

Distribución postmortem del acetato y etanol en cadáveres humanos tras el consumo de etanol y drogas de abuso

Postmortem distribution of acetate and ethanol in human cadavers after ethanol and drug abuse consumption

Eloy Girela López¹, Pilar Irigoyen Reyes², Claudio Hernández-Cueto², Juan D Luna Del Castillo³, Cristina M Beltrán Aroca¹, Enrique Villanueva Cañadas²

¹ Unidad Docente de Medicina Legal y Forense. Facultad de Medicina. Universidad de Córdoba, España

² Cátedra de Medicina Legal y Toxicología. Facultad de Medicina. Universidad de Granada, España

³ Departamento de Bioestadística. Facultad de Medicina. Universidad de Granada, España

Resumen

Introducción: Este artículo evalúa el valor del acetato como marcador del consumo de etanol en muestras postmortem.

Material y métodos: Se analizó la concentración y distribución de etanol y acetato en diversos fluidos (sangre periférica, humor vítreo, líquido pericárdico y orina) y tejidos (cerebro, pulmones, hígado y riñones) en 98 cadáveres procedentes de autopsias judiciales.

Resultados: La presencia de etanol fue la variable más significativa en relación al aumento de los niveles de acetato en la mayoría de las muestras ($p < 0.0001$), excepto en orina y cerebro. Además, la presencia de drogas de abuso reflejó un aumento especialmente significativo de los niveles de acetato en los pulmones y líquido pericárdico ($p < 0.0001$).

Conclusiones: Las altas concentraciones de acetato en sangre y en hígado, y especialmente la ratio acetato en cerebro/acetato en sangre < 2 y acetato en riñón/acetato en sangre < 2.5 , fueron características del consumo de etanol.

Palabras clave: ciencias forenses, química postmortem, acetato, etanol, drogas de abuso, autopsia.

Abstract

Introduction: This paper assesses the value of acetate as a marker of ethanol consumption in post-mortem samples.

Materials and methods: Ethanol and acetate concentration and distribution in several fluids (peripheral blood, vitreous humour, pericardial fluid and urine) and tissues (brain, lungs, liver and kidneys) were studied in 98 cadavers from routine medico-legal autopsies.

Results: Presence of ethanol was the most significant variable related to the increase in acetate levels in most specimens ($p < 0.0001$), except for urine and brain. Furthermore, presence of drugs of abuse showed a particularly significant increase of acetate levels in lungs and pericardial fluid ($p < 0.0001$).

Conclusions: These preliminary results showed that high concentrations of acetate in blood and liver, but particularly Brain Acetate/Blood Acetate ratios < 2 and Kidney Acetate/Blood Acetate ratios < 2.5 , were characteristic of ethanol consumption.

Keywords: forensic science, post-mortem chemistry, acetate, ethanol, drugs of abuse, autopsy.

INTRODUCCIÓN

El análisis para la determinación de etanol es seguramente el más solicitado en el laboratorio de toxicología forense. La determinación de etanol mediante cromatografía de gases es técnicamente bastante sencilla, aunque por desgracia la interpretación de los resultados puede entrañar serias dificultades especialmente en muestras postmortem.

Entre las circunstancias a considerar se encuentran la dificultad de conocer si el tóxico está en una fase pre o postabsortiva, el lugar de toma de la muestra, posibles traumas sobre estómago o

diafragma, aspiración de vómito, y sobre todo la posible redistribución y formación endógena de etanol postmortem (1, 2).

Recientemente se han estudiado algunos marcadores del consumo de etanol, que pueden ayudar en la interpretación del mismo en muestras postmortem. Se considera que la Transferrina Deficiente en Carbohidratos (CDT) es útil como marcador del consumo crónico de etanol en muestras postmortem (3) pero sin embargo no es útil para demostrar el consumo antemortem. El Etil glucurónico (EtG) sí constituye una herramienta eficaz para detectar la ingesta de alcohol antemortem (4).

El acetato, además de ser el segundo metabolito resultante de la oxidación del etanol por la alcohol deshidrogenasa (EC 1.1.1.1) y la acetaldehído deshidrogenasa (EC 1.2.1.3), es un elemento de gran ubicuidad en el organismo como producto final e intermedio de otras reacciones de fermentación y oxidación. Durante la oxidación del etanol, los niveles de acetato en sangre son más elevados en alcohólicos que en bebedores ocasionales (5, 6) por ello, se propuso como marcador del consumo excesivo de alcohol en 1985 (7).

Aunque este marcador apenas ha sido estudiado, nosotros decidimos continuar esa línea de investigación, realizando previamente estudios experimentales en ratas (8) y humanos (9), y así poder aclarar el papel del acetato, su farmacocinética y distribución normal. En una segunda fase, nuestro Grupo de Investigación decidió estudiar el comportamiento postmortem del acetato en ratas (acetato endógeno y procedente del etanol) (resultados no publicados), y se demostró una tendencia al aumento de los niveles de acetato con el intervalo postmortem tras la administración de etanol, en todos los tejidos estudiados, excepto en cerebro.

En el presente trabajo, hemos estudiado la concentración y distribución de etanol y acetato en diferentes fluidos y tejidos de cadavéricos, para aclarar el papel del acetato como marcador de consumo de etanol y determinar si puede ayudar en la interpretación de los niveles de etanol en muestras de autopsia, especialmente en casos difíciles. Además, se han considerado las modificaciones en la concentración o distribución del acetato relacionadas con la causa de la muerte, el consumo de etanol, edad, sexo, intervalo postmortem y consumo de drogas de abuso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio observacional. La muestra consistió en 98 cadáveres procedentes de autopsias judiciales, realizadas en los Institutos de Medicina Legal de Granada y Córdoba (26 mujeres y 72 hombres), de los cuales no todos habían consumido alcohol antes de morir. Se seleccionaron casos consecutivos, salvo aquellos con intervalo postmortem (IPM) de más de 48 horas. El rango de edad era de 16 a 94 años (media= 55.6). El IPM fue calculado en la mayoría de los casos mediante testigos del fallecimiento o certificado de defunción y confirmado con el estado de los fenómenos cadavéricos durante la autopsia.

En cada caso, se recogieron muestras de diferentes fluidos (sangre periférica de vena femoral, humor vítreo, líquido pericárdico y orina) y tejidos (cerebro, pulmones, hígado, y riñones). La sangre se recogió en tubos de plástico con fluoruro sódico al 1% como anticoagulante, mientras que para el resto de muestras se utilizaron contenedores de plástico sin ningún conservante. En el caso de los tejidos, se tomó una porción de lóbulo frontal del cerebro, de la región anterosuperior del lóbulo derecho del hígado, de la zona superior del riñón derecho y de la zona anterior del lóbulo superior del pulmón derecho, de aproximadamente 4 x 4 x 2 cm. Todas las muestras se almacenaron refrigeradas a 4°C si los análisis se realizaban en 3 días, o congeladas a -20°C si se retrasaban más tiempo.

Los análisis de etanol y acetato se realizaron mediante cromatografía de gases con espacio de cabeza usando el cromatógrafo de gases Perkin-Elmer Sigma 300 con Detector de Ionización de Llama y columna Carbowax[®] 15% 2 m x 1/8" 1500 Chrom W (80-100 mesh) de SUPELCO. Los tejidos se homogeneizaron previamente en agua destilada (1/3, w/v). El análisis del etanol se llevó a cabo mediante un procedimiento de rutina en nuestro laboratorio, utilizando n-propanol al 0.5% como estándar interno. Las temperaturas del inyector, de la columna y del detector eran de 200, 100 y 250°C, respectivamente.

La determinación de acetato se realizó según el método descrito por GILES et al. (10), mediante el cual el acetato se convierte a metilacetato añadiéndole 0.2 ml de metanol y 0.05 ml de ácido sulfúrico a los estándar o a las muestras, y usando n-butanol al 2% como estándar interno. Las muestras se calentaron a 60°C durante 30 minutos. Las temperaturas del inyector, columna y detector fueron de 100, 75 y 250°C, respectivamente.

La precisión de las técnicas fue del 1.16% para el etanol y osciló en un rango de 1.57 al 7.93% para el acetato, dependiendo de la muestra (1.57% orina, 2.41% hígado, 2.6% riñones, 2.73% líquido

pericárdico, 2.9% pulmones, 4.6% humor vítreo, 6.69% cerebro y 7.93% sangre).

Además se realizaron mediciones adicionales de potasio en humor vítreo mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica (11) y de drogas de abuso en orina mediante EMIT (12).

Se realizaron análisis estadísticos mediante regresión lineal múltiple ANOVA plus para determinar la influencia de cada uno de los factores estudiados (causa de la muerte, presencia de etanol, edad, sexo, intervalo postmortem y presencia de drogas de abuso en orina) en la concentración o distribución de acetato.

RESULTADOS

La presencia de etanol (n= 22) era la variable más significativa relacionada con el aumento de acetato en la mayoría de las muestras (p<0.0001), excepto en orina y cerebro (Figura 1).

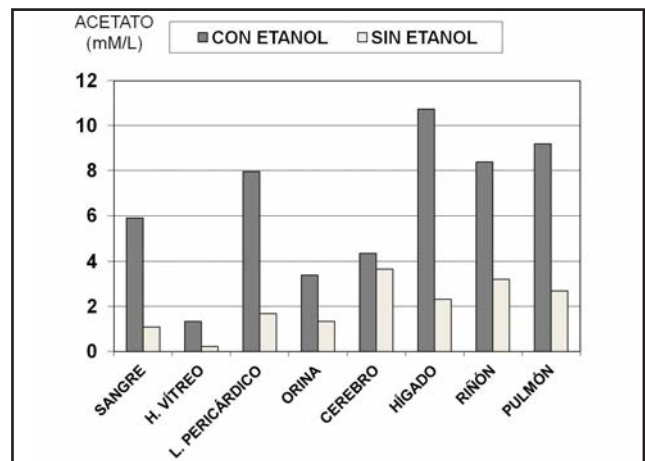


Figura 1. Concentraciones de acetato (mM) en presencia o ausencia de etanol.

El intervalo postmortem tendió a incrementar la concentración de acetato en la mayoría de las muestras, aunque con los test de regresión lineal múltiple no se observaron diferencias estadísticamente significativas. En algunos fluidos el incremento en los valores obtenidos estuvieron cerca de ser significativos: líquido pericárdico (r= 0.46; p=0.09), sangre (r=0.44; p= 0.13) y orina (r= 0.40; p= 0.11). No se observaron diferencias en las concentraciones de acetato en relación al sexo y la edad.

Se consideraron diferentes causas de muerte, agrupadas en los siguientes grupos: Asfixias (n= 11; 11.2%), Intoxicaciones (n= 17; 17.3%), de origen Cardíaco (n= 24; 24.5%), Traumáticas (n=24; 24.5%) y Miscelánea (n=22; 22.4%). Clasificamos una muerte dentro del grupo de las intoxicaciones cuando pensábamos que las sustancias tóxicas eran la causa de la muerte (ver Tabla 1).

	3	10	15	29	36	40	42	44	46	59	68	71	79	83	86	93	98
Etanol	x			x		x	x		x	x			x		x	x	x
Pesticidas Organofosforados			x								x						
CIK														x			
CNH								x									
Heroína	x				x	x			x				x				x
Metadona				x									x			x	
Anfetaminas		x							x								
Cannabis		x	x						x			x					x
Benzodiazepinas			x	x	x	x				x		x	x				x
Cocaína	x	x				x				x			x				

Tabla 1. Grupo de muertes por intoxicación (n=17). Incluye dos casos de intoxicación por etanol (los cadáveres 42 y 98, con concentraciones de alcohol de 2.88 y 3.54 g/l en sangre, respectivamente)

Las estadísticas demostraron que hubo diferencias significativas entre las muertes por intoxicación y otras causas de muerte, con concentraciones de acetato más elevadas en las primeras en todas las muestras excepto en cerebro (Figura 2).

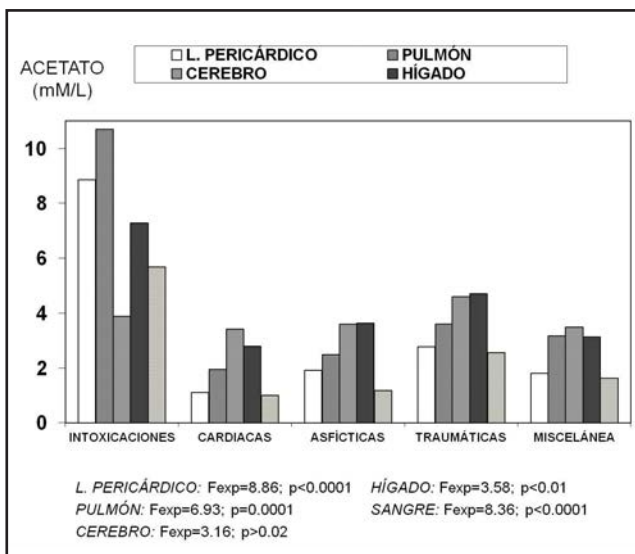


Figura 2. Concentraciones de acetato (mM/L) según diferentes causas de muerte.

La presencia de drogas de abuso en orina ($n=21$) puso de manifiesto un aumento significativo de acetato en sangre, riñones, y especialmente en pulmones y líquido pericárdico ($p<0.0001$) (ver Tabla 2).

(expresadas en mM/L)	Con drogas de abuso	Sin drogas de abuso	Valor estadístico p
Acetato en sangre	5.59	1.73	$P<0.005$
Acetato en humor vítreo	0.79	0.49	
Acetato en líquido pericárdico	10.8	2.16	$P<0.0001$
Acetato en orina	1.81	1.94	
Acetato en cerebro	3.96	4.23	
Acetato en hígado	8.17	4.14	$P=0.03$
Acetato en riñón	11.4	3.29	$P<0.001$
Acetato en pulmón	15.1	3.01	$P<0.0001$

Tabla 2. Concentraciones medias de acetato (expresadas en mM/L) en cadáveres con drogas de abuso en orina ($n=21$) frente a los que no las presentan ($n=53$).

Los resultados en relación a la distribución del etanol en nuestras muestras, expresados como la proporción de etanol en fluidos o tejidos/ etanol en sangre, eran similares a los publicados previamente (13, 14): 1.21 para orina, 1.32 para humor vítreo, 1.41 líquido pericárdico, 0.88 cerebro, 0.57 hígado y 0.61 para riñones, con el nuevo dato de una proporción en pulmones de 0.53, no publicada anteriormente.

La distribución del acetato, expresada como la proporción de acetato en fluidos o tejidos / acetato en sangre, mostró un patrón específico en los casos en los que había presencia de etanol (Figura 3), con diferencias estadísticamente significativas en la proporción de acetato en cerebro/sangre y riñón/sangre ($p<0.0001$).

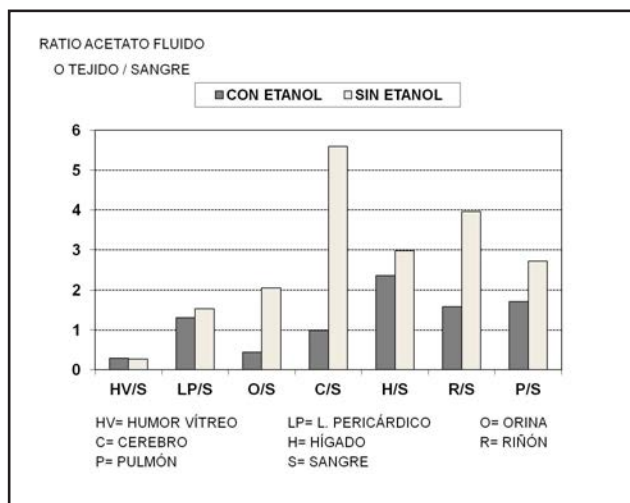


Figura 3. Proporción de acetato en fluidos o tejidos/sangre en presencia o ausencia de etanol.

DISCUSIÓN

Es un hecho conocido que la concentración basal de acetato en plasma es relativamente estable y muy baja (de 0.1 a 0.2 mM), excepto tras el consumo de etanol que las concentraciones se elevan hasta veinte veces y alcanzan una meseta que se mantiene constante mientras que haya etanol en sangre (15). En nuestro estudio, los niveles sanguíneos de acetato en cadáveres sin etanol ($n=76$, media de 1.09 mM) fueron considerablemente más elevados que en sujetos vivos ($n=50$, media de 0.12 mM) (9). Esta diferencia podría ser atribuida a un incremento postmortem. Aunque no estamos seguros del acetato producido postmortem, los niveles sanguíneos incrementados de acetato quedan cercanos a la significación estadística en un test de regresión lineal múltiple ($r=0.44$; $p=0.13$). De hecho, hay algunas evidencias que avalan el incremento continuado de intensidad en el acetato del cerebro porcino durante las 100 primeras horas del intervalo postmortem (detectado por espectroscopía H-MR) (16). Además, el acetato es un metabolito intermediario que puede producirse a partir de la acción de levaduras (*S. cerevisiae*) y bacterias (*Zymomonas sp.*, *Bacterias del Ácido Láctico*, *Enterobacterias* y *Clostridia*) sobre los carbohidratos (17).

Aparte de la sangre, el acetato en orina parece aumentar tras el consumo de etanol, aunque este aumento no es tan claro como en la sangre (18). Tsukamoto *et al.* (19) encontraron que el acetato libre y ligado en sangre y orina no era dependiente de la dosis de etanol, sino que reflejaba las condiciones metabólicas de cada individuo.

Se conoce poco sobre la concentración y distribución del acetato en otros tejidos y fluidos en relación con el metabolismo del etanol. El presente trabajo, basado en nuestro previo estudio experimental en ratas, demostró un aumento en la concentración de acetato después del consumo de etanol en todas las muestras estudiadas, excepto en cerebro y orina.

En el caso de la orina, nuestros resultados mostraron un claro aumento en la concentración de acetato tras el consumo de etanol pero no eran estadísticamente significativos. Estos resultados no eran inesperados porque confirmaron hallazgos previos ya publicados por Lundquist (20) y Tsukamoto (18), que indicaban que la excreción renal tenía un papel menos importante en la eliminación de acetato.

Sin embargo, el hecho de que el acetato en cerebro no aumente tras el consumo de etanol, es sorprendente porque este compuesto difunde a través de la barrera hematoencefálica (21) y tiende a aumentar con el intervalo postmortem en el cerebro porcino (16). Además, el etanol en cerebro primero se oxida a acetaldehído, principalmente por las catalasas, y lo hace en menor grado a través de la alcohol deshidrogenasa (ADH) o de la citocromo

P450, y posteriormente se convierte en acetato mediante la aldehído deshidrogenasa (ALDH) (22). La única explicación posible es que las neuronas consuman rápidamente el acetato, ya que el desequilibrio en el cociente NAD/NADH produce una inhibición parcial de la glicolisis aerobia, y el cerebro utiliza el acetoacetato como recurso energético (23). Esto coincide con los estudios de Zakhari (21), estableciendo que después de consumir etanol el cerebro utiliza preferentemente acetato -más que la glucosa- como fuente de energía.

Los incrementos de acetato en el hígado tras el consumo de etanol, son los más elevados entre todas las muestras estudiadas. Estas concentraciones elevadas en hígado eran previsibles, puesto que la oxidación del etanol para producir acetato tiene lugar en el tejido hepático, mientras que la conversión del acetato en metabolitos finales ocurre principalmente fuera de éste (24).

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las intoxicaciones y el resto de causas de muerte, con concentraciones más elevadas de acetato en las primeras, en todas las muestras excepto en cerebro. Sin embargo es muy difícil determinar en qué medida el incremento en las concentraciones de acetato depende del tipo de droga (ver Tabla 1). 10 de los 17 cadáveres del grupo de muertes por intoxicación tenía etanol, y 11 de los 17 tenían una combinación de diferentes drogas - cocaína, heroína, metadona, cannabis y anfetaminas-.

A pesar de ello, la presencia de drogas de abuso en orina, per se, puso de manifiesto un aumento significativo de acetato, que fue especialmente evidente en pulmones y líquido pericárdico. Puede que el aumento de acetato en estas muestras esté relacionado con el edema agudo de pulmón existente en la mayoría de muertes repentinas en adictos a drogas, aunque no nos aventuramos a dar una explicación concluyente.

Cuando estudiamos las diferentes proporciones de acetato (concentración de acetato en fluidos o tejidos / concentración de acetato en sangre), nuestros resultados mostraron varios ratios que podrían ayudar a los toxicólogos en la interpretación de los resultados del etanol en los casos más difíciles, especialmente en aquellos con distribución atípica o ausencia de etanol en alguna de las muestras. La distribución del acetato, expresada como el cociente acetato en fluidos o tejidos / acetato en sangre, presentaba un patrón específico en los casos con presencia de etanol, existiendo diferencias significativas en las proporciones de acetato en cerebro/sangre y riñón/sangre ($p < 0.0001$). En todos los casos con patrón de consumo de etanol, encontramos una proporción característica acetato en cerebro / sangre < 2 y acetato en riñón / sangre < 2.5 .

De todos los cadáveres con etanol, solo uno presentó niveles de etanol difíciles de interpretar (Tabla 3), incluso teniendo en cuenta los criterios publicados por O'Neal y Poklis (1). El cadáver número 95 era un hombre de mediana edad fallecido en un accidente de coche, con un intervalo postmortem de 27 horas y sin signos evidentes de putrefacción. En este caso, se hallaron en sangre niveles bajos de etanol (0.12 g/l), así como ausencia del mismo en otros fluidos (orina y humor vítreo), que nos podrían hacer pensar que se trataba más bien de síntesis postmortem en lugar de consumo previo. Sin embargo, pensamos que la presencia de este etanol se debe a un consumo antemortem porque el intervalo postmortem es corto, por la ausencia de signos de putrefacción y porque había niveles significativos de etanol en todos los tejidos (0.53 g/l en cerebro y 0.49 g/l en riñón). Además, las concentraciones de acetato eran indicativas de consumo, con los niveles más elevados en sangre e hígado y con una proporción de acetato en cerebro / sangre de 0.14 y en riñón / sangre de 0.51. Esta proporción de acetato en cerebro / sangre en la muestra número 95, era acorde con nuestros resultados, que en todos los casos con presencia de etanol mostraban este patrón específico.

Como conclusión, estos resultados preliminares han mostrado que las elevadas concentraciones de acetato en sangre e hígado, pero especialmente la proporción acetato en cerebro/sangre < 2 y riñón/sangre < 2.5 , eran características del consumo de etanol. Por tanto, el acetato puede ser un marcador útil para determinar el consumo previo a la muerte, en algunos casos dudosos. No obstante, nuestro tamaño muestral es limitado, por lo

que se necesitarán futuras investigaciones con una muestra mayor para confirmar estos resultados y aclarar la influencia del intervalo postmortem en el aumento de las concentraciones de acetato.

Caso nº 95	Etanol (g/L)	Acetato (mM)	Proporción de acetato
Sangre (S)	0.12	14.20	
Humor vítreo (HV)	0	0.07	HV/S= 0.005
Líquido pericárdico (LP)	0.18	10.10	LP/S= 0.71
Orina (O)	0	0.39	O/S= 0.03
Cerebro (C)	0.53	1.92	C/S= 0.14
Hígado (H)	0.40	9.96	H/S= 0.70
Riñón (R)	0.49	7.22	R/S= 0.51
Pulmón (P)	0.42	9.70	P/S= 0.68

Tabla 3. Caso de distribución atípica de etanol en nuestra muestra.

REFERENCIAS

- O'Neal CL, Poklis A. Postmortem production of ethanol and factors that influence interpretation. A critical review. *Am J For Med Path* 1996;17:8-20.
- Kugelberg FC, Jones AW. Interpreting results of ethanol analysis in post-mortem specimens. A review of the literature. *For Sci Int* 2007;165:10-29.
- Sadler DW, Girela E, Pounder DJ. Post mortem markers of chronic alcoholism. *For Sci Int* 1996;82:153-156.
- Høiseth G, Karinen R, Christophersen A, Mørland J. Practical use of ethyl glucuronide and ethyl sulfate in postmortem cases as markers of antemortem alcohol ingestion. *Int J Legal Med* 2010;124:143-148.
- Bruno R, Iliadis A, Treffot MJ, Mariotti B, Cano JP, Jullien G. Evolution of plasma acetate concentration during ethanol metabolism in man. *For Sci Int* 1983;21:215-221.
- Nuutinen H, Lindros K, Hekali P, Salaspuro M. Elevated blood acetate as indicator of fast ethanol elimination in chronic alcoholics. *Alcohol* 1985;2:623-626.
- Korri UM, Nuutinen H, Salaspuro M. Increased blood acetate: a new laboratory marker of alcoholism and heavy drinking. *Alcohol Clin Exp Res* 1985;9:468-471.
- Girela E, Hernández-Cueto C, Calvo MD, Luna JD, Villanueva E. Metabolismo del acetato: estudio experimental. *Rev Esp Fisiol* 1993;49:101-106.
- Girela E, Villanueva E, Hernández-Cueto C, Luna JD. Comparison of the CAGE questionnaire versus some biochemical markers in the diagnosis of alcoholism. *Alcohol & Alcoholism* 1994;29 Suppl 3:337-343.
- Giles HG, Meggiorini S, Vidins EI. Semiautomated analysis of ethanol and acetate in human plasma by head space gas chromatography. *Can J Physiol Pharmacol* 1986;64:717-719.
- Farmer JG, Benomran F, Watson AA, Harland WA. Magnesium, Potassium, sodium and calcium in postmortem vitreous humour from humans. *For Sci Int* 1985;27 Suppl 1:1-13.
- Hancock L, Hennrikus D, Henry DA, Sanson-Fisher R, Walsh R, Lewis JH. Agreement between two measures of drug use in a low-prevalence population. *Addict Behav* 1991;16 Suppl 6:507-16.
- Christopoulos G, Kirch ER, Gearien JE. Determination of ethanol in fresh and putrified post mortem tissues. *J Chromatogr* 1973;87 Suppl 2:454-472.
- Stone BE, Rooney PA. A study using body fluids to determine

blood alcohol. *Can Soc Forensic Sci J* 1985;18:95-96.

15. Lundquist F. The concentration of acetate in blood during alcohol metabolism in man. *Acta Physiol Scand* 1960;175:97-101.

16. Banaschak S, Rzanny R, Reichenbach JR, Kaiser WA, Klein A. Estimation of post-mortem metabolic changes in porcine brain using ¹H-MR spectroscopy – preliminary results. *Int J Legal Med* 2005;119:77-79

17. Boumba VA, Ziavrou KS, Vougiouklakis. Biochemical pathways generating post-mortem volatile compounds co-detected during forensic ethanol analyses. *For Sci Int* 2008;174:133-151.

18. Tsukamoto S, Kanegae T, Uchigasaki S, Kitazawa M, Fujioka T, Fujioka S, et al. Changes in free and bound alcohol metabolites in the urine during ethanol oxidation. *Jpn J Alcohol & Drug Dependence* 1993;28:441-452.

19. Tsukamoto S, Muto T, Nagoya T, Shimamura M, Saito M, Tainaka H. Determinations of ethanol, acetaldehyde and acetate in blood and urine during alcohol oxidation in man. *Alcohol & Alcoholism* 1989;24:101-108.

20. Lundquist F. Production and utilization of free acetate in man. *Nature* 1962;193:579-580.

21. Zakhari S. Alcohol metabolism in the brain: significance of acetaldehyde and acetate. *Alcohol* 2008;42:317.

22. Zimatkin SM, Pronko SP, Vasiliou V, Gonzalez FJ, Deitrich RA. Enzymatic mechanisms of ethanol oxidation in the brain. *Alcohol Clin Exp Res* 2006;30:1500-1505.

23. Stryer L. Metabolismo de los ácidos grasos. En: Berg JM, Stryer L, Tymoczko JL, editores. *Bioquímica Vol II*. Barcelona: Ed. Reverte SA; 1990; p. 475-501.

24. Yamashita H, Kaneyuki T, Tagawa K. Production of acetate in the liver and its utilization in peripheral tissues. *Biochim Biophys Acta* 2001;1532:79