

УДК 612.821:547.262]:577.158

ОКИСЛЕНИЕ ЭТАНОЛА В МОЗГЕ

С.М. Зиматкин, профессор, д.б.н.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Обзор посвящен окислению этанола в мозге и его роли в центральных эффектах алкоголя и патогенезе алкоголизма. Описано поступление алкоголя в мозг, роль ацетальдегида в центральных (поведенческих, нейрохимических, нейротоксических) эффектах алкоголя, этанол- и альдегидметаболизирующие ферменты мозга и их вклад в окисление этанола и ацетальдегида. Приведены доказательства возможности окисления алкоголя в мозге. Описано региональное и субклеточное распределение метаболизма этанола в мозге и его особенности у животных с различной чувствительностью к гипнотическому действию этанола. Показаны новые подходы к исследованию окисления этанола в живом мозге.

Ключевые слова: мозг, окисление алкоголя, ацетальдегид, алкоголизм.

The review is devoted to ethanol oxidation in the brain and its role in the central effects of alcohol and alcoholism pathogenesis. The entrance of alcohol into the brain, role of acetaldehyde in the central (behavioral, neurochemical and neurotoxic) effects of alcohol, the ethanol- and aldehyde metabolising enzymes of the brain and their impact in ethanol oxidation in the brain are described. The evidence of the possibility of alcohol oxidation in brain has been provided. The regional and subcellular distribution of ethanol oxidation in the brain has been described as well as the specificities of the process in animals with different sensitivity to hypnotic effect of ethanol. The new approach to the study of ethanol oxidation in the living brain has been demonstrated.

Key words: brain, alcohol oxidation, acetaldehyde, alcoholism.

Введение

Злоупотребление алкоголем значительно увеличивает общую заболеваемость и смертность населения, ухудшает демографическую ситуацию в Беларуси и многих других странах мира [13, 17]. В докладе Национального института по изучению алкоголя и алкоголизма США отмечается, что в этой стране от злоупотребления алкоголем ежегодно погибает около 100 тыс. человек, а экономический ущерб составляет более 200 млрд. долларов. Очевидно, что только социальными, запретительными мерами эту ситуацию изменить нельзя. Для её решения необходимо выяснение биологических аспектов действия алкоголя на организм человека [16].

При употреблении алкоголь быстро всасывается в кровь и разносится по всему организму. Этанол окисляется в организме, преимущественно в печени, с помощью фермента алкогольдегидрогеназы. Образующийся при этом ацетальдегид (АА) быстро окисляется с помощью фермента альдегиддегидрогеназы до ацетата, который затем подвергается дальнейшим метаболическим превращением вплоть до углекислого газа и воды [15]. Алкоголь свободно проходит через гематоэнцефалический барьер и быстро проникает во все клетки мозга, непосредственно меняя структуру и свойства клеточных мембран. Кроме того, продукты метаболизма этанола в организме (АА, ацетат, ацетонин, сальсоинол и др.) обладают дополнительным, самостоятельным действием в мозге. Алкоголь и его метаболиты нарушают микроциркуляцию, питание нервных и глиальных клеток, обмен веществ в мозге, приводящих к дистрофическим и дегенеративным изменениям нейронов. Они нарушают синтез, транспорт, выделение, обратный захват и деградацию многих нейромедиаторов и свойства их рецепторов [2].

Роль ацетальдегида в действии этанола на мозг

Известно, что первый метаболит этанола, ацетальдегид (АА) является чрезвычайно активным соединением, обладающим выраженным нейротропным, а в повышенных концентрациях и нейротоксическим действием. АА необратимо связывается с белками и фосфолипидами мозга, конденсируется с биогенными аминами с образованием морфиноподобных алкалоидов, изменяет активность многих ферментов, кругооборот нейромедиаторов, электроимпульсную активность нейронов, интегративные функции мозга и поведение животных. АА действует и на генетический аппарат нейронов, запуская программу их гибели (апоптоз) [1, 8].

АА опосредует многие эффекты алкоголя в мозге, включая поведенческие, биохимические и нейротоксические [20, 23, 24]. Обнаружение в мозге как самого АА, так и продуктов его конденсации с биогенными аминами, или аддуктов с белками и ДНК у животных, получавших алкоголь и у больных алкоголизмом может служить подтверждением присутствия в мозге АА, образовавшегося из этанола [2].

Известно, что АА, образующийся при метаболизме алкоголя на периферии, обычно не проходит через гематоэнцефалический барьер из-за находящегося в нём фермента альдегиддегидрогеназы [11]. Следовательно, для реализации своего нейротропного действия АА должен образоваться из этанола непосредственно в мозге [4]. Возможность окисления алкоголя и образования АА в мозге широко обсуждается в литературе на протяжении последних 30 лет и является ключевым вопросом для понимания действия алкоголя на мозг и патогенеза алкоголизма.

Этанолокисляющие ферменты мозга

В мозге присутствуют все основные ферменты, способные окислять этанол: алкогольдегидрогеназа, цитохромы P450 и каталаза [4, 32]. Однако, в отличие от печени и многих других периферических органов, алкогольдегидрогеназа мозга, по видимому, не принимает участия в этом процессе. Вероятно, каталаза является основным этанолокисляющим ферментом мозга [18, 22, 34]. Не случайно именно её активность так хорошо коррелирует с поведенческими эффектами алкоголя [26]. Другим ферментом, способным принимать участие в этом процессе, является особая форма цитохрома P450 – 2E1. Поскольку она сильно индуцируется этанолом, её роль может значительно возрасти при хронической алкогольной интоксикации [32]. Первым метаболитом, образующимся при окислении этанола во всех трёх ферментативных реакциях, является АА. Основным ферментом окисления АА в мозге является альдегиддегидрогеназа (АльДГ). Она широко и гетерогенно распределена в структурах и разных типах нервных и глиальных клеток мозга [3, 30].

Доказательства возможности окисления этанола в мозге

Несмотря на многочисленные исследования, подтверждающие присутствие всех основных алкогольокисляющих ферментов в мозге, вопрос о возможности функционально значимого окисления в нём этанола долгое время оставался открытым. Первым косвенным подтверждением участия каталазы мозга в окислении этанола было наблюдение, что введение животным этанола предупреждает её угнетение известным ингибитором каталазы аминотриазолом [19]. Затем было показано, что клетки нейроглии и нейробластом способны метаболизировать этанол с помощью цитохрома P450 [28]. Установлено также, что нейроны гипоталамуса плодов крысы в первичной культуре образуют АА из этанола в концентрации 8-24 мМ. Причём ингибитор каталазы – аминотриазол – угнетает образование АА из этанола [25]. Кроме того, окисление этанола было показано в первичной культуре астроцитов из полушарий мозга 1-2-дневных крыс [21].

Первые доказательства возможности окисления этанола гомогенатами мозга с образованием АА и участия каталазы в этом процессе были получены чилийскими учёными у крыс [27]. Однако эти исследования носили предварительный характер и были выполнены на неперфузированном мозге, где присутствовала кровь, активность каталазы в которой на два порядка выше, чем в ткани мозга. Не было исключено и артефактное образование ацетальдегида из этанола. В начале 1990-х в двух разных лабораториях (в Канаде и США) была прямо подтверждена возможность медленного, но достоверного окисления этанола и образования АА в гомогенатах перфузированного мозга крысы [18, 22].

В наших собственных исследованиях была подтверждена способность гомогенатов мозга лабораторных крыс и мышей окислять этанол с образованием и накоплением АА; при этом удалось зарегистрировать накопление АА даже при очень низких концентрациях этанола (1 мМ). Этот уровень этанола в мозге появляется уже при минимальном потреблении этанола крысами. Накопление АА в гомогенатах мозга возрастало более чем в 10 раз при увеличении концентрации этанола до 50 мМ (этот уровень этанола обычно определяется в мозге при введении животным наркотической дозы этанола). Установлены кинетика и региональное распределение этого процесса в мозге крысы. Этанолокисляющая способность мозга значительно варьирует в разных его отделах: полушария мозга < стриатум < ствол < гипоталамус < мозжечок. Показано, что АА, определяемый в гомогенатах мозга, это лишь малая часть (2-3%) АА, образовавшегося из этанола, поскольку он быстро окисляется с помощью альдегиддегидрогеназы [34].

Ферментативные механизмы окисления этанола в мозге

До последнего времени считалась, что единственным ферментом, катализирующим окисление этанола в мозге, является каталаза, а участие других потенциальных этанолокисляющих ферментов, присутствующих в мозге (АДГ и цитохрома P450 2E1), отрицалось [18, 22]. В опытах с использованием ингибиторов всех потенциальных этанолокисляющих ферментов мозга и животных с генетической недостаточностью этих ферментов показана важная роль цитохрома P450 2E1 в окислении этанола в мозге крыс и мышей. Обобщая результаты многих экспериментов, можно полагать, что в гомогенатах мозга около 60% наблюдаемого ферментативного окисления этанола происходит за счёт каталазы и около 20% – цитохрома P450 2E1 [37]. Установлено также, что наибольшей этанолокисляющей активностью среди субклеточных фракций мозга крысы обладают микросомы и пероксисомы. Это также подтверждает роль каталазы, находящейся в пероксисомах, и цитохрома P450 2E1, находящегося в микросомах, в окислении этанола в мозге [37].

Окисление этанола в живом мозге

Все упомянутые выше исследования окисления этанола в мозге проведены *in vitro*: в культурах нервных и глиальных клеток или в гомогенатах мозга. Полученные результаты лишь предполагают, но не доказывают возможность существования этого процесса в живом мозге.

Недавно нами разработан новый методический подход для изучения метаболизма этанола в живом мозге [12]. Под общим наркозом (калепсол, 100 мг/кг, в/б) лабораторных крыс помещают в стереотаксический аппарат, через отверстие в черепе в боковой желудочек мозга с помощью шприца и микроасоса с постоянной скоростью вводят

раствор этанола нужной концентрации. В пробах перфузата, получаемого из большой цистерны мозга газохроматографически определяют убыль этанола и наработку его метаболита, АА [12]. Результаты исследования показали, что при прохождении через желудочковую систему мозга крысы, при различных скоростях перфузии и концентрациях этанола в перфузионном растворе, окисляется 5-90% вводимого этанола; при этом в перфузате накапливается 10-70 μM ацетальдегида. Ингибиторы алкогольоксилирующих ферментов мозга угнетают убыль этанола и накопление АА в перфузате. Полученные данные являются первым прямым доказательством возможности прижизненного окисления экзогенного этанола в мозге, а значит, и подтверждают саму возможность участия АА в центральных эффектах этанола и патогенезе алкоголизма.

Гетерогенность топографического распределения в мозге этанолюксилирующих ферментов. Окислительная теория структуроспецифического действия алкоголя в мозге

В наших гистохимических исследованиях детально изучено региональное и клеточное распределение активности альдегиддегидрогеназы в мозге крысы и человека [5, 6, 14, 30]. Данный фермент ограничивает проникновение периферического АА в мозг, а также, в значительной степени, определяет локальные концентрации АА, образующиеся из этанола непосредственно в мозге. Поэтому его активность тесно связана с влечением и устойчивостью животных к этанолу [3, 9, 10, 29, 31], а также нейротоксичностью алкоголя [7].

Наши гистохимические исследования выявили также высокую гетерогенность распределения в мозге каталазы и повышенную её активность в физиологически важных структурах мозга, таких как аминергические нейроны, где уровень продукции АА может быть значительно больше и накопление АА может быть биологически значимым из-за низкой активности АльДГ, окисляющей АА [33]. То есть, аминергические нейроны мозга обладают неэффективной системой удаления АА, который в повышенных количествах образуется в них каталазой из этанола. Это может приводить к локальному накоплению АА после введения этанола, активации аминергических нейронов мозга и соответствующим нарушениям поведения [33].

Сравнительный топографический анализ регионального и клеточного распределения активности этанол и ацетальдегидоксилирующих ферментов мозга и сопоставление его с известной неодинаковой чувствительностью разных структур мозга к алкоголю, позволил сформулировать окислительную теорию структуроспецифического действия этанола в мозге. Она заключается в том, что избирательное действие алкоголя обусловлено неодинаковой способностью клеток мозга окислять экзогенный этанол и его первый, высокоактивный ме-

таболит АА. При этом фермент каталаза в клетках мозга обеспечивает локальное образование АА из этанола, а альдегиддегидрогеназа – локальное окисление (элиминацию) АА. Гетерогенность топографического распределения и нарушение баланса этих ферментов приводит как к повышенному накоплению АА в одних структурах мозга, нарушению их функции, повреждению и гибели, так и к локальной недостаточности АА в других, инициирующей влечение животных к алкоголю как метаболическому предшественнику АА.

Связь окисления этанола в мозге с устойчивостью животных к алкоголю

Известно, что алкоголь в средних и больших дозах (>3г/кг) вызывает у животных сон, продолжительность которого зависит от их индивидуальных особенностей. Мы предположили, что чувствительность к этому действию этанола может зависеть и от особенностей окисления этанола в их мозге. В многочисленных экспериментах, проведённых на беспородных, гетерогенных и линейных крысах и мышах с различной устойчивостью к наркотическому действию этанола установлено, что накопление АА, образовавшегося из экзогенного этанола в гомогенатах мозга долгоспящих животных, было значительно выше, чем у короткоспящих. Установлена достоверная положительная корреляция между продолжительностью этанол-индуцированного сна и накоплением образовавшегося из этанола АА *in vitro* в мозге этих животных. Особенно убедительным доказательством существования этой закономерности было обнаружение положительной корреляции между врождённой продолжительностью этанол-индуцированного сна и накоплением АА в мозге у мышей 16 рекомбинантных SS x LS линий с известной продолжительностью алкоголь-индуцированного сна [35, 36]. В этих исследованиях впервые прямо подтверждено участие АА мозга в центральных эффектах этанола и регуляции связанного с алкоголем поведения животных.

Все затронутые выше вопросы подробно освещены в нашей монографии [2].

Литература

- 1 Божко Г.Х. Роль ацетальдегида в механизмах действия этанола // Успехи физиологических наук. – 1990. – Т.21, №3. – С. 98-116.
- 2 Зиматкин С.М. Окисление алкоголя в мозге. – Гродно, ГрГМУ, 2006. – 200 с.
- 3 Зиматкин С.М. Альдегиддегидрогеназная система мозга: связь с устойчивостью и влечением к алкоголю // Успехи совр. биол. – 1991. – Т. 52, №5. – С. 654-666.
- 4 Зиматкин С.М. Метаболизм этанола в мозге // - Нейрохимия. – 1995. – Т.12, №1. – С.19-26.
- 5 Зиматкин С.М., Островский Ю.М., Сатановская В.И. Гистохимический метод определения активности альдегиддегидрогеназы в центральной нервной системе // Доклады АН БССР. – 1985. - № 5. – С. 466-469.
- 6 Зиматкин С.М. Активность альдегиддегидрогеназы в нейронных структурах мозга крысы // Арх. анат., гистол. и эмбриол. - 1989. - № 1. – С. 35-40.
- 7 Зиматкин С.М. Структурные изменения в коре мозга крыс, вызываемые алкоголем в сочетании с ингибиторами альдегидде-

- гидрогеназы // Арх. анат., гистол. и эмбриол. - 1989. - № 10. - С. 13-20.
- 8 Зиматкин С.М. Альдегиды и функции мозга // Эксп. и клин. фармакология. - 1993. - Т. 56, № 2. - С. 69-71.
- 9 Зиматкин С.М., Линдрос К.О. Альдегиддегидрогеназа мозга линейных крыс, различающихся отношением к алкоголю // Нейрохимия. - 1988. - № 4. - С. 607-610.
- 10 Зиматкин С.М. и Линдрос К.О. Особенности альдегидокисляющей системы мозга крыс, различающихся устойчивостью к алкоголю // Вопросы наркологии. - 1990. - № 3. - С. 20-23.
- 11 Зиматкин С.М., Островский Ю.М. Активность альдегиддегидрогеназы в барьерных структурах мозга // Булл. эксп. биол. и мед. - 1988. - № 9. - С. 183-184.
- 12 Зиматкин С.М., Бубен А.Л. Метод исследования окисления этанола в живом мозге // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2006. - № 9. - С. 357-360.
- 13 Козловский А.В., Разводовский Ю.Е., Лелевич В.В., Зиматкин С.М. Алкогольная ситуация в Беларуси и ее регионах // Медицинские новости. - 2000. - № 1. - С.21-24.
- 14 Мотавкин П.А., Охотин В.Е., Коновко О.О., Зиматкин С.М. Локализация алкоголь- и альдегиддегидрогеназы в спинном и головном мозге человека // Арх. анат., гистол. и эмбриол. - 1988. - № 4. - С. 32-38.
- 15 Островский Ю.М., Садовник М.Н. Пути метаболизма этанола и их роль в развитии алкоголизма // Токсикология, ВИНТИ. - 1984. - С. 93-150.
- 16 Островский Ю.М., Сатановская В.И., Садовник М.Н. Биологический компонент в генезисе алкоголизма. - М.: Наука и Техника. - 1986.
- 17 Разводовский Ю.Е., Козловский А.В., Лелевич В.В., Максимчук В.П. Эпидемиология алкоголизма в Беларуси в период с 1991 по 2001 г. // Здравоохранение. - 2005. - № 1. - С. 26-28.
- 18 Aragon C.M., Rogan F. and Amit Z. Ethanol metabolism in rat brain homogenates by a catalase-H₂O₂ system // Biochem Pharmacol. - 1992. - Vol. 44. - P. 93-98.
- 19 Cohen G, Sinet P.M. and Heikkila R. Ethanol oxidation by rat brain in vivo // Alcohol Clin Exp Res. - 1980. - № 4. - P. 366-370.
- 20 Deitrich R.A. Acetaldehyde: deja vu du jour // J Stud Alcohol. - 2004. - Vol. 65. - P. 557-572.
- 21 Eysseric H, Gonthier B, Soubeyran A, Bessard G, Saxod R and Barret L. Characterization of the production of acetaldehyde by astrocytes in culture after ethanol exposure // Alcohol Clin Exp Res. - 1997. - Vol. 21. - P. 1018-1023.
- 22 Gill K., Menez J.F., Lucas D. and Deitrich R.A. Enzymatic production of acetaldehyde from ethanol in rat brain tissue // Alcohol Clin Exp Res. - 1992. - Vol. 16. - P. 910-915.
- 23 Quertemont E, Tambour S. and Tirelli E. The role of acetaldehyde in the neurobehavioral effects of ethanol: a comprehensive review of animal studies // Prog Neurobiol. - 2005. - Vol. 75. - P. 247-274.
- 24 Quertemont E., Eriksson C.J.P., Zimatkin S.M., Pronko P.S., Diana M., Pisano M., Rodd Z.A., Bell R.R., Ward R.J. Is Ethanol a Pro-Drug? Acetaldehyde Contribution to Brain Ethanol Effects // Alcoholism: Clinical and Experimental Research. - 2005. - Vol.29, № 8. - P. 1514-1521.
- 25 Reddy B.V., Boyadjieva N. and Sarkar D.K. Effect of ethanol, propanol, butanol, and catalase enzyme blockers on beta-endorphin secretion from primary cultures of hypothalamic neurons: evidence for a mediatory role of acetaldehyde in ethanol stimulation of beta-endorphin release // Alcohol Clin Exp Res. - 1995. - № 19. - P. 339-344.
- 26 Smith B.R., Aragon C.G. and Amit Z. Catalase and production of brain acetaldehyde: a possible mediator of the psychopharmacological effects of ethanol // Addiction Biology. - 1997. - Vol. 2. - P. 277-289.
- 27 Tampier L. and Mardones J. Catalase mediated oxidation of ethanol by rat brain homogenates // IRCS Med Sci. - 1979. - Vol. 7. - P. 389.
- 28 Wickramasinghe S.N. Neuroglial and neuroblastoma cell lines are capable of metabolizing ethanol via an alcohol-dehydrogenase-independent pathway // Alcohol Clin Exp Res. - 1987. - Vol. 11. - P. 234-237.
- 29 Zimatkin S. and Lindros K.O. A histochemical study of the distribution of aldehyde dehydrogenase activity in brain structures of rats with genetically different alcohol-related behaviour // Alcohol. - 1989. - № 6. - P. 321-325.
- 30 Zimatkin S.M. Histochemical study of aldehyde dehydrogenase in the rat CNS // J Neurochem. - 1991. - Vol. 56. - P. 1-11.
- 31 Zimatkin S.M. and Deitrich R.A. Aldehyde dehydrogenase activities in the brains of rats and mice genetically selected for different sensitivity to alcohol // Alcohol Clin Exp Res. - 1995. - Vol. 19. - P. 1300-1306.
- 32 Zimatkin S. M. and Deitrich R. A. Ethanol metabolism in brain // Addiction Biology. - 1997. - № 2. - P. 387-399.
- 33 Zimatkin S.M. and Lindros K.O. Distribution of catalase in rat brain: aminergic neurons as possible targets for ethanol effects // Alcohol Alcohol. - 1996. - Vol. 31. - P. 167-174.
- 34 Zimatkin S.M., Liopo A.V. and Deitrich R.A. Distribution and kinetics of ethanol metabolism in rat brain // Alcohol Clin Exp Res. - 1998. - Vol. 22. - P. 1623-1627.
- 35 Zimatkin S.M., Liopo A.V., Satanovskaya V.I., Bardina And LR and Deitrich R.A. Relationship of brain ethanol metabolism to the hypnotic effect of ethanol. II: Studies in selectively bred rats and mice // Alcohol Clin Exp Res. - 2001. - Vol. 25. - P. 982-988.
- 36 Zimatkin S.M., Liopo A.V., Slychenkov V.S. and Deitrich R.A. Relationship of brain ethanol metabolism to the hypnotic effect of ethanol. I: Studies in outbred animals // Alcohol Clin Exp Res. - 2001. - Vol. 25. - P. 976-981.
- 37 Zimatkin S.M., Pronko S.P., Vasilou V., Gonzaies F.J., Deitrich R.A. Enzymatic mechanisms of ethanol oxidation in the brain // Alcoholism: Clinical and Experimental Research. - 2006, № 9. - Vol.30. - P. 1500-1505.

Поступила 05.06.07