



П. С. Пронько

РОЛЬ АЦЕТАЛЬДЕГИДА

**В МЕХАНИЗМАХ
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ,
ТОЛЕРАНТНОСТИ
И ВЛЕЧЕНИЯ
К АЛКОГОЛЮ**

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Институт биохимии
биологически активных соединений

П. С. Пронько

РОЛЬ АЦЕТАЛЬДЕГИДА

**В МЕХАНИЗМАХ
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ,
ТОЛЕРАНТНОСТИ
И ВЛЕЧЕНИЯ
К АЛКОГОЛЮ**

Минск
«Беларуская навука»
2016

Пронько, П. С. Роль ацетальдегида в механизмах чувствительности, толерантности и влечения к алкоголю / П. С. Пронько. – Минск: Беларуская навука, 2016. – 281 с. – ISBN 978-985-08-1988-8.

В монографии проведен анализ роли наиболее токсичного метаболита этанола – ацетальдегида в патогенезе развития зависимости от алкоголя и механизмов органотоксичности этанола. Доказано участие систем метаболизма этанола и ацетальдегида в проявлении фенотипов высокого и низкого потребления этанола и различной врожденной чувствительности грызунов к острым эффектам этанола, значение ацетальдегида в формировании толерантности и метаболической адаптации организма к алкогольной интоксикации. Показано, что окисление этанола в слизистой оболочке толстого кишечника и прямой кишки приводит к накоплению ацетальдегида, кишечная микрофлора участвует в окислении этанола и локальной продукции ацетальдегида в просвете толстого кишечника, что приводит к повреждению слизистой и развитию компенсаторной гиперрегенерации. Описано использование новых методов диагностики злоупотребления алкоголем.

Монография предназначена для научных сотрудников, студентов, аспирантов, врачей, специалистов, работающих в области биохимии и наркологии.

Табл. 74. Ил. 32. Библиогр.: 563 назв.

Рецензенты:

доктор биологических наук, профессор В. У. Буко
доктор биологических наук, профессор С. М. Зиматкин

ISBN 978-985-08-1988-8

© Пронько П. С., 2016

© Оформление. РУП «Издательский дом «Беларуская навука», 2016

*Посвящается 90-летию со дня рождения
академика Юрия Михайловича Островского*

ПРЕДИСЛОВИЕ

Злоупотребление алкоголем – один из ведущих рисков для здоровья человечества. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ, 2010), алкоголь является причиной более чем 60 типов болезней и травм, приводящих к смерти приблизительно 2,5 млн человек каждый год, что составляет 4 % умерших во всем мире. Это количество превышает число людей, умерших от ВИЧ/СПИД или туберкулеза. Злоупотребление алкоголем является особенно фатальным для более молодых возрастных групп, поскольку алкоголь – это ведущий фактор риска смерти для мужчин в возрасте 15–39 лет. В зависимости от уровня и характера потребления алкоголя выделяют три основных механизма, прямо приводящих к болезням и травмам. Они включают токсические, метаболические и другие эффекты алкоголя на органы и ткани, состояние опьянения и зависимость от алкоголя.

В Европе средний уровень потребления алкоголя более чем в два раза превышает глобальные средние величины, в 2009 г. он составил в Европейском союзе 12,5 л абсолютного алкоголя, включая 1,6 л неучтенного потребления. Европейское Медицинское Агентство сообщило, что в Европейском союзе в 2009 г. 15 % мужчин выпивали более 60 г чистого алкоголя, что относит их в группу с высоким или очень высоким риском для здоровья, и 7,7 % женщин были на этом же уровне риска, употребляя более 40 г алкоголя в день.

В Республике Беларусь сохраняется высокий уровень продаж алкоголя на душу населения (12,3 л), на диспансерном учете

находится около 180 тыс. больных алкоголизмом по статистическим данным 2013 года. Алкоголь играет важную роль в смертности населения от внешних причин. Смертность от травм и отравлений алкоголем вышла на 3-е место после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. В некоторых европейских странах смертность от цирроза печени находится на 4-м месте, в США на 8-м, а злоупотребление алкоголем – наиболее частая его причина. От 20 до 40 % больных в общеклинических стационарах госпитализируются в связи с последствиями злоупотребления алкоголем.

К сожалению, за последние 50 лет только три препарата для лечения зависимости от алкоголя были разрешены к применению и достаточно широко использовались в наркологической клинике. Это – ингибитор альдегиддегидрогеназы дисульфидам, акампросат – функциональный антагонист глутамата и налтрексон – антагонист опиоидов. Налтрексон в таблетках и форме для инъекций оказывал положительное действие при лечении алкогольной зависимости, но размер эффекта был небольшим. Акампросат проявил умеренную эффективность при лечении алкогольной зависимости только в европейских исследованиях, в США испытания препарата не были успешными.

В начале 70-х годов в США и Европе были начаты биомедицинские исследования алкоголизма, направленные на изучение метаболических эффектов алкогольной интоксикации, патогенеза зависимости от алкоголя, алкогольных поражений органов. Эти цели достигаются в результате разработки и изучения экспериментальных моделей на животных, поиска биохимических маркеров для оценки уровня потребления алкоголя, выявления биохимических и генетических маркеров предрасположенности к алкогольной зависимости и алкогольному поражению органов, разработки новых методов лечения. Разработка экспериментальных моделей на животных, моделирующих различные аспекты поведения, направленного на поиск алкоголя и элементов алкогольной зависимости, оказалась успешной. К ним относятся предпочтение этанола – базисное потребление, селективное разведение крыс с высоким добровольным потреблением алкоголя

(линии AA – Финляндия, Р, NAD – США, sP – Италия, UChB – Чили), потребление, индуцированное зависимостью, алкоголь депривационный эффект, когда доступ к алкоголю сменяется вынужденной абстиненцией, возобновление потребления при действии факторов, которые усиливают влечение к алкоголю или вызывают срыв. Использование моделей на животных позволило доказать, что в процессы развития и поддержания зависимости от алкоголя вовлечены нейротрансмиттеры, которые модулируют системы подкрепления, награды, мотивации и те, которые приводят к развитию алкогольной абстиненции. Эти нейротрансмиттеры включают гамма-аминомасляную кислоту, глутамат, эндогенные опиоиды, серотонин, дофамин, норадреналин. Экспериментальные исследования, выполненные в последние годы, выявили новые мишени для фармакологических воздействий, это: каннабиноидный CB1 рецептор, рецепторы, модулирующие глутаматэргическую передачу, рецепторы связанных со стрессом нейропептидов.

Научно-исследовательские учреждения также играют ключевую роль в глобальной стратегии ВОЗ сокращения вредного употребления алкоголя, обеспечивая дополнительные фактические данные для практических действий и распространяя их среди работников здравоохранения и среди населения в целом. Сотрудничающие центры ВОЗ играют важную роль в поддержке реализации и оценки глобальной стратегии.

В Отделе регуляции обмена веществ АН БССР по инициативе академика Ю. М. Островского с 1973 года были начаты исследования в области биохимии алкоголизма, которые были продолжены в Институте биохимии НАН Беларуси. Пионерский подход Ю. М. Островского заключался в том, что, когда начиналось изучение биомедицинских (биологических) аспектов этой проблемы в Институте, алкоголизм считался социальным заболеванием, не имеющим биологической основы. Под руководством Ю. М. Островского изучались особенности обмена веществ, которые предрасполагают к употреблению алкоголя, лежат в основе различной чувствительности к его эффектам, метаболические последствия употребления этанола, новые методы коррекции

нарушений метаболизма и лечения алкогольной патологии. Академиком Ю. М. Островским была обоснована оригинальная концепция о решающей роли особенностей обмена двууглеродных соединений в формировании алкогольной мотивации.

В настоящее время проблемы алкоголизма продолжают изучаться в Институте биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, они направлены на выяснение молекулярных механизмов патогенеза развития зависимости от алкоголя и механизмов органотоксичности этанола, разработку новых методов профилактики и лечения зависимости от алкоголя. С использованием экспериментальных моделей изучаются патогенетические механизмы возникновения алкогольных стеатогепатитов, а также развития фиброгенеза и фибролиза в печени животных. Ведется поиск и разработка новых биохимических маркеров алкоголизма и злоупотребления алкоголем. Данная монография отражает результаты одного из направлений исследований, проводимых в Институте.

Автор глубоко признателен академику Ю. М. Островскому за помощь в выборе направления исследований и доктору биологических наук, профессору В. В. Лелевичу за консультации по трактовке результатов и при оформлении ряда публикаций, сердечно благодарит коллег биохимиков, кандидатов биологических наук Л. Р. Бардину, В. И. Сатановскую, Т. И. Хомич, А. Б. Кузьмич за плодотворное участие в экспериментах и обсуждение результатов, которые легли в основу данной книги, а также доктора биологических наук, профессора, специалиста в области гистологии и наркологии С. М. Зиматкина за сотрудничество при выполнении некоторых экспериментов и высококвалифицированную помощь.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в большинстве стран мира этанол является наиболее часто употребляемым фармакологически активным соединением, влияющим на настроение и поведение, вызывающим физическую зависимость. Злоупотребление алкоголем является существенным фактором глобального бремени болезней и третьим ведущим фактором риска, вызывающим преждевременные случаи смерти и инвалидности в мире. По данным ВОЗ, в 2004 г. на употребление алкоголя с вредными последствиями пришлось 3,8 % всех случаев смерти в мире и 4,5 % глобального бремени болезней, измеряемого в количестве утраченных лет жизни с поправкой на инвалидность. Выяснение механизмов действия этанола на организм и патогенеза алкогольной зависимости остается актуальной медико-биологической проблемой в связи с неэффективностью лечения, многочисленными отрицательными медицинскими, социальными и экономическими последствиями, которые порождает злоупотребление алкоголем [4, 34, 386].

Окисление этанола в организме сопровождается патологическими изменениями в обмене углеводов, липидов, нуклеиновых кислот, белков, нейромедиаторов и гормонов, активацией свободнорадикальных процессов в тканях, которые приводят к нарушению функции и поражению органов и систем [36, 66, 109, 173, 347, 349]. С действием наиболее токсичного метаболита этанола – ацетальдегида, также связывают развитие метаболических, фармакологических и поведенческих эффектов алкогольной интоксикации [227, 274]. Ацетальдегид образует аддукты с белками, нуклеиновыми кислотами, вмешивается в энергети-

ческий обмен, нарушает функционирование клеток. Ему отводят важную роль в патогенезе алкогольного поражения органов, в частности, печени и мозга [169, 235, 274, 347, 349]. Однако биохимические механизмы действия ацетальдегида до настоящего времени окончательно не установлены. Методические затруднения при определении уровня ацетальдегида в присутствии этанола преодолены только в последние годы, поэтому возникает необходимость пересмотра полученных ранее данных о концентрациях ацетальдегида в крови и тканях при алкогольной интоксикации [226, 227].

Метаболизм этанола осуществляется преимущественно в печени, но в последнее десятилетие установлено, что окисление этанола может происходить и в желудочно-кишечном тракте. Возможность локального образования ацетальдегида в слизистой оболочке этих органов ставит вопрос о его роли в механизмах органотоксичности этанола и участии в процессах канцерогенеза, поскольку рак пищевода и прямой кишки значительно чаще встречается у алкоголиков [153, 348, 468].

Продemonстрировано, что модели добровольного потребления (предпочтения) этанола на животных являются информативными при изучении механизмов поведения, направленного на поиск и потребление алкоголя, и алкоголизма у людей [5, 17, 48, 248, 340]. Ацетальдегид, образовавшийся в печени при окислении этанола, играет важную роль в регуляции его потребления у человека и экспериментальных животных [128, 227, 308, 340]. Однако непосредственные механизмы аверсивного действия ацетальдегида до настоящего времени не раскрыты [227, 340].

В связи с тем, что выдвинута гипотеза [66] о важной роли эндогенных этанола и ацетальдегида в регуляции добровольного потребления алкоголя у экспериментальных животных [66], представляется актуальным изучение путей образования и элиминации этих соединений в организме и их взаимосвязи со злоупотреблением алкоголя у людей.

Изначальная чувствительность к эффектам острой алкогольной интоксикации может определять у человека и экспериментальных животных развитие толерантности к действию этанола,

уровень его потребления и выраженность алкогольной патологии при длительном злоупотреблении [17, 340, 473]. Экспериментальной моделью для изучения механизмов индивидуальной чувствительности организма к алкоголю являются животные, отличающиеся по продолжительности этанол-индуцированного сна [16, 201]. В развитии толерантности к эффектам этанола существенную роль играет индукция печеночных ферментов, окисляющих этанол (МЭОС, АДГ). Значение ацетальдегида в проявлении гипнотического действия этанола и в развитии толерантности к нему не выяснено.

Таким образом, выяснение роли ацетальдегида в механизмах действия этанола и адаптации организма к алкогольной интоксикации является актуальной научной проблемой. Изучение особенностей метаболизма этанола и ацетальдегида, активности соответствующих ферментных систем при формировании и развитии влечения к алкоголю, толерантности и абстиненции, а также диагностической эффективности использования активности этанолметаболизирующих систем в крови больных с алкогольной зависимостью расширит представления о механизмах патогенеза алкоголизма, будет способствовать оптимизации диагностики и лечения данной патологии.

МЕТАБОЛИЗМ ЭТАНОЛА И АЦЕТАЛЬДЕГИДА В ОРГАНИЗМЕ

1.1. Распределение, всасывание и элиминация этанола в организме

Этанол представляет собой вещество с полярными молекулами малого размера, растворимыми в воде и практически не растворимыми в жирах и маслах, как и вода, он может проходить через биологические мембраны. Равновесная концентрация алкоголя в ткани зависит от относительного содержания воды в ней. Этанол легко всасывается из желудочно-кишечного тракта. Двенадцатиперстная и тощая кишка являются основным местом абсорбции этанола, меньшую роль играет желудок, процесс осуществляется путем простой диффузии. С кровью этанол транспортируется в другие органы, включая печень, и распределяется в водной фазе тканей. Равновесие алкоголя в ткани зависит от концентрации воды, скорости кровотока и массы ткани. Он не связывается с белками плазмы крови [298, 528].

Анализ этанола в выдыхаемом воздухе для определения его концентрации в крови зависит от диффузии этанола из легочной артериальной крови в альвеолярный воздух. Пары этанола в выдыхаемом воздухе находятся в равновесии с этанолом, растворенном в крови, коэффициент соотношения кровь / выдыхаемый воздух составляет 2100 : 1. Однако в более позднем контролируемом исследовании величина среднего значения соотношения концентрация этанола в крови / концентрация этанола в выдыхаемом воздухе была 2448 ± 540 . Авторы делают вывод, что на основании кривых концентрация–время по концентрации алкоголя как в крови, так и в выдыхаемом воздухе можно делать заключения, если данные получены в постабсорбционной фазе кинетики этанола [298, 528].

Всасывание этанола в желудке и кишечнике зависит от многих факторов, а именно: концентрации этанола, скорости кровотока в месте абсорбции, типа алкогольного напитка, присутствия пищи, скорости опорожнения желудка, фазы менструального цикла, приема лекарств, которые действуют на желудочно-кишечный тракт. Присутствие пищи в желудке замедляет его опорожнение и будет уменьшать абсорбцию алкоголя. Пища, богатая жирами или углеводами и белками, одинаково эффективно замедляет опорожнение желудка. Потому основным фактором, влияющим на абсорбцию алкоголя, будет прием спиртного натощак или вместе с пищей [128, 295, 460, 487, 528]. При приеме напитков с концентрацией этанола больше 30 г/100 мл он может вызвать локальное воспаление, поверхностные эрозии, геморрагии [528]. В мозгу, легких, почках и печени равновесие достигается быстро, а в скелетных мышцах, которые снабжаются кровью хуже, медленнее [203, 528].

Концентрация этанола в крови приблизительно равна концентрации этанола в тканевой жидкости, что соответствует массе тела за вычетом жировой ткани, которая гораздо хуже обменивается водой с кровью [528]. Это может объяснить разницу в концентрации алкоголя в крови у представителей разных полов: у женщин обнаруживают более высокие концентрации этанола, чем у мужчин после введения той же дозы алкоголя на килограмм массы тела. Относительно большая доля жира в теле женщин является причиной более высокой концентрации этанола в тканевой жидкости [298].

Примерно 75–90 % принятого этанола выводится через печень путем окисления до двуокиси углерода и воды. У людей способность печени метаболизировать алкоголь оценена как 2 ммоль/мин [343, 526]. Из других органов этанол могут окислять почки, желудок, кишечник, легкие, сердце, мозг, клетки крови и скелетные мышцы, но их вклад незначителен по сравнению с печенью.

В нормальных условиях скорость метаболизма этанола у человека равна примерно 120–150 мг/кг массы за час. Скорость элиминации этанола из крови лежит в пределах 100–300 мг/л/час,

что эквивалентно 6–9 г абсолютного алкоголя в час для человека среднего веса. Эту величину считают стандартной порцией алкоголя, ВОЗ оценивает ее как 10 г алкоголя в час. Традиционно допускалось, что фармакокинетика этанола является процессом нулевого порядка, в соответствии с которым окисление алкоголя не зависит от принятого количества или от его концентрации в крови [391, 476, 537]. Тем не менее исследования фармакокинетике этанола, выполненные позже, показали, что она зависит от дозы и подчиняется закону Михаэлиса-Ментен. Поскольку K_M большинства изотимов АДГ для этанола является низкой (около 1 мМ), АДГ насыщена при низких концентрациях алкоголя, общий процесс элиминации осуществляется при максимальной скорости и не зависит от концентрации алкоголя. Однако линейность не наблюдается при низких концентрациях алкоголя, так как АДГ не насыщается этанолом. Элиминация этанола теперь следует кинетике Михаэлиса-Ментен, скорость зависит от концентрации алкоголя и кинетических констант K_M и V_{max} [240, 538, 540].

Скорость элиминации этанола существенно возрастает после хронического приема алкоголя [453, 490, 538], что, вероятно, связано с индукцией МЭОС. Половые стероидные гормоны существенно влияют на фармакокинетике этанола, женские половые гормоны, особенно эстрогены, снижают пик концентрации этанола у женщин [553, 554].

На скорость метаболизма этанола влияют как генетические факторы, так и окружающая среда. Исследования на близнецах показали, что индивидуальные различия в скорости элиминации этанола находятся под генетическим контролем. У однояйцевых близнецов отмечено очень большое сходство в скорости метаболизма этанола, в то время как у двуяйцевых близнецов вариабельность этого показателя была существенно выше [313, 370, 524].

Уже давно известно о существовании этнических различий в метаболизме алкоголя [231, 388]. В некоторых работах сообщается о более высоком уровне метаболизма этанола у китайцев и американских индейцев по сравнению с представителями белой

расы. Имеются данные и о том, что американские индейцы и эскимосы метаболизируют алкоголь медленнее, чем лица европейского происхождения, хотя в других исследованиях различий между ними не обнаружено [147]. Между белыми европейцами и людьми монголоидной расы различий в скорости элиминации этанола не обнаружено [128, 243]. Противоречивость таких исследований может объясняться не только генетическими отличиями, а различиями в массе тела, массе печени, содержании жира в тканях, особенностями диеты и уровнем употребления алкоголя у обследованных лиц [445].

Кривые элиминации этанола (алкоголеммы) у здоровых людей и лиц с алкогольной зависимостью характеризуются значительными индивидуальными различиями, с типом кривых у здоровых лиц коррелировали особенности опьянения, а у пациентов с алкогольной зависимостью – прогрессивность течения, наличие наследственной отягощенности, соматоневрологических расстройств и личностных девиаций [104].

1.1.1. Метаболизм этанола и ацетальдегида в печени

Известно, что печень играет главную роль в метаболизме этанола в организме человека и экспериментальных животных. Вклад печени в окисление этанола у здоровых лиц колеблется от 75 % до 90 % [128, 343, 526]. Поражение печени снижает скорость окисления этанола и его элиминацию из организма, при выраженном циррозе печени величина внепеченочного метаболизма может достигать 40 % [347]. Этанол является нутриентом и имеет калорийную ценность: 7 ккал/г (углеводы и белки продуцируют 4 ккал/г, а жиры дают 9 ккал/г). Алкоголь не запасается в организме и остается в тканевой воде до элиминации, в отличие от других метаболитов, которые могут запасаться и расходоваться по мере необходимости, как, например, углеводы (гликоген в печени и мышцах) и жиры (триглицериды в жировой ткани и печени). В то время как метаболизм основных нутриентов находится под контролем гормонов, таких как инсулин/глюкагон, лептин, катехоламины, гормоны щитовидной железы, име-

ется незначительная гормональная регуляция, влияющая на скорость элиминации этанола. В связи с этим в печени происходят значительные метаболические нарушения при окислении этанола во время его элиминации из организма. Важно отметить, что калории, происходящие из алкоголя, производятся в избытке по сравнению с нормальными нутриентами, поскольку алкоголь будет окисляться предпочтительно относительно других нутриентов [330, 347].

Существуют три ферментные системы, участвующие в окислении этанола в печени: цитозольная алкогольдегидрогеназа (АДГ), микросомальная этанол-окисляющая система (МЭОС), локализованная в микросомах, и каталаза, локализованная в пероксисомах, вклад двух последних является минорным. Все три пути метаболизма этанола приводят к образованию ацетальдегида в качестве первого продукта окисления этанола (рис. 1.1).

Второй этап метаболизма этанола катализируется ферментом альдегиддегидрогеназой (АльдГ). Ацетальдегид окисляется в печени, превращаясь в ацетат, преимущественно при участии митохондриальной АльДГ, NAD^+ является кофактором и восстанавливается до NADH . Эта реакция является необратимой. Значительная часть ацетальдегида, образованная при окислении этанола, окисляется в печени до ацетата, в связи с чем уровни

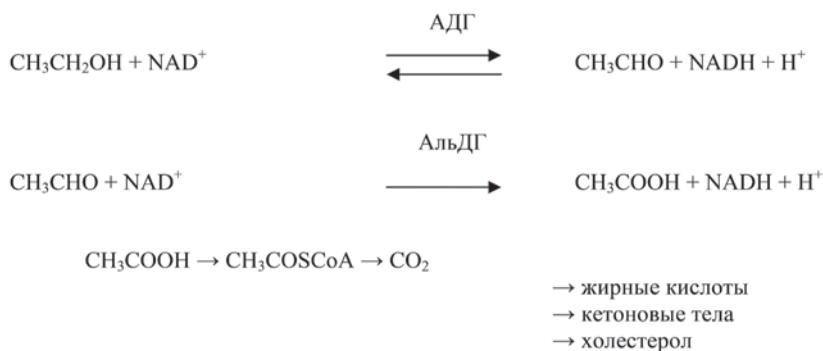


Рис. 1.1. Общая схема окисления этанола. Этанол окисляется последовательно алкогольдегидрогеназой и альдегиддегидрогеназой, в итоге образуется ацетил-коэнзим А, который превращается в CO_2 или в другие продукты в зависимости от состояния питания, гормонального или энергетического статуса

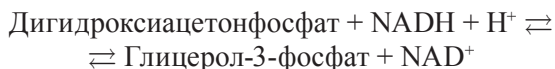
ацетальдегида в крови остаются низкими в нормальных условиях (см.: рис. 1.1).

На третьем этапе метаболизма этанола значительная часть ацетата покидает печень и доставляется в периферические ткани, где активируется до ключевого метаболита – ацетил-КоА. Таким образом, атомы углерода из алкоголя превращаются в те же самые продукты, которые образуются при окислении углеводов, жиров и белков, включая CO_2 , жирные кислоты, кетоновые тела и холестерол (см.: рис. 1.1).

Окисление этанола и ацетальдегида в реакциях, катализируемых АДГ и АльДГ2, восстанавливает NAD^+ в NADH , что приводит к уменьшению отношения NAD^+/NADH и существенно влияет на другие метаболические пути в печени, которые требуют NAD^+ или ингибируются NADH . Поскольку реакция АДГ осуществляется в цитозоле, цитозольное соотношение NAD^+/NADH будет снижено. Соотношение NAD^+/NADH отражает отношение пируват/лактат в связи с реакцией, катализируемой лактатдегидрогеназой, равновесие в которой смещается вправо:



Снижение соотношения NAD^+/NADH при окислении этанола сдвинет равновесие следующей реакции вправо:



Восстановление дигидроксиацетонфосфата, промежуточного метаболита гликолиза и глюконеогенеза, приводит к снижению скорости глюконеогенеза. Образование глицерол-3-фосфата повышает вероятность синтеза липидов в печени. Увеличение концентрации NADH по сравнению с NAD^+ замедляет реакцию окисления лактата, что увеличивает соотношение лактат/пируват и еще больше снижает скорость глюконеогенеза. В крови возрастает концентрация лактата, это приводит к гиперлактацидемии и лактоацидозу [66].

В связи с тем, что альдегиддегидрогеназная реакция происходит преимущественно в митохондриях, митохондриальное соотношение NAD^+/NADH также будет снижено. Это приведет

к изменению соотношения бета-гидроксibuтират/ацетоацетат, так как изменится равновесие в бета-гидроксibuтиратдегидрогеназной реакции:



Снижение соотношения NAD^+/NADH ингибирует такие важные пути метаболизма и ферментативные реакции, как гликолиз, цикл трикарбоновых кислот, пируватдегидрогеназу, окисление жирных кислот и глюконеогенез. В период алкогольной интоксикации, несмотря на наличие большого количества ацетил-КоА, недостаток оксалоацетата снижает скорость образования цитрата. В этих условиях избыток ацетил-КоА идет на синтез кетонных тел, которые поступают в кровь. Повышение в крови концентрации лактата, ацетоуксусной кислоты и β -гидроксibuтирата служит причиной метаболического ацидоза при алкогольной интоксикации [66].

1.1.2. Роль алкогольдегидрогеназы печени в метаболизме этанола

Алкогольдегидрогеназа (алкоголь: NAD^+ оксидоредуктаза, КФ 1.1.1.1) является цинксодержащим ферментом, состоящим из двух субъединиц по 40 кДа каждая. Его функцией является окисление эндогенных спиртов, которые продуцируются микрофлорой кишечника, и окисление экзогенного этанола и других спиртов, потребляемых с пищей. Фермент окисляет также субстраты, участвующие в метаболизме стероидов и желчных кислот. АДГ найдена в наибольших количествах в печени, затем следуют желудочно-кишечный тракт, почки, слизистая носа, яички и матка.

АДГ печени является главным ферментом, окисляющим этанол в организме человека и экспериментальных животных, и фактором, лимитирующим скорость этого процесса *in vivo*. Этанол окисляется до ацетальдегида благодаря переносу водорода от субстрата к кофактору – никотинамидадениндинуклеотиду (NAD^+), превращая его в восстановленную форму, NADH :



АДГ имеет широкую субстратную специфичность и катализирует обратимое окисление первичных и вторичных спиртов в альдегиды и кетоны и необратимое восстановление альдегидов в соответствующие спирты и кислоты. Каталитический механизм реакции последовательный и упорядоченный. Коэнзим связывается с ферментом первым до субстрата. Общая скорость реакции с первичными спиртами и альдегидами при насыщающих концентрациях субстрата и кофермента лимитирована скоростью диссоциации связанного с ферментом кофермента [166, 305].

Очищенная из печени человека АДГ имеет большое сходство с ферментом из печени лошади и является димерным белком с молекулярной массой 80000 дальтон, состоит из субъединиц с молекулярной массой 40000 дальтон каждая [418, 419, 527]. Фермент содержит два атома цинка и один активный центр на субъединицу. Ингибирование хелатирующими агентами, такими как 1,10-фенантролин, бипиридин и ЭДТА, показывает, что цинк необходим для функционирования фермента. Пиразол и его аналоги полностью ингибируют АДГ, а изобутирамид является конкурентным ингибитором по отношению к альдегидным субстратам. К ингибиторам также относятся примаксин, производные 8-амино-6-метоксихинолина и тироксин.

Скорость окисления этанола в значительной степени определяется потоком, проходящим через алкогольдегидрогеназную реакцию. Вклад других путей, таких как МЭОС, функционирование которой связано с активностью ряда изоформ цитохрома P450, оценивается приблизительно как 10 % от общего метаболизма этанола [186].

Хорошо известно, что во время окисления этанола соотношение NADH/NAD^+ в цитоплазме печени значительно возрастает. В прошлые годы утверждалось: поскольку концентрация NADH растет, скорость реокисления этого кофермента должна быть лимитирующей скоростью этапом в окислении алкоголя, и делалось заключение, что общая активность АДГ в печени не влияет на скорость. Однако анализ изменения скорости окисления этанола и активности АДГ печени у животных, когда экс-

периментальные воздействия были направлены на факторы питания и гормональный фон, показывает важность общей активности АДГ в контроле скорости окисления этанола у крыс. Изменения активности АДГ печени хорошо коррелировали с изменениями скорости элиминации этанола, за исключением экспериментов с манипуляциями на уровне гормонов щитовидной железы [267]. Эксперименты с гормонами щитовидной железы, вероятно, выпадают из общего ряда в связи с тем, что изменения тиреоидного статуса влияют как на активность АДГ, так и на способность печени окислять NADH [186]. В целом, можно полагать, что некоторые различия в скорости окисления этанола между отдельными индивидами в человеческой популяции могут быть объяснены различиями в активности и кинетических свойствах изозимов АДГ.

В настоящее время клонировано семь генов АДГ человека [163, 204, 549]. Первые пять кодируют субъединицы α , β , γ , π , и χ соответственно. Все эти изоферменты экспрессируются в печени. Еще точно не установлено, экспрессируется ли активный фермент АДГ6. АДГ7 кодирует δ или μ субъединицы, которые экспрессируются в желудке и эпителиальных тканях. Печеночные изоферменты группируются в 3 класса в соответствии с их электрофоретическими, кинетическими, антигенными свойствами и аминокислотной последовательностью [267].

Класс I АДГ содержит три гена АДГ1, АДГ2 и АДГ3, которые кодируют субъединицы α (АДГ1А), β_1 , β_2 и β_3 (АДГ1В), γ_1 и γ_2 (АДГ1С). Существует полиморфизм по генному локусу АДГ2, который кодирует субъединицы β_1 , β_2 и β_3 , а также по АДГ3 – кодирующему субъединицы γ_1 и γ_2 [488, 489]. Эти различные аллоэнзимы экспрессируются с различной частотой у представителей различных рас [128, 163]. Гетеродимерные ферменты образуются в пределах класса I из трех типов субъединиц, но гетеродимеры из субъединиц, относящихся к разным классам, не образуются. Эти гомодимерные и гетеродимерные формы обнаруживаются главным образом в печени. За окисление этанола в организме отвечает преимущественно класс I АДГ.

В новой классификации гены АДГ были распределены в пять различных классов на основании структурных и кинетических характеристик и обозначены как АДГ1 – АДГ5. Гены АДГ человека, которые кодируют субъединицы полипептидов α , β_1 , β_2 , β_3 , γ_1 , γ_2 , π , χ и σ названы АДГ1А (АДГ1), АДГ1В*1 (АДГ2*1), АДГ1В*2 (АДГ2*2), АДГ1В*3 (АДГ 2*3), АДГ1С*1 (АДГ3*1), АДГ1С*2 (АДГ3*2), АДГ2 (АДГ4), АДГ3 (АДГ5) и АДГ4 (АДГ7), соответственно, в скобках указано старое название. АДГ5 (старое название АДГ6) кодирует полипептид, которому не присвоена греческая буква [204].

Класс II АДГ – ген АДГ4 кодирует π субъединицы, которые образуют $\pi\pi$ гомодимеры в печени и в меньшей степени в почках и легких. Высокая K_M для этанола делает этот фермент более важным для метаболизма высоких концентраций алкоголя [160].

Класс III АДГ – ген АДГ5 кодирует χ субъединицы, продуцирующие $\chi\chi$ гомодимеры. Эта изоформа имеет очень высокую K_M для алкоголя (> 2 М).

Класс IV АДГ – ген АДГ7 кодирует сигма субъединицы, которые очень эффективны в окислении ретинола в ретиналь. Данная форма присутствует в желудке.

Класс V АДГ – мРНК, продуцируемая геном АДГ6, присутствует в печени и желудке, но белок не был охарактеризован.

Кинетические свойства восьми гомодимерных изоформ классов I, II и III, которые экспрессируются в печени человека, существенно различаются [161, 215]. Изозимы класса I обычно имеют низкую K_M для этанола и ингибируются производными пиразола. Считается, что изоформы класса I играют наиболее существенную роль в окислении этанола [163].

Изозимы класса II имеют более высокую K_M для этанола и относительно нечувствительны к пиразолу [160]. Изозимы класса III имеют очень высокую K_M для этанола, фактически они не могут быть насыщены молярной концентрацией этанола. Изозимы этого класса проявляют значительно большую активность с длинноцепочечными и циклическими спиртами [408]. В связи с этим наибольший интерес представляют изозимы I и II классов. Величины K_{cat} для окисления этанола варьируют

ОГЛАВЛЕНИЕ

Условные обозначения	7
Введение	8
Глава 1. Метаболизм этанола и ацетальдегида в организме	11
1.1. Распределение, всасывание и элиминация этанола в организме ...	11
1.1.1. Метаболизм этанола и ацетальдегида в печени	14
1.1.2. Роль алкогольдегидрогеназы печени в метаболизме этанола	17
1.1.3. Микросомальная этанол-окисляющая система (МЭОС) ...	22
1.1.4. Каталаза	25
1.1.5. Синтетаза жирных кислот	26
1.1.6. Регуляция метаболизма этанола в организме	27
1.2. Метаболизм ацетальдегида в организме	29
1.2.1. Альдегиддегидрогеназа (АльДГ)	29
1.2.2. Альдегидоксидаза	34
1.2.3. Микросомальная система окисления ацетальдегида	34
1.3. Метаболизм этанола в желудочно-кишечном тракте	35
1.4. Значение метаболизма этанола в развитии влечения к алкоголю и аверсивных реакций организма на этанол	38
1.5. Эндогенный этанол у человека и животных	40
1.6. Диагностические тесты для выявления злоупотребления алкоголем и алкоголизма	44
1.6.1. Широко применяющиеся маркеры алкоголизма	45
1.6.2. Новейшие маркеры алкоголизма, значение которых исследуется	51
1.6.3. Новые биомаркеры употребления алкоголя – продукты неокислительного метаболизма этанола	56
Глава 2. Изучение физиологических источников эндогенного ацетальдегида, этанола и метанола в животном организме и путей их регуляции	59
2.1. Эндогенные спирты в крови здоровых людей и тканях крыс	59

2.1.1. Сравнение концентраций эндогенного этанола в крови здоровых людей и тканях крыс модифицированным нами методом	61
2.1.2. Влияние времени суток и уровня глюкокортикоидов в организме на концентрации эндогенного этанола в крови и тканях крыс	62
2.2. Оценка вклада кишечной микрофлоры в образование эндогенного этанола и метанола в организме	65
2.3. Роль ферментных систем, метаболизирующих спирты и альдегиды, в регуляции уровня эндогенных спиртов в организме животных	69
2.4. Физиологические источники эндогенного ацетальдегида в норме и при экспериментальном поражении печени у крыс	75
2.4.1. Влияние ингибиторов альдегиддегидрогеназы на концентрацию эндогенного ацетальдегида в крови крыс	78
2.4.2. Влияние хронической интоксикации четыреххлористым углеродом и введения пирувата, треонина и фосфоэтаноламина на обмен эндогенного ацетальдегида и этанола в крови и печени крыс	79
Глава 3. Взаимосвязь обмена ацетальдегида с метаболическими нарушениями при алкогольной интоксикации	88
3.1. Транспорт и распределение ацетальдегида между компонентами крови при острой алкогольной интоксикации у крыс	90
3.2. Влияние алкогольной интоксикации, ингибиторов альдегиддегидрогеназы и алкогольдегидрогеназы на обмен кетоновых тел в крови и печени крыс	97
3.3. Изучение влияния тетурамотерапии на уровни ацетона в крови и моче у больных алкоголизмом	104
3.4. Влияние сочетания алкогольной интоксикации и ингибитора альдегиддегидрогеназы цианамида на углеводный обмен в печени крыс	106
Глава 4. Роль систем метаболизма спиртов и альдегидов в желудочно-кишечном тракте в метаболизме этанола и механизмах его локальной органотоксичности	113
4.1. Распределение активности ферментов метаболизма спиртов и альдегидов в желудке и кишечнике	115
4.2. Оценка вклада желудочно-кишечного тракта в метаболизм этанола по параметрам фармакокинетики	117
4.3. Изучение влияния хронической алкогольной интоксикации на системы обмена спиртов и альдегидов в желудочно-кишечном тракте крыс	121
	279

4.4. Структурно-гистологический анализ изменений в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта при хроническом воздействии алкоголя	124
4.5. Изучение влияния хронической алкогольной интоксикации на локальные концентрации ацетальдегида в различных отделах желудочно-кишечного тракта и на способность микрофлоры толстого кишечника окислять этанол <i>in vitro</i>	129
4.6. Изучение влияния острой и хронической алкогольной интоксикации на показатели пероксидации липидов и системы антиоксидантной защиты в различных отделах желудочно-кишечного тракта	133
Глава 5. Роль ацетальдегида в механизмах чувствительности, толерантности и влечения к алкоголю	146
5.1. Особенности метаболизма этанола и ацетальдегида у крыс, различающихся по чувствительности к гипнотическому действию этанола	149
5.1.1 Изучение скорости элиминации этанола у крыс, отобранных по различной чувствительности к гипнотическому действию этанола	149
5.2. Влияние ингибиторов альдегиддегидрогеназы и алкогольдегидрогеназы на гипнотическое действие этанола у крыс	156
5.3. Влияние алкогольной интоксикации на развитие толерантности к этанолу и активность ферментов метаболизма спиртов и альдегидов у крыс с различной чувствительностью к гипнотическому действию этанола	158
5.4. Изучение влияния хронического введения ацетальдегида на толерантность к гипнотическому эффекту этанола	161
5.5. Особенности потребления и метаболизма этанола у крыс с портокавальным анастомозом	166
5.6. Особенности метаболизма этанола и N-ацетилирования у крыс, предпочитающих этанол или воду	172
5.6.1. Влияние хронической алкогольной интоксикации на концентрацию эндогенного этанола, фармакокинетику этанола и уровни ацетальдегида в крови у предпочитающих этанол или воду крыс	172
5.6.2. Влияние иммобилизационного стресса на уровень эндогенного этанола, 11-оксикортикостероидов в крови и активность АЛЬДГ печени у предпочитающих этанол или воду крыс	178
5.6.3. Активность N-ацетилтрансферазы печени у крыс, предпочитающих этанол или воду	182

5.6.4. Активность N-ацетилтрансферазы печени и показатели обмена этанола и ацетальдегида у крыс линии Алко-алкогольная, предпочитающих этанол, и линии Алко неалкогольная, отвергающих этанол	185
Глава 6. Оценка возможности использования для диагностики алкоголизма уровней эндогенного этанола, метанола, субстратов, связанных с метаболизмом этанола, активности ферментов обмена этанола и ацетальдегида в крови	195
6.1. Опыт оценки диагностического и прогностического значения эндогенного этанола крови у мужчин, больных алкоголизмом, и их родственников	197
6.1.1. Изучение эндогенного этанола в крови больных алкоголизмом	198
6.2. Изучение концентраций эндогенного этанола в крови у больных алкоголизмом женщин	205
6.3. Корреляция метаболитов, связанных с метаболизмом этанола, в крови у больных алкоголизмом с тяжестью симптомов алкогольного абстинентного синдрома	207
6.4. Изучение диагностической значимости определения активности алкогольдегидрогеназы и ее пиразолнечувствительной формы в сыворотке крови больных алкоголизмом	213
6.5. Диагностическая эффективность определения активности некоторых сывороточных ферментов у больных алкоголизмом	216
6.6. Влияние заболеваний печени на активности некоторых ферментов крови у больных алкоголизмом	220
6.7. Сравнение эффективности АДГ, ПН-АДГ, β -гексозаминидазы (β -ГА), углеводдефицитного трансферрина (УДТ) и анкет при диагностике злоупотребления алкоголем	226
Заключение	229
Summary	236
Литература	237

Научное издание

Пронько Павел Сергеевич
РОЛЬ АЦЕТАЛЬДЕГИДА В МЕХАНИЗМАХ
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ, ТОЛЕРАНТНОСТИ
И ВЛЕЧЕНИЯ К АЛКОГОЛЮ

Редактор *А. В. Волченко*
Художественный редактор *И. Т. Мохнач*
Технический редактор *О. А. Толстая*
Компьютерная вёрстка *О. Л. Смольской*

Подписано в печать 22.04.2016. Формат 60×84 $\frac{1}{16}$. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 16,39. Уч.-изд. л. 13,7. Тираж 100 экз. Заказ 84.

Издатель и полиграфическое исполнение:
Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская
навука». Свидетельство о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/18 от 02.08.2013.
Ул. Ф. Скорины, 40, 220141, г. Минск.