
Efecto del Etanol sobre las Membranas Biológicas

*Dr. José Rubén Elvir
Mairena**

RESUMEN

El etanol al igual que otros alcoholes puede actuar en las membranas biológicas fundamentalmente de 3 formas: 1) alterando la fluidez de las membranas, lo que indirectamente afectaría el funcionamiento de las proteínas como enzimas y canales; 2) produciendo una deshidratación a nivel de las membranas; 3) interactuando directamente con las proteínas de la membrana.

Los efectos del etanol en las membranas biológicas podrían explicar en parte, los efectos generalizados del etanol.

PALABRAS CLAVES: Etanol, Membranas biológicas, Alcoholismo, anestésicos.

INTRODUCCION

Cada vez hay mas evidencias de que los efectos de letargos de la intoxicación crónica con etanol pueden estar relacionados con cambios a nivel celular. La interacción del etanol con las membranas biológicas, incluyendo lípidos y proteínas, puede causar cambios significativos en la función de la membrana. Sin embargo la interacción del etanol con las membranas biológicas es compleja⁽¹⁾.

Profesor Titular I del Depto. de Fisiología, U.N.A.H. Estudiante de Postgrado en Fisiología y Biofísica del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

Un alcohol tiene un grupo lipofílico y otro hidrofílico (hidroxilo). Los alcoholes alquílicos se pueden dividir en: de cadena corta y cadena larga. Se ha observado que estas dos series de alcoholes tienen efectos diferentes a nivel molecular, esto debido a sus diferencias estructurales a la limitada solubilidad en medio acuoso que tienen los alcoholes de cadena larga en relación a aquellos de cadena corta.

La naturaleza anfipática de los alcoholes les confiere ciertas propiedades particulares, de tal manera que pueden reaccionar con otras moléculas polares, pero igualmente por su naturaleza hidrofóbica pueden reaccionar con regiones hidrofóbicas de los lípidos y proteínas alterando así sus funciones.- Dentro de la serie de alcoholes de cadena corta se destaca el etanol, por ser el alcohol contenido en casi la totalidad de bebidas alcohólicas (existen personas que consumen metanol).

EFFECTOS SOBRE LA FLUIDEZ DE LAS MEMBRANAS.

Varios estudios se han hecho para ver los efectos del alcohol en membranas biológicas, incluyendo membranas plasmáticas y membranas de organelos intracelulares^(1,2,3,4,5). En todos estos estudios la interpretación común es que todos los efectos del etanol y otros alcoholes sobre las células, son debidos a una interacción inespecífica del alcohol con la membrana que se traduce como un aumento en la fluidez de la

Misma. Como es bien conocido, el mantenimiento de un nivel óptimo de fluidez en las membranas es un requisito importante para el funcionamiento normal de numerosas proteínas de la misma, de manera que un incremento en la fluidez podría alterar las interacciones normales entre lípidos y proteínas afectando así las funciones de estas últimas (Cuadro 1).

CUADRO 1

PROTEÍNAS DE MEMBRANA PLASMÁTICA CUYO FUNCIONAMIENTO ES AFECTADO POR EFECTOS DEL ETANOL «

Adenilato ciclasa^{w>}

Fosfolipasa C^m

Receptor de acetilcolina[“]

Canales de calcio voltaje dependientes[”]

Canales de Potasio dependientes de calcio^{ao)}

Canales de cloruro dependientes de calcio^{m)}

Canales catiónicos mediados por receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA)^{im}

Canales de cloruro mediados por receptores de Ácido Gamma aminobutírico (GABA)^{<13)}

ATPasa de Sodio/Potasio W

ATPasa de Sodio^{<ls_ici7>}

ATPasa de Calcio^(Sm_“)

• Para algunas de estas proteínas no se ha demostrado alteración in vivo sino solamente in Vitro.

Chin y Goldstein en 1977, observaron los efectos fluidizantes del etanol en 4 distintos tipos de membranas biológicas aisladas de ratones: membrana mitocondrial, mielinica y sináptica de cerebro y membrana de eritrocitos. Para esto incubaron las membranas marcadas con ácido 5-doxilestearico con concentraciones crecientes de etanol y observaron los cambios en fluidez determinados como cambios en el parámetro de orden medido del espectro de resonancia paramagnética electrónica (RPE) obtenidos a cada concentración del etanol. El ácido 5-doxilestearico es un marcador paramagnético que tiende a alinearse con las cadenas hidrocarbonadas de los fosfolípidos en la bicapa de lípidos de las membranas reportador paramagnético se localiza en el carbono 5 y por lo tanto en una región cercana a la superficie y su espectro de RPE es afectado

Por su movimiento, lo cual va a depender de la fluidez de su medio ambiente. Chin y Goldstein encontraron que solo las membranas de eritrocitos y sinápticas tenían aumento de fluidez significativo a concentraciones no letales de etanol. Esto sugiere que concentraciones de etanol farmacológicamente obtenibles y no letales pueden producir un aumento significativo en la fluidez de estas membranas in vivo, por lo que se pudiera inferir que Este cambio de fluidez es el responsable de numerosos desordenes a nivel del sistema nervioso central^{<2)}.

Harris y Schroeder en 1981 incubaron membranas sinápticas y mielinicas de cerebro de ratones in Vitro con concentraciones de etanol cada vez mayores y observaron la polarización de fluorescencia del DPH (1,6-difenil 1-3-5 hexatrieno), el cual es un marcador sensible a alteraciones en el orden de las membranas. Ellos encontraron que la polarización de fluorescencia de este compuesto disminuye a medida que se

incrementa la concentración de etanol desde 0 hasta 20 mM en el caso de las membranas sinápticas, pero que en el caso de las membranas mielinicas se necesitó de una concentración letal (330 mM) para causar una disminución significativa en la polarización de fluorescencia del DPH¹⁰⁾. Tanto Chin y Goldstein como Harris y Schroeder encontraron además que el mayor efecto fluidizante del etanol se produce hacia el interior de la bicapa, región que de por sí es más fluida que la superficie^{”_20)}.

Si bien lo anterior muestra que el etanol tiene un efecto inespecífico sobre esa membrana. Wood y Schroeder en 1988 plantearon que debido a que en la membrana existen dominios o "parches" lipídicos que difieren en su fluidez y composición lipídica, las acciones de los alcoholes y otras drogas deben ser más marcadas en ciertas regiones que en otras, planteándose que los alcoholes pueden interactuar "específicamente" con ciertos dominios de la membrana. Esto es interesante ya que podría explicar efectos diferenciales en distintas membranas^{m>}. Las membranas mielinicas, para el caso, son más ricas en colesterol y por lo tanto más ordenadas, que las membranas sinápticas y de eritrocitos y esto explicaría por que las primeras son menos sensibles a los efectos del etanol.

Chin y Goldstein en 1977 estudiaron membranas de eritrocitos y cerebro de ratones que habían sido hechos tolerantes al etanol utilizando la técnica de resonancia

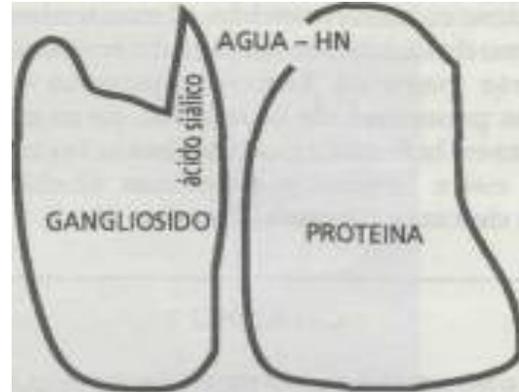
Paramagnética electrónica con ácido 5-doxilestearico conduciendo que las membranas se adaptan por si mismas al etanol¹¹. Los mismos investigadores encontraron en 1981 que los efectos fluidizantes del etanol podían ser atenuados adicionando cantidades cada vez mayores de colesterol en preparaciones de membranas artificiales (liposomas) en las cuales antes de agregar el colesterol se había demostrado un aumento en el desorden de la bicapa similar al que ocurre en membranas naturales. También ellos presentan evidencias de que membranas de animales tolerantes al etanol tienen 10-15 % mas colesterol que membranas de animales controles y sugieren que el colesterol puede ser el inductor de la tolerancia al etanol¹¹.

Esto podría asociarse con el desarrollo de arterias clorosis en alcohólicos. Otra posibilidades que se produzca una disminuyendo en la proporción de lípidos insaturados a saturados.⁽²³⁾

EFFECTO DESHIDRATANTE EN LAS MEMBRANAS.

Existen otras teorías donde se plantea que el mecanismo de acción del etanol no es debido únicamente a su grado de hidrofobicidad sino que la porción hidrofílica de este también juega un papel importante en sus efectos. Klem en 1990 planteo el siguiente modelo: Se conoce que los gangliosidos están embebidos en la membrana con su grupo carbohidratos y ácido sialico expuestos al medio acuoso. Se cree que al estar expuestos al agua los ácidos sialicos cargados negativamente pueden sufrir una atracción electrostática hacia los aminoácidos cargados positivamente de regiones hidrofílicas de proteínas de membrana, pudiendo el agua por medio de puentes de hidrogeno servir de unión entre ambas. Esta interacción ácido sialico con aminoácido podría regular las actividades de las proteínas al mantener una determinada configuración en ellas. El etanol podría interactuar con el agua desplazándola perdiéndose los puentes de hidrogeno, ya que el etanol solo puede unir un hidrogeno ya sea del aminoácido O del ácido sialico. Por otro lado, la porción hidrofóbica del etanol puede disponerse paralela, a los grupos hidrofóbicos del gangliosido y la proteína. Este proceso de deshidratación puede ocurrir fácilmente ya que las moléculas de agua están en constante movimiento y los puentes se rompen y reforman. (Fig. 1 y 2). Existen varias evidencias que apoyan esta teoría como las siguientes: 1) dosis agudas intoxicantes de etanol disminuyen la cantidad de gangliosidos en el cerebro, 2) las interacciones entre

Fig. 1.- unión que ocurre normalmente por la forma donde puentes de hidrogeno entre el ácido sialico de un gangliosido y el grupo -NH de una proteína adyacente

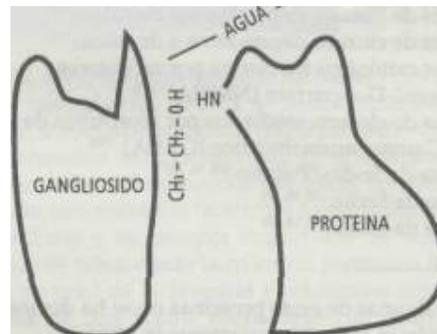


(24).

Fig. 2. Una molécula de etanol puede desplazar (deshidratar) agua en el micro ambiente entre el ácido sialico de un gangliosido y la proteína receptora (24). Lípidos y proteínas mantienen a la membrana mas ordenada y las membranas se vuelven mas desordenadas cuando se exponen a salidas, y 3) el etanol parece reducir el agua en el cerebro a un nivel microscópico⁴⁴.

ACCION DIRECTA DEL ETANOL SOBRE PROTEINAS DE MEMBRANAS.

La existencia de un amplio rango de compuestos químicos de estructuras muy diversas, entre ellos los alcoholes, los cuales tienen efectos anestésicos muy similares a nivel celular sugiere que no puede haber una



REVISION BIBLIOGRAFICA

interacción química específica entre un sitio receptor en las proteínas y todas las moléculas que tienen actividad anestésica. En vista de esto, se ha asumido una hipótesis unitaria donde se indica que existe una perturbación estructural común en las membranas biológicas, la cual es causada por todos los anestésicos (incluyendo los alcoholes) independientemente de su estructura y que va a ser sentida por las proteínas blanco. Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de que los anestésicos, entre ellos los alcoholes, puedan actuar por otro mecanismo, como por ejemplo, a través de interacciones directas con las proteínas blancas. En apoyo a esta segunda hipótesis Richards y col. en 1978 encontraron que alcoholes de cadena corta, como etanol, incrementaban la fluidez de bicapas lipídicas artificiales y naturales, mientras que alcoholes de cadena larga (> de 10 carbonos) disminuían la fluidez de las mismas. También observaron que los efectos de los alcoholes de cadena corta y larga eran antagónicos. Sin embargo cuando se estudio el efecto de alcoholes de cadena corta y larga sobre la conducción nerviosa (relacionada con la potencia anestésica) ambos grupos bloquearon la conducción. Richards y col. no plantean que todos los alcoholes y anestésicos actúen uniéndose a sitios específicos en las proteínas ya que esto sería extremadamente improbable, sino que suponen que pequeñas moléculas podrían ser distribuidas en un "sets" de sitios hidrofóbicos de dimensiones apropiadas dentro de la proteína, mientras que moléculas mas grandes podrían unirse a "sets" de sitios mayores en la proteína⁽²⁵⁾.

Franksy Lieb en 1984 plantearon también la posibilidad de interacciones directas de los alcoholes con las proteínas, ya que usando alcoholes y anestésicos inhibieron en un 50% la actividad de luciferasa soluble totalmente purificada^{oa}.

OTRAS ALTERACIONES

El ensamblaje de fucoproteínas y sialoproteínas (glicoproteínas) en la membrana plasmática fue marcadamente inhibido en ratas tratadas con etanol en un estudio de Tuma y cols, en 1986⁽⁷⁾. El tratamiento con etanol, tan agudo como crónico causa inhibición de la síntesis de proteínas mitocondriales y probablemente altera la incorporación de tales proteínas en la membrana mitocondrias^(U). Finalmente también, como ya se ha mencionado, el etanol puede conducir a cambios en la composición lipídica de la membrana⁻⁷¹.

Cualquiera sea la forma de actuar del etanol sobre las membranas biológicas, tales efectos podrían explicar al menos en parte, los efectos generalizados del etanol.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Taraschi, T.F. y Rubin, E.: Effects of Ethanol on the Chemical and Structural Properties of Biologic Membranes. *Laboratory Investigation* 52(2):120-131, 1985.
- 2.- Chin, J.H. y Goldstein, D.B.: Effects of Low Concentrations of Ethanol on the Fluidity of Spin-Labeled Erythrocyte and Brain Membranes. *Molecular Pharmacology* 13(3):435-441, 1977.
- 3.- Chin, J.H. y Goldstein, D.B.: Drug Tolerance in Biomembranes: A Spin Label Study of the Effects of Ethanol. *Science* 196(4290):684-685, 1977.
- 4.- Hoek, J.B., Thomas, A.P., Rubin, R. y Rubin, E.: Ethanol-Induced Mobilization of Calcium by Activation of Phosphoinositide Specific Phospholipase C in Intact Hepatocytes. *The Journal of Biological Chemistry* 262(2):682-691, 1987.
- 5.- Melgunov, V.I., Dzhindal, S. y Belikova, M.P.: Dual Action of Ethanol and Other Aliphatic Alcohols on Efficiency of Work of the Ca-ATPase of the Sarcoplasmic Reticulum of Skeletal Muscles. *Biokhimiia*. 52(10):1688-1695, 1987.
- 6.- Tabakoff, B., Hoffman, L. y Liljequist, S.: Effects of Ethanol on the Activity of Brain Enzymes. *Enzyme* 37(1-2):70-86, 1987.
- 7.- Hoek, J.B. y Taraschi, T.F.: Cellular Adaptation to Ethanol. *Trends in Biochemical Sciences* 13 (July):270-274, 1988.
- 8.- Baker, G.M. y Chen, Ch.: The Effects of Ethanol on the Structural Stability of Acetylcholine Receptor and on the Activity of Various Molecular Forms of Acetylcholinesterase. *Various Molecular Forms of Acetylcholinesterase. Biochimica et Biophysica Acta* 992 (3):333-340, 1989.
- 9.- Harris, R.A. y Hood, W.F.: Inhibition of Synaptosomal Calcium Uptake by Ethanol. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 213(3):562-568, 1980.

- 10.- Tas,P.W.L., Kress,H.G. y KoscheI,K.:Lipid Solubility is not the Sole Criterion for the Inhibition of Ca-Activated K Channel by Alcohols. *Biochimica et Biophysica Acta* 1023(3):436-440,1990.
- 11.- Wafford,K.A., Dunwiddie,T.V. y Harris,R.A. Calcium-Dependent Chloride Currents Elicited by Injection of Ethanol into *Xenopus* Oocytes. *Brain Research* 505(2):215-219,1989.
- 12.- Gonzales,R.A.;NMDA Receptors Excite Alcohol Research. *Trends in Pharmacological Sciences* U(April):137-139,1990.
- 13.- Suzdak,P.D., Schwartz,R.D., Skolnick,P.y Paul,S.M.:Alcohols Stimulate Aminobutyric Acid Receptor-Mediated Chloride Uptake in Brain VesiclesCorrelaHon with Intoxication Potency. *Brain Research* 444(2):340-345,1988.
- 14.- Israel., Kalant,H. y Laufer,I.:Effects of Ethanol on Na, K, Mg-Stimulated Microsomal ATPase Activity. *Biochemical Pharmacology* 14(12):1803-1814,1965.
- 15.- Rothman,A., Proverbio,T., Fern5ndez,E. y Proverbio,F.:Effect of Ethanol on the Na- and the Na,K-ATPase Activities of Basolateral Plasma Membranes of Kidney Proximal Tubular Cells. *Biochemical Pharmacology* 43(9):2034-2036,1992.
- 16.- Elvir,J.R.,Proverbio,T. y Proverbio,F.:Efecto del Etanol sobre las Actividades ATPasicas de Na y Na,K en Membranas de Celulas de Tubulo Renal de Ratas Viejas. *Acta Cientifica Venezolana*. 43(Sup.1):121,1992.
- 17.- Matteo R., Proverbio,T. y Proverbio,F.:Ingesta de Etanol y Actividades ATPasicas Estimuladas por Na en Membranas Celulares de Rifion de Rata. *Acta Cientifica Venezolana*. 43(Sup.1):120,1992.
- 18.- Yamamoto,H. y Harris,R.A.: Effects of Ethanol and Barbiturates on Ca-ATPase Activity of Erythrocytes and Brain Membranes. *Biochemical Pharmacology* 32C18):2787-2791, 1983.
- 19.- Cerviño, V. y Benaim, G.: Efecto de Alcoholes sobre la Ca-Aptaza de la Membrana plasmática de Eritrocitos Humanos. *Acta Científica Venezolana*. 43(Sup.1): 11, 1992.
20. - Harris, R. An. y Schroeder, F.: Ethanol and the Physical Properties of Brain Membranes-Fluorescence Studies. *Molecular Pharmacology* 20(1):128-137, 1981.
21. - Wood, W. G. y Schroeder, F.: Membrane Effects of Ethanol: Bulk Lipid Versus Lipid Domains. *Life Sciences* 43(6):467-475, 1988.
22. - Chin J. H. y Goldstein, D.B.: Membrane-Disorder-ing Action of Ethanol.-Variation with Membrane Cholesterol Content and Depth of the Spin Label Probe. *Molecular Pharmacology* 19(3):425-431, 1981.
23. - Goldstein, D. B. y Shelly, C.: Chronic Effects of Alcohols in Mouse Biomembranes. - En *Biological Effects of Alcohol*. Begleiter. H. (Ed.). Pags. 1-5.- Plenum Press, New York, 1980.
24. - Klem, W. R.: Dehydration: A New Alcohol Theory. *Alcohol* 7:49-59,1990.
25. - Richards, C. D., Martin, K., Gregory, S. ET al: Degenerate Perturbations of Protein Structure as the Mechanism of Anesthetic Action. *Nature* 276(5690):775-779, 1978.
26. - Franks, N. P. y Lieb, W. R.: Do General Anaesthetics Act by Competitive Binding to Specific Receptors? *Nature* 310(5978): 599-601, 1984.
27. - Tuma, D.J., Milliard, M.E., Casey, CA. Valentine, G.D. y Sorell, M. F.: Ethanol -Induced Alterations of Plasma Membrane Assembly in the Liver. *Biochimica et Biophysica Acta* 856 (3): 571-577, 1986.