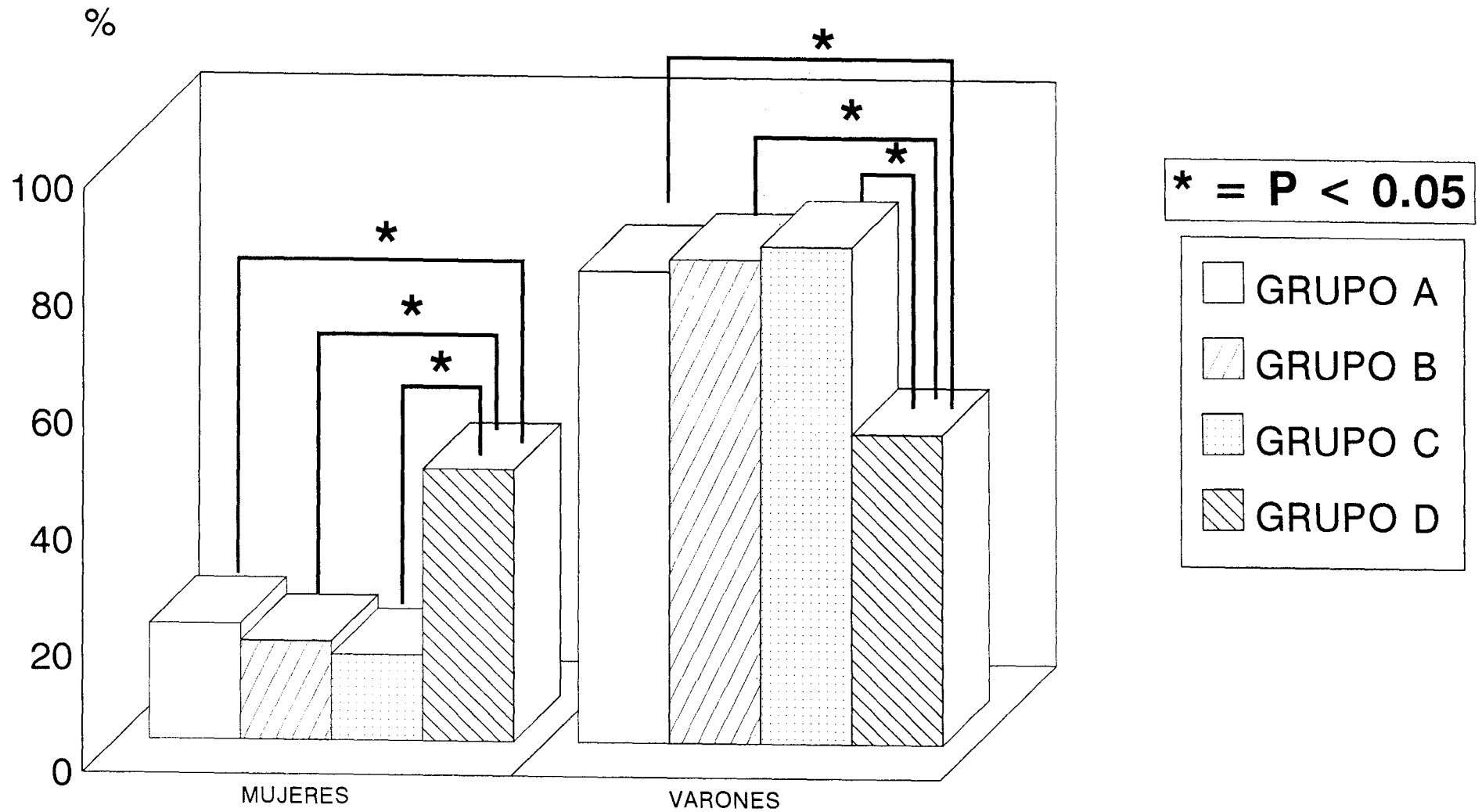
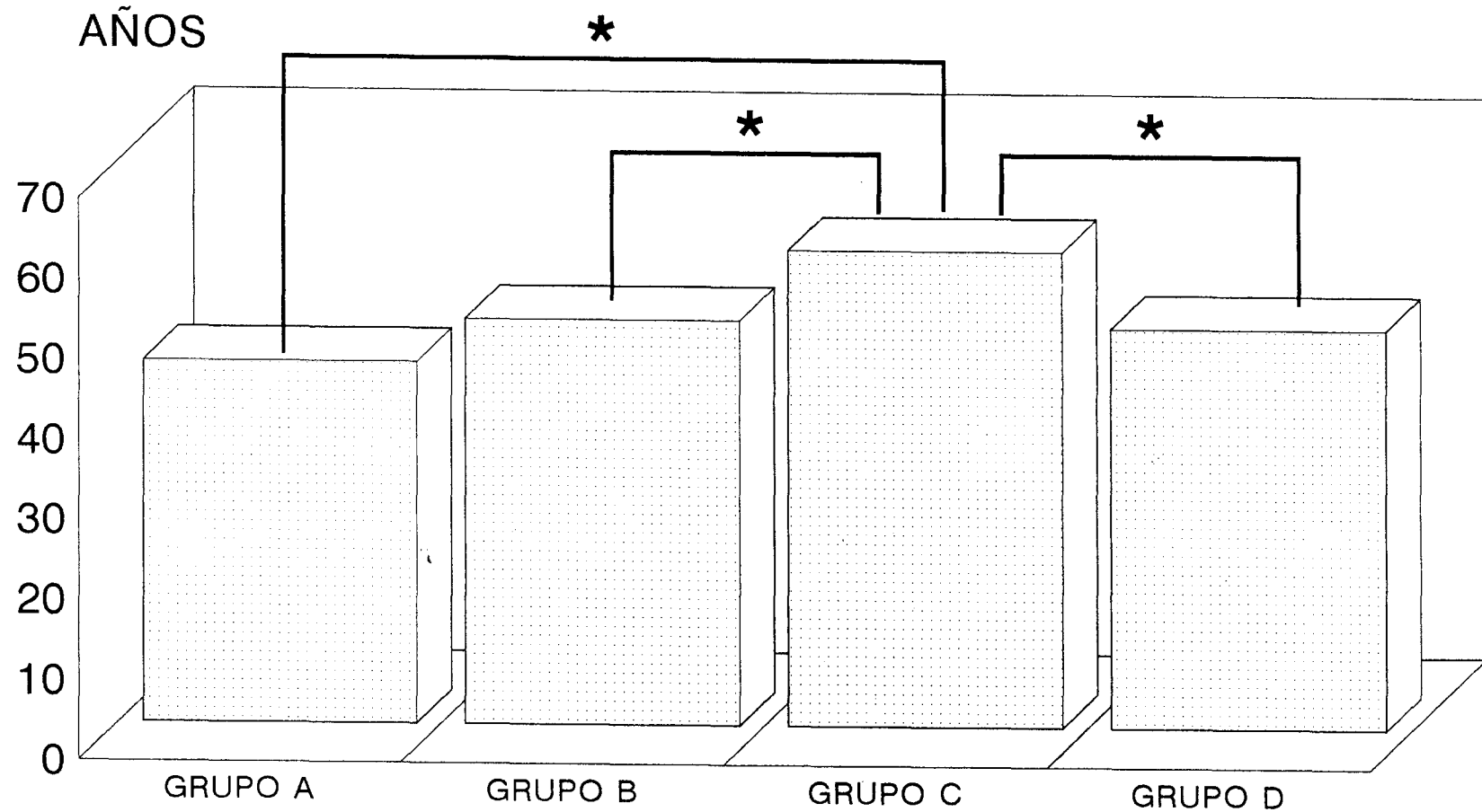


FIG. 14

# DISTRIBUCION POR EDAD DENTRO DE LOS GRUPOS



EDAD	45,1	50,48	59,37	49,83

G.A = ETILICOS SIN LESION  
G.B = ETILICOS CON LESION  
G.C = ETILICOS CIRROTICOS  
G.D = CONTROLES

FIG. 15

\* =  $p < 0.05$

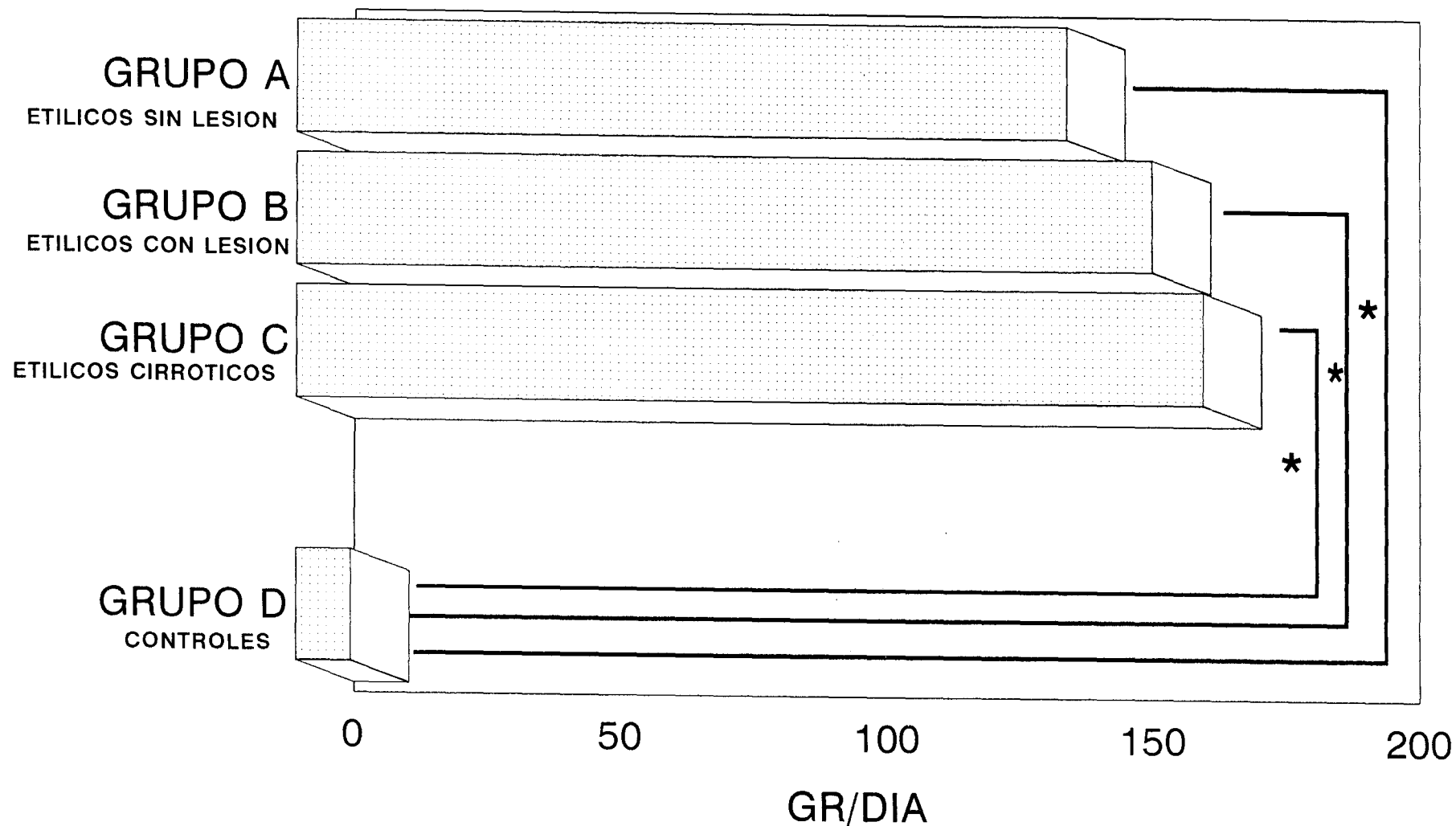
DISTRIBUCION POR EDAD EN LOS GRUPOS ESTUDIADOS  
DIFERENCIA ESTADISTICA

GRUPOS		EDAD	
A (etílicos sin lesión)	45	$\pm 8.6$	
B (etílicos con lesión)	50	$\pm 13.1$	
C (cirróticos)	59	$\pm 8.6$	
D (controles)	49	$\pm 15.3$	

Tabla 9

\* =  $p < 0,05$

# ETANOL INGERIDO HABITUALMENTE EN GR. / DIA



\* =  $p < 0.05$

FIG. 16



# COMPARACION ENTRE LOS VALORES MEDIOS OBTENIDOS DE VCM ENTRE LOS DISTINTOS GRUPOS Y EL GRUPO CONTROL

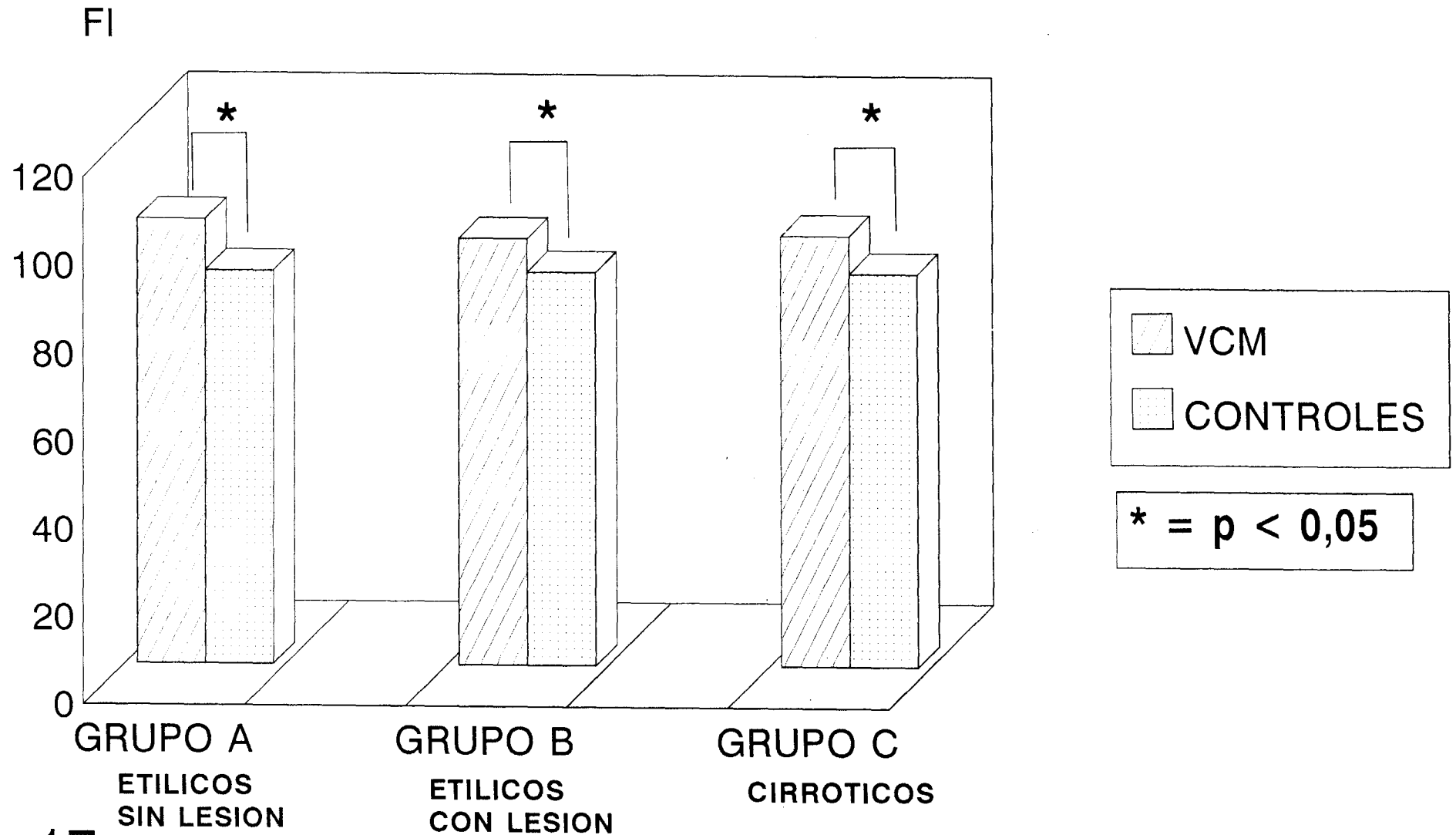


FIG. 17

# VALOR MEDIO OBTENIDO EN LOS DISTINTOS GRUPOS DE VCM.

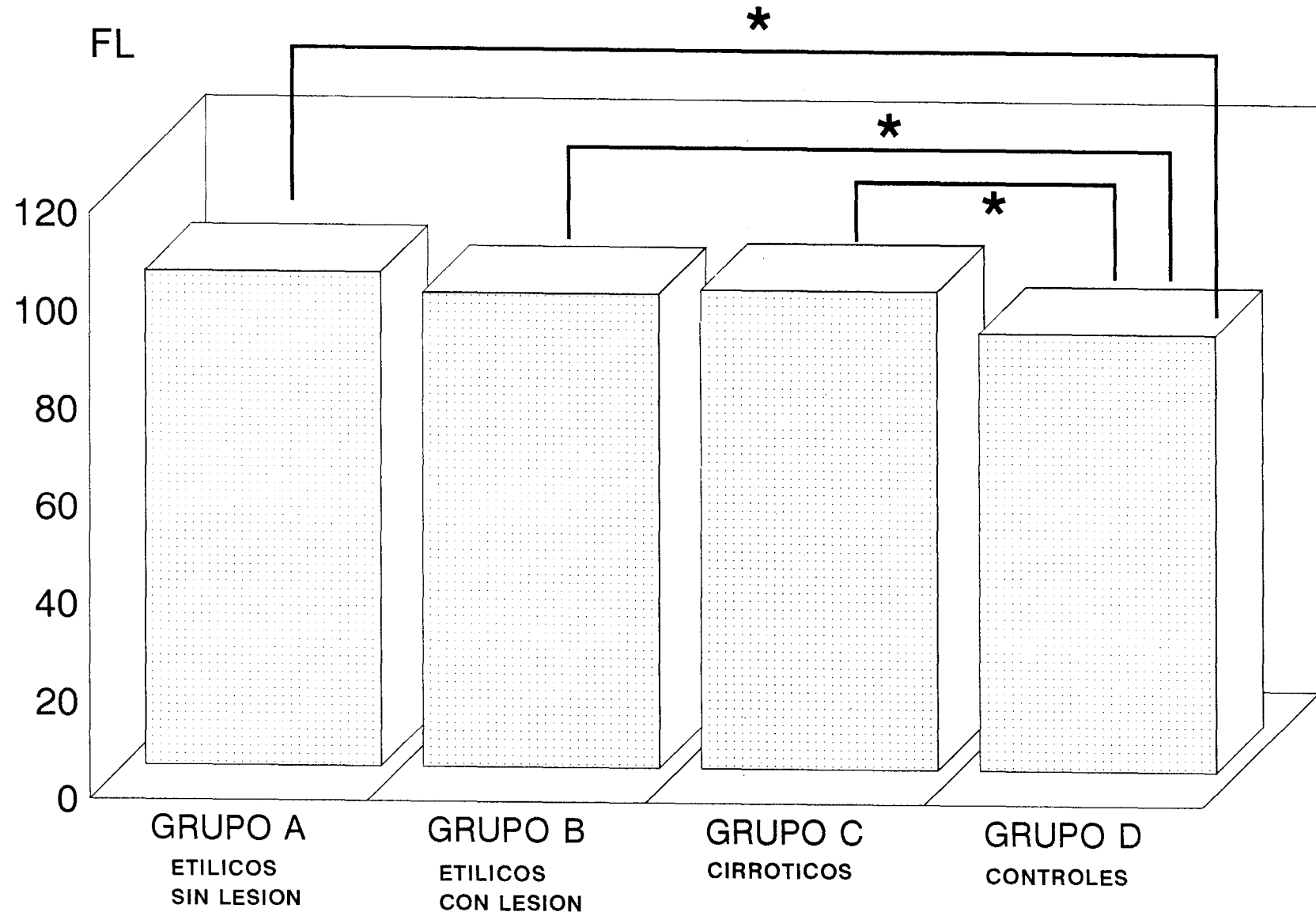
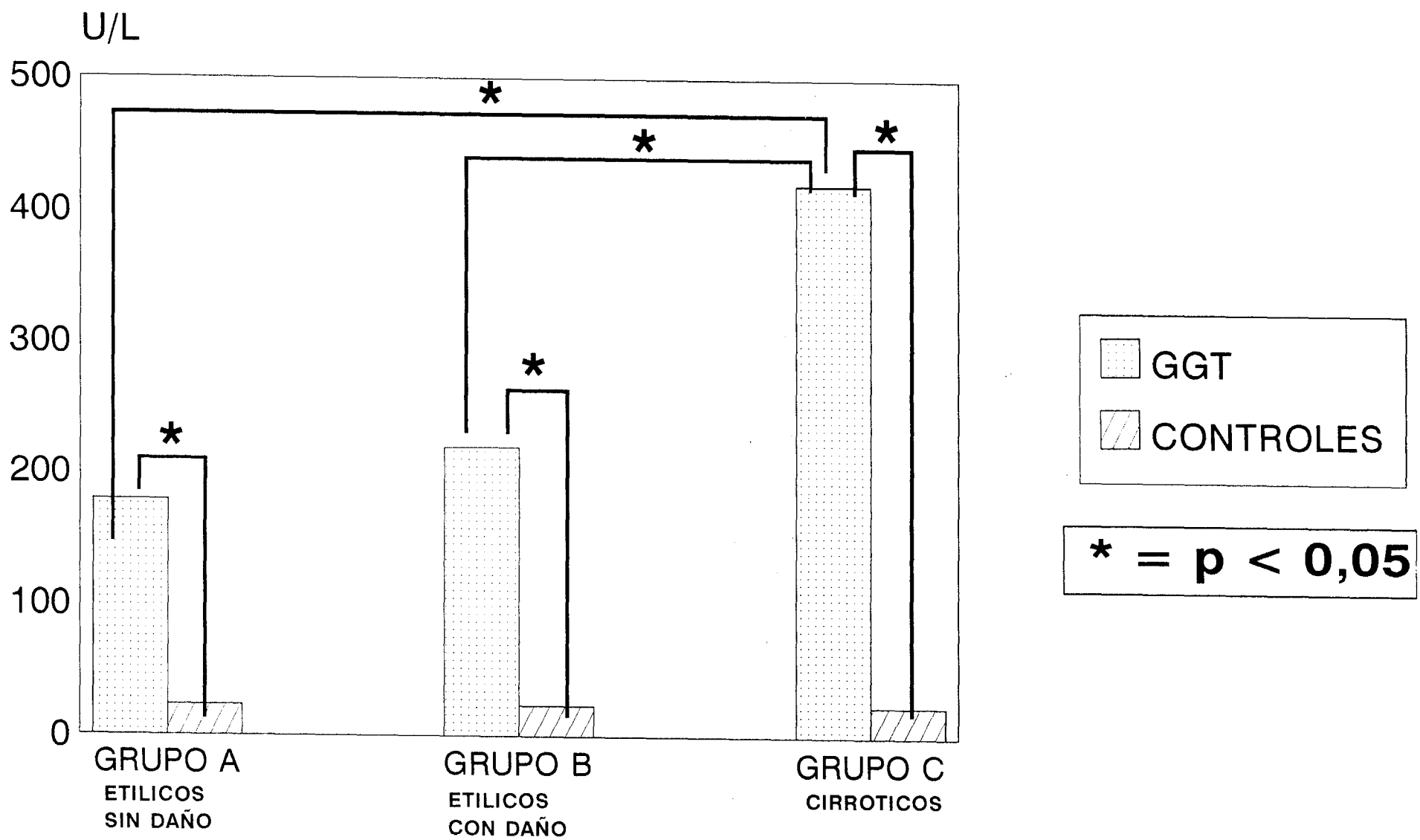


FIG. 18

\* =  $p < 0,05$

# VALOR MEDIO OBTENIDO EN LOS DISTINTOS GRUPOS DE GGT.



**FIG. 19**

# VALORES OBTENIDOS DE GOT, GPT y LAS DIFERENCIAS ESTADISTICAS

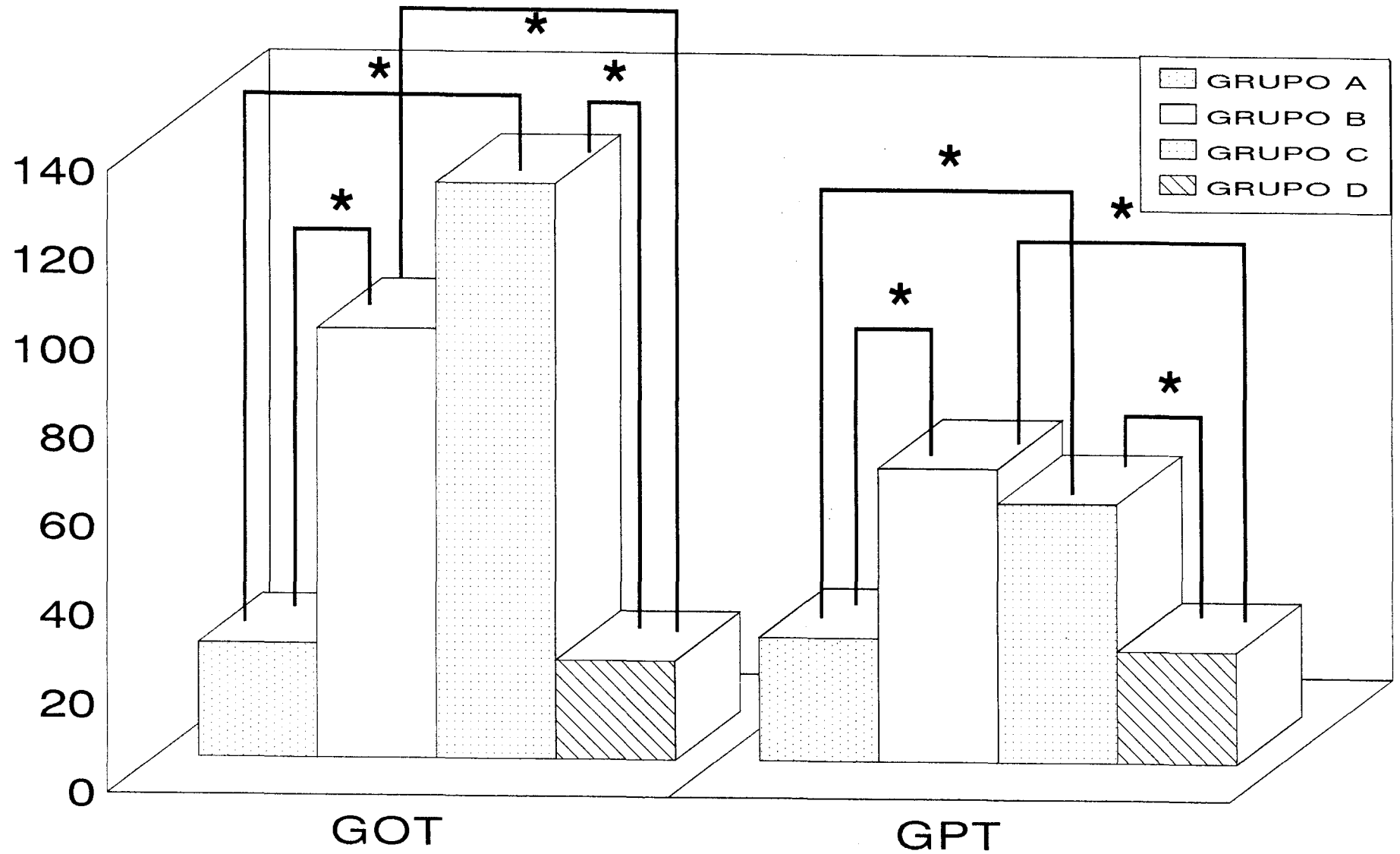


FIG. 20

\* =  $p < 0,05$

# VARIACIONES DE LA GOT Y GPT ENTRE LOS DISTINTOS GRUPOS

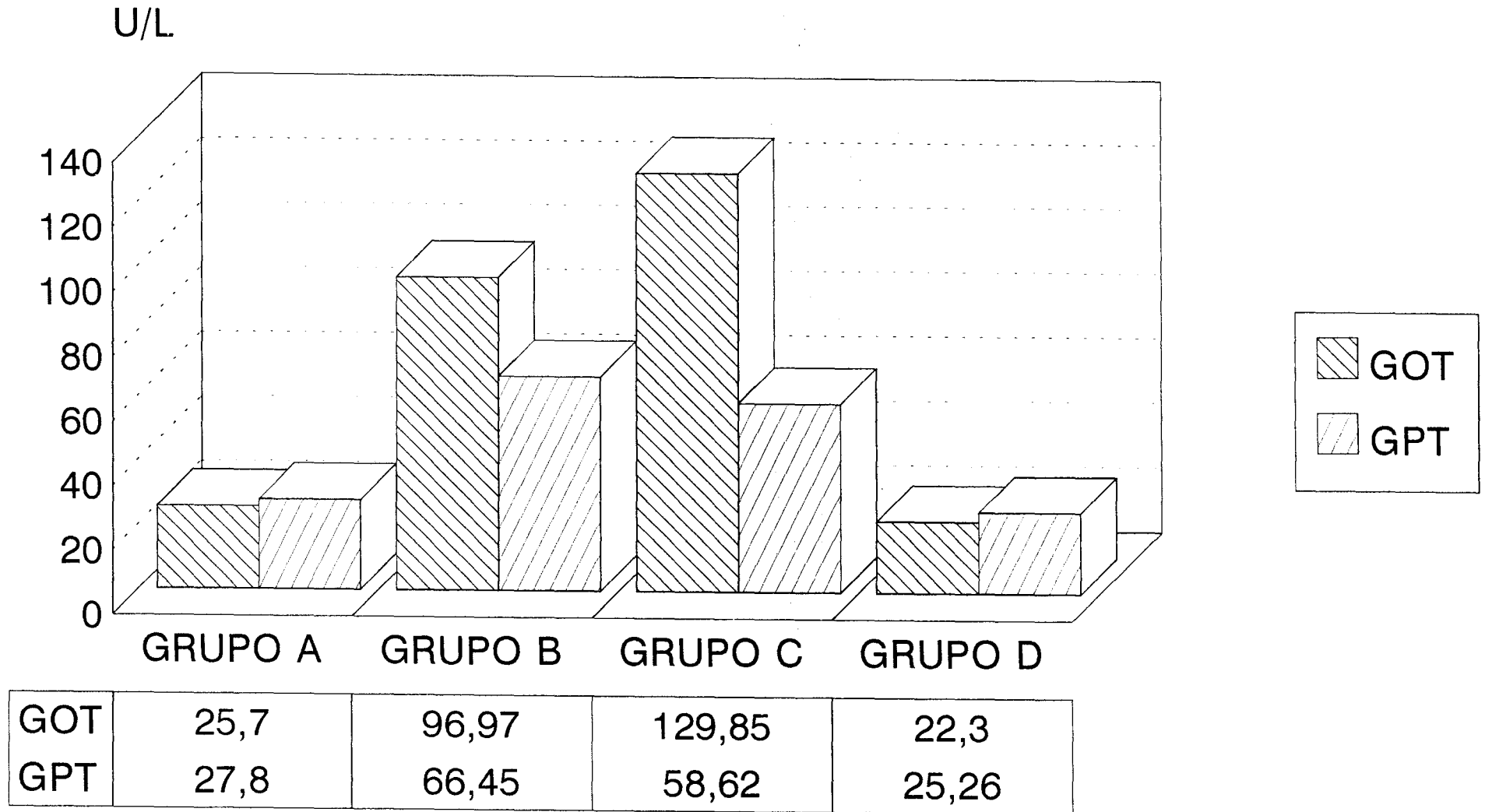
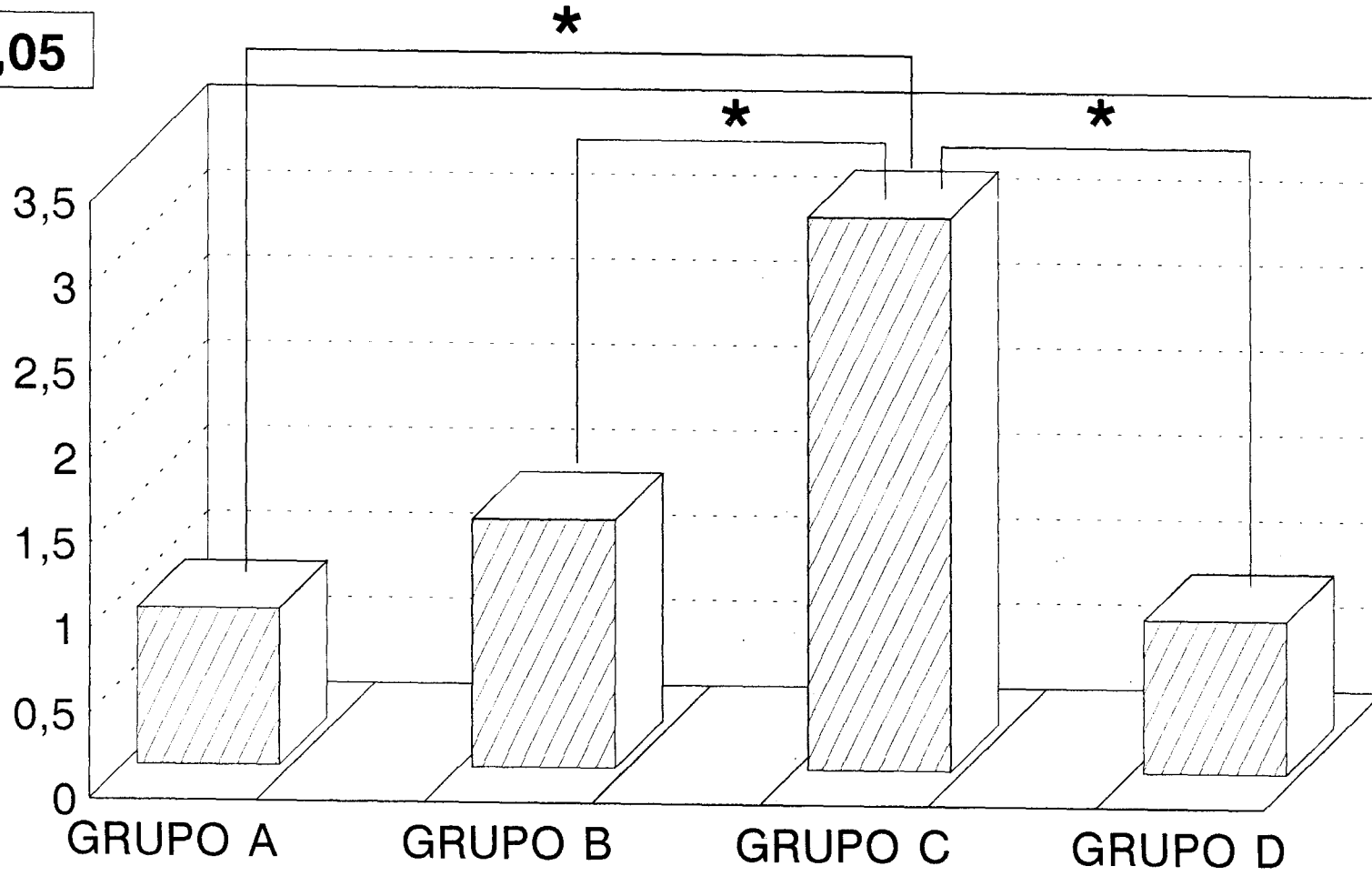


FIG. 21

# COCIENTE ENTRE LA GOT Y GPT EN LOS DISTINTOS GRUPOS COMPARADOS CON EL GRUPO CONTROL

\* =  $p < 0,05$




GOT / GPT		0,92		1,46		3,25		0,9
-----------	---	------	--	------	--	------	--	-----

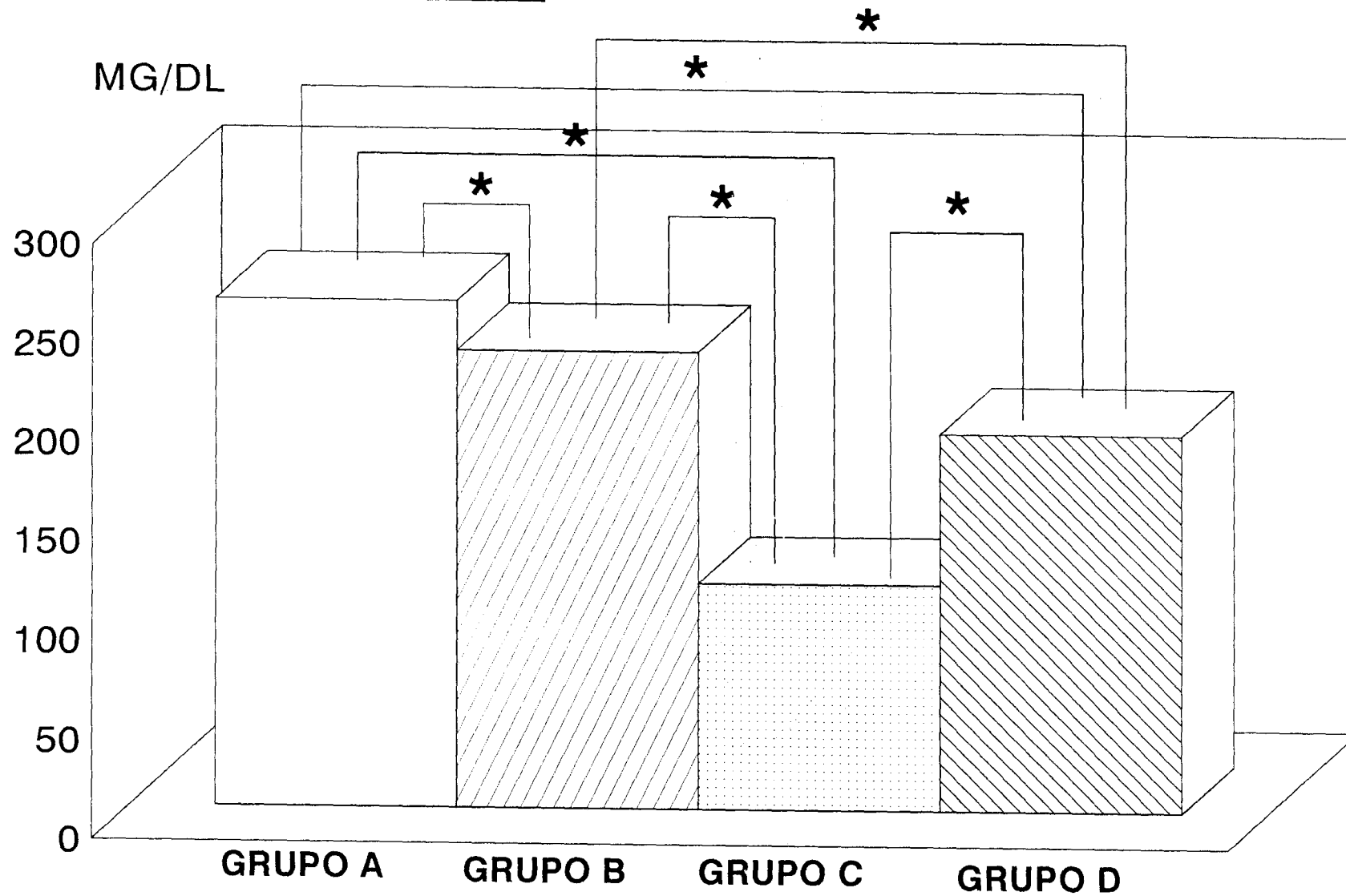
FIG. 22

# CARACTERISTICAS GENERALES DE LA POBALCION ESTUDIADA

	<b>GRUPO A</b>	<b>GRUPO B</b>	<b>GRUPO C</b>	<b>GRUPO D</b>
EDAD	45,1	50,48	59,37	49,83
ETANOL GR/DIA	144,6	160,7	170,3	10,3
VCM (FL)	101,23	97,2	98,18	89,76
IgA (MG/DL)	390,03	603,8	894,14	280,03
GGT (U/L)	178,3	219,08	420,03	23,16
GOT (U/L)	25,7	96,97	129,85	22,3
GPT (U/L)	27,8	66,45	58,62	25,26
GOT/GPT	0,92	1,46	3,25	0,9

Tabla 12

# VALORES MEDIOS DE **C. T.** Y LAS DIFERENCIAS ESTADISTICAS

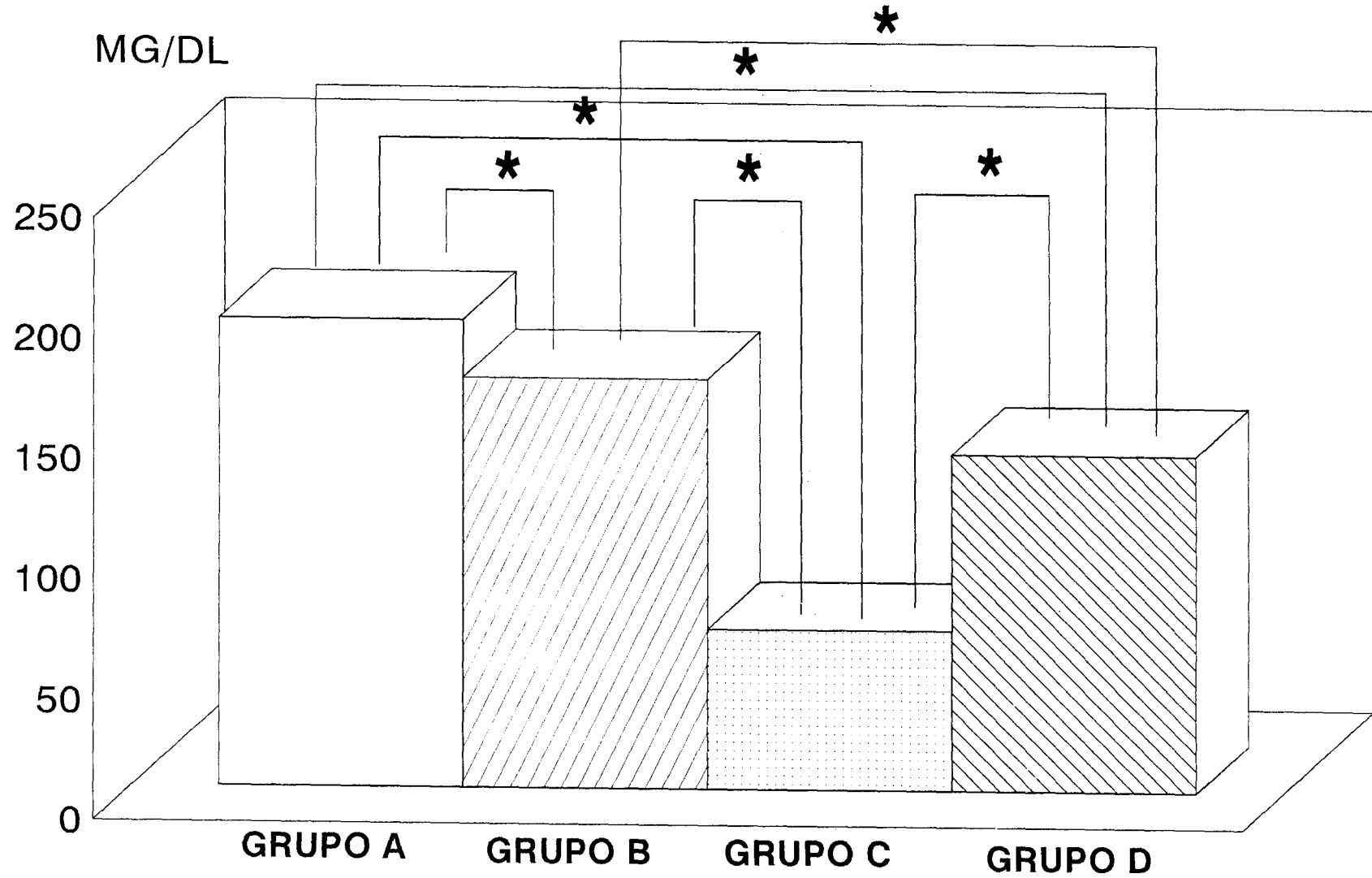


\* =  $p < 0,05$

FIG. 23



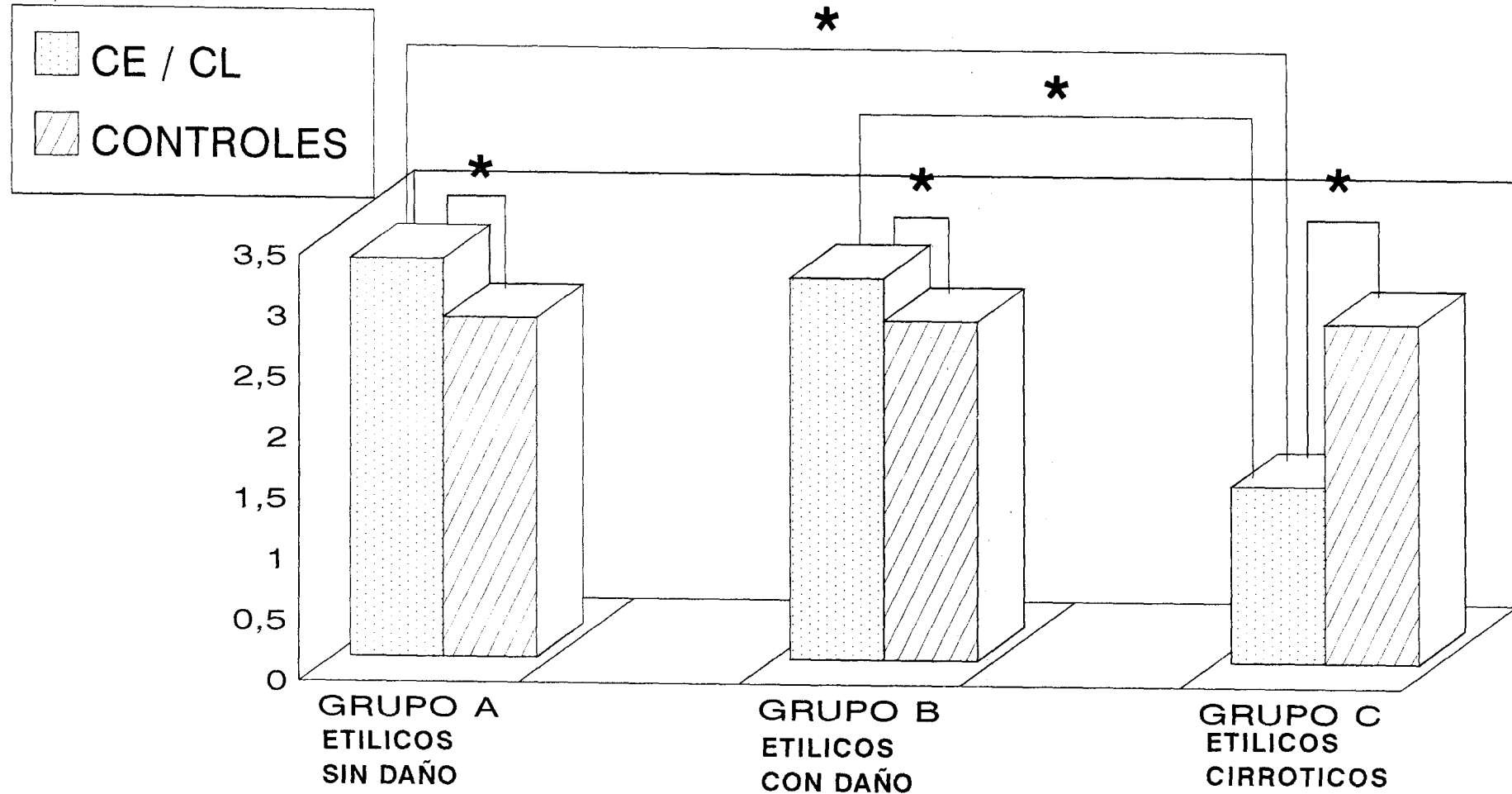
# VALORES MEDIOS DE **C. E.** Y LAS DIFERENCIAS ESTADISTICAS



\* =  $p < 0,05$

FIG.24

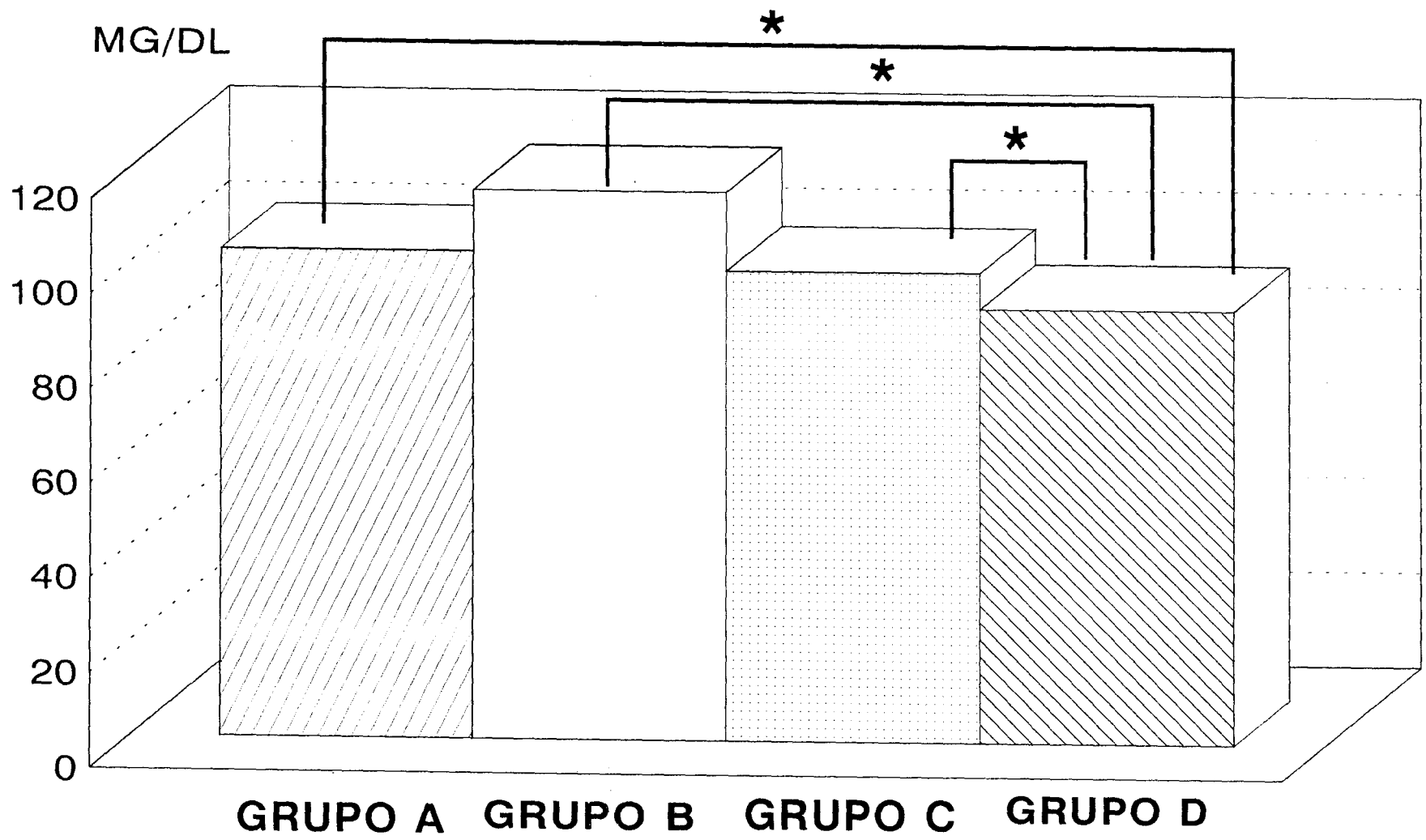
# COCIENTE ENTRE COLESTEROL ESTERIFICADO Y EL LIBRE (CE/CL) COMPARANDO A PACIENTES Y CONTROLES



\* =  $p < 0,05$

FIG. 25

**VALORES MEDIOS OBTENIDOS EN LOS DISTINTOS GRUPOS DE TRIGLICERIDOS**



\* = p < 0,05

**FIG. 26**

# VLDL Y LDL EN LOS GRUPOS ESTUDIADOS

	<u>VLDL</u>		<u>LDL</u>	
	MEDIA	DE	MEDIA	DE
<b>GRUPO A</b> etílicos sin lesión	33,5	+ - 8.4	156.3	± 16.2
<b>GRUPO B</b> etílicos con lesión no cirrótica	18.17	+ - 4.04	142.82	+ - 20.19
<b>GRUPO C</b> etílicos con cirrosis	9.37	+ - 3.21	81.11	+ - 19.8
<b>GRUPO D</b> controles	16.26	+ - 3.88	116.70	+ - 23.13

DE = DESVIACION ESTANDAR

Tabla 18

# VALORES MEDIOS DE **VLDL** EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO COMPARADOS CON EL GRUPO CONTROL

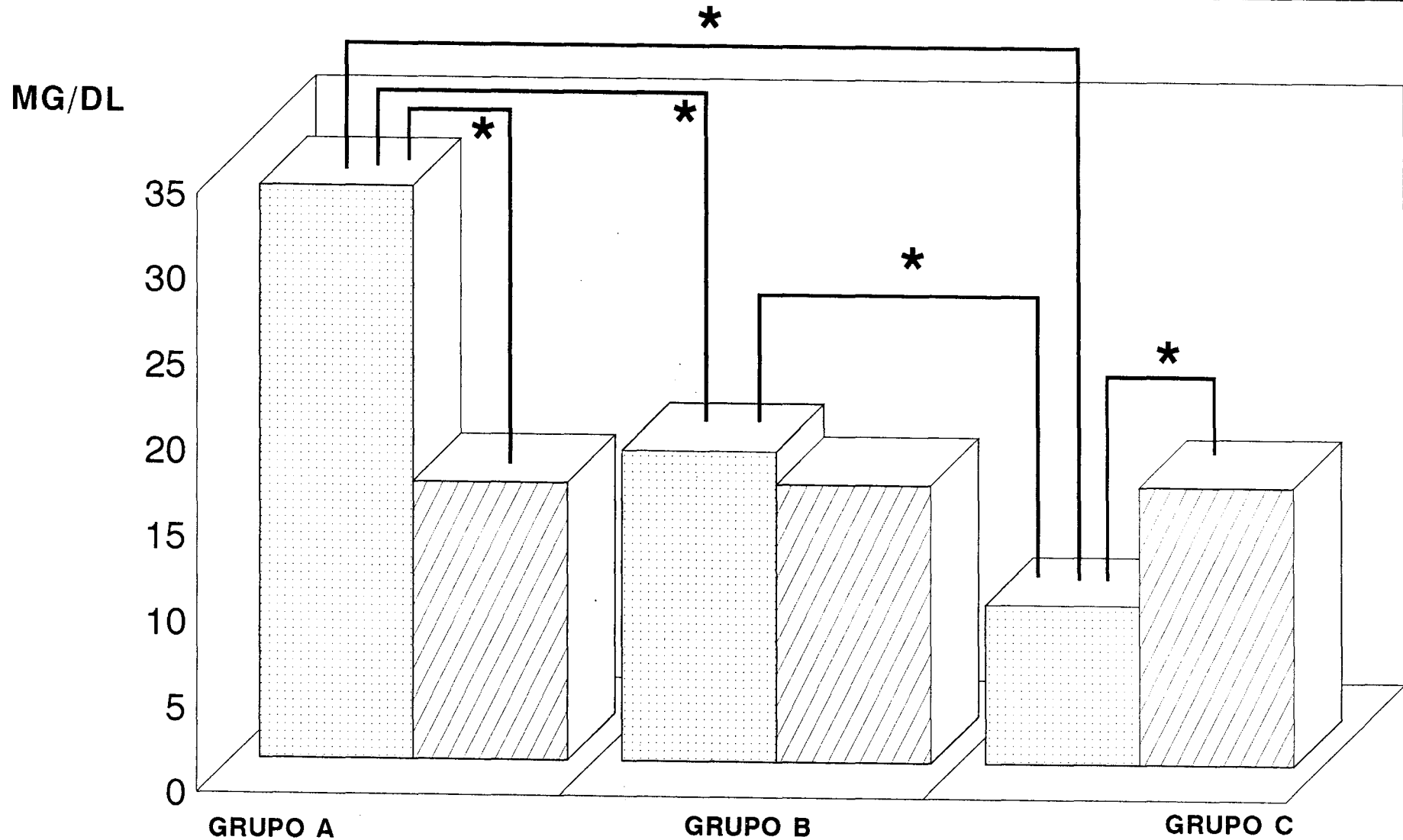


FIG. 27

\* =  $p < 0,05$



GRUPO CONTROL

# VALORES MEDIOS DE LDL EN LOS DISTINTOS GRUPOS COMPARADOS CON EL GRUPO CONTROL

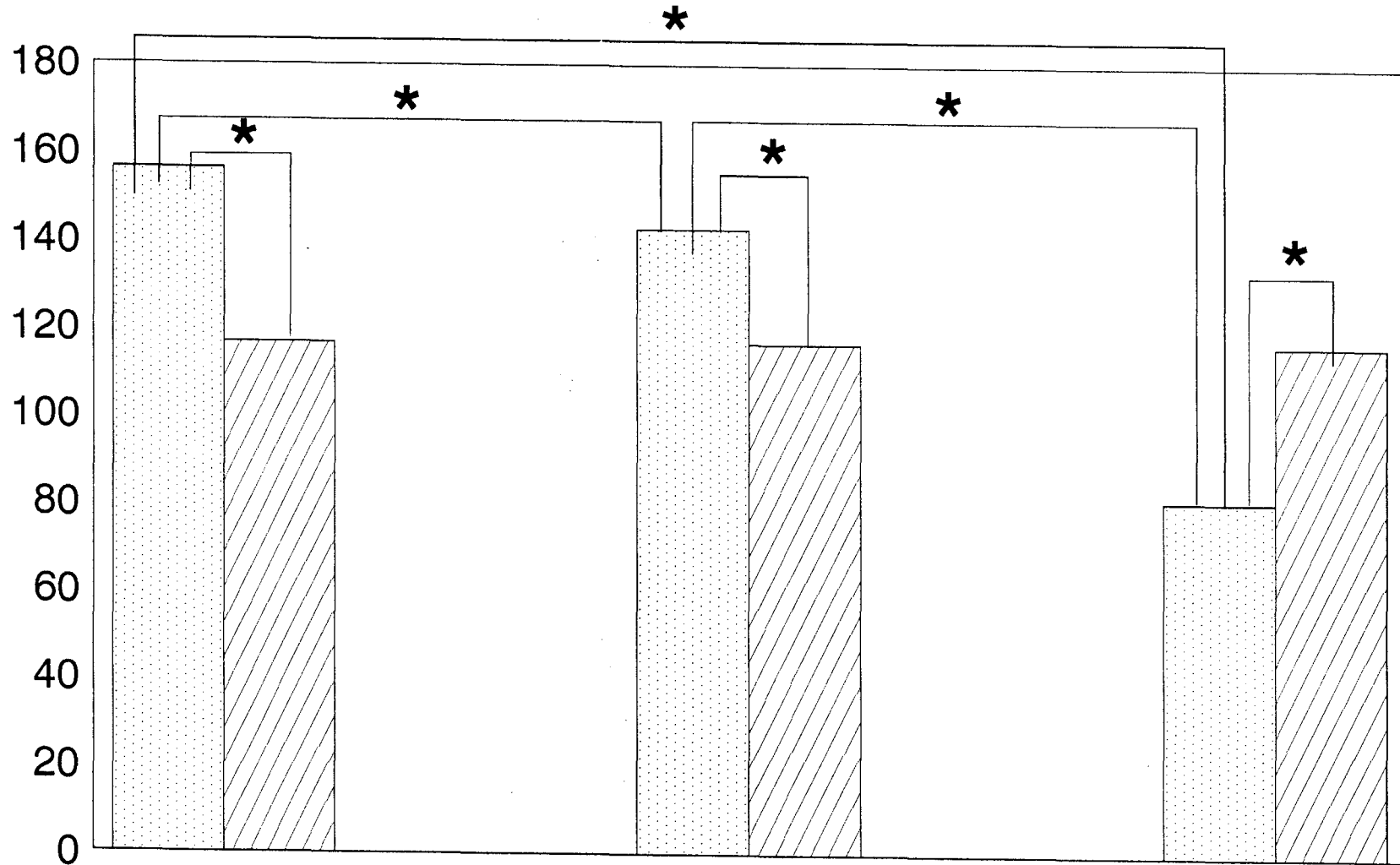


FIG. 28

\* =  $p < 0,05$



GRUPO CONTROL

# VALORES MEDIOS DE HDL-2 Y DIFERENCIAS ESTADISTICAS

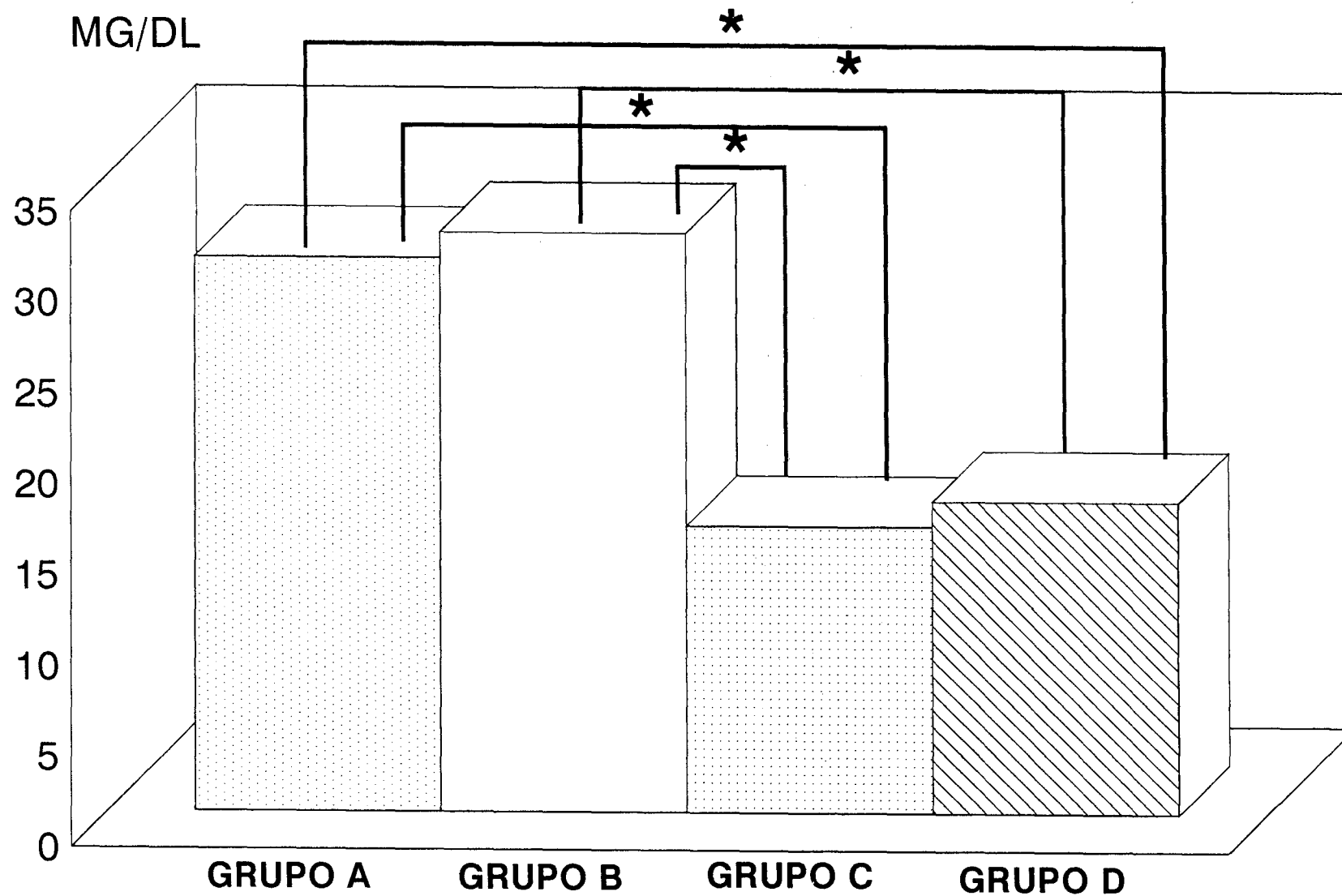


FIG. 29

\* =  $p < 0,05$

# VALORES MEDIOS DE HDL-3 Y LAS DIFERENCIAS ESTADÍSTICAS

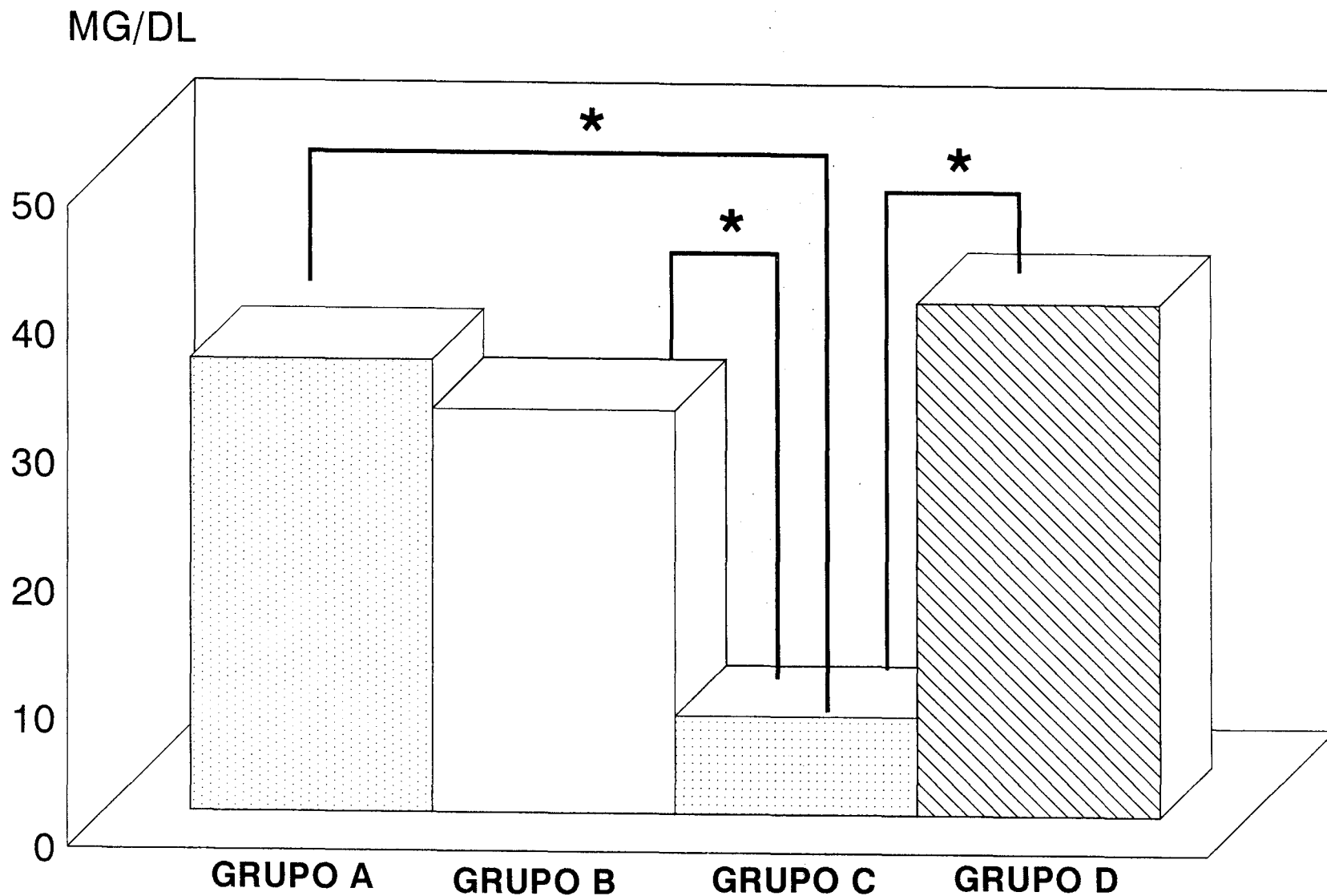


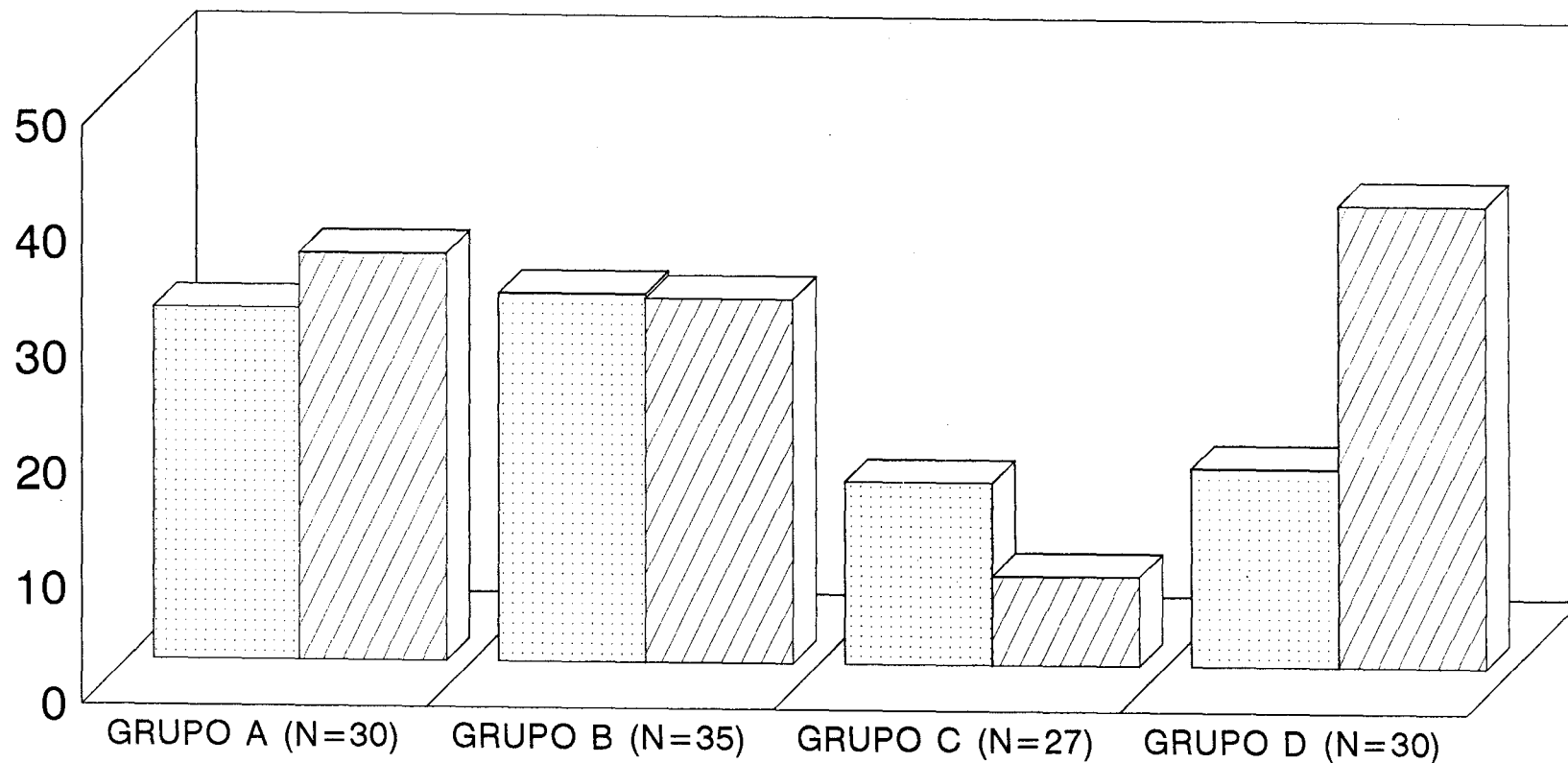
FIG. 30

\* =  $p < 0,05$



# VALORES MEDIOS DE HDL 2 Y HDL 3 OBTENIDOS EN ESTE ESTUDIO

MG/DL



HDL 2	30,5	31,94	15,81	17,2
HDL 3	35,3	31,57	7,74	40,03

FIG. 31

VALORES MEDIOS OBTENIDOS EN ESTE ESTUDIO PARA EL COCIENTE  
**HDL 2/HDL 3** COMPARANDO PACIENTES CON CONTROLES

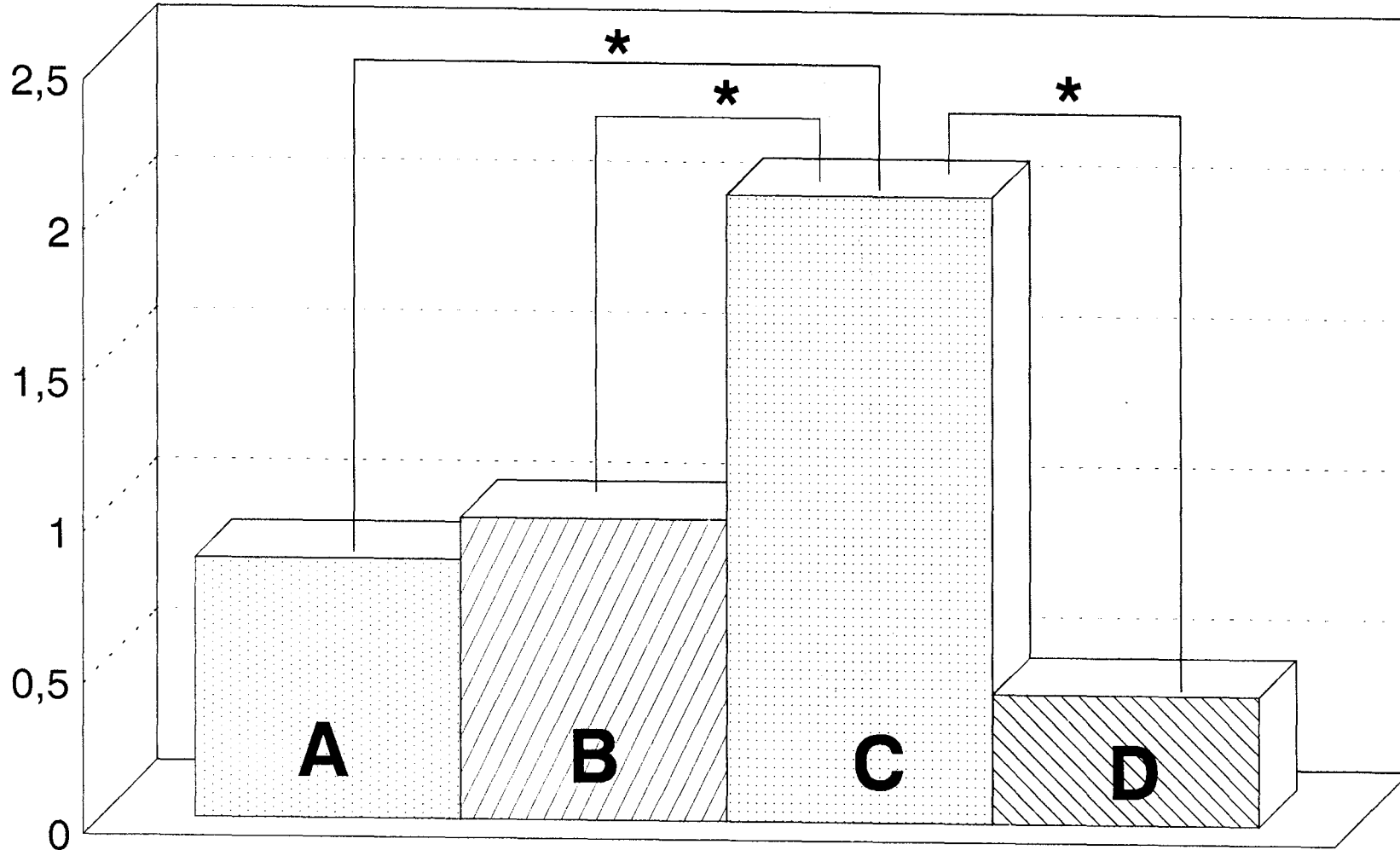


FIG. 32

\* = p < 0,05

# PERFIL DE LAS LIPOPROTEINAS EN LOS PACIENTES ESTUDIADOS

---

	C.T.	C.E.	VLDL	LDL	HDL 2	HDL 3
<u>GRUPO A</u> ETILICOS SIN LESION	255,6	194,1	33,5	156,3	30,5	35,3
<u>GRUPO B</u> ETILICOS CON LESION	230,71	170,2	18,1	142,82	31,9	31,5
<u>GRUPO C</u> CIRROTICOS	113,88	66,55	9,37	81,11	15,8	7,74
<u>GRUPO D</u> CONTROLES	190,36	139,8	16,26	116,7	17,2	40,03

Tabla 24

# VALORES MEDIOS DE APO A I EN GRUPOS DE PACIENTES COMPARADOS CON LOS CONTROLES

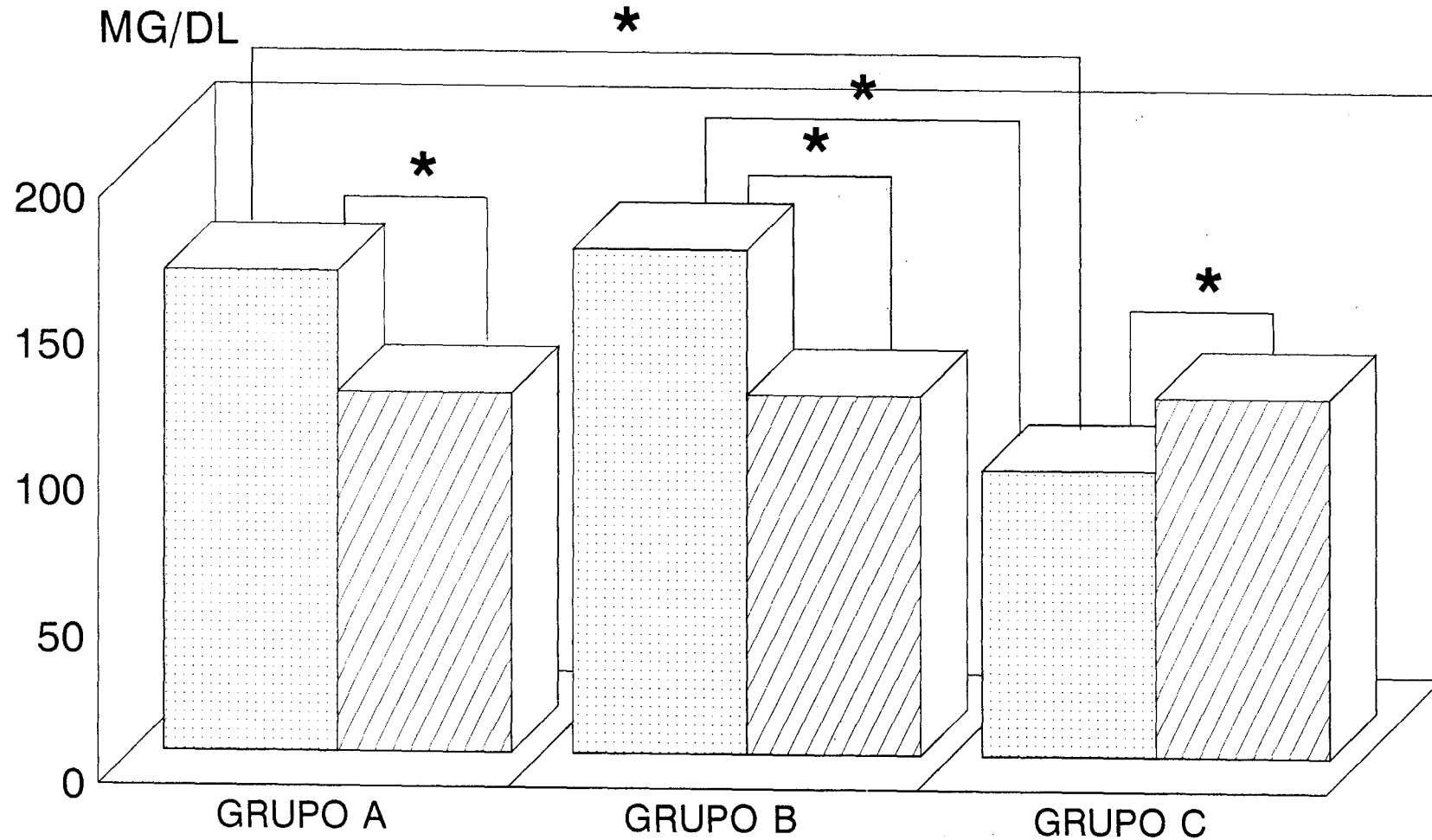


FIG. 33

\* =  $p < 0,05$   GRUPO CONTROL

# VALORES MEDIOS DE APO B 100 EN GRUPOS DE PACIENTES COMPARADOS CON LOS CONTROLES

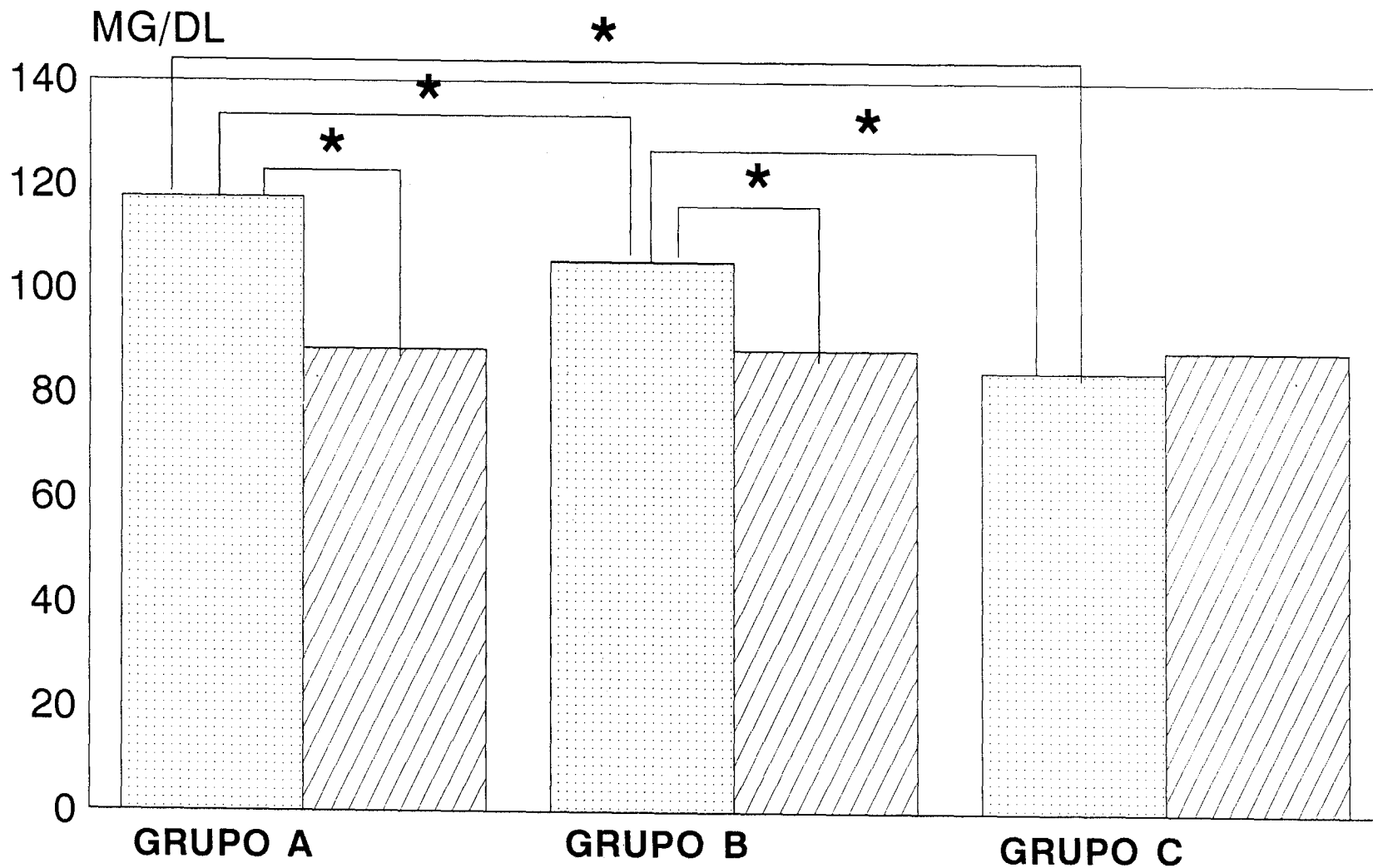
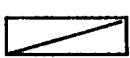


FIG. 34

\* =  $p < 0,05$   GRUPO CONTROL

VALORES MEDIOS DE **APO A I Y APO B 100** EN LOS GRUPOS DE PACIENTES  
Y EN EL GRUPO CONTROL

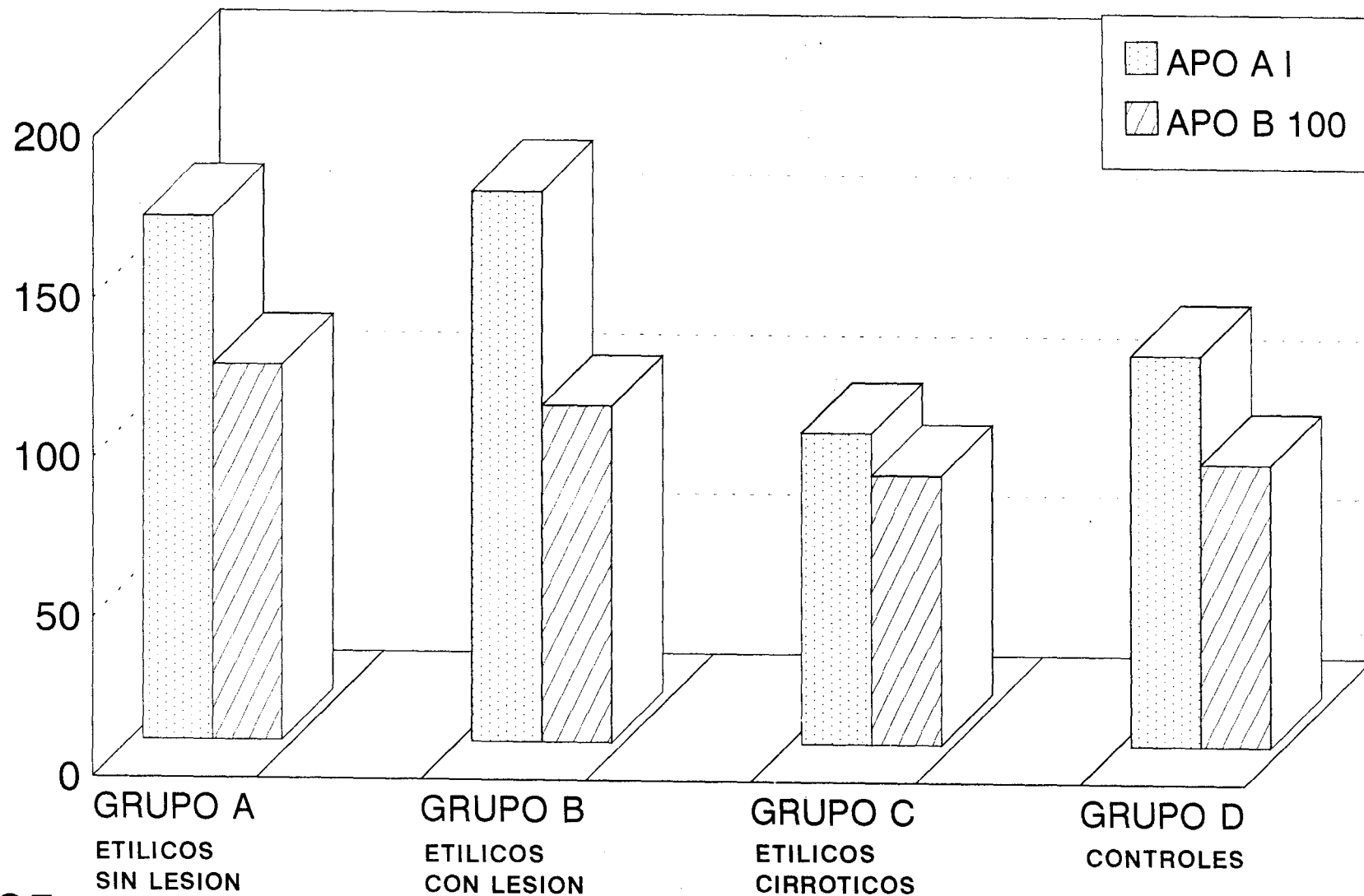


FIG. 35

**DISCUSION**



## DISCUSION

En este estudio hemos intentado evaluar el efecto de la ingesta crónica de etanol, acompañado o no de lesión hepática inducida por alcohol, sobre el sistema de transporte de lípidos en el hombre, es decir en las lipoproteínas humanas. Nosotros hemos clasificados a los pacientes en tres grupos, Grupo A, de etílicos crónicos sin lesión hepática ni clínica ni biológicamente. Grupo B, de etílicos con lesión hepática no cirrótica demostrada histológicamente. Grupo C, de etílicos cirróticos, diagnosticados histológicamente, o clínica y biológicamente, en los que no fue posible realizar biopsia. Grupo D, un grupo control de no etílicos, y sin enfermedad hepática demostrable.

Siguiendo este camino, hemos encontrado alteraciones del perfil lipídico y lipoproteico, de las cuales unas parecen estar asociadas solo al consumo crónico de etanol y otras a éste asociado a lesión hepática, reversible o no. Seguidamente se analizan nuestros resultados, y se comparan con los obtenidos en otros estudios similares.

a) Niveles elevados de HDL-2 en los alcohólicos crónicos sin o con lesión hepática no cirrótica, es decir en los grupos A y B, con diferencias estadísticamente significativas (DES) con respecto a los controles y con respecto a los etílicos con cirrosis, grupo C, los cuales tienen cifras similares a la de los controles.



En los pacientes etílicos sin cirrosis, el aumento de la HDL-2 puede ser debido a un aumento de la síntesis de HDL naciente en el hígado, por la inducción del MEOS que existe en los alcohólicos crónicos (246, 256), aunque también puede contribuir a ello el catabolismo incrementado de la VLDL y Q por el aumento de actividad de la LpL extrahepática que hay en los alcohólicos, lo cual hidroliza a los triglicéridos y libera colesterol libre, facilitando la transformación de HDL-3 a HDL-2 (7, 246, 247, 257). Además parece que existe una mala transferencia de ésteres de colesterol desde las HDL a las LDL, por una menor actividad de la CETP (proteína transportadora de ésteres de colesterol) (258). Ya en 1977, Hulley (260) demostró en un estudio de factores de riesgo que la ingesta de alcohol estaba directamente relacionada con los niveles de HDL. En los etílicos con cirrosis descienden los niveles de HDL-2, lo cual parece debido a una menor actividad de la enzima LCAT (la cual esterifica el colesterol), lo que implica una HDL estructuralmente anormal, por lo que se degrada con mayor rapidez (259).

b) Por otro lado la HDL-3 está disminuida en todos los grupos de etílicos, sin lesión hepática, con lesión no cirrótica y en cirróticos (grupos A, B y C), con respecto a los controles. Pero este descenso se produce en mayor proporción en los pacientes del grupo C (cirróticos) que en los grupos A y B, presentando una DES entre el grupo C (cirróticos) con respecto al resto de los grupos.

El descenso de la HDL-3 puede deberse a una mayor degradación de la HDL (259), así como a un empeoramiento de la conversión de la HDL-2 a HDL-3, ya que esta depende de la LpL hepática, enzima que aumenta su actividad en el alcoholismo crónico sin lesión hepática, pero cuando existe ya fibrosis disminuye su actividad, por lo que la HDL-3 desciende proporcionalmente más que la HDL-2 en los pacientes con cirrosis hepática (266).

Estos resultados son similares a los encontrados por otros autores en estudios con bebedores importantes (7, 248, 261, 262).

c) El cociente HDL-2 / HDL-3 es mayor en los pacientes etílicos en general que en los controles, pero no presenta DES entre los controles y los etílicos sin lesión o con lesión no cirrótica, en cambio, en los etílicos con cirrosis, es considerablemente mayor, casi 5 veces mayor que en los controles, con una DES con el resto de los grupos. Es decir, el cociente HDL-2 / HDL-3 aumenta conforme aumenta el grado de la lesión hepatocelular, pero sobre todo cuando existe una lesión severa, tipo cirrosis, presentando una DES en el grupo de cirróticos con respecto al resto de los grupos. Este hecho es muy similar a lo que encuentra Duhamel (7) en su estudio, proponiendo él que podría ser un parámetro útil para diferenciar a las distintas subpoblaciones de etílicos en función del grado de severidad de la lesión hepática que presenten, así como para el seguimiento de la enfermedad hepática.

d) La apoproteína A I, principal apoproteína de la HDL, juega un papel importante en la homeostasis del colesterol, ya que es la activadora de la enzima LCAT, que esterifica el colesterol. En nuestro estudio se presenta resultados muy similares a los encontrados con respecto a la HDL-2, es decir, existen niveles aumentados en los grupos A y B, sin DES entre ellos, pero sí con respecto a los controles. Pero al aumentar el grado de lesión, en el grupo C los niveles descienden marcadamente, incluso por debajo del nivel de los controles, con una DES, con respecto a estos y a los etílicos sin cirrosis. Estos hechos pueden explicarse porque parece existir una transferencia de Apo A I desde la HDL-3 a la HDL-2 como consecuencia del aumento de fosfolípidos en la HDL-2 (246). En los paciente con cirrosis hepática, en cambio disminuye la apo A I, hecho que se debe en parte a la menor síntesis hepática, y sobre todo a su mayor catabolismo, el cual es debido al desplazamiento que sufre en las HDL, por el mayor aporte que tienen de apo C desde las VLDL (263). Estos hallazgos son similares a los encontrados por otros autores (7, 259, 260, 264), que nos muestran como en los pacientes con cirrosis hepática la apo A I está significativamente descendida.

e) La lipoproteína B 100, principal apoproteína de las VLDL y LDL, parece ser que regula la síntesis de colesterol, al inhibir al enzima HMG CoA reductasa (3-hidroxi 3-metilglutaril Coenzima A reductasa) que es el enzima clave de la síntesis de colesterol hepático (181). En nuestro estudio tiene unas variaciones similares a las de HDL-2, es decir, se encuentra

elevada en los consumidores crónicos de etanol, pero los valores descienden conforme aumenta el grado de lesión hepatocelular, así los niveles mayores los encontramos entre los etílicos sin ningún tipo de lesión. En los etílicos con lesión no cirrótica los valores medios están significativamente más bajos, y en los etílicos con cirrosis hepática, descienden aun más, también con diferencias significativas, alcanzando niveles similares a los del grupo control. En otros estudios realizados con pacientes etílicos no han encontrado DES entre las subpoblaciones de etílicos según el grado de lesión ni con los controles (7, 265), aunque los niveles en los pacientes con cirrosis son menores que en los etílicos sin cirrosis.

f) El colesterol total es un parámetro que está ligeramente por encima de las cifras normales en los grupos A y B (etílicos sin lesión o con lesión no cirrótica) presentando DES entre ambos grupos de etílicos así como con el grupo control, que tiene cifras normales. En cambio, en los etílicos cirróticos los niveles están descendidos, incluso por debajo de los controles, también con DES, con respecto a todos los grupos. Este aumento del colesterol total se puede explicar por la mayor actividad de la enzima LpL, que hidroliza los triglicéridos de los quilomicrones. Quedan los Q remanentes que son ricos en colesterol, y que en los etílicos son deficientemente aclarados por el hígado. Este hecho puede deberse a una alteración en los receptores apo E, o a una saturación de los mismos por la VLDL (238). Es igual a lo que ocurre con la HDL-2, ya que este es el mecanismo por el que se aumenta su síntesis (244, 247). En

cambio, en los pacientes con cirrosis hepática el colesterol total está en niveles normales, o incluso descendido, al empeorar la función hepatocelular. Aunque estos hallazgos son similares a los encontrados en la literatura (7, 248, 265), en estos estudios no parece confirmarse el que existan diferencias estadísticamente significativas entre las subpoblaciones de etílicos en función del grado de lesión, por lo que el CT no sería un parámetro que pueda ser útil como dato aislado para evaluar la evolución de la enfermedad hepática en los etílicos crónicos.

g) El colesterol esterificado (CE), al igual que el CT, está más elevado en los etílicos sin lesión hepática y va descendiendo en relación inversa al grado de lesión, presentando los valores más bajos en los cirróticos, además con DES entre los diferentes grupos de etílicos y con el grupo control. El aumento de CE en los etílicos sin lesión severa se debe a los mismos mecanismos que aumentan el CT (238, 244, 247), es decir, a un aumento de la actividad de la LpL, aumentando los Q remanentes y los residuos de VLDL, ricos en colesterol, a partir de los cuales se transfiere a las HDL, siendo esterificado en el paso de HDL-3 a HDL-2. Pero el descenso de CE en los cirróticos es proporcionalmente mayor que el ocurrido con el CT, lo cual se debe además a una menor síntesis de LCAT, así como al menor nivel de Apo A I, que es su activador, por el aumento de su degradación, por lo cual se esterifica muy poco colesterol (259). Estos resultados son similares a los que han observado el resto de los autores en sus respectivos estudios (7, 248).

h) La proporción CE / CL es un cociente más interesante para conocer la función hepatocelular, que el determinar el colesterol total, ya que cuando existe una cirrosis, este cociente disminuye significativamente con respecto a los pacientes etílicos sin cirrosis y con respecto a los controles. Este hecho es el que nosotros hemos encontrado en nuestro estudio, al igual que el resto de los autores (7, 248, 251). La patogenia de este fenómeno se debe a la deficiente esterificación de colesterol que existe en los pacientes con fibrosis hepática, por la menor actividad de la LCAT, al existir menores niveles de Apo A I, por su mayor degradación (259).

i) Los triglicéridos (TG) en nuestro estudio se encuentran en todos los grupos de pacientes etílicos y en el control dentro de los niveles normales, aunque los niveles van descendiendo desde los pacientes del grupo A, que tienen los niveles más elevados, seguidos por los del grupo B y por último los del grupo C, presentando los niveles más bajos los controles, llegando éstos a tener una DES con todos los grupos de pacientes. El hecho de que los pacientes etílicos crónicos presenten niveles superiores de TG suele ocurrir en ausencia de daño hepático severo (267). Se debe al aumento en la síntesis de VLDL (268) incluso en ayuno. En nuestro estudio no encontramos diferencias entre los grupos de etílicos en función del grado de lesión, por lo que al igual que Duhamel (7) creemos que no es un buen índice de alcoholismo ni de enfermedad hepática.

j) La VLDL es una lipoproteína rica en TG, que en los pacientes etílicos suele estar por encima de los valores normales ya que en el hígado se aumenta su síntesis y secreción (236) siendo partículas de mayor tamaño que las normales. Además existe una disminución en la actividad de la enzima triglicérido lipasa, por lo que se degrada menos (251). Pero cuando existe una lesión hepática severa, del tipo de cirrosis ya no se aprecia una elevación de la VLDL (7). Nosotros hemos encontrado que son los etílicos sin lesión hepática los que presentan los niveles mas elevados y los etílicos con cirrosis los mas bajos, existiendo DES entre estos dos grupos, pero estos resultados no se confirman en la literatura, ya que los diferentes estudios son contradictorios a este respecto, en unos no hay DES (248), en otros no encuentran diferencias (265) y otros sólo encuentran DES para los etílicos sin lesión hepática (7).

k) La LDL suele estar disminuida en los pacientes etílicos sin lesión hepática (246). Cuando progresa la lesión hepática se aumenta la LDL, lo cual está en relación con la alteración de los receptores apo E, que captan menos LDL, y por lo tanto se degrada menos (151). Otros autores (269) defienden que hay menos afinidad de la LDL a los receptores por una anormal estructura de la LDL. Nuestros resultados no concuerdan con lo descrito en este apartado, ya que encontramos niveles mas altos en los etílicos sin lesión y más bajos en los etílicos con cirrosis. Pero en la literatura encontramos tanto niveles altos en cirróticos (7, 270) como niveles bajos (246) ya que es un parámetro que parece depender más de las condiciones experimentales usadas.

**CONCLUSIONES**



## CONCLUSIONES

Dado los resultados que hemos obtenido en este estudio, que ya han sido expuesto y discutido, podemos sacar las siguientes conclusiones:

1.- La cifra de HDL-2 se encuentra elevada en los pacientes que consumen etanol de forma crónica o continuada, siempre que no exista lesión hepática severa, por lo cual sería un índice de para evaluar si existe ingesta reciente de alcohol en esta subpoblación de etílicos.

2.- El cociente HDL-2 / HDL-3, se encuentra en los pacientes etílicos con cirrosis establecida hasta 5 veces por encima de lo normal, estableciendose además un aumento conforme aumenta el grado de lesión hepática, por lo que su estudio seriado en un paciente alcohólico crónico podría ser considerado como un buen índice para el seguimiento de la enfermedad hepática. Su determinación aislada a un grupo de pacientes etílicos crónicos puede ayudar a diferenciar a los distintos subgrupos en función del grado de lesión hepatocelular.

3.- Las determinaciones conjuntas de apo A I y apo B 100 de forma seriada en un paciente etílico puede ayudar en el seguimiento de la enfermedad hepática en este paciente (al igual que el cociente HDL-2 / HDL-3). Su determinación aislada en un grupo de pacientes etílicos puede servirnos para diferenciarlos en función del grado de lesión hepática.

4.- El colesterol total por sí mismo, y de forma aislada no parece un buen indicador del grado de lesión hepatocelular ni de la ingesta crónica de etanol, ya que sus oscilaciones son poco marcadas, y dentro de los rangos de la normalidad, por lo general.

5.- En cambio, el cociente CE / CL si puede ser un buen indicador del grado de lesión hepatocelular, ya que en los pacientes con cirrosis hepática se encuentra hasta un 50% descendido con respecto a los pacientes sin cirrosis, sean etílicos o no.

6.- Los triglicéridos, al igual que el colesterol, presentan cifras más elevadas en los pacientes etílicos sin cirrosis hepática que en los pacientes con cirrosis, pero sin diferencias estadísticamente significativas por lo que no creemos que sea un buen indicador ni de ingesta continuada de etanol, ni de lesión hepatocelular.

7.- La VLDL se puede considerar un buen parámetro de ingesta etílica continuada, ya que se eleva en los alcohólicos sin lesión hepática, así como un marcador de enfermedad hepatocelular, debido a su descenso cuando ésta se va estableciendo.

8.- La LDL en nuestro estudio se presenta con niveles superiores en los etílicos sin lesión hepática con respecto a los etílicos con cirrosis, con diferencias significativas, por lo que podría servir para evaluar el establecimiento de la lesión

hepática en los alcohólicos crónicos que persisten con el hábito etílico.

**BIBLIOGRAFIA**

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- LIEBER, CH.S. "Alcohol and the Liver". En Medical Disorders of Alcoholism. Pathogenesis and Treatment. 1982, vol.XXII. Ed. Saunders Company.
- 2.- RAVI VARMA, L.A. "Alcoholism in Ayurveda". Quart J Stud Alcohol, 1950, 11: 484-488.
- 3.- VÁZQUEZ IGLESIAS, J.L. "Epidemiología del hígado alcohólico en la población gallega". En Hepatopatía Alcohólica. Pajares García, J.M. (Ed) Simposium de la Sociedad Española de Hepatología, 1981. Gaez S.A. Madrid.
- 4.- JELLINEK, E.M. "Estimating the Prevalence of Alcoholism: Modified values in the Jellinek formula and the alternative approach". Quart J Stud Alcohol, 1959, 20: 261-264.
- 5.- ALONSO-FERNÁNDEZ, F. "Epidemiología del Alcoholismo en España". II Coloquio Hispano-Luso de Gastroenterología. Herrerías, J.M. (Ed.). Sevilla 1980.
- 6.- UGARTE, G., ITURRIAGA, H., INSUZA, I. "Algunos efectos del alcohol sobre el hígado normal y patológico". En: "Progresos en Patología Hepática". Ed. Científico-Médica, Barcelona, 1972.
- 7.- DUHAMEL, G., NALPAS, B., GOLDSTEIN, S., LAPLANND, S.M. "Plasma Lipoprotein and Apolipoprotein profile in Alcoholic

Patients with and without Liver Disease: On the Relative Roles of Alcohol and Liver injury". *Hepatology*, 1984, 4: 577-581.

8.- HERRERÍAS, J.M., "Hígado y Alcohol". En "Simposium de la Sociedad Española para el estudio de las enfermedades del hígado". Herrerías, J.M. (Ed). Valencia, 1987.

9.- HERRERÍAS, J.M. "Hepatopatía Alcohólica". En "Hepatología" Tomo I. Herrerías J.M. Aula Médica, 1987.

10.- GARCÍA LÓPEZ, A.: "Alcoholismo". FOMECO, 1995, vol. 3 (1): 6-12.

11.- ADDISON, T. "Observations on fatty degeneration of the liver" *Guy's Hospital Reports*, 1936, 1: 476-479.

12.- ROKITANSKY, C. "A manual of Pathological Anatomy". London, Sydenhan Society, 2, 1949.

13.- JOLLIFFE N., JELLINEK E.M.: "Cirrhosis of the Liver". En: Jellinek E.M. (Ed) "Alcohol Addiction and Chronic Alcoholism". New Haven, Yale University Press, 1942.

14.- SCHMIDT, W. "The epidemiology of Cirrhosis of the liver: A statistical analysis of mortality data with special reference to Canada". En Fisher, M.M., and Hankin, J.Q. (Eds) "Alcohol and the Liver". New York, Plenum Press, 1977.

15.- LIEBER, C.S., DECARLI, L.M.: "Metabolic effects of alcohol on the Liver". En: Lieber, C.S. (Ed). "Metabolic aspects of Alcoholism". Baltimore, University Park Press, 1977.

16.- FISHER, M.M. AND HANKIN, J.G.: "Alcohol and the Liver". Vol. 3, New York, Plenum Press, 1977.

17.- PEQUIGNOT, G., TUYSNS, A.J., BERTE, J.L.: "Ascitic cirrhosis in relation to alcohol consumption". Internat.J. Epidemiol. 1978, 7: 113-116.

18.- SHERLOCK, SH.: "Diseases of the Liver and Biliary system". Six Edition, 1981.

19.- NAKAMURA, S., TAKEZAWA, Y., SATO, I.: "Alcoholic Liver Disease in Woman". Tohoku, J. Exp. Med. 1979, 129: 351-354.

20.- MORGAN, M.Y., SHERLOCK, SH. "Sex related differances among 100 patiens with alcoholic liver disease". Br. M. J. 1977, 3: 939-942.

21.- LELBACH, W.L.: "Epidemiology of alcoholic liver disease". En Progress in Liver Disease. Vol 5, Grune and Stratton, New York, 1976.

22.- HERRERÍAS, J.M., PÉREZ CANO, R.: "Aspectos Epidemiológicos del Alcoholismo en el Mundo Occidental". En:

Herrerías, J.M. "Higado y alcohol". II Coloquio Hispano-Luso de Gastroenterología, Sevilla, 1980.

23.- PELL, S., D'ALONSO, C.A.: "The prevalenca of chronic disease among problem drinkers". Arch Environmtl Health, 1968, 16: 679-681.

24.- LELBACH, W.K. "Cirrhosis in the alcoholic and its relation to the volumen of alcohol abuse". Ann N Y Acad Sci, 1975, 252: 85-89.

25.- KULER, L., KRAMER, K., FISHER, R. "Changing trends in cirrhosis and fatty liver mortality". Am J Public Health and the Nation's Health, 1969, 59: 1124-1129.

26.- International Statistics on Alcoholics Deverage: Produccion Trade and Consumption 1950-1972. En "The Finnish Foundation for Alcohol Studies and the World Helth Organization Regional Office for Europe". Forssa. Finland, Auresen Kirjapaino. Distributed by finnish Foundation for Alcohol Studies. Helsinki, 1977.

27.- Alcohol and Health. Tourth Special Report to the U.S. Congress: National Institute of Mental Health, National Institute of Alcohol Abuse and Alcoholism. DHEW Publication, 1981.



28.- HANKIN, J.G.: "The natural history and management of the patients with alcoholic liver disease". En Fisher, M.M. and Hankin, J.G. (Eds) "Alcohol and the Liver". N.Y.Plenum Press. 1977, 365-381.

29.- New York City: Summary of Vital Statistics 1979. Department of Health, The City of New York, Bureau of Health Statistics and Analysis, 1974.

30.- HERRERÍAS, J.M., PÉREZ CANO, R.: "Aspectos químicos y metabólicos del etanol". En Herrerías, J.M. (Ed). "Hígado y Alcohol". II Coloquio Hispano-Luso de Gastroenterología, Sevilla, 1980.

31.- KREBS, H.A., PERKINS, J.R. Cit for Comporti, M.: "Etanol-Induced liver injury". En: Biochemical mechanism of liver injury. Academy Press LONDON, 1978.

32.- GUERRI, C. "Alteraciones enzimo-metabólicas en el hígado alcohólico". En Pajares J.M. (Ed) "Hepatología Alcohólica". Simposium de la Sociedad Española de Hepatología, 1982.

33.- GOBERNA, R. "Metabolismo del etanol". en "Hígado y alcohol". Herrerías, J.M. II Coloquio Hispano-Luso de Gastroenterología, Sevilla 1980.

34.- LIEBER, C.S. "Alcohol Metabolism". En "Alcoholic Liver Disease. Pathobiology, epidemiology and clinical aspects".

Lieber C.S. Ed. by Pauline hall. Editorial Edwar Arnold Publish.  
London, 1985.

35.- LI, T.THEORELL,H. Acta Chem Scam, 1962, 23: 892-895.

36.- KREBS, H.A., PERKINS, J.H. "The physiological rols of  
liver alcohol dehidrogenase". Biochemical Journal, 1970, 118:  
635-640.

37.- OKUDA, A., OKUDA, K. "Physiological function and  
kinetic mechanism of human liver alcohol dehydrogenase as 5-beta-  
cholestane-3-alfa, 7-alfa, 12-alfa, 26 tetrol dehydrogenase". J.  
Biol. Chem. 1983, 258: 2899-2904.

38.- SJOVELL, J., ANDERSSON, S.H.G., LIEBER, C.S. "Bilis  
acides in the mice lacking liver Alcohol Dehydrogenase". Biochem  
Biophys Act, 1985, 836: 8-14.

39.- BERGER, D., BERGER, H., VON WARTBURG, J.P. "Structural  
Studies of human liver alcohol dehydrogenase isoenzymes". Eur  
J Biochem 1974, 50: 215-219.

40.- YOSHIDA, A., IMPRAIN, C.C., HUANG, I.Y. "Enzymatic and  
structual differences between usual and atypical human liver  
alcohol dehydrogenase". J BiolChem, 1981, 256: 12430-12437.

41.- VON WARTBURG, J.P., PAPEMBERG, J., AEBI, H. "An atypical human alcohol dehydrogenase". Canadian J Biochemistry, 1965, 43: 889-895.

42.- EDWARDS, J.A., EVANS, D.A.P. "Ethanol metabolism in subjects possessing typical and atypical liver alcohol dehydrogenase". Clin Pharmacol Ther, 1967, 8: 824-830.

43.- HAWKINS AND KALANT: "Ethanol Metabolism". Pharmacol Rew 1972, 24(1): 67-73.

44.- BLAIR, A.H., VALLE, B.L., "Some catalytic properties of human liver alcohol dehydrogenase". Biochemistry, 1966, 5: 2026-2031.

45.- HARRIS, I., "Structure and catalytic activity of alcohol dehydrogenase". Nature (London) 1964, 203: 30-36.

46.- THEORELL, H. "Function and structure of liver alcohol dehydrogenase". Harvey Lect 1967, 61: 17-24.

47.- VON WARTBURG, J.P., BETHUSE, J.L., VALLE, B.L. "Human liver alcohol dehydrogenase: Kinetic and Physichemical Properties". Biochemistry, 1964, 2: 1775-1779.

48.- WALLGREN, H., BARRY, H.: "III: Actions of alcohol". Elsevier Publ C Amsterdam, 1970 (vol.2, pp 871).

49.- LESTER, D. "The concentration of apparent endogenous ethanol". *Quant J Stud Alc*, 1962, 23: 17-21.

50.- WALKER, G.W., CURRY, A.S. "Endogeneous alcohol in body fluids". *Nature (London)*, 1968, 210: 1368-1373.

51.- MCMANUS, I.H., CONTAG, A.D., OLSON, H.E.: "Studies on the identification and origen of ethanol in mammalian tirues". *J Biol Chem* 1966, 241: 349-354.

52.- THEORELL, H., CHANCE, B.: "Studies on the liver alcohol dehydrogenase and reduced diphosph pyridin". *Acta Chemica Scandinava*, 1951, 5: 1127-1130.

53.- DOMSCHKE, S., DOMSCHKE, W., LIEBER, C.S.: "Hepatic redox state: Attenuation of the acute effects of ethanol induced by chronic ethanol consumption". *Life Science*, 1974, 15: 1327-1331.

54.- LUNDQUIST, F., TYGSTRUP, N., WINKLER, K., MELLEMGAARD, K., MUNCK-PETERSENS: "Ethanol metabolism and production of free acetate in human liver". *J Clin Invest*, 1962, 41: 955-961.

55.- TYGSTRUP, N., WINKLER, K., LUNDQUIST, F.: "The mechanism of the fructose effects on the ethyl alcohol metabolism of the human liver". *J Clin Invest* 1965, 44: 817-822.

56.- FORSANDE, O.A.: " Influence of ethanol on the redox state of the liver". J Stud Alc, 1970, 31: 550-554.

57.- REDETZKI, H.M.: "Discussion". En "Biochemical and Clinical Aspects of Alcohol Metabolism". Sardesai, V.M. (Ed.), Charles C. Thomas, Springfield, III, 1969.

58.- CHAPPELL, J.H.: "Systems used for transport of substrates into mitochondria". British Medical Bulletin, 1968, 24: 150-155.

59.- BROWN, S.S., FORREST, J.A.H., ROSCOE, P.: "A controlled trial of fructose in the treatment of acute alcoholic intoxication". Lancet, 1982, 2: 898-902.

60.- GRUNNET, N.: "Oxidation of extra-mitochondria NADH by rat liver mitochondria: Possible role of acyl-SCoA elongation enzyme". Biochemical and Biophysical Res commun, 1970, 41: 909-911.

61.- LIEBER, C.S., SPRITZ, N., DECARLI, L.M.: "Role of dietary adipose and endogenously synthesized fatty acids in the pathogenesis of the alcoholic fatty liver". J Clin Invest, 1966, 45: 51-54.

62.- PEKKANEN, L., ERIKSSON, K., SIHOVONEN, M.L.: "Dietary induced changes in voluntary ethanol consumption and ethanol metabolism in the rat". Br J Nutr, 1978, 40: 103-106.

63.- CEDERBAUM, A.I., DICKER, E., RUBIN, E.: "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, 1977, 183: 638-641.

64.- PLAPP, B.V.: "Rate limiting steps in ethanol metabolism and approaches to changing these rate biochemically". En "Advance in Experimental Medicine and Biology". Biochem Pharm Ethanol. Vol 56, pp 77, Ed. by E. Majchorowicz. Plenum Press. New York, 1975.

65.- FORSANDER, O.: "Metabolism of rats as related to voluntary alcohol consumption". Psychosom Med, 1966, 28: 521-527.

66.- ISERI, O.A., GOTTLIEB, L.S., LIEBER, C.S.: "The ultrastructure of ethanol-induced fatty liver". Federation Proceedings, 1964, 23: 579-585.

67.- ISERI, O.A., LIEBER, C.S., GOTTLIEB, L.S.: "The ultrastructure of fatty liver induced by prolonged ethanol consumption". Am J of Path, 1968, 48: 535-540.

68.- LANE, B.P., LIEBER, C.S.: "Effects of butylated hydroxytoluene on the ultrastructure of rat hepatocytes". Lab Invest, 1967, 16: 342-346.

69.- ORME-JOHNSON, W.H., ZIEGLER, D.M.: "Alcohol mixed function oxidase activity of mammalian liver microsomes". *Biochem and Bioph Res Commun*, 1965, 21: 78-83.

70.- LIEBER, C.S., DECARLI, L.M.: "Hepatic microsomal ethanol oxidizing system in vitro characteristics and adaptive properties in vivo". *J Biol Chem*, 1970, 245: 2505-2509.

71.- OHNISHI, K., LIEBER, C.S.: "Reconstitution of the microsomal ethanol oxidizing system (MEOS): qualitative and quantitative changes of cytochromo P-450 after chronic ethanol consumption". *J Biol Chem*, 1977, 252: 7124-7126.

72.- MIWA, G.T., LEVIN, W., THOMAS, P.E.: "The direct oxidation of ethanol by catalase and alcohol dehydrogenase free reconstituted system containing cytochromo P-450". *Arch Biochem Biophys*, 1978, 187: 464-467.

73.- TESCHKE, R., HASAMURA, Y., LIEBER, C.S.: "Hepatic microsomal alcohol oxidizing system. Affinity for methanol, ethanol and propanol and butanol". *J Biol Chem*, 1975, 250: 7397-7399.

74.- LIEBER, C.S., DECARLI, L.M.: "Hepatic microsomes: A new site for ethanol oxidation (abstract)". *J Clin Invest*, 1968, 47: 62-64.

75.- LIEBER, C.S., DECARLI, L.M.: "Ethanol oxidation by hepatic microsomes: Adaptative increase after ethanol enhanced by ethanol consumption". *Science*, 1968, 162: 917-921.

76.- CHEM, G., LEFERS, R.C., BROUGH, E.L.: "Metabolism of alcohol and ketone by cytochrome P-450 oxygenase: Fluoren-9-ol fluoren-9-one". *Drug Metab Dispos*, 1984, 12: 421-426.

77.- LIEBER, C.S., DECARLI, L.M.: "Reduced nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate oxidase: Activity enhanced by ethanol consumption". *Science*, 1970, 170: 78-82.

78.- LINDROS, K.O., OSHINO, N., PARILLA, R., WILLIAMSON, J.A.: "Characteristics of ethanol and acetaldehyde oxidation on flavin and pyridine nucleotide fluorescence changes in perfused rat liver". *J Biol Chem*, 1974, 249: 7956-7960.

79.- MATSUZAKI, S., TOSHIKE, R., OHNISHI, K., LIEBER, C.S.: "Acceleration of ethanol metabolism by high ethanol concentration and chronic ethanol consumption: Role of the microsomal ethanol oxidizing system (MEOS)". En "Alcohol and the liver". Ed. M.M. Fisher and Rankin. Plenum Press, pp 119, New York, 1977.

80.- LIEBER, C.S., DECARLI, L.M.: "The role of the hepatic microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) for ethanol metabolism in vivo". *J of Pharm and Exper Therap*, 1973, 181: 279-286.



81.- HILDEBRANDT, A.G., SPECK, M.: "Investigations on metabolism of ethanol in rat liver microsomes". Arch of Pharm, 1973, 277: 131-133.

82.- HAHIMTULA, A.D., O'BRIEN, P.J.: "The role of cytochrome P-450 in the hydroperoxide-catalyzed oxidation of alcohols by rat liver microsomes". Eur J Biochem, 1977, 77: 201-203.

83.- TESCHKE, R., HASAMURA, Y., LIEBER, C.S.: "Hepatic microsomal ethanol oxidizing system: solubilizations, isolation and characteritiation". Arch of Bioch and Bioph, 1974, 163: 404-408.

84.- TESCHKE, R., HASAMURA, Y., LIEBER, C.S.: "Hepatic microsomal alcohol oxidizing system in normal and acatalasemic mice: Its dissociation from the peroxidatic activity of catalase-Hi2-Oi2". Molecular Pharmacology, 1975, II: 841-844.

85.- VATSIS, K.P., SCHULMAN, M.P.: "An unidentified constituent of ethanol oxidation hepatic microsomes". Federation Proceedings, 1974, 33: 554-559.

86.- BURNETT, K.G., FELDER, M.R.: " Ethanol metabolism in peromyscus genticly deficient in alcohol dehydrogenase". Biochem Pharmacol, 1980, 29: 125-129.

87.- SHIGETA, Y., NOMURA, F., LIDU, S.: "Ethanol metabolism in vivo by microsomal ethanol oxidizing system in deermice

lacking alcohol dehydrogenase (ADH)". *Biochem Pharmacol*, 1984, 33: 807-810.

88.- LIEBER, C.S.: "Alcohol and the Liver". En "The Liver Annual". Arias, J.M., Frenkel, M., Wilson, J.H.P. (Eds.). Elsevier Science Publishers, pp 116, 1988.

89.- TAKAGI, T., ALDERMAN, J., LIEBER, C.S.: "In vivo roles of alcohol dehydrogenase catalase and the microsomal ethanol oxidizing system in deermice". *Alcohol*, 1985, 2: 9-15.

90.- VIND, C., GRUNNET, N.: "Contribution of non-ADH pathways to ethanol oxidation in hepatocytes from fed and hyperthyroid rats. Effect of fructose and xylitol". *Biochem Pharmacol*, 1985, 34: 665-668.

91.- ELVES, R.G., UENG, T.H., ALVARES, P.: "Comparatives effects of ethanol administration on hepatic monooxygenase in rats and mices". *Arch Toxicol*, 1984, 55: 258-263.

92.- LIEBER, C.S., RUBIN, E., MISTRA, P., GANG, H.: "Effects of Pyrazol on hepatic function and structure". *Lab Invest*, 1970, 22: 615-619.

93.- KRIKUN, G., CEDERBAUN, A.I.: "Inczesed microsomal oxidation of alcohols after pyrazole treatment and its similarities to the induction by ethanol consumption". *Biochim Biophys Acta*, 1984, 801: 131-136.

94.- GADEHOLT, G.: "Ethanol and isoniazid were also shown to induce a hepatic microsomal cytochrome P-450 dependent activity with similar properties toward substrate and inhibitors and different properties from those induced by classical inducers". *Biochem Pharmacol*, 1984, 33: 3047-3052.

95.- LIEBER, C.S.: "Biochemical factors in alcoholic liver disease". *Semin Liver Dis*, 1993, 13(2): 136-153.

96.- RYAN, D.E., RAMANATHAN, L., LIDU, S.: "Characterization of a major form of rat hepatic microsomal cytochrome P-450 induced by isoniazid". *J Biol Chem*, 1985, 260: 6385-6392.

97.- TEPHLY, T.R., TINELLI, F., WATKINS, W.D.: "Alcohol metabolism: Role of microsomal oxidation in vivo". *Science*, 1969, 166: 627-633.

98.- RUBIN, E., HUTTNER, F., LIEBER, C.S.: "Ethanol increases hepatic smooth endoplasmic reticulum and drug metabolizing enzymes". *Science*, 1968, 159: 1469-1477.

99.- MISRA, P.S., LEFEVRE, A., RUBIN, L., LIEBER, C.S.: "Effects of ethanol ingestion on ethanol, meprobamate and pentobarbital metabolism". *Gastroenterol*, 1970, 58: 308-314.

100.- LIEBER, C.S., DECARLI, L.M.: "The significance and characterization of hepatic microsomal ethanol oxidation in the liver". *Drug Metabolism and Disposition*, 1973, 1: 428-435.

101.- SIES, H.: "Biochemistry of the peroxisome in the liver cell". *Angevandte Chemie International Edition*, 1974, 13: 706-710.

102.- LUNDQUIST, F.: "Enzymatics pathways of ethanol metabolism". En: "International Encyclopedia of Alcohol and Alcoholism", Section 20, vol 1, ed. by Trémolières, Pergamon, Oxford, pp 95, 1970.

103.- LUNDQUIST, F.: "The metabolism of alcohol". En Israel and Mardones (Eds.) "Biological Basis of Alcoholism", pp 1, Wile and Sous, New Yosk, 1971.

104.- LUNDQUIST, F.: "Alcohol and the liver". Fisher and Rankin (Eds.). Plenum Press, New Yosk, 1977.

105.- BOSTRÖM, H., VESTERMAK, A.: "Studies on ester sulphates 7, on the excretion of sulphate conjugate of ptimary aliphatic alcohols in the urine of rats". *Acta Physiol Scand*, 1960, 48: 88-94.

106.- NEWSOME, W.H., RATTRAY, J.B.M.: "The enzymatic esterification of ethanol with fatty acids". *Can J Biochem*, 1965, 43: 1223-1229.

107.- TAKADA, A., TAKESE, S., NEI, J.: "Subcellular distribution of ALDH isoenzymes in the human liver". *Alcoholism Clin Exp Res*, 1984, 8: 123-126.

108.- TIPTON, K.F., HENEHAN, G.T.M.: "Distribution of aldehyde dehydrogenase activitic in human liver". *Alcoholism Clin Exp Res*, 1984, 8: 131-134.

109.- LINDAHL, R., EVCES, S.: "Comparative subcellular distribution of aldehyde dehydrogenase in rat, mouse and rabbit liver". *Biochem Pharmacol*, 1984, 33: 3383-3388.

110.- LEBSACK, M.E., GORDON, E.R., LIEBER, C.S.. "Effect of chronic ethanol consumption on aldehyde dehydrogenase activity in the baboon". *Biochem Pharmacol*, 1981, 30: 2273-2277.

111.- NUUTINEN, H., LINDROS, K., SALASPURO, M.: "Determinats of blood acetaldehyde level during ethanol oxidation in chronic alcoholics". *Alcoholism Clin Exp Res*, 1983, 7: 163-169.

112.- JENKINS, W.J., CAKEBREAD, K., PALMER, K.H.: "Effect of alcohol consumption on hepatic aldehyde dehydrogenase activity in alcoholic patients". *Lancet*, 1984, 2: 1048-1051.

113.- ALDERMAN, J.A., SANNY, C., GORDON, O.R.: "Ethanol feeding can produce secondary alterations in aldehyde dehydrogenase isoenzymes". *Alcohol*, 1985, 2: 91-98.

114.- IONE, K., FUKUNAGA, M., KIRIYAMA, T.: "Acumulation of acetaldehyde in alcohol sensitive Japanese: Relation to ethanol and acetaldehyde ixidizing capacity". *Alcoholism Clin Exp Res*, 1984, 8: 319-324.

115.- MEDINA, V.A., DONOHUE, T., SORRELL, M.F.: "Covalent binding of acetaldehyde to hepatic proteins during ethanol oxidation". *J Lab Clin Med*, 1985, 105: 5-9.

116.- BARRI, R.E.: "The pathogenesis of hepatitis in alcohol abuse and jejunoileal bypass". *lancet*, 1983, 2: 489-493.

117.- GORDON, B., BARAONA, E., MIYAKAWA, H.: "Exaggerated acetaldehyde response after ethanol administration during pregnancy and lactation in rats". *Alcoholism Clin Exp Res*, 1985, 9: 17-22.

118.- NUUTINEN, H.U., SALASPURO, M.P., VALLE, M.: " Blood acetaldehyde concentration gradient between hepatic and antecubital venous blood in ethanol-intoxicated alcoholics and controls". *Eur J Clin Invest*, 1984, 14: 306-308.

119.- JANHONEN, P., BARAONA, E., MIYAKAWA, M.: "Origin of breath acetaldehyde during ethanol oxidation". *J Lab Clin Med*, 1982, 100: 908-911.

120.- VÄÄNÄNEN, H., SALASPURO, M., LINDROS, K.: " The effect of chronic ethanol ingestion on ethanol metabolizing enzymes in isolated periportal and perivenous rat hepatocytes". *Hepatology*, 1984, 4: 862-866.

121.- JULKUNEN, R.J.K., TANNENBAUM, L., BARAONA, E.: "First pass metabolism of ethanol: an important determinant of blood levels after alcohol consumption". *Alcohol*, 1985, 2: 437-441.

122.- JULKUNEN, R.J.K., DIPAVODA, C., LIEBER, C.S.: "First pass metabolism of ethanol: a gastrointestinal barrier against the systemic toxicity of ethanol". *Lif Sci*, 1985, 37: 567-572.

123.- DIPAVODA, C., JULKUNEN, R.J.K., WERNER, T.M.: "Impaired first pass metabolism of ethanol in men". *Alcoholism Clin Exp Res*, 1985, 9: 88-89.

124.- KESHAVARIAN, A., WOBBLETON, J., GREER, P.: "Stomach emptying of solid meal in alcohol withdrawal". *Alcoholism Clin Exp Res*, 1985, 9: 90-92.

125.- BODE, J.C., BODE, C., HEIDELBACH, R.: "Jejunal microflora in patients with chronic alcohol abuse". *Hepato-gastroenterology*, 1984, 31: 30-32.

126.- LIEBER, C.S., LEEVY, C.M., STEIN, S.W.: "Effect of ethanol on plasma free fatty acids in man". *J Lab Clin Med* 1962, 59: 826-829.

127.- LIEBER, C.S., JONES, D.P., LOSOWSKY, M.S., DAVIDSON, C.S.: "Interrelation of uric acid and ethanol metabolism in man". *J Clin Invest*, 1962, 41: 1983-1984.

128.- NEWCOMBE, D.S.: "Ethanol metabolism and uric acid".  
Metabolism, 1972, 21: 1193-1195.

129.- LEFEVRE, A., ADLER, H., LIEBER, C.S.: "Effect of ethanol on ketone metabolism". J Clin Invest, 1970, 49: 1775-1778.

130.- FRIENKEL, N., ARKEY, R.A.: "Effects of alcohol on carbohydrate metabolism in man". Psychomatic Med, 1966, 23: 551-554.

131.- NIKKILA, E.A., OJALA, K.: "Role of hepatic L-alfa-glycerophosphate and triglyceride synthesis in production of fatty liver by ethanol". Proceedings of the Society on Experimental Biology and Med, 1963, II: 814-815.

132.- ONTKO, J.A.: "Effects of ethanol in the metabolism of free fatty acids in isoleted liver cells". J of Lip Research, 1973, 14: 78-80.

133.- LIEBER, C.S., LEFEVRE, A., SPORTZ, N.: "Difference in the hepatic metabolism of long and medium-chain fatty acids. The role of fatty acids chain length in the production of the alcoholic fatty liver". J Clin Invest, 1967, 46: 1451-1453.

134.- BLOMSTRAND, R., KAGER, L., LANTTO, O.: "Studies on the ethanol induced decrease of fatty oxidation in rat and human liver". Life Sci, 1973, 13: 1131-1134.



135.- SALASPURO, M.P., SHAWS, S., JAYATILLEKE, E., ROS, W.A., LIEBER, C.S.: "Attenuation of ethanol induced hepatic redox changes after chronic ethanol consumption. Mechanism and metabolic consequences". *Hepatology*, 1981, 1: 33-36.

136.- JAUHONEN, P., BARAONA, E., MIYUKAWA, H., LIEBER, C.S.: " Mechanism for selective perivenular hepatotoxicity of ethanol". *Alcoholism*, 1982, 6: 350-355.

137.- DOW, J., KRASNER, N., GOLDBERG, A.: "Relation between hepatic alcohol dehydrogenase activity and the ascorbic acid in hepatocytes of patients with liver disease". *Cin Sci Mol Med*, 1975, 49: 603-605.

138.- DILUZIO, N.R., STEGE, T.E.: Ed: "alcohol and the Liver". Fisher and Rankin (Eds.). Plenum Press, New York, 1976.

139.- ISRAEL, Y., VILEDA, L., BERNSTEIN, J.: "Liver hypermetabolic state after chronic ethanol consumption: Hormonal interrelations and pathogenic implications". *Fed Proc*, 1975, 34: 2052-2056.

140.- BARAONA, E., LIEBER, C.S.: "Effects of ethanol on hepatic transport of proteins". *Annu Rev Med*, 1982, 33: 281-284.

141.- SABESIN, S.M., BERTRAN, P.D., FREEMAN, M.R.: "Lipoprotein metabolism in liver disease". *Adv Intern Med*, 1980, 25: 117-118.

142.- ALBARRÁN, J.: "Lípidos plasmáticos: Dislipemias". En: "Endocrinología y Metabolismo". J. M. Palacios Mateo (Ed). Paz Montalbo, Madrid, 1961.

143.- CAMPBELL, J.W., FRISSE, M.: "Manual Terapéutica Médica", 5ª Edición. SALVAT Ed. S.A., 1984.

144.- GLOMSET, J.A.: "Plasma Lecithin:Cholesterol Acyl Transferase". En: Nelson, G.J. (Ed): "Blood Lipids and Lipoproteins: Quantitation, Composition and Metabolism". New York, Wiley-Interscience, 1972.

145.- ASSMANN, G.: "Lipid Metabolism and Atherosclerosis". Schattener, F.K. (Ed). Stuttgart, Germany, 1962.

146.- NELSON, G.: "Blood Lipids and Lipoproteins: Quantitation, Composition and Metabolism". Wiley-Interscience, New York, 1972.

147.- KANE, J.P.: "Plasma and Lipoproteins: Structure and Metabolism". En: "Lipid Metabolism in Mammals". Snyder, F. (Ed). Plenum Publishing Corp, New York, 1977.

148.- SEYMOUR, M., SABESIN, M.D.: "Cholestatic Lipoproteins: Their Pathogenesis and Significance". Gastroenterology 1982, 83(3): 704-706.

149.- GLICKMAN, R.M., GREEN, P.: "The intestine as a source of apolipoprotein A-I". Proc Natl Acad Sci USA, 1977, 74: 2569-2571.

150.- TALL, A.R., SMALL, D.M.: "Plasma high density lipoproteins". N Engl J Med, 1978, 299: 1232-1233.

151.- ATTIE, A.D., PITTMAN, R.C., STEINBERG, D.: "Hepatic catabolism of low density lipoprotein: mechanism and metabolic consequences". Hepatology, 1982, 2(2): 269-272.

152.- FOSTER, T.M.: "Primary hepatocytes in monolayer culture: a model for studies on lipoprotein metabolism". Annu Rev Physiol, 1984, 46: 403-407.

153.- GREGG, R.E., ZECH, L.A., SCHAEFER, E.J., BREWER, H.B.: "Apolipoprotein E metabolism in normolipoproteinemic human subjects". J Lipid Res, 1984, 25: 1167-1169.

154.- ARBEENY, C.M., RIFICI, V.A.: "The uptake of chylomicron remnants by the perfused rat liver". J Biol Chem, 1984, 259: 9662-9665.

155.- RIFICI, V.A., EDER, H.: "A hepatocyte receptor for high density lipoprotein specific for apolipoprotein A-I". J Biol Chem, 1984, 259: 13814-13818.

156.- GOLDSTEIN, J.L., BROWN, M.S.: "The low density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis". *Annu Rev Biochem*, 1977, 46: 897-898.

157.- MORRISETT, J.D., JACKSON, R.L., GOTTO, A.M.: "Lipoproteins: Structure and Function". *Annu Rev Biochem*, 1975, 44: 183-185.

158.- JACKSON, R.L., MORRISETT, J.D., GOTTO, A.M.: "The mechanism of lipid-binding by plasma lipoproteins". *Mol Cell Biochem*, 1975, 6: 43-45.

159.- JACKSON, R.L., MORRISETT, J.D., GOTTO, A.M.: "Lipoproteins and lipid-transport: Structural and Functional Concepts". En: "Hyperlipidemia, Diagnosis and Therapy". Levy, R.I. (Ed). Grune and Stratton, New York, 1977.

160.- BREWER, H.B., FAIRWELL, T., LARUE, A., RONAN, R., HOUSER, A., BRONZART, T.J.: "The amino acid sequence of human apo A-I, an apolipoprotein isolated from high density lipoprotein". *Biochem Biophys Res Comm*, 1979, 80: 623-624.

161.- BREWER, H.B., LUX, S.E., RONAN, R., JOHN, K.M.: "Amino acid sequence of human apoLp Glu-II (Apo A-II), an apolipoprotein isolated from high density lipoprotein complex". *Proc Natl acad Sci USA*, 1972, 69: 1304-1307.

162.- NICOLS, A., MILLER, N.E., LEWIS, B.: "High density lipoprotein metabolism". *Adv Lipid Res*, 1980, 17: 53-56.

163.- ALBERS, J.J.: "Lecithin:Cholesterol Acyl Transferase". *Artery*, 1979, 5: 61-62.

164.- GLOMSET, J.A.: "the plasma Lecithin:Cholesterol Acyl Transferase reaction". *J Lipid Res*, 1968, 9: 155-158.

165.- SCHMITZ, G., ASSMANN, G., MELNIK, B.: "The rol of Lecithin:cholesterol acyl transferase in high density lipoprotein-3 / high density lipoprotein -2 interconversion in man". *Clin Chim Acta*, 1982, 119: 225-227.

166.- SCHMITZ, G., ASSMANN, G.: "Isolation of Human serum HDL-1 by zonal ultracentrifugation". *J Lipid Res*, 1982, 23: 865-867.

167.- FRANCESCHINI, G., SIRTORI, M., GIANFRANESCHI, G., SIRTORI, C.L.: "Relation between the HDL apoproteins and A-I isoproteins in subjects with A-I Milano abnormality". *Metabolism*, 1981, 30: 502-503.

168.- OTERMANN, G., FEUSSNER, G., FRANCESCHINI, G., HACES, J., STEINMETZ, A.: "Genetic varients of group A apolipoproteins. Rapid methods for screening and characterization without ultracentrifugation". *J Biol Chem*, 1982, 257: 501-504.

169.- MENZEL, H.J., KLADETZKY, H.G., ASSMANN, G.: "One step screening methos for the polymorphism of apolipoproteins A-I, A-II and A-IV". J Lipid Res, 1982, 23: 915-916.

170.- ASSMANN, G., SMOOTH, E., ADLER, K., CAPURSO, A., DETTE, K.: "The lipoprotein abnormality in Tangier disease, quantification of A-apoproteins". J Clin Invest, 1977, 60: 1025-1028.

171.- MAO, S.J.T., JACKSON, R.L., GOTTO, A.M., SPARROW, J.T.: "Mechanism of lipid-protein interaction in the plasma lipoproteins: identification of lipid-binding site in apolipoprotein A-II". Biochemistry, 1981, 20: 1676-1678.

172.- KOSTNER, G.M.: "Studies of the composition and structure of human serum lipoproteins: Isolation and partial characterization of apolipoprotein A-III". Biochim Biophys Acta, 1974, 336: 338-340.

173.- FIELDING, C.J., FIELDING, P.E.: "Regulation of human plasma Lecithin: Cholesterol acyl transferase activity by lipoprotein acceptor cholesteryl ester content". J Biol Chem, 1981, 256: 2102-2104.

174.- BARTER, P.J., HA, Y.C., CALVERT, G.D.: "Studies of esterified cholesterol in subfractions of plasma high density lipoproteins". Atherosclerosis, 1981, 38: 165-168.

175.- UTERMANN, G., BEISPUEGEL, U.: "Apolipoprotein A-IV: A protein occurring in human mesenteric lymph chilomicrons and free in plasma". Eur J Biochem, 1979, 99: 333-335.

176.- KANE, J.P., HARDMAN, D.A.: "Heterogeneity of apolipoprotein B: Isolation of a new species from human chilomicrons". Proc Natl Acad Sci USA, 1980, 77: 2465-2466.

177.- HAVEL, R.J.: "International Congress for Clinical Chemistry". Wirn, August, 1981, in Press, 1982.

178.- SHEPHERD, J., PACKARD, C.J., BICKER, S.: "Cholestyramine promotes receptor mediated low density lipoprotein catabolism". N Engl J Med, 1980, 302: 1219-1220.

179.- HERBERT, P.M., ASSMANN, G., GOTTO, A.M., FREDRICKSON, D.S.: "Familial lipoprotein deficiency (Abetalipoproteinemia, hypobetalipoproteinemia, and Tangier disease)". En: "The metabolic basis of inherited disease". Stanburg, J.B., Wyngarden, J.B., Fredrickson, D.S., Goldstein, J.L., Brown, M.S. (Eds). McGraw-Hill, New York, ch 29, 1982.

180.- MALLOY, M.J., KANE, J.P., HARDMAN, D.A., HAMILTON, R.L., DALAL, K.B.: "Normotriglyceridemic abetalipoproteinemia. Absence of the B-100 apolipoprotein". J Clin Invest, 1981, 67: 1441-1443.

181.- ALBERS, J.J., CABANA, V.G., HAZZARD, W.R.: "Immunoassay of human plasma apolipoprotein B". *Metabolism*, 1975, 24: 1339-1340.

182.- KOSTNER, G.M., AVOGARO, P., CAZZOLATO, G., MARTH, E., BITTOLO-BON, G., QUINCI, G.B.: "Lipoprotein Lp(a) and the risk for myocardial infarction". *Atherosclerosis*, 1981, 38: 51-53.

183.- JACKSON, R.L., SPARROW, J.T., BAKER, H.N., MORRISETT, J.D., TAUTON, O.D., GOTTO, A.M.: "The primary structure of apolipoprotein-serine". *J Biol Chem*, 1974, 249: 5308-5310.

184.- HAVEL, R.J., SHORE, V.G., SHORE, B., BIOU, D.M.: "Role of specific glycopeptides of human serum lipoproteins in the activation of lipoprotein lipase". *Circ Res*, 1970, 27: 595-597.

185.- SMITH, C.L., VOYTA, J.C., BATAPANO, A.L., KINNUNEN, P.K., GOTTO, A.M., SPARROW, J.T.: "Activation of lipoprotein lipase by synthetic fragments of apo C-II". En: "Atherosclerosis". Gotto, A.M., Smith, L.C., Allen, B. (Eds). Springer-Verlag New York, Heidelberg, Berlin, 1980.

186.- BRECKENRIDGE, W.C., LITTLE, J.A., STEINER, G., CHOW, A., POAPST, M.: "Hypertriglyceridemia associated with deficiency of apolipoprotein C-II". *N Engl J Med*, 1978, 298: 1265-1266.



187.- KRAUSS, R.M., HERBERT, P.N., LEVY, R.I., FREDRICKSON, D.S.: "Further observations on the activation and inhibition of lipoprotein lipase by apolipoproteins". *Circ Res*, 1973, 33: 403-406.

188.- ZANNIS, V.I., BRESLOW, J.L.: "Characterization of a unique human apolipoprotein E variant associated with type III hyperlipoproteinemia". *J Biol Chem*, 1980, 255: 1759-1761.

189.- BLUM, C.B., ARON, L., SCIACCA, R.: "Radioimmunoassay studies of human apolipoprotein E". *J Clin Invest*, 1980, 66: 1240-1241.

190.- PITAS, R.E., INNERATY, T.L., MAHLEY, R.W.: "Cell surface receptor binding of phospholipid protein complexes containing difference ratios of receptor active and inactive E apoprotein". *J Biol Chem*, 1980, 255: 5454-5456.

191.- HUI, D.Y., INNERATY, T.L., MAHLEY, R.W.: "Lipoprotein binding to canine hepatic membranes: Metabolically distinct apo E and apo B,E receptors". *J Biol Chem*, 1981, 256: 5646-5648.

192.- UTERMANN, G., HEES, M., STEINMETZ, A.: "Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinemia in man". *Nature*, 1977, 269: 604-606.

193.- TYTGOT, G.N., RUBIN, C.E., SAUNDERS, D.R.: "Synthesis and transport of lipoprotein particles by intestinal absorptive cells in man". *J Clin Invest*, 1971, 50: 2065-2066.

194.- KRAUSE, B.R., SLOOP, C.H., CASTLE, C.K., ROHEIM, P.S.: "Mesenteric lymph apolipoproteins in control and ethinyl estradiol treated rats: A model for studying apolipoproteins of intestinal origin". *J Lipid Res*, 1981, 22: 610-613.

195.- WINDMELLER, H.G., WU, A.L.: "Biosynthesis of plasma apolipoproteins by rat small intestine without dietary of biliary fat". *J Biol Chem*, 1981, 256: 3012-3013.

196.- REDGRAVE, T.G., SMALL, D.M.: "Quantitation of the transfer of surface phospholipid of chylomicrons in the rats". *J Clin Invest*, 1979, 64: 162-164.

197.- WINDLER, E., CHAO, Y.S., HAVEL, R.J.: "Regulation of the hepatic uptake of triglyceride-rich lipoproteins in the rat". *J Biol Chem*, 1980, 255: 8303-8307.

198.- BALINT, J.A.: "Lipid metabolism in relation to liver physiology and disease". En: "The Liver Annual 5". Arias, Frenkel, Wilson (Eds). Elsevier science Publishers, pp 22, 1986.

199.- LAKSHMANAN, M.L., MUESING, R.A., LAROSA, J.C.: "Regulation of cholesterol biosynthesis and 3-hydroxi 3-methylglutaryl CoA reductase activity by chilomicron remanents in isolated hepatocytes and perfused liver". J Biol Chem, 1981, 256: 3037-3039.

200.- FLOREN, C.H., ALBERS, J.J., KUDCHODKAR, B.J., BIERMAN, E.L.: "Receptor dependent uptake of human chilomichron remanents by cultured skin fibroblaste". J Biol Chem, 1981, 256: 425-427.

201.- BIERMAN, E.L.: "Relationship of hypertriglyceridemia to atherosclerosis: Summary of a workshop". Lippel, K., Tylorer, H., Eder, H., Gotto, A. Vahouny, D.(Eds). Atherosclerosis, in Press 1982.

202.- ZILVERSMIT, D.B.: "Atherogenesis: A postprandial phenomenon". Circulation, 1979, 60: 473-474.

203.- STEIN, O., BAR-ON, H., STEIN, Y.: "Lipoproteins and the Liver". En Popper, H., Schaffner, F. (Eds): "Progress in Liver Disease". Grune and Stratton. New York, 1972.

204.- ALEXANDER, C.A., HAMILTON, R.L., HAVEL, R.T.: "Subcelular localization of beta-apoprotein of plasma lipoproteins in rat liver". J Cell Biol, 1976, 69: 241-244.

205.- WETMORE, S., MAHLEY, R.W., BROWN, W.V.: "Incorporation of sialic acid into sialidase-treated apolipoprotein of human

very low density lipoprotein by a pork liver sialyotransferase".  
Cand J Biochem, 1974, 52: 655-657.

206.- SHAEFER, E.J., EISENBERG, S., LEVY, R.I.: "Lipoprotein apoprotein metabolism". J Lipid Res, 1978, 19: 667-668.

207.- SABESIN, S.M., ISSELBACKER, K.J.: "Protein synthesis inhibition: Mechanism for production of impaired fat absorption". Science, 1965, 147: 1149-1151.

208.- SABESIN, S.M., HAWKINS, H.L., RAGLAND, J.B.: "Abnormal lipoproteins in alcoholic liver disease and their relationship to defective apoprotein metabolism". Gastroenterology, 1976, 71: A-35/928.

209.- TAN, S.P., DORI, L., RUBINSTEIN, E.: "Fate of apolipoproteins C-II, C-III and E during lipolysis of human very low density lipoproteins in vitro". J Lipid Res, 1981, 22: 641-643.

210.- GROSSER, J., SCHERECKER, O., GRETEN, H.: "Function of hepatic triglyceride lipase in lipoprotein metabolism". J Lipid Res, 1981, 22: 437-439.

211.- MAHELY, R.W.: "Cholesterol feeding: Effects on lipoprotein structure and metabolism". En: Gotto, A.M., Smith, L.C., Allen, B. (Eds): "Atherosclerosis V". Springer-Verlag, New York, 1980.

212.- EISENBERG, S., LEVY, R.I.: "Lipoprotein metabolism".  
Adv Lipid Res, 1975, 13: 1-5.

213.- BROWN, M.S., KOVANEN, P.T., GOLDSTEIN, J.L.:  
"Evolution of the LDL receptor concept from cultured cells to  
intact animals". Ann N Y Acad Sci, 1980, 348: 48-50.

214.- BROWN, M.S., GOLDSTEIN, J.L.: "A general scheme of  
regulation of cholesterol metabolism in mammalian cells". En:  
"Disturbance in Lipid and Lipoprotein Metabolism". Dietschy,  
J.M., Gotto, A.M., Ontko, J. (Eds). American Physiological  
Society, Bethesda Md, 1978.

215.- CARPENTIER, J.L., GORDEN, P., GOLDSTEIN, J.L.,  
ANDERSON, R.G.W., ORCI, L.: "Binding and internalization of 125-  
I-LDL in normal and mutant human fibroblastes: A quantitative  
autoradiografic study". Exp Cell Res, 1979, 121: 135-138.

216.- KOVANEN, P.T., BILHEIMER, D.W., GOLDSTEIN, J.L.,  
BROWN, M.S.: "A regulatory role for hepatic low density  
lipoprotein receptor in vivo in the dog". Proc Natl Acad Sci  
USA, 1981, 78: 1194-1197.

217.- SAVION, N., LAHERTY, R., LUI, G.M., GOSPODAROWICZ,  
E.: "Modulation of low density lipoprotein metabolism in  
bovine granulosa cells as a function of their steroidogenic  
activity". J Biol Chem, 1981, 256: 12817-12818.

218.- SCHNEIDER, W.J., GOLDSTEIN, J.L., BROWN, M.S.: "Partial purification and characterization of the low density lipoprotein receptor from bovine adrenal cortex". *J Biol Chem*, 1980, 255: 11442-11445.

219.- ANDERSON, R.G.W., VASILE, E., MELLO, R.J., BROWN, M.S., GOLDSTEIN, J.L.: "Immunocytochemical visualization of coated pits and vesicles in human fibroblasts: Relation to low density lipoprotein receptor distribution". *Cell*, 1978, 15: 919-924.

220.- PATSCH, J.R., GOTTO, A.M.: "Separation and analysis of HDL subclasses by zonal ultracentrifugation". En: "Report of the High Density Lipoproteins Workshop". Lippel, K. (Ed). Department of Health, Education and Welfare, National Institute of Health, 1979.

221.- RUBENSTEIN, B.: "Protein content and composition of human high density lipoprotein subfractions". *Atherosclerosis*, 1979, 33: 415-417.

222.- CHEUNG, M.C., ALBERS, J.J.: "Distribution of cholesterol and apolipoprotein A-I and A-II in human high density lipoprotein subfraction separated by CsCl equilibrium gradient centrifugation: Evidence for HDL subpopulations with differing A-I/A-II ratios". *J Lipid Res*, 1977, 20: 200-202.

223.- ANDERSON, D.W.: "HDL- Cholesterol: The variable componente". *Lancet*, 1978, 1: 819-823.

224.- POWNALL, H.J., MORRISETT, J.D., SPARROW, J.T., SMITH, L.C., SHEPHERD, J., JACKSON, R.L., GOTTO, A.M.: "A reviw of the unique features of HDL apoproteins". *Lipid*, 1979, 14: 428-429.

225.- TALL, A.R., SMALL, A.M.: "Plasma high density lipoproteins". *New Engl J Med*, 1978, 299: 1232-1235.

226.- HAMILTON, R.L.: "Hepatic secretion and metabolism of high density lipoproteins". En: "Disturbances in Lipid and Lipoprotein Metabolism". Dietschy, Gotto, Ontko (Eds). American Physiological Society Bethesda (Maryland), 1978.

227.- UTERMANN, G., MENZEL, H.J., LANGER, K.H.: "On the polypeptide composition of an abnormal high density lipoprotein (Lp-E) occurring in LCAT-deficent plasma". *FEBS lett*, 1974, 45: 29-33.

228.- BANGLAND, J.D., BERTRAN, P.D., SABESIN, S.M.: "Identification of nascent high density lipoproteins containing arginine-rich protein in human plasma". *Biochem Biophys Res Commun*, 1978, 80: 81-83.

229.- KUUSI, T., SAARINEN, P., NIKKILA, E.A.: "Evidence for the role of hepatic endothelial lipase in the metabolism of plasma high density lipoprotein in man". *Atherosclerosis*, 1980, 30: 589-590.

230.- TASKINEN, M.R., NIKKILA, E.A.: "High density lipoprotein subfraccions in relation to lipoprotein lipase activity of tissues in man: Evidance for reciprocal of HDL 2 and HDL 3 levels by lipoprotein lipase". *Clim Chin Acta*, 1981, 112: 325-328.

231.- SCHERILL, B.C., INNERARITY, T.L., MAHLEY, R.W.: "Rapid hepatic clearence of the canine lipoproteins containing only the E apolipoprotein by a high affinity receptor". *J Biol Chem*, 1980, 255: 1804-1806.

232.- INNERARITY, T.L., KEMPNER, E.S., HUI, D.Y., MAHLEY, R.W.: "Functional unit of the low density lipoprotein receptor of fibroblasts: A 100000 daltons structure with multiple binding sites". *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78: 4378-4380.

233.- GROOT, P.H.E., JANSEN, H., VAN TOL, A.: "selective degradation of HDL 2 subfraction by heparin- releaseable liver lipase". *FEBS lett*, 1981, 129: 269-271.

234.- SCANU, A.M., LAWN, R.M., BERG, K.: "Lipoprotein(a) and atherosclerosis". *Ann Intern Med*, 1991, 115: 209-218.



235.- UTERMANN, G.: "Lipoprotein(a): A genetic risk factor for premature coronary artery disease". *Curr Opin Lipidol*, 1990, 1: 404-410.

236.- OBERMAN, A., KREISBERG, R.A., HENKIN, Y.: "Principles and management of lipid disorders". Williams and Wilkins (Eds). 1992.

237.- DAVIDOFF, P.: "Lp(a) lipoprotein: a new independent risk factor for atherogenesis". *Rev Med Chil*, 1991, 119(1): 64-68.

238.- BARAONA, E.: "Efectos del alcohol en el metabolismo de los lípidos". *Gastroenterología y Hepatología*, 1985, 8: 250-273.

239.- SAVOLAINEN, M.J., BARAONE, E., PIKKARAINEN, P., LIEBER, C.S.: "Decreased hepatic triacylglycerol synthesizing capacity during progression of alcoholic liver damage in the baboon". *J Lipid Res*, in press, 1984.

240.- BARAONA, E., JAUHONEN, P., LIEBER, C.S.: "Zonal redox changes as a cause of selective perivenular hepatotoxicity of alcohol". *Pharmacol. Biochem. Behav*, 1983, 18(1): 449-450.

241.- DUCCESCHI, V.: "La colesterina del sangue nella intossicazione per alcool". *Arch Fisiol*, 1915, 80: 546-556.

242.- FEIGI, J.: "Neue untersuchungen zue chemie des blutes bei akuter alkoholintoxikation und bei chronischem alkoholismus mit besonderer berücksichtigung der fette und lipoid". Biochem Z, 1918, 92: 282.

243.- BARAONA, E., PIROLA, R.C., LIEBER, C.S.: "Pathogenesis of postprandial hyperlipemia in rats fed ethanol containing diet". J Clin Invest, 1973, 52: 296-299.

244.- MAK, K., LIEBER, C.S.: "Alterations in endothelial fenestrations in liver sinusoids of baboons fed alcohol: a scanning electron microscopic study". Hepatology, 1984, 3: 386-389.

245.- SCHNEIDER, J., PANNE, E., BRAUN, H., MORDASINI, R., KAFFARNIK, H.: "Ethanol-induced hiperlipoproteinemia. Crucial role of preceding ethanol intaken the removal of chylomicrons" J Lab Clin Med, 1983, 101: 114-119.

246.- TASKINEN, M.R.: "High density lipoprotein subfractionsand postheparin plasma lipases in alcoholic men before and after ethanol withdrawal". Metabolism, 1982, 31: 1168-1174.

247.- TASKINEN, M.R.: "Alcohol induced changes of HDL-2, HDL-3 and A-apoproteins are doses dependent". Circulation (supl), 1986, 74: 11-33.

248.- ANDRADE, R.J., ESCOLAR, J.L., AGUADO, F.: "Influencia de diversos grados de consumo de alcohol sobre las lipoproteinas y apolipoproteinas plasmaticas". Med Clin (Barc), 1989, 93: 169-172.

249.- CABALLERÍA, L., MONTULL, S., PARÉS, A., DEULOFEU, R., CABALLERÍA, J., RODÉS, J.: "Utilidad de los marcadores biológicos para la detección del alcoholismo y para el diagnóstico de enfermedad hepática alcohólica". Med. Clin (Barc), 1988, 91: 244-248.

250.- SABESIN, S.M.: "Lipid and Lipoprotein Abnormalities in Alcoholic Liver Disease". Circulation, 1981, 64: 72-84.

251.- SABESIN, S.M.: "Lipoprotein profiles in chronic alcoholics: use of HDL subspecies levels to differentiate subpoblations. Hepatology, 1984, 4: 557-585.

252.- CAHALLAN, D.: "Quantifying alcohol consumption: patterns and problems". Circulation, 1981, 64: 7-14.

253.- PATON, A, SAUNDERS, J.B.: "ABC of alcohol. Definitions". Br. Med. J., 1981, 283: 1248-1250.

254.- Lipid Research Clinics Program. Manuel of Laboratory Operation. Vol. 1, Lipids and Lipoproteins analisis. DHEW publ n. (NIM) 75-678, Washington DC, Goberment Printing Office, 1974.

255.- CHAPMAN, M.J., GOLDSTEIN, S., LAGRANGE, D.: "A density gradient ultracentrifugal procedure for isolation of the major lipoprotein classes from human serum". J. Lipid. Res., 1981, 21: 724-738.

256.- LUOMA, P.V., SOTANIENI, E.A., PELKONEN, R.O., et al. "High density lipoproteins and hepatic microsomal enzyme induction in alcohol consumers". Res Com Chem Path Pharm, 1982, 37: 91-96.

257.- CHAJEK, T., EISENBERG, S.: "Very low density lipoproteins. Metabolism of phospholipids, cholesterol and apolipoprotein C in the isolated perfused rat heart". J. Clin Invest, 1978, 62: 1654-1665.

258.- SAVOLAINEN, M.J., HANNUSELAK, M., SEPPANEN, S., et al. "Increased high density lipoprotein cholesterol concentration in alcoholics is related to low cholesteryl ester transfer protein activity". Eur J Clin Invest, 1990, 20(6): 593-599.

259.- NESTEL, P.J., TADA, N., FIDGE, N.H.: "Increased catabolism of high density lipoprotein in alcoholic hepatitis". Metabolism, 1980, 29: 101-104.

260.- HULLEY, S.B., COHEN, R., WIDDOWSON, G. "Plasma high density lipoprotein cholesterol level. Influence of rick's factor intervention". JAMA, 1977, 238: 2269-2271.

261.- VASISHT, S., PANT, M.C., SRIVASTAVA, L.M. "Effects of alcohol on serum lipids and lipoproteins in male drinkers". Indian J Med Res, 1992, 96: 333-337.

262.- SILLANAUKKEE, P., KOIVULA, T., JOKELA, H. et al. "Relationship of alcohol consumption to changes in HDL-subfractions". Eur J Clin Invest, 1993, 23(8): 486-491.

263.- EISENBERG, S. "Plasma lipoproteins conversion". En Segrets, J.P., Alberts, J.J. eds. Methods in Enzimology. Academic Press Inc, New York, 1986, 129: 347-366.

264.- HUANG, C.M., ELIN, R.J., RUDEL, M. et al. " The effect of alcohol withdrawal on serum concentrations of Lp (a), apolipoproteins A I y B, and lipids". Alcohol Clin Exp Res, 1992, 16(5): 895-898.

265.- RODRIGUEZ, J.J., FUEYO, R., BRAGA, S., IGLESIAS, G. et al. "Lipoproteínas plasmáticas en jóvenes adultos con hábitos alcohólicos y tabáquicos". Med Clin (Barc) 1985, 84: 682-684.

266.- FREEMAN, M., KUIKEN, L., RAGLAND, J.B., SABESIN, S.M. "Hepatic triglyceride lipase deficiency in liver disease". Lipids 1977, 12: 443-445.

267.- DEVENYI, P., ROBINSON, G.M., KAPUR, B.M. et al. "High density lipoprotein cholesterolin male alcoholics with and without severe liver disease". Am J Med, 1981, 1: 707-711

268.- BARAONA, E., SAVALAINEN, M., KARSENTI, C. et al.  
"Pathogenesis of alcoholic hipertriglyceridemia and  
hipercholesterolemia". Trans Assoc Amer Phys 1984, 96:306-315

269.- SABESIN, S.M., RAGLAND, J.B., FREEMAN, M.R.  
"Lipoproteins disturbances in liver disease" In: Popper, H.,  
Schaffner, E. eds. Progress in Liver Disease. New York, 1979,  
243-261.

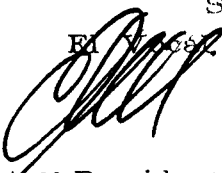
270.- CROUSE, J.R., GRUNDY, S.M. "Effects of alcohol in  
plasma lipoproteins and cholesterol and triglyceride metabolism  
in man". J Lip Res, 1984, 25: 486-496.

# UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de D. MERCEDES CABELLO RAMIREZ titulada Efecto en el Perfil Lipídico en Sangre de la Ingesta de Etanol en Sujetos Sanos y en Alcohólicos Crónicos acordó otorgarle la calificación de Apto Cum Laude

Sevilla, 11 de Diciembre 1985

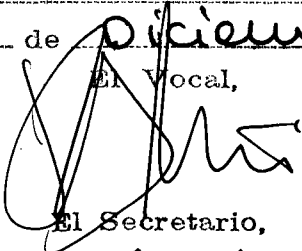
El Vocal,



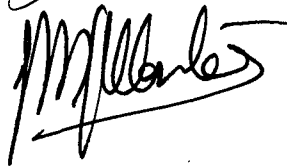
El Presidente



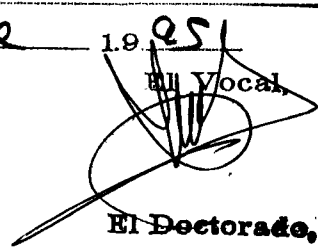
El Vocal,



El Secretario,



El Vocal,



El Doctorado,

