

Efecto antagónico del consumo crónico de vino tinto y etanol sobre la actividad de la (Na+K)ATPasa renal

Rodrigo Luis Castillo Peñaloza*
Rodrigo Andrés Carrasco Loza*
Matías House*
Patricio Andrés Huerta Bustamante*
Patricio Alejandro Henríquez Huerta*
Ramón Aníbal Rodrigo Salinas, MD**

Resumen

El consumo crónico de etanol aumenta la actividad de (Na+K)ATPasa en diferentes tipos celulares, a través de un mecanismo mediado por especies reactivas de oxígeno (EROs). El consumo moderado de vino tinto puede aumentar las defensas antioxidantes ya que sus componentes no alcohólicos actúan como atrapadores de EROs, quelantes de metales y moduladores enzimáticos. La hipótesis del presente trabajo es que el efecto del consumo crónico de etanol sobre (Na+K)ATPasa es abolido por el vino tinto, siendo el objetivo diseñar un modelo experimental que analice separadamente los efectos del etanol y de los componentes no alcohólicos del vino tinto sobre la enzima. Ratas Wistar se dividieron en tres grupos y recibieron por diez semanas: agua (grupo control); etanol al 12.5% v/v (grupo etanol) o vino tinto conteniendo 12.5% de etanol (grupo vino), como única bebida. Los riñones fueron utilizados para determinar lipoperoxidación y actividad de (Na + K)ATPasa, en corteza y en papila renal. El etanol no modificó la lipoperoxidación; sin embargo, la actividad de la bomba aumentó en corteza y en papila un 25% y 68%, respectivamente. El vino tinto disminuyó la lipoperoxidación a un tercio en corteza y a la mitad en papila, no observándose variaciones en la actividad de (Na + K)ATPasa. Estos resultados sugieren que el efecto estimulante que tiene el consumo crónico de etanol sobre la actividad (Na+K)ATPasa renal es suprimido por el consumo de vino tinto. Los componentes no alcohólicos podrían contribuir a este efecto a través de sus propiedades antioxidantes. [Castillo RL, Carrasco RA, House M, Huerta PA, Henríquez PA, Rodrigo RA. Efecto del consumo crónico de vino tinto y etanol sobre la actividad de la (Na+K)ATPasa renal. MEDUNAB 2003; 6(16): 10 - 14].

Palabras clave: etanol, (Na+K)ATPasa, riñón, vino, antioxidantes.

Introducción

La reabsorción de sodio a lo largo del nefrón ocurre debido en gran parte a la actividad de la bomba (Na+K)-ATPasa, localizada en la membrana basolateral de las células tubulares.¹

Se ha comunicado que los efectos del etanol sobre la bomba de sodio se traducen, durante el consumo agudo, en una disminución de su actividad,¹ lo que se asocia con un aumento en los niveles de lipoperoxidación.² Además, el etanol podría ejercer un mecanismo directo sobre la enzima lo que explicaría la disminución de su actividad in vitro.³ Por otra parte, el consumo crónico de etanol induce un incremento en la actividad de la (Na+K)ATPasa en varios órganos,⁴ incluido el riñón. En este último, el efecto enzimático se expresa en un cambio funcional ya que hay disminución de la natriuresis,³ siendo el túbulo proximal el mayor responsable de este efecto.⁴ El etanol produce además cambios físicos y químicos en las propiedades de las membranas biológicas, siendo ellas el sitio primario de su acción farmacológica.²

Entre los mecanismos que se han propuesto para explicar la respuesta de la (Na+K)ATPasa se encuentra la inducción de estrés oxidativo por el etanol,⁶ donde el hierro actúa como catalizador de la formación de especies reactivas de oxígeno (EROs) a través de la reacción de Fenton. Esto último ha sido comprobado por la ausencia de inducción de la actividad enzimática por etanol, al administrar un quelante de hierro⁷ o vitamina E.⁸ Este efecto antioxidante también se podría ejercer por numerosos vegetales como frutas o té y particularmente por el vino tinto. De esta manera se complementarían los beneficios de las fuentes dietéticas de antioxidantes con los sistemas endógenos depuradores de EROs.⁹ Los beneficios de los compuestos antioxidantes se han sugerido a partir de estudios epidemiológicos que indican que disminuyen el riesgo de aterosclerosis y cardiopatía coronaria.¹⁰

En relación con el vino tinto se puede plantear que sus efectos se podrían atribuir tanto al etanol como a sus com-

* Estudiante, Carrera de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago de Chile, Chile.

** Profesor Asociado, Instituto de Ciencias Biomédicas, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Correspondencia: Sr. Castillo, Pintor Cicarelli # 1967, Independencia, Santiago, Chile. E-mail: r_castillo_p@hotmail.com

Artículo recibido: 9 de diciembre de 2002; aceptado: 4 de marzo de 2003.

ponentes no alcohólicos. Entre estos últimos se encuentran diversas sustancias tales como flavonoides polifenólicos que actúan como atrapadores de radicales libres y quelantes.¹¹ Recientes estudios han revelado que el contenido de flavonoles de los vinos chilenos Cabernet Sauvignon, Merlot y Pinot Noir, es más alto que el de sus homólogos procedentes de regiones geográficas diferentes.¹² Algunos de estos compuestos, tales como el resveratrol y la quercetina, han demostrado protección renal ante el daño oxidativo.¹³ La quercetina es uno de los más importantes y dentro de sus funciones se encuentran la inhibición de factores de transcripción proinflamatorios, quelante intracelular del hierro y antioxidante a nivel del plasma.¹³ El resveratrol, a su vez, tiene efectos citoprotectores del riñón ya que disminuye la injuria por isquemia-reperfusión a través de un mecanismo óxido nítrico (NO) dependiente.¹¹

El objetivo de este trabajo es aplicar un modelo experimental que permita analizar separadamente los efectos debidos al etanol y aquellos causados por los componentes no alcohólicos del vino tinto sobre la actividad de la bomba (Na+K)ATPasa en el riñón de rata. La hipótesis de trabajo es que la elevación de la actividad enzimática de la (Na+K)ATPasa renal por la exposición crónica a dosis moderadas de etanol es abolida por los componentes no alcohólicos del vino tinto.

Materiales y métodos

Diseño. El diseño corresponde a un estudio prospectivo experimental, para lo cual se definieron tres grupos de análisis (control, etanol y vino), los que fueron seguidos por un tiempo determinado, al final del cual se compararon con respecto a parámetros funcionales. En este caso la exposición fue controlada y se utilizó la aleatorización como método de asignación.

Animales. Sesenta ratas Wistar macho que pesaban 200 ± 7 gramos, suministradas por el Departamento de Nutrición de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Fueron colocadas en jaulas individuales y durante una semana aclimatadas a 24°C con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Luego se dividieron en tres

grupos de 20 ratas cada uno y tuvieron libre acceso, por diez semanas, a una dieta balanceada (tabla 1) y diferente bebida ofrecida “ad libitum”:

Grupo 1: Vino tinto. Las ratas recibieron como única bebida vino tinto (Cabernet Sauvignon, cosecha 1998, Lomas de Cauquenes, Valle de Cauquenes, Chile). La concentración de etanol del vino era de 12.5% (v/v).

Grupo 2: Etanol. Las ratas recibieron solamente solución acuosa de etanol a la misma concentración que la del vino tinto utilizada en el Grupo 1 (12.5% v/v).

Grupo 3: Control. Las ratas tuvieron libre acceso al agua.

Materiales. Los reactivos fueron adquiridos de la compañía Sigma–Aldrich (St. Louis, MO, USA), Merck (Darmstadt, Alemania) y Riedel de Haen (Alemania), y fueron de la más alta calidad disponible en el comercio.

Muestras de vino. El vino tinto usado en este estudio fue previamente escogido después de un análisis de veinticinco muestras de Cabernet Sauvignon, basados en un estudio que muestra que los vinos tintos chilenos contienen, incluyendo esta cepa, más altas concentraciones de flavonoles que su contraparte de diferentes regiones geográficas.¹² El análisis cuantitativo fue hecho mediante cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa. La concentración de flavonoles fue calculada midiendo el contenido de miricetina y quercetina libre y conjugada, siendo éstas las mayores representantes de una subclase de flavonoles que podrían reflejar el contenido total de polifenoles del vino tinto. El volumen de líquido ingerido diariamente se midió utilizando tubos Richter graduados, y el alimento consumido se cuantificó gravimétricamente. Al final del tratamiento, los animales fueron anestesiados con ketamina (4 mg/Kg), luego, ambos riñones fueron perfundidos con solución buffer Tris 0.01 M pH 7.0, para descartar los eritrocitos, y se homogenizaron en la misma solución.

Lipoperoxidación. El método fue realizado espectrofotométricamente a 532 nm por la reacción del ácido tiobarbitúrico a pH 3.5, seguido por extracción con una mezcla de n-butanol/piridina (15/1, v/v). Se utilizó tetrametoxipropano como estándar y el nivel de peróxidos de lípidos fue expresado como nmol de malondialdehído (MDA)/mg de proteínas.

Actividad de (Na + K)ATPasa. La determinación de la actividad de esta enzima unida a membrana fue llevada a cabo por el método de Katz y Epstein (1967), basado en la medición de la hidrólisis del ATP. El contenido de proteínas totales fue determinado por el método de Lowry y cols en 1951 y la actividad de la enzima fue expresada en μmol de fosfato inorgánico liberado por mg de proteína por hora.

Análisis estadísticos. Los resultados fueron expresados como promedios \pm SE (error estándar) para el número de ratas indicado. La fuente de las variaciones para las

Tabla 1. Miricetina y quercetina libres y conjugadas (mg/l) del vino tinto utilizado.

Flavonol	Libre	Conjugado
Miricetina	11.70 ± 0.10	19.00 ± 0.50
Quercetina	12.90 ± 0.40	12.10 ± 0.10
Total	24.60 ± 0.20	31.10 ± 0.40

Los valores son el promedio \pm SE, de por lo menos 5 determinaciones individuales.

Tabla 2. Ganancia de peso, consumo de líquido y consumo de energía de los grupos experimentales

Parámetro	Control	Etanol	Vino tinto
Ganancia de peso corporal (G/Día/100g de pc)	2.84 ± 0.17	2.07 ± 0.18 ^{ac}	2.69 ± 0.15 ^b
Consumo de líquido (ml/Día/100g de pc)	9.9 ± 0.32	9.23 ± 0.57	8.95 ± 1.5
Consumo energético (Kcal/Día/100g de pc)	20.82 ± 0.51	21.53 ± 0.45	21.03 ± 0.40

Los valores son el promedio de 14 ± SE. PC, peso corporal. Las diferencias estadísticamente significativas con $p < 0.05$ se indican con superíndice: ^a vs control, ^b vs etanol, ^c vs vino tinto.

comparaciones múltiples fue establecida por el análisis de varianza unidireccional (ANOVA), complementado por el test de comparaciones de Bonferroni. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con un $p < 0.05$.

Aspectos éticos. Este protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. El manejo de las ratas en todo momento fue realizado de acuerdo con las normas éticas aceptadas internacionalmente.

Resultados

Contenido de flavonoles. La concentración de miricetina y quercetina libre y conjugada (mg/l) del vino tinto escogido para el presente estudio, se tomó como el índice de flavonoles totales, lo que se muestra en la tabla 1. La fracción libre de ambos compuestos fue de 38 y 51%, respectivamente.

Consumo. La tabla 2 muestra los datos con respecto a ganancia de peso, consumo energético y de fluidos de los tres grupos durante el período experimental. A pesar de que

todos los grupos tuvieron un consumo energético similar, la ganancia de peso de las ratas que bebieron etanol fue más baja que la de aquellas que recibieron sólo agua ($p < 0.05$). A su vez, esta última no mostró diferencias respecto a la ganancia de peso observada en el grupo de ratas que consumieron vino tinto. El consumo energético suministrado por etanol tanto en el grupo vino como en el grupo etanol fue aproximadamente de 30%. La ingesta de fluido no mostró diferencias significativas en ningún grupo.

Lipoperoxidación. En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos para la formación de peróxidos de lípidos (nmol MDA/mg de proteínas) en corteza y papila renal. En el grupo control, la producción de MDA en la corteza renal fue un tercio de la encontrada en papila. En el grupo etanol, ni corteza ni papila renales mostraron alteraciones en la lipoperoxidación, al compararse con el grupo control. El grupo que recibió vino tinto disminuyó la lipoperoxidación un 33% en corteza y un 52% en papila renal, respectivamente ($p < 0.01$), respecto de los controles.

Actividad de (Na+K)ATPasa. La actividad de (Na+K)ATPasa de corteza y papila renal se muestra en la tabla 4. Después de diez semanas de tratamiento con

Tabla 3. Efectos de la exposición crónica a vino tinto y etanol sobre la lipoperoxidación de la corteza y papila del riñón de rata

Región del riñón	MDA (nmol/mg de prot)		
	Control	Etanol	Vino tinto
Corteza	3.62 ± 0.17	3.86 ± 0.34 ^c	2.06 ± 0.17 ^{ab}
Papila	11.57 ± 0.42	12.00 ± 0.31 ^c	5.40 ± 0.42 ^{ab}

Los valores son el promedio de 10-11 ratas ± SE. Las diferencias fueron estadísticamente significativas con un $p < 0.05$ y se indican con superíndice: ^a vs control, ^b vs etanol, ^c vs vino tinto.

Tabla 4. Efectos del vino tinto y etanol sobre la actividad de la (Na+K)ATPasa de la corteza y papila renal de la rata

Región del riñón	(Na+K)ATPasa (µmol Pi/mg prot/hr)		
	Control	Etanol	Vino tinto
Corteza	12.36 ± 0.38	15.50 ± 0.41 ^{a,c}	11.60 ± 0.27 ^b
Papila	6.42 ± 0.42	10.70 ± 0.41 ^{a,c}	6.40 ± 0.39 ^b

Los valores son promedio de 9-10 ratas ± SE. Pi, fósforo inorgánico. Las diferencias fueron estadísticamente significativas con $p < 0.05$ y se indican con superíndice: ^a vs control, ^b vs etanol, ^c vs vino tinto.

etanol, la actividad se incrementó en un 25% en la corteza renal y en 68% en la papila. Al contrario, el consumo de vino tinto no afectó la actividad de (Na+K)ATPasa en las regiones de la anatomía renal analizadas.

Discusión

En la última década se han acumulado suficientes evidencias para otorgar un papel preponderante al estrés oxidativo en la producción de daño renal. Las EROs formadas causan daño oxidativo en los lípidos de las células y de las membranas de los organelos. Como consecuencia se producen alteraciones de la integridad estructural, de la capacidad de transporte celular y de la producción de energía. En el caso de la toxicidad por consumo de etanol, también participaría la generación de EROs.¹⁴ Así, se ha demostrado que la depleción de glutatión es uno de los efectos renales de la exposición aguda de etanol.^{2, 15} También se ha encontrado un incremento en la lipoperoxidación,¹⁷ lo que ha sido comunicado por un número reducido de publicaciones. Sin embargo, ratas que consumen dosis moderadas de solución acuosa de etanol no experimentan trastornos en función renal reflejados en la velocidad de filtración glomerular,⁵ lo que presumiría cierto efecto protector sobre el riñón a esas dosis. En nuestro caso la estimación de este efecto se basó en la medición de parámetros de estrés oxidativo, como la lipoperoxidación, la que en el grupo etanol no mostró alteraciones en ninguna de las regiones anatómicas en que fue medida.

Además, podemos decir que el aumento de MDA secundario a la administración de etanol ocurriría de manera proporcional a la cantidad de etanol administrado,^{2, 17} lo cual sugeriría que en nuestro modelo experimental la cantidad de etanol utilizada no fue suficiente para provocar esta alteración o bien los mecanismos compensatorios de la adaptación crónica la impidieron.

En el grupo vino tinto disminuyó la lipoperoxidación tanto en corteza como en papila renal, por lo que podríamos plantear la ocurrencia de efectos antioxidantes derivados de la exposición crónica a etanol como también a la acción de los componentes no alcohólicos del vino tinto, tales como polifenoles y flavonoles. Los polifenoles son un grupo de sustancias que actúan aumentando las defensas antioxidantes a través de sus propiedades atrapadoras de EROs, quelantes de metales y moduladores enzimáticos.¹⁸ A pesar de que en el grupo etanol no hubo alteración en la lipoperoxidación de membranas, el balance prooxidante se podría alcanzar a pesar de la mayor tasa de producción de EROs por este efecto antioxidante. Sin embargo, esta hipótesis aún no ha sido demostrada.

El consumo crónico de etanol aumenta la actividad específica de la (Na+K)ATPasa renal, que se debería a un incremento en su masa y no a un aumento en su actividad intrínseca,¹⁹ lo que se ha demostrado utilizando anticuerpos contra la (Na+K)ATPasa. Esto concuerda con nuestras mediciones de la enzima en el grupo etanol, ya que ésta

aumentó en un 25 y 68% en corteza y papila, respectivamente. Sin embargo, no debiera ser descartado un efecto adicional derivado de la presencia de alcohol in vivo, ya que el etanol *per se* es capaz de afectar las propiedades físico-químicas de las membranas biológicas y, por ende, la actividad de las enzimas incorporadas a ella como la (Na+K)ATPasa. Así, se ha encontrado que el etanol *in vitro* ejerce un efecto bifásico sobre la actividad de esta enzima, consistente en estimulaciones a concentraciones inferiores a 1% e inhibición a partir de concentraciones mayores. En nuestro caso, resultados de alcoholemias en ratas tratadas con vino y con etanol, obtenidas posterior al análisis de los resultados expuestos en este trabajo, se encuentran en el rango por debajo del 1%, esperándose por tanto un efecto activador.

Por otra parte, en el grupo vino tinto la actividad de la (Na+K)ATPasa no se modificó ni en corteza ni en papila con respecto al grupo control, sugiriendo que el efecto inductor del etanol pareciera ser abolido por los componentes no alcohólicos del vino. Las propiedades antioxidantes de estos compuestos determinarían un bloqueo del estrés oxidativo evitando así la activación de esta enzima en el riñón. Esta observación es apoyada por el hallazgo que la vitamina E previene los cambios inducidos por etanol en la (Na+K)ATPasa.⁸

Entre los polifenoles no flavonoides, el resveratrol es uno de los más importantes. Se sabe que el pretratamiento con resveratrol reduce la injuria por isquemia-reperfusion en riñón de rata, ya que actúa como antioxidante, reduciendo la lipoperoxidación, aumentando el NO y preservando su bioactividad.¹¹ Merece especial mención que la concentración empleada corresponde a los niveles plasmáticos encontrados durante un consumo moderado de vino tinto. A esta dosis, el resveratrol se encontró en alta concentración en el tejido renal, indicando su alta biodisponibilidad en este órgano.

Ya que el vino tinto usado en la presente investigación muestra un contenido total de flavonoles de 56.2 mg/l, siendo este más alto que todos los valores presentes hasta el momento en la literatura,¹² se podría sugerir un efecto protector del riñón contra el daño oxidativo.²⁰

Los resultados obtenidos en el presente trabajo proveen evidencia suficiente para plantear que el efecto estimulante que tiene el consumo crónico de etanol sobre la actividad de la (Na+K)ATPasa renal es abolido por los componentes no alcohólicos del vino tinto, siendo los flavonoles polifenólicos los responsables de esta supresión debido a sus propiedades antioxidantes; igualmente, a pesar que el consumo de etanol no produjo alteraciones en la lipoperoxidación de membranas, el vino tinto aminó estas variaciones. Por lo que, en este caso, el balance prooxidante se podría alcanzar a pesar de la mayor tasa de producción de EROs, por el efecto antioxidante de los componentes no alcohólicos del vino, dentro de los cuales los polifenoles tendrían un papel importante.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por el Fondo de Ciencia y Tecnología (Fondecyt, proyecto N° 1990784). Los autores desean agradecer a los funcionarios del Laboratorio de Fisiopatología Renal de la Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile. Los estudiantes expresan su agradecimiento al Dr. Ramón Rodrigo por su orientación y valiosos comentarios.

Summary

The effects of chronic red wine and ethanol consumption on (Na+K)ATPase activity. The chronic consumption with ethanol increases (Na+K)ATPase activity, through the generation of reactive oxygen species (ROS). The antioxidant capacity of red wine could be due to its non alcoholic compounds through their ROS scavenging, free iron chelation and enzyme modulators properties. The hypothesis is that chronic treatment with ethanol on (Na+K)ATPase activity will be abolished by red wine. The objective is to design a experimental model that analyzes separately the effects attributed to ethanol and red wine on (Na+K)ATPase activity. Adult rats were separated in three groups and received for ten, consecutively weeks : tap water (control group); 12.5% ethanol (ethanol group) and 12.5% ethanol red wine (wine group), At the end of these period, the kidneys were examined to determinate lipid peroxidation and (Na+K)ATPase activity, in cortex and in papillae. Rats given red wine did not show any changes in lipid peroxidation, although the bomb activity increase at 25% and 68% in cortex and papillae, respectively Red wine diminished MDA levels at a third in cortex and a half in the papillae, not showing variations on (Na+K)ATPase activity. These results suggested that stimulation of ethanol on (Na+K)ATPase activity will be suppressed by chronic consumption with red wine, being the principal responsible the non alcoholic compounds with their antioxidants properties.

Key words: ethanol, (Na+K)ATPase, kidney, wine, antioxidants

Referencias

- Rodrigo R, Thielemann L, Orellana M. Acute and chronic effect of ethanol on (Na-K)ATPase activity and cyclic AMP response to vasopressin in rat papillary collecting duct cells. *Gen Pharmacol* 1998; 30:663-7.
- Scott RR, Reddy K S, Husain K, Schlorff E C, Rybak L P, and Somani S M. Dose response of ethanol on antioxidant defense system of liver, lung, and kidney in the rat. *Pathophysiol* 2000; 7:25-32.
- Rodrigo R, Thielemann L. Effects of chronic and acute ethanol exposure on renal (Na-K)ATPase in the rat. *Gen Pharmacol* 1997; 29:719-23.
- Sadrzadeh SMH, Price P, Nanji AA. Ethanol-induced changes in membrane ATPase: inhibition by iron quelator. *Biochem Pharmacol* 1994; 47:745-7.
- Rodrigo R, Novoa E, Granata P. Effects of chronic ethanol consumption on renal clearance of electrolytes in the rat. *Med Sci Res* 1993; 21:47-9.
- Videla LA, Fernández V, Carrión Y, Azzalis L A, Bainy A C D, Junqueira VBC. Biochemical mechanisms in hepatotoxicity: oxidative stress induced by xenobiotics and hormonal changes. *J Braz Assoc Adv Sci* 1995; 47:385-94.
- Paller MS. Hemoglobin and myoglobin-induced acute renal failure in rats: role of iron in nephrotoxicity. *Am J Physiol* 1998; 255: F539-F544.
- Sadrzadeh SM, Nanji AA, Meydani M. Effect of chronic ethanol feeding on plasma and liver alpha- and gamma-tocopherol in normal and vitamin E-deficient rats. Relationship on lipid peroxidation. *Biochem. Pharmacol* 1994; 47:2005-10.
- Jacob RA, Burri BJ. Oxidative damage and defense. *Am J Clin Nutr.* 1996; 63:985S-990S.
- Giugliano D. Dietary antioxidants for cardiovascular prevention. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2000; 10: 38-44.
- Giovannini L, Migliori M, Longoni BM, Das DK, Bertelli AA, Panichi V, et al. Resveratrol, a polyphenol found in wine, reduces ischemia reperfusion injury in rat kidneys. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001; 37:262-70.
- Mcdonald MS, Hughes M, Burns J, Lean M E J, Matthews D, Crozie A. Survey of the free and conjugated myricetin and quercetin content of red wines of different geographical origins. *J Agric Food Chem* 1998; 46:368-75.
- Shoskes DA. Effect of bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal injury: a new class of renoprotective agents. *Transplantation* 1998; 66:147-52.
- Mantle D, Preedy VR. Free radicals as mediators of alcohol toxicity. *Adverse Drug Reaction Toxicol Rev* 1999; 18 : 235-52.
- Fernández V, Videla LA. Effect of acute and chronic ethanol ingestion on the content of reduced glutathione of various tissues of the rat. *Experientia* 1981; 37:392-4.
- Kera Y, Ohbora Y, Komura S. The metabolism of acetaldehyde and not acetaldehyde itself is responsible for in vivo ethanol-induced lipid peroxidation in rats. *Biochem Pharmacol* 1988; 37:3633-8.
- Orellana M, Valdés E, Fernández J, Rodrigo R. Effects of chronic ethanol consumption on extramitochondrial fatty acid oxidation and ethanol metabolism by rat kidney. *Gen Pharmacol* 1998; 30:719-23.
- Pietta P, Simonetti P, Gardana C, Brusamolino A, Morazzoni P, Bombardelli E. Relationship between rate and extent of catechin absorption and plasma antioxidant status. *Biochem Mol Biol Int* 1998; 46:895-903.
- Rabin RA, Acara MA. Regulation of (Na-K)ATPase by chronic ethanol exposure of PC 12 cells. *Biochem Pharmacol* 1993; 45: 1653-8.
- Rodrigo R, Rivera G. Renal damage by oxidative stress. A hypothesis of protective effects of red wine. *Free Rad Biol Med* (En prensa).