



**ACCION DEL ETANOL Y DEL ACETALDEHIDO SOBRE  
LA CONTRACCION ISOMETRICA EN EL MUSCULO  
SARTORIO DEL SAPO ( BUFO SP. )**

**POR**

**ANTONIO CAMACHO BENITEZ**

**TESIS PRESENTADA A LA**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DE LA**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA LA**

**OBTENCION DEL GRADO DE**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**CON ESPECIALIDAD EN FISILOGIA MEDICA**

**MONTERREY, N. L.**

**JUNIO DE 1991**

FM  
26650

FM  
1991

03



1020071195



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ACCION DEL ETANOL Y DEL ACETALDEHIDO SOBRE LA CONTRACCION  
ISOMETRICA EN EL MUSCULO SARTORIO DEL SAPO (Bufo sp.)



POR

ANTONIO CAMACHO BENITEZ

TESIS PRESENTADA A LA

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DE LA

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA LA

OBTENCION DEL GRADO DE

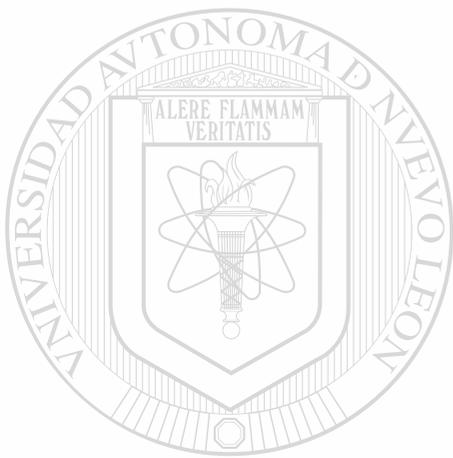
MAESTRO EN CIENCIAS

CON ESPECIALIDAD EN FISILOGIA MEDICA

MONTERREY, N. L.

JUNIO DE 1991

T.M.  
266-8  
T.M.  
/

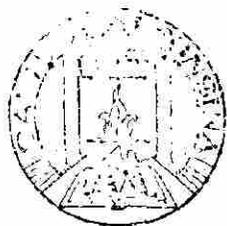


# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



FONDO TESIS

163672



ACCION DEL ETANOL Y DEL ACETALDEHIDO SOBRE LA CONTRACCION  
ISOMETRICA EN EL MUSCULO SARTORIO DEL SAPO (Bufo sp.)

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Integrantes de la comisión de tesis:

Presidente: Dr. med. Nancy E. Fernández Garza

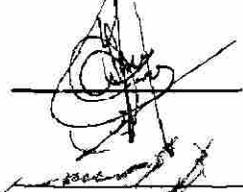
Secretario: M.en C. Demetrio Arcos Camargo

Vocal: Dr. en C. Alma Yolanda Arce Mendoza

Vocal: Linda E. Muñoz Espinoza, Ph. D.

Vocal: M. en C. Guadalupe Zapiain Marroquín

  
\_\_\_\_\_  
Nancy E. Fernández Garza

  
\_\_\_\_\_  
Demetrio Arcos Camargo

  
\_\_\_\_\_  
Linda E. Muñoz Espinoza



# UANL

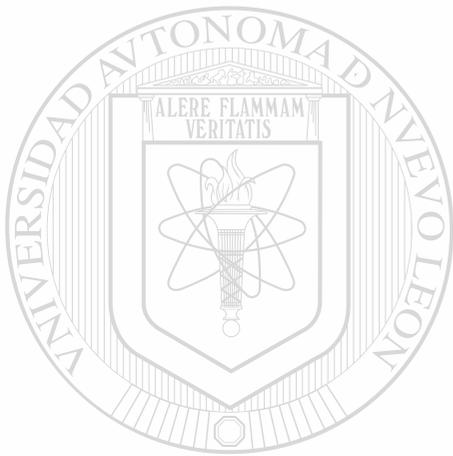
---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

El presente trabajo de Tesis se desarrolló en los laboratorios del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la asesoría de la Dr. med. Nancy E. Fernández Garza.



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

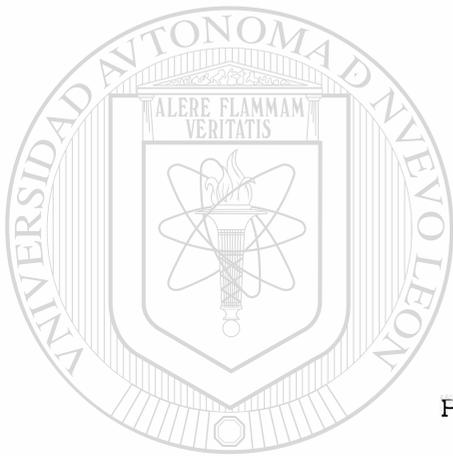
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

A ti,

mi Dios y Señor,

por estar siempre presente.

Porque eres la inspiración y la razón de mi existencia;  
porque eres el amor de mi vida, y siempre me lo demuestras;  
y porque eres mi esposa;  
A ti, Lolys, dedico este trabajo



Para Martín Antonio y  
Celeste Noemy

UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN<sup>®</sup>  
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Para ustedes, queridos papitos  
por ser un gran ejemplo

Y para las hermanas de mi  
vida, Mabel, Male y Edith

Porque de alguna u otra forma contribuyeron a la realización del presente trabajo, quiero agradecer a:

el personal del departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la UANL;

el personal de los departamentos de Farmacología y Toxicología, Química Analítica, Medicina del Deporte y Rehabilitación e Inmunología de la Facultad de Medicina de la UANL;

Pedro y Patlán, becarios del departamento de Fisiología;

Directivos y personal de la Unidad de Investigaciones Biomédicas del Noreste del Instituto Mexicano del Seguro Social;

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología;

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

y todos aquellos que olvido mencionar, pero que ayudaron a la culminación de esta realidad.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INDICE

Dedicatoria .....V

Agradecimientos .....VI

Indice .....VII

Introduccion .....1

Hipotesis .....6

Objetivos .....7

---

Material y Metodos .....8

Resultados .....13

Discusion .....26

Resumen .....35

Bibliografia .....37



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## INTRODUCCION

Los desordenes que tienen su origen en el consumo de bebidas alcoholicas han sido bien documentados con anterioridad, estos incluyen alteraciones en la gran mayoria de los sistemas corporales (Lieber et al. 1978, Nieto 1982, Ritchie 1985). Uno de los sistemas que ha recibido especial atencion es el sistema nervioso, ya que aqui se presentan los primeros efectos del alcohol (Ritchie 1985): estos incluyen somnolencia, euforia y pérdida de equilibrio como ejemplos de efectos agudos. Por otro lado, el consumo crónico de alcohol provoca daño cerebral, pérdida de memoria, disturbios del sueño y psicosis. Cuando al consumo crónico de alcohol se agregan deficiencias nutricionales, lo cual es muy frecuente, se presentan cuadros clinicos como la encefalopatía de wernicke, psicosis de korsakoff, polineuritis y encefalopatía por deficiencia de ácido nicotínico (Nieto 1982, Ritchie 1985).

## DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Los músculos cardiaco y esquelético también se ven afectados en el individuo alcohólico, presentando alteraciones funcionales y morfológicas que se conocen como miopatía y cardiomiopatía alcoholicas (Diamond 1969, Klinkerfuss et al. 1967, Mayer 1973, Perkoff et al. 1966, Urbano-Marquez et al. 1985, Urbano-Marquez et al. 1989). Se ha demostrado, en estudios hechos en individuos sin deficiencias nutricionales detectables (Urbano-Márquez et al.

1968, 1975), que la microtela depende básicamente de la cantidad total de Etanol ingerido y es independiente de deficiencias vitamínicas (Miyamoto 1969, Urbano-Marquez et al. 1985, Urbano-Marquez et al. 1989). Recordemos que el Etanol (Etoh) es el principal constituyente de las bebidas alcohólicas.

Las alteraciones funcionales preceden a los cambios estructurales, así, en pacientes con Miopatía Alcohólica asintomática se ha encontrado disminución en la fuerza desarrollada por el músculo biceps antes de que se detecten alteraciones histológicas (Urbano-Marquez et al. 1989). Por otra parte, el buen funcionamiento muscular requiere, además de la integridad de las fibras musculares, de una inervación adecuada, por lo que alteraciones en las fibras nerviosas que inervan a un músculo pueden ocasionar secundariamente daño muscular, como ocurre en el llamado daño muscular secundario a neuropatía alcohólica (Urbano-Marquez et al. 1985).

## DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

El efecto del Etanol sobre la unión neuromuscular ha sido estudiado in vitro, encontrándose que tiene un efecto facilitador sobre la transmisión sináptica, ya que a nivel presináptico facilita la liberación del neurotransmisor (Gage 1965, Quastel et al. 1971) y en la membrana postsináptica modifica la constante de disociación ACh-receptor (Bradley et al. 1980, Bradley et al. 1984, Gage et al. 1977).

Este efecto facilitador de la transmisión sináptica se traduce en un aumento en la amplitud del potencial de placa terminal, así como de los potenciales miniatura, lo que conlleva a un aumento en la actividad mecánica desarrollada por el músculo cuando esta se desencadena por estimulación nerviosa (Ettlinger et al. 1941, Sachdev et al. 1963). Sin embargo, cuando el músculo se estimula en forma directa en presencia de Etanol el efecto observado es el opuesto, es decir hay disminución en la amplitud de la contracción muscular (Case 1965, Khan 1981, Wali y Hayter 1980). Este efecto inhibitorio también se ha observado en el músculo liso vascular de la rata (Alfura y col. 1976).

Al estudiar el efecto de una droga, hay que recordar que esta sufre cambios metabólicos, y que sus metabolitos también pueden actuar en el mismo sitio en el que actúa la sustancia de la cual proceden o en un sitio diferente. En el caso del Etanol, su primer y principal metabolito es el Acetaldehído (AcA) (Lieber et al. 1977), el cual posee mayor actividad química que el Etanol y se le ha involucrado, o al menos se le ha sugerido su participación, en los procesos de dependencia (Davis y Walsh 1970, Majonrowicz 1975, Urtiz et al. 1974), síndrome de abstinencia (Rahwan 1975), en general, en todas las alteraciones debidas al Etanol (García-Buñuel 1954, Latge et al. 1981, Lieber et al. 1975, Lieber et al. 1987, Lindros 1979, Phillips 1987, Scirel y Toma

1967, Wallis y Lemon 1990), llegando incluso a proponerse el cambio del término alcoholismo por el de acetaldehidismo (Raskin 1975).

Pocos estudios se han hecho para establecer el efecto que tiene el AcA sobre el tejido nervioso y sobre el tejido muscular, y los que existen muestran resultados controvertidos. Sobre el primer punto, Takeda y colaboradores (Haji y Takeda 1987, Momose y Takeda 1980, Takeda y Momose 1980a, 1980b) realizaron una serie de trabajos en los que probaron diversas concentraciones de AcA sobre sinapsis colinérgicas de varios organismos, con los siguientes resultados: en las neuronas de caracol (ganglio abdominal de *Aplysia kurodai*) el AcA (5 a 50 mM) despolariza la membrana de la neurona y deprime los potenciales postsinápticos excitadores e inhibidores (Momose y Takeda 1980, Takeda y Momose 1980a, 1980b); mientras que en la médula espinal aislada de la rana, el AcA (0.14 a 14  $\mu$ M) despolariza la membrana de la motoneurona para luego hiperpolarizarla, sugiriendo que la despolarización se debe a un efecto sobre el manejo del neurotransmisor excitador (Takeda y Haji 1985). En la médula espinal del gato (Haji y Takeda 1987) el AcA actúa preferentemente sobre la membrana de la motoneurona, hiperpolarizándola a bajas concentraciones (0.1-0.5 mg/kg) y despolarizándola a concentraciones altas (1.0-10.0 mg/kg). Al evaluar la acción del AcA (3-25 mM) sobre la preparación neuromuscular trenico-hemidiafragma de rata y ratón, Carlen

y colaboradores (Carren et al. 1975) encontraron inhibida la actividad eléctrica de la terminal nerviosa por un bloqueo del potencial de acción compuesto del nervio, de forma tal que, a juicio de los autores, el AcA solo tiene efectos presinápticos.

En lo que se refiere a los efectos sobre músculo esquelético, estos mismos autores mencionan que el AcA no tiene efecto sobre la contracción muscular cuando se estimula directamente al músculo (TCA 50 mM), sin embargo, Khan (1961) menciona que el AcA aumenta en forma reversible la amplitud de las contracciones de sacudida simple cuando se usa a concentraciones menores de 1.8 mM, inhibiéndolas de forma irreversible a una concentración de 18 mM o mayor, sugiriendo que el AcA aumenta la amplitud de las contracciones por un aumento en la liberación del calcio de los sitios de reserva intracelular.

## UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

En un estudio realizado con músculo liso vascular (Altura et al. 1978) el AcA deprime su actividad contráctil, lo que es interpretado como un efecto directo a las células musculares.

Por otro lado, existen pocos trabajos en los que se estudian en una misma preparación los efectos del AcA y los del Etanol, aun y cuando ambos compuestos se presentan simultáneamente en el organismo durante la ingesta de bebidas alcohólicas (Korsten 1975, Lindros 1976), Momose y Takeda (1960), al agregar por

separado Etanol (100-500 mM) y AcA (5-50 mM) en neuronas del ganglio abdominal de Aplysia, reportan una disminución de la respuesta excitadora postsináptica con ambos compuestos y una disminución de la respuesta inhibitoria postsináptica colinérgica por el AcA sin efecto aparente del Etanol.

El papel que juega el AcA en las alteraciones que causa la ingesta de bebidas alcohólicas en el organismo no está aún definido, y esto se hace patente al referirnos a las células nerviosas y musculares. Además, en los trabajos efectuados hasta el momento ambas drogas se agregaron por separado a pesar de que se presentan simultáneamente en el organismo durante la ingesta de alcohol.

En el presente trabajo evaluamos la acción que el Etanol y el Acetaldehído ejercen sobre la actividad contráctil del músculo esquelético cuando se agregan por separado y cuando la administración es simultánea.

## HIPOTESIS

El etanol y el acetaldehído modifican la contracción isométrica en el músculo sartorio de el sapo (Bufo sp.), siendo el efecto de cada droga administrada por separado diferente al efecto ejercido cuando se administran simultáneamente.

## OBJETIVOS

- 1.- Evaluar la actividad del Etanol sobre la contracción isométrica en el músculo sartorio del sapo, observada a través de los efectos sobre la contracción de sacudida simple.
- 2.- Evaluar la actividad de el AcA sobre la contracción isométrica en el músculo sartorio del sapo, observada a través de los efectos sobre la contracción de sacudida simple.
- 3.- Evaluar la actividad simultánea de el Etanol y del AcA sobre la contracción isométrica en el músculo sartorio del sapo, observada a través de los efectos sobre la contracción de sacudida simple.
- 4.- Comparar los efectos del etanol con los del AcA en esta preparación, al aplicarlos independiente y simultáneamente. ®

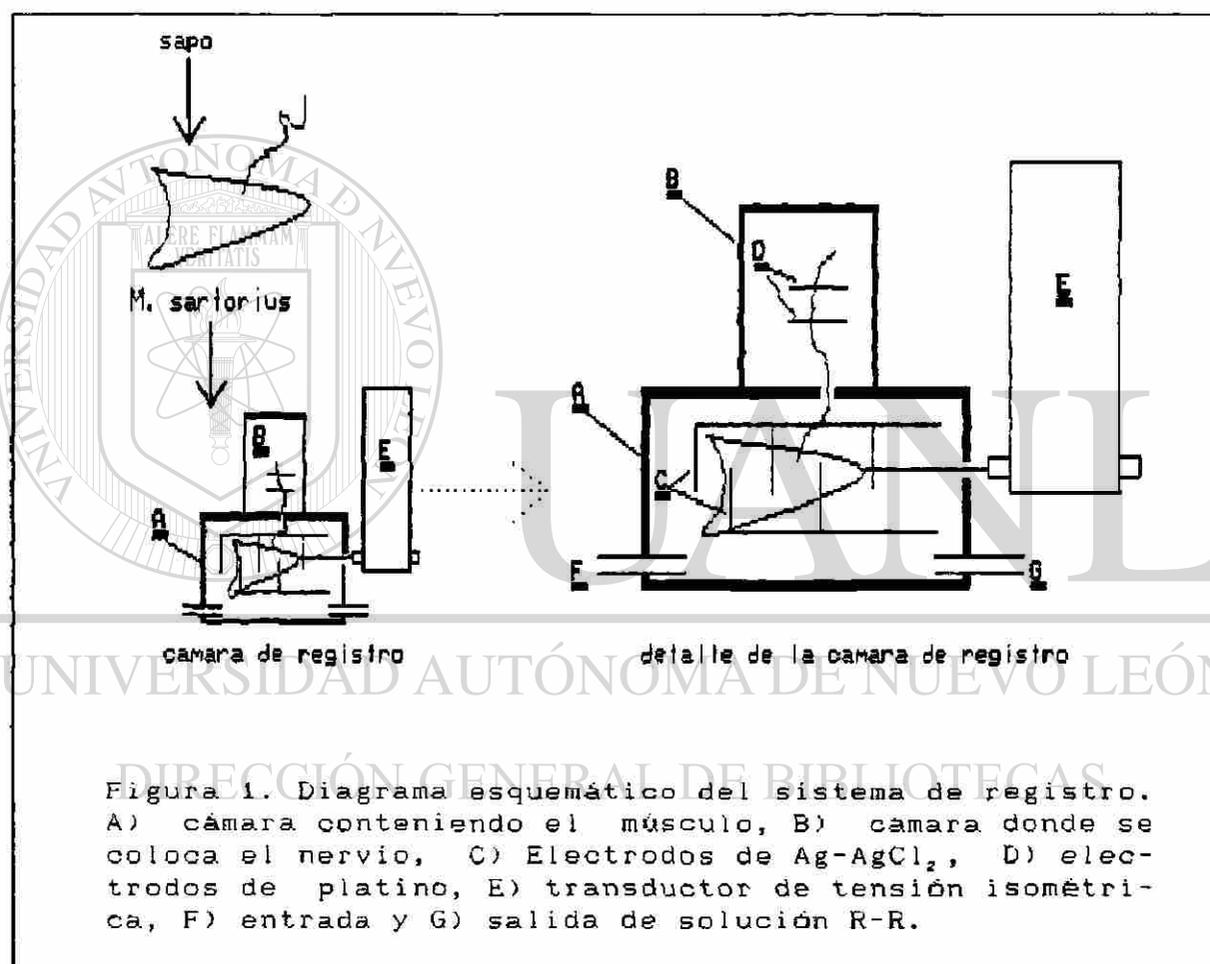
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## MATERIAL Y METODOS

Se usaron 34 sapos (Bufo sp.) adultos, silvestres, sin importar el sexo, colectados en las inmediaciones de El Barrial, municipio de Santiago, N. L., los cuales se mantuvieron hasta su uso en tanques cubiertos, con humedad relativa alta y temperatura controlada (22-27°C). Sólo se usaron animales en aparente buen estado de salud y que permanecieron en cautiverio menos de dos semanas.

Se utilizó el músculo sartorio de una de las extremidades, el cual se obtuvo de la siguiente manera (Figura 1): se colocó el sapo en baño de hielo hasta lograr anestesia general, se decapitó, se le quitó la piel, se evisceró, y se colocó en una caja de Petri con solución Ringer-Rana (solución R-R, composición en mM: NaCl, 115; KCl, 2.5; CaCl<sub>2</sub>, 1.8; NaHCO<sub>3</sub>, 0.4; glucosa, 5.5; y se burbujeo con aire por lo menos durante 60 minutos con un pH final de 7.2 a 7.4), aquí se realizó la disección del M. sartorius® dejando intacta su inervación desde su salida de la médula espinal. Una vez hecha la disección, se colocaron músculo y nervio en la cámara de registro (hecha de material acrílico con fondo de parafina) y se ajustó el flujo de solución R-R a 2 ml por minuto. El tendón proximal se fijó al fondo de la cámara por medio de ganchos de acero inoxidable y el tendón distal se sujetó por medio de seda trenzada 6/0 a un transductor de tensión isométrica (modelo FT-10 de Grass Instruments) el cual a su vez

se conectó a un polígrafo (modelo 79D de Grass Instruments) para el registro gráfico de la actividad contráctil. El músculo se ajustó a su longitud de reposo (medida in situ con la extremidad extendida completamente a  $45^\circ$  del eje longitudinal del cuerpo) por medio de un tornillo micrométrico.



La contracción de sacudida simple se obtuvo estimulando al nervio (estimulación indirecta) o al músculo (estimulación directa) mediante estímulos cuadrados supramáximos (1 a 15 V) con una duración de 0.2 a 0.5 ms y una frecuencia de 0.2 Hz usando un

estimulador modelo S-48 de Grass Instruments. Con los parámetros antes mencionados se aplicaron trenes de estimulación con una duración de 2 minutos cada 15 minutos durante el periodo de estabilización, y cada 5 minutos después de agregar la(s) droga(s) en estudio y durante el lavado.

Para la estimulación del nervio se usaron electrodos de platino inmersos en aceite mineral, y para la estimulación del músculo, electrodos de plata clorurada ( $\text{Ag-AgCl}_2$ ) colocados en el fondo de la cámara de registro, con ánodos y cátodos alternos separados entre sí 7 mm y aislados uno de otro por la parafina que cubría el fondo de la cámara.

Una vez sujeto el músculo a su longitud de reposo e iniciado el flujo de la solución R-R, se dejó estabilizar la preparación por un mínimo de 30 minutos, considerándose como estable cuando no se observó variación en dos trenes de estimulaciones sucesivas hechas con un intervalo de 15 minutos. Los registros obtenidos de las contracciones provocadas por los dos últimos trenes de estimulación se usaron como registros control, de forma tal que cada experimento fue su propio control.

Se hicieron tres grupos experimentales:

- 1) en el primero se agregó Etanol ( $\text{EtOH}$ , concentración final de 50 a 200 mM);

- 2) en el segundo acetaldehido (AcA, concentración final de 25 a 50 mM) y;
- 3) en el tercero ambos compuestos simultáneamente (EtOH 100 mM y AcA 25 a 35 mM).

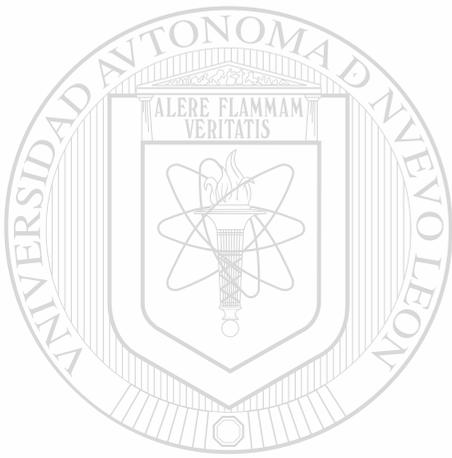
Tanto el EtOH como el AcA se diluyeron en la solución R-R inmediatamente antes de ser agregados a la cámara de registro. El cambio de soluciones se realizó sin modificar el flujo establecido de antemano. Este cambio fue completo en 4 minutos.

Desde el inicio del cambio de la solución R-R por la solución R-R con la(s) droga(s) en cuestión, se registró la actividad contractil hasta no detectar variación en la amplitud en dos trenes sucesivos de estimulación, momento en el que se inició el lavado con solución R-R hasta que la preparación se recuperó completamente o alcanzó un valor estable. El lavado fue siempre por un tiempo mínimo de 30 minutos.

## DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Los resultados se analizaron usando el programa computacional SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, versión 3.0). Los datos se compararon entre sí por medio de Análisis de Varianza paramétrico para un solo factor (ANOVA) y Análisis de Varianza no paramétrico para un solo factor (de Kruskal-Wallis), estableciendo las diferencias entre los diversos grupos con la Prueba de

Comparaciones Múltiples de Student-Knewman-Keuls (SNK) a un nivel de significancia de 0.05.



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## RESULTADOS

Los resultados se presentan en las figuras 2 a la 12. Los valores de la amplitud de las contracciones obtenidos al aplicar la(s) droga(s) en cuestión a diferentes concentraciones se compararon entre sí en cada grupo y, al no encontrar diferencia significativa ( $p > 0.05$ ), se decidió procesar juntos los resultados. En todos los experimentos se normalizaron los valores de la amplitud de las contracciones tomando como 100 % el registro control. Los valores de probabilidad expresados indican las diferencias existentes entre el grupo en cuestión y los valores control después de aplicar las pruebas estadísticas mencionadas en la sección de Material y Métodos.

**ETANOL**

En las figuras 2, 3 y 4 se presenta el efecto del Etanol sobre la amplitud de las contracciones de sacudida simple al aplicarse a concentraciones de 100 y 200 mM.

**Estimulación indirecta.** Cuando las contracciones se provocan por estimulación indirecta (fig. 2,  $n = 5$ ), el Etanol aumenta la amplitud de las mismas con un máximo a los 10 minutos de exposición, aumento que alcanza en promedio 50 % sobre el valor control ( $p < 0.05$ ). Después del lavado, los valores disminuyen en promedio hasta 25% por debajo del control a los 27 minutos ( $p > 0.05$ )

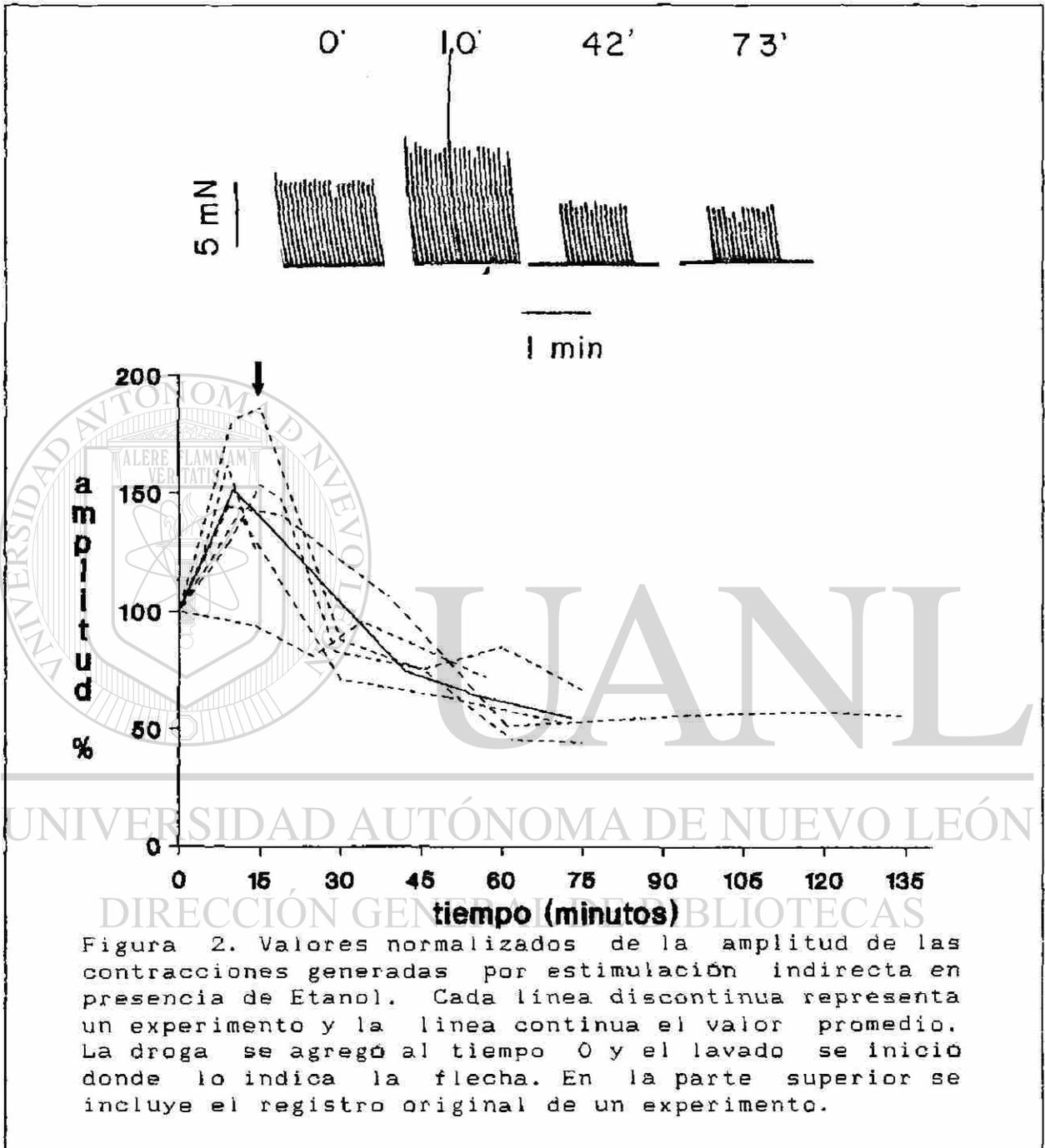


Figura 2. Valores normalizados de la amplitud de las contracciones generadas por estimulación indirecta en presencia de Etanol. Cada línea discontinua representa un experimento y la línea continua el valor promedio. La droga se agregó al tiempo 0 y el lavado se inició donde lo indica la flecha. En la parte superior se incluye el registro original de un experimento.

llegando al 45 % por debajo del control a los 73 minutos de lavado ( $p < 0.05$ ). En una de las preparaciones, la amplitud de las contracciones practicamente no cambia durante la exposición a la droga mostrando solo ligeras variaciones después del lavado.

Estimulación directa. Al estimular directamente al músculo (fig. 3,  $n = 5$ ), el Etanol provoca una disminución que en promedio llega a 30 % por debajo del valor control a los 16 minutos de exposición ( $p < 0.05$ ). En ese momento se inicia el lavado y la amplitud de las contracciones ya no sufre mucho cambio, llegando a 43 % por debajo del control a los 55 minutos de lavado ( $p < 0.05$ ). Uno de los experimentos no sufre cambio durante la exposición al Etanol, pero si se manifiesta disminución de la amplitud de las contracciones después del lavado.

Cuando se colocan juntos los valores promedio de las contracciones generadas con ambos tipos de estimulación (fig. 4) se aprecian de forma más clara la diferencia del efecto del Etanol cuando se provoca la contracción muscular en forma directa o indirecta.

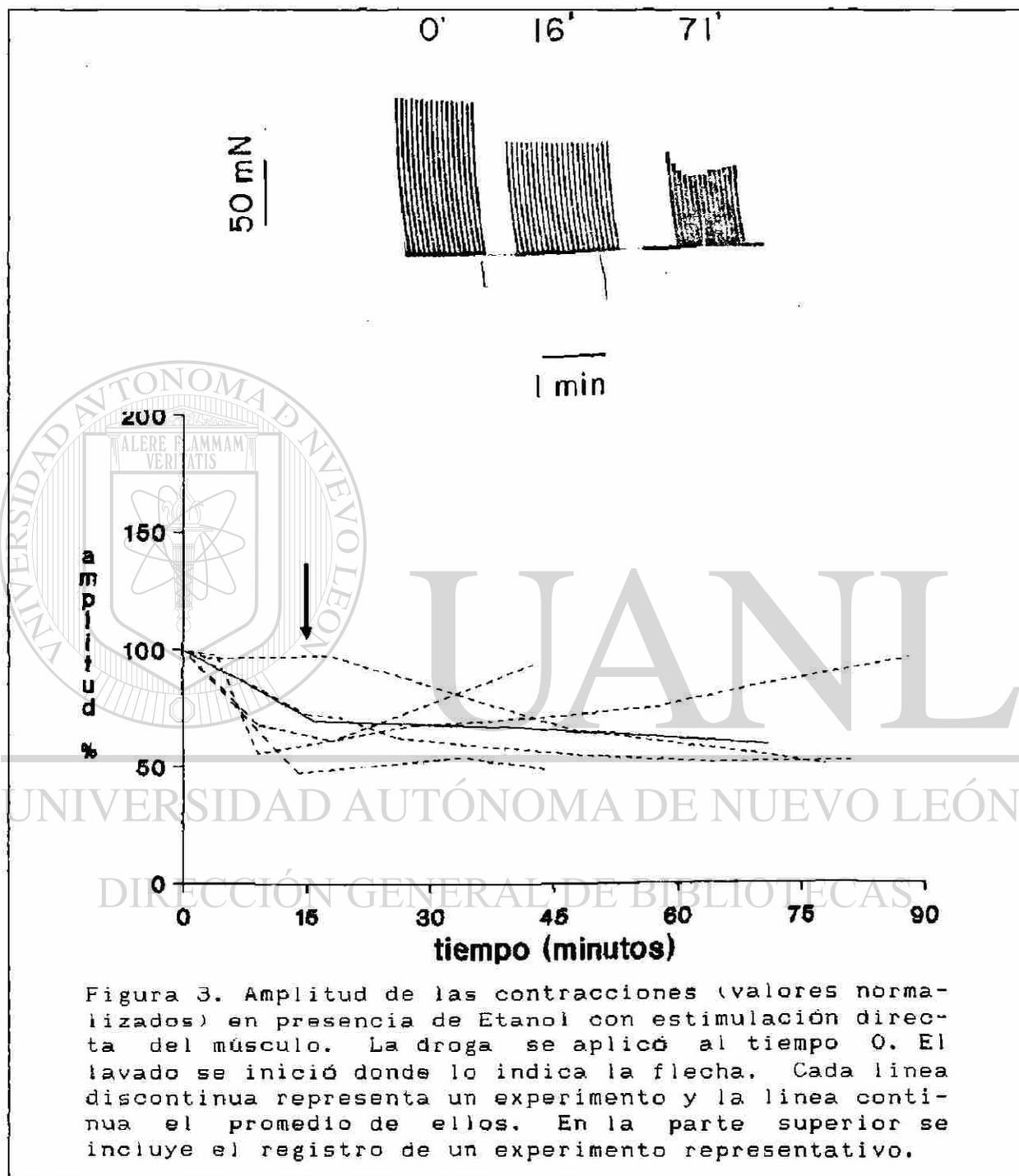


Figura 3. Amplitud de las contracciones (valores normalizados) en presencia de Etanol con estimulación directa del músculo. La droga se aplicó al tiempo 0. El lavado se inició donde lo indica la flecha. Cada línea discontinua representa un experimento y la línea continua el promedio de ellos. En la parte superior se incluye el registro de un experimento representativo.

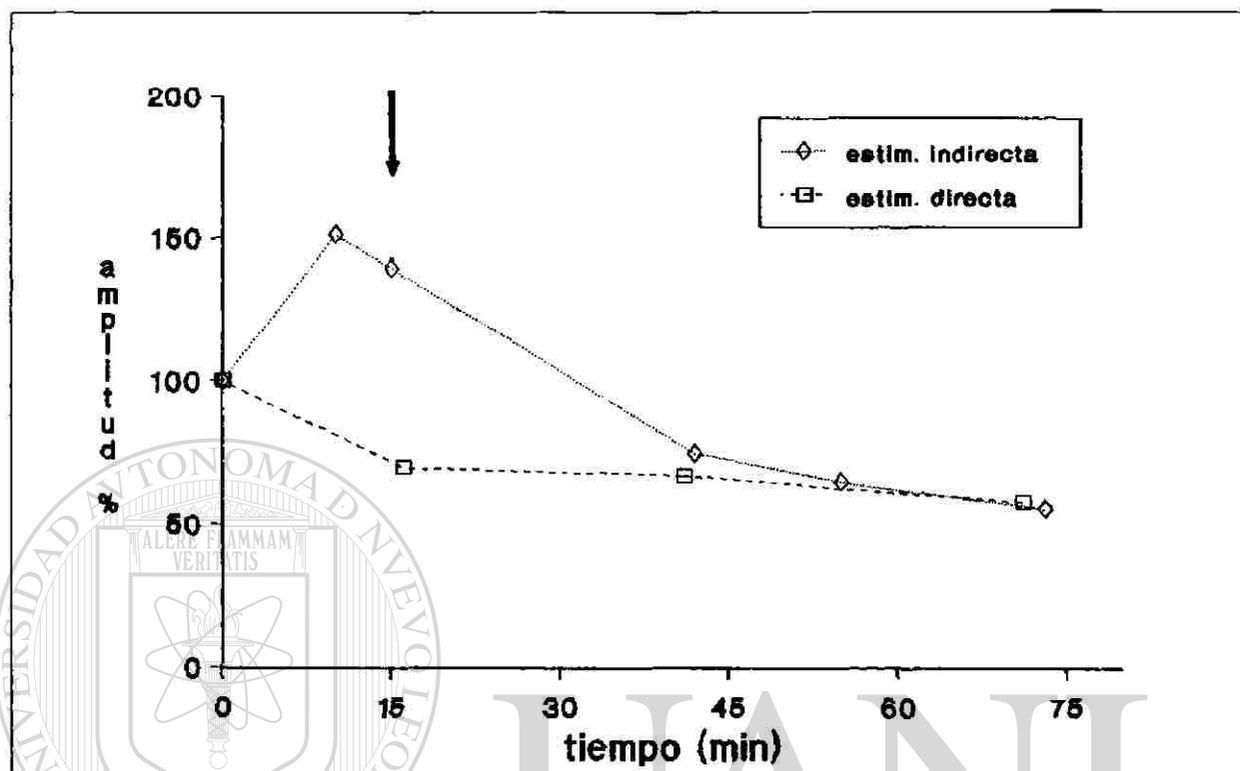
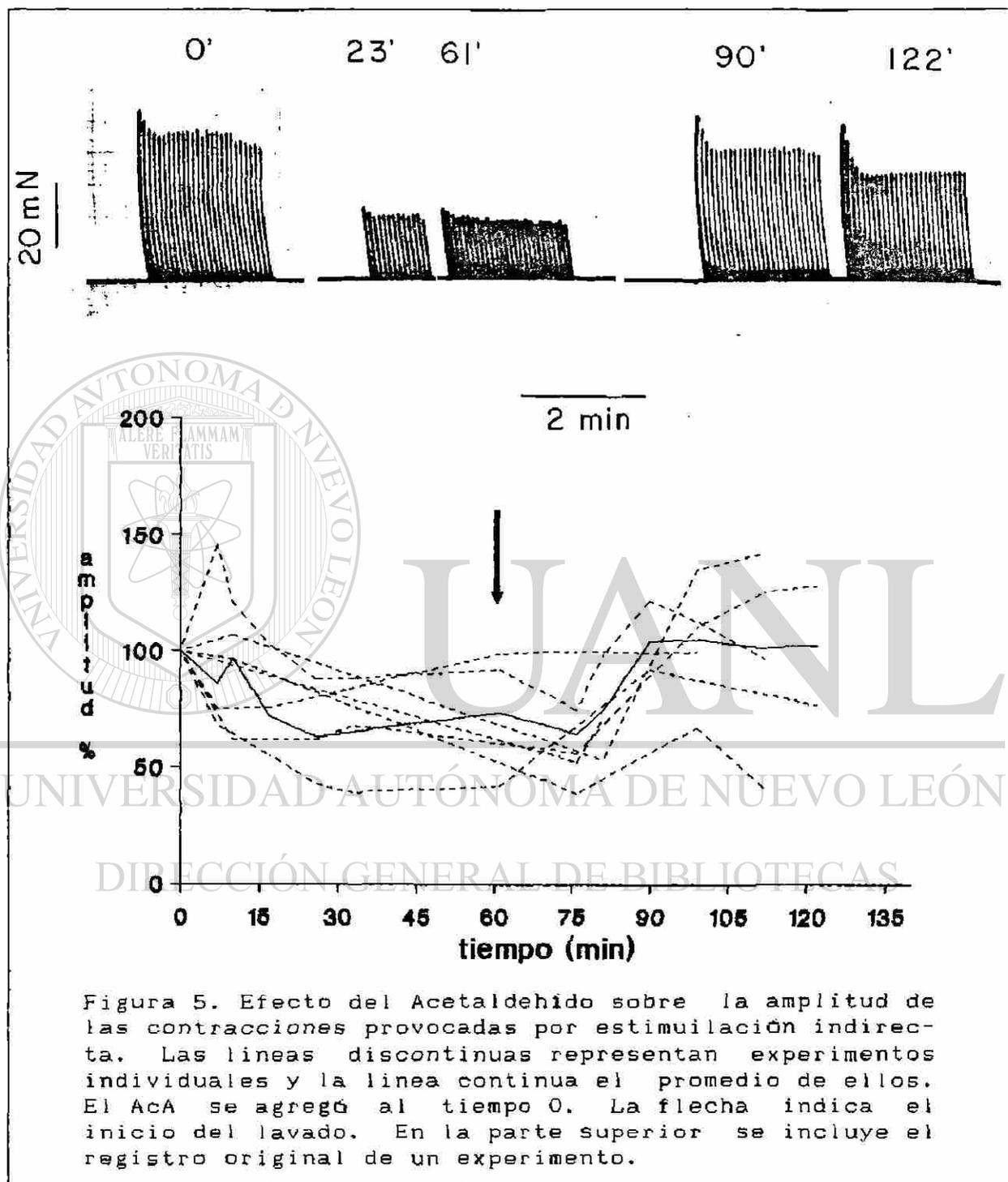


Figura 4. Valores promedio (normalizados  $\pm$  etm) de la amplitud de las contracciones en presencia de Etanol con ambos tipos de estimulación. Se inició la exposición a la droga al tiempo 0 y el lavado donde lo indica la flecha.

ACETALDEHIDO

Estimulación indirecta. Cuando se estimula al músculo en forma indirecta, el AcA (25, 35 y 40 mM) produce disminución de la amplitud de las contracciones (fig. 5, n = 8).

La tendencia a la disminución es clara y se manifiesta a partir de los 7 minutos de exposición, con un valor promedio de 24 % por



debajo del control ( $p > 0.05$ ), alcanzando el punto más bajo a los 26 minutos al promediar 37 % por debajo del control ( $p > 0.05$ ); a los 60 minutos de exposición los valores se recuperan en promedio hasta 26 % por debajo del control ( $p > 0.05$ ). Con el lavado, los valores disminuyen primero ligeramente, alcanzando en promedio 35 % por debajo del control a los 15 minutos de lavado ( $p > 0.05$ ); posteriormente hay una recuperación hasta alcanzar valores alrededor del control a los 29 minutos de lavado. En dos experimentos el AcA ocasiona un aumento de la amplitud, alcanzando un valor de 46 % por arriba del control a los 7 minutos en uno y de 21 % arriba del control a los 10 minutos en el otro.

**Estimulación directa.** En este grupo de experimentos, las contracciones generadas por estimulación directa en presencia de AcA (25, 35 y 50 mM) tienen un ligero aumento de amplitud durante los primeros minutos de exposición (fig. 6,  $n = 5$ ), con un máximo que en promedio llega a 8 % sobre el control a los 13 minutos ( $p > 0.05$ ), para después caer paulatinamente hasta 43 % en promedio por debajo del control a los 63 minutos de exposición ( $p > 0.05$ ); el lavado no tiene efecto aparente, llegando los valores promedio hasta 57% bajo el control a los 68 minutos de lavado ( $p > 0.05$ ). De los 5 experimentos, uno disminuye desde el inicio de la exposición al AcA y otro muestra fluctuaciones durante los primeros 9 minutos para disminuir paulatinamente en el resto del experimento.

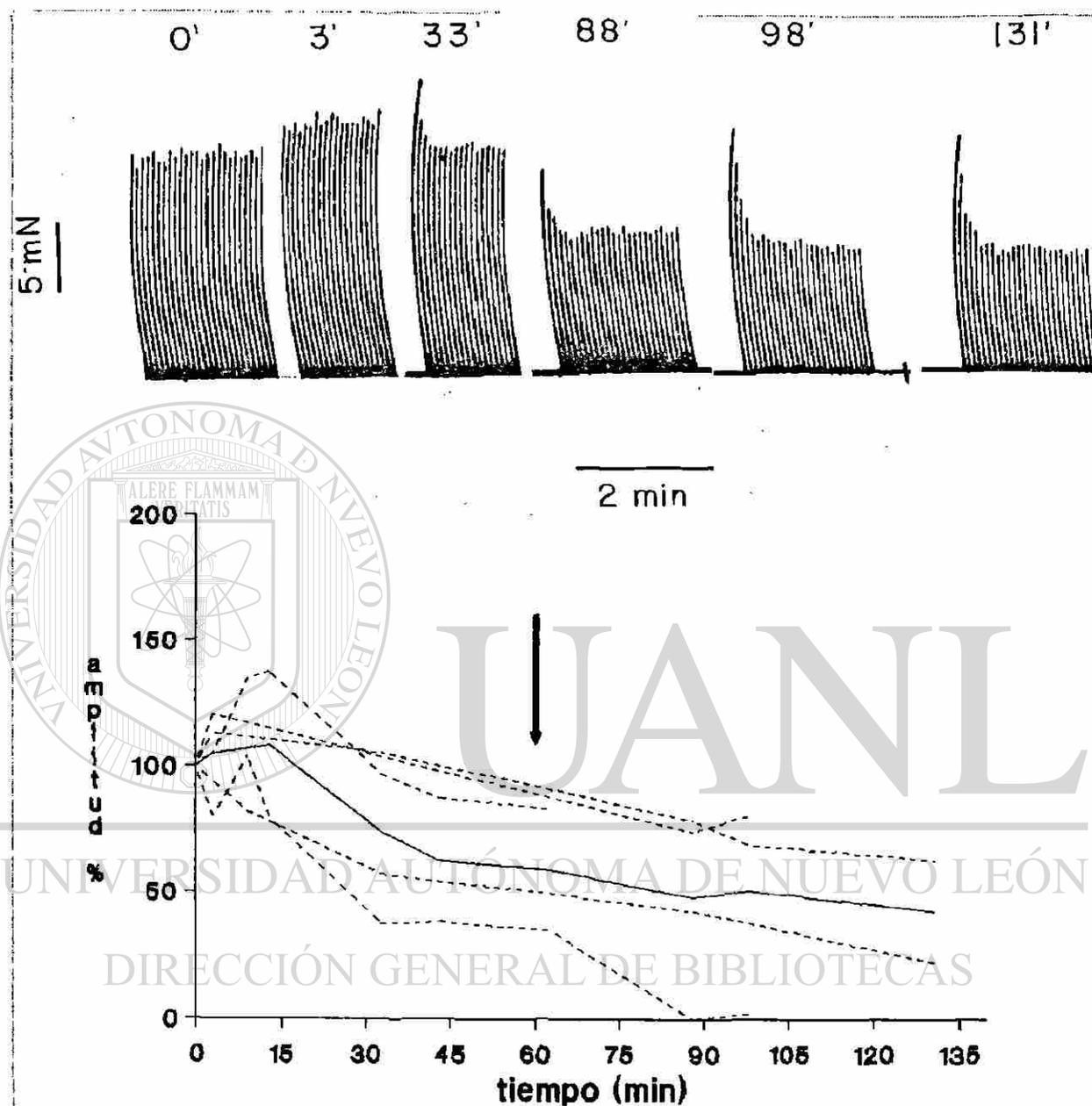
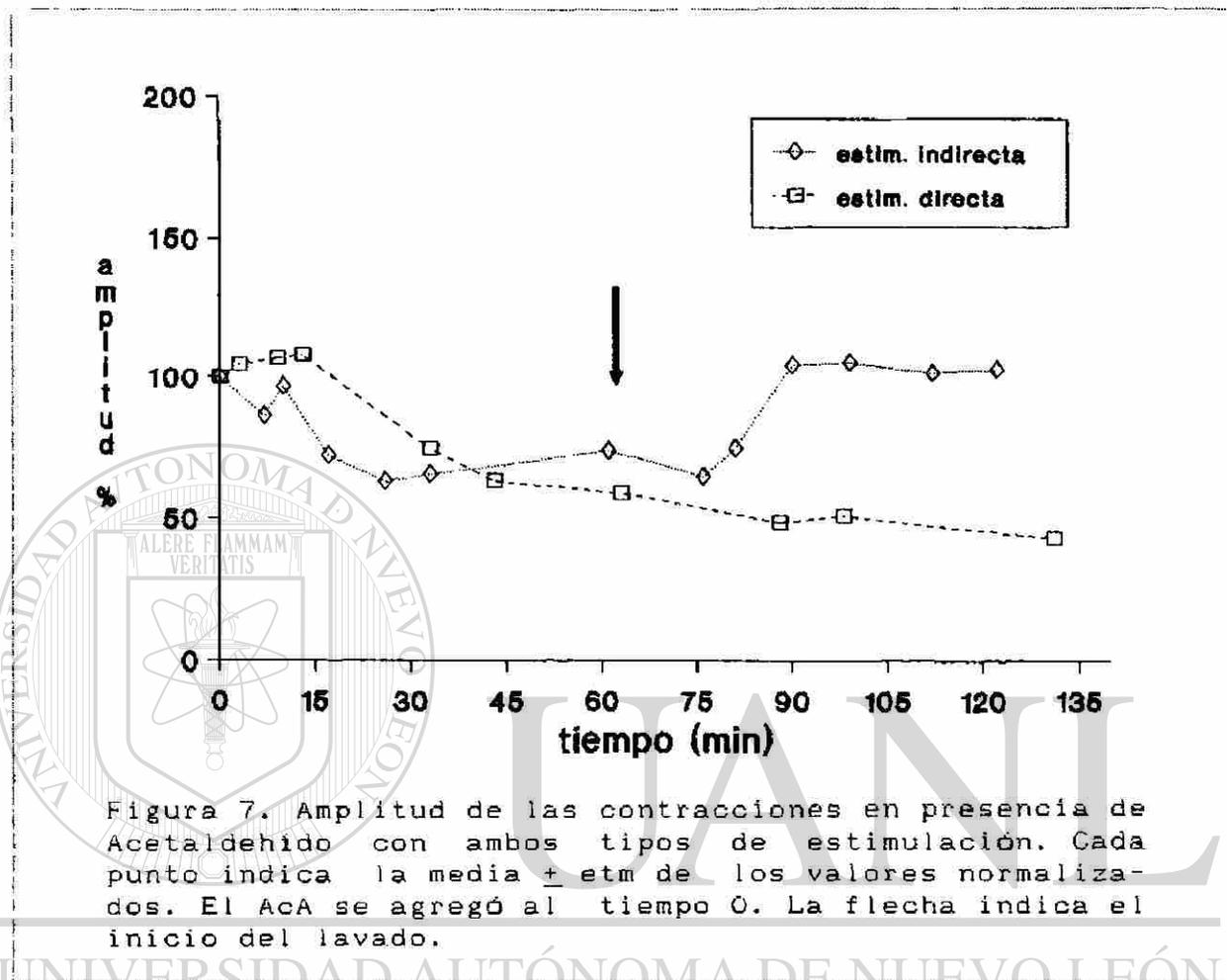


Figura 6. Amplitud de las contracciones de sacudida simple en presencia de Acetaldehído con estimulación directa del músculo. Cada línea discontinua representa un experimento y la línea continua el promedio. El AcA se agregó al tiempo 0. La flecha indica el inicio del lavado. En la parte superior se incluye el registro de un experimento típico.



En la figura 7 están representados los valores promedio ( $\pm$  etm) obtenidos con ambos tipos de estimulación, observándose claramente la diferencia en las respuestas.

#### ETANOL Y ACETALDEHIDO SIMULTANEOS

Estimulación indirecta. Con la estimulación indirecta (fig. 8,  $n = 4$ ), la amplitud de las contracciones aumenta ligeramente

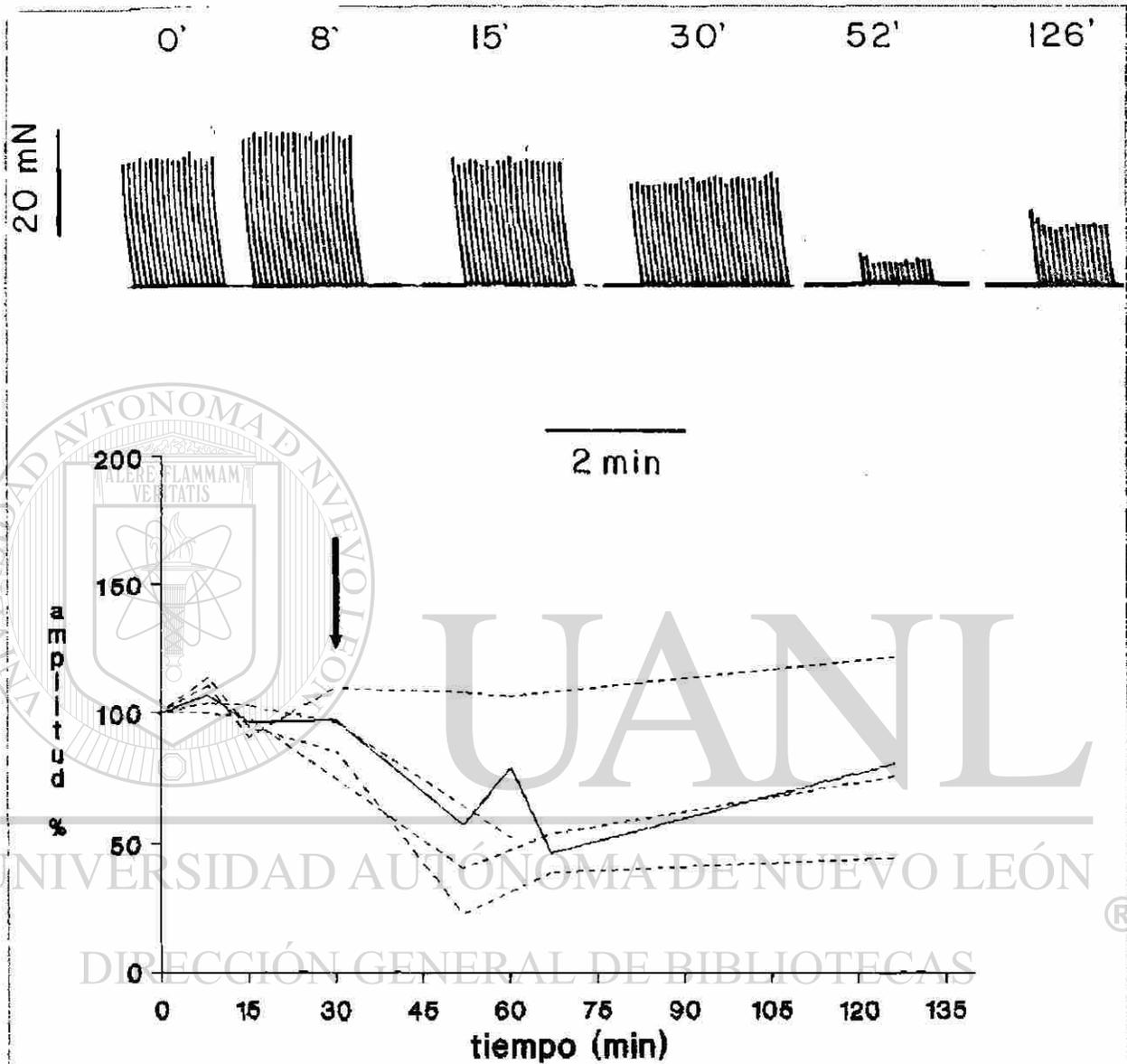


Figura 8. Valores normalizados de la amplitud de las ocntraciones provocadas por estimulación indirecta en presencia simultánea de Etanol y Acetaldehido. Las drogas se agregaron al tiempo 0. La flecha indica el inicio del lavado. Las líneas discontinuas representan experimentos individuales y la línea continua el promedio de ellos. En la parte superior se incluye el registro original de un experimento.

durante la exposición a las drogas (Etoh 100 mM y AcA 25 y 35 mM), llegando en promedio a 7 % sobre el valor control a los 8 minutos de exposición ( $p > 0.05$ ) y retornar a valores cercanos al control a los 15 minutos, para después mantenerse cerca de esos valores hasta los 30 minutos de exposición. El lavado produce disminución de la amplitud de las contracciones que llega en promedio a 53 % por debajo del control a los 37 minutos de lavado ( $p < 0.05$ ), recuperándose hasta un 20 % por debajo del control a los 96 minutos de lavado ( $p > 0.05$ ). De los 4 experimentos, uno se mantiene en valores superiores al control desde el inicio del lavado.

Estimulación directa. Al estimular directamente al músculo (fig. 9,  $n = 7$ ), la amplitud de las contracciones aumenta durante la exposición, alcanzando en promedio 7.5 % como máximo por arriba del control a los 19 minutos de exposición ( $p > 0.05$ ), para disminuir paulativamente con el lavado hasta alcanzar en promedio 37 % por debajo del control a los 30 minutos de lavado ( $p > 0.05$ ), manteniendo esta tendencia a la disminución a pesar de presentar algunos incrementos intermedios ( $p > 0.05$ ). De la totalidad de experimentos, en los primeros 8 minutos de exposición dos disminuyen (20 % y 50 % por debajo del control,  $p < 0.05$ ) y uno se mantiene cercano al valor control.

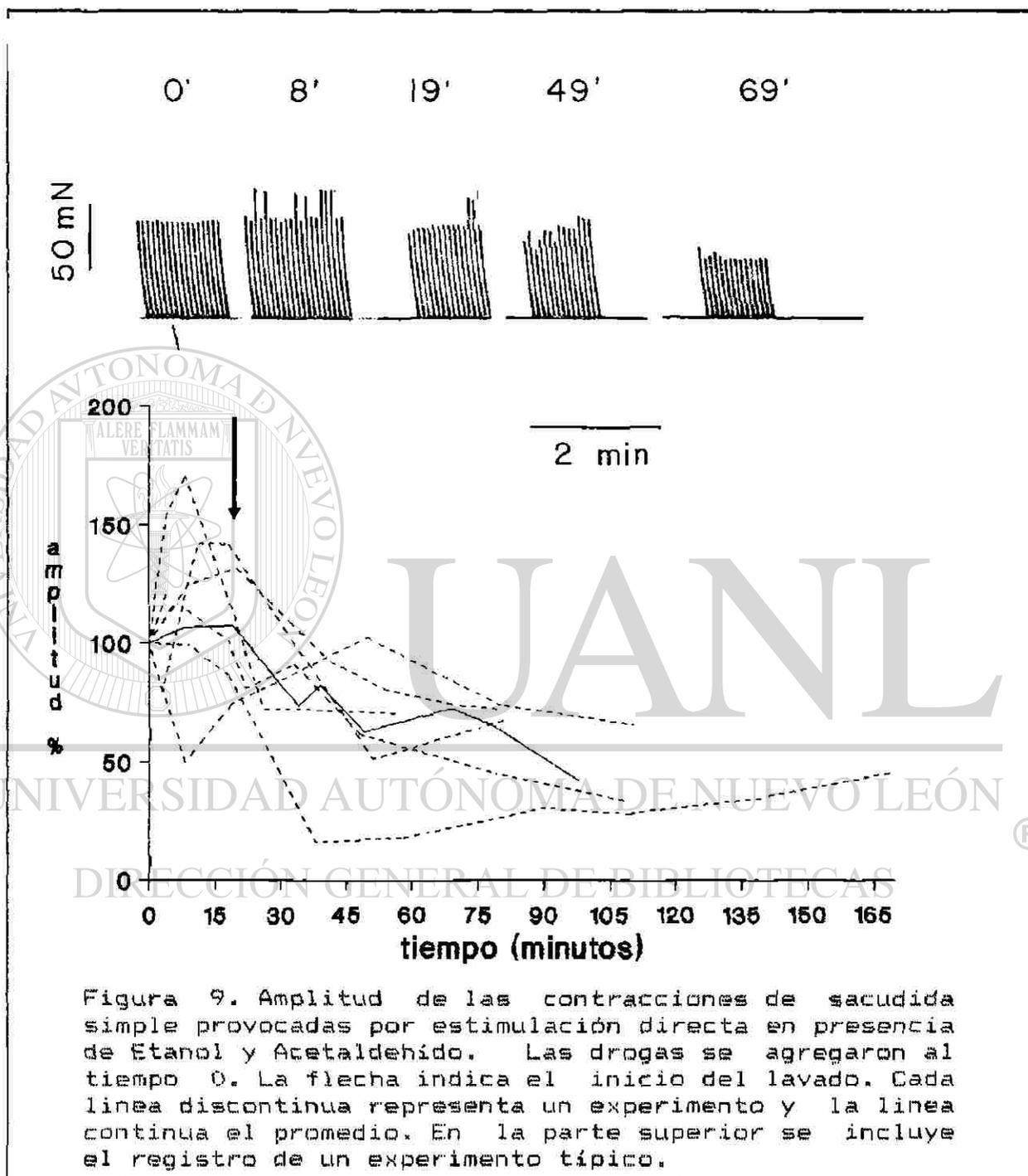
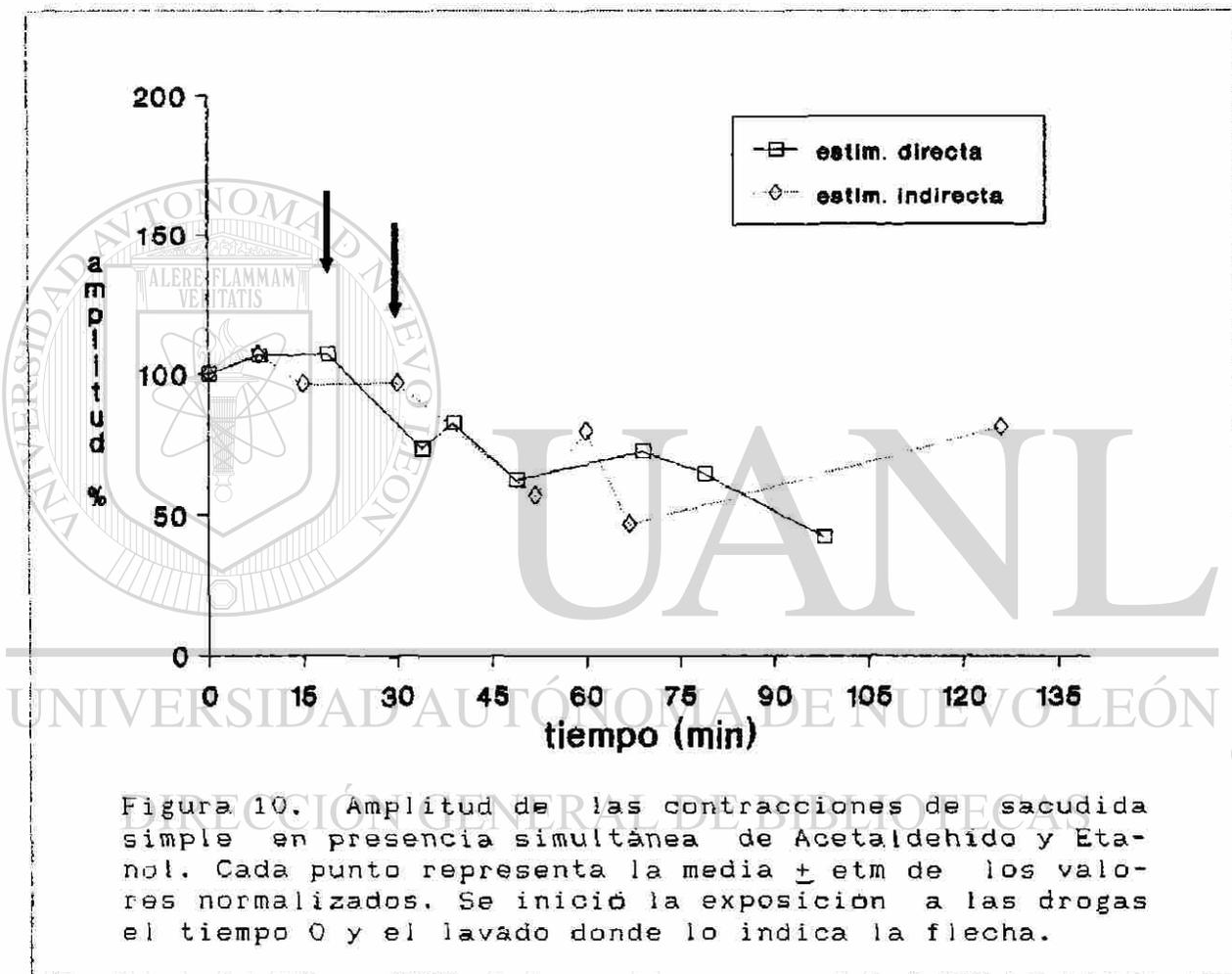


Figura 9. Amplitud de las contracciones de sacudida simple provocadas por estimulación directa en presencia de Etanol y Acetaldehído. Las drogas se agregaron al tiempo 0. La flecha indica el inicio del lavado. Cada línea discontinua representa un experimento y la línea continua el promedio. En la parte superior se incluye el registro de un experimento típico.

La diferencia entre la amplitud de las contracciones obtenidas con ambos tipos de estimulación no es muy grande, y esto se hace patente al observar la figura 10 donde se colocan juntos los valores promedio con los dos tipos de estimulación.



## DISCUSION

Los resultados aquí presentados muestran que el Etanol (100 y 200 mM) provoca aumento de la amplitud de las contracciones cuando éstas se provocan por estimulación indirecta del músculo, aumento revertido con el lavado ( $p < 0.05$ , Figs. 2 y 4).

Estos aumentos pueden indicar:

- a) Facilitación sináptica, de manera que la excitación muscular sea más duradera o el número de fibras musculares excitadas en cada impulso sea mayor.
- b) Incremento en la excitabilidad del músculo por un efecto directo sobre las células musculares.

El Etanol también provoca, de forma contraria, disminución en la amplitud de las contracciones al estimular directamente al músculo ( $p < 0.05$ , figuras 3 y 4). Si consideramos que esta disminución se da por estimulación directa del músculo (figuras 3 y 4) podemos pensar que el Etanol disminuye la fuerza desarrollada en las contracciones por un efecto directo a las células musculares ya que no se presenta el aumento dado durante la estimulación indirecta.

Sin embargo, el aumento dado con la estimulación indirecta del músculo indica que la facilitación sináptica se presenta y se sobrepone a la disminución provocada por efecto directo del

Etanol sobre el músculo.

Estos resultados concuerdan con lo reportado previamente. Gage (Gage 1965) confirma que es la facilitación sináptica provocada por el Etanol la responsable del aumento en la amplitud de las contracciones cuando éstas se provocan por estimulación del nervio en presencia de Etanol (Ettinger et al. 1941, Sachdev et al. 1963).

Por otro lado, la disminución en la amplitud de las contracciones que encontramos en nuestros experimentos en presencia de Etanol concuerdan con la disminución en la excitabilidad reportada con anterioridad (Gage 1965, Khan 1981). Khan (1981) propone que el Etanol interfiere con el manejo del calcio intracelular.

Esto nos lleva a reconocer dos niveles en los que el Etanol actúa:

- a) a nivel de la unión neuromuscular, facilitando la transmisión sináptica, y
- b) directamente sobre las células musculares, disminuyendo su excitabilidad.

Por otro lado, la amplitud de las contracciones llega con los dos tipos de estimulación a un nivel muy similar después de transcurrido el lavado (fig. 4) y, a partir de ahí los valores no

muestran diferencia. Estas similitudes pudieran indicar un efecto del Eta- $\text{no}$  que aún permanezca entre las células musculares, no pudiendo ser removido por el lavado, de tal forma que los efectos sean irreversibles.

Cuando se agregó AcA (25, 35 y 40 mM) a la preparación, disminuyó la amplitud de las contracciones provocadas indirectamente, disminución revertida con el lavado ( $p > 0.05$ , figuras 5 y 7). Es de notarse que el efecto del AcA no es contundente, ya que los cambios no muestran significancia estadística ( $p > 0.05$ ), sin embargo, estos cambios muestran una tendencia a la disminución a pesar de la dispersión que manifiestan los valores.

Esta disminución de la amplitud de las contracciones en presencia de AcA puede deberse a:

- a) disminución en la transmisión sináptica, o
- b) efecto directo sobre las células musculares.

Consideramos que en nuestros experimentos la disminución en la amplitud de las contracciones provocadas indirectamente en presencia de AcA es debida a una inhibición en la transmisión sináptica, ya que esta inhibición y la reversión coinciden temporalmente con la inhibición en la actividad a nivel de la placa mioneural de la preparación neuromuscular frénico-difragma de rata y ratón reportada por Carlen y col. (Carlen et al. 1978) al

trabajar con AcA (3-25 mM).

Estos efectos son opuestos a los que encontramos cuando la preparación se estimuló directamente (figuras 6 y 7) en presencia de AcA (25, 35 y 50 mM), ya que la amplitud de las contracciones aumentó al principio de la exposición con posterior disminución sin efecto aparente del lavado. En este caso, como en el mencionado anteriormente, los cambios no son diferentes estadísticamente ( $p > 0.05$ ), presentándose también dispersión de los valores; sin embargo la tendencia en los cambios es clara.

Con el aumento encontrado durante la estimulación directa del músculo descartamos la posibilidad de que el AcA disminuya la amplitud de las contracciones provocadas al estimular indirectamente la preparación por un efecto directo sobre las células musculares, tal como se sugiere anteriormente.

### DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Los mecanismos involucrados en este aumento pueden estar relacionados con la excitabilidad de las células musculares, sin que tengamos elementos suficientes para definir el sitio exacto de acción. Sin embargo, concuerda con la potenciación encontrada por Khan previamente (Khan 1981).

El aumento mencionado durante la estimulación directa del músculo en presencia de AcA cambia a disminución de la amplitud de las

contracciones sin que haya recuperación después de retirar la droga de la solución de baño, lo cual pudiera ser explicado por efecto residual del AcA sobre algún mecanismo celular diferente en las células musculares.

En el trabajo de Khan mencionado anteriormente (Khan 1981), se reporta que al usar AcA a concentraciones mayores de 18 mM la amplitud de las contracciones provocadas por estimulación directa de las células musculares disminuye irreversiblemente. Se ha encontrado que el AcA interfiere con otros procesos relacionados con el funcionamiento de las células musculares: inhibe la oxidación del piruvato (Cederbaum y Rubin 1977), interfiere con la peroxidación de lípidos (García-Buñuel 1984), modifica la composición de algunos ácidos grasos de membrana (Latge et al. 1987), inhibe algunas enzimas ligadas a la membrana celular (Lieberthal et al. 1980), modifica la respuesta de la actinmiosina al ADP (Puszkin y Rubin, 1975) y forma complejos con algunas proteínas (Jennett et al. 1989, Sorrell y Tuma 1987). Cualquiera de estos efectos, o la suma de ellos puede interferir con el desarrollo de la contracción muscular y explicar así la disminución en la amplitud de las contracciones que encontramos.

Cuando se agregaron ambas drogas (Etanol 100 mM, AcA 25 y 35 mM) en forma simultánea y se estimuló indirectamente al músculo (figuras 8, 10 y 11), la amplitud de las contracciones alcanza valo-

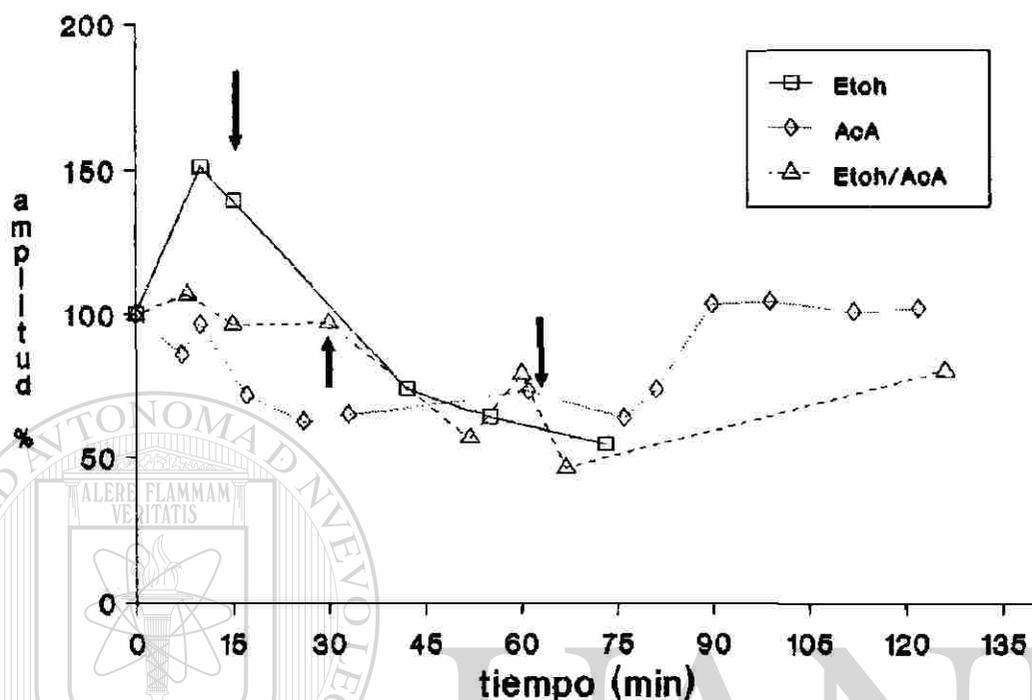
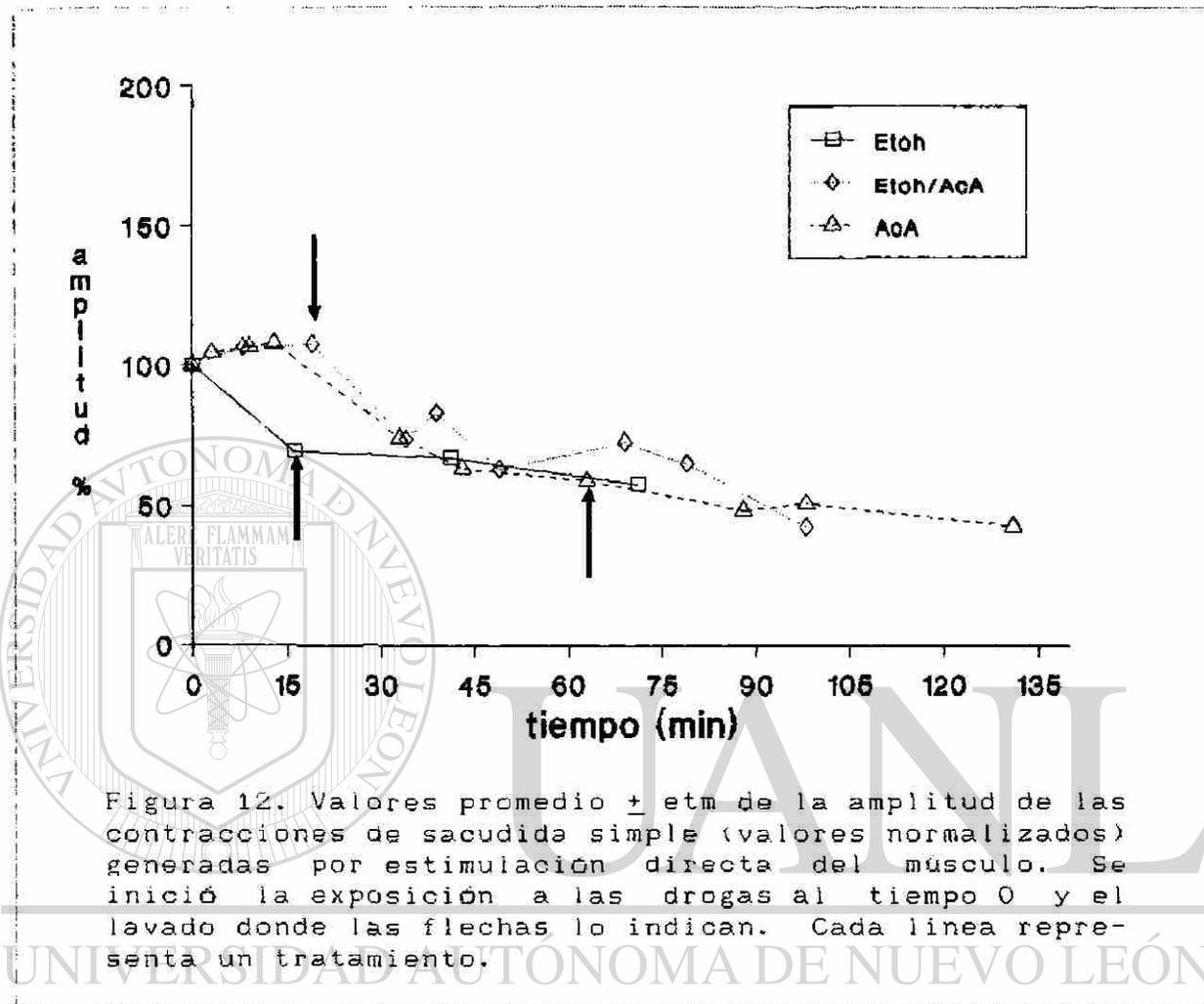


Figura 11. Valores normalizados (promedio  $\pm$  etm) de la amplitud de las contracciones de sacudida simple generadas por estimulación indirecta del músculo. Se inició la exposición a las drogas al tiempo 0 y el lavado donde las flechas lo indican. Cada línea representa un tratamiento.

res intermedios entre los encontrados cuando se agregaron las drogas por separado (fig. 11). El efecto estimulador del Etanol sobre la transmisión neuromuscular que mencionamos previamente se ve parcialmente revertido por la inhibición en el mismo proceso encontrada en presencia de AcA (figuras 2, 4, 5, 7, 8 y 11). En la figura 11 se observa que tiende a predominar el efecto del AcA sobre el del Etanol.



Al estimular directamente al músculo en presencia simultánea de Etanol y AcA (Etanol 100 mM, AcA 25 y 35 mM), predomina claramente el efecto estimulador del AcA (figuras 6, 7, 9, 10 y 12) sobre el efecto inhibitorio del Etanol (figuras 3, 5, 7, 8, 10 y 12).

Estos resultados concuerdan con los reportados por Khan (Khan 1981), quien menciona una reversión parcial de la inhibición de la amplitud de las contracciones de sacudida (en células muscula-

res aisladas de rana) provocada por estimulación directa en presencia de Etanol 400 mM cuando agregó en forma secuencial AcA 1.8 mM.

En nuestros experimentos el AcA tiene efectos opuestos, con los dos tipos de estimulación, a los efectos del Etanol sobre el desarrollo de las contracciones musculares al actuar simultáneamente en los tejidos nervioso y muscular.

Podemos resumir nuestros resultados en:

- 1.- El Etanol (100-200 mM) aumenta la amplitud de las contracciones de sacudida simple provocadas por estimulación al nervio, probablemente al facilitar la transmisión neuromuscular (Gage 1965).
- 2.- El Etanol (100-200 mM) a la vez inhibe la respuesta contractil de las células musculares debido, probablemente, a interferencia con los procesos que manejan el Calcio intracelular (Khan 1981).
- 3.- El AcA (25-40 mM) inhibe la amplitud de las contracciones de sacudida simple provocadas por estimulación al nervio por una probable inhibición de la transmisión neuromuscular (Carren et al 1978).
- 4.- El AcA (25-50 mM), por el contrario, tiende a incrementar la amplitud de las contracciones cuando éstas se provocaron por estimulación directa del músculo por un

probable aumento en la concentración de Calcio intracelular (Khan 1981), inhibiéndolas después por un mecanismo que no podemos definir al momento.

5.- Tanto el Etanol como el AcA, a las concentraciones utilizadas, tienen efectos opuestos y simultáneos sobre el nervio y sobre el músculo durante el desarrollo de actividad contractil en la preparación neuromuscular ciático-sartorio del sapo.

6.- Los efectos del AcA (25-35 mM) predominan sobre los de el Etanol (100 mM) al aplicarse ambas drogas de forma simultánea.

Por lo anteriormente expuesto, podemos concluir que el AcA juega un papel importante en las modificaciones funcionales encontradas en los músculos de personas alcohólicas, y se debe tomar en cuenta su participación en los problemas que hasta el momento son atribuidos exclusivamente al Etanol.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## RESUMEN

El Acetaldehído, primer y principal metabolito del Etanol, participa en el desarrollo de la gran mayoría de las alteraciones que el consumo de etanol provoca en el organismo.

Sin embargo, y a pesar de que ambos compuestos se encuentran presentes al mismo tiempo durante la ingesta de bebidas alcohólicas, pocos estudios se han hecho sobre su efecto simultáneo.

En el presente trabajo se evaluó el efecto del Etanol (0.1-0.2 M) y del Acetaldehído (25-50 mM) sobre la contracción muscular de sacudida simple medida en condiciones isométricas en la preparación neuromuscular ciático-sartorio del sapo (*Bufo* sp.).

El Etanol disminuyó ( $p < 0.05$ ) las contracciones generadas por estimulación al músculo y aumentó ( $p < 0.05$ ) las generadas por estimulación al nervio, ambos cambios fueron revertidos parcialmente al eliminar la droga de la solución de baño.

Al agregar Acetaldehído, las contracciones se vieron aumentadas ( $p > 0.05$ ) al estimular directamente al músculo, y fueron disminuidas ( $p > 0.05$ ) cuando se estimuló al nervio. El lavado de la droga revertió completamente los efectos en el primer caso y parcialmente en el segundo.

## RESUMEN

Cuando ambas drogas se agregaron simultáneamente, el Acetaldehído contrarrestó completamente los efectos del Etanol al provocar las contracciones por estimulación directa del músculo ( $p > 0.05$ ) y, al generar las contracciones por estimulación al nervio, el Acetaldehído sólo contrarrestó parcialmente los efectos del Etanol ( $p > 0.05$ ). Los efectos de las drogas fueron parcialmente revertidos con el lavado cuando se estimuló directamente y completamente revertidos cuando se estimuló al nervio.

Los resultados sugieren que ambas drogas tienen efectos opuestos y simultáneos sobre el desarrollo de las contracciones musculares en el músculo esquelético, predominando (a las concentraciones utilizadas) el efecto del Acetaldehído sobre el del Etanol. Por ello, es importante que se tome en cuenta al acetaldehído en los efectos que el consumo de bebidas alcohólicas tiene sobre el músculo esquelético.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## BIBLIOGRAFIA

- Altura, B.M., A. Carella, y B.T. Altura. Acetaldehyde on vascular smooth muscle: possible role in vasodilator action of ethanol. *European J. Pharmacol.* 52:73-83, 1978.
- Altura, B.M., H. Edgarian, y B.T. Altura. Differential effects of ethanol and mannitol on contraction of arterial smooth muscle. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 197(2):352-361, 1976.
- Bradley, R.J., K. Peper, y R. Sterz. Postsynaptic effects of ethanol at the frog neuromuscular junction. *Nature* 284:60-62, 1980.
- Bradley, R.J., R. Sterz, y K. Peper. The effects of alcohols and diols at the nicotinic acetylcholine receptor of the neuromuscular junction. *Brain Res.* 295:101-112, 1984.
- Carlen, F.L., A.L. Staiman, y W.A. Corrigan. Acetaldehyde affects mammalian neuromuscular transmission without observable postsynaptic effects. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 56:1053-1056, 1978.
- Cederbaum, A.I., y E. Rubin. Sensitivity to acetaldehyde of pyruvate oxidation by mitochondria from liver, kidney, brain and muscle. *Biochem. Pharmacol.* 26:1349-1353, 1977.
- Cohen, G., F.M. Sinet, y R. Hikkila. Ethanol oxidation by rat brain in vivo. *Alcohol.: Clin. Exp. Res.* 4(4):366-370, 1980.
- Davis, V.E., y M.J. Walsh. Alcohol, amines and alkaloids: a possible biochemical basis for alcohol addiction. *Science* 157:1005-1007, 1970.
- Diamond, I. Alcoholic myopathy and cardiomyopathy (editorial). *New Engl. J. Med.* 320(7):456-460, 1989.
- Ettlinger, G.H., A.B. Brown, y A.H. Megill. Potentiation of acetylcholine by alcohol and ether. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 73:119-126, 1941.
- Gage, P.W. The effect of methyl, ethyl and n-propyl alcohol on neuromuscular transmission in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 150(2):236-243, 1965.
- Gage, P.W., R.N. McBurney, y G.T. Schneider. Effects of some aliphatic alcohols on the conductance change caused by a quantum of acetylcholine at the toad endplate. *J. Physiol.* 244:409-419, 1975.

- García-Buñuel, L.. Lipid peroxidation in alcoholic myopathy and cardiomyopathy. *Medical Hypotheses* 13:217-231, 1984.
- Haji, A., y R. Takeda. Effects of acetaldehyde on the monosynaptic reflex pathway in the cat spinal cord. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 289(1):25-36, 1987.
- Jennet, R.B., A. Sattari-Fard, M.F. Sorrel, S.L. Smith, y D.J. Tuma. Increased covalent binding of acetaldehyde to calmodulin in the presence of calcium. *Life Sci.* 45(15):1461-1466, 1989.
- Khan, R.. Influence of ethanol and acetaldehyde on electromechanical coupling of skeletal muscle fibres. *Acta Physiol. Scand.* 111:425-430, 1981.
- Klinkerfuss, G., V. Bleisch, M.M. Dioso, y G.T. Perkoff. A spectrum of myopathy associated with alcoholism II. Light and electron microscopic observations. *Ann. Internal Med.* 67(3):493-510, 1967.
- Korsten, M.A., S. Matsuzaki, L. Feinman, y C.S. Lieber. High blood acetaldehyde levels after ethanol administration. Difference between alcoholic and nonalcoholic subjects. *New Engl. J. Med.* 292(6):386-389, 1975.
- Latge, C., Y. Lamboeuf, C. Roumec, y Georges de Saint-Blanquat. Effect of chronic acetaldehyde intoxication on ethanol tolerance and membrane fatty acids. *Drug Alcohol Depend.* 20:47-55, 1987.
- Lieber, C.S., E. Baraona, M.A. Leo, y A. Garro. ICPENC working paper No. 15/2. Metabolism and metabolic effects of ethanol, including interaction with drugs, carcinogens and nutrition. *Mutation Res.* 166:201-233, 1987.
- Lieber, C.S., H.L. Bleich, y E.S. Boro. Pathogenesis and early diagnosis of alcoholic liver injury. *New Engl. J. Med.* 298(16):886-893, 1978.
- Lieberthal, S., M. Oldfield, y B.C. Shanley. Effect of ethanol and acetaldehyde on membrane-bound enzymes in rat brain. *Adv. Exp. Med. Biol.* 132(3-4):797-805, 1980.
- Lindros, K.O.. Acetaldehyde-its metabolism and role in the actions of alcohol. en *Research Advances in Alcohol and Drug Problems*. vol. 4. Editado por Y. Israel, F.B. Glaser, H. Kalant, K.E. Fopham, W. Schmidt, y R.G. Smart. Plenum Publishing Corporation, Nueva York y Londres. pp. 111-176, 1978.

Hajshrowicz, E.. Alcohol, aldehydes, and biogenic amines. Ann. N. Y. Acad. Sci. 215:84-88, 1973.

Mayer, R.F.. Recent studies in man and animal of peripheral nerve and muscle disfunction associated with chronic alcoholism. Ann. N. Y. Acad. Sci. 215:370-372, 1973.

Momose, Y., y R. Takeda. A comparison of inhibitory actions of ethanol and acetaldehyde on the acetylcholine responses in Aplysia neurons. Japan J. Stud. Alcohol 15(3):205-213, 1980.

Nieto, D.. Alteraciones producidas por el alcoholismo agudo y crónico en el sistema nervioso. en El alcoholismo en Mexico, I. Patología. Editado por V. Molina-Piñero, y L. Sanchez-Medal. Fundación de Investigaciones Sociales, A.C., México. pp. 121-132, 1982.

Urtic, A., P.J. Griffiths, y J.M. Littleton. A comparison of the effects of chronic administration of ethanol and acetaldehyde to mice: evidence for a role of acetaldehyde in ethanol dependence. J. Pharm. Pharmacol. 26:249-260, 1974.

Peachey, J.E., y C.A. Naranjo. The role of drugs in the treatment of alcoholism. Drugs 27:171-182, 1984.

Perkoff, G.T., P. Hardy, y E. Velez-García. Reversible acute muscular syndrome in chronic alcoholism. New Engl. J. Med. 274(23): 1277-1285, 1966.

Philips, S.C.. Can brain lesions occur in experimental animals by administration of ethanol or acetaldehyde? Acta Med. Scand. Suppl. 717:67-72, 1987.

Pusckin, S., y E. Rubin. Adenosine diphosphate effect on contractility of human muscle actomyosin: inhibition by ethanol and acetaldehyde. Science 186: 1319-1320, 1975.

Quastel, L.M.J., J.T. Hackett, y J.D. Cooke. Calcium: Is it required for transmitter secretion? Science 172:1034-1036, 1971.

Ranwan, R.G.. Toxic effects of ethanol: possible role of acetaldehyde, tetrahydroisoquinolines, and tetrahydro- $\beta$ -carboline. Toxicol. Appl. Pharmacol. 34:3-27, 1975.

Maskin, N.H.. Alcoholism or acetaldehydism? (editorial) New Engl. J. Med. 291(8):422-423, 1975.

Ritchie, J.M., The aliphatic alcohols. en Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 7a. edición.

- Editado por A. Goodman-Gilman, L.S. Goodman, T.W. Rall, y F. Murad. Macmillan Publishing Company, Nueva York. pp. 372-386, 1985.
- Sachdev, K.S., M.H. Panjwani, y A.D. Joseph. Potentiation of the response to acetylcholine on the frog's rectus abdominis by ethyl alcohol. Arch. Int. Pharmacodyn. 145(1-2):36-43, 1983.
- Sorrel, M.F., y D.J. Tuma. The functional implications of acetaldehyde binding to cell constituents. Ann. N. Y. Acad. Sci. 492(3):50-62, 1987.
- Takeda, R., y A. Haji. Dual Effects of acetaldehyde on electrical activity in the isolated frog spinal cord. European J. Pharmacol. 113(3): 409-416, 1985.
- Takeda, R.J., y Y. Momose. Effects of acetaldehyde on the cholinergic synaptic transmissions in *Aplysia* neurons. Japan J. Stud. Alcohol 15(2):109-116, 1980a.
- Takeda, R., y Y. Momose. Effects of acetaldehyde on the membrane potential and membrane resistance of the identified neurons in the abdominal ganglion of the *Aplysia kurodai*. Japan J. Pharmacol. 30:165-172, 1980b.
- Urbano-Marquez, A., R. Estruch, J.M. Grau, J.M. Fernández-Huerta, y M. Sala. On alcoholic myopathy. Ann. Neurol. 17(4):418, 1985.
- 
- Urbano-Marquez, A., R. Estruch., F. Navarro-Lopez, J.M. Grau, Ll. Mont, y E. Rubin. The effects of alcoholism on skeletal and cardiac muscle. New Engl. J. Med. 320(7):409-415, 1989. ®
- Wali, F.A., y A.P. Hayter. Effect of ethanol on neuromuscular function in the rat diaphragm preparation. Alcohol Alcohol. 23(4):299-303, 1988.
- Waris, A.S., y E.W. Lamon. *In vitro* effects of ethanol and acetaldehyde on cell-mediated cytotoxicity. *en* Alcohol, immunomodulation, and AIDS. editado por Alan R. Liss, Inc., pp. 145-153, 1990.

