

Toxicidade do Etanol

– papel do acetaldeído como mediador nos efeitos biológicos

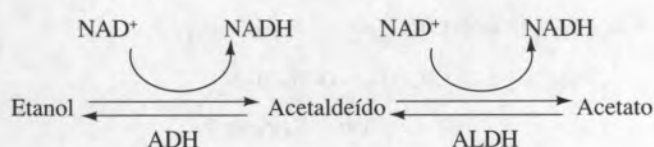
Pedro Nuno Palma ^a

Luísa M. Neves ^b

Ana Ponces Freire ^b

Metabolismo oxidativo do etanol

O metabolismo oxidativo do etanol nos mamíferos, encontra-se em grande parte confinado ao fígado e envolve basicamente a sua oxidação a acetaldeído que por sua vez é oxidado a acetato. Este último é libertado e usado no metabolismo energético em vários tecidos [1].



ADH – álcool desidrogenase

ALDH – aldeído desidrogenase

NAD(P)⁺ – «nicotinamida adenina dinucleotido», forma oxidada

NAD(P)H – «nicotinamida adenina dinucleotido», forma reduzida

Oxidação do etanol

São três os sistemas enzimáticos implicados na oxidação de etanol a acetaldeído:

– *Álcool desidrogenase*, ADH, (EC.1.1.1.1) com um valor de Km para o etanol de ordem dos mM (dependendo da forma isoenzimática e das condições experimentais [2, 3]. Esta enzima pode também usar como reagentes outros alcoóis e aldeídos alifáticos [2] e a sua actividade é inibida pela presença de pirazolo e 4-metilpirazolo [4].

A ADH hepática dos mamíferos é um enzima dependente de NAD⁺/NADH, com zinco essencial à actividade enzimática [2] e parece ser o principal responsável pela oxidação do etanol a acetaldeído [1].

– A *catalase* nos peroxisomas pode catalisar a oxidação do etanol a acetaldeído em conjugação com um sistema gerador de peróxido de hidrogénio [5]. No entanto este sistema parece ter um papel menor na oxidação global hepática do etanol, até porque o fígado apresenta uma fraca capacidade de produção do peróxido de hidrogénio [6].

– O sistema *MEOS* (*microsomal ethanol oxidizing system*) tem características próprias e a sua actividade pode ser diferenciada da oxidação de etanol via catalase ou álcool desidrogenase. A actividade do sistema é dependente do NADPH e do oxigénio molecular e é parcialmente inibida pelo monóxido de carbono [3, 5].

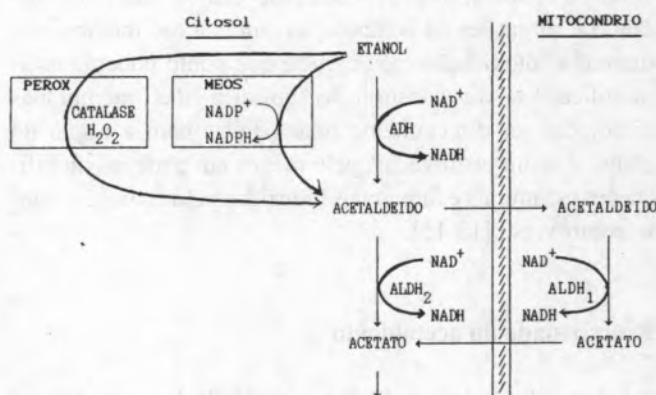
Oxidação do acetaldeído

O papel principal na oxidação celular do acetaldeído e acetato é atribuído a um outro enzima dependente de NAD⁺/NADH, aldeído desidrogenase ALDH (EC 1.2.1.3) [7].

À semelhança do que acontece com a ADH, também são conhecidas várias formas isoenzimáticas de ALDH, com valores de Km para o acetaldeído da ordem de grandeza dos mM nas fracções citoplasmática, microsomal e mitocondrial e da ordem de grandeza dos μM nesta última [8].

O metabolismo oxidativo do etanol a acetato na célula hepática, pode ser resumido na figura 1.

FIGURA 1 – Principais vias oxidativas do Etanol, na célula hepática



PEROX – PEROXISOMAS; MEOS – «Microsomal Ethanol oxidizing system». ADH – álcool desidrogenase; ALDH₁ – Aldeído desidrogenase mitocondrial; ALDH₂ – Aldeído desidrogenase citoplasmática

Adaptado de Nalpas e Berthelot [5] e Davson [1]

Etanol e biomembranas

O facto de muitas das alterações estruturais e funcionais observadas *in vivo* e *in vitro*, relacionadas com o etanol, envolverem as características funcionais das membranas biológicas e seus constituintes (por ex: enzimas de membrana, transportadores e receptores), terá levado, a partir do fim da década de 70, um grande número de investigadores a estudarem a hipótese de os efeitos do etanol sobre o sistema nervoso central, o fígado e outros órgãos e tecidos estarem

^a Bolseiro JNICT

^b Departamento de Química, FCUL – Centro de Estudos de Bioquímica e Fisiologia Animal, Instituto Rocha Cabral, Calç. Bento Rocha Cabral, 14, 1200 Lisboa.

relacionados com a sua interacção directa com a bicamada lipídica das membranas.

Com efeito, estudos biofísicos utilizando as técnicas de ressonância paramagética electrónica e polarização por fluorescência, mostram que o etanol pode perturbar a dinâmica da estrutura da membrana. O etanol, tal como outros agentes anestésicos, causa um aumento da agitação molecular e do movimento oscilatório das cadeias dos resíduos acilo dos fosfolípidos das membranas, permitindo uma maior mobilidade de sondas exógenas (marcadores de «spin» ou sondas de fluorescência) [19].

Tem sido ainda referida a existência de uma correlação positiva entre a solubilidade na membrana e o potencial de toxicidade de alcoóis e outros anestésicos tóxicos [10].

Parece pois que o etanol *in vitro*, em concentrações fisiologicamente significativas, aumenta a fluidez (ou desordem molecular) das membranas, sendo esse efeito de fluidização, pelo menos nas membranas sinaptosomais de rato, mais evidente nas zonas da membrana com carácter mais hidrófobo [11].

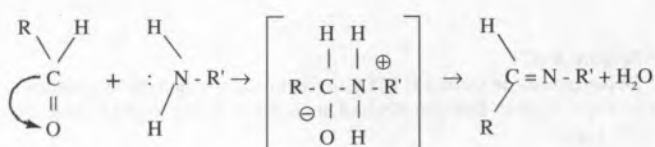
No entanto, membranas preparadas a partir de animais cronicamente tratados com etanol, apresentam uma maior resistência ao efeito de fluidização provocada pelo etanol *in vitro*, do que as membranas preparadas a partir dos respectivos animais controlo [12].

Este efeito da tolerância adquirida (mecanismo adaptativo?) contra a fluidização provocada pelo etanol, tem sido atribuído a alterações na composição química das membranas, durante a intoxicação crónica. Até que ponto poderão estas modificações da constituição química das membranas biológicas ser directamente relacionadas com a acção do etanol e assim justificadas, pelo menos em parte, as modificações estruturais e funcionais induzidas pelo etanol é assunto controverso [13-15].

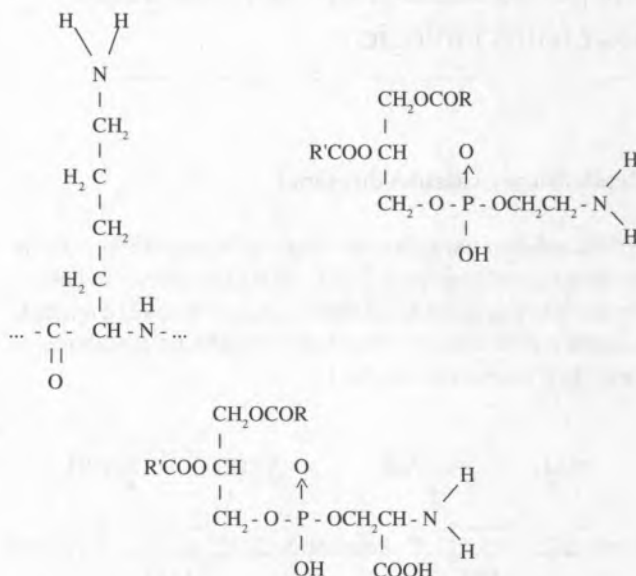
Reactividade do acetaldeído

Desde que ficou demonstrada a capacidade de o acetaldeído, metabolito directo do etanol, se ligar aos eritrócitos do sangue humano [16], provocando alterações na sua morfologia semelhantes às encontradas no alcoolismo crónico, o potencial papel do acetaldeído na concepção de um mecanismo molecular de intoxicação induzida pelo etanol, tem suscitado até hoje, um interesse crescente.

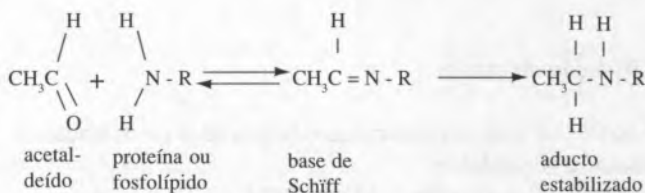
Os aldeídos contendo um grupo carbonilo polarizado e facilmente acessível, são moléculas extremamente reactivas, especialmente com compostos nucleófilos, capazes de reagir com o carbono de carbonilo, deficiente em electrões. Assim por exemplo, as aminas primárias podem condensar com aldeídos através de uma adição nucleófila, resultando compostos do tipo bases de Schiff.



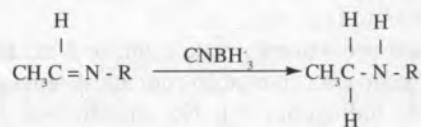
O mecanismo assim proposto para a acção do acetaldeído, é a formação de produtos de adição nucleófila com aminas primárias de proteínas e fosfolípidos, nomeadamente com o grupo ε-amina da cadeia lateral dos resíduos lisilo das proteínas (a), e da função polar dos fosfolípidos fosfatidiletanolamina (b) e fosfatidilserina (c) geralmente associados às membranas.



Os produtos de adição (base de Schiff) são contudo instáveis podendo originar de novo acetaldeído e amina; podem no entanto ser estabilizados por adição à dupla ligação carbonozoto, originando assim aductos estáveis [17].

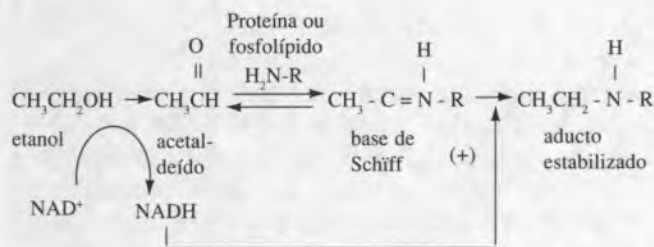


Quando se pretende detectar a formação de aductos totais (estáveis e instáveis) *in vitro*, é necessário garantir a estabilização dos referidos compostos. Para isso tem sido frequentemente usado o cianoborohidreto de sódio (NaCNBH_3), um agente redutor específico para as bases de Schiff [18].



O ácido ascórbico, um agente redutor fisiológico, poderá desempenhar algum papel na estabilização dos aductos formados *in vivo*, durante o metabolismo do etanol.

Além disso a própria oxidação do etanol origina acetaldeído e aumenta a disponibilidade de equivalentes redutores (NADH), potenciando ainda mais a redução das bases de Schiff à medida que se formam.



Implicações biológicas da formação de aductos estáveis entre o acetaldeído e macromoléculas

Enquanto os aductos formados forem instáveis e reversíveis, os efeitos provocados pela sua formação, deverão igualmente ser transitórios e a possibilidade de eles produzirem disfunções prolongadas é questionável. Uma vez que as bases de Schiff logo se dissociam, seriam necessárias grandes concentrações de acetaldeído para provocarem extensa e permanente modificação covalente dos grupos amina biológicos [19].

Os aductos terão pois que se formar e ser estabilizados em condições fisiológicas. No entanto, se bem que necessário, a anterior condição não é ainda suficiente para que a formação dos aductos possa constituir um mecanismo justificativo das alterações estruturais e funcionais induzidas pela administração (ingestão) de etanol. O passo seguinte terá que ser o de procurar correlacionar a formação de aductos entre o acetaldeído e outras biomoléculas com alterações estruturais e funcionais observadas nessas moléculas, e em última análise com os efeitos observados por administração crónica ou aguda de etanol [20, 21].

Modificações estáveis provocadas pela ligação covalente de acetaldeído a resíduos de lisina de determinados enzimas, podem afectar a sua actividade, especialmente tratando-se de enzimas contendo resíduos de lisina no centro activo, essenciais à actividade enzimática [22].

A formação de aductos estáveis entre o acetaldeído e a hemoglobina, resulta em alterações na afinidade hemoglobina-oxigénio, nos eritrócitos humanos [23].

A inibição da secreção proteica e a sua acumulação nas células hepáticas, provocada pelo etanol e pelo acetaldeído *in vivo*, parece estar associada à formação de aductos entre o acetaldeído e a tubulina, proteína dimérica que constitui os microtúbulos [24]. O tratamento dos dímeros de tubulina com acetaldeído e cianoborohidreto inibe a sua polimerização em microtúbulos, possivelmente devido à modificação dos referidos resíduos lisilo essenciais à polimerização da tubulina [25].

O acetaldeído pode por este mecanismo afectar fenómenos de mitose, mobilidade celular, secreção proteica e formação do citoesqueleto associados aos microtúbulos.

Formando aductos com a fosfatidiletanolamina e fosfatidilserina constituintes das membranas, existirá a possibilidade de o acetaldeído afectar por este meio a estrutura destas membranas e a actividade de proteínas e enzimas aí localizados, por alteração das interacções proteínas-fosfolípidos.

A produção de imunoglobulinas anti-aductos (entre acetaldeído e proteínas, nomeadamente proteínas de membrana) observada *in vivo*, durante a ingestão crónica de etanol,

poderá eventualmente fazer parte de um mecanismo imunológico com algum papel no desenvolvimento de doença hepática alcoólica [26, 27].

Referências

- [1] Dawson A. G. (1983) «What governs ethanol metabolism? Biochemists have an alcohol problem», *TIBS*, **8** (6), 195-197.
- [2] Lange L. G., Sytkowski A. J., Vallee, B. L., (1976), «Human liver alcohol dehydrogenase: purification, composition and catalytic features», *BIOCHEMISTRY*, **15**, 4687-4693.
- [3] Teschke R., Hasumura, Y., Lieber, C. S., (1975), «Hepatic microsomal alcohol-oxidizing system», *J. BIOL. CHEM.*, **250**, 7397-7404.
- [4] Feerman D. E., Cederbaum A. I., (1986), «Inhibition of microsomal oxidation of ethanol by pyrazole and 4-methylpyrazole *in vitro*», *BIOCHEM J.*, **239**, 671-677.
- [5] Nalpas B., Berthelot, P. (1982), «Foie et alcool: aspects metaboliques», *GASTROENTEROL. CLIN. BIOL.*, **6**, 85-92.
- [6] Lieber C. S., Teschke R., Hasumura Y., Delarli L. M. (1975), «Differences in hepatic and metabolic changes after chronic ethanol consumption», *FED. PROC.*, **34**, 2060-2074.
- [7] Weiner H. (1987), «Subcellular localization of acetaldehyde oxidation in liver», *ANN. N. Y. ACAD. SCI.*, **492**, 25-34.
- [8] Ryslak M. T., Pietruszko R. (1987), «Purification and characterization of aldehyde dehydrogenase from human brain», *ARCH. BIOCHEM. BIOPHYS.*, **255**, 409-418.
- [9] Goldstein D. B. (1987), «Ethanol-induced adaptations in biological membranes», *ANN. N. Y. ACAD. SCI.*, **492**, 103-111.
- [10] Harris R. A., Burnett R., McQuilkin S., McClard A., Simon F. (1987), «Effects of ethanol on membrane order: fluorescence studies», *ANN. N. Y. ACAD. SCI.*, **492**, 125-135.
- [11] Harris F. A., Schroeder F. (1981), «Ethanol and the physical properties of brain membranes. Fluorescence studies», *MOL. PHARMACOL.*, **20**, 128-137.
- [12] Taraschi T. F., Ellingson J. S., Rubin E. (1987), «Membrane Structural alterations caused by chronic ethanol consumption: the molecular basis of membrane tolerance», *ANN. N. Y. ACAD. SCI.*, **492**, 171-180.
- [13] Orrego H., Israel Y., Blendis L. M. (1981), «Alcoholic liver disease: Information in search of knowledge?», *HEPATOLOGY*, **1**, 267-283.
- [14] Lieber C.S., Savolainen M. (1984), «Ethanol and lipids», *ALCOHOLISM: CLIN. EXP. RES.*, **8**, 409-23.
- [15] Sun G. Y., Sun A. Y. (1985), «Ethanol and membrane lipids», *ALCOHOLISM: CLIN. EXP. RES.*, **9**, 164-180.
- [16] Gaines K. C., Salhany J. M., Tuma D. J., Sorrell M. F. (1977), «Reaction of acetaldehyde with human erythrocyte membrane proteins», *FEBS. LETT*, **75**, 115-119.
- [17] Sorrell M. F., Tuma D. J. (1985), «Hypothesis: Alcoholic liver injury and the covalent binding of acetaldehyde», *ALCOHOLISM: CLIN. EXP. RES.*, **9**, 306-309.
- [18] Tuma D. J., Newman M. R., Donohue T. M., Sorrell M. F. (1987), «Covalent binding of acetaldehyde to proteins: participation of lysine residues», *ALCOHOLISM: CLIN. EXP. RES.*, **11**, 579-584.
- [19] Sorrell M. F., Tuma D. J. (1987), «The functional implications of acetaldehyde binding to cell constituents», *ANN. N. Y. ACAD. SCI.*, **492**, 50-62.
- [20] Ponces Freire A., Vaz Gomes A. (1988), «MAO as a target on external mitochondrial membrane», *GASTROENTEROLOGY*, **94**, A582.
- [21] Neves L., Ponces Freire A., Anjos E. (1989), «Metabolism of cholesterol in rat brain acute ethanol administration», 19th Meet. Fed. Eur. Biochem. Soc. (Febs), Roma (livro de resumos).
- [22] Mauch T. J., Donohue T. M., Zetterman R. K., Sorrell M. F., Tuma D. J. (1986), «Covalent binding of acetaldehyde selectively inhibits the catalytic activity of lysine - dependent enzymes», *HEPATOLOGY*, **6**, 263-269.
- [23] Tsuboi K. K., Thompson D. J., Rush E. M., Schwartz H. C. (1981), «Acetaldehyde - dependent changes in hemoglobin and oxygen affinity of human erythrocytes», *HEMOGLOBIN*, **5**, 241-250.
- [24] Volentine G. D., Ogden K. A., Kartje D. K., Tuma D. J., Sorrell M. F. (1987), «Role of acetaldehyde in the ethanol-induced impairment of hepatic glycoprotein secretion in the rat *in vivo*», *HEPATOLOGY*, **7**, 490-495.
- [25] Tuma D. J., Jennett R. B., Sorrell M. F. (1987), «The interaction of acetaldehyde with tubulin», *ANN. N. Y. ACAD. SCI.*, **492**, 277-286.
- [26] Barry R. E., McGivan J. D., Hayes M. (1984), «Acetaldehyde binds to liver cell membranes without affecting membrane function», *GUT*, **25**, 412-416.
- [27] Israel Y., Hurwitz E., Niemela O., Amon R. (1986), «Monoclonal and polyclonal antibodies against acetaldehyde-containing epitopes in acetaldehyde-protein adducts», *PROC. NATL. ACAD. USA.*, **83**, 7923-7927.

Convite à Reflexão...

Paraíso Artificial

Parece-me extremamente improvável que a humanidade, de um modo geral, seja capaz de passar sem «paraísos artificiais». A maioria dos homens leva uma vida tão sofredora e tão monótona, tão pobre e limitada, que os desejos de fuga, os anseios para superar-se, ainda que por uns breves momentos, estão entre os principais apetites da alma. A arte e a religião, os carnavais e as saturnais, a dança e a apreciação da oratória, tudo isso tem servido, na frase de H. G. Wells, de *Portas na Muralha*. E na vida individual, para uso quotidiano, sempre houve drogas inebriantes. Todos os sedativos e narcóticos vegetais, todos os eufóricos derivados de plantas, todos os entorpecentes, que se extraem de frutos ou raízes, todos, sem excepção, são conhecidos e vêm sendo sistematicamente utilizados pelos seres humanos, desde épocas imemoriais. E a esses modificadores naturais de percepção, a ciência moderna adicionou a sua cota parte de produtos sintéticos.

A maior parte dessas substâncias não pode ser adquirida a não ser mediante prescrição médica. O Ocidente só permite o uso (ir)restrito do tabaco e do álcool.

Todas as outras *Portas químicas na Muralha* são rotuladas como «estupefacientes» e os seus consumidores ilegais são «viciados».

Gastamos, hoje me dia, muito mais em cigarros e bebidas que em educação. E nada há de surpreendente nesse facto. O impulso para fugir a nós mesmos e ao que nos rodeia está permanentemente presente em cada um de nós.

A nossa era, entre outras coisas, é a idade do automóvel e da vertigem da velocidade. O álcool é incompatível com a segurança nas estradas; e a sua produção, bem como a do tabaco, condena praticamente à esterilidade milhões de hectares de solo fértil. Os problemas criados pelo álcool e pelo tabaco não podem ser – e isto não admite contestação – resolvidos pela proibição. O impulso universal e permanente para a autotranscendência não pode ser dominado pelo simples fechar das tão solicitadas *Portas na Muralha*. A única política razoável seria abrir outras «portas» melhores, na esperança de induzir os seres humanos a trocar os seus velhos hábitos por práticas novas e menos prejudiciais. Algumas dessas novas «portas» seriam de natureza social e tecnológica, outras religiosas ou psicológicas, e outras ainda seriam dietéticas, atléticas e educacionais. Mas é inevitável que perdure, apesar de tudo, a necessidade de frequentes excursões químicas para longe da intolerável personalidade e dos repulsivos arredores de cada um. Precisar-se-ia, pois, de uma nova droga que aliviasse e consolasse os nossos semelhantes, que sofrem, sem lhes causar dano maior, após um período prolongado de tempo, do que o bem que ela lhes pudesse proporcionar de imediato. Tal droga teria de ser eficaz em doses diminutas e sintetizável. E, pelas suas características positivas, deveria produzir modificações mais interessantes na percepção, mais intrinsecamente proveitosas que a mera acção sedativa, ou a propensão aos sonhos e às impressões de onipotência ou o escape às inibições.

A. Huxley, «The Doors of Perception»

28
Ni
58,69

NÍQUEL, de **Kupfernickel** (alemão) ou falso cobre, minério avermelhado que contém níquel mas não cobre; descoberto em 1751. É duro e a sua grande resistência à oxidação tornou-o no metal mais usado em moedas. Chapas de níquel protegem metais macios.

29
Cu
63,55

COBRE, de **Cuprum**, antigo nome de Chipre, famoso pelas suas minas de cobre; já era conhecido pelo homem primitivo. O cobre e o ouro são os únicos metais coloridos. Usa-se em joalheria, em ligas com o ouro e a prata, no latão (liga de cobre e zinco) e no bronze (liga de cobre e estanho).

30
Zn
65,38

ZINCO, provavelmente de **Zin**, palavra alemã para designar o estanho; descoberto por Paracelso no século XVI, embora o latão fosse já conhecido muito antes. É excelente como cobertura metálica e é usado em lâmpadas para máquinas fotográficas.

31
Ga
69,72

GÁLIO, de **Gallia**, o antigo nome da França; descoberto em 1875. Funde com o calor da mão ($t_f=29,8^\circ\text{C}$) e é um dos poucos metais que se expande quando solidifica, tal como os não metais e a maioria dos gases. O seu elevado ponto de ebulição ($t_{eb}=1983^\circ\text{C}$) torna-o ideal para medição de temperaturas que vaporizam outros líquidos termométricos.

32
Ge
72,59

GERMÂNIO, de **Germany**, Alemanha; descoberto em 1886. É o primeiro metal da família do carbono semelhante, contudo, ao não metal silício. Foi o primeiro elemento utilizado em transistores, tendo vindo a substituir tubos de vácuo de grandes dimensões por sistemas cujo diâmetro é da ordem de 10^{-3} cm.