

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000199868





251

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΡΙΟΣ-ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΜΑΡΣΕΛΟΣ

ΝΕΥΡΟΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΗΠΑΤΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΤΗΣ
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΔΥΣΑΝΕΞΙΑΣ ΣΤΗΝ ΛΙΘΥΛΙΚΗ ΑΛΚΟΟΛΗ.
ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΤΗΣ ΚΑΛΟΥΜΕΝΗΣ
«ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΤΥΠΟΥ ΔΙΣΟΥΛΦΙΡΑΜΗΣ»

ΠΕΤΡΟΣ Ν. ΚΑΡΑΜΑΝΑΚΟΣ
ΙΑΤΡΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2004



«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμών του συγγραφέα Ν.5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού τμήματος)».



Ημερομηνία αιτήσεως: 12-11-1998

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 371α/22-12-1998

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

**Μάριος-Αθανάσιος Μαρσέλος, Καθηγητής Φαρμακολογίας, Επιβλέπων
Μιχάλης Μάλαμας, Επίκουρος Καθηγητής Φαρμακολογίας, Μέλος
Μαρία Κωνσταντή, Επίκουρη Καθηγήτρια Φαρμακολογίας, Μέλος**

Ημερομηνία ορισμού του θέματος: 23-12-1998

Ημερομηνία καταθέσεως της διδακτορικής διατριβής: 22-12-2004

Πρόεδρος της Ιατρικής Σχολής: Επαμεινώνδας Τσιάνος, Καθηγητής Παθολογίας

Μέλη Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

**Μάριος-Αθανάσιος Μαρσέλος, Καθηγητής Φαρμακολογίας
Αθανάσιος Κυρίτσης, Καθηγητής Νευρολογίας
Παναγιώτης Καναβάρος, Καθηγητής Ανατομίας-Ιστολογίας
Μιχάλης Μάλαμας, Αναπληρωτής Καθηγητής Φαρμακολογίας
Κωνσταντίνος Πολυζωίδης, Αναπληρωτής Καθηγητής Νευροχειρουργικής
Μαρία Κωνσταντή, Επίκουρη Καθηγήτρια Φαρμακολογίας
Περικλής Παππάς, Επίκουρος Καθηγητής Φαρμακολογίας**

Βαθμός: Άριστα

Η γραμματέας της Σχολής

Ε.Τσαγγαλά



Στοιχεία Συγγραφέα



Στη μνήμη του πατρός μου, Ιατρού Πέτρου Γ. Καραμανάκου



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φαρμακολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κατά το χρονικό διάστημα 1998-2004, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή κ. Μάριου Μαρσέλου.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου και τη βαθύτατη ευγνωμοσύνη μου στο Δάσκαλό μου Καθηγητή κ. Μάριο Μαρσέλο, τόσο για την ανάθεση σε μένα του θέματος της Διδακτορικής μου Διατριβής, όσο και για την συμπαράστασή του, σε επιστημονικό και προσωπικό επίπεδο, καθόλη την διάρκεια της πολυετούς αυτής μελέτης. Χωρίς τη φροντίδα και την ενθάρρυνση που προσέφερε η ακούραστη παρουσία του και χωρίς τις μεθοδικές ερευνητικές κατευθύνσεις του, θα ήταν αδύνατο να πραγματοποιηθεί η ερευνητική αυτή εργασία.

Στον Αναπληρωτή Καθηγητή Φαρμακολογίας κ. Μιχάλη Μάλαμα και στην Επίκουρη Καθηγήτρια Φαρμακολογίας κα. Μαρία Κωνσταντή, μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου για την επικοινωνιακή κριτική τους και τις χρήσιμες υποδείξεις τους κατά τη διάρκεια της μελέτης αυτής.

Ευχαριστώ επίσης τον Καθηγητή Νευρολογίας κ. Αθανάσιο Κυρίτη, τον Καθηγητή Ανατομίας-Ιστολογίας κ. Καναβάρο Παναγιώτη και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Νευροχειρουργικής κ. Κωνσταντίνο Πολυζωΐδη, μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής, για τις πολύτιμες παρατηρήσεις τους.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή Φαρμακολογίας και φίλο μου κ. Περικλή Παπιά, μέλος της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής, για την ουσιαστική βοήθεια που μου προσέφερε, τη συνεχή του συμπαράσταση και γενικότερα την άψογη καθημερινή συνεργασία που είχαμε κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της Διδακτορικής μου Διατριβής.

Θερμά ευχαριστώ επίσης τον Δρ. Παναγιώτη Στεφάνου, ο οποίος με βοήθησε στα πρώτα μου βήματα στη βασική έρευνα, εκπαιδεύοντάς με στις τεχνικές του Εργαστηρίου Φαρμακολογίας.

Θέλω επίσης να ευχαριστήσω:

- την κα. Ακυλίνα Μπαλωμένου και την κα. Όλγα Τσουμάνη, ΕΔΤΠ του Εργαστηρίου Φαρμακολογίας, για την εξαιρετική γραμματειακή και τεχνική υποστήριξη που μου προσέφεραν,
- τον κ. Αθανάσιο Βέρρο για τη βοήθειά του στην εξασφάλιση των πειραματοζώων αλλά και για τη γενικότερη σημαντική προσφορά του στο Εκτροφείο Πειραματοζώων της Ιατρικής Σχολής,
- τους υποψηφίους διδάκτορες κ. Δημήτριο Κωστάκη, κ. Παναγιώτη Χαρκίτη και κα. Μάρθα Νικολαΐδου, για τη βοήθεια και τη συνεργασία τους σε πολλά σημεία της εργασίας αυτής,



- την υποψήφια διδάκτορα κα. Μαριάνθη Σωτηροπούλου για τη βοήθεια και τη συνεχή συμπαράστασή της,
- τον Δρ. Χριστόφορο Θωμά για τη βοήθεια που μου παρείχε όποτε του ζητήθηκε, καθώς και για τη συμπαράστασή του.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στη σύντροφό μου Δήμητρα Τοσιλιάνη, για την κατανόηση που έδειξε, καθώς και για την ακούραστη συμπαράστασή της όλα αυτά τα χρόνια.

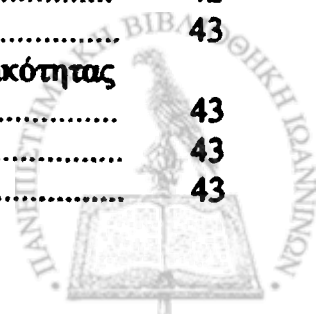
Ιωάννινα, Δεκέμβριος 2004

Πέτρος Ν. Καραμανάκος



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

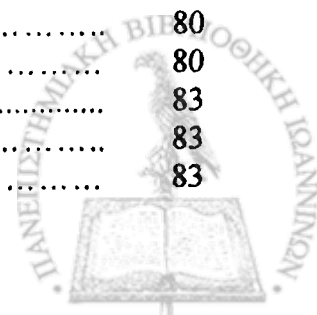
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1. Μεταβολισμός της Αιθυλικής Αλκοόλης.....	1
1.1 Αλκοολική Αφυδρογονάση (ADH).....	2
1.2 Μικροσωμιακό σύστημα οξείδωσης της αιθανόλης (MEOS).....	5
1.3 Καταλάση (CAT).....	7
1.4 Αλδεϋδική Αφυδρογονάση 2 (ALDH2).....	8
2. Αιθανόλη και Κ.Ν.Σ.....	12
2.1 Σεροτονίνη (5-HT).....	12
2.2 Ντοπαμίνη (DA).....	17
2.3 Νοραδρεναλίνη (NA).....	22
3. Δισουλφιράμη.....	26
3.1 Ενδείξεις.....	26
3.2 Μηχανισμός δράσης.....	26
3.3 Δοσολογία και τρόπος χορήγησης.....	32
3.4 Φαρμακοκινητική.....	32
3.5 Αντενδείξεις.....	33
3.6 Προφυλάξεις.....	33
3.7 Ανεπιθύμητες ενέργειες.....	34
3.8 Αλληλεπιδράσεις.....	34
3.9 Φαρμακευτικοί παράγοντες γνωστοί για την πρόκληση «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης».....	35
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	39
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	40
1. Χημικά-Αντιδραστήρια.....	40
2. Πειραματόζωα.....	40
3. Χορήγηση ουσιών.....	41
4. Επεξεργασία ιστών.....	42
4.1 Ήπαρ.....	42
4.1.1 Επεξεργασία ήπατος για τον προσδιορισμό της ενζυμικής δραστηριότητας της ADH, CYP2E1 και ALDH.....	42
4.1.2 Απομόνωση υποκυτταρικών κλασμάτων.....	43
4.1.3 Επεξεργασία ήπατος για τον προσδιορισμό της ενζυμικής δραστηριότητας της CAT.....	43
4.2 Εγκέφαλος.....	43
4.2.1 Απομόνωση περιοχών εγκεφάλου.....	43



4.2.2 Επεξεργασία των περιοχών του εγκεφάλου.....	44
5. Μέθοδοι μέτρησης ενζυμικών δραστηριοτήτων.....	44
5.1 Αλκοολική αφυδρογονάση (ADH).....	44
5.2 Μικροσωμιακό σύστημα οξειδωσης αιθανόλης (CYP2E1).....	44
5.3 Καταλάση (CAT).....	45
5.4 Αλδεϋδικές αφυδρογονάσεις.....	45
5.4.1 Αλδεϋδική αφυδρογονάση κυτταροπλάσματος (ALDH1A1).....	45
5.4.2 Αλδεϋδικές αφυδρογονάσεις μιτοχονδρίων (low και high-Km ALDH2)....	45
5.5 Προσδιορισμός πρωτεϊνών.....	46
6. Ανάλυση βιογενών αμινών.....	46
7. Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων.....	47

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ..... 48

1. ΔΙΣΟΥΛΦΙΡΑΜΗ (DIS).....	48
1.1 Ενζυμικές δραστηριότητες.....	48
1.2 Βιογενείς αμίνες.....	49
2. ΧΛΩΡΑΜΦΑΙΝΙΚΟΛΗ (CHL).....	53
2.1 Ενζυμικές δραστηριότητες.....	53
2.2 Βιογενείς αμίνες.....	54
3. ΜΕΤΡΟΝΙΔΑΖΟΛΗ (MET).....	56
3.1 Ενζυμικές δραστηριότητες.....	56
3.2 Βιογενείς αμίνες.....	56
4. ΚΟΤΡΙΜΟΞΑΖΟΛΗ (COT).....	59
4.1 Ενζυμικές δραστηριότητες.....	59
4.2 Βιογενείς αμίνες.....	60
5. ΚΕΦΑΜΑΝΔΟΛΗ (CEF).....	62
5.1 Ενζυμικές δραστηριότητες.....	62
5.2 Βιογενείς αμίνες.....	63
6. ΓΚΡΙΖΕΟΦΟΥΛΒΙΝΗ (GRIS).....	65
6.1 Ενζυμικές δραστηριότητες.....	65
6.2 Βιογενείς αμίνες.....	66
7. ΦΟΥΡΑΖΟΛΙΔΟΝΗ (FUR).....	68
7.1 Ενζυμικές δραστηριότητες.....	68
7.2 Βιογενείς αμίνες.....	68
8. ΚΙΝΑΚΡΙΝΗ (QUIN).....	71
8.1 Ενζυμικές δραστηριότητες.....	71
8.2 Βιογενείς αμίνες.....	71
9. ΙΣΟΝΙΑΖΙΔΗ (ISO).....	74
9.1 Ενζυμικές δραστηριότητες.....	74
9.2 Βιογενείς αμίνες.....	74
10. ΧΛΩΡΟΠΡΟΠΑΜΙΔΗ (CHLP).....	77
10.1 Ενζυμικές δραστηριότητες.....	77
10.2 Βιογενείς αμίνες.....	77
11. ΠΡΟΚΑΡΒΑΖΙΝΗ (PROC).....	80
11.1 Ενζυμικές δραστηριότητες.....	80
11.2 Βιογενείς αμίνες.....	80
12. ΠΡΟΠΡΑΝΟΛΟΛΗ (PROP).....	83
12.1 Ενζυμικές δραστηριότητες.....	83
12.2 Βιογενείς αμίνες.....	83



ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	86
1. Ηπατικές ALDHs.....	86
2. ADH, CYP2E1, CAT.....	89
3. Βιογενείς μονοαμίνες και Κ.Ν.Σ.....	91
3.1 Δισουλφιδάμη.....	92
3.2 Χλωραμφαινικόλη.....	94
3.3 Μετρονιδαζόλη.....	94
3.4 Κοτριμοξαζόλη.....	95
3.5 Κεφαμανδόλη.....	96
3.6 Γκριζεοφουλβίνη.....	97
3.7 Φουραζολιδόνη.....	97
3.8 Κινακρίνη.....	98
3.9 Ισονιαζίδη.....	99
3.10 Χλωροπροπαμίδη.....	100
3.11 Προκαρβαζίνη.....	101
3.12 Προπρανολόλη.....	102
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	103
ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ.....	106
Περίληψη στα Ελληνικά.....	106
Περίληψη στα Αγγλικά.....	109
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	111
ΠΙΝΑΚΕΣ.....	132
ΣΧΗΜΑΤΑ.....	134
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ.....	136



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Μεταβολισμός της Αιθυλικής Αλκοόλης

Το μεγαλύτερο ποσοστό της αιθανόλης που εισέρχεται στον οργανισμό (90-95%) μεταβολίζεται με οξείδωση προς διοξείδιο του άνθρακα και νερό. Το 75% δε του μεταβολισμού της, λαμβάνει χώρα στο ήπαρ, η μεταβολική ικανότητα του οποίου ανέρχεται στα 2 mmol αιθανόλης/min (Tygstrup et al., 1974). Επιπλέον, όργανα όπως οι νεφροί, το στομάχι, το λεπτό έντερο, οι πνεύμονες, η καρδιά, ο εγκέφαλος, τα κύτταρα του αίματος και οι σκελετικοί μύες, έχουν επίσης την ικανότητα να μεταβολίζουν την αιθανόλη (Agarwal & Goedde, 1990). Ο εξωηπατικός μεταβολισμός της αιθυλικής αλκοόλης στον άνθρωπο, έχει υπολογιστεί ότι ανέρχεται στα 0,4 mmol/min (Larsen, 1959).

Η αιθανόλη οξειδώνεται προς ακεταλδεύδη μέσω τριών κυρίως ενζυμικών συστημάτων:

- 1) Της αλκοολικής αφυδρογονάσης (ADH), η οποία και αποτελεί την κύρια οδό οξείδωσης του οινοπνεύματος.
- 2) Του μικροσωμιακού συστήματος οξείδωσης της αιθανόλης (MEOS), που αποτελεί τμήμα του κυτοχρώματος P-450 (CYP2E1), και
- 3) Της καταλάσης.

Η ακεταλδεύδη που προκύπτει, οξειδώνεται προς οξικό οξύ, μέσω κυρίως της μιτοχονδριακής αλδεϋδικής αφυδρογονάσης (ALDH2).

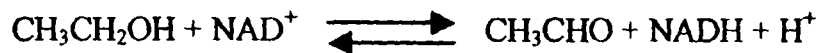
Ένα πολύ μικρό ποσοστό του οξικού οξέος που παράγεται, μπορεί να οξειδωθεί ενδοηπατικά προς CO_2 και H_2O ή να μεταβολιστεί προς ακέτυλο-συνένζυμο Α και εν συνεχεία προς αμινοξέα, λιπαρά οξέα, γλυκογόνο ή κετονικά σώματα. Ωστόσο, το μεγαλύτερο ποσοστό του οξικού οξέος, απελευθερώνεται στην κυκλοφορία και προσλαμβάνεται από τους ιστούς, όπου μετατρέπεται σε ακέτυλο-συνένζυμο Α, για να οξειδωθεί τελικά μέσω του κύκλου του Krebs προς CO_2 και H_2O (Kalant & Khanna, 1989).

Εκτός της κλασσικής, έχουν περιγραφεί και διάφορες άλλες μη οξειδωτικές μεταβολικές οδοί της αιθυλικής αλκοόλης. Μπορούμε να αναφέρουμε χαρακτηριστικά τις αντιδράσεις σύζευξης με το γλυκουρονικό οξύ προς αιθυλο-γλυκουρονίδιο, τις αντιδράσεις εστεροποίησης με λιπαρά οξέα προς σχηματισμό αιθυλ-εστέρων των λιπαρών οξέων, καθώς επίσης και τις αντιδράσεις συμπύκνωσης (condensation) της ακεταλδεύδης με το πυρουβικό και το α-κετογλουταρικό οξύ (Hawkins & Kalant, 1972). Από τα προαναφερθέντα μεταβολικά προϊόντα, οι αιθυλ-εστέρες των λιπαρών οξέων αποτελούν τον κύριο μη οξειδωτικό μεταβολίτη της αιθανόλης (Goodman & Deykin, 1963). Υψηλές τιμές αιθυλ-εστέρων των λιπαρών οξέων βρέθηκαν στο πάγκρεας, στο ήπαρ, στην καρδιά και στο λιπώδη ιστό ατόμων που είχαν καταλήξει μετά από οξεία λήψη αιθανόλης, γεγονός που υποδεικνύει, πιθανότατα, κάποια τοξικότητα αυτών των ενώσεων (Laposata & Lange, 1986).



1.1 Αλκοολική Αφυδρογονάση (ADH)

Η αλκοολική αφυδρογονάση (ADH, EC 1.1.1.1), είναι ένα κυτταροπλασματικό, NAD-εξαρτώμενο ένζυμο, αποτελούμενο από 2 πρωτεϊνικές υπομονάδες, καθεμιά εκ των οποίων περιέχει 2 άτομα ψευδαργύρου και έχει μοριακό βάρος 40 kDa (Vallee & Bazzone, 1983). Ανήκει στην υπεροικογένεια των μεσαίας αλύσου αφυδρογονασών/αναγωγασών (Persson et al., 1994), και αποτελεί το ένζυμο το κυρίως υπεύθυνο για τον ηπατικό μεταβολισμό της αιθυλικής αλκοόλης, ιδιαίτερα όταν η συγκέντρωσή της στο αίμα είναι μικρότερη από 20 mM (Hawkins & Kalant, 1972). Καταλύει την αντιστρεπτή αντίδραση της αιθανόλης προς ακεταλδεύδη ως ακολούθως:



Δοθέντος του ότι η σταθερά Michaelis (K_m) της ADH για την ακεταλδεύδη είναι αρκετά χαμηλή (0,6 mM), η τελευταία θα μπορούσε να αποτελέσει υπόστρωμα για την ADH και να λάβει χώρα η αντίστροφη αντίδραση αναγωγής της σε αιθανόλη (Blair & Vallee, 1966). Ωστόσο, επειδή η ακεταλδεύδη οξειδώνεται ταχέως προς οξικό οξύ, διατηρείται η φορά της αντιδράσεως προς τα δεξιά.

Πέραν της αιθανόλης, υποστρώματα για την ADH μπορούν επίσης να αποτελέσουν η ρετινόλη, διάφορες αλειφατικές αλκοόλες, τα ω-υδρόξυ λιπαρά οξέα, τα παράγωγα του μεταβολισμού της νοραδρεναλίνης και της ντοπαμίνης, καθώς και οι αλδεύδες που παράγονται κατά τη λιπιδιακή υπεροξείδωση (Sellin et al., 1991; Boleda et al., 1993).

Με βάση την αλληλουχία των αμινοξέων τους, την ανάλυση του φυλογενετικού τους δέντρου, τις καταλυτικές τους ιδιότητες και τους μηχανισμούς της γονιδιακής τους έκφρασης, μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί επτά ξεχωριστές κλάσεις ADH (I-VII) (Jornvall et al., 1997; Duester et al., 1999) (Πίνακας 1). Ωστόσο, σε κανένα είδος δεν κωδικοποιούνται και οι επτά αυτές κλάσεις. Έτσι, στον άνθρωπο έχουν περιγραφεί οι κλάσεις I-V, η κλάση VI έχει ανιχνευθεί μόνο στον επίμυ και σε ένα είδος ποντικού (deer mouse) (Hoog & Brandt, 1995; Zheng et al., 1993), ενώ η κλάση VII περιγράφεται μόνο στην όρνιθα (Kedishvili et al., 1997).

Όπως προαναφέρθηκε, στον άνθρωπο έχουν ανιχνευθεί πέντε ξεχωριστές κλάσεις ADH (I-V), οι οποίες ελέγχονται από επτά διαφορετικά γονίδια (*ADH1A*, *ADH1B*, *ADH1C*, *ADH2*, *ADH3*, *ADH4*, *ADH5*) (Duester et al., 1999). Από ανάλυση δε του DNA, που ελήφθη από υβρίδια που περιείχαν τμήματα του ανθρώπινου χρωμοσώματος 4, αποδείχθηκε πως όλα τα γονίδια που κωδικοποιούν για τα ισοένζυμα της ανθρώπινης ADH, βρίσκονται στο μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 4, μεταξύ 4q21 και 4q25 (Agarwal, 2001).

Τα ισοένζυμα της κλάσης I (*ADH1A*, *ADH1B1*, *ADH1B2*, *ADH1B3*, *ADH1C1*, *ADH1C2*) (Πίνακας 1), προέρχονται από τον τυχαίο ανασυνδυασμό των πρωτεϊνικών υπομονάδων α, β και γ, με αποτέλεσμα το σχηματισμό όμο- και ετεροδιμερών ενζυμικών μορφών: αα, αβ, ββ, αγ, βγ και γγ (Ramchandani et al., 2001). Πολυμορφισμός εμφανίζεται στους γενετικούς τόπους *ADH1B* και *ADH1C*, με αποτέλεσμα να προκύπτουν οι υπομονάδες β₁, β₂, β₃ και γ₁, γ₂ αντίστοιχα (Ramchandani et al., 2001), οι οποίες εμφανίζονται με διαφορετική συχνότητα στις διάφορες φυλές. Έτσι, η υπομονάδα β₁ επικρατεί στους Καυκάσιους και τους Αφρικανο-Αμερικανούς, η β₂ στους Κινέζους και στους Ιάπωνες, ενώ η υπομονάδα β₃ εμφανίζεται στο 25% των Αφρικανο-Αμερικανών. Εξάλλου, αποδείχτηκε πως άτομα που εκφράζουν το γονίδιο *ADH1B3* μεταβολίζουν την αιθανόλη με ταχύτερο

ρυθμό (Wall et al., 1996), ενώ εμφανίζονται και πιο ανθεκτικά στην περιγεννητική τοξικότητα της αιθανόλης (Mccarver et al., 1997). Αναφορικά με τον πολυμορφισμό των γ υπομονάδων, αυτές εμφανίζονται με την ίδια συχνότητα στους Καυκάσιους, ενώ η γι επικρατεί στους Αφρικανο-Αμερικανούς καθώς επίσης στους Κινέζους και στους Ιάπωνες (Yin & Li, 1989). Τα ισοένζυμα της κλάσης αυτής, έχουν χαμηλή Km για την αιθανόλη ($< 4\text{mM}$) και πιστεύεται ότι παίζουν το σημαντικότερο ρόλο στον ηπατικό μεταβολισμό της (Agarwal, 2001). Παρά το γεγονός, ωστόσο, ότι πρόκειται κυρίως για ηπατικά ισοένζυμα, υψηλά επίπεδα ανιχνεύθηκαν στο στομάχι, στο λεπτό και στο παχύ έντερο, στο φλοιό των επινεφριδίων, στην καρδιά, καθώς επίσης και σε εμβρυϊκούς ιστούς (πνεύμονες, ήπαρ και νεφρούς) (Estonius et al., 1996).

Η ADH2, της κλάσης II, αποτελείται από τις π υπομονάδες, και ενώ εμφανίζει υψηλή καταλυτική ικανότητα για την οξείδωση αλειφατικών και αρωματικών αλκοολών, η συμβολή της στο μεταβολισμό της αιθανόλης είναι ελάχιστη (Agarwal, 2001). Θεωρείται σχεδόν αποκλειστικά ηπατικό ένζυμο, αν και σε Northern ανοσοαποτύπωση (Northern blotting), ένα ήπιο σήμα φάνηκε στο λεπτό έντερο, στο πάγκρεας και στο στομάχι (Estonius et al., 1996). Τέλος, ένα άλλο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της κλάσης αυτής είναι η ελάχιστη ευαισθησία που παρουσιάζει στην πυραζόλη, τον κλασικό αναστολέα της ADH (Agarwal, 2001).

Η ADH3, της κλάσης III, αποτελείται από τις χ υπομονάδες, και ενώ έχει πολύ υψηλή Km για την αιθανόλη ($> 3\text{M}$), μη συμβάλλοντας ουσιαστικά στο μεταβολισμό της, διατηρεί σημαντική οξειδωτική ικανότητα για τις μακράς αλύσου αλκοόλες και τα ω-υδρόξυ λυταρά οξέα (Ramchandani et al., 2001). Βρίσκεται σχεδόν σε όλους τους ιστούς, ομοιογενώς κατανεμημένη, με μόνη εξαίρεση τον εγκέφαλο και τον πλακούντα, όπου τα επίπεδά της είναι μόλις υποσημεινόμενα (Estonius et al., 1996). Εξάλλου, πρόσφατες μελέτες την ταυτίζουν με τη φορμαλδεϋδική αφυδρογονάση (Ramchandani et al., 2001).

Η ADH4, της κλάσης IV, αποτελείται από τις υπομονάδες σ, βρίσκεται κυρίως στο στομάχι και έχει σημαντική ικανότητα οξείδωσης της αιθανόλης (Ramchandani et al., 2001). Επιπλέον, έχει ανιχνευθεί στον οισοφάγο, στη γλώσσα, στο δέρμα, στα μάτια, στο ρινικό και στον ωτικό βλεννογόνο, στην τραχεία, στους πνεύμονες, στο ορθό, στο πέος και στον κόλπο (Estonius et al., 1996). Μαζί με τις ADH1C, ADH2 και ADH3, που επίσης εκφράζονται στο στομάχι, παίζει σημαντικό ρόλο στο φαινόμενο της «αρχικής διάβασης» της αιθανόλης, που αποτελεί έναν προστατευτικό φραγμό έναντι των συστηματικών επιδράσεων αυτής, τουλάχιστον όταν καταναλώνεται σε σχετικά μικρές ποσότητες (Lieber, 1997a). Ο γαστρικός αυτός φραγμός εξαφανίζεται μετά από γαστρεκτομή (Caballeria et al., 1989), ενώ εξασθενίζει στους χρόνιους αλκοολικούς (Frezza et al., 1990) και μετά από λήψη ασπιρίνης (Roine et al., 1990) και H_2 αναστολέων (Caballeria et al., 1989), λόγω αναστολής της δραστηριότητας της «γαστρικής» ADH. Αξίζει να αναφερθεί, ότι ένα 80% των Ιαπώνων δεν εκφράζουν κάποιο από τα ισοένζυμα της «γαστρικής» ADH, γεγονός που τους καθιστά ιδιαίτερα ευαίσθητους στην αιθυλική αλκοόλη (Bagaona et al., 1991).

Σχετικά πρόσφατα, ανιχνεύθηκε στο ήπαρ και στο στομάχι, το γονίδιο που κωδικοποιεί για ένα επιπλέον ισοένζυμο της ADH, την ADH5 της κλάσης V (Yasunami et al., 1991). Χαμηλά επίπεδα mRNA του ενζύμου ανιχνεύθηκαν επίσης στο λεπτό έντερο καθώς και σε εμβρυϊκό νεφρό (Estonius et al., 1996). Ο ρόλος, ωστόσο, του ενζύμου αυτού στο μεταβολισμό της αιθανόλης και γενικότερα η δράση του, δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί με ακρίβεια.

Κατά την οξείδωση της αιθανόλης από την ADH, ένα άτομο υδρογόνου μεταφέρεται από το υπόστρωμα στο NAD, το οποίο ανάγεται σε NADH. Το γεγονός

αυτό, έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του λόγου NADH/NAD στο κυτταρόπλασμα, και ως εκ τούτου μια σειρά μεταβολικών διαταραχών που σχετίζονται με την κατανάλωση του οίνοπνεύματος (Lieber, 1997a). Έτσι λοιπόν, λόγω της χρησιμοποίησης της περίσσειας του NADH, προκαλείται γαλακτική οξέωση, η οποία με τη σειρά της μειώνει τη νεφρική ικανότητα απέκκρισης του ουρικού οξέος, οδηγώντας δευτερογενώς σε υπερουριχαιμία (Lieber et al., 1962). Επιπλέον, η αύξηση του λόγου NADH/NAD, αυξάνει τη συγκέντρωση του α-γλυκεροφωσφορικού οξέος, γεγονός που ευνοεί την άθροιση τριγλυκεριδίων στο ήπαρ, ενώ παράλληλα η περίσσεια του NADH επάγει τη σύνθεση των λιπαρών οξέων. Αποτέλεσμα των επιδράσεων αυτών του NADH, είναι η λιπώδης διήθηση του ήπατος, που ως γνωστόν παρατηρείται μετά από χρόνια λήψη αιθανόλης (Lieber, 1997a). Τέλος, η κατανάλωση αλκοολούχων ποτών, και πάλι λόγω της περίσσειας του NADH, είναι δυνατόν να οδηγήσει σε υπογλυκαιμία, ως αποτέλεσμα της αναστολής της γλυκονογένεσης στο ήπαρ, ιδιαίτερα σε άτομα που έχουν εξαντλήσει τα αποθέματα γλυκογόνου, είτε λόγω αστίας, φαινόμενο συχνό σε αλκοολικούς, είτε λόγω προϋπαρχουσών ανωμαλιών στο μεταβολισμό των υδατανθράκων (Lieber, 1997a). Στο σημείο αυτό, ωστόσο, πρέπει να αναφέρουμε ότι η αιθανόλη, ανάλογα με τις συνθήκες, μπορεί να επάγει αντί να αναστείλει τη γλυκονογένεση, γεγονός που σε συνδυασμό με τη μειωμένη χρησιμοποίηση της γλυκόζης από την περιφέρεια, μπορεί να οδηγήσει σε υπεργλυκαιμία (Lieber, 1997a).

Πίνακας 1. Σύγχρονη ονοματολογία της ADH σε ανθρώπους και τρωκτικά (Duester et al., 1999).

Οργανισμός	Κλάση I	Κλάση II	Κλάση III	Κλάση IV	Κλάση V	Κλάση VI	Κλάση VII*
Άνθρωπος							
Πρωτεΐνη	ADH1A ADH1B ADH1C	ADH2	ADH3	ADH4	ADH5	-	
Γονίδιο	<i>ADH1A</i> <i>ADH1B</i> <i>ADH1C</i>	<i>ADH2</i>	<i>ADH3</i>	<i>ADH4</i>	<i>ADH5</i>	-	
Ψευδογονίδιο	-	-	<i>ADH3P1</i>	-	-	-	
Ποντικός							
Πρωτεΐνη	ADH1	ADH2	ADH3	ADH4	-	-	
Γονίδιο	<i>Adh1</i>	<i>Adh2</i>	<i>Adh3</i>	<i>Adh4</i>	-	-	
Ψευδογονίδιο	<i>Adh1ps1</i>	-	<i>Adh3ps1</i>	-	-	-	
Επίμυς							
Πρωτεΐνη	ADH1	ADH2	ADH3	ADH4	-	ADH6	
Γονίδιο	<i>Adh1</i>	<i>Adh2</i>	<i>Adh3</i>	<i>Adh4</i>	-	<i>Adh6</i>	
Ψευδογονίδιο	-	-	-	-	-	-	
Ποντικός (Deer-mouse)							
Πρωτεΐνη	ADH1	-	-	-	-	ADH6	
Γονίδιο	<i>Adh1</i>	-	-	-	-	<i>Adh6</i>	
Ψευδογονίδιο	-	-	-	-	-	-	

* Η ADH της κλάσης VII δεν έχει ακόμη ανιχνευθεί στα θηλαστικά.



1.2 Μικροσωματικό σύστημα οξείδωσης της αιθανόλης (MEOS)

Η πρώτη ένδειξη για την πιθανή αλληλεπίδραση μεταξύ αιθανόλης και λείου ενδοπλασματικού δικτύου (μικροσωμάτια) του ηπατοκυττάρου, φάνηκε μετά από πειράματα σε επίμυες και ανθρώπους, που έδειξαν πως η χρόνια λήψη αιθυλικής αλκοόλης προκαλούσε μία «αύξηση» των μικροσωματίων (Iseri et al., 1964). Το 1965, σε μικροσωμάτια που απομονώθηκαν από το ήπαρ χοίρου, βρέθηκε μία NADPH-εξαρτώμενη οξείδωση, η οποία μπορούσε να οξειδώσει τη μεθανόλη σε φορμαλδεύδη και την αιθανόλη σε ακεταλδεύδη (Ome-Johnson & Ziegler, 1965). Το μικροσωματικό αυτό σύστημα οξείδωσης της αιθανόλης (MEOS), που αποτελεί τμήμα του κυτοχρώματος P-450 και επάγεται με τη χρόνια λήψη αιθανόλης (Lieber & DeCarli, 1968), καταλύει την οξείδωση της αιθυλικής αλκοόλης ως ακολούθως:



Το επαγώγιμο αυτό κυτόχρωμα, το υπεύθυνο για τη μικροσωματική οξείδωση της αιθανόλης, χαρακτηρίστηκε ως CYP2E1 (Nebert et al., 1987) και αποτελεί μία αιμοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 53,4 kDa (Ohnishi & Lieber, 1977). Νεότερες μελέτες, έχουν δείξει πως είναι δυνατόν και άλλα μέλη του κυτοχρώματος P-450, εκτός του CYP2E1, να οξειδώνουν την αιθυλική αλκοόλη σε ακεταλδεύδη (Asai et al., 1996), με αποτέλεσμα ο Lieber να προτείνει το διαχωρισμό του όρου "MEOS", που αναφέρεται στην ολική ικανότητα των μικροσωματίων να οξειδώνουν την αιθανόλη, και του CYP2E1, που αποτελεί το κλάσμα του CYP-450 που επιτελεί το μεγαλύτερο ποσοστό της μικροσωματικής οξείδωσης της αιθανόλης (Lieber, 1997b). Επιπλέον, πέραν της ικανότητάς του να οξειδώνει την αιθανόλη σε ακεταλδεύδη, πρόσφατες σχετικά μελέτες, πιστοποίησαν τη συμμετοχή του CYP2E1 και στην οξείδωση της ακεταλδεύδης σε οξικό οξύ, τόσο σε επίμυες, όσο και σε ανθρώπους, με μία σταθερά Km για την ακεταλδεύδη γύρω στα 35 μM (Terelius et al., 1991; Kunitoh et al., 1997).

Το γονίδιο *CYP2E1* στον επίμυ, έχει απομονωθεί και χαρακτηριστεί, εντοπιζόμενο στο χρωμόσωμα 7 (Umeno et al., 1988a), ενώ το αντίστοιχο του ανθρώπου στο χρωμόσωμα 10. (Umeno et al., 1988b). Αναφορικά με τους μοριακούς μηχανισμούς που ρυθμίζουν την έκφραση του CYP2E1, τα βιβλιογραφικά δεδομένα είναι αλληλοαντικρουόμενα. Φαίνεται ωστόσο, πως μεταγραφικοί, μετα-μεταγραφικοί και μετα-μεταφραστικοί μηχανισμοί, συμμετέχουν σε άλλοτε άλλο βαθμό (Lieber, 1997b), ενώ ειδικότερα στον άνθρωπο, η επαγωγή του CYP2E1 μετά από χρόνια λήψη αιθανόλης σχετίζεται με την αύξηση που παρατηρείται σε επίπεδο mRNA (Takahashi et al., 1993).

Το φαινόμενο της γενετικής πολυμορφίας παρατηρείται και στην περίπτωση του CYP2E1. Πράγματι, διάφορα πολυμορφικά τμήματα (RFLP) εμφανίζονται στο 5'-τελικό άκρο του γονιδίου του CYP2E1, τα οποία μπορούν να επηρεάσουν τη μεταγραφή καθώς και τη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης που εκφράζεται (Lieber, 1997b). Ένα τέτοιο χαρακτηριστικό τμήμα είναι το Rsa I, το οποίο όταν λείπει, προκύπτει το σπάνιο αλληλόμορφο γονίδιο c2, που εμφανίζει μεγαλύτερη μεταγραφική δραστηριότητα, αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης και ιδιαίτερα υψηλή ενζυμική δραστηριότητα σε σύγκριση με το πιο συχνό «αγρίου τύπου» αλληλόμορφο c1 (Agarwal, 2001). Η συχνότητα του αλληλόμορφου αυτού c2 γονιδίου ποικίλει από φυλή σε φυλή και είναι ιδιαίτερα αυξημένη στους Ταϊβανούς και στους Ιάπωνες (Stephens et al., 1994).

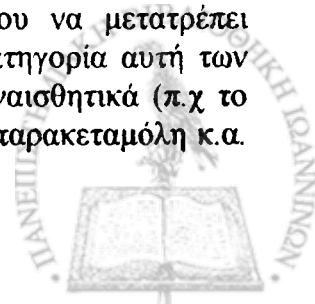


Το CYP2E1 αποτελεί κατά κύριο λόγο ηπατικό ένζυμο. Ωστόσο, χρησιμοποιώντας ανοσοϊστοχημικές μεθόδους, το ένζυμο ανιχνεύθηκε μετά από επαγωγή με αιθανόλη στο βλεννογόνο της στοματικής κοιλότητας, στη γλώσσα, στον οισοφάγο, στα πλακώδη επιθηλιακά κύτταρα του στομάχου καθώς και στο κατιόν παχύ έντερο επίμυος (Shimizu et al., 1990). Αντίθετα, στα επιθηλιακά κύτταρα του άντρου και του θόλου του στομάχου, στον ειλεό, στο ανιόν παχύ έντερο και στο ορθό, τα επίπεδα του ενζύμου ήταν μη μετρήσιμα (Shimizu et al., 1990), γεγονός που φανερώνει πως η έκφραση και η επαγωγή του δεν είναι ένα γενικευμένο φαινόμενο στο γαστρεντερικό σωλήνα, αλλά περιορίζεται σε συγκεκριμένα όργανα ή τμήματα οργάνων αυτού. Εξάλλου, μετρήσιμα επίπεδα του CYP2E1 ανιχνεύθηκαν σε μικροσωμάτια ρινικού βλεννογόνου και νεφρού στο κουνέλι (Ding et al., 1986), καθώς και σε συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου επίμυος (Sohda et al., 1993).

Το MEOS, εμφανίζει σχετικά υψηλή τιμή Km για την αιθανόλη (8-10mM), γεγονός που εξηγεί την αυξημένη συμβολή του στο μεταβολισμό της, όταν τα επίπεδά της στο αίμα είναι υψηλά (Lieber, 1997b). Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες (συγκέντρωση αιθανόλης στο αίμα περίπου 10mM), ένα ποσοστό 1-5% του συνολικού μεταβολισμού της επιτελείται από το MEOS (Ingelman-Sundberg, 1997). Αντίθετα, όταν η συγκέντρωσή της αιθανόλης στο αίμα φτάσει τα 100 mM, το ποσοστό συμμετοχής του MEOS στο μεταβολισμό της φτάνει περίπου το 60% (Matsumoto et al., 1996). Άλλωστε, η χρόνια κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων αιθυλικής αλκοόλης, προκαλεί σημαντικού βαθμού επαγωγή του CYP2E1, με αποτέλεσμα την επιτάχυνση του ηπατικού μεταβολισμού του οινοπνεύματος, γεγονός που εξηγεί και τη μεταβολική ανοχή που παρουσιάζουν στην αιθανόλη οι χρόνιοι αλκοολικοί (Lieber, 1997b). Πέραν όμως της ανοχής στην αιθανόλη, οι χρόνιοι αλκοολικοί εμφανίζουν ανοχή και σε διάφορα φάρμακα. Πράγματι, πλήθος μελετών σε επίμυες και ανθρώπους, έδειξαν πως η χρόνια χρήση αιθανόλης επιτάχυνε την κάθαρση από το αίμα της μεπροβαμάτης και της πεντοβαρβιτάλης (Misra et al., 1971), καθώς και της προπρανολόλης (Sotaniemi et al., 1981), ενώ αυξήθηκε σημαντικά ο μεταβολισμός της αντιπυρίνης (Vessell et al., 1971), της τολβουταμίδης (Carulli et al., 1971), της βαρφαρίνης (Kater et al., 1969), της διαζεπάμης (Sellman et al., 1975) και της ριφαμπικίνης (Grassi & Grassi, 1975). Φαίνεται δηλαδή, πως η επαγωγή του MEOS με τη χρόνια χρήση αιθυλικής αλκοόλης, «εξαπλώνεται» και σε διάφορα άλλα μικροσωματικά ενζυμικά συστήματα μεταβολισμού φαρμάκων, με τελικό αποτέλεσμα μια γενική αύξηση του ηπατικού μεταβολισμού τους.

Εκτός της οξειδωσής της από το CYP2E1 μέσω ενός τυπικού μηχανισμού μονοοξυγενάσης, η αιθανόλη μπορεί να οξειδωθεί από τα ηπατικά μικροσωμάτια μέσω ριζών υδροξυλίου (-OH), οι οποίες προέρχονται από την καταλύομενη από σίδηρο διάσπαση του H₂O₂ (Cederbaum, 1989). Επόμενο στάδιο, και πριν το σχηματισμό της ακεταλδεϋδης, αποτελεί ο σχηματισμός ριζών υδρόξυ-αιθυλίου (Reinke et al., 1994), ως ενδιάμεσου προϊόντος, μέσω ενός μηχανισμού στον οποίο συμμετέχει το CYP2E1 (Lieber, 1997b). Δεδομένης της γνωστής τοξικότητας των δραστικών αυτών ενδιάμεσων οξυγονομένων παραγώγων, λόγω κυρίως της επαγωγής της λιπιδιακής υπεροξειδωσης, το CYP2E1 πιστεύεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της αλκοολικής βλάβης του ήπατος (Lieber, 1997b).

Από κλινικής απόψεως, και πέραν της οξειδωσης της αιθανόλης, το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό του CYP2E1 είναι η ικανότητά του να μετατρέπει διάφορα ξενοβιοτικά σε ιδιαίτερα τοξικούς μεταβολίτες. Στην κατηγορία αυτή των ξενοβιοτικών ανήκουν ο τετραχλωράνθρακας (CCl₄), διάφορα αναισθητικά (π.χ το ενφλουράνιο) (Tsutsumi et al., 1990), η ισονιαζίδη, η κοκαΐνη, η παρακεταμόλη κ.α.



(Lieber, 1997b), ουσίες οι οποίες αποτελούν υποστρώματα ή επαγωγείς του CYP2E1.

Τέλος, πρέπει να αναφέρουμε τη συσχέτιση που βρίσκουμε στη βιβλιογραφία μεταξύ της κατάχρησης της αιθυλικής αλκοόλης και της ανάπτυξης νεοπλασιών, κυρίως του ανώτερου γαστρεντερικού και του αναπνευστικού συστήματος (Lieber et al., 1986). Διάφοροι παράγοντες έχουν ενοχοποιηθεί για το φαινόμενο αυτό, με κυριότερο τη μετατροπή προκαρκτινογόνων ουσιών σε καρκινογόνες, μέσω της δράσης του επαγόμενου από την αιθανόλη CYP2E1 (Lieber, 1997b).

1.3 Καταλάση (CAT)

Η δυνατότητα της καταλάσης (EC 1.11.1.6) να οξειδώνει την αιθανόλη *in vitro* είναι ήδη γνωστή από το 1945 (Keilin & Hartree, 1945). Το ένζυμο αυτό, το οποίο εντοπίζεται στα υπεροξυσώματα, μπορεί να οξειδώσει την αιθανόλη προς ακεταλδεΐδη, παρουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου, σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:



Ο κύριος παράγοντας που καθορίζει την ηπατική υπεροξείδωση της αιθανόλης είναι ο ρυθμός παραγωγής του H_2O_2 , ο οποίος εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα των κατάλληλων υποστρωμάτων (λειτουργία οξέας), καθώς και από τη συγκέντρωση του O_2 . Πράγματι, έχει βρεθεί ότι σημαντικές ποσότητες H_2O_2 παράγονται κατά τη β-οξείδωση λιπαρών οξέων, όπως είναι το παλμιτικό και το ολεϊκό οξύ (Handler & Thumman, 1985). Η οξείδωση, ωστόσο, της αιθανόλης από την ADH και το NADH που παράγεται, αναστέλλει τη β-οξείδωση των λιπαρών οξέων και άρα περιορίζει και τη διαθέσιμη ποσότητα του H_2O_2 (Williamson et al., 1969). Εξάλλου, σε σειρά πειραματικών μελετών, αποδείχθηκε ότι η χορήγηση ενός αναστολέα της καταλάσης, της 3-αμινο-1,2,4-τριαζόλης, δεν είχε καμία επίδραση στο μεταβολισμό της αιθυλικής αλκοόλης *in vivo* (Kato et al., 1987). Φαίνεται λοιπόν, πως κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, η καταλάση συμμετέχει σε ένα μικρό μόνο ποσοστό (λιγότερο του 2%) (Tillonen, 2000) στον ηπατικό μεταβολισμό της αιθυλικής αλκοόλης (Lieber, 1988). Αντίθετα, πρόσφατες σχετικά μελέτες, προσδίδουν στην καταλάση έναν σημαντικό, ίσως το σημαντικότερο, ρόλο στο μεταβολισμό της αιθανόλης στον εγκέφαλο (Zimatkina & Deitrich, 1997). Η παρουσία της καταλάσης στον εγκέφαλο επίμυος, έχει διαπιστωθεί, τόσο βιοχημικά, όσο και ιστοχημικά (Gaunt & De Duve, 1976; McKenna et al., 1976). Βρίσκεται σε μικρά (0.1-0.2 μ) οργανίδια, τα μικροπεροξυσώματα (McKenna et al., 1976) και εντοπίζεται κυρίως στους αμινεργικούς νευρώνες και στα νευρογλοιακά κύτταρα (Zimatkina & Deitrich, 1997). Η πρώτη έμμεση ένδειξη για την οξείδωση της αιθανόλης στον εγκέφαλο από την καταλάση, δόθηκε το 1980 από τους Cohen και συν. (Cohen et al., 1980), οι οποίοι έδειξαν πως η αιθανόλη μπορούσε να αποτρέψει την αναστολή της καταλάσης του εγκεφάλου από την αμινοτριαζόλη *in vivo*, δείχνοντας, αν μη τι άλλο, την ικανότητα της αιθανόλης να συνδέεται με την καταλάση *in vivo* στον εγκέφαλο. Σε μελέτες που ακολούθησαν, πιστοποιήθηκε, αφενός η ικανότητα της αιθανόλης να οξειδώνεται στον εγκέφαλο επίμυος, αφετέρου η μη συμμετοχή της ADH και του CYP450 στην οξειδωτική αυτή διαδικασία (Gill et al., 1992). Έτσι, διαπιστώθηκε πως, τόσο η μετυναπόνη (αναστολέας του CYP450), όσο και η πυραζόλη (αναστολέας της ADH), δεν είχαν καμία επίδραση στο

σχηματισμό ακεταλδεύδης από την αιθανόλη (0-100 mM) σε ομογενοποίημα εγκεφάλου επίμυος. Αντίθετα, η παρουσία 3-αμινο-1,2,4-τριαζόλης, κυαναμίδης ή νατριούχου αζιδίου (αναστολείς της καταλάσης), προκάλεσε μία δοσοεξαρτώμενη μείωση στο σχηματισμό της ακεταλδεύδης. Όπως και στο ήπαρ, έτσι και στον εγκέφαλο, απαραίτητη προϋπόθεση για τη δράση της καταλάσης είναι η επάρκεια σε H_2O_2 (Gill et al., 1992). Η δράση της υπεροξειδικής δισμουτάσης (Cross & Jones, 1991), της μοναμινοξειδάσης (Simonson et al., 1993), των FAD-μονοξυγενασών (Tynes et al., 1986), της συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου (Heinzel et al., 1992), καθώς και του ασκορβικού οξέος που βρίσκεται σε σημαντικές ποσότητες στο ΚΝΣ (Pratt & Tuptens, 1990), μπορούν να οδηγήσουν στο σχηματισμό H_2O_2 στον εγκέφαλο, καθιστώντας έτσι δυνατή την οξείδωση της αιθανόλης από την καταλάση.

1.4 Αλδεϋδική Αφυδρογονάση 2 (ALDH2)

Οι ALDHs (EC 1.2.1.3), περιγράφηκαν για πρώτη φορά το 1949 από τον Racker (Racker, 1949) και αποτελούν μία οικογένεια $NAD(P)^+$ εξαρτώμενων ενζύμων, που καταλύουν τη μη αντιστρεπτή οξείδωση μιας πληθώρας ενδογενών και εξωγενών αλδεϋδών, στα αντίστοιχα καρβοξυλικά οξέα:



Οι αλδεϋδες αποτελούν ουσίες ευρέως διαδεδομένες στη φύση, οι οποίες επιτελούν μια μεγάλη ποικιλία χημικών και βιολογικών λειτουργιών (Goedde & Agarwal, 1990). Έτσι, για παράδειγμα, ένας μεγάλος αριθμός αρωματικών και αλειφατικών αλδεϋδών καθορίζουν τη γεύση και το άρωμα πολλών φρούτων και λαχανικών, άλλες δρουν ως φερορμόνες, μπορούν να εντοπιστούν στις χρωστικές του οφθαλμού κ.λ.π (Schauenstein et al., 1997). Ωστόσο, η πλειονότητα των αλδεϋδών, θεωρείται ότι αποτελούν φυσιολογικά ενδιάμεσα προϊόντα μεταβολισμού διαφόρων ενδογενών ή εξωγενών ουσιών (Lindahl, 1992). Οι εδογενώς παραγόμενες αλδεϋδες, προέρχονται κυρίως από το μεταβολισμό αμινοξέων, υδατανθράκων, βιογενών αμινών, βιταμινών, στεροειδών και λιπιδίων (Vasiliou et al., 2000), ενώ οι εξωγενώς παραγώμενες προέρχονται κυρίως από το μεταβολισμό διαφόρων ξενοβιοτικών, όπως είναι ο καπνός, το οινόπνευμα, το βενζένιο, το τολουένιο, καθώς και διάφορα φάρμακα, όπως η κυκλοφωσφαμίδη, η προκαρβαζίνη, η φαινακετίνη, η κωδεΐνη κ.α. (Pappas, 1996). Γενικά, θεωρούνται έντονα δραστικές ουσίες, χάρη στον ισχυρά ηλεκτρονιόφιλο χαρακτήρα της καρβονυλικής τους ομάδας, που έχουν την τάση να αντιδρούν με πυρηνόφιλες ουσίες του κυττάρου (πρωτεΐνες και πυρηνικά οξέα), ασκώντας μια σειρά επιδράσεων που κυμαίνονται από φυσιολογικές και θεραπευτικές μέχρι κυτταροτοξικές, γονοτοξικές και μεταλλαξιογόνες ή καρκινογόνες (Schauenstein et al., 1997).

Οι ALDHs, συμμετέχουν σε τρεις τουλάχιστον διαφορετικές φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού. Έτσι, παίρνουν μέρος σε διάφορες μεταβολικές οδούς, στην απενεργοποίηση διαφόρων τοξικών αλδεϋδών, καθώς και στην ωσμωτική προστασία του κυττάρου (Petrozich et al., 1999). Συνεπεία του ευρέος φάσματος των υποστρωμάτων που μπορούν να μεταβολίσουν, συμμετέχουν στη βιομετατροπή, στα πλαίσια των αντιδράσεων της φάσης I, ενός μεγάλου αριθμού ξενοβιοτικών, συμπεριλαμβανομένης της ακεταλδεύδης, διαφόρων αλδεϋδών των τροφών, των προϊόντων της λιπιδιακής υπεροξειδωσης, κάποιων αντινεοπλασματικών φαρμάκων κ.α. Ιδιαίτερη αναφορά αξίζει να γίνει στον προστατευτικό ρόλο της ALDH του

φακού του οφθαλμού, έναντι των προϊόντων της υπεροξειδωσής που δημιουργούνται τοπικά, λόγω της απορρόφησης της υπεριώδους ακτινοβολίας (King & Holmes, 1997). Εξάλλου, οι ALDHs συμμετέχουν στη γλυκόλυση καθώς και στο μεταβολισμό του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA), του φυλλικού οξέος, του ρετινοϊκού οξέος και διαφόρων αμινοξέων (Petersen & Lindahl, 1997). Τέλος, έχει πιστοποιηθεί ο ωσμοπροστατευτικός ρόλος, η προστασία δηλαδή έναντι της αφυδάτωσης καθώς και της υψηλής συγκέντρωσης χλωριούχου νατρίου, της βεταΐνης, της προλίνης και διαφόρων άλλων ουσιών, στη σύνθεση των οποίων συμμετέχουν οι ALDHs (Strocher et al., 1995).

Η υπεροικογένεια των ALDHs, βάση της ειδικότητας του υποστρώματος, περιλαμβάνει τις εξής κατηγορίες: 1) Ημιαλδευδικές αφυδρογονάσες (EC 1.2.1.16; EC 1.2.1.24; EC 1.2.1.27; EC 1.2.1.31; EC 1.2.1.32; EC 1.2.1.41), 2) Μη ειδικές αλδευδικές αφυδρογονάσες (EC 1.2.1.3), 3) Βεταϊνικές αφυδρογονάσες (EC 1.2.1.8), 4) Γλυκεραλδευδικές-3-φωσφορικές αφυδρογονάσες μη προκαλούσες φωσφορλίωση (EC 1.2.1.9), 5) Φαινυλακεταλδευδικές αφυδρογονάσες (EC 1.2.1.39), 6) Λακταλδευδικές αφυδρογονάσες (EC 1.2.1.22), και 7) Πρωτεΐνες τύπου ALDH.

Μέχρι σήμερα, έχουν ταυτοποιηθεί τουλάχιστον 330 γονίδια της ALDH, τόσο σε προκαρυωτικούς, όσο και σε ευκαρυωτικούς οργανισμούς (Sorphos et al., 2001), εκ των οποίων 16, καθώς και 3 ψευδογονίδια, αφορούν το ανθρώπινο γονιδίωμα (Vasilioni et al., 2000) (Πίνακας 2).

Πίνακας 2. Σύγχρονη ονοματολογία των ισοενζύμων της ALDH στον άνθρωπο: γονίδια, χρωμοσωμική εντόπιση, υποστρώματα (Sorphos et al., 2001).

Γονίδιο	Συνήθης ονομασία	Χρωμόσωμα	Υπόστρωμα
ALDH1A1	ALDH1	9q21	Ρετινάλ, ακεταλδεύδη
ALDH1A2	RALDH2	15	Ρετινάλ
ALDH1A3	RALDH3	15q26	Ρετινάλ
ALDH1B1	ALDH5	9q13	Ακεταλδεύδη
ALDH1L1	FDH	12	Φυλλικό οξύ
ALDH2	ALDH2	12q24	Ακεταλδεύδη
ALDH3A1	ALDH3	17p11.2	Αρωματικές αλδεύδες
ALDH3A2	ALDH10	17p11.2	Λιπαρές αλδεύδες
ALDH3B1	ALDH7	11q13	Άγνωστο
ALDH3B2	ALDH8	11q13	Άγνωστο
ALDH4A1	ALDH4	1p36	Γλουταμική γ-ημιαλδεύδη
ALDH5A1	SSDH	6p322	Σουκινική ημιαλδεύδη
ALDH6A1	MMSDH	14	Μεθυλμηλεϊνική ημιαλδεύδη
ALDH7A1	ATQ1	5q31	Άγνωστο
ALDH7AP1	ATQL1	5q14	Ψευδογονίδιο
ALDH7AP2	ATQL2	7q36	Ψευδογονίδιο
ALDH7AP3	ATQL3	10q21	Ψευδογονίδιο
ALDH8A1	ALDH12	6q24.1-25.1	Άγνωστο
ALDH9A1	ALDH9	1q22-q23	Αμινοαλδεύδες

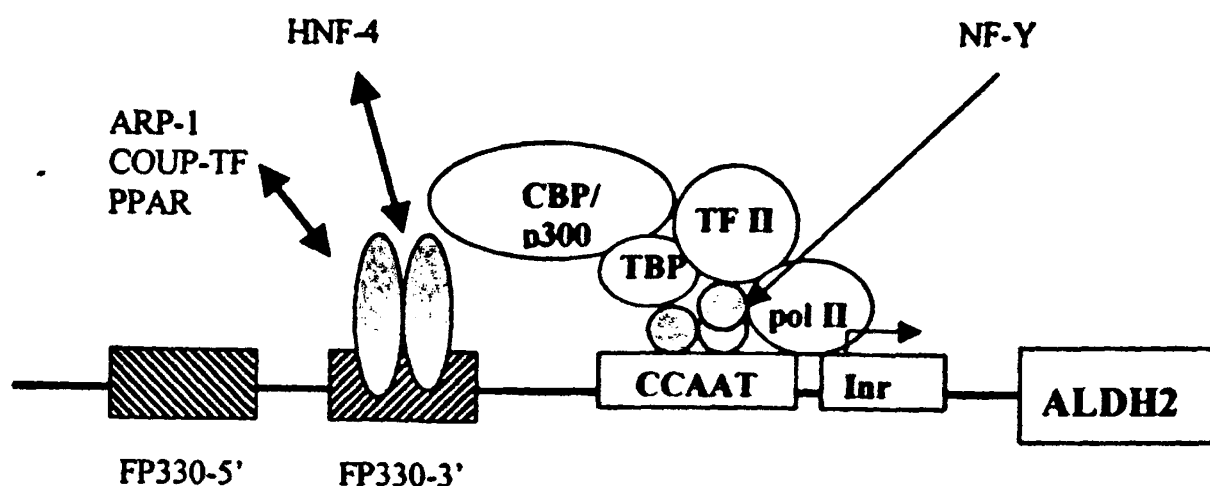
Όπως έχει προαναφερθεί, η ακεταλδεϋδη αποτελεί το πρώτο μεταβολικό προϊόν της ενζυμικής οξειδωσης της αιθανόλης και μάλιστα θεωρείται πολύ πιο τοξική ουσία από την ίδια την αιθανόλη, όντας υπεύθυνη για πολλές από τις βλαπτικές επιδράσεις της τελευταίας (Agarwal & Goedde, 1989). Ωστόσο, η ακεταλδεϋδη οξειδώνεται ταχέως προς οξικό οξύ, μέσω κυρίως ενός low-Km μιτοχονδριακού ισοενζύμου της ALDH (ALDH2), η οποία μεταβολίζει το 60% περίπου της ακεταλδεϋδης που προκύπτει από την οξείδωση της αιθανόλης (Weiner, 1987). Ένα 20% της ακεταλδεϋδης, μεταβολίζεται από τη high-Km κυτταροπλασματική ALDH1A1 (Km για την ακεταλδεϋδη γύρω στα 35 μ M), ενώ το υπόλοιπο 20% μεταβολίζεται από ένα αδιευκρίνιστο ενζυμικό σύστημα, στο οποίο πιθανότατα το CYP2E1 κατέχει κεντρική θέση (Weiner, 1987).

Η ALDH2 αποτελεί ένα ομοτετραμερές 500 αμινοξέων, μοριακού βάρους 54,4 kDa (Sladek, 2003), με πολύ χαμηλή Km για την ακεταλδεϋδη (<5 μ M) (Vasiliou et al., 2000). Εντοπίζεται κυρίως στο ήπαρ, ενώ εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στους νεφρούς, στην καρδιά και στους σκελετικούς μύες. Τέλος, έχει ανιχνευθεί στους πνεύμονες, στο φακό του οφθαλμού, στον εγκέφαλο, στο πάγκρεας, στον προστάτη, στο σπλήνα, στο δέρμα, στο δωδεκαδάκτυλο, στο λεπτό και στο παχύ έντερο (Goedde & Agarwal, 1990; Harada et al., 1980; Stewart et al., 1996; Liao et al., 1991; Koivisto & Salaspuro, 1996). Η βαρύτητα του ισοενζύμου αυτού στο μεταβολισμό της αιθυλικής αλκοόλης, γίνεται σαφής στην περίπτωση του γενετικού πολυμορφισμού του, οπότε προκύπτουν μια σειρά σοβαρών μεταβολικών και τοξικολογικών επιδράσεων. Πρόκειται για την περίπτωση όπου εμφανίζεται μία μετάλλαξη στο φυσιολογικό γονίδιο *ALDH2*1*, που αφορά την αντικατάσταση ενός ζεύγους βάσεων (G/C $\rightarrow$ A/T) στο εξώνιο 12, με αποτέλεσμα να προκύπτει το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο *ALDH2*2*, που κωδικοποιεί για μία πρωτεΐνη, η οποία στη θέση 487 έχει λυσίνη αντί για γλουταμικό (E487K) (Yoshida et al., 1984; Vasiliou et al., 2000). Άτομα ομόζυγα ως προς το μεταλλαγμένο αυτό γονίδιο, κωδικοποιούν για μία τελείως ανενεργή μορφή της ALDH2, ενώ οι ετεροζυγώτες κωδικοποιούν για ένα ένζυμο ενεργό κατά 50%, συγκριτικά με τους ομοζυγώτες του φυσιολογικού γονιδίου *ALDH2*1* (Crabb et al., 1989). Η μετάλλαξη αυτή είναι ιδιαίτερα συχνή στους Ιάπωνες, εμφανιζόμενη περίπου στο 50% του πληθυσμού (Goedde et al., 1979) και όταν υπάρχει στην ομόζυγη κατάσταση προστατεύει το άτομο από τον αλκοολισμό, δρώντας αποτρεπτικά στην κατανάλωση οινοπνεύματος, λόγω των δυσάρεστων συμπτωμάτων που προκαλεί η άθροιση της ακεταλδεϋδης μετά τη λήψη αιθανόλης (Peng et al., 1999). Αντίθετα, οι ετεροζυγώτες του μεταλλαγμένου γονιδίου, διατηρούν την ικανότητα κατανάλωσης αιθανόλης, συντηρώντας όμως υψηλές συγκεντρώσεις ακεταλδεϋδης στο αίμα, γεγονός που έχει συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση νεοπλασιών του οισοφάγου και του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος (Yokoyama et al., 1999), της κεφαλής και του τραχήλου (Muto et al., 2000), του ορθοσιγμοειδούς (Murata et al., 1999), καθώς και με την εμφάνιση της νόσου του Alzheimer (Kamino et al., 2000).

Αναφορικά με τους παράγοντες που ρυθμίζουν την έκφραση του γονιδίου της *ALDH2*, τα δεδομένα δεν είναι τελείως ξεκαθαρισμένα. Φαίνεται πάντως, πως ο προαγωγός (promoter) του γονιδίου αυτού, περιλαμβάνει μία αλληλουχία νουκλεοτιδίων (CCAAT) σε απόσταση περίπου 370 ζευγών βάσεων από το άκρο έναρξης της μετάφρασης, πάνω στην οποία προσδένεται ο μεταγραφικός παράγοντας NF- κ B, γεγονός που πιθανότατα είναι υπεύθυνο για την έκφραση της *ALDH2* που παρατηρείται στους διάφορους ιστούς σε βασικά επίπεδα (Stewart et al., 1996). Ωστόσο, για την έκφραση της *ALDH2* σε υψηλά επίπεδα, όπως για παράδειγμα παρατηρείται στο ήπαρ και στους νεφρούς, φαίνεται πως απαιτούνται κάποιοι

επιπρόσθετοι παράγοντες. Πράγματι, ανοδικά της προαναφερθείσας περιοχής πρόσδεσης του NF-Y, υπάρχει μία άλλη ρυθμιστική περιοχή, η FP330, η οποία αποτελείται από δύο τμήματα: το FP330-3' και το FP330-5' (Pinaire et al., 1999). Το τμήμα FP330-3', συνδέεται και ενεργοποιείται από τον ηπατοκυτταρικό πυρηνικό παράγοντα 4 (HNF-4) και από τον παράγοντα X των ρετινοειδών (RXR). Ενώ ο ρόλος του RXR δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί, η ενεργοποίηση του FP330-3' από τον HNF-4 φαίνεται πως είναι ο καθοριστικός παράγοντας για τα υψηλά επίπεδα έκφρασης της ALDH2 στο ήπαρ και τους νεφρούς (Stewart et al., 1998). Την ενεργοποίηση του προαγωγού της ALDH2 από τον RXR και τον HNF-4, ανταγωνίζεται η σύνδεση στο FP330-3' μιας σειράς άλλων παραγόντων που εκφράζονται σε διάφορους ιστούς, και πιο συγκεκριμένα του ενεργοποιημένου παράγοντα διαφοροποίησης δ (PPARδ), του μεταγραφικού παράγοντα του ανοδικού προαγωγού ωαλβουμίνης όρνιθας (COUP-TF), και της απολιποπρωτεϊνης-ρυθμιστικής πρωτεϊνης 1 (ARP-1) (Pinaire et al., 1999). Οι τελευταίοι αυτοί παράγοντες, είναι δυνατόν να συνδεθούν και στο τμήμα FP330-5', χωρίς ωστόσο να έχει ξεκαθαριστεί εάν και από τη θέση αυτή μπορούν να καταστείλουν τη μεταγραφή του γονιδίου της ALDH2 (Chou et al., 1999) (Σχήμα 1).

Σχήμα 1. Μοντέλο ρύθμισης της έκφρασης της ALDH2. (Pinaire et al., 1999).



2. Αιθανόλη και Κ.Ν.Σ.

Είναι γνωστό, ότι η αιθανόλη μπορεί να επηρεάσει όλα τα όργανα του σώματος. Ωστόσο, αυτό που κάνει επιθυμητή την κατανάλωσή της, είναι οι επιδράσεις της στο Κ.Ν.Σ., οι οποίες αρχίζουν να γίνονται αισθητές με επίπεδα αιθανόλης στο αίμα γύρω στο 0,5%. Πρόκειται για μια σειρά σωματοαισθητηριακών διαταραχών, που περιλαμβάνουν ευφορία, υπερδραστηριότητα, δυσαρθρία, ασυντόνιστες κινήσεις και επιβράδυνση των αντανεκλαστικών. Καθώς τα επίπεδα της αιθανόλης στο αίμα ανεβαίνουν, επικρατεί η κατασταλτική της δράση, με εμφάνιση υπνηλίας, έντονες διαταραχές του συντονισμού των κινήσεων, της ισορροπίας και του συνειρμού, που προοδευτικά μεταπίπτουν σε κατατονία. Αν το άτομο συνεχίσει να πίνει οινόπνευμα και μετά από αυτό το στάδιο, μπορεί να οδηγηθεί σε θανατηφόρα επίπεδα (5,5-6,5%) με γενικευμένη εγκεφαλική καταστολή και τοξική παράλυση των ζωτικών λειτουργιών (Μαρσέλος, 1997). Από την άλλη πλευρά, η χρόνια κατανάλωση αιθανόλης, επιφέρει μία σειρά λειτουργικών και μορφολογικών αλλαγών στον εγκέφαλο, με μία προεξάρχουσα δένδριτική υπερτροφία και απώλεια των νευρώνων του υποκάμπου και της παρεγκεφαλίδας των τρωκτικών (Riley & Walker, 1993), καθώς και μία διάχυτη φλοιώδη και παρεγκεφαλιδική ατροφία, καταστροφή των κυττάρων Purkinje της παρεγκεφαλίδας και μείωση του μεγέθους και του αριθμού των νευρώνων του πρόσθιου φλοιού στους ανθρώπους (Charness et al., 1989).

Μέχρι τις αρχές της δεκαετίας του '70, επικρατούσε η άποψη πως η κεντρική δράση της αιθανόλης ήταν το αποτέλεσμα μιας μη ειδικής δράσης της στη μεμβράνη των νευρικών κυττάρων (Seeman, 1972). Ωστόσο, πρόσφατα σχετικά βιβλιογραφικά δεδομένα, υποδηλώνουν μια πιο ειδική δράση της αιθανόλης στις πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης, που έχει ως αποτέλεσμα την τροποποίηση της τριτοταγούς δομής τους και συνεπώς της λειτουργίας τους (Franks & Lieb, 1994; Lovinger, 1997). Επιπλέον, καθώς διαλευκάνθηκε ο ρόλος των νευροδιαβιβαστών και των υποδοχέων τους στο Κ.Ν.Σ., αποδείχτηκε πως η αιθανόλη μπορούσε να επηρεάσει το σύνολο σχεδόν των συστημάτων των κεντρικών νευρομεταβιβαστών, διαμεσολαβώντας έτσι τις κεντρικές της δράσεις. Στη συνέχεια, ακολουθεί αναφορά στο σεροτονινεργικό, ντοπαμινεργικό και νοραδρενεργικό σύστημα του Κ.Ν.Σ., τα οποία και μας απασχόλησαν στα πλαίσια της παρούσας μελέτης.

2.1 Σεροτονίνη (5-HT)

Από τα μέσα του 19^{ου} αιώνα, οι επιστήμονες γνώριζαν ότι μια ουσία που βρισκόταν στον ορό, προκαλούσε ισχυρή σύσπαση των λείων μυϊκών ινών. Ωστόσο, μεσολάβησαν περισσότερα από 100 χρόνια μέχρι να επιτευχθεί η απομόνωση αυτής της ουσίας από τους ερευνητές της Cleveland Clinic, οι οποίοι τη θεώρησαν ως ένα πιθανό αίτιο αρτηριακής υπέρτασης. Την ίδια εποχή, Ιταλοί ερευνητές χαρακτήριζαν μια ουσία που εντοπιζόταν σε μεγάλη συγκέντρωση στα χρωμιόφιλα κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου και η οποία προκαλούσε σύσπαση των λείων μυϊκών ινών, ιδίως του εντέρου. Η ουσία που απομονώθηκε από την κυκλοφορία ονομάστηκε «σεροτονίνη», ενώ εκείνη που απομονώθηκε από το έντερο «εντεραμίνη». Στη συνέχεια και οι δύο αυτές ουσίες παραλήφθηκαν σε κεκαθαρμένη κρυσταλλική μορφή και αναγνωρίστηκαν ως 5-υδροξυτρυπταμίνη, η οποία είχε στο μεταξύ ανιχνευθεί και στον εγκέφαλο. Σήμερα, γνωρίζουμε πως η σεροτονίνη βρίσκεται στο Κ.Ν.Σ., στα αιμοπετάλια, στα σιτευτικά (mast cells) και στα χρωμιόφιλα κύτταρα του

εντερικού βλεννογόνου. Στην πραγματικότητα, μόνο 1-2% περίπου της ολικής σεροτονίνης του οργανισμού εντοπίζεται στον εγκέφαλο. Ωστόσο, καθώς η 5-HT αδυνατεί να διαπεράσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, είναι σαφές ότι τα εγκεφαλικά κύτταρα πρέπει να συνθέτουν τα ίδια 5-HT.

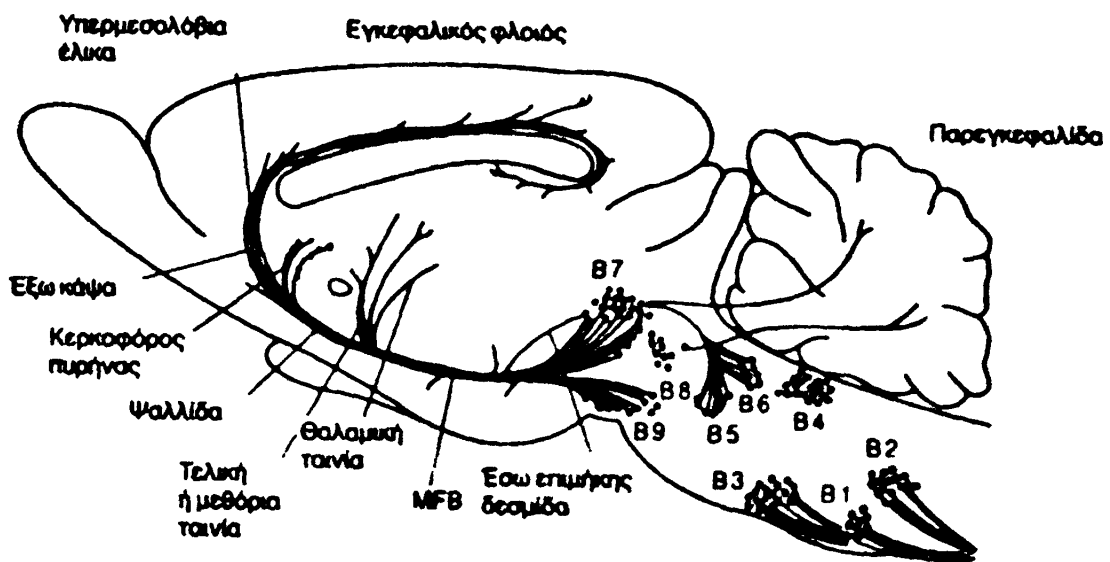
Για τα εγκεφαλικά κύτταρα, το πρώτο σημαντικό βήμα για τη βιοσύνθεση της 5-HT είναι η πρόσληψη του αμινοξέος τρυπτοφάνη, που αποτελεί το κύριο βιοσυνθετικό υπόστρωμα. Η τρυπτοφάνη του πλάσματος προέρχεται από τις τροφές και ο περιορισμός της στη διαίτα μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική ελάττωση των επιπέδων της σεροτονίνης στον εγκέφαλο. Το επόμενο βήμα της βιοσυνθετικής οδού, είναι η υδροξυλίωση της τρυπτοφάνης στη θέση 5, με τη δράση της υδροξυλάσης της τρυπτοφάνης, που οδηγεί στο σχηματισμό της 5-υδροξυτρυπτοφάνης (5-HTP). Η υδροξυλίωση της τρυπτοφάνης, αποτελεί ένα κυτταροπλασματικό πολυμερές ένζυμο, ταυτόσημων υπομονάδων, που χρειάζεται μοριακό οξυγόνο και ανηγμένη πτεριδίνη ως συμπαραγόντα και που μπορεί να ενεργοποιείται από φωσφορυλίωση, ιόντα Ca^{++} , φωσφολυτίδια και μερική πρωτεόλυση, ενώ αναστέλλεται από την π-χλωροφαινυλαλανίνη, η οποία ανταγωνίζεται άμεσα την τρυπτοφάνη και συνδέεται με το ένζυμο κατά μη αναστρέψιμο τρόπο. Η 5-HTP, αμέσως σχεδόν μετά το σχηματισμό της, αποκαρβοξυλιώνεται με τη δράση της αποκαρβοξυλάσης της 5-HTP, παράγοντας έτσι σεροτονίνη.

Η μόνη αποτελεσματική οδός περαιτέρω μεταβολισμού της 5-HT, είναι η οξειδωτική απαμίνωσή της από τη μοναμινοξειδάση Α (MAO-A). Η μοναμινοξειδάση, αποτελεί ένα μιτοχονδριακό ένζυμο, εντοπιζόμενο, τόσο ενδονευρωνικά, όσο και εξωνευρωνικά, που απαντά σε δύο ισομορφές (MAO-A και MAO-B), παρούσες αμφότερες στο Κ.Ν.Σ. και διακριτές με βάση την ειδικότητά τους για το υπόστρωμα και τον αναστολέα. Έτσι, η MAO-A μεταβολίζει κυρίως τη σεροτονίνη και τη νοραδρεναλίνη, έχοντας ως ειδικό αναστολέα τη χλωργυλίνη, ενώ η MAO-B μεταβολίζει τη β-φαινυλαιθυλαμίνη και τη βενζυλαμίνη, με ειδικό αναστολέα τη σελεγιλίνη. Η ντοπαμίνη και η τρυπταμίνη μεταβολίζονται και από τις δύο ισομορφές του ενζύμου. Το προϊόν της απαμίνωσης της 5-HT, η 5-υδροξυ-ινδολο-ακεταλδεΐδη (5-HIAL), μπορεί να οξειδωθεί σε 5-υδροξυ-ινδολο-οξικό οξύ (5-HIAA) με τη δράση της αλδεϋδικής αφυδρογονάσης ή να αναχθεί σε 5-υδροξυτρυπτοφόλη (5-HTOL) με τη δράση της αλδεϋδικής αναγωγάσης, ανάλογα με την αναλογία NAD^+/NADH στον ιστό. Ωστόσο, κύριο μεταβολίτη της 5-HT αποτελεί το 5-HIAA (το προϊόν του μεταβολισμού της 5-HT σε ποσοστό 100% περίπου στον εγκέφαλο), το οποίο απεκκρίνεται στα ούρα μαζί με την κατά πολύ μικρότερη ποσότητα της 5-HTOL που παράγεται. Καθημερινά απεκκρίνονται στα ούρα γύρω στα 2-10 mg 5-HIAA, ποσότητα που μπορεί να αυξηθεί σημαντικά σε περίπτωση καρκινοειδούς, οπότε η διαγνωστική του αξία είναι πολύ σημαντική. Εξάλλου, ο καταβολισμός της 5-HT μπορεί να επηρεαστεί από την κατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης, οπότε λόγω αυξημένης συγκέντρωσης NADH , αυξάνεται η παραγωγή της 5-HTOL εις βάρος του 5-HIAA. Επιπλέον της κλασικής, έχουν περιγραφεί και κάποιες άλλες, μικρότερης σημασίας, μεταβολικές οδοί της σεροτονίνης, όπως είναι η σουλφούρωση και η Ο- ή Ν-μεθυλίωση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα, αποτελεί ο μεταβολισμός της σεροτονίνης στο κωνάριο (επίφυση), όπου μετατρέπεται σε μελατονίνη, μια ουσία γνωστή για την ελάττωση της εναπόθεσης μελανίνης στα μελανοκύτταρα του δέρματος και για την κατασταλτική της δράση στις ωοθήκες. Το κωνάριο είναι ένας μικροσκοπικός αδένας στη ραχιαία επιφάνεια του υποθαλάμου, που διαθέτει όλα τα απαραίτητα ένζυμα για τη σύνθεση της σεροτονίνης, καθώς και δύο ένζυμα για την περαιτέρω επεξεργασία της: τη Ν-ακετυλάση της 5-HT και την 5-υδροξυ-ινδολο-Ο-μεθυλοτρανσφεράση. Με τη δράση του πρώτου ενζύμου η 5-HT

Οι σεροτονινεργικοί νευρώνες, εντοπίζονται στη μέση γραμμή του εγκεφαλικού στελέχους, απαρτίζοντας εννέα ομάδες κυττάρων (B1-B9), που αποτελούν το λεγόμενο «πυρήνα της ραφής» (raphe nuclei). (Kandel et al., 2000) (Σχήμα 3).

Στις συνάψεις όπου η σεροτονίνη εμπλέκεται ως νευροδιαβιβαστής, ασκεί είτε διεγερτική είτε ανασταλτική δράση στους μετασυναπτικούς υποδοχείς, ενώ η δράση της στους αυτοϋποδοχείς των προσυναπτικών νευρώνων είναι ανασταλτική (Douglas, 1985). Παρά το γεγονός ότι η δράση της σε κάθε μεμονωμένο νευρώνα θεωρείται σε γενικές γραμμές ήπια, η συνολική της επίδραση στους νευρώνες μιας δεδομένης περιοχής του εγκεφάλου είναι ιδιαίτερα σημαντική, επηρεάζοντας εγκεφαλικές λειτουργίες όπως είναι η μνήμη, η μάθηση, η αντίληψη του περιβάλλοντος, η ψυχική διάθεση καθώς και η «αντίδραση» στην κατανάλωση αιθανόλης και άλλων ψυχοτρόπων ουσιών (Lovinger, 1999).

Σχήμα 3. Κατανομή των κύριων σεροτονινεργικών οδών στο κεντρικό νευρικό σύστημα των αρουραίων (MFB: μεσοτελεγκεφαλικό δεμάτιο) (Cooper et al., 1991).



Η σεροτονίνη αποτελεί ένα νευροδιαβιβαστή που έχει συσχετισθεί με μια σειρά παθολογικών καταστάσεων, όπως είναι η κατάθλιψη, η σχιζοφρένεια, η ημικρανία, η υπέρταση, η πνευμονική υπέρταση, ο έμετος, το σύνδρομο του ευερέθιστου εντέρου, καθώς και κάποιες διαταραχές στην πρόσληψη της τροφής. Οι δράσεις της ασκούνται μέσω μεμβρανικών υποδοχέων, οι οποίοι βρίσκονται στο κεντρικό και στο περιφερικό Ν.Σ., αλλά και σε κάποιους εξωνευρικούς ιστούς, όπως είναι το έντερο, το καρδιαγγειακό σύστημα και το αίμα. Πρόκειται για ένα σύνθετο σύστημα υποδοχέων, το οποίο περιλαμβάνει 7 οικογένειες (5-HT₁-5-HT₇), με 14 γνωστά μέλη (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT_{5A}, 5-HT_{5B}, 5-HT₆, 5-HT₇), που έχουν ταξινομηθεί, κυρίως, με βάση τη δομή και τη λειτουργία τους. Με εξαίρεση δε τον 5-HT₃ υποδοχέα, του οποίου η λειτουργία στηρίζεται σε μία αντλία ιόντων, οι υπόλοιποι υποδοχείς είναι συζευγμένοι με τη G πρωτεΐνη (Hoyer et al., 2002).

Το σεροτονινεργικό σύστημα παίζει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στη διαμεσολάβηση των επιδράσεων της αιθυλικής αλκοόλης στο Κ.Ν.Σ. Η κατανάλωση αιθανόλης (οξεία και χρόνια), επηρεάζει, τόσο τα επίπεδα της σεροτονίνης, τον αριθμό και τη δραστηριότητα συγκεκριμένων σεροτονινεργικών υποδοχέων του Κ.Ν.Σ., όσο και τα επίπεδα άλλων κεντρικών νευροδιαβιβαστών, μέσω της δράσης της στους προαναφερθέντες υποδοχείς. Έτσι λοιπόν, σήμερα, πιστεύεται γενικά πως η σεροτονίνη συμμετέχει στην εκδήλωση της οξείας τοξικότητας της αιθανόλης, στην ανάπτυξη εξάρτησης και αντοχής σε αυτήν, στην εμφάνιση του συνδρόμου στέρησης που ακολουθεί τη διακοπή της, καθώς και στη ρύθμιση της επιθυμίας για κατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης, μέσω ενός μηχανισμού θετικής ενίσχυσης (rewarding effects).

Η οξεία χορήγηση αιθανόλης σε πειραματόζωα, έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της 5-HT σε διάφορες δομές του εγκεφάλου (LeMarquand et al., 1994a), ενώ και στον άνθρωπο, η οξεία κατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης, οδήγησε στην αύξηση των επιπέδων των μεταβολιτών της 5-HT στο αίμα και τα ούρα, γεγονός ενδεικτικό της αύξησης της απελευθέρωσής της στο Κ.Ν.Σ (LeMarquand et al., 1994b). Αναφορικά με τις επιδράσεις της χρόνιας λήψης αιθανόλης στο κεντρικό σεροτονινεργικό σύστημα, βρέθηκε πως τα επίπεδα του κύριου μεταβολίτη της 5-HT (του 5-HIAA) στο ΕΝΥ αλκοολικών ασθενών, ήταν ιδιαίτερα μειωμένα σε σύγκριση με τα αντίστοιχα των φυσιολογικών ατόμων, γεγονός που αντικατοπτρίζει, πιθανότατα, τα χαμηλά επίπεδα 5-HT στον εγκέφαλο των αλκοολικών (LeMarquand et al., 1994b; Pettinati, 1996). Επιπλέον, πειράματα με επίμυες γενετικά προκαθορισμένους να εμφανίζουν εκλεκτική προτίμηση για αιθανόλη (Ρ-επίμυες), έδειξαν χαμηλότερα επίπεδα 5-HT και των μεταβολιτών της, καθώς και μικρότερο αριθμό σεροτονινεργικών νευρώνων στον εγκέφαλο των ζώων αυτών, σε σύγκριση με τα αντίστοιχα επίπεδα των φυσιολογικών επίμυων-μαρτύρων (NP-επίμυες) (LeMarquand et al., 1994a; McBride et al., 1995). Τα πειράματα αυτά, ενισχύουν τη θεωρία που θέλει τους χρόνιους αλκοολικούς να πίνουν προκειμένου να επαναφέρουν τα μειωμένα επίπεδα 5-HT του εγκεφάλου στα φυσιολογικά όρια, δεδομένου, όπως προαναφέραμε, ότι η οξεία κατανάλωση αιθανόλης αυξάνει τα επίπεδά της στον εγκέφαλο. Άλλωστε, είναι πλέον κοινώς αποδεκτή η άποψη, πως η σχέση ανάμεσα στην κατανάλωση αιθανόλης και τη δραστηριότητα του κεντρικού σεροτονινεργικού συστήματος είναι αντιστρόφως ανάλογη, με αποτέλεσμα οι φαρμακολογικοί χειρισμοί που αυξάνουν τα επίπεδα της 5-HT στο Κ.Ν.Σ. να μειώνουν την κατανάλωση αιθανόλης και το αντίστροφο (Nevo & Hamon, 1995).

Οι σεροτονινεργικοί υποδοχείς που επηρεάζονται από την κατανάλωση της αιθυλικής αλκοόλης (οξείας ή χρόνιας) και που ευθύνονται για τη διαμεσολάβηση πολλών από τις δράσεις της στο Κ.Ν.Σ., είναι κυρίως οι 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT₂ και 5-HT₃ (Lovinger, 1999). Η ενεργοποίηση των προσυναπτικών αυτοϋποδοχέων 5-HT_{1A}, φαίνεται πως, εκτός των άλλων, ευοδώνει την κατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης (McKenzie-Quirk & Miczek, 2003), με αποτέλεσμα η χορήγηση αγωνιστών των υποδοχέων 5-HT_{1A} σε πειραματόζωα (Ρ-επίμυες) (Kostowski & Dyt, 1992) και χρόνιους αλκοολικούς (Bruno, 1989), να μειώνει την κατανάλωσή της, μέσω ενεργοποίησης των μετασυναπτικών υποδοχέων 5-HT_{1A} (McKenzie-Quirk & Miczek, 2003). Γενικά, στο χρόνιο αλκοολισμό παρατηρείται μειωμένη δραστηριότητα των μετασυναπτικών υποδοχέων 5-HT_{1A} (Nevo & Hamon, 1995), ενώ μειωμένη έκφραση των υποδοχέων αυτών βρέθηκε σε νεκροτομικό υλικό εγκεφάλου αλκοολικών (Dillon et al., 1991). Εξάλλου, πειράματα με διαγονιδιακά ποντίκια τα οποία δεν εκφράζουν το γονίδιο για τον υποδοχέα 5-HT_{1B}, έδειξαν πως τα ζώα αυτά ήταν πιο ανθεκτικά στις τοξικές επιδράσεις της οξείας χορήγησης αιθανόλης, καθώς

και λιγότερο ευαίσθητα στην ανάπτυξη αντοχής στις δράσεις της, σε σύγκριση με τα αντίστοιχα φυσιολογικά, γεγονός που υποδεικνύει κάποιο ρόλο των υποδοχέων αυτών σε κάποιες από τις παραμέτρους της οξείας τοξικότητας και της εγκατάστασης αντοχής στην αιθυλική αλκοόλη (Crabbe et al., 1996). Παρά το γεγονός του μειωμένου αριθμού των υποδοχέων αυτών στον εγκέφαλο Ρ-επίμυων, που φάνηκε από πειράματα του McBride και συν. (1990), περαιτέρω μελέτες απαιτούνται προκειμένου να διευκρινισθεί η δράση της χρόνιας κατανάλωσης αιθανόλης στους υποδοχείς 5-HT_{1B}. Αναφορικά με τους υποδοχείς 5-HT₂, θα μπορούσαμε να πούμε πως εμφανίζουν μια αυξημένη δραστηριότητα στα πλαίσια του χρόνιου αλκοολισμού, συμβάλλοντας πιθανότατα στα συμπτώματα του συνδρόμου στέρησης που προκύπτει κατά την αποχή από την αιθανόλη, συμπτώματα τα οποία φαίνεται να προλαμβάνονται με τη χορήγηση ανταγωνιστών των υποδοχέων 5-HT₂ (Lal et al., 1993). Επιπλέον, η αυξημένη δραστηριότητα των υποδοχέων αυτών, έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση DA από την κοιλιακή καλυπτρική περιοχή (ventral tegmental area), γεγονός που διεγείρει κέντρα ανταμοιβής του εγκεφάλου και ενισχύει έτσι την κατανάλωση αλκοολούχων ποτών (Brodie et al., 1995). Τέλος, η οξεία έκθεση στην αιθυλική αλκοόλη ενεργοποιεί τους υποδοχείς 5-HT₃, οι οποίοι με τη σειρά τους προκαλούν την απελευθέρωση άλλων κεντρικών νευροδιαβιβαστών (κυρίως GABA και DA), που θα μπορούσαν να ενοχοποιηθούν για κάποια από τα συμπτώματα της οξείας τοξικότητας της αιθανόλης, καθώς επίσης και για την ενεργοποίηση κέντρων ανταμοιβής του εγκεφάλου που όπως προαναφέραμε ευοδώνει την κατανάλωση αιθανόλης (Lovinger & White, 1991). Άλλωστε, ιδιαίτερα ελπιδοφόρα φαίνεται να είναι η χρήση ανταγωνιστών των υποδοχέων 5-HT₃, όπως είναι η ονδανσετρόνη, στην αντιμετώπιση του χρόνιου αλκοολισμού, λόγω κυρίως της πρόληψης απελευθέρωσης DA, και ως εκ τούτου και της συνεπαγόμενης ενεργοποίησης των κέντρων ανταμοιβής του εγκεφάλου (Johnson, 2003).

2.2 Ντοπαμίνη (DA)

Η ντοπαμίνη, μαζί με τη νοραδρεναλίνη, την αδρεναλίνη και τους μεταβολίτες τους, ανήκουν σε μία κατηγορία ενώσεων που είναι γνωστές ως «κατεχολαμίνες», όρος ο οποίος αναφέρεται στις οργανικές ενώσεις που περιλαμβάνουν μία κατεχόλη (βενζολικός δακτύλιος με δύο γειτονικά υδροξύλια) και μία αμινομάδα. Η DA απέκτησε τον τίτλο του νευροδιαβιβαστή στον εγκέφαλο των θηλαστικών σχετικά πρόσφατα. Μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του '50, θεωρούνταν αποκλειστικά ενδιάμεσο μόριο στη βιοσύνθεση της αδρεναλίνης και της νοραδρεναλίνης. Το 1959, ο Carlsson απέδειξε ότι στον εγκέφαλο υπάρχει φυσιολογικά DA και μάλιστα σε συγκέντρωση σχεδόν παραπλήσια με της νοραδρεναλίνης. Εξάλλου, μελέτες που κατέδειξαν πως το μεγαλύτερο ποσοστό της DA στον εγκέφαλο εντοπίζεται στο ραβδωτό σώμα και τη μέλαινα ουσία, οδήγησαν στην υπόθεση ότι η DA ίσως να εμπλέκεται στον εξωπυραμιδικό έλεγχο των κινήσεων, καθώς και ότι η ελάττωσή της στα βασικά γάγγλια θα μπορούσε να αποτελεί την αιτία των εξωπυραμιδικών συμπτωμάτων σε ασθενείς με νόσο του Parkinson και χορεία του Huntington (Carlsson, 1959). Η ανακάλυψη μεγάλων ελλειμμάτων DA στο ραβδωτό σώμα ασθενών με νόσο του Parkinson, καθώς και το γεγονός ότι η λεβοντόπα (L-DOPA) είχε ευνοϊκή επίδραση στους ασθενείς αυτούς, προσέδωσαν κλινική διάσταση στην συγκεκριμένη θεωρία (Cotzias et al., 1967). Εξάλλου, η DA φαίνεται πως εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία και άλλων παθολογικών καταστάσεων, όπως είναι η

σχίζοφρένεια, η μανιοκατάθλιψη, η ημικρανία και το σύνδρομο «Gilles de la Tourette» (Emilien et al., 1999).

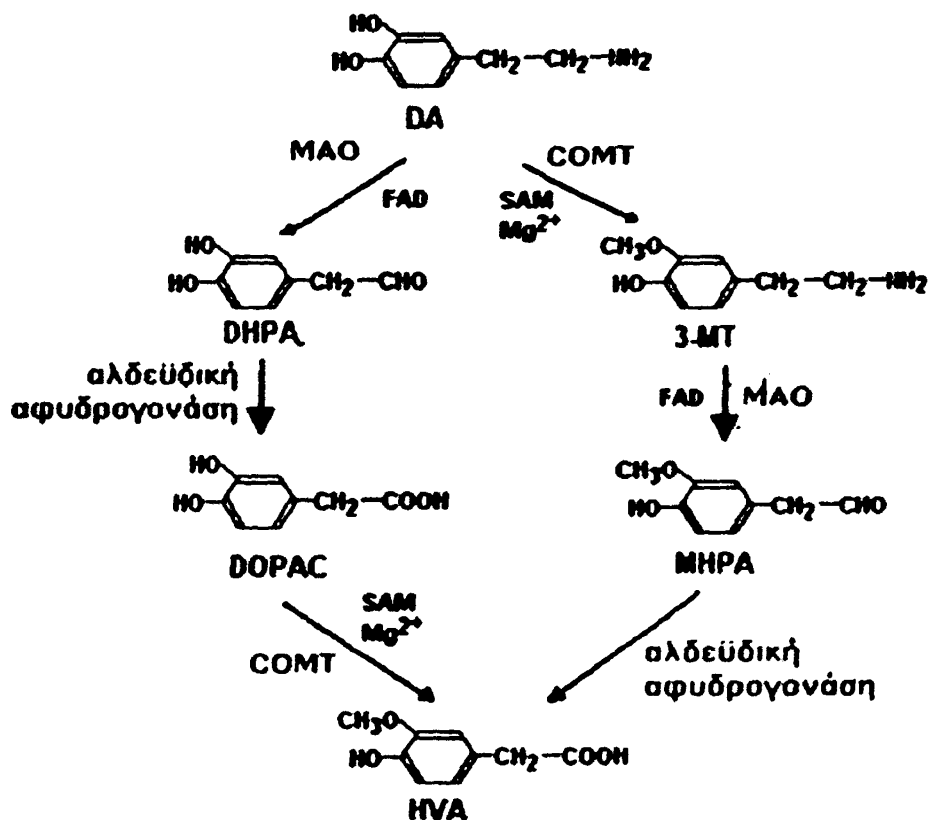
Η βιοσύνθεση της DA, όπως και όλων των κατεχολαμινών στο νευρικό σύστημα, αρχίζει από το αμινοξύ τυροσίνη, το οποίο πρέπει να μεταφερθεί διαμέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες. Το οριακό σημείο στη βιοσύνθεση της DA μετά την είσοδο της L-τυροσίνης στους νευρώνες, είναι η μετατροπή της σε L-διϋδροξυφαινυλαλανίνη (L-DOPA) με τη δράση του ενζύμου υδροξυλάση της τυροσίνης. Πρόκειται για ένα ένζυμο που εντοπίζεται στο μυελό των επινεφριδίων, στον εγκέφαλο και σε όλους τους ιστούς που δέχονται συμπαθητική νεύρωση, ενώ απαραίτητα για τη δράση του θεωρούνται το μοριακό οξυγόνο, ο Fe^{2+} και ένας συμπράγοντας τετραϋδροπτεριδίνης. Στη συνέχεια, η L-DOPA μετατρέπεται σε DA με τη δράση της αποκαρβοξυλάσης των L-αρωματικών αμινοξέων, ενός κυτταροπλασματικού ενζύμου που απαντά στους περισσότερους ιστούς και απαιτεί βιταμίνη B₆ ως συμπράγοντα, ενώ δρα τόσο γρήγορα, ώστε φυσιολογικά τα επίπεδα της L-DOPA στον εγκέφαλο να είναι ασήμαντα.

Τα κύρια ένζυμα μεταβολισμού, τόσο της DA, όσο και των υπόλοιπων κατεχολαμινών, είναι η μοναμινοξειδάση (MAO) και η κατεχολο-Ο-μεθυλοτρανσφεράση (COMT). Η MAO, και κυρίως το ενδονευρωνικό κλάσμα, είναι το ένζυμο που μετατρέπει τις κατεχολαμίνες στις αντίστοιχες αλδεύδες, οι οποίες στη συνέχεια μεταβολίζονται ταχέως, συνήθως με οξειδωση από την αλδεϋδική αφυδρογονάση, προς τα αντίστοιχα οξέα (σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορεί οι αλδεύδες να αναχθούν σε αλκοόλες ή γλυκόλες με τη δράση της αλδεϋδικής αναγωγάσης, όπως συμβαίνει κατά το μεταβολισμό της νοραδρεναλίνης στον εγκέφαλο). Η COMT, είναι ένα σχετικά μη ειδικό ένζυμο, που καταλύει τη μεταφορά μεθυλομάδων από την S-αδενοσυλομεθειονίνη (SAM) στο μ-υδροξύλιο των κατεχολαμινών και άλλων παραγώγων κατεχόλης και απαιτεί για τη δράση του S-αδενοσυλομεθειονίνη και Mg^{2+} . Αποτελεί κυτταροπλασματικό ένζυμο που δρα μάλλον εξωνευρωνικά και απαντά σε αφθονία στο ήπαρ, στους νεφρούς, στο Κ.Ν.Σ., καθώς και σε όργανα που δέχονται συμπαθητική νεύρωση. Η DA που εκλύεται από τους ντοπαμινεργικούς νευρώνες, μετά την επαναπρόσληψή της από τη νευρική απόληξη μετατρέπεται σε διϋδροξυφαινυλοξικό οξύ (DOPAC) με τη δράση της ενδονευρωνικής MAO και της αλδεϋδικής αφυδρογονάσης. Με τη διαδοχική δράση της MAO και της COMT, πιθανόν σε μια εξωνευρωνική θέση, καθώς επίσης και με τη συμμετοχή της αλδεϋδικής αφυδρογονάσης, της αλδεϋδικής αναγωγάσης και της αλκοολικής αφυδρογονάσης, η DA μετατρέπεται επίσης σε ομοβανιλλικό οξύ (HVA). Στον εγκέφαλο των επίμων, ο κύριος μεταβολίτης είναι το DOPAC, ενώ στον άνθρωπο και σε άλλα πρωτεύοντα το HVA (Σχήμα 4).

Οι ντοπαμινεργικοί νευρώνες, εντοπίζονται κυρίως στο εγκεφαλικό στέλεχος, στον οσφρητικό βολβό και στον αμφιβληστροειδή, ενώ είναι οργανωμένοι σε κυτταρικές ομάδες που έχουν χαρακτηριστεί με τα στοιχεία A8-A17 (Dahlstrom & Fuxe, 1964, 1965). Η μεγαλύτερη συγκέντρωσή τους εμφανίζεται στο μεσεγκέφαλο, στις ομάδες A8, A9 και A10. Οι νευρώνες της ομάδας A8 αποτελούν τον παραερυθραίο πυρήνα, ενώ οι νευρώνες της A9 ομάδας βρίσκονται στη συμπαγή ζώνη της μέλαινας ουσίας και της A10 στην κοιλιακή καλυπτρική περιοχή. Οι κυτταρικές ομάδες του διεγκεφάλου (A11-A14), αποτελούνται από πολύ λιγότερα κύτταρα. Η ομάδα A11 βρίσκεται στη ραχιαία και οπίσθια περιοχή του υποθαλάμου και στην περικοιλιακή φαιά ουσία του πρόσθιου θαλάμου, ενώ εκτείνεται μέχρι την αβέβαια ζώνη (zona incerta). Η A12 εντοπίζεται στον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου (arcuate nucleus), η A13 μέσα στην αβέβαια ζώνη, ενώ οι νευρώνες της A14 βρίσκονται στην περικοιλιακή περιοχή του υποθαλάμου από το επίπεδο του

πρόσθιον συνδέσμου μέχρι τη μέση προεξοχή. Τελευταία, στην περιοχή αυτή περιγράφηκε άλλη μία ομάδα, η A15, η οποία εντοπίζεται ραχιαία και κοιλιοπλάγια της προοπτικής περιοχής. Τέλος, οι ντοπαμινεργικοί νευρώνες του οσφρητικού βολβού ονομάστηκαν A16, ενώ οι αντίστοιχοι του αμφιβληστροειδή A17 (Σχήμα 5).

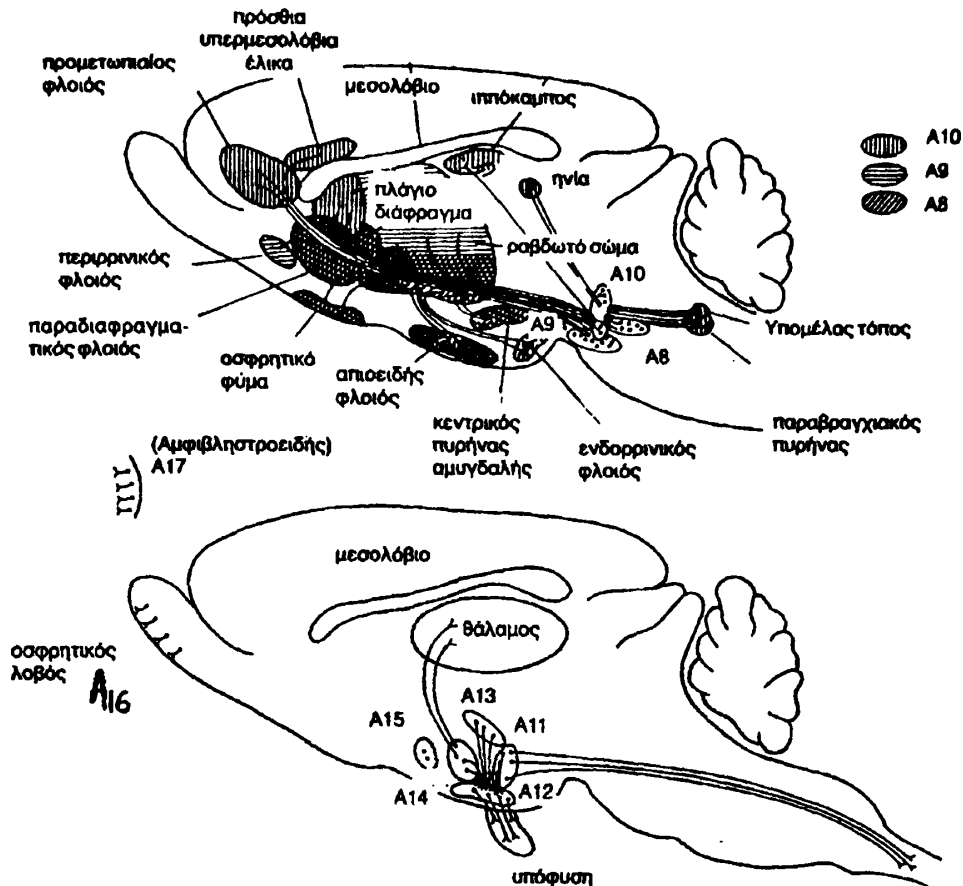
Σχήμα 4. Μεταβολική οδός της ντοπαμίνης.



Το μεσεγκεφαλικό ντοπαμινεργικό σύστημα, είναι ένα πολύ χαρακτηριστικό παράδειγμα του πώς μια πολύ μικρή ομάδα νευρώνων, μπορεί να επηρεάσει διάχυτα τη συνολική λειτουργία του εγκεφάλου με τρόπο αποφασιστικό. Αμφοτερόπλευρη βλάβη του συστήματος αυτού με 6-OH-DA σε πειραματόζωα, προκαλεί ένα χαρακτηριστικό σύνδρομο που περιλαμβάνει καταληψία, ακινησία, μυϊκή δυσκαμψία, αφαγία, αδιψία και ανικανότητα του ζώου να αρχίσει μία κίνηση. Το τελευταίο μάλιστα, θεωρείται χαρακτηριστικό της νόσου του Parkinson (Marsden, 1982). Η ένταση των συμπτωμάτων, σχετίζεται με το βαθμό εκφύλισης της μελαινораβδωτής οδού, ενώ η χορήγηση ντοπαμινεργικών αγωνιστών δρα ευεργετικά (Ljungberg & Ungerstedt, 1976). Φαίνεται λοιπόν, ότι το μεσεγκεφαλικό ντοπαμινεργικό σύστημα, δρώντας ως ένα τονικό ρυθμιστικό σύστημα, ρυθμίζει το επίπεδο δραστηριότητας των απαγωγών νευρώνων του ραβδωτού που ελέγχουν την κινητική συμπεριφορά, ενώ φαίνεται ότι διαδραματίζει βασικό ρόλο σε διεργασίες αισθητικοκινητικής ολοκλήρωσης, καθώς επίσης και στη δημιουργία ενός γενικότερου επιπέδου εγρήγορης, απαραίτητου για την εκτέλεση ορισμένων δραστηριοτήτων (Ungerstedt, 1979). Επιπλέον, οι προβολές του ντοπαμινεργικού συστήματος στο μεταιχμιακό σύστημα, διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη ρύθμιση και το συντονισμό των συναισθηματικών καταστάσεων, ενορμήσεων και ενστίκτων, καθώς και στο

συσχετισμό τους με κινητικές δραστηριότητες που αποβλέπουν στην ικανοποίησή τους. Τέλος, τα διεγκεφαλικά ντοπαμινεργικά συστήματα συμμετέχουν στο νευροενδοκρινικό έλεγχο των υποφυσιακών λειτουργιών.

Σχήμα 5. Κατανομή των κύριων ντοπαμινεργικών οδών στο κεντρικό νευρικό σύστημα των αρουραίων (Coopler et al., 1991).



Αναφορικά με την κυτταρική ανάλυση της λειτουργίας του ντοπαμινεργικού συστήματος, τα περισσότερα δεδομένα προέρχονται από μελέτες της μελανιοραβδωτής οδού. Οι περισσότερες από τις μελέτες αυτές, χρησιμοποιώντας την τεχνική εφαρμογής της DA με ιοντοφόρηση, δείχνουν ότι στο σύστημα αυτό, ποιοτικά, η κύρια απάντηση είναι η αναστολή. Από την άλλη πλευρά, όταν διεγείρονται ηλεκτρικά το κοιλιακό τμήμα της καλύπτρας και η μέλαινα ουσία, οι επιδράσεις της διέγερσης στη λειτουργία των νευρώνων του κερκοφόρου πυρήνα, κυμαίνονται από τη διέγερση ως την αναστολή. Παρά το γεγονός δηλαδή ότι οι περισσότερες ενδείξεις μέχρι σήμερα συνηγορούν για έναν ανασταλτικό ρόλο της DA, απαιτούνται περαιτέρω φαρμακολογικά και ηλεκτροφυσιολογικά δεδομένα, προκειμένου να διευκρινισθεί επακριβώς ο ρόλος της αμίνης αυτής (Coopler et al., 1991).

Οι δράσεις της DA, ασκούνται μέσω μιας σειράς διαμεμβρανικών ντοπαμινεργικών υποδοχέων, συνδεδεμένων με τη G-πρωτεΐνη, οι οποίοι απαντούν, τόσο στο κεντρικό και περιφερικό Ν.Σ., όσο και σε περιφερικούς ιστούς (καρδιά, αιμοφόρα αγγεία, νεφροί, επινεφρίδια, παραθυρεοειδείς αδένες, καρωτιδικό σωματίο

και Γ.Ε.Σ.). Επιπλέον, είναι γνωστό πως αρκετές από τις επιδράσεις της DA ασκούνται μέσω αλληλεπίδρασής της με αδρενεργικούς υποδοχείς, με αποτέλεσμα, για παράδειγμα, να ασκεί θετική ινóτροπο δράση στο μυοκάρδιο και να προκαλεί αγγειοσύσπαση, μέσω ενεργοποίησης β₁ και α₁ αδρενεργικών υποδοχέων στο μυοκάρδιο και τα αγγεία αντίστοιχα. Η ταξινόμηση των ντοπαμινεργικών υποδοχέων, γίνεται με βάση την ικανότητά τους να συνδέονται ή όχι με την αδενυλοκυκλάση (Kebabian & Calne, 1979). Έτσι, διακρίνουμε τους υποδοχείς τύπου D₁, που συνδέονται με την αδενυλοκυκλάση και διεγείρουν τη σύνθεση cAMP και τους τύπου D₂, που δεν συνδέονται με την αδενυλοκυκλάση ή αναστέλλουν τη δραστηριότητά της. Ωστόσο, πολλές πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι οι υποδοχείς της DA είναι δυνατόν να επηρεάζουν την κυτταρική λειτουργία μέσω μηχανισμών ανεξάρτητων από την ενεργοποίηση ή την αναστολή της αδενυλοκυκλάσης. Στους μηχανισμούς αυτούς μπορεί να περιλαμβάνονται άμεσες επιδράσεις στους διαύλους ιόντων K⁺ και Ca⁺⁺, καθώς και η ρύθμιση του σχηματισμού φωσφορικής ινoσιτόλης.

Οι ντοπαμινεργικοί νευρώνες του εγκεφάλου (μεσοτελεγκεφαλικό ντοπαμινεργικό σύστημα), εκτός των άλλων, φαίνεται να παίζουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στις επιδράσεις της αιθυλικής αλκοόλης στον οργανισμό και κυρίως στο σύστημα «ανταμοιβής» της συμπεριφοράς (Samson & Harris, 1992). Κύρια ανατομική και λειτουργική μονάδα του προαναφερθέντος συστήματος, θεωρείται η κοιλιακή καλυπτρική περιοχή, η οποία αποτελεί την πηγή της DA του επικλινή πυρήνα και του προμετωπιαίου φλοιού, δομών που ευοδώνουν τη διαδικασία «ανταμοιβής» μιας δεδομένης συμπεριφοράς. Έτσι λοιπόν, ήδη από το 1974, οι Seeman και Lee, έδειξαν πως η οξεία χορήγηση μεγάλων δόσεων αιθυλικής αλκοόλης σε επίμυες, προκαλεί αύξηση της απελευθέρωσης DA στο ραβδωτό σώμα, ενώ μεταγενέστερες ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες, απέδειξαν πως ακόμη και μικρές δόσεις αιθανόλης, χορηγούμενες οξείως, αυξάνουν το ρυθμό εκφόρτισης των ντοπαμινεργικών νευρώνων της μέλαινας ουσίας και της κοιλιακής καλυπτρικής περιοχής, τόσο *in vivo*, όσο και *in vitro* (Gessa et al., 1985). Σήμερα λοιπόν, είναι πλέον κοινώς αποδεκτό, πως η οξεία χορήγηση αιθυλικής αλκοόλης αυξάνει την απελευθέρωση DA στην κοιλιακή καλυπτρική περιοχή και/ή στον επικλινή πυρήνα, στο σύστημα «ανταμοιβής» δηλαδή του εγκεφάλου, γεγονός που προκαλεί ευφορία και ως εκ τούτου ενίσχυση της περαιτέρω κατανάλωσης αιθανόλης (Berridge & Robinson, 1998; Wise, 1988). Αντίθετα από ότι συμβαίνει κατά την οξεία χορήγηση αιθανόλης, η χρόνια χορήγηση σε επίμυες, οδηγεί σε μείωση της απελευθέρωσης DA, καθώς και σε μείωση της δραστηριότητας της υδροξυλάσης της τυροσίνης στο ραβδωτό σώμα (Rothblat et al., 2001). Είναι χαρακτηριστικό δε, πως επίμυες γενετικά προκαθορισμένοι να καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες αιθανόλης (P-επίμυες), εμφανίζουν 20-30%, περίπου, χαμηλότερα επίπεδα DA στον επικλινή πυρήνα και στον οσφρητικό βολβό, σε σύγκριση με τους μάρτυρες (NP-επίμυες) (Murphy et al., 1987). Φαίνεται δηλαδή, πως η χρόνια κατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης προκαλεί, πιθανότατα, κάποια διαταραχή στο μεσομεταιχμιοφλοιώδες ντοπαμινεργικό σύστημα, που οδηγεί σε μείωση της απελευθέρωσης DA στο σύστημα αυτό και ως εκ τούτου σε αυξημένη κατανάλωση αιθανόλης, προκειμένου να αντισταθμιστεί η διαταραχή και να διατηρηθεί η DA σε υψηλά επίπεδα. Εξάλλου, μείωση της απελευθέρωσης DA στην κοιλιακή καλυπτρική περιοχή προκαλεί και η απότομη διακοπή της κατανάλωσης αιθανόλης μετά από χρόνια λήψη, γεγονός που εμπλέκει το ντοπαμινεργικό σύστημα στην εγκατάσταση της συμπτωματολογίας του συνδρόμου στέρησης που ακολουθεί την αποχή από την αιθυλική αλκοόλη στους χρόνιους αλκοολικούς (Diana et al., 1993). Αναφορικά με τον τύπο των ντοπαμινεργικών υποδοχέων που ενέχονται στις δράσεις της αιθανόλης στο σύστημα «ανταμοιβής» του

εγκεφάλου, θα μπορούσαμε να πούμε πως πρόκειται κυρίως για D₂ υποδοχείς (Nowak et al., 2000). Πράγματι, φαίνεται πως η χορήγηση D₂ ανταγωνιστών περιορίζει την ευφορία που προκαλεί η κατανάλωση αιθανόλης στον άνθρωπο (Ahlenius et al., 1973), ενώ μειώνει την επιθυμία για αλκοόλ στα τρωκτικά (Pfeffer et al., 1985). Κατά ανάλογο τρόπο, διαγωνιδιακά ποντίκια τα οποία δεν εκφράζουν το γονίδιο για τον υποδοχέα D₂ εμφανίζουν μειωμένη επιθυμία για κατανάλωση αιθανόλης (Phillips et al., 1998). Όσον αφορά τις επιδράσεις της αιθυλικής αλκοόλης στους υποδοχείς D₂, τόσο σε ανθρώπους, όσο και σε πειραματόζωα, υποστηρίζεται πως η χρόνια κατανάλωση αιθανόλης δρα κατασταλτικά στον αριθμό και στη λειτουργικότητα των μετασυναπτικών υποδοχέων D₂ (Rommelspacher et al., 1992), δράση η οποία αποτελεί πιθανότατα έναν ομοιοστατικό μηχανισμό, προκειμένου να αποφευχθεί η υπερβολική ενεργοποίηση της ντοπαμινεργικής νευροδιαβίβασης στο ραβδωτό σώμα (Koob & Le Moal, 1997). Ωστόσο, θεωρείται πως η δράση αυτή της χρόνιας κατανάλωσης αιθανόλης στους υποδοχείς D₂ αποτελεί την αιτία της επιθυμίας των χρόνιων αλκοολικών να πίνουν, προκειμένου να αντισταθμίσουν τη διαταραχή αυτή στο ντοπαμινεργικό σύστημα ανταμοιβής (Volkow et al., 2002).

2.3 Νοραδρεναλίνη (NA)

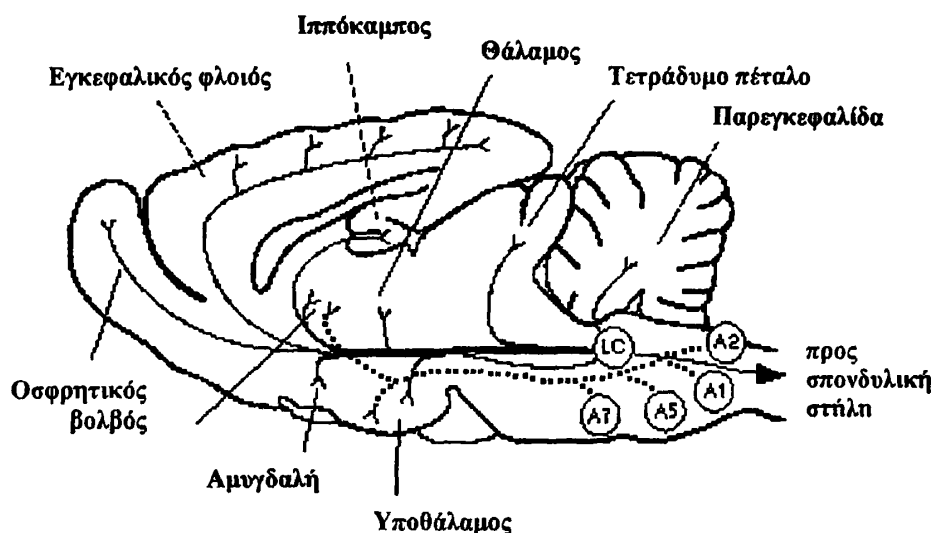
Ο Euler το 1946 στη Σουηδία και λίγο αργότερα ο Holtz στη Γερμανία (Holtz, 1950), έδειξαν ότι τα περιφερικά αδρενεργικά νεύρα του συμπαθητικού Ν.Σ. των θηλαστικών, χρησιμοποιούν ως νευροδιαβιβαστή τη νοραδρεναλίνη, η οποία λίγο αργότερα αναγνωρίστηκε και στον εγκέφαλο των θηλαστικών ως φυσιολογικό συστατικό. Ωστόσο, για μερικά χρόνια θεωρούνταν ότι η παρουσία της NA στον εγκέφαλο, αντανakλούσε απλώς την αγγειοκινητική νεύρωση προς τα εγκεφαλικά αιμοφόρα αγγεία, μέχρι το 1954, οπότε ο Vogt έδειξε ότι η κατανομή της NA στο Κ.Ν.Σ. δεν είναι ομοιόμορφη και δεν συμπίπτει με την πυκνότητα των αιμοφόρων αγγείων. Αυτή η κατά τόπους εντόπιση της NA στον εγκέφαλο των θηλαστικών, υποδηλώνει ότι μπορεί να επιτελεί κάποια εξειδικευμένη λειτουργία και μάλιστα ως κεντρικός νευροδιαβιβαστής. Στα περισσότερα δε θηλαστικά, η σχετική κατανομή της NA στον εγκέφαλο είναι περίπου η ίδια, με μεγαλύτερη συγκέντρωση στον υποθάλαμο, καθώς και σε άλλες περιοχές κεντρικής αντιπροσώπευσης του συμπαθητικού Ν.Σ. Σήμερα, γνωρίζουμε πως NA απελευθερώνεται στην κυκλοφορία από το μυελό των επινεφριδίων, σε διάφορα συμπαθητικώς εννευρούμενα όργανα (όπως το έντερο, η καρδιά, ο σπλήνας κ.ά.) από τις απολήξεις των συμπαθητικών νευρών, καθώς και σε διάφορες οδούς του Κ.Ν.Σ. από κεντρικούς νοραδρενεργικούς νευρώνες, ασκώντας, είτε διεγερτική, είτε ανασταλτική δράση.

Η NA συντίθεται από τη DA, με τη δράση της β-υδροξυλάσης της ντοπαμίνης (DBH), μιας οξειδάσης μικτής λειτουργίας, που περιέχει Cu²⁺ (2moles/mole ενζύμου), απαιτεί μοριακό οξυγόνο για τη δράση της και χρησιμοποιεί ως συμπράγοντα το ασκορβικό οξύ. Ανευρίσκεται δε στους αδρενεργικούς νευρώνες ή στο χρωμιόφιλο ιστό των επινεφριδίων, εντός της μεμβράνης των κυστιδίων αποθήκευσης των αμινών. Τα δικαρβονικά οξέα, όπως για παράδειγμα το φουμαρικό, διεγείρουν τη δράση της, ενώ αναστέλλεται από διάφορες ενώσεις και ιδιαίτερα από τις χηλικές ενώσεις που δεμεύουν το χαλκό (D-κυστεΐνη, L-κυστεΐνη, γλουταθειόνη, μερκαπτοαιθανόλη, δισουλφιράμη κ.ά.).

Στο Π.Ν.Σ., η αλδεϋδη που παράγεται από την επίδραση της MAO στη NA, οξειδώνεται στο αντίστοιχο οξύ ή ανάγεται στην αντίστοιχη γλυκόλη, με την οξείδωση να υπερβαίνει συνήθως την αναγωγή, έτσι ώστε ο κύριος μεταβολίτης της

τόπο, διασκορπισμένοι σε όλη την έκταση των εξωκοιλιακών καλυπτρικών πεδίων, σχηματίζοντας τους πυρήνες A1, A2, A5 και A7. Ο νοραδρενεργικός πυρήνας A7 εντοπίζεται στην έξω καλυπτρική περιοχή, ενώ οι πυρήνες A1, A2 και A5 βρίσκονται σε μια πιο ουραία θέση στον προμήκη μυελό. Οι ίνες που ξεκινούν από τους πυρήνες αυτούς, αποτελούν την κοιλιακή νοραδρενεργική δέσμη, με αυτές που προέρχονται από τα οπίσθια επίπεδα της καλύπτρας να ακολουθούν καθοδική πορεία προς το μεσεγκέφαλο και το Ν.Μ. και εκείνες που προέρχονται από τα πρόσθια επίπεδα να συμβάλλουν στη νεύρωση του πρόσθιου εγκεφάλου και του διεγκεφάλου (Σχήμα 7).

Σχήμα 7. Κατανομή των κύριων νοραδρενεργικών οδών στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Holmes & Crawley, <http://www.acnp.org/g4/4thgen.php>).



Πολλές λειτουργίες έχουν αποδοθεί στους κεντρικούς νοραδρενεργικούς νευρώνες και στις συναπτικές τους συνδέσεις. Από τις υποθέσεις που έχουν διατυπωθεί, πολλά δεδομένα υπάρχουν υπέρ αυτών που αναφέρονται στο ρόλο των εν λόγω νευρώνων στη συναισθηματική ψύχωση, στη μάθηση, στη μνήμη, στην ενίσχυση μιας συμπεριφοράς (reinforcement), στη ρύθμιση του κύκλου ύπνου-εγρήγορης, στην αντίληψη του πόνου, καθώς και στην αντίληψη-αντίδραση σε αγχογόνα ερεθίσματα. Έχει επίσης διατυπωθεί η άποψη ότι η κύρια λειτουργία των κεντρικών νοραδρενεργικών νευρώνων δεν αφορά καθόλου τη νευρωνική δραστηριότητα και τα σχετιζόμενα φαινόμενα της συμπεριφοράς, αλλά συνίσταται σε μία γενικότερη επίδραση στην αιμάτωση και το μεταβολισμό του εγκεφάλου. Ωστόσο, τα δεδομένα σήμερα συμφωνούν περισσότερο με μια πιο γενική πρόταση, σύμφωνα με την οποία η κύρια λειτουργία του υπομέλανος τόπου και των προβολών του, είναι να καθορίζουν τον καθολικό προσανατολισμό του εγκεφάλου αναφορικά με γεγονότα του «έξω» κόσμου και των σπλάγχχνων (Cooper et al., 1991).

Οι δράσεις της NA, τόσο στο Κ.Ν.Σ., όσο και στην περιφέρεια, επιτελούνται μέσω δύο κατηγοριών υποδοχέων, των α- και των β-αδρενεργικών υποδοχέων. Ανάλογα με τη φύση του υποδοχέα που ενεργοποιείται, τίθεται σε λειτουργία μία αλληλουχία μεμβρανικών και ενδοκυτταρικών γεγονότων, που αναγκάζουν το κύτταρο να απαντήσει με μία εξειδικευμένη λειτουργία. Η ανάπτυξη συνθετικών ενώσεων, δραστικών για τους αδρενεργικούς υποδοχείς, επέτρεψε την περαιτέρω

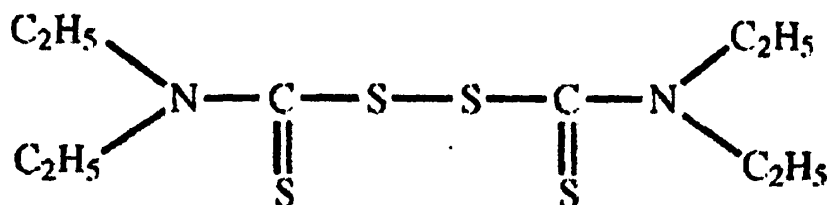
διάκριση αυτών των υποδοχέων σε α_1 -, α_2 - και β_1 -, β_2 -. Επιπλέον, το 1989 αναγνωρίστηκε ένα ανθρώπινο γονίδιο που κωδικοποιεί έναν τρίτο υπότυπο β -αδρενεργικών υποδοχέων (β_3 -), ο οποίος είναι πιο ευαίσθητος στη νοραδρεναλίνη, παρά στην αδρεναλίνη και πιθανώς να διαμεσολαβεί τις απαντήσεις στις κατεχολαμίνες σε θέσεις με «άτυπα» φαρμακολογικά χαρακτηριστικά, όπως είναι για παράδειγμα ο λιπώδης ιστός (Emorine et al., 1989). Η κλωνοποίηση των αδρενεργικών υποδοχέων, έδειξε πως αποτελούν μέλη μιας μεγαλύτερης οικογένειας ορμονικών υποδοχέων, που η δραστηριότητά τους διαμεσολαβείται μέσω αλληλεπίδρασης με μία από τις διάφορες ρυθμιστικές πρωτεΐνες που συνδέονται με νουκλεοτίδια γουανίνης (πρωτεΐνες G). Έτσι, οι β -αδρενεργικοί υποδοχείς διεγείρουν τη G_s πρωτεΐνη, η οποία ενεργοποιεί την αδενυλική κυκλάση και αυξάνεται η παραγωγή cAMP, οι α_1 - ενεργοποιούν τη φωσφολιπάση C μέσω μιας απροσδιόριστης ακόμη πρωτεΐνης G και κινητοποιούν το ενδοκυττάριο ασβέστιο, ενώ οι α_2 -αδρενεργικοί υποδοχείς μειώνουν τη δραστηριότητα της αδενυλικής κυκλάσης συνδεόμενοι με τη G_i πρωτεΐνη, αναστέλλοντας την παραγωγή cAMP. Οι α_1 - και οι β_1 -αδρενεργικοί υποδοχείς, εντοπίζονται μετασυναπτικά, ενώ οι α_2 - και οι β_2 - είναι τόσο μετασυναπτικοί, όσο και προσυναπτικοί (Borchard, 1998; Solanto, 1998). Γενικά, αν και η ενεργοποίηση των προσυναπτικών υποδοχέων, όπως για παράδειγμα των α_2 -αυτουποδοχέων, αναστέλλει την απελευθέρωση NA, είναι δυνατόν η ενεργοποίηση αδρενεργικών υποδοχέων σε προσυναπτικές θέσεις, να οδηγήσει σε αύξηση της απελευθέρωσης NA, όπως συμβαίνει στην περίπτωση των προσυναπτικών β_2 -υποδοχέων (Hoffman & Lefkowitz, 1996).

Μεγάλος αριθμός μελετών έχουν διεξαχθεί προκειμένου να διευκρινιστούν οι επιδράσεις της οξείας και χρόνιας κατανάλωσης αιθανόλης στο κεντρικό νοραδρενεργικό σύστημα. Οι Carlsson και Lindqvist (1973) αποφάνθηκαν πως η χορήγηση, έστω και μίας δόσης αιθανόλης σε επίμυες, αυξάνει τη σύνθεση και το ρυθμό ανακύκλωσης της NA στον εγκέφαλο, χωρίς ωστόσο να μεταβάλλει τα επίπεδά της. Στα πλαίσια παρόμοιας μελέτης (Rossetti et al., 1992), η οξεία χορήγηση μικρών (0,2 g/kg) ή μεγάλων (2 g/kg) δόσεων αιθυλικής αλκοόλης σε επίμυες, προκάλεσε αύξηση ή μείωση, αντίστοιχα, της απελευθέρωσης NA στον πρόσθιο εγκεφαλικό φλοιό, γεγονός που αντανάκλα, πιθανότατα, τη διεγερτική ή κατασταλτική δράση που ασκούν στο Κ.Ν.Σ. οι μικρές ή μεγάλες δόσεις της αιθανόλης αντίστοιχα. Εξάλλου, η χρόνια χορήγηση αιθανόλης σε επίμυες, αύξησε τα επίπεδα της NA στον υπόκαμπο (Huttunen, 1991), ενώ επιπλέον, αυξημένα βρέθηκαν τα επίπεδα του MHPG στο ENY αλκοολικών ασθενών (Borg et al., 1983). Ένα άλλο ιδιαίτερα σημαντικό χαρακτηριστικό του κεντρικού νοραδρενεργικού συστήματος, σε σχέση με την κατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης, αποτελεί η πιθανή εμπλοκή του στο μηχανισμό ανταμοιβής και ενίσχυσης της κατανάλωσης αιθανόλης. Πράγματι, βρέθηκε πως η πρόκληση βλάβης στους κεντρικούς νοραδρενεργικούς νευρώνες (Brown & Amit, 1977) ή η αναστολή της σύνθεσης NA στο Κ.Ν.Σ. (Davis et al., 1978) οδήγησε σε μείωση της κατανάλωσης αιθανόλης, προφανώς λόγω διακοπής της δράσης της NA στο σύστημα ανταμοιβής και ενίσχυσης.



3. Δισουλφιράμη

Η δισουλφιράμη αποτελεί ένα δισουλφίδιο της τετρααιθυλθειουράμης ($C_{10}H_{20}N_2S_4$), που απαντά με τη μορφή λευκοκίτρινης, άοσμης και ελαφρώς πικρής κρυσταλλικής σκόνης, η οποία είναι πρακτικά αδιάλυτη στο νερό και διαλυτή στην αιθανόλη και το χλωροφόρμιο.



3.1 Ενδείξεις

Η μόνη κλινική ένδειξη της δισουλφιράμης, είναι η χρήση της στην πρόληψη της κατανάλωσης οινοπνεύματος από χρόνιους αλκοολικούς, οι οποίοι έχουν αποφασίσει να απεξαρτηθούν και οι οποίοι παράλληλα βρίσκονται υπό υποστηρικτική ψυχοθεραπεία, στα πλαίσια ενός οργανωμένου προγράμματος απεξάρτησης.

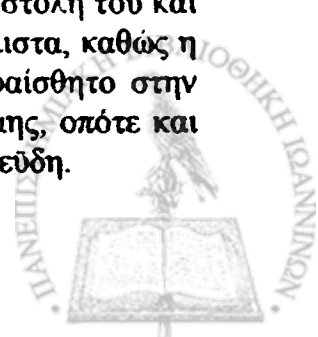
Ήδη από το 1937, ο Williams είχε αναφέρει τη δυσανεξία στην αιθυλική αλκοόλη που εμφάνιζαν οι εργάτες της βιομηχανίας του καουτσούκ, όπου η χρήση του δισουλφιδίου του άνθρακα (ουσία συγγενής με τη δισουλφιράμη) ως αντιοξειδωτικού ήταν ιδιαίτερα διαδεδομένη. Η καθιέρωση, ωστόσο, της δισουλφιράμης ως θεραπευτικού μέσου για την αντιμετώπιση του χρόνιου αλκοολισμού, ήρθε λίγα χρόνια αργότερα, από μία τυχαία παρατήρηση δύο Δανών φαρμακολόγων, οι οποίοι μελετούσαν την πιθανή ανθελμινθική δράση του φαρμάκου. Στα πλαίσια της μελέτης της τοξικότητας της δισουλφιράμης, οι δύο αυτοί ερευνητές πήραν το φάρμακο και στη συνέχεια, ανυποψίαστοι, κατανάλωσαν οινόπνευμα, με αποτέλεσμα να βιώσουν μία σειρά δυσάρεστων συμπτωμάτων, τα οποία συνολικά χαρακτηρίστηκαν ως «αντίδραση δισουλφιράμης» (Hald & Jacobsen, 1948a). Έκτοτε, η δισουλφιράμη προτάθηκε και καθιερώθηκε στη θεραπεία του χρόνιου αλκοολισμού (Hald et al., 1948; Martensen-Larsen, 1948), ενώ ακόμη και σήμερα η χρήση της είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη. Στις Η.Π.Α., 200000, περίπου, αλκοολικοί είναι υπό θεραπεία με δισουλφιράμη (Nassberger, 1984), ενώ μόνο το 1980 στη χώρα αυτή, χρησιμοποιήθηκαν 4100 kg του φαρμάκου (Schade et al., 1983).

3.2 Μηχανισμός δράσης

Όταν η δισουλφιράμη χορηγείται μόνη της, σε λογικές δόσεις, όντας μία σχετικά μη τοξική ουσία, δεν έχει σχεδόν καμία επίδραση στον ανθρώπινο οργανισμό. Ωστόσο, επειδή έχει την ιδιότητα να αναστέλει την ηπατική ALDH, όταν συγχορηγείται με οινόπνευμα, αυξάνει τα επίπεδα της ακεταλδεΐδης στο πλάσμα μέχρι και δέκα φορές πάνω από τα αντίστοιχα που παρατηρούνται κατά το μεταβολισμό της αιθανόλης, οδηγώντας σε μια σειρά δυσάρεστων για το άτομο

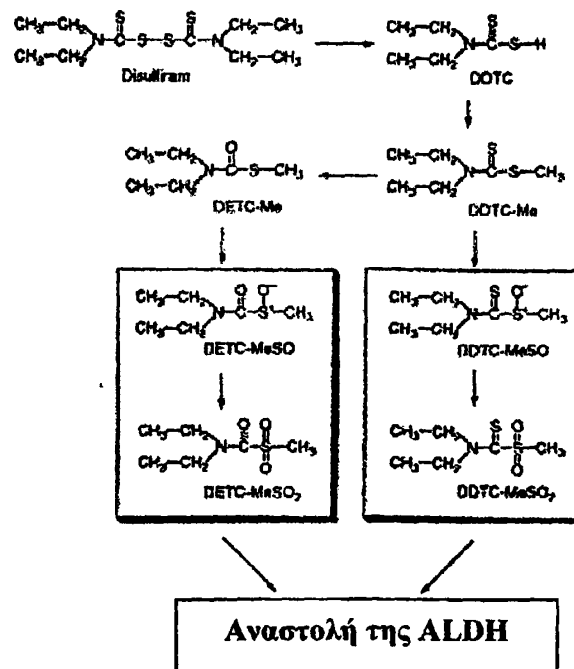
συμπτωμάτων, γνωστών ως «αντίδραση δισουλφιράμης». Σε αυτήν ακριβώς τη λογική, στηρίζεται και η χρήση της στο χρόνιο αλκοολισμό. Ο ασθενής, δηλαδή, που βρίσκεται υπό θεραπεία με δισουλφιράμη, γνωρίζοντας τα δυσάρεστα συμπτώματα που θα βιώσει με την κατανάλωση οινοπνεύματος, αποφεύγει να πίνει (Richie, 1985). Πιο συγκεκριμένα, 5-15 λεπτά μετά την κατανάλωση ακόμη και μικρών ποσοτήτων αιθανόλης (της τάξεως των 7 ml) και εφόσον το άτομο έχει λάβει δισουλφιράμη (3-12 ώρες πριν), μπορεί να εμφανίσει ερυθρότητα στο δέρμα του προσώπου, του τραχήλου και του κορμού (flushing), αδυναμία, επιδρωση, έντονη δίψα, κεφαλαλγία, ναυτία, έμετο, ίλιγγο, δυσλωπία, ταχυκαρδία, δύσπνοια, πόνο στο στήθος και υπόταση. Τα συμπτώματα αυτά, έχουν άλλοτε άλλη χρονική αλληλουχία και ένταση και διαρκούν συνήθως 20-30 λεπτά μέχρι και μερικές ώρες, οπότε το άτομο βυθίζεται σε ύπνο, για να ξυπνήσει ύστερα από κάποιες ώρες σε γενικά καλή κατάσταση (Richie, 1985). Έχουν αναφερθεί, ωστόσο, και σοβαρότερες αντιδράσεις, οι οποίες περιλαμβάνουν επιπλέον, καρδιακές αρρυθμίες, έμφραγμα του μυοκαρδίου, πτώση της αρτηριακής πίεσης σε επίπεδο καταπληξίας και οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν ακόμη και στο θάνατο (Jacobsen, 1952; Heath et al., 1992). Αξίζει να σημειωθεί, πως πέραν της οξείας φάσης, θάνατοι έχουν παρατηρηθεί και αρκετές ημέρες μετά την «αντίδραση δισουλφιράμης», λόγω κυρίως εγκεφαλικής αιμορραγίας ή εγκεφαλικού εμφράκτου (Althoff, 1968). Οι περισσότερες θανατηφόρες αντιδράσεις, πάντως, που αναφέρονται στη βιβλιογραφία, αφορούν ασθενείς που έλαβαν υψηλές δόσεις δισουλφιράμης (>1,5 g/ημέρα) και κατανάλωσαν μεγάλες ποσότητες οινοπνεύματος. Ωστόσο, δεν λείπουν και οι περιπτώσεις εκείνες, όπου ο θάνατος προήλθε μετά από συνδυασμό χαμηλών δόσεων, τόσο της δισουλφιράμης, όσο και της αιθανόλης (Becker & Sugartman, 1952). Όσον αφορά τη θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών εκείνων στους οποίους η «αντίδραση δισουλφιράμης» είναι ιδιαίτερα έντονη ή και επικίνδυνη, πρέπει να αναφέρουμε πως κατά κύριο λόγο είναι υποστηρικτική. Δεν υπάρχει, δηλαδή, αντίδοτο που να αναστρέφει την κλινική εικόνα της «αντίδρασης δισουλφιράμης». Έτσι λοιπόν, χορηγούμε οξυγόνο, αντιμετωπίζουμε τις πιθανές αρρυθμίες ή/και την ισχαιμία του μυοκαρδίου έχοντας τον ασθενή κάτω από στενή ηλεκτροκαρδιογραφική παρακολούθηση, υποστηρίζουμε μηχανικά την αναπνοή όταν αυτό είναι απαραίτητο, ενώ για την αντιμετώπιση της υπότασης τοποθετούμε τον ασθενή σε θέση Trendelenburg χορηγώντας ενδοφλέβια υγρά και νοραδρεναλίνη. Η ενδοφλέβια χορήγηση σιδήρου ή/και ασκορβικού οξέος που χρησιμοποιήθηκε στο παρελθόν ως αντίδοτο, δεν φαίνεται να έχει ιδιαίτερη αποτελεσματικότητα, σε αντίθεση με την ενδοφλέβια έγχυση 4-μεθυλπυραζόλης, ενός αναστολέα της αλκοολικής αφυδρογονάσης, που εμποδίζει τον περαιτέρω σχηματισμό ακεταλδεϋδης και μετριάξει σε κάποιο βαθμό τα συμπτώματα της «αντίδρασης δισουλφιράμης» (Brewer, 1993; Lindros et al., 1981).

Τα περισσότερα από τα συμπτώματα που παρατηρούνται στα πλαίσια της «αντίδρασης δισουλφιράμης», αποδίδονται κατά γενική παραδοχή, όπως προαναφέρθηκε, στην άθροιση ακεταλδεϋδης στο πλάσμα. Η άθροιση αυτή της ακεταλδεϋδης, που εμφανίζεται με την κατανάλωση οινοπνεύματος σε άτομα που λαμβάνουν δισουλφιράμη, οφείλεται στην ιδιότητα του φαρμάκου να αντιδρά με σουλφυδρυλικές ομάδες της αλδεϋδικής αφυδρογονάσης, του κύριου ενζύμου οξειδωσης της ακεταλδεϋδης, προκαλώντας έτσι τη μη αντιστρεπτή αναστολή του και συνεπώς διακοπή του περαιτέρω μεταβολισμού της ακεταλδεϋδης. Μάλιστα, καθώς η αναστολή του ενζύμου είναι μη αντιστρεπτή, το άτομο παραμένει ευαίσθητο στην αιθανόλη ακόμη και 14 ημέρες μετά την τελευταία δόση δισουλφιράμης, οπότε και συντίθενται νέα μόρια του ενζύμου ικανά να μεταβολίσουν την ακεταλδεϋδη.



Οι ηπατικές αλδεϋδικές αφυδρογονάσες, διακρίνονται σε διάφορα ισοένζυμα, που διαφέρουν ως προς την υποκυτταρική κατανομή, την ηλεκτροφορητική κινητικότητα, το ισοηλεκτρικό σημείο, τις κινητικές ιδιότητες, το μοριακό βάρος, καθώς και ως προς την εξειδίκευσή τους για κάποιο υπόστρωμα. Από τα ισοένζυμα αυτά, φαίνεται πως το κυρίως υπεύθυνο για τον ηπατικό μεταβολισμό της ακεταλδεϋδης είναι το low-Km μιτοχονδριακό κλάσμα του ενζύμου (ALDH2), το οποίο μάλιστα αναστέλλεται από τη δισουλφιράμη, τόσο *in vivo*, όσο και *in vitro* (Hellstrom & Tottmär, 1982; Marjanen, 1973; Eriksson et al., 1975). Η προχορήγηση αναστολέων του κυτοχρώματος P450 σε επίμυες, μπλοκάρει την ανασταλτική δράση της δισουλφιράμης στην ηπατική ALDH2, γεγονός που καταδεικνύει κάποιο μεταβολίτη της ως υπεύθυνο για την αναστολή του ενζύμου (Yourick & Faiman, 1991). Η διαπίστωση, μάλιστα, πως ένας μεταβολίτης της δισουλφιράμης, ο μεθυλεστέρας του διεθυλοδιθειοκαρβαμιδίου (DDTC-Me), αναστέλλει *in vivo* την ηπατική ALDH2 στον επίμυ (Yourick & Faiman, 1987), αποτέλεσε το έναυσμα σειράς ερευνών, για την ανεύρεση του μεταβολίτη στον οποίο πρέπει να βιοενεργοποιηθεί η δισουλφιράμη, προκειμένου να ανασταλλεί το ένζυμο. Έτσι, το 1992, οι Hart και Faiman, πρότειναν το S-μεθυλ N,N-διεθυλοδιθειοκαρβαμιδικό σουλφοξείδιο (DETC-MeSO), ως τον υπεύθυνο μεταβολίτη της δισουλφιράμης για την *in vivo* αλλά και την *in vitro* αναστολή της ηπατικής ALDH2 (Hart & Faiman, 1992) (Σχήμα 8).

Σχήμα 8. Μεταβολική ενεργοποίηση της δισουλφιράμης (Hu et al., 1997).



Ο ενεργός αυτός μεταβολίτης, προκύπτει από σουλφοξείδωση του S-μεθυλ N,N-διεθυλοδιθειοκαρβαμιδίου (DETC-Me), με τη δράση μιας σειράς κυτοχρωμάτων, καθώς και τη συμμετοχή, σε μικρότερο βαθμό, μιας μονοξυγενάσης που περιέχει φλαβίνη (FMO) (Madan et al., 1993). Στον επίμυ, το CYP1A1/2, CYP2B1/2 και το CYP3A1/2 φαίνεται να παίζουν τον κύριο ρόλο στη σουλφοξείδωση του DDTC-Me, ενώ αντίστοιχο ρόλο στον άνθρωπο φαίνεται να

έχουν το CYP3A4, CYP1A2, CYP2A6, καθώς και το CYP2D6 (Madan et al., 1995, 1998). Ο μηχανισμός με τον οποίο το DETC-MeSO αναστέλλει την ηπατική ALDH2, σχετίζεται με την πρόσδεσή του στην Cys₃₀₂ του ενεργού κέντρου του ενζύμου, με τις πυρηνόφιλες σουλφυδρυλικές ομάδες της οποίας σχηματίζει ομοιοπολικούς δεσμούς, προκαλώντας τη μη αντιστρεπτή αναστολή του ενζύμου (Tomlinson et al., 1997; Lipsky et al., 2001; Shen et al., 2001). Άλλωστε, η προαπαιτούμενη μεταβολική ενεργοποίηση της δισουλφιράμης, προκειμένου να ανασταλλεί ο ηπατικός μεταβολισμός της ακεταλδεύδης, ερμηνεύει και το γεγονός της μη απάντησης κάποιων αλκοολικών στο φάρμακο, καθώς η ηπατική μεταβολική ικανότητα των ασθενών αυτών ενδέχεται να έχει επηρεαστεί από την κατάχρηση του οινόπνευματος.

Πολλοί ερευνητές, εκδήλωσαν από την αρχή την απορία τους, σχετικά με το πώς είναι δυνατόν μία ουσία με έμμεση συμπαθητικομιμητική δράση, όπως είναι η ακεταλδεύδη, να προκαλεί υπόταση, ένα από τα πιο χαρακτηριστικά συμπτώματα της «αντίδρασης δισουλφιράμης». Απάντηση στο ερώτημα αυτό, φάνηκε να δίνεται λίγα χρόνια αργότερα, όταν διαπιστώθηκε η ανασταλτική δράση της δισουλφιράμης, και πιο συγκεκριμένα ενός μεταβολίτη της, του διαιθυλοδιθειοκαρβαμίδιου (DDTC), στη δραστηριότητα της β-υδροξυλάσης της ντοπαμίνης (DBH), ενός ενζύμου υπεύθυνου για τη μετατροπή της DA σε NA, τόσο στους κεντρικούς, όσο και στους περιφερικούς αδρενεργικούς νευρώνες (Goldstein et al., 1964). Η αναστολή αυτή της DBH, οφείλεται στην ικανότητα του DDTC να συνδέεται με Cu⁺⁺ (Marselos et al., 1977) και έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της DA και τη μείωση των επιπέδων της NA στον εγκέφαλο, στην καρδιά και σε διάφορα άλλα όργανα (Goldstein & Nakajima, 1967; Musacchio et al., 1966). Η μείωση αυτή στη σύνθεση της νοραδρεναλίνης, έχει ενοχοποιηθεί από πολλούς ερευνητές για την υπόταση και ίσως και κάποια άλλα από τα συμπτώματα της «αντίδρασης δισουλφιράμης» (Kitson, 1977; Eneanya et al., 1981; Richie, 1985). Πιο συγκεκριμένα, η ακεταλδεύδη που συσσωρεύεται στα πλαίσια της «αντίδρασης δισουλφιράμης», ασκεί τη συμπαθητικομιμητική της δράση, μέσω απελευθέρωσης NA στις νευρικές απολήξεις του συμπαθητικού, προκαλώντας έτσι αγγειοσύσπαση και πρόσκαιρη αύξηση της αρτηριακής πίεσης (Dunitz & Truitt, 1966). Ωστόσο, με την εξάντληση των αποθεμάτων της NA και εφόσον η σύνθεση νέων ποσοτήτων της αμίνης εμποδίζεται από την ανασταλτική δράση της δισουλφιράμης στη DBH, η ακεταλδεύδη δρα απευθείας στα αγγεία, προκαλώντας τελικά αγγειοδιαστολή και υπόταση, με ένα μηχανισμό που σχετίζεται, πιθανώς, με την αλληλεπίδρασή της με ιοντικές σουλφυδρυλικές ομάδες (Nakano et al., 1974; Gailis, 1975). Εξάλλου, πέραν των περιφερικών, είναι γνωστός και ο ρόλος των κεντρικών επιπέδων της NA στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, καθώς έγχυση της αμίνης στον υποθάλαμο προκαλεί αύξηση της πίεσης του αίματος, μέσω ενεργοποίησης α₁-αδρενεργικών υποδοχέων (Van Huysse & Bealer, 1991). Είναι προφανές λοιπόν, πως η μείωση των επιπέδων της NA στο Κ.Ν.Σ., που προκαλείται από την αναστολή της DBH, θα συμβάλλει επίσης στην υποτασική δράση της δισουλφιράμης. Νεώτερες ωστόσο μελέτες, υποστηρίζουν πως η συμμετοχή της DBH στην υπόταση που παρατηρείται στα πλαίσια της «αντίδρασης δισουλφιράμης», είχε ίσως υπερεκτιμηθεί στο παρελθόν, καθώς φαίνεται πως η πτώση αυτή της αρτηριακής πίεσης, θα μπορούσε τελικά να αποδοθεί στη δράση της ακεταλδεύδης, ανεξάρτητα από την αναστολή της DBH. Η υποτασική αυτή δράση της ακεταλδεύδης, αποδόθηκε στην κεντρική δράση της ή/και στην ικανότητά της να αναστέλλει το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης, οδηγώντας σε μειωμένη σύνθεση του έντονα αγγειοσυσπαστικού αυτού παράγοντα (Pawlak, 1992; Thevananther & Brecher, 1993).

Εξάλλου, όπως προαναφέραμε, πέραν της υπότασης, στην αναστολή της DBH έχει αποδοθεί γενικότερα η συμπτωματολογία της «αντίδρασης δισουλφιράμης», με την έννοια της καταστολής του Κ.Ν.Σ. που προκαλεί η πτώση των επιπέδων της ΝΑ στον εγκέφαλο. Δεδομένης δηλαδή της σημασίας της ΝΑ του Κ.Ν.Σ. στο επίπεδο εγρήγορσης του ατόμου, θα μπορούσαμε να υποστηρίξουμε πως η πτώση των επιπέδων της που προκαλείται από τη δισουλφιράμη, μέσω αναστολής της DBH, θα έχει κατασταλτική δράση στο Κ.Ν.Σ., που σε συνδυασμό με τη γνωστή κατασταλτική δράση του οίνοπνεύματος, μπορεί να συμβάλλει στην «αδιαθεσία» αυτή που ακολουθεί τη συγχορήγηση δισουλφιράμης και οίνοπνεύματος (Rossetti et al., 1992).

Πέραν της αναστολής της ηπατικής ALDH2, η δισουλφιράμη αναστέλει επιπλέον και την ALDH στον εγκέφαλο, επιφέροντας μια σειρά αλλαγών στο μεταβολισμό των κεντρικών βιογενών αμινών, οι οποίες έχουν ενοχοποιηθεί για τη συμπτωματολογία της «αντίδρασης δισουλφιράμης» (Hellstrom & Tottmar, 1982; Pettersson & Tottmar, 1982). Έτσι, η αναστολή της ALDH του εγκεφάλου από τη δισουλφιράμη, έχει σαν αποτέλεσμα την άθροιση ακεταλδεϋδης στον εγκεφαλικό ιστό, μετά την κατανάλωση αιθανόλης, γεγονός που προκαλεί, εκτός των άλλων, απελευθέρωση και αύξηση των επιπέδων της 5-HT στο Κ.Ν.Σ. (Eade, 1959). Δεδομένου δε του ότι και η ίδια η αιθανόλη ασκεί ευοδωτική δράση στα επίπεδα της 5-HT του εγκεφάλου (Yoshimoto et al., 1992; LeMarquand, 1994a; McBride, 1993; Thielen et al., 2001), είναι προφανές πως η συγχορήγησης της με τη δισουλφιράμη, θα μπορούσε να οδηγήσει σε σημαντικού βαθμού αύξηση της αμίνης αυτής στο Κ.Ν.Σ., όπως άλλωστε έχει αποδειχθεί από πειράματα σε επίμυες (Fukumori et al., 1980). Εξάλλου, και καθώς έχει παρατηρηθεί πως ασθενείς με αυξημένα επίπεδα 5-HT στον εγκέφαλο, συνεπεία μεταστατικού καρκινοειδούς όγκου, εμφανίζουν μία τοξική αντίδραση στην αιθανόλη παρόμοια με την «αντίδραση δισουλφιράμης» (Snow et al., 1995), θα μπορούσαμε να υποθέσουμε πως τα αυξημένα επίπεδα της 5-HT στον εγκέφαλο, σχετίζονται πιθανότατα με τη συμπτωματολογία της εν λόγω αντίδρασης (Kitson, 1977). Σε ενίσχυση της θεωρείας αυτής, μπορούμε επιπλέον να αναφέρουμε τις παρενέργειες που εμφανίζονται στα πλαίσια της αντικαταθλιπτικής αγωγής με τους εκλεκτικούς αναστολείς της επαναπρόσληψης 5-HT (SSRIs). Πράγματι, καθώς τα φάρμακα αυτά δρουν αυξάνοντας τα επίπεδα της 5-HT στο Κ.Ν.Σ., ενδέχεται σε περιπτώσεις υπέρμετρης αύξησης της μονοαμίνης στον εγκέφαλο, να προκαλέσουν εκτός των άλλων, ερυθρότητα στο δέρμα του προσώπου (flushing), αδυναμία, εφίδρωση, έντονη δίψα, κεφαλαλγία, ναυτία, έμετο, διπλωπία, ταχυκαρδία, πόνο στο στήθος και υπόταση (<http://www.healthsquare.com/newtx/CEL1079.HTM>), τα συμπτώματα δηλαδή της «αντίδρασης δισουλφιράμης».

Επιπλέον, πέραν της ακεταλδεϋδης, η αναστολή της ALDH στον εγκέφαλο οδηγεί στην άθροιση και άλλων βιογενών αλδευδών, οι οποίες προέρχονται από την οξειδωτική απαμίνωση των βιογενών αμινών με τη δράση της MAO. Στη συσσώρευση αυτή των αλδευδών στο Κ.Ν.Σ., έχουν επίσης αποδοθεί πολλά από τα συμπτώματα της «αντίδρασης δισουλφιράμης» (Hellstrom & Tottmar, 1982). Εξάλλου, η άθροιση αυτή της ακεταλδεϋδης και των υπόλοιπων βιογενών αλδευδών, που προκύπτει από την αναστολή της ALDH στον εγκέφαλο, είναι δυνατόν να οδηγήσει και στη συμπύκνωση Pictet-Spengler των αλδευδών αυτών με τις κατεχολαμίνες του Κ.Ν.Σ., με αποτέλεσμα το σχηματισμό ενώσεων τετραϋδρο-ισοκινολίνης (TIQ) (Cohen, 1977). Οι ενώσεις αυτές, είναι πολύ δραστικές φαρμακολογικά, επηρεάζοντας την επαναπρόσληψη, την αποθήκευση, την απελευθέρωση και το μεταβολισμό των βιογενών αμινών, αυξάνοντας κυρίως τα επίπεδα της 5-HT και της DA στον εγκέφαλο, ενώ επιπλέον δρουν και ως «ψευδονευροδιαβιβαστές», η δράση των οποίων ενέχεται στη συμπτωματολογία της

«αντίδρασης δισουλφιράμης» (Matsuyama et al., 1993). Η δράση, ωστόσο, αυτών των προϊόντων συμπτύκνωσης, δεν περιορίζεται μόνο στον επηρεασμό του μεταβολισμού των βιογενών αμινών του Κ.Ν.Σ., καθώς η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση των ενώσεων αυτών σε επίμυες, φάνηκε να έχει ανασταλτική δράση, τόσο στο MEOS, όσο και στην ηπατική ALDH2, παρακωλύοντας με αυτόν τον τρόπο τον περαιτέρω μεταβολισμό της αιθανόλης και της ακεταλδεύδης (Ostrovsky et al., 1980). Τέλος, ένα άλλο φαινόμενο που ακολουθεί την αναστολή της ALDH του εγκεφάλου και που έχει συσχετισθεί με τα δυσάρεστα συμπτώματα της «αντίδρασης δισουλφιράμης», είναι η «στροφή» που προκαλείται στο μεταβολισμό των αλδευδών, που προκύπτουν από την οξειδωτική απαμίνωση των βιογενών αμινών του Κ.Ν.Σ., προς τους αλκοολικούς, μάλλον, παρά προς τους όξινους μεταβολίτες τους (Hellstrom & Tottmag, 1982). Πράγματι, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες και με εξαίρεση την αλδεύδη που προέρχεται από τη ΝΑ και η οποία ανάγεται προς τον αλκοολικό μεταβολίτη της, με τη δράση μιας NADPH-εξαρτώμενης αλδευδικής αναγωγάσης, οι αλδεύδες που προκύπτουν από την απαμίνωση της DA και της 5-HT, οξειδώνονται προς τους αντίστοιχους όξινους μεταβολίτες τους, με τη δράση μιας NAD-εξαρτώμενης ALDH, η αναστολή της οποίας θα «στρέψει» τα αλδευδικά αυτά μεταβολικά προϊόντα προς την αναγωγική μεταβολική οδό (Tabakoff et al., 1973).

Με τα μέχρι τώρα αναφερθέντα στοιχεία, φαίνεται πως η αναστολή της ALDH από τη δισουλφιράμη, αποτελεί τον κεντρικό παθοφυσιολογικό μηχανισμό της «αντίδρασης δισουλφιράμης». Ωστόσο, κατά καιρούς, έχουν διατυπωθεί και διάφορες άλλες παράπλευρες θεωρίες, οι οποίες επιχειρήσαν να αποσαφηνίσουν το μηχανισμό της αντίδρασης αυτής. Η πιθανή ανασταλτική δράση της δισουλφιράμης στην ADH και η συνεπακόλουθη άθροιση αιθανόλης στον οργανισμό, σε συνδυασμό βέβαια πάντοτε με την αναστολή της ALDH, αποτέλεσε μία από τις θεωρίες αυτές. Πράγματι, φαίνεται πως κάποια από τα συμπτώματα της «αντίδρασης δισουλφιράμης», όπως είναι η ναυτία, ο ύπνους και η διπλωπία, δεν μπορούν να ερμηνευτούν αποκλειστικά και μόνο από την άθροιση ακεταλδεύδης, συνεπεία της αναστολής της ALDH, ενώ επιπλέον αποτελούν χαρακτηριστικά συμπτώματα της οξείας τοξίκωσης με αιθανόλη (Sharkawi, 1980). Άλλωστε, η χορήγηση αιθανόλης σε σκύλους, στους οποίους είχε προχορηγηθεί δισουλφιράμη, προκάλεσε αύξηση των επιπέδων στο αίμα, τόσο της ακεταλδεύδης, όσο και της αιθανόλης (Nakano et al., 1974), ενώ *in vitro* πειράματα, έδειξαν τελικά, πως η δισουλφιράμη μπορεί να αναστείλει την ADH (Sharkawi, 1980; Carper et al., 1987). Καθώς όμως τα αποτελέσματα αυτά δεν έχουν επιβεβαιωθεί μέχρι σήμερα με *in vivo* πειράματα, φαίνεται η θεωρία αυτή να χάνει την ισχύ της με το πέρασμα του χρόνου.

Στο σημείο αυτό, θα πρέπει να αναφέρουμε την ανασταλτική επίδραση της δισουλφιράμης, τόσο *in vivo*, όσο και *in vitro*, και σε ένα άλλο ένζυμο μεταβολισμού της αιθυλικής αλκοόλης, το CYP2E1 (Brady et al., 1991). Είναι γνωστό, πως όταν η συγκέντρωσή της αιθανόλης στο αίμα είναι ιδιαίτερα υψηλή, η συμμετοχή του ενζύμου αυτού στο μεταβολισμό της μπορεί να φτάσει μέχρι και το 60% (Matsumoto et al., 1996). Είναι προφανές, ότι στις περιπτώσεις αυτές, η αναστολή του CYP2E1 από τη δισουλφιράμη θα οδηγούσε σε αύξηση της συγκέντρωσης της αιθυλικής αλκοόλης στο αίμα, γεγονός που σε συνδυασμό με την αναστολή της ALDH και την άθροιση ακεταλδεύδης, θα συνέβαλλε, πιθανότατα και όπως προαναφέρθηκε, στην εκδήλωση των συμπτωμάτων της «αντίδρασης δισουλφιράμης» (Lang et al., 1976). Εξάλλου, καθώς είναι γνωστή η συμμετοχή του CYP2E1 στο μεταβολισμό, εκτός της αιθανόλης και της ακεταλδεύδης (Terelius et al., 1991; Kunitoh et al., 1997), η αναστολή του ενζύμου αυτού από τη δισουλφιράμη και παράλληλα με την αναστολή της ALDH, θα μπορούσε να οδηγήσει σε επιπλέον συσσώρευση ακεταλδεύδης,

αποτελώντας έναν ακόμη μηχανισμό που συμβάλλει στην εγκατάσταση της συμπτωματολογίας της «αντίδρασης δισουλφιράμης».

Επιπλέον, και ανεξάρτητα της ανασταλτικής της δράσης στην ALDH, *in vitro* πειράματα έχουν δείξει τη δυνατότητα της δισουλφιράμης να αναστέλει την ηπατική και την εγκεφαλική MAO, δράση η οποία επιτείνεται με την ταυτόχρονη κατανάλωση αιθανόλης (Schurr et al., 1978; Simonian et al., 1992). Καθώς είναι γνωστή η σημασία του ενζύμου αυτού στο μεταβολισμό των βιογενών αμινών, τόσο στο Κ.Ν.Σ., όσο και στους περιφερικούς ιστούς, η αναστολή του από τη δισουλφιράμη θα επιφέρει μεταβολές στα επίπεδα των αμινών αυτών, οι οποίες συμβάλλουν, ενδεχομένως, στην εμφάνιση των συμπτωμάτων της «αντίδρασης δισουλφιράμης» (Hellstrom & Tottmar, 1982). Ωστόσο, και καθότι τα αποτελέσματα αυτά δεν έχουν επιβεβαιωθεί σε *in vivo* συνθήκες, απαιτείται περαιτέρω μελέτη του φαινομένου, προτού να είμαστε σε θέση να αποδώσουμε τα συμπτώματα που ακολουθούν τη συγχορήγηση δισουλφιράμης και αιθανόλης, στην αναστολή της MAO.

3.3 Δοσολογία και τρόπος χορήγησης

Η καθιερωμένη οδός χορήγησης της δισουλφιράμης, είναι η από του στόματος, ενώ η προσπάθεια για χορήγηση με υποδόρια εμφύτευση δεν απέφερε το επιθυμητό αποτέλεσμα, καθώς η συγκέντρωση του φαρμάκου στο αίμα δεν έφτασε τα απαραίτητα επίπεδα για την πρόκληση «αντίδρασης δισουλφιράμης» (Bergstrom et al., 1982). Στις Η.Π.Α., η συνιστώμενη δοσολογία, είναι τα 500 mg την ημέρα για τις πρώτες 1-2 εβδομάδες και εν συνεχεία η δόση συντήρησης κυμαίνεται μεταξύ 125-500 mg/ημέρα (Richie, 1985). Ένα άλλο δοσολογικό σχήμα που ακολουθείται εκτός Η.Π.Α., είναι η χορήγηση 800 mg δισουλφιράμης την πρώτη ημέρα, δόση η οποία μειώνεται σταδιακά κατά 200 mg την ημέρα, μέχρι να φτάσουμε την ημερήσια δόση συντήρησης που είναι τα 200 mg (Brewer, 1984). Στη φάση που ο ασθενής ξεκινάει να παίρνει τη δόση συντήρησης, του χορηγείται, υπό παρακολούθηση, μία ποσότητα αιθανόλης (15-30 ml), έτσι ώστε, αφενός να εξοικειωθεί με την «αντίδραση δισουλφιράμης», και αφετέρου να ρυθμιστεί ανάλογα η δόση συντήρησης του φαρμάκου. Ωστόσο, τελευταία τείνει να εγκαταλειφθεί η προαναφερθείσα δοκιμασία με την αιθανόλη, η οποία άλλωστε απαγορεύεται σε άτομα άνω των 50 ετών. Αναφορικά με τη χρονική διάρκεια της θεραπείας με δισουλφιράμη, τα πράγματα δεν είναι απόλυτα ξεκαθαρισμένα. Ο βαθμός ανοχής του φαρμάκου από τον ασθενή, καθώς και οι πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες θα πρέπει πάντα να λαμβάνονται υπόψη. Φαίνεται πάντως, πως ένα διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών θεωρείται απαραίτητο, προκειμένου η θεραπεία να αρχίσει να αποδίδει (Brewer, 1984).

3.4 Φαρμακοκινητική

Το 70-90% της από του στόματος χορηγούμενης δισουλφιράμης, απορροφάται από το Γ.Ε.Σ. και κατανέμεται ταχέως σε διάφορους ιστούς και όργανα, όπως είναι το ήπαρ, ο σπλήνας, τα επινεφρίδια, ο λιπώδης ιστός και ο εγκέφαλος. Το υπόλοιπο ποσοστό του φαρμάκου που δεν απορροφήθηκε, ανευρίσκεται αναλλοίωτο στα κόπρανα. Μέγιστα επίπεδα της δισουλφιράμης στο πλάσμα, επιτυγχάνονται σε 8-10 ώρες, ενώ 36 ώρες μετά τη χορήγηση, σχεδόν καθόλου από το φάρμακο ή τους μεταβολίτες του δεν ανιχνεύονται στο πλάσμα. Μετά την απορρόφησή της, η

δισουλφιράμη μεταβολίζεται από την αναγωγή της γλουταθειόνης των ερυθρών αιμοσφαιρίων και από την αλβουμίνη προς DDTC, το οποίο εν συνεχεία υφίσταται τις ακόλουθες μεταβολικές επεξεργασίες στο ήπαρ:

α) Γλυκουρονιδοποίηση προς DDTC-γλυκουρονίδιο (το 50% περίπου της χορηγούμενης δισουλφιράμης απεκκρίνεται στα ούρα ως γλυκουρονίδιο του DDTC),

β) Μη ενζυμικός καταβολισμός προς διαυθυλαμίνη ή διθειάνθρακα, εκ των οποίων η μεν διαυθυλαμίνη απεκκρίνεται στα ούρα αναλλοίωτη ή διασπασμένη σε αμμωνία και ακεταλδεύδη, ο δε διθειάνθρακας, απεκκρίνεται, είτε αναλλοίωτος από τους πνεύμονες, είτε με τη μορφή θειικών ιόντων στα ούρα,

γ) Μεθυλίωση, με τη δράση της θειολικής και της θειοπυρινικής μεθυλτρανσφεράσης προς μεθυλεστέρα του DDTC (DDTC-Me), ο οποίος απεκκρίνεται στα ούρα ως γλυκουρονιδοποιημένη θειαλκοόλη, και

δ) Οξείδωση του DDTC προς δισουλφιράμη και υπεροξειδίου του υδρογόνου με τη δράση της οξυαιμοσφαιρίνης (Ellenhorn & Barceloux, 1988).

3.5 Αντενδείξεις

Η δισουλφιράμη δεν πρέπει να χορηγείται ποτέ εν αγνοία των ασθενών και αφού πρώτα δεν έχουν ενημερωθεί πλήρως για τα συμπτώματα που θα βιώσουν σε περίπτωση κατανάλωσης οινοπνεύματος. Η πρόσφατη χρήση μετρονιδαζόλης, παραλδεύδης, αιθυλικής αλκοόλης ή προϊόντων που περιέχουν αιθυλική αλκοόλη αποτελούν, επίσης, αντένδειξη για τη λήψη δισουλφιράμης (θα πρέπει να έχουν περάσει τουλάχιστον 24 ώρες από την τελευταία κατανάλωση οινοπνεύματος). Επιπλέον, η δισουλφιράμη αντενδείκνυται σε ασθενείς με γνωστή υπερευαισθησία σε παράγωγα της θειουράμης, σε ασθενείς με καρδιαγγειακή, ηπατική, νεφρική ή σόβαρη οργανική εγκεφαλική νόσο, καθώς και σε ψυχωστικούς ή άτομα με βαριάς μορφής διαταραχή της προσωπικότητας (<http://www.medsafe.govt.nz/profs/Datasheet/DSForm.asp>).

3.6 Προφυλάξεις

Δοθέντος του ότι η δισουλφιράμη μπορεί να επιδεινώσει μία σειρά καταστάσεων, όπως είναι ο σακχαρώδης διαβήτης, ο υποθυρεοειδισμός, η επιληψία καθώς και διάφορες παθήσεις του αναπνευστικού συστήματος, είναι σκόπιμο στις περιπτώσεις αυτές να χορηγείται με μεγάλη προσοχή. Τακτικός έλεγχος του επιπέδου των τρανσαμινασών (κάθε 10-14 ημέρες), προκειμένου να προληφθούν πιθανές ηπατικές βλάβες από τη χρήση του φαρμάκου, καθώς και ένας πλήρης τυπικός αιματολογικός έλεγχος (κάθε 6 μήνες) θεωρούνται απαραίτητοι (<http://www.medsafe.govt.nz/profs/Datasheet/DSForm.as>). Αναφορικά με την ασφάλεια της χρήσης της δισουλφιράμης κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, τα δεδομένα δεν είναι επαρκή προκειμένου να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα. Ωστόσο, οι Nora και συν. (1977), ανέφεραν δύο περιπτώσεις νεογνών, τα οποία είχαν εκτεθεί περιγεννητικά σε δισουλφιράμη και εμφάνισαν σκελετικές ανωμαλίες. Βάση της αναφοράς αυτής, προτείνεται η αποφυγή της δισουλφιράμης ή η χρήση της με πολύ μεγάλη προσοχή από τις έγκυες γυναίκες.



3.7 Ανεπιθύμητες ενέργειες

Αν και σε γενικές γραμμές η δισουλφιράμη θεωρείται ένα, μάλλον, ατοξικό φάρμακο, εντούτοις, έχουν περιγραφεί μια σειρά από ανεπιθύμητες ενέργειες, που μπορεί να συνοδεύουν τη χρήση της (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Παρενέργειες από τη χρόνια χρήση δισουλφιράμης (Ellenhorn & Barceloux, 1988).

Νευρικό σύστημα: υπνηλία, κεφαλαλγία, διαταραχές της μνήμης, τοξική ψύχωση, παρανοϊκές ιδέες, αταξία, δυσαρθρία, σπασμοί, περιφερική νευροπάθεια

Γ.Ε.Σ.: αίσθημα δυσάρεστης γεύσης

Δέρμα: εξάνθημα

Οφθαλμοί: οπτική νευρίτιδα

Αιμοποιητικό σύστημα: ακκοκιοκυτταραιμία, θρομβοπενική πορφύρα, ηωσινοφιλία

Μυϊκό σύστημα: ηλεκτρομυογραφικές διαταραχές, ενδεικτικές κινητικής βλάβης

Ήπαρ: χολόσταση, ίνωση, νέκρωση

Αναφορικά με τις περιπτώσεις δηλητηρίασης με δισουλφιράμη (υπερδοσολογία), η κένωση του στομάχου, η χορήγηση οξυγόνου, η ενδοφλέβια χορήγηση διαλύματος γλυκόζης και ασκορβικού οξέος, καθώς και η στενή ιατρική παρακολούθηση του ασθενούς είναι τα συνήθη συνιστώμενα μέτρα (Ellenhorn & Barceloux, 1988; <http://www.medsafe.govt.nz/profs/Datasheet/DSForm.asp>).

3.8 Αλληλεπιδράσεις

α) Η δισουλφιράμη, εκτός της ALDH, αναστέλλει και μια σειρά ηπατικών ενζύμων που υπεισέρχονται στο μεταβολισμό διαφόρων φαρμάκων. Έτσι, παρατείνει το χρόνο ημιζώης και επιτείνει τις θεραπευτικές και τοξικές επιδράσεις των αντιδιαβητικών παραγόντων (με εξαίρεση την τολβουταμίδη και τη γλιπιζίδη), της αντιτυρίνης, των βαρβιτουρικών, της καφεΐνης, της χλωροδιαζεποξίδης, των κουμαρινικών αντιπηκτικών, του διβρωμιδίου του αιθυλενίου, της παραλδεΐδης, της φαινυτοΐνης και της ριφαμπικίνης.

β) Η δισουλφιράμη, επιπλέον, μπορεί να αλληλεπιδράσει με μία σειρά φαρμακευτικών παραγόντων, οδηγώντας στην εμφάνιση τοξικών εκδηλώσεων:

-Ισονιαζίδη: αταξία και διαταραχή της συμπεριφοράς

-Μετρονιδαζόλη: σύγχυση και οξεία ψύχωση

-Θειοπεντάλη: υπόταση

-Διγοξίνη, διγίτοξίνη: η υποκαλιαμία που μπορεί να εμφανισθεί στα πλαίσια της «αντίδρασης δισουλφιράμης» επιτείνει την τοξική δράση της δακτυλίτιδας



- Τρικυκλικά αντικαταθλυπτικά: ενισχύουν την ένταση των συμπτωμάτων της «αντίδρασης δισουλφιράμης»
- Διβρωμίδιο του αιθυλενίου: επιτείνεται η καρκινογόνος δράση του
- Μορφίνη, μεπεριδίνη, αμφεταμίνες: μελέτες σε πειραματόζωα, έδειξαν πως αυξάνεται η τοξικότητα των κεντρικώς δρώντων αυτών παραγόντων σε συνδυασμό με τη δισουλφιράμη. (Ellenhorn & Barceloux, 1988).

3.9 Φαρμακευτικοί παράγοντες γνωστοί για την πρόκληση «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης»

Εκτός από τη δισουλφιράμη, στην οποία αναφερθήκαμε μέχρι τώρα, στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται διάφοροι φαρμακευτικοί παράγοντες, οι οποίοι σε συνδυασμό με την αιθυλική αλκοόλη προκαλούν μία σειρά δυσάρεστων συμπτωμάτων, παρόμοιων με εκείνων που παρατηρούνται στα πλαίσια της «αντίδρασης δισουλφιράμης». Η αντίδραση των φαρμάκων αυτών με την αιθανόλη χαρακτηρίζεται ως «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» και αποδίδεται κατά γενική ομολογία στην αναστολή της ηπατικής ALDH και στη συνεπακόλουθη άθροιση τοξικών συγκεντρώσεων ακεταλδεϋδης στον οργανισμό. Οι πιο γνωστοί από τους φαρμακευτικούς αυτούς παράγοντες είναι: η χλωραμφαινικόλη, η μετρονιδαζόλη, η κοτριμοξαζόλη, η κεφαμανδόλη, η κεφμεταζόλη, η λαταμοξέφη, η κεφοπεραζόνη, η γκριζεοφουλβίνη, η φουραζολιδόνη, η κινακρίνη, η ισονιαζίδη, η χλωροπροπαμίδη, η τολβουταμίδη, η προκαρβαζίνη και η προπρανολόλη.

1) Χλωραμφαινικόλη: αποτελεί ευρέως φάσματος αντιβιοτικό, δραστικό έναντι Gram +/- μικροβίων (σαλμονέλα τύπου, αιμόφιλος ινφλουέντζας, ρικέτσιες, ψιττάκωση, δονάκιο χολέρας), με κύριες ενδείξεις τον τυφοειδή πυρετό (από σαλμονέλα), τη μηνιγγίτιδα ή επιγλωττίτιδα (από αιμόφιλο ινφλουέντζας), καθώς και λοιμώξεις από μικρόβια ευαίσθητα στο φάρμακο, όπου άλλα αντιβιοτικά δεν είναι αποτελεσματικά (Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003). Δρα μέσω σύνδεσης στο ριβόσωμα 50S, αναστέλοντας την πρωτεϊνσύνθεση στα μιτοχόνδρια των θηλαστικών (Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003). Σε συνδυασμό με οινόπνευμα, προκαλεί «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», πιθανότατα λόγω αναστολής της ALDH (Fried, 1980; Vasiliou et al., 1986).

2) Μετρονιδαζόλη: αποτελεί ένα νιτροιμιδαζολικό αντιβιοτικό, δραστικό έναντι αναερόβιων μικροβίων και πρωτοζώων. Ενδείκνυται σε αναερόβιες λοιμώξεις, στην τριχομονάδωση, στην κολπίτιδα από γκαρντνερέλα, στη λαμβλίαση, σε ενδοκοιλιακές σηπτικές λοιμώξεις με συμμετοχή αναερόβιων μικροβίων, στην ψευδομεμβρανώδη εντεροκολίτιδα, στη νόσο του Crohn, σε αμοιβάδωση και στο πεπτικό έλκος (δραστική έναντι του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού) ((Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003). Η δράση της ασκείται μέσω της ικανότητάς της να προκαλεί απώλεια της ελικοειδούς δομής του DNA και ρήξη του ((Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003). Αναφέρεται πως με την παράλληλη κατανάλωση αιθανόλης προκαλεί «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» (Taylor, 1964; Rothstein & Clancy, 1969; Fried, 1980), η οποία μάλιστα σε μία περίπτωση ήταν θανατηφόρος (Cina et al., 1996). Ωστόσο, πρόσφατα κλινικά δεδομένα, θέτουν σε αμφισβήτηση την ιδιότητα της μετρονιδαζόλης να αλληλεπιδρά με την αιθανόλη και να προκαλεί «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», όπως επίσης και τον προτεινόμενο μηχανισμό της αναστολής της ALDH, καθώς η συγχορήγηση μετρονιδαζόλης και οινόπνευματος δεν έδειξε να

αυξάνει τα επίπεδα της ακεταλδεύδης στο αίμα (Visapaa et al., 2002). Η ίδια ερευνητική ομάδα, άλλωστε, αναφέρει πως ακόμα και στις περιπτώσεις όπου έχει παρατηρηθεί αντίδραση παρόμοια με της δισουλφιράμης, κατά την ταυτόχρονη λήψη μετρονιδαζόλης και αιθανόλης, ο πιθανότερος μηχανισμός είναι η αύξηση της ακεταλδεύδης στο παχύ έντερο, λόγω αντικατάστασης των αναερόβιων από αερόβια μικρόβια που περιέχουν ADH, παρά η αύξηση της ακεταλδεύδης στο αίμα (Tillonen et al., 2000). Εξάλλου, παλαιότερες μελέτες, απέτυχαν να δείξουν αναστολή της ηπατικής ALDH από τη μετρονιδαζόλη (Vasiliou et al., 1986), ενώ η ιδιότητά της να προκαλεί «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», έχει αποδοθεί κατά καιρούς στην αναστολή της ADH (Gupta et al., 1970) ή σε κάποιες επιδράσεις της στο Κ.Ν.Σ. (Ritchie, 1985; Vasiliou et al., 1986).

3) Κοτριμοξαζόλη: πρόκειται για το συνδυασμό δύο αντιβιοτικών (τριμεθοπρίμης και σουλφομεθοξαζόλης), που χορηγούνται σε αναλογία 1:5 για την αντιμετώπιση ουρολοιμώξεων, προστατίτιδας, διάρροιας των ταξιδιωτών, σαλμονέλλωσης, σιγκέλλωσης, τοξοπλάσμωσης, νοκαρδίασης, παροξύνσεων χρόνιας βρογχίτιδας, οξείας μέσης ωτίτιδας, παραρρινοκολπίτιδας και μελιταίου πυρετού. Αποτελεί επίσης, φάρμακο εκλογής για την πνευμονία από πνευμονοκύστη *Carinii* σε ασθενείς με AIDS ή καρκίνο, καθώς και σε ασθενείς οι οποίοι έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση (Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003; Εθνικό Συνταγολόγιο, 2003). Η σουλφομεθοξαζόλη, αναστέλλει το πρώτο βήμα στη σύνθεση του φυλλικού οξέος, ενώ η τριμεθοπρίμη, αναστέλλει την αναγωγή του διϋδροφυλλικού οξέος, η οποία είναι υπεύθυνη για τη μετατροπή του διϋδροφυλλικού σε τετραϋδροφυλλικό οξύ, το οποίο με τη σειρά του χρησιμοποιείται για τη σύνθεση των πουρινών και του DNA από τα μικρόβια (Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003). Ανήκει στην κατηγορία των φαρμάκων, για τα οποία έχουν αναφερθεί αλληλεπιδράσεις με το οινόπνευμα «τύπου δισουλφιράμης», οι οποίες μάλιστα έχουν αποδοθεί στην αναστολή της ηπατικής ALDH και στην άθροιση ακεταλδεύδης στο αίμα (Edwards et al., 1986; Heelon & White, 1998).

4) Κεφαμανδόλη-Κεφμεταζόλη-Λαταμοξέφη-Κεφοπεραζόνη: η κεφαμανδόλη και η κεφμεταζόλη, ανήκουν στις κεφαλοσπορίνες β' γενιάς και ενδείκνυνται σε λοιμώξεις από σταφυλόκοκκο, στρεπτόκοκκο, πεπτοστρεπτόκοκκο, αιμόφιλο της ινφλουέντζας, κλεμψιέλλα, πρωτέα και κολοβακτηρίδιο (ουρολοιμώξεις, πνευμονία, ενδοκοιλιακές λοιμώξεις, χημειοπροφύλαξη πριν από χειρουργικές επεμβάσεις). Επίσης, είναι δραστικές έναντι αναερόβιων μικροβίων (βακτηριοειδές το εύθραστο), χορηγούμενες σε περιπτώσεις υποδιαφραγματικών αποστημάτων, περιτονίτιδας ή γυναικολογικών λοιμώξεων, σε συνδυασμό με ένα ιμιδαζόλιο ή κλινδαμικίνη (Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003; Εθνικό Συνταγολόγιο, 2003). Η λαταμοξέφη και η κεφοπεραζόνη, ανήκουν στις κεφαλοσπορίνες γ' γενιάς, οι οποίες έχουν ευρύτερο αντιμικροβιακό φάσμα από τις αντίστοιχες της β' γενιάς για Gram- μικρόβια, αλλά είναι λιγότερο δραστικές από την κεφαμανδόλη για Gram+ μικρόβια και ιδιαίτερα για το χρυσίζοντα σταφυλόκοκκο. Επιπλέον, η λαταμοξέφη δεν είναι πολύ αποτελεσματική σε λοιμώξεις από στρεπτόκοκκο των κοπράνων ή βακτηριοειδές το εύθραστο, ενώ η κεφοπεραζόνη, σε αντίθεση με τις υπόλοιπες κεφαλοσπορίνες γ' γενιάς, δεν διέρχεται τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, ακόμη και όταν οι μήνιγγες φλεγμαίνουν (Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003). Ο μηχανισμός δράσης τους, όπως και των υπόλοιπων κεφαλοσπορινών, συνίσταται στην αναστολή της σύνθεσης του μικροβιακού τοιχώματος, μέσω αναστολής του ενζύμου τρανσπεπτιδάση, καθώς και μέσω σύνδεσης και δέσμευσης των πενικίλλο-συνδεόμενων πρωτεϊνών, οι οποίες είναι

απαραίτητες για τη σύνθεση του μικροβιακού τοιχώματος (Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003). Και οι τέσσερις αυτές κεφαλοσπορίνες, αναφέρεται πως σε συνδυασμό με οινόπνευμα προκαλούν «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», η οποία έχει αποδοθεί στην αναστολή της ηπατικής ALDH και στη συνεπακόλουθη αύξηση των επιπέδων της ακεταλδεΐδης στο αίμα (Reeves & Davies, 1980; Neu & Prince, 1980; Portier et al., 1980; Yamanaka et al., 1983). Μάλιστα, φαίνεται πως η αναστολή που προκαλούν στο ένζυμο οι κεφαλοσπορίνες αυτές, οφείλεται σε μία 1-μέθυλο-5-θειοτετραζολική πλευρική ομάδα στη θέση -3 ή σε μία 1H-τετραζολική ομάδα στη θέση -7 του διϋδροθειαζινικού δακτυλίου του μορίου τους, καθώς οι ομάδες αυτές βρέθηκε να αναστέλουν *in vivo* την ALDH σε επίμυες (Kamei et al., 1986).

5) Γκριζεοφουλβίνη: ανήκει στην κατηγορία των αντιμυκητιασικών, με κύριες ενδείξεις τις βαριές μυκητιάσεις του δέρματος, του τριχωτού της κεφαλής και των ονύχων, από επιδερμόφυτα, μικρόσπορα και τριχόφυτα, όταν τα τοπικά αντιμυκητιασικά είναι ακατάλληλα (Εθνικό Συνταγολόγιο, 2003). Η δράση της οφείλεται στην πρόκληση βλάβης στα μικροσωληνάρια της μιτωτικής ατράκτου του μύκητα, μέσω των οποίων μεταφέρεται υλικό για τη σύνθεση του τοιχώματος (Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003). Σε συνδυασμό με αιθυλική αλκοόλη, αναφέρεται πως προκαλεί «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», η οποία, μάλιστα, έχει αποδοθεί στην αναστολή της ηπατικής ALDH (Fried, 1980; Uri & Parks, 1983; Fett & Vukon, 1994; Εθνικό Συνταγολόγιο, 2003). Ωστόσο, το 1986, οι Vasiliou και συν. έδειξαν πως η γκριζεοφουλβίνη δεν αναστέλει την ALDH στον επίμυ, θέτοντας σε αμφισβήτηση το μηχανισμό της αλληλεπίδρασής της με την αιθανόλη και προτείνοντας ως πιθανότερο μηχανισμό δράσης κάποιες επιδράσεις της σε επίπεδο Κ.Ν.Σ.

6) Φουραζολιδόνη: αποτελεί συνθετικό νιτροφουρανικό παράγωγο, δραστικό έναντι του κολοβακτηριδίου, του σταφυλοκόκκου, της σαλμονέλας, της σιγκέλας, του πρωτέα, του δονακίου της χολέρας και της γκιάρντιας και ενδείκνυται σε περιπτώσεις βακτηριακών λοιμώξεων του εντέρου, μικροβιακής δυσεντερίας και τυφοειδούς πυρετού (<http://www.mdbrowse.com/Druginfo/F/furazolidone.htm>). Αναφορικά δε με το μηχανισμό της βακτηριοκτόνου δράσης της, αυτή φαίνεται να σχετίζεται με τον επηρεασμό μιας σειράς ενζυμικών συστημάτων των βακτηρίων, συμπεριλαμβανομένης της αναστολής της MAO, καθώς και της αναστολής της ακετυλίωσης του συνενζύμου A (AHFS Drug Information, 2001). Αναφέρεται πως ο συνδυασμός της με αιθυλική αλκοόλη προκαλεί «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», η οποία αποδίδεται στην αναστολή της ηπατικής ALDH και στην άθροιση ακεταλδεΐδης στον οργανισμό (Fried, 1980; Uri & Parks, 1983; Vasiliou et al., 1986).

7) Κινακρίνη: αποτελεί φαρμακευτικό παράγωγο, ο οποίος χρησιμοποιήθηκε, κυρίως κατά το παρελθόν, για την αντιμετώπιση της ελονοσίας, της γκιαρντίας, καθώς και ως ανθελμινθικό (http://www.priondata.org/auth/C_extlink.php?459), ενώ ο μηχανισμός δράσης της, σχετίζεται με την ιδιότητά της να συνδέεται με το DNA, εμποδίζοντας τη διαδικασία μεταγραφής και μετάφρασής του (Ciak & Hahn, 1967). Παρά το γεγονός ότι η χρήση της έχει περάσει το περιθώριο, αναφορικά με τις προαναφερθείσες ενδείξεις, εντούτοις, νεότερες μελέτες ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικές όσον αφορά τη χρήση της στην αντιμετώπιση του συστηματικού ερυθρελάτου (Van Beek & Piette, 2001), καθώς και της νόσου Creutzfeldt-Jakob (Doh-Ura et al., 2000). Χορηγούμενη με αιθυλική αλκοόλη, προκαλεί

«αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», η οποία έχει αποδοθεί στην αναστολή της ηπατικής ALDH (Uri & Parks, 1983).

8) Ισονιαζίδη: αποτελεί πρωτεύον αντιφυματικό φάρμακο και μάλιστα το μόνο που χρησιμοποιείται για την πρόληψη της νόσου, ενώ ο μηχανισμός δράσης της συνίσταται στην αναστολή της σύνθεσης του μυκολικού οξέος (Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003). Σε συνδυασμό με οινόπνευμα, προκαλεί «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», η οποία αποδίδεται στην αναστολή της ηπατικής ALDH (Uri & Parks, 1983; Vasiliou et al., 1986).

9) Χλωροπροπαμίδη-Τολβουταμίδη: αποτελούν από του στόματος χορηγούμενα αντιδιαβητικά φάρμακα, της κατηγορίας των σουλφονουριών, με κύρια ένδειξη τον μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη (Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003). Δρουν προάγοντας την έκκριση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος, αυξάνουν τον αριθμό ή και την ευαισθησία των υποδοχέων της ινσουλίνης και μειώνουν την έκκριση της γλυκαγόνης (Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003). Επιπλέον, η χλωροπροπαμίδη, λόγω του ότι διεγείρει την έκκριση της αντιδιουρητικής ορμόνης, χορηγείται και σε περιπτώσεις πρωτοπαθούς άποιου διαβήτη για τη μείωση της πολυουρίας (Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003). Η συγχορήγηση των φαρμάκων αυτών με αιθυλική αλκοόλη, προκαλεί σε ένα 15-23% των διαβητικών στους οποίους χορηγούνται, κακουχία και ερυθρότητα του προσώπου (flushing), χαρακτηριστικά μιας αντίδρασης «τύπου δισουλφιράμης» (Czyzyk & Mohnike, 1957; Signorelli, 1959; Logi et al., 1976). Αναφορικά με το μηχανισμό, στον οποίο οφείλεται η αντίδραση αυτή, φαίνεται πως έχει να κάνει με την αναστολή της ηπατικής ALDH και τη συσσώρευση τοξικών συγκεντρώσεων ακεταλδεϋδης στο αίμα (Podgainy & Bressler, 1968; Little & Petersen, 1985; Vasiliou et al., 1986). Μάλιστα, καθώς δεν αναστέλλουν το ένζυμο *in vitro*, φαίνεται πως κάποιος μεταβολίτης τους είναι υπεύθυνος για την ανασταλτική τους δράση στην ALDH (Little & Petersen, 1985).

10) Προκαρβαζίνη: αποτελεί αντινεοπλασματικό φάρμακο, παράγωγο της μεθυλδραζίνης, το οποίο δρα στη φάση S του κυτταρικού κύκλου, προκαλώντας βλάβες στο DNA αντίστοιχες των αλκυλιούντων παραγόντων (Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003; Εθνικό Συνταγολόγιο, 2003). Χορηγείται στη νόσο του Hodgkin (σχήμα MOPP: μουστίνη, βινκριστίνη, προκαρβαζίνη, πρεδνιζόνη), σε μη Hodgkin λεμφώματα, καθώς και σε περιπτώσεις όγκων του εγκεφάλου (Μαρσέλος και Μάλαμας, 2003; Εθνικό Συνταγολόγιο, 2003). Συγχορήγηση της προκαρβαζίνης με αιθυλική αλκοόλη, προκαλεί «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», με ένα μηχανισμό, που με τα μέχρι σήμερα βιβλιογραφικά δεδομένα αφορά την αναστολή της ηπατικής ALDH (Vasiliou et al., 1986).

11) Προπρανολόλη: αποτελεί ένα β-αδρενεργικό αναστολέα, με κύριες ενδείξεις την υπέρταση, τη στηθάγχη, την υπερτροφική αποφρακτική μυοκαρδιοπάθεια, την προεγχειρητική προετοιμασία για θυρεοειδεκτομή, τη φλεβοκομβική μη αντισταθμιστική ταχυκαρδία, την κοιλιακή αρρυθμία που οφείλεται σε φαιοχρωμοκύτωμα ή τοξικό δακτυλιδισμό, καθώς επίσης και τις αρρυθμίες που εμφανίζονται στα πλαίσια της θυρεοτοξίκωσης (Εθνικό Συνταγολόγιο, 2003). Έχει αναφερθεί πως προκαλεί «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», λόγω αναστολής της ηπατικής ALDH (Duncan, 1973).



ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης, εξετάστηκαν οι επιδράσεις στον ηπατικό μεταβολισμό της αιθυλικής αλκοόλης, καθώς και στα επίπεδα των βιογενών μονοαμινών του Κ.Ν.Σ., των φαρμάκων εκείνων, για τα οποία αναφέρεται στη διεθνή βιβλιογραφία ότι σε συνδυασμό με αιθανόλη προκαλούν «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» (δισουλφιράμη, χλωραμφαινικόλη, μετρονιδαζόλη, κοτριμοξαζόλη, κεφαμανδόλη, γκριζεοφουλβίνη, φουραζολιδόνη, κινακρίνη, ισονιαζίδη, χλωροπροπαμίδη, προκαρβαζίνη, προπρανολόλη). Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν οι επιδράσεις των φαρμάκων αυτών στη δραστηριότητα της ηπατικής αλκοολικής αφυδρογονάσης (ADH), του μικροσωμιακού συστήματος οξείδωσης της αιθανόλης (CYP2E1), της καταλάσης (CAT) και των ισοενζύμων της αλδευδικής αφυδρογονάσης (ALDH1A1, low και high-Km ALDH12). Επιπλέον, σε 4 δομές του εγκεφάλου (υποθάλαμος, ραβδωτό σώμα, μεσεγκέφαλος και πρόσθιος φλοιός), εξετάστηκαν οι επιδράσεις των φαρμακευτικών αυτών ουσιών, στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης (NA), της ντοπαμίνης (DA), της σεροτονίνης (5-HT), καθώς επίσης και στα επίπεδα των μεταβολιτών τους.

Βασικοί στόχοι της μελέτης αυτής ήταν οι ακόλουθοι:

- 1) Να διερευνηθεί εάν τα φάρμακα αυτά, όντως αναστέλλουν την ηπατική ALDH και επομένως να εξακριβωθεί εάν τελικά προκαλούν μία γνήσια «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» ή εάν η λήψη τους οδηγεί απλά σε μία «δυσανεξία» στο οινόπνευμα που δεν σχετίζεται με την αναστολή της ALDH και τη συνεπακόλουθη άθροιση ακεταλδεϋδης στο αίμα.
- 2) Να μελετηθούν οι γενικότερες επιδράσεις των φαρμάκων αυτών στα ηπατικά ενζυμικά συστήματα μεταβολισμού της αιθυλικής αλκοόλης (ADH, CYP2E1, CAT), προκειμένου να διαπιστωθεί η πιθανή συμμετοχή των ενζύμων αυτών, είτε στην «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», είτε γενικότερα στη «δυσανεξία» στο οινόπνευμα που φαίνεται να προκαλούν κάποια από αυτά τα φάρμακα.
- 3) Να εξεταστεί η επίδραση των φαρμάκων αυτών στα συστήματα των βιογενών μονοαμινών του Κ.Ν.Σ., έτσι ώστε να εξαχθούν πιθανά συμπεράσματα, σχετικά με το ρόλο των μεταβολών που επέρχονται στα επίπεδα των αμινών αυτών, στο μηχανισμό της «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης» ή γενικότερα στο μηχανισμό της «δυσανεξίας» στο οινόπνευμα, που προκαλείται από μερικές από αυτές τις φαρμακευτικές ουσίες, οι οποίες δεν αναστέλλουν την ALDH.
- 4) Τέλος, και εφόσον και η ίδια η «αντίδραση δισουλφιράμης» αποτελεί μια μορφή «δυσανεξίας» στο οινόπνευμα, η οποία ωστόσο έχει αποδοθεί κατά κύριο λόγο στην αναστολή της ηπατικής ALDH, στους στόχους της παρούσας μελέτης θα μπορούσαμε να εντάξουμε και την αναζήτηση ενός κοινού μηχανισμού πρόκλησης «δυσανεξίας» στην αιθυλική αλκοόλη, τόσο από τη δισουλφιράμη, όσο και από τα υπόλοιπα φάρμακα, είτε αναστέλλουν, είτε όχι την ALDH.



ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

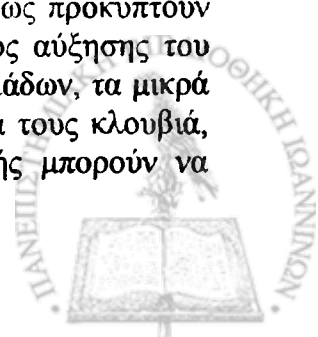
1. Χημικά-Αντιδραστήρια

Για τη μελέτη των επιδράσεων της μετρονιδαζόλης, της κεφαμανδόλης, της κοτριμοξαζόλης και της προπρανολόλης, χρησιμοποιήθηκαν τα εμπορικά σκευάσματα Flagyl (Caps 500 mg, Rhone-Poulenc Rorer AEBE), Mandokel (amp 1 gr, Lilly), Bactrimel (Tb 800 mg sulfamethoxazole + 160 mg trimethoprim, Roche) και Natulan (Caps 50 mg, Roche) αντίστοιχα. Όλες οι υπόλοιπες χημικές ενώσεις και τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας ήταν αναλυτικού βαθμού καθαρότητας και αποκτήθηκαν από τη SIGMA Chem. Co. (St. Louis, Mo, USA).

2. Πειραματόζωα

Για τα πειράματα της παρούσας μελέτης, χρησιμοποιήθηκαν λευκοί επίμυες (*Rattus norvegicus*) του στελέχους Wistar/Mol/Af/Han/Kuo/Io. Τα ζώα αυτά προέρχονται από την αποικία Han: WIST (Αννόβερο, Γερμανία) και διαχωρίστηκαν σε δύο στελέχη, στο Εργαστήριο Φυσιολογίας του Πανεπιστημίου του Kuorio της Φινλανδίας, σύμφωνα με την ικανότητα επαγωγής της ALDH από τη φαινοβαρβιτάλη (PB) (Marselos, 1976). Πιο συγκεκριμένα, ένας μεγάλος αριθμός ζώων (189 αρσενικοί και 122 θηλυκοί επίμυες), αφού έλαβαν PB (80 mg/kg, i.p x 4 ημέρες), διαχωρίστηκαν σε δύο ομάδες-στελέχη, ανάλογα με το βαθμό επαγωγής της ALDH, όπως αυτή μετρήθηκε σε δείγματα ήπατος, που ελήφθησαν από κάθε πειραματόζωο με ανοικτή βιοψία, υπό γενική αναισθησία. Μεταξύ των αρσενικών επίμυων, 67% δεν εμφάνισαν επαγωγή της ALDH (πρ στέλεχος), 25% εμφάνισαν ενδιάμεση επαγωγή (Rt στέλεχος) και 8% εμφάνισαν υψηλά επίπεδα επαγωγής της ALDH (RR στέλεχος). Στα θηλυκά ζώα, η κατανομή των διαφόρων απαντήσεων στη χορήγηση PB, ήταν παρόμοια με αυτή των αρσενικών, με μόνη διαφορά τη μικρότερου μεγέθους ενζυμική δραστηριότητα (70% περίπου της δραστηριότητας των αρσενικών) (Marselos, 1976). Τα στελέχη RR και π, αναπαράγονται από το 1985 στο Εκτροφείο Πειραματοζώων της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της ενδογαμικής αναπαραγωγής (εσωτερική διασταύρωση), η οποία εξασφαλίζει την κληροδότηση των γενετικών χαρακτηριστικών των προγόνων στην επόμενη γενεά. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, ζευγαρώνουμε αδέρφια μεταξύ τους ή γονείς με τους απογόνους τους, για πάνω από 20 γενεές, έτσι ώστε να προκύπτουν απόγονοι ομοζυγώτες, ζώα δηλαδή των οποίων τα γενετικά χαρακτηριστικά κληρονομούνται μέσω των ίδιων αντιστοιχών γονιδίων.

Η αναπαραγωγική διαδικασία και ο βαθμός επιτυχίας της (αριθμός νεογνών), σχετίζονται άμεσα, τόσο με την πραγματοποίηση ή όχι των προγραμματισμένων πειραμάτων, όσο και με την επιστημονική αξία αυτών. Απαιτούνται υγιή ζώα, βάρους 250 g περίπου, που τοποθετούνται στο ίδιο κλουβί, σε αναλογία 2 θηλυκά και 1 αρσενικό για 21 ημέρες, ενώ ο αριθμός των νεογέννητων που συνήθως προκύπτουν είναι γύρω στα 6. Τα νεογέννητα έχουν βάρος 5-7 g, ενώ ο ρυθμός αύξησης του βάρους τους είναι 10 g περίπου την εβδομάδα. Σε ηλικία 3 ή 4 εβδομάδων, τα μικρά μπορούν να αποχωριστούν από τη μάνα τους, τοποθετούνται σε δικά τους κλουβιά, ανάλογα με το φύλο τους και αφού συμπληρώσουν 2 μήνες ζωής μπορούν να χρησιμοποιηθούν στα πλαίσια κάποιου πειράματος.



Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων της παρούσας μελέτης, τα ζώα παρέμεναν σε πλαστικά κλουβιά (Makrolon), με στρώση από ροκανίδι (*Populus* sp.) στο εσωτερικό τους. Ο αριθμός τους δεν ξεπερνούσε τα 4 ανά κλουβί, ενώ είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε καθορισμένης σύστασης τροφή (Biozoe, Ελλάς) και πόσιμο νερό. Ο χώρος διαμονής των πειραματοζώων, διαθέτει σύστημα εξαερισμού και κεντρική θέρμανση που εξασφαλίζει υγιεινές συνθήκες διαβίωσης (θερμοκρασία 20-22°C και υγρασία 50-60%), ενώ ο φωτισμός είναι ρυθμισμένος, έτσι ώστε να υπάρχει σταθερός κύκλος φως-σκοτάδι 12:12 ώρες.

Στα πειράματα της παρούσας μελέτης, χρησιμοποιήθηκαν αρσενικοί επίμυες του στελέχους RR. Σε κάθε πείραμα, λάμβαναν μέρος ζώα της ίδιας ηλικίας (μέχρι ενός έτους) και βάρους (250-450 gr), τα οποία ζυγίζονταν στην αρχή και στο τέλος κάθε πειράματος. Όλα τα πειράματα διεξήχθησαν σύμφωνα με την Ελληνική και Ευρωπαϊκή νομοθεσία (Προεδρικό Διάταγμα 160/3-5-1991, άρθρα 13 και 19, Οδηγία 86/609/ΕΟΚ του Ευρωπαϊκού Συμβουλίου).

3. Χορήγηση ουσιών

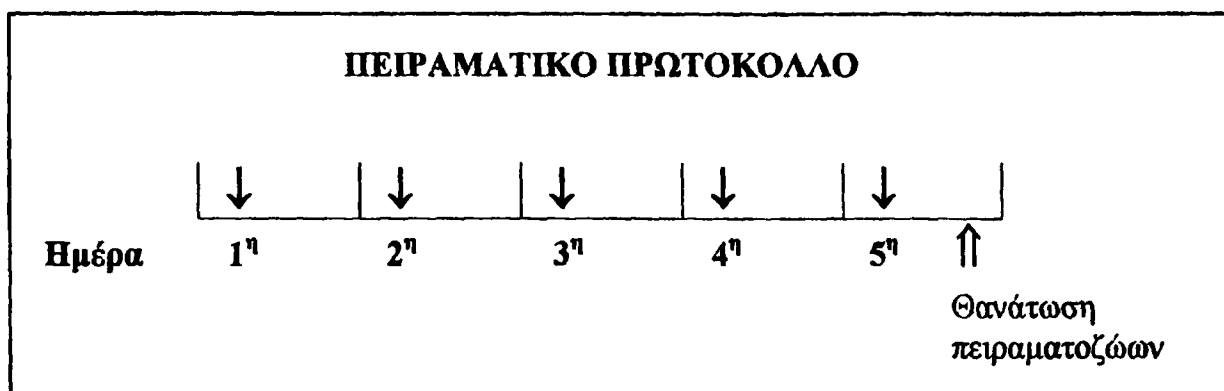
Οι ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας μελέτης, χορηγήθηκαν στα ζώα ενδοπεριτοναϊκά (i.p), με τη μορφή διαλύματος ή ελαιώρηματος σε ελαιόλαδο ή φυσιολογικό ορό (NaCl 0,9%). Πιο συγκεκριμένα, η δισουλφιράμη χορηγήθηκε ως διάλυμα σε ελαιόλαδο, η χλωροπροπαμίδη, η προκαρβαζίνη, η φουραζολιδόνη και η γκριζεοφουλβίνη ως ελαιώρηματα σε ελαιόλαδο, η ισονιαζίδη, η κεφαμανδόλη, η προπρανολόλη και η κινακρίνη ως διαλύματα σε φυσιολογικό ορό, ενώ η χλωραμφαινικόλη, η μετρονιδαζόλη και η κοτριμοξαζόλη ως ελαιώρηματα σε φυσιολογικό ορό (Πίνακας 4). Για κάθε 100 g ζώου, ενέθηκε 1 ml του διαλύματος/ελαιώρηματος της ουσίας.

Πίνακας 4. Συγκεντρωτικός πίνακας των φαρμάκων που χορηγήθηκαν, των δόσεων και του διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε στα πλαίσια της παρούσας μελέτης.

ΦΑΡΜΑΚΑ	ΔΟΣΗ (mg/Kg)	ΔΙΑΛΥΤΗΣ
Δισουλφιράμη	25, 50, 75, 100	Ελαιόλαδο (διάλυμα)
Χλωραμφαινικόλη	200	NaCl 0,9% (ελαιώρημα)
Μετρονιδαζόλη	200	NaCl 0,9% (ελαιώρημα)
Κοτριμοξαζόλη	240	NaCl 0,9% (ελαιώρημα)
Κεφαμανδόλη	200	NaCl 0,9% (διάλυμα)
Γκριζεοφουλβίνη	100	Ελαιόλαδο (ελαιώρημα)
Φουραζολιδόνη	100	Ελαιόλαδο (ελαιώρημα)
Κινακρίνη	50	NaCl 0,9% (διάλυμα)
Ισονιαζίδη	100	NaCl 0,9% (διάλυμα)
Χλωροπροπαμίδη	80	Ελαιόλαδο (ελαιώρημα)
Προκαρβαζίνη	100	Ελαιόλαδο (ελαιώρημα)
Προπρανολόλη	50	NaCl 0,9% (διάλυμα)



Το πειραματικό πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε για όλες τις ουσίες της μελέτης, αποτελεί ένα μοντέλο υποξείας χορήγησης, σύμφωνα με το οποίο κάθε ουσία δόθηκε για 5 συνεχόμενες ημέρες (1 i.p ένεση την ημέρα), ενώ 2-3 ώρες μετά την τελευταία ένεση (5^η ημέρα) τα ζώα θανατώθηκαν και έγινε η λήψη συγκεκριμένων ιστών.



4. Επεξεργασία ιστών

Στην παρούσα μελέτη, ελήφθησαν οι εξής ιστοί:

- ήπαρ, για τη μέτρηση της ενζυμικής δραστηριότητας των προς μελέτη ενζύμων και
- εγκέφαλος, από τον οποίο απομονώθηκαν 4 λειτουργικές περιοχές (υποθάλαμος, ραβδωτό σώμα, μεσεγκέφαλος και πρόσθιος φλοιός) για τον προσδιορισμό των επιπέδων των βιογενών μονοαμινών.

4.1 Ήπαρ

4.1.1 Επεξεργασία ήπατος για τον προσδιορισμό της ενζυμικής δραστηριότητας της ADH, CYP2E1 και ALDH

Μετά τη θανάτωση του ζώου με αποκεφαλισμό, με τη χρήση λαιμητόμου, αφαιρείται το ήπαρ και τοποθετείται σε ποτήρι ζέσεως, το οποίο περιέχει κρύο διάλυμα σακχαρόζης (0,25 M, 4°C). Αφού αφαιρεθεί ο συνδετικός και ο λιπώδης ιστός, λαμβάνουμε 3 g ήπατος, τα οποία τεμαχίζονται με τη βοήθεια ψαλιδιού, πλένονται δύο φορές με διάλυμα ομογενοποίησης (σακχαρόζη, 0,25 M, 4°C) για να απομακρυνθεί το αίμα και ομογενοποιούνται (ομογενοποιητής Heidolph RZRO, Γερμανία, με έμβολο από teflon) σε 3 όγκους (w/v) κρύου διαλύματος ομογενοποίησης. Το ολικό ομογενοποίημα, εν συνεχεία, χρησιμοποιείται για την απομόνωση των υποκυτταρικών κλασμάτων (μιτοχόνδρια, κυτταρόπλασμα και μικροσωμάτια).

4.1.2 Απομόνωση υποκυτταρικών κλασμάτων

Το ολικό ομογενοποίημα, φυγοκεντρείται στα 700 x g για 10 λεπτά (φυγόκεντρος Sorvall® RC28S, ΗΠΑ), προκειμένου να απομακρυνθούν οι πυρήνες, ο κυτταρικός σκελετός και άθικτα κύτταρα (ίζημα). Το υπερκείμενο της φυγοκέντρωσης αυτής, υποβάλλεται σε νέα φυγοκέντρωση στα 10000 x g για 15 λεπτά, από το ίζημα της οποίας απομονώνουμε τα μιτοχόνδρια. Πιο συγκεκριμένα, ξεπλένουμε το ίζημα των μιτοχονδρίων, επαναδιαλυτοποιώντας το σε 3 ml διαλύματος ομογενοποίησης και φυγοκεντρώντας το στα 10000 x g για 15 λεπτά. Το νέο ίζημα που προκύπτει, ομογενοποιείται (ομογενοποιητής Heidolph RZRO, Γερμανία, με έμβολο από teflon) σε 1 ml διαλύματος ομογενοποίησης, το οποίο περιέχει 1% διοξυχολικό οξύ και αποτελεί το τελικό μιτοχονδριακό κλάσμα. Το υπερκείμενο της πρώτης φυγοκέντρωσης στα 10000 x g (κυτταρόπλασμα και μικροσωμάτια), φυγοκεντρείται στα 105000 x g για 60 λεπτά, προκειμένου να διαχωριστούν το κυτταρόπλασμα (υπερκείμενο), από τα μικροσωμάτια (ίζημα), τα οποία ομογενοποιούνται σε 3 ml διαλύματος ομογενοποίησης (ομογενοποιητής Heidolph RZRO, Γερμανία, με έμβολο από teflon). Όλη η προαναφερθείσα διαδικασία, λαμβάνει χώρα στους 4°C. Τελικά, μοιράζουμε κάθε υποκυτταρικό κλάσμα σε δύο σωληνίσκους Eppendorf και τα καταψύχουμε στους -80°C, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν για τη μέτρηση ενζυμικών δραστηριοτήτων.

4.1.3 Επεξεργασία ήπατος για τον προσδιορισμό της ενζυμικής δραστηριότητας της CAT

Αφού θανατωθεί το ζώο, ληφθεί και καθαριστεί το ήπαρ με τη διαδικασία που προαναφέραμε, παίρνουμε 1 g αυτού, το τεμαχίζουμε με τη βοήθεια ψαλιδιού, το πλένουμε δύο φορές με διάλυμα ομογενοποίησης (διάλυμα KH_2PO_4 και $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 50 mM, pH 7,0, 4°C) για να απομακρυνθεί το αίμα και το ομογενοποιούμε (ομογενοποιητής Heidolph RZRO, Γερμανία, με έμβολο από teflon) σε 10 όγκους (w/v) κρύου διαλύματος ομογενοποίησης, το οποίο περιέχει επιπλέον 1% διαλύματος Triton. Το ολικό ομογενοποίημα στη συνέχεια φυγοκεντρείται στα 130 x g για 10 λεπτά, στους 4°C (φυγόκεντρος Sorvall® RC28S, ΗΠΑ), για να λάβουμε τα υπεροξυσωμάτια (υπερκείμενο), τα οποία ψύχονται στους -80°C, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό της ενζυμικής δραστηριότητας της CAT.

4.2 Εγκέφαλος

4.2.1 Απομόνωση περιοχών εγκεφάλου

Αμέσως μετά τη θανάτωση του ζώου, συλλέγεται ο εγκέφαλος και τοποθετείται σε πάγο. Στη συνέχεια και με βάση την τεχνική που περιγράφεται από την Cabrera-Vera και συν. (Cabrera-Vera et al., 2000), διαχωρίζονται τα εξής μέρη του εγκεφάλου: υποθάλαμος, ραβδωτό σώμα, μεσεγκέφαλος και πρόσθιος φλοιός. Τα δείγματα τοποθετούνται σε σωληνίσκους Eppendorf και ψύχονται αμέσως με τη βοήθεια υγρού αζώτου (-192°C) και στη συνέχεια φυλάσσονται στους -80°C, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό των βιογενών μονοαμινών.

4.2.2 Επεξεργασία των περιοχών του εγκεφάλου

Τα μέρη του εγκεφάλου (υποθάλαμος, ραβδωτό σώμα και μεσεγκέφαλος), αφού ξεπαγώσουν ήπια μέσα σε πάγο, ζυγίζονται και ομογενοποιούνται για 30 δευτερόλεπτα (10 δευτερόλεπτα x 3) με τη βοήθεια υπερήχων (Virsonic 50, Virtis, USA) σε διάλυμα υπερχλωρικού οξέος (HClO_4 , 0,2 N). Ο υποθάλαμος και το ραβδωτό σώμα ομογενοποιούνται σε 0,5 ml, ενώ ο μεσεγκέφαλος σε 1 ml οξέος. Ο πρόσθιος φλοιός, αφού ξεπαγώσει, ομογενοποιείται (ομογενοποιητής Heidolph RZRO, Γερμανία, με έμβολο από teflon) σε 9 όγκους (w/v) HClO_4 , 0,2 N. Το ομογενοποίημα που προκύπτει, σε όλες τις περιπτώσεις, φυγοκεντρείται στα 10000 x g για 15 λεπτά, στους 4°C, με τη βοήθεια φυγοκέντρου Eppendorf® 5415C (Γερμανία). Στη συνέχεια, λαμβάνεται το υπερκείμενο, το οποίο χρησιμοποιείται για την ανάλυση των βιογενών αμινών.

5. Μέθοδοι μέτρησης ενζυμικών δραστηριοτήτων

5.1 Αλκοολική αφυδρογονάση (ADH)

Μετράται η αναγωγή του NAD^+ σε NADH , σε φασματοφωτόμετρο διπλής εισόδου (Shimadzu UV1601, Ιαπωνία), σε μήκος κύματος 340 nm, για 5 λεπτά και σε θερμοκρασία 25°C. Σε 1 ml μίγματος αντίδρασης περιέχονται: ρυθμιστικό διάλυμα γλυκίνης- NaOH (70 mM, pH 9,6), 0,67 mM NAD ως συνένζυμο, 10 mM αιθανόλης ως υπόστρωμα και 50 μl κυτταροπλασματικού δείγματος. Η αντίδραση αρχίζει με την προσθήκη του υποστρώματος, αφού τα υπόλοιπα συστατικά της αντίδρασης επωαστούν για 5 λεπτά. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε μίγμα, στο οποίο το υπόστρωμα αντικαταστάθηκε από αντίστοιχη ποσότητα ρυθμιστικού διαλύματος (Koivula et al., 1975).

Η δραστηριότητα της ADH, εκφράζεται ως nmol $\text{NADH}/\text{min}/\text{mg}$ πρωτεΐνης.

5.2 Μικροσωμιακό σύστημα οξείδωσης αιθανόλης (CYP2E1)

Μετράται η υδροξυλίωση της π-νιτροφαινόλης σε 4-νιτροκατεχόλη, σε φασματοφωτόμετρο διπλής εισόδου (Shimadzu UV1601, Ιαπωνία), σε μήκος κύματος 546 nm και σε θερμοκρασία 37°C. Σε 1 ml μίγματος αντίδρασης περιέχονται: ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού καλίου (100 mM, pH 6,8), 1mM NADPH ως συνένζυμο, 100 μM π-νιτροφαινόλης ως υπόστρωμα και 200 μl μικροσωμιακού δείγματος. Το μίγμα επωάζεται για 10 λεπτά στους 37°C σε υδατόλουτρο με ανάδευση και στη συνέχεια προστίθενται 500 μl διαλύματος υπερχλωρικού οξέος (HClO_4 , 0,6 N). Ακολουθεί φυγοκέντρωση στα 1300 x g για 5 λεπτά (φυγοκέντρος Eppendorf® 5415C, Γερμανία) σε θερμοκρασία δωματίου. Παραλαμβάνουμε 1 ml από το υπερκείμενο, στο οποίο προσθέτουμε 100 μl διαλύματος καυστικού νατρίου (NaOH , 10 N) και μετράται η απορρόφηση. Για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης, χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές συγκεντρώσεις διαλύματος 4-νιτροκατεχόλης (Reinke & Moyer, 1985; Koop, 1986).

Η δραστηριότητα του CYP2E1, εκφράζεται ως nmol 4-νιτροκατεχόλης/min/mg πρωτεΐνης.



5.3 Καταλάση (CAT)

Μετράται η διάσπαση του H_2O_2 , παρακολουθώντας τη μείωση της απορρόφησης σε φασματοφωτόμετρο διπλής εισόδου (Shimadzu UV1601, Ιαπωνία), σε μήκος κύματος 240 nm, για 30 δευτερόλεπτα και σε θερμοκρασία 20°C. Σε 1 ml μίγματος αντίδρασης περιέχονται: ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (KH_2PO_4 και $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 50 mM, pH 7,0), 66 mM H_2O_2 και 20 μl αραιωμένου (1/10) δείγματος υπεροξυσωματίων. Η αντίδραση αρχίζει με την προσθήκη του H_2O_2 . Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε μίγμα, στο οποίο το H_2O_2 αντικαταστάθηκε από αντίστοιχη ποσότητα ρυθμιστικού διαλύματος (Aebi, 1984; Scott et al., 2000).

Η δραστηριότητα της CAT, εκφράζεται ως nmol H_2O_2 /min/mg πρωτεΐνης.

5.4 Αλδεϋδικές αφυδρογονάσεις

5.4.1 Αλδεϋδική αφυδρογονάση κυτταροπλάσματος (ALDH1A1)

Μετράται η αναγωγή του NAD^+ σε NADH, σε φασματοφωτόμετρο διπλής εισόδου (Shimadzu UV1601, Ιαπωνία), σε μήκος κύματος 340 nm, για 5 λεπτά και σε θερμοκρασία 37°C. Σε 1 ml μίγματος αντίδρασης περιέχονται: ρυθμιστικό διάλυμα πυροφωσφορικού νατρίου (75 mM, pH 8,0), 1 mM πυραζόλης (για την αναστολή της αλκοολικής αφυδρογονάσης), 1 mM NAD ως συνένζυμο, 5 mM προπιοναλδεϋδης ως υπόστρωμα και 50 μl κυτταροπλάσματικού δείγματος. Η αντίδραση αρχίζει με την προσθήκη του υποστρώματος, αφού τα υπόλοιπα συστατικά της αντίδρασης επωαστούν για 5 λεπτά. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε μίγμα, στο οποίο το υπόστρωμα αντικαταστάθηκε από αντίστοιχη ποσότητα απεσταγμένου νερού (Marselos et al., 1986; Vasiliou & Marselos, 1989).

Η δραστηριότητα της ALDH, εκφράζεται ως nmol NADH/min/mg πρωτεΐνης.

5.4.2 Αλδεϋδικές αφυδρογονάσεις μιτοχονδρίων (low και high-Km ALDH2)

Μετράται η αναγωγή του NAD^+ σε NADH, σε φασματοφωτόμετρο διπλής εισόδου (Shimadzu UV1601, Ιαπωνία), σε μήκος κύματος 340 nm, για 5 λεπτά και σε θερμοκρασία 25°C. Σε 1 ml μίγματος αντίδρασης περιέχονται: ρυθμιστικό διάλυμα πυροφωσφορικού νατρίου (75 mM, pH 8,0), 1 mM πυραζόλης (για την αναστολή της δράσης της αλκοολικής αφυδρογονάσης), 1 mM NAD ως συνένζυμο, 2 μM ροτενόνης (για την αναστολή της NAD οξειδάσης), 5 mM ακεταλδεϋδης (high-Km ALDH2) ή 50 μM ακεταλδεϋδης (low-Km ALDH2) ως υπόστρωμα και 50 μl μιτοχονδριακού δείγματος. Η αντίδραση αρχίζει με την προσθήκη του υποστρώματος, αφού τα υπόλοιπα συστατικά της αντίδρασης επωαστούν για 5 λεπτά. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε μίγμα, στο οποίο το υπόστρωμα αντικαταστάθηκε από αντίστοιχη ποσότητα απεσταγμένου νερού (Vasiliou et al., 1986).

Η δραστηριότητα της ALDH, εκφράζεται ως nmol NADH/min/mg πρωτεΐνης.



5.5 Προσδιορισμός πρωτεϊνών

Ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών, έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο του Lowry και συν. (1951). Η μέθοδος αυτή, στηρίζεται στη δημιουργία δύο συμπλόκων, τα οποία απορροφούν στα 550 nm. Το πρώτο σύμπλοκο, σχηματίζεται με τη συμμετοχή δύο γειτονικών πεπτιδικών δεσμών και ιόντων χαλκού, ανεξάρτητα της σύστασης της πρωτεΐνης σε αμινοξέα, ενώ το δεύτερο, σχηματίζεται με αναγωγή του φωσφομολυβδαινικού και φωσφολφραιμικού οξέος από τα αμινοξέα τυροσίνη και τρυπτοφάνη της πρωτεΐνης.

Στη μέθοδο αυτή, χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω διαλύματα:

- Διάλυμα Α: 2% Na_2CO_3 σε 0,1 N NaOH
- Διάλυμα Β: 1% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- Διάλυμα Γ: 2% τρυγικό νάτριο ($\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- Διάλυμα Δ: μίγμα των Β και Γ σε αναλογία 1:1, που παρασκευάζεται αμέσως πριν τη χρήση
- Διάλυμα Ε: αλκαλικό διάλυμα χαλκού, το οποίο παρασκευάζεται αμέσως πριν τη χρήση με ανάμιξη των Α και Δ σε αναλογία 50:1
- Διάλυμα αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu (Sigma Chemical Co.-ΗΠΑ) αραιωμένο 1:1 με νερό

Σε δείγμα πρωτεΐνης 0,2 ml, προστέθηκε 1 ml διαλύματος Ε και παρέμειναν για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, προστέθηκε 0,1 ml διαλύματος Folin-Ciocalteu και το δείγμα παρέμεινε σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά, οπότε και μετρήθηκε η απορρόφησή του. Για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης, χρησιμοποιήθηκε αλβουμίνη από ορό βοός.

6. Ανάλυση βιογενών αμινών

Μετά την ομογενοποίηση και φυγοκέντρηση των δειγμάτων του εγκεφάλου, το υπερκείμενο που παραλήφθηκε, χωρίστηκε σε δύο ίσα μέρη. Το ένα εξ αυτών, χρησιμοποιείται για την ανάλυση της σεροτονίνης (5-HT), του 5-υδροξυϊνδολοξικού οξέος (5-HIAA), του διϋδροξυφαινυλοξικού οξέος (DOPAC) και του ομοβανιλλικού οξέος (HVA), ενώ το άλλο για την ανάλυση της νοραδρεναλίνης (NA), της ντοπαμίνης (DA) και του διϋδροξυφαινυλοξικού οξέος (DOPAC), με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC) (Mefford et al., 1980; Mefford, 1981).

Από το πρώτο μέρος, παίρνουμε 150 μl, τα οποία τοποθετούνται σε σωληνίσκους Eppendorf. Προσθέτουμε εν συνεχεία 50 μl διαλύματος υπερχλωρικού οξέος (HClO_4 , 0,4 N) και φυγοκεντρώμε στα 10000 x g για 10 λεπτά, στους 4°C (φυγοκέντρος Eppendorf® 5415C, Γερμανία). Το υπερκείμενο παραλαμβάνεται και χρησιμοποιείται για την ανάλυση των ινδολαμινών (5-HT και 5-HIAA), καθώς επίσης του DOPAC και του HVA.

Από το δεύτερο μέρος, παραλαμβάνονται 200 μl και τοποθετούνται σε σωληνίσκους Eppendorf, οι οποίοι περιέχουν 20 mg ενεργοποιημένου οξειδίου του αργιλίου, και στα οποία στη συνέχεια προστίθεται 1 ml ρυθμιστικού διαλύματος Tris (0,5 M, pH 8,65). Τα δείγματα φυγοκεντρώνται στα 16000 x g για 2 λεπτά, στους 4°C (φυγοκέντρος Eppendorf® 5415C, Γερμανία), αφαιρείται το υπερκείμενο και ακολουθούν τρεις εκπλύσεις του οξειδίου του αργιλίου με απεσταγμένο νερό. Μετά από κάθε έκπλυση ακολουθεί φυγοκέντρηση (16000 x g για 2 λεπτά). Τέλος, μετά την τελευταία φυγοκέντρηση, αφού αφαιρεθεί το απεσταγμένο νερό, προστίθεται διάλυμα υπερχλωρικού οξέος (HClO_4 , 0,1 N) και τα δείγματα φυγοκεντρώνται στα

16000 x g για 5 λεπτά. Από το υπερκείμενο λαμβάνονται προσεκτικά, ώστε να μην αναταραχθεί το οξείδιο του αργιλίου, 150-170 μl , τα οποία χρησιμοποιούνται για την ανάλυση της NA, της DA και του DOPAC.

Η βασική διάταξη του HPLC, αποτελείται από το σύστημα της αντλίας, από το σύστημα εισαγωγής του δείγματος και τη στήλη, και από το σύστημα ανίχνευσης, ενίσχυσης και καταγραφής του σήματος.

α) Χρησιμοποιήθηκε αντλία LC-9A (Shimadzu, Ιαπωνία), ενώ η ταχύτητα ροής του διαλύματος έκλουσης (οξικό νάτριο 0,1 M, κιτρικό οξύ 0,1 M, οκτυλοθειικό οξύ $2,7 \cdot 10^{-4}$ M και 25% μεθανόλη (v/v) σε απεσταγμένο νερό) ήταν 0,6 ml/min.

β) Το δείγμα εισάγεται με μικροσύριγγα των 50 μl στη βαλβίδα εισαγωγής, η οποία απελευθερώνει 20 μl δείγματος. Αναφορικά με τη στήλη, χρησιμοποιήθηκε μία Jones-Apex, ODS, C-18, διαστάσεων 250 mm x 4,6 mm, η οποία περιέχει κόκκους διαμέτρου 5 μm . Στο σημείο αυτό δε, πρέπει να αναφέρουμε πως έχουμε να κάνουμε με χρωματογραφία αντίστροφης φάσης, καθώς το εκλουστικό διάλυμα είναι περισσότερο πολικό από τη στατική φάση (υλικό της στήλης).

γ) Το σύστημα ανίχνευσης του σήματος, αποτελείται από έναν ηλεκτροχημικό ανιχνευτή L-ECD-6A (Shimadzu, Ιαπωνία), με σταθερό ηλεκτρικό πεδίο 0,75 V. Η λειτουργία του ηλεκτροχημικού ανιχνευτή, είναι παρόμοια με αυτή ενός αμπερομέτρου, δηλαδή μετράει ηλεκτρικό ρεύμα. Αυτό το ηλεκτρικό ρεύμα, προέρχεται από την αντίδραση οξειδωαναγωγής που πραγματοποιείται στην κυψελίδα του ανιχνευτή και είναι το αποτέλεσμα μίας ανταλλαγής ηλεκτρονίων μεταξύ της χημικής ουσίας που βρίσκεται στο εκλουστικό διάλυμα και του ηλεκτροδίου του ανιχνευτή. Αντίδραση οξειδωσης γίνεται στην περίπτωση που το μόριο δίνει ηλεκτρόνια και αντίδραση αναγωγής, όταν το ηλεκτρόδιο είναι ο δότης των ηλεκτρονίων. Στην περίπτωση των κατεχολαμινών, για παράδειγμα, όταν ένα μόριο κατεχολαμίνης, που περιέχει ομάδες υδροξυλίου, εισέλθει στην κυψελίδα του ανιχνευτή, τότε πραγματοποιείται μία αντίδραση οξειδωσης. Το ηλεκτρικό πεδίο που υπάρχει, κάνει την κατεχολαμίνη να δώσει δύο ηλεκτρόνια στο ηλεκτρόδιο, με αποτέλεσμα την παραγωγή δύο ιόντων υδρογόνου και μίας κινόνης. Το ηλεκτρικό ρεύμα που παράγεται, καλείται «επαγωγικό ρεύμα» και είναι ευθέως ανάλογο με την ποσότητα της χημικής ένωσης που βρίσκεται στο εκλουστικό διάλυμα.

δ) Το καταγραφικό σύστημα, αποτελείται από έναν ολοκληρωτή C-R6A (Shimadzu, Ιαπωνία), όπου καταγράφονται τα χρωματογραφήματα. Οι ποσότητες των βιογενών αμινών, εκφράζονται σε ng (βιογενούς αμίνης)/mg ιστού.

7. Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, έγινε με τη βοήθεια του Student's t-test. Ως όριο για τη στατιστική σημαντικότητα, κατά τη σύγκριση μεταξύ δύο ομάδων, χρησιμοποιήθηκαν τιμές του $P < 0,05$.



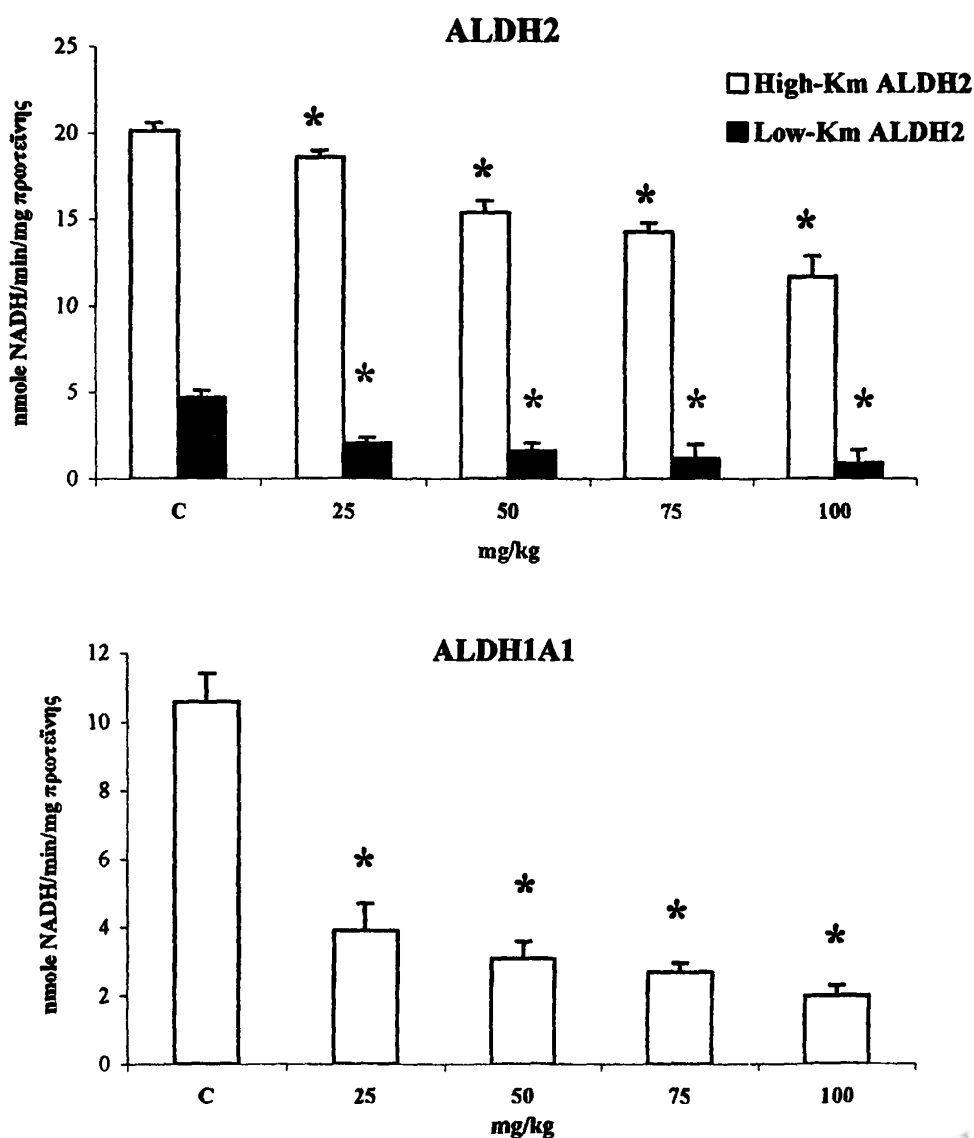
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. ΔΙΣΟΥΛΦΙΡΑΜΗ (DIS)

Χορηγήθηκαν πέντε διαφορετικά δοσολογικά σχήματα δισουλφιράμης (25, 50, 75, 100 και 150 mg/kg, ως διάλυμα σε ελαιόλαδο), εκ των οποίων η δόση των 150 mg ήταν θανατηφόρος για όλα τα πειραματόζωα.

1.1 Ενζυμικές δραστηριότητες

Η δισουλφιράμη προκάλεσε μία δόσοεξαρτώμενη αναστολή όλων των ισοενζύμων της ALDH (high-, low-Km ALDH2 και ALDH1A1) (Σχήμα 9), ενώ επιπλέον, όλα τα δοσολογικά σχήματα ανέστειλαν το CYP2E1 (Πίνακας 5). Ωστόσο, καμία επίδραση δε σημειώθηκε στη δραστηριότητα της ADH και της CAT (Πίνακας 5).



Σχήμα 9. Επίδραση της δισουλφιράμης στη δραστηριότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$; στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.



Πίνακας 5. Επίδραση της δισουλφιδράμης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH (nmol NADH/min/mg πρωτεΐνης), του CYP2E1 (nmol 4-νιτροκατεχόλης/min/mg πρωτεΐνης) και της CAT (nmol H₂O₂/min/mg πρωτεΐνης) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* P<0.05: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	ADH	CYP2E1	CAT
C	6,42 $\pm$ 0,64	3,67 $\pm$ 0,55	634,2 $\pm$ 37,7
25	5,85 $\pm$ 0,84	1,45 $\pm$ 0,24 *	620,1 $\pm$ 77,4
50	6,97 $\pm$ 0,71	2,12 $\pm$ 0,66 *	648,6 $\pm$ 33,7
75	7,44 $\pm$ 0,67	1,70 $\pm$ 0,30 *	704,7 $\pm$ 76,7
100	6,51 $\pm$ 0,45	2,04 $\pm$ 0,43 *	576,3 $\pm$ 119,0

1.2 Βιογενείς αμίνες

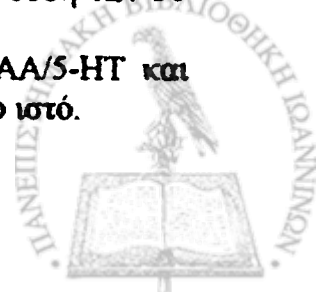
Νοραδρενεργικό σύστημα: οι δόσεις των 50, 75 και 100 mg/kg, προκάλεσαν μία δόσοεξαρτώμενη, στατιστικώς σημαντική, μείωση των επιπέδων της NA στον υποθάλαμο (P<0,05, P<0,01 και P<0,005 αντίστοιχα), ενώ στατιστικώς σημαντική ήταν και η πτώση των επιπέδων της NA στο μεσεγκέφαλο, που προκάλεσε η δόση των 100 mg/kg (P<0,01) (Σχήμα 10).

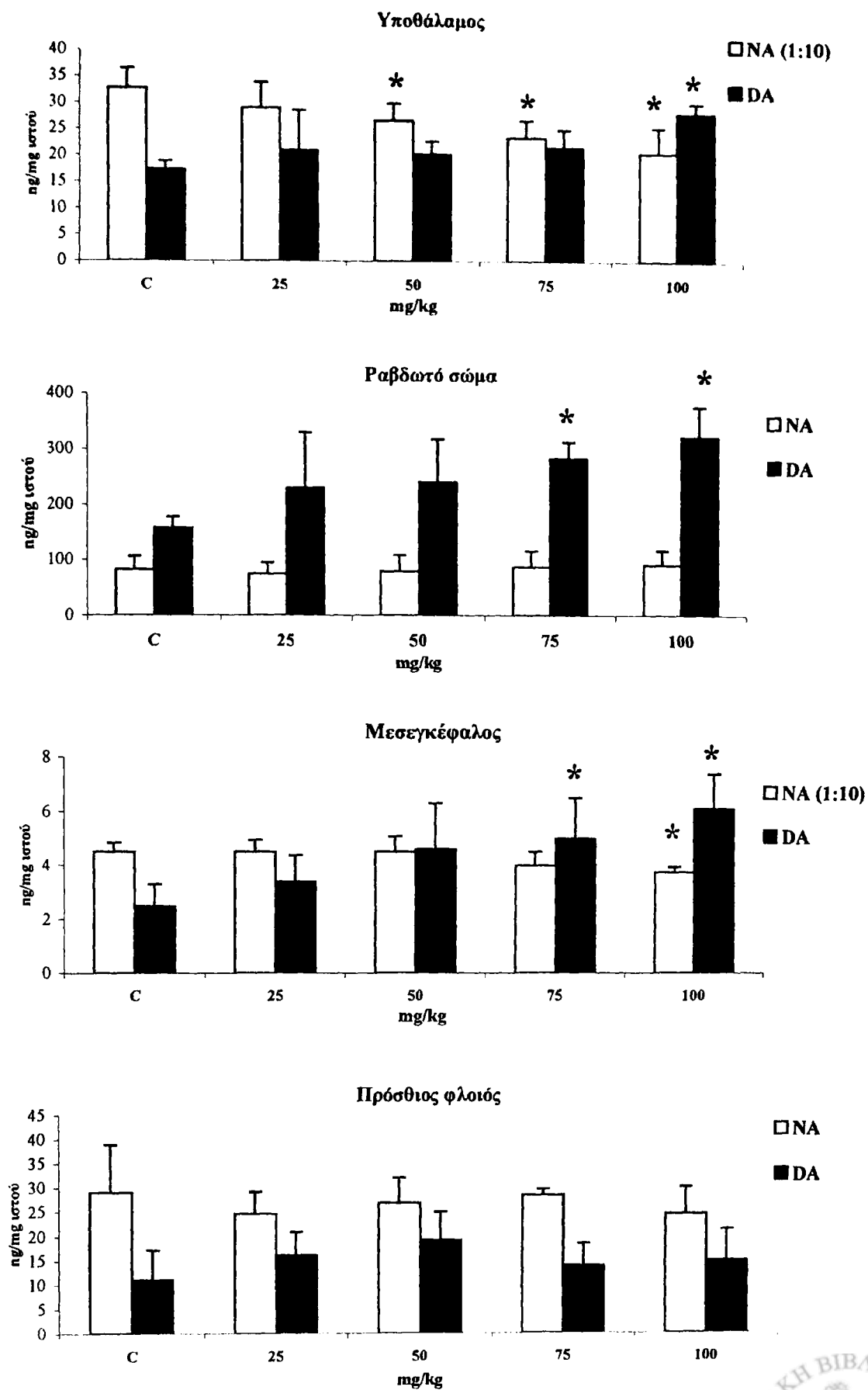
Ντοπαμινεργικό σύστημα: οι δόσεις των 75 και 100 mg/kg, προκάλεσαν μία δόσοεξαρτώμενη, στατιστικώς σημαντική, αύξηση των επιπέδων της DA στο ραβδωτό σώμα (P<0,001) και στο μεσεγκέφαλο (P<0,05 και P<0,0025 αντίστοιχα), ενώ επιπλέον, η δόση των 100 mg/kg, αύξησε τα επίπεδα της DA και στον υποθάλαμο (P<0,001) (Σχήμα 10). Όλα τα χορηγούμενα δοσολογικά σχήματα της δισουλφιδράμης, προκάλεσαν μία στατιστικώς σημαντική πτώση του ρυθμού ανακύκλωσης της DA στο ραβδωτό σώμα (P<0,0025, P<0,005, P<0,001 και P<0,005 αντίστοιχα) και στον πρόσθιο φλοιό (P<0,05, P<0,05, P<0,005 και P<0,025 αντίστοιχα), ενώ στατιστικώς σημαντική ήταν και η πτώση που προκάλεσε στο ρυθμό ανακύκλωσης της DA στον υποθάλαμο η δόση των 100 mg/kg β.σ. (P<0,025) (Πίνακας 6). Τέλος, οι δόσεις των 50, 75 και 100 mg/kg, προκάλεσαν μία στατιστικώς σημαντική πτώση των επιπέδων του HVA στον πρόσθιο φλοιό (P<0,05, P<0,025 και P<0,025 αντίστοιχα) (Πίνακας 6).

Ο ρυθμός ανακύκλωσης της DA, προκύπτει από το λόγο DOPAC+HVA/DA και αποτελεί δείκτη της ντοπαμινεργικής δραστηριότητας στο συγκεκριμένο ιστό.

Σεροτονινεργικό σύστημα: οι δόσεις των 50, 75 και 100 mg/kg, προκάλεσαν μία στατιστικώς σημαντική αύξηση των επιπέδων του 5-HIAA (P<0,05, P<0,05 και P<0,01 αντίστοιχα), καθώς και του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT (P<0,05, P<0,05 και P<0,005 αντίστοιχα) στο μεσεγκέφαλο. Αντίστοιχες αυξήσεις, τόσο στα επίπεδα του 5-HIAA (P<0,05, P<0,025), όσο και στο ρυθμό ανακύκλωσης της 5-HT (P<0,05, P<0,005), προκάλεσαν οι δόσεις των 75 και 100 mg/kg στον πρόσθιο φλοιό, ενώ αύξηση του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT (P<0,05) προκάλεσε και η δόση των 50 mg/kg στην ίδια δομή του εγκεφάλου (Σχήμα 11).

Ο ρυθμός ανακύκλωσης της 5-HT, προκύπτει από το λόγο 5-HIAA/5-HT και αποτελεί δείκτη της σεροτονινεργικής δραστηριότητας στο συγκεκριμένο ιστό.

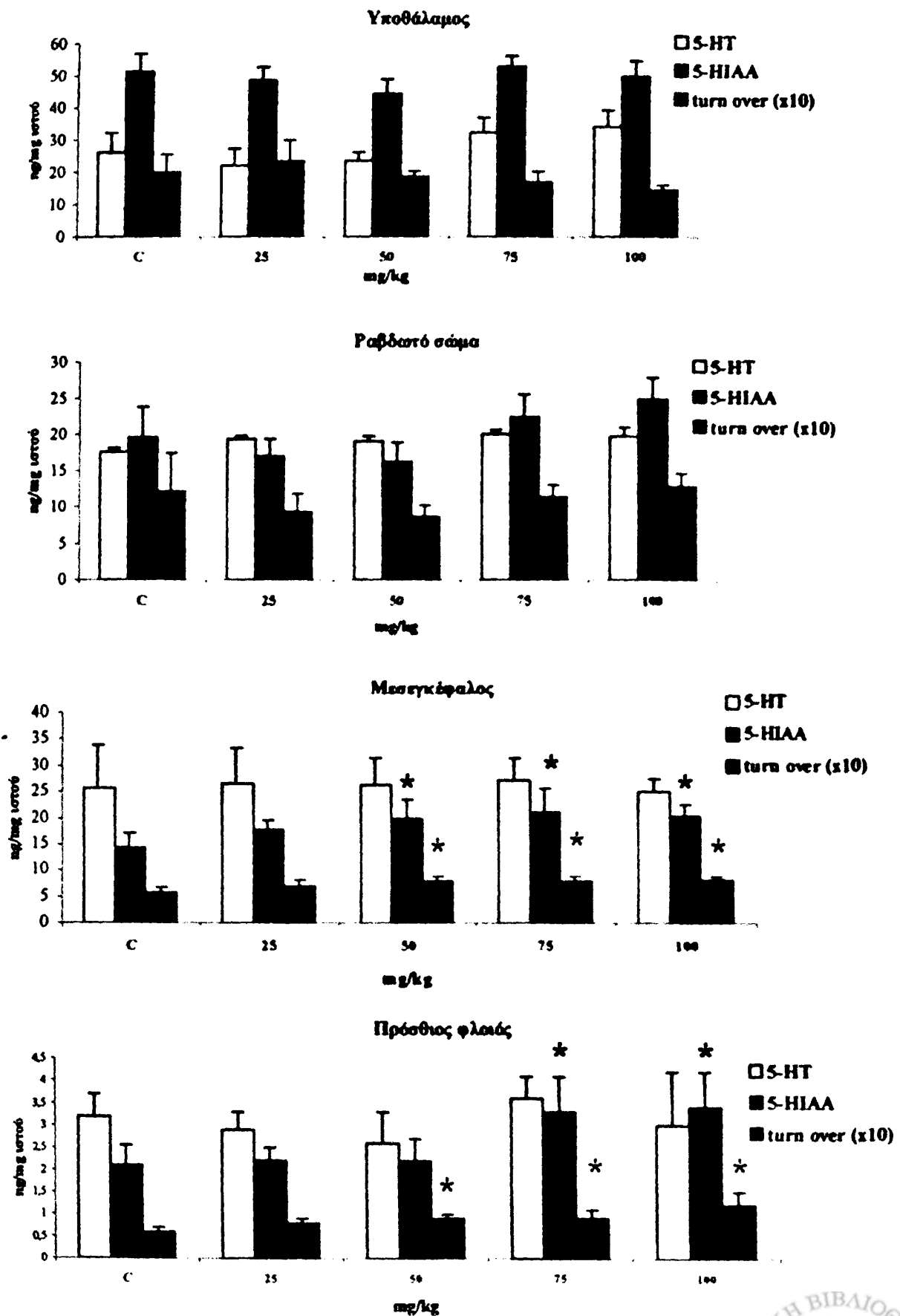




Σχήμα 10. Επίδραση της δισουλφιδράμης στα επίπεδα των κατεχολαμινών τμημάτων εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.





Σχήμα 11. Επίδραση της δισουλφιδράμης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμικων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.



Πίνακας 6. Επίδραση της δισουλφιράμης στα επίπεδα του DOPAC (ng/mg ιστού), του HVA (ng/mg ιστού) και του ρυθμού ανακύκλωσης της DA (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	DOPAC	HVA	Ρυθμός Ανακύκλωσης DA
Υποθάλαμος			
C	13,4 $\pm$ 3,1	2,03 $\pm$ 0,41	0,94 $\pm$ 0,06
25	19,3 $\pm$ 3,9	2,27 $\pm$ 1,35	0,84 $\pm$ 0,13
50	14,9 $\pm$ 1,4	2,90 $\pm$ 1,26	0,79 $\pm$ 0,10
75	14,4 $\pm$ 1,2	2,87 $\pm$ 0,33	0,77 $\pm$ 0,22
100	14,9 $\pm$ 3,3	3,24 $\pm$ 0,80	0,65 $\pm$ 0,15 *
Ραβδωτό σώμα			
C	70,1 $\pm$ 17,6	18,4 $\pm$ 7,0	0,56 $\pm$ 0,09
25	46,2 $\pm$ 20,4	15,6 $\pm$ 3,8	0,28 $\pm$ 0,04 *
50	45,7 $\pm$ 20,1	11,7 $\pm$ 3,7	0,27 $\pm$ 0,05 *
75	65,1 $\pm$ 6,5	18,9 $\pm$ 4,8	0,30 $\pm$ 0,02 *
100	77,1 $\pm$ 17,5	19,3 $\pm$ 5,1	0,30 $\pm$ 0,03 *
Μεσεγκέφαλος			
C	1,24 $\pm$ 0,57	0,44 $\pm$ 0,20	0,73 $\pm$ 0,36
25	1,04 $\pm$ 0,19	0,60 $\pm$ 0,13	0,52 $\pm$ 0,11
50	1,27 $\pm$ 0,46	0,56 $\pm$ 0,17	0,31 $\pm$ 0,07
75	1,35 $\pm$ 0,23	0,56 $\pm$ 0,13	0,36 $\pm$ 0,13
100	1,66 $\pm$ 0,79	0,90 $\pm$ 0,41	0,41 $\pm$ 0,11
Πρόσθιος φλοιός			
C	2,83 $\pm$ 1,91	1,04 $\pm$ 0,69	0,34 $\pm$ 0,08
25	2,67 $\pm$ 2,82	0,76 $\pm$ 0,44	0,22 $\pm$ 0,01 *
50	2,05 $\pm$ 1,51	0,17 $\pm$ 0,20 *	0,15 $\pm$ 0,07 *
75	2,22 $\pm$ 0,76	0,00 $\pm$ 0,0 *	0,16 $\pm$ 0,01 *
100	2,33 $\pm$ 1,08	0,00 $\pm$ 0,0 *	0,18 $\pm$ 0,01 *

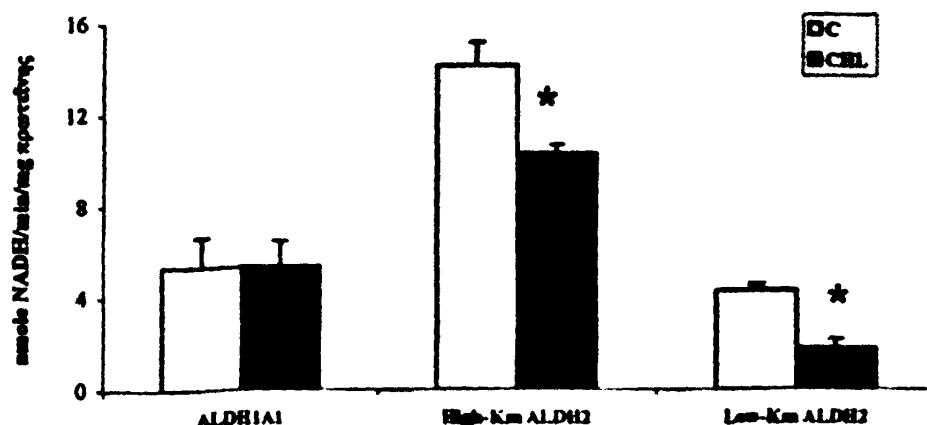


2. ΧΛΩΡΑΜΦΑΙΝΙΚΟΛΗ (CHL)

Χορηγήθηκαν 200 mg/kg χλωραμφαινικόλης, ως εναιώρημα σε φυσιολογικό ορό.

2.1 Ενζυμικές δραστηριότητες

Η χλωραμφαινικόλη προκάλεσε μία στατιστικώς σημαντική πτώση της δραστηριότητας, τόσο της low-, όσο και της high-Km ALDH2 ($P < 0,001$) (Σχήμα 12), ενώ οι δραστηριότητες των ADH, CAT, CYP2E1 και ALDH1A1, παρέμειναν ανεπηρέαστες (Σχήμα 12, Πίνακας 7).



Σχήμα 12. Επίδραση της χλωραμφαινικόλης στη δραστηριότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0,05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

Πίνακας 7. Επίδραση της χλωραμφαινικόλης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH (nmol NADH/min/mg πρωτεΐνης), του CYP2E1 (nmol 4-νιτροκατεχόλης/min/mg πρωτεΐνης) και της CAT (mmol H_2O_2 /min/mg πρωτεΐνης) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

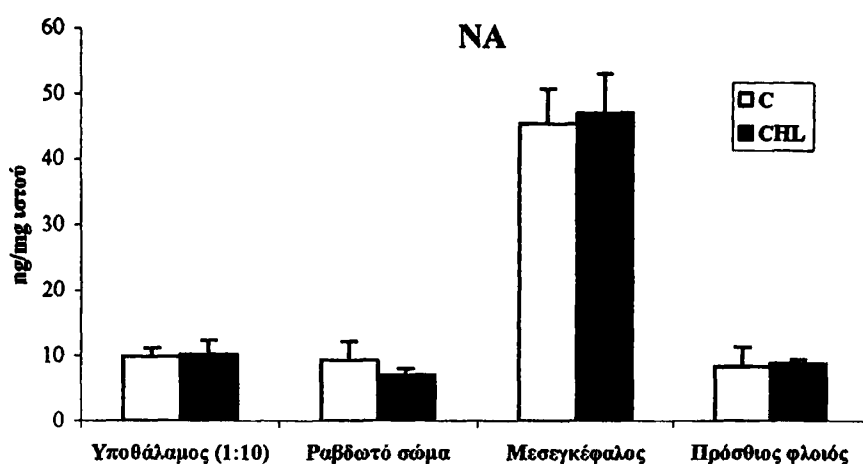
	ADH	CYP2E1	CAT
C	$3,9 \pm 0,3$	$3,7 \pm 0,3$	$804,1 \pm 127,9$
CHL	$4,5 \pm 0,5$	$3,9 \pm 0,7$	$810,2 \pm 77,7$

2.2 Βιογενείς αμίνες

Νοραδρενεργικό σύστημα: καμία επίδραση δε σημειώθηκε από τη χορήγηση της χλωραμφαινικόλης στα επίπεδα της NA του Κ.Ν.Σ. (Σχήμα 13).

Ντοπαμινεργικό σύστημα: παρατηρήθηκε πτώση των επιπέδων της DA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,05$), καθώς και των επιπέδων του DOPAC στο ραβδωτό σώμα και στον πρόσθιο φλοιό ($P<0,005$ και $P<0,025$ αντίστοιχα) (Πίνακας 8).

Σεροτονινεργικό σύστημα: η χορήγηση της χλωραμφαινικόλης, είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της 5-HT στο ραβδωτό σώμα ($P<0,05$) και στο μεσεγκέφαλο ($P<0,025$), ενώ προκάλεσε μείωση των επιπέδων του 5-HIAA, καθώς και του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT στο ραβδωτό σώμα ($P<0,025$) (Σχήμα 14).

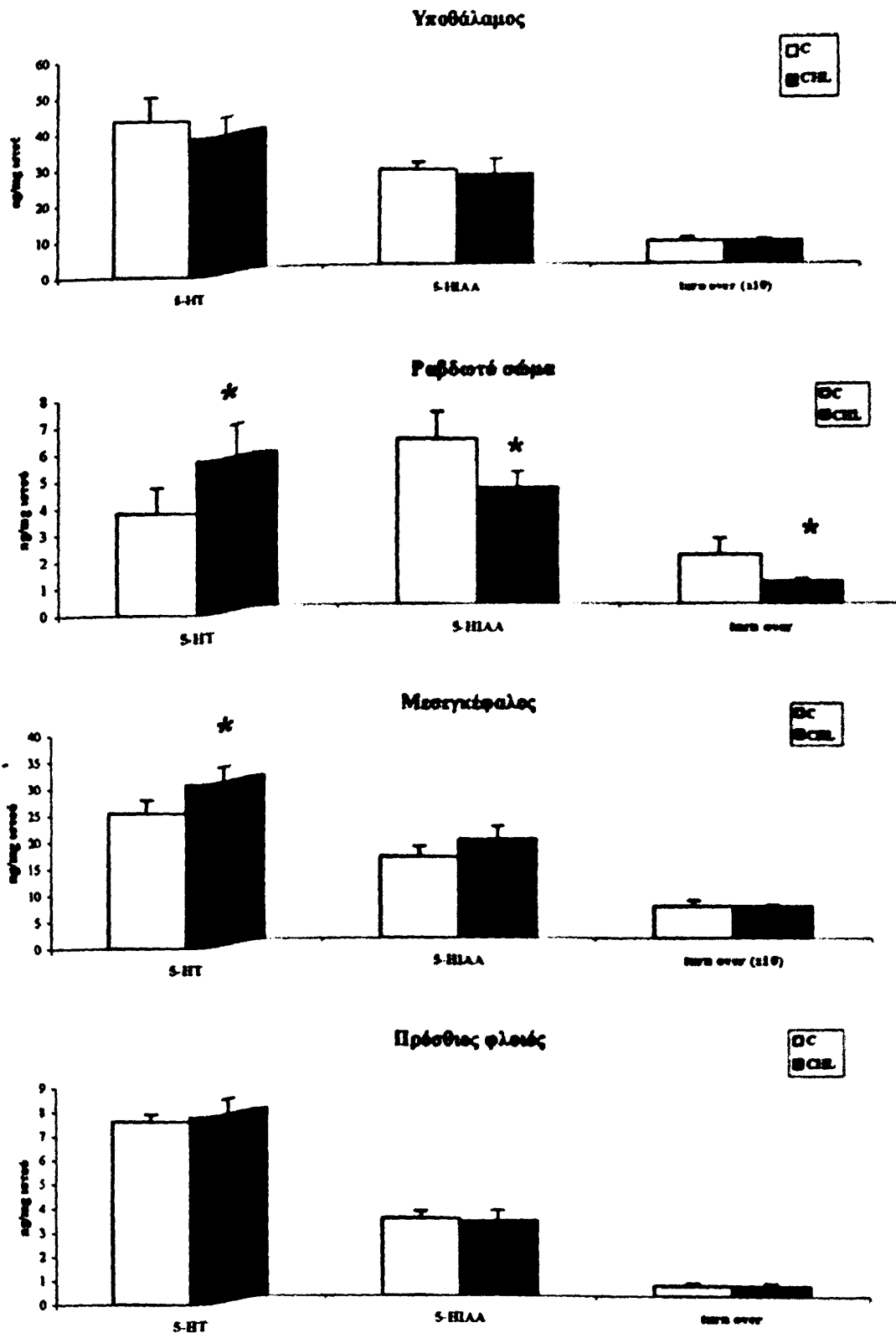


Σχήμα 13. Επίδραση της χλωραμφαινικόλης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

Πίνακας 8. Επίδραση της χλωραμφαινικόλης στα επίπεδα της DA (ng/mg ιστού) και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA) (ng/mg ιστού), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	DA	DOPAC	HVA	Ρυθμός Ανακύκλωσης DA
Υποθάλαμος				
C	7,9 $\pm$ 2,7	5,5 $\pm$ 2,4	1,25 $\pm$ 0,45	1,13 $\pm$ 0,62
CHL	8,6 $\pm$ 1,8	5,8 $\pm$ 1,1	1,20 $\pm$ 0,35	0,86 $\pm$ 0,34
Ραβδωτό σώμα				
C	102,1 $\pm$ 17,4	16,2 $\pm$ 4,9	18,0 $\pm$ 3,5	0,34 $\pm$ 0,06
CHL	71,7 $\pm$ 14,2 *	5,0 $\pm$ 1,6 *	11,5 $\pm$ 5,0	0,24 $\pm$ 0,10
Μεσεγκέφαλος				
C	7,6 $\pm$ 0,8	1,44 $\pm$ 0,13	0,64 $\pm$ 0,10	0,28 $\pm$ 0,05
CHL	5,2 $\pm$ 2,4	1,38 $\pm$ 0,27	0,62 $\pm$ 0,12	0,48 $\pm$ 0,23
Πρόσθιος φλοιός				
C	10,9 $\pm$ 1,7	2,16 $\pm$ 0,57	0,60 $\pm$ 0,14	0,26 $\pm$ 0,10
CHL	9,7 $\pm$ 2,6	1,12 $\pm$ 0,41 *	0,60 $\pm$ 0,23	0,18 $\pm$ 0,02



Σχήμα 14. Επίδραση της χλωραμφαινικόλης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (tiptu over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

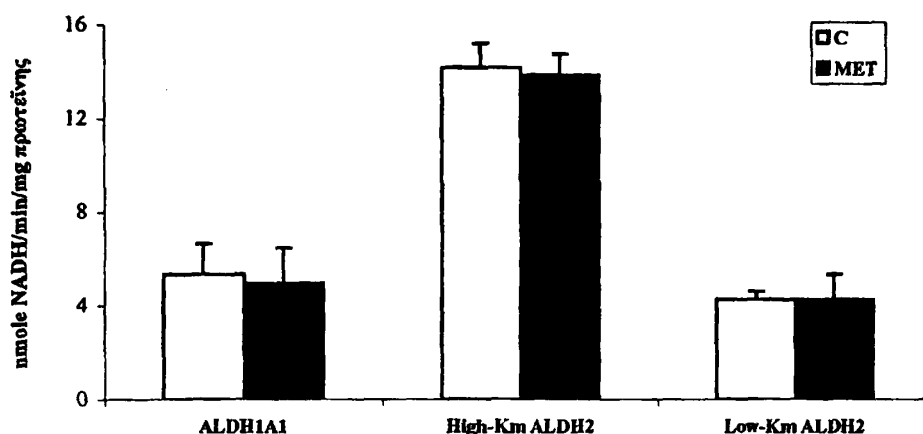


3. ΜΕΤΡΟΝΙΔΑΖΟΛΗ (MET)

Χορηγήθηκαν 200 mg/kg μετρονιδαζόλης, ως εναιώρημα σε φυσιολογικό ορό.

3.1 Ενζυμικές δραστηριότητες

Η χορήγηση της μετρονιδαζόλης, δεν επηρέασε τη δραστηριότητα κανενός από τα ισοένζυμα της ALDH (Σχήμα 15), ενώ ανέστειλε τη δραστηριότητα της ADH και του CYP2E1 ($P < 0,025$) (Πίνακας 9). Η δραστηριότητα της CAT, παρέμεινε ανεπηρέαστη.



Σχήμα 15. Επίδραση της μετρονιδαζόλης στη δραστηριότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

Πίνακας 9. Επίδραση της μετρονιδαζόλης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH (nmol NADH/min/mg πρωτεΐνης), του CYP2E1 (nmol 4-νιτροκατεχόλης/min/mg πρωτεΐνης) και της CAT (mmol H_2O_2 /min/mg πρωτεΐνης) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	ADH	CYP2E1	CAT
C	$8,7 \pm 0,8$	$3,70 \pm 0,26$	$642,1 \pm 143,0$
MET	$6,9 \pm 0,9$ *	$2,74 \pm 0,52$ *	$660,5 \pm 28,3$

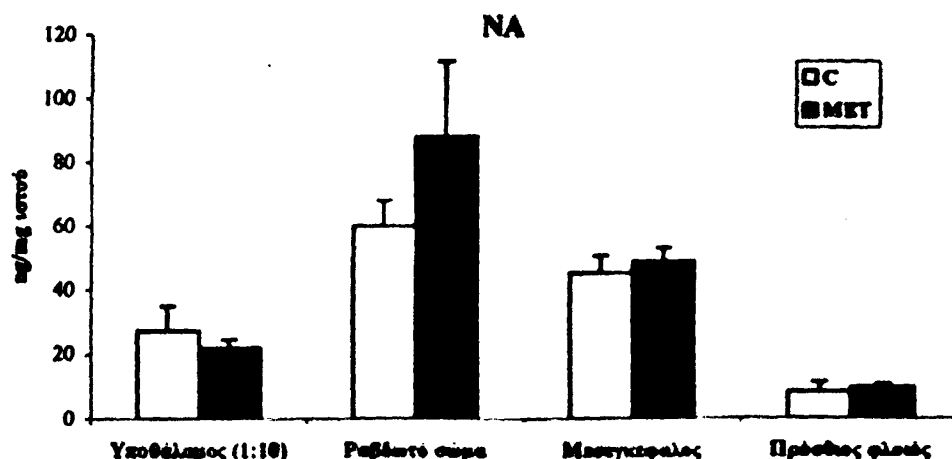
3.2 Βιογενείς αμίνες

Νοραδρενεργικό σύστημα: καμία επίδραση δεν παρατηρήθηκε από τη χορήγηση της μετρονιδαζόλης στα επίπεδα της NA του εγκεφάλου (Σχήμα 16).

Ντοπαμινεργικό σύστημα: παρατηρήθηκε πτώση των επιπέδων του DOPAC σε όλες τις δομές του εγκεφάλου (ραβδωτό σώμα: $p < 0,05$, υποθάλαμος: $P < 0,05$, μεσεγκέφαλος: $P < 0,001$, πρόσθιος φλοιός: $P < 0,05$), καθώς και μείωση των επιπέδων του

HVA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,0025$) και στο μεσεγκέφαλο ($P<0,01$). Τέλος, μείωση του ρυθμού ανακύκλωσης της DA σημειώθηκε στο ραβδωτό σώμα ($P<0,001$) (Πίνακας 10).

Σεροτονινεργικό σύστημα: η χορήγηση μετρονιδαζόλης, αύξησε τα επίπεδα της 5-HT στο ραβδωτό σώμα ($P<0,001$), στον υποθάλαμο ($P<0,005$) και στο μεσεγκέφαλο ($P<0,025$), ενώ μείωσε τα επίπεδα του 5-HIAA στον υποθάλαμο ($P<0,001$). Τέλος, σε όλες τις δομές του εγκεφάλου, παρατηρήθηκε πτώση του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT (ραβδωτό σώμα: $P<0,001$, υποθάλαμος: $P<0,001$, μεσεγκέφαλος: $P<0,025$ και πρόσθιος φλοιός: $P<0,05$) (Σχήμα 17).



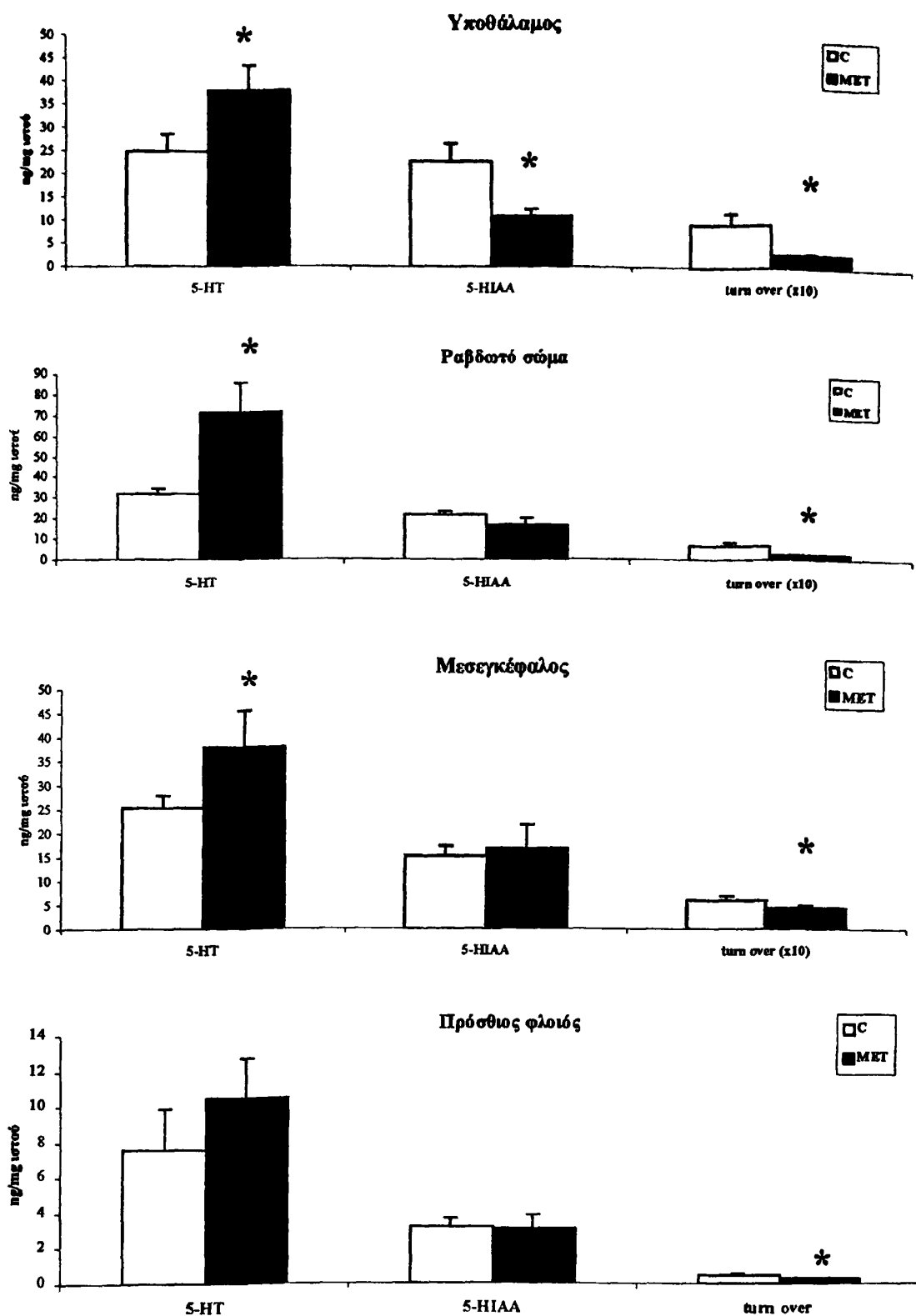
Σχήμα 16. Επίδραση της μετρονιδαζόλης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

Πίνακας 10. Επίδραση της μετρονιδαζόλης στα επίπεδα της DA (ng/mg ιστού) και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA) (ng/mg ιστού), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0,05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	DA	DOPAC	HVA	Ρυθμός Ανακύκλωσης DA
Υποθάλαμος				
C	64,3 $\pm$ 26,2	22,3 $\pm$ 11,3	0,75 $\pm$ 0,15	0,36 $\pm$ 0,14
MET	48,0 $\pm$ 3,6	4,5 $\pm$ 3,0 *	0,58 $\pm$ 0,53	0,13 $\pm$ 0,07
Ραβδωτό σώμα				
C	92,6 $\pm$ 36,9	21,3 $\pm$ 10,6	22,5 $\pm$ 4,6	0,48 $\pm$ 0,06
MET	77,7 $\pm$ 28,6	6,3 $\pm$ 4,0 *	6,9 $\pm$ 2,6 *	0,17 $\pm$ 0,03 *
Μεσεγκέφαλος				
C	7,57 $\pm$ 0,81	1,44 $\pm$ 0,13	0,64 $\pm$ 0,10	0,28 $\pm$ 0,05
MET	7,50 $\pm$ 1,51	0,54 $\pm$ 0,33 *	0,40 $\pm$ 0,09 *	0,15 $\pm$ 0,09
Πρόσθιος φλοιός				
C	10,9 $\pm$ 1,7	2,16 $\pm$ 0,57	0,60 $\pm$ 0,14	0,26 $\pm$ 0,10
MET	13,6 $\pm$ 6,4	1,30 $\pm$ 0,41 *	0,52 $\pm$ 0,16	0,15 $\pm$ 0,03





Σχήμα 17. Επίδραση της μετρονιδαζόλης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

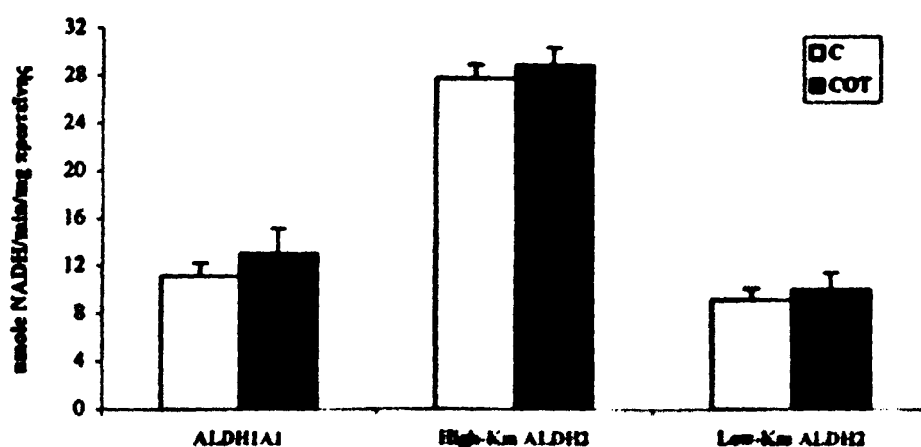


4. ΚΟΤΡΙΜΟΞΑΖΟΛΗ (COT)

Χορηγήθηκαν 240 mg/kg κοτριμοξαζόλης (40 mg/kg τριμεθοπρίμης και 200 mg/kg σουλφομεθοξαζόλης) ως εναιώρημα σε σε φυσιολογικό ορό.

4.1 Ενζυμικές δραστηριότητες

Η μοναδική επίδραση της κοτριμοξαζόλης στα υπό μελέτη ένζυμα, ήταν μία στατιστικώς σημαντική μείωση της δραστηριότητας του CYP2E1 ($P < 0,0025$) (Πίνακας 11).



Σχήμα 18. Επίδραση της κοτριμοξαζόλης στη δραστηριότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα

Πίνακας 11. Επίδραση της κοτριμοξαζόλης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH (nmol NADH/min/mg πρωτεΐνης), του CYP2E1 (nmol 4-νιτροκατεχόλης/min/mg πρωτεΐνης) και της CAT (nmol H_2O_2 /min/mg πρωτεΐνης) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

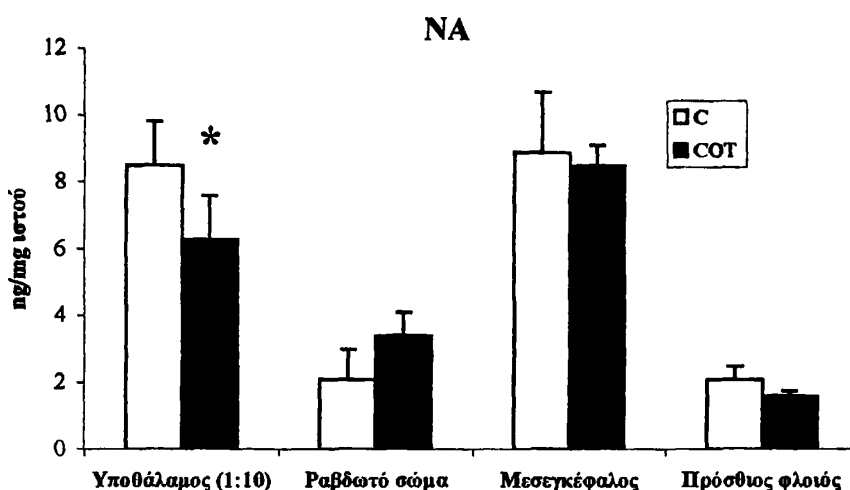
	ADH	CYP2E1	CAT
C	11,0 $\pm$ 0,5	3,75 $\pm$ 0,39	642,1 $\pm$ 143,0
COT	11,7 $\pm$ 0,5	2,37 $\pm$ 0,41 *	729,6 $\pm$ 78,7

4.2 Βιογενείς αμίνες

Νοραδρενεργικό σύστημα: σημειώθηκε πτώση των επιπέδων της NA στον υποθάλαμο ($P<0,05$) (Σχήμα 19).

Ντοπαμινεργικό σύστημα: παρατηρήθηκε πτώση των επιπέδων της DA και του DOPAC στον υποθάλαμο ($P<0,005$ και $P<0,025$ αντίστοιχα) (Πίνακας 12).

Σεροτονινεργικό σύστημα: η χορήγηση της κοτριμοξαζόλης, οδήγησε στην αύξηση των επιπέδων της 5-HT στο μεσεγκέφαλο ($P<0,05$). Επιπλέον, αύξηση παρατηρήθηκε στα επίπεδα του 5-HIAA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,0025$), στον υποθάλαμο ($P<0,025$) και στο μεσεγκέφαλο ($P<0,005$), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσης της 5-HT στο μεσεγκέφαλο ($P<0,005$) και στον πρόσθιο φλοιό ($P<0,005$) (Σχήμα 20).

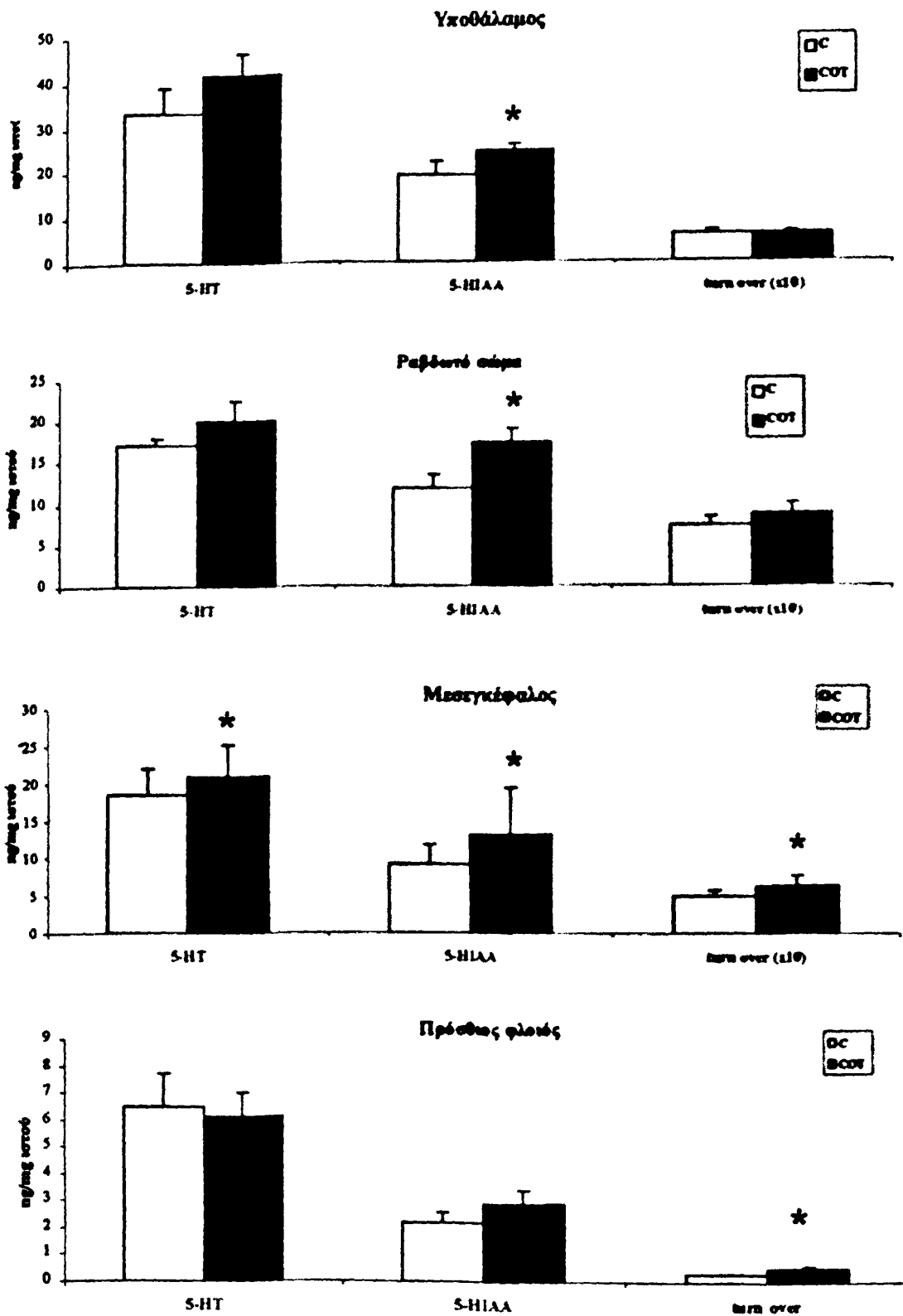


Σχήμα 19. Επίδραση της κοτριμοξαζόλης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

Πίνακας 12. Επίδραση της κοτριμοξαζόλης στα επίπεδα της DA (ng/mg ιστού) και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA) (ng/mg ιστού), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα. * $P<0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	DA	DOPAC	HVA	Ρυθμός Ανακύκλωσης DA
Υποθάλαμος				
C	11,1 $\pm$ 2,4	4,0 $\pm$ 0,9	0,16 $\pm$ 0,32	0,38 $\pm$ 0,05
COT	5,5 $\pm$ 1,4 *	2,2 $\pm$ 0,7 *	0,06 $\pm$ 0,12	0,43 $\pm$ 0,13
Ραβδωτό σώμα				
C	116,2 $\pm$ 19,1	10,3 $\pm$ 1,9	14,0 $\pm$ 3,2	0,21 $\pm$ 0,04
COT	103,9 $\pm$ 17,1	8,9 $\pm$ 2,7	11,8 $\pm$ 2,1	0,20 $\pm$ 0,03
Μεσεγκέφαλος				
C	1,68 $\pm$ 0,35	0,76 $\pm$ 0,15	0,42 $\pm$ 0,07	0,72 $\pm$ 0,13
COT	2,22 $\pm$ 1,19	0,72 $\pm$ 0,13	0,44 $\pm$ 0,05	0,67 $\pm$ 0,29
Πρόσθιος φλοιός				
C	1,36 $\pm$ 1,0	0,20 $\pm$ 0,09	0,36 $\pm$ 0,13	0,56 $\pm$ 0,25
COT	0,90 $\pm$ 0,45	0,10 $\pm$ 0,0	0,30 $\pm$ 0,06	0,51 $\pm$ 0,20



Σχήμα 20. Επίδραση της κοτριμοξαζόλης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

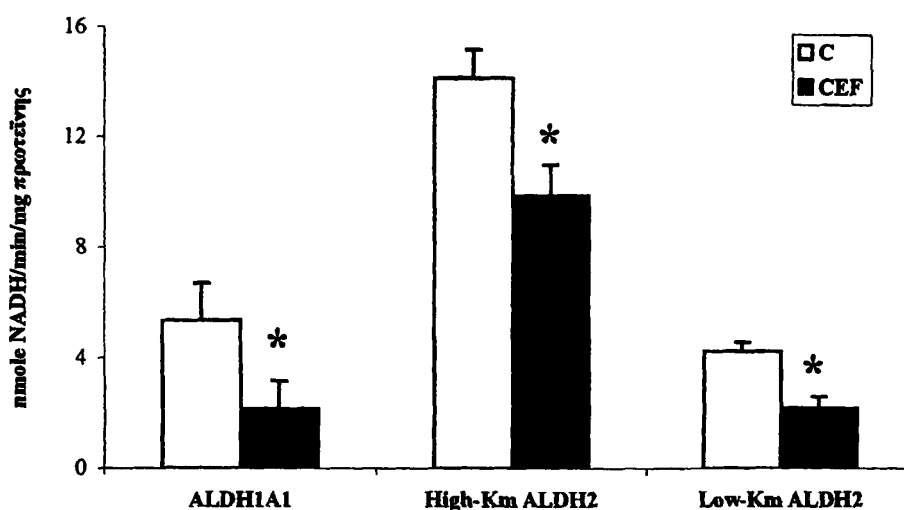


5. ΚΕΦΑΜΑΝΔΟΛΗ (CEF)

Χορηγήθηκαν 200 mg/kg κεφαμανδόλης, ως διάλυμα σε φυσιολογικό ορό.

5.1 Ενζυμικές δραστηριότητες

Η χορήγηση της κεφαμανδόλης, προκάλεσε μία σημαντική αναστολή στη δραστηριότητα όλων των ισοενζύμων της ALDH (ALDH1A1: $P < 0,01$, low- και high-Km ALDH2: $P < 0,001$) (Σχήμα 21), ενώ αντίθετα, αύξησε τη δραστηριότητα όλων των ενζύμων μεταβολισμού της αιθανόλης (ADH, $P < 0,001$, CAT, $P < 0,005$ και CYP2E1, $P < 0,05$) (Πίνακας 13).



Σχήμα 21. Επίδραση της κεφαμανδόλης στη δραστηριότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

Πίνακας 13. Επίδραση της κεφαμανδόλης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH (nmol NADH/min/mg πρωτεΐνης), του CYP2E1 (nmol 4-νιτροκατεχόλης/min/mg πρωτεΐνης) και της CAT (mmol H_2O_2 /min/mg πρωτεΐνης) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	ADH	CYP2E1	CAT
C	$3,91 \pm 0,28$	$3,70 \pm 0,26$	$884,5 \pm 23,3$
CEF	$6,05 \pm 0,43$ *	$4,36 \pm 0,51$ *	$964,9 \pm 30,7$ *

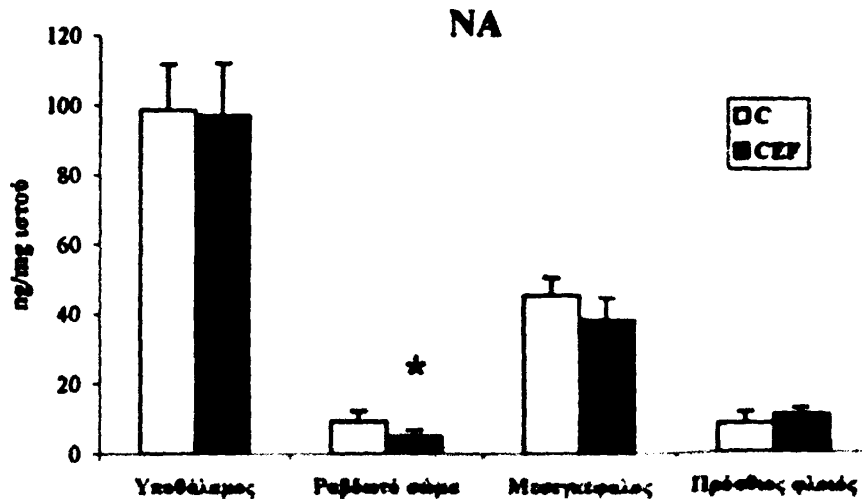


5.2 Βιογενείς αμίνες

Νοραδρενεργικό σύστημα: παρατηρήθηκε μία στατιστικώς σημαντική μείωση της NA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,05$) (Σχήμα 22).

Ντοπαμινεργικό σύστημα: παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων και του ρυθμού ανακύκλωσης της DA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,05$ και $P<0,025$ αντίστοιχα), καθώς και μείωση των επιπέδων του DOPAC και του HVA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,005$) και στον υποθάλαμο ($P<0,05$) (Πίνακας 14).

Σεροτονινεργικό σύστημα: η χορήγηση της κεφαμανδόλης, αύξησε τα επίπεδα της 5-HT στο ραβδωτό σώμα ($P<0,025$), ενώ μείωσε τα επίπεδα του 5-HIAA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,05$) και στον υποθάλαμο ($P<0,05$), καθώς και το ρυθμό ανακύκλωσης της 5-HT στο ραβδωτό σώμα ($P<0,025$) (Σχήμα 23).



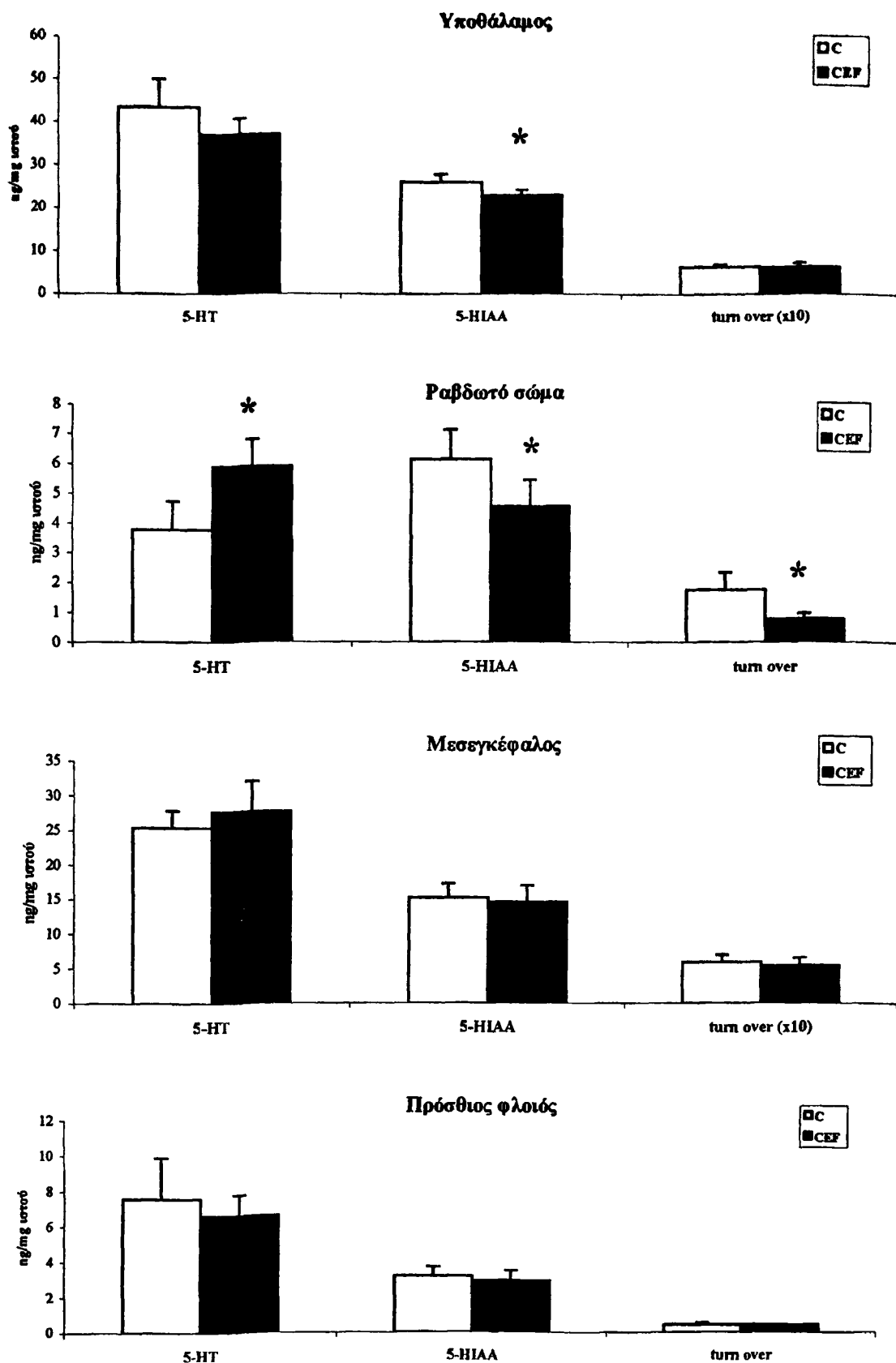
Σχήμα 22. Επίδραση της κεφαμανδόλης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμικων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0,05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

Πίνακας 14. Επίδραση της κεφαμανδόλης στα επίπεδα της DA (ng/mg ιστού), των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA) (ng/mg ιστού), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμικων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0,05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	DA	DOPAC	HVA	Ρυθμός Ανακύκλωσης DA
Υποθάλαμος				
C	7,9 $\pm$ 2,7	5,5 $\pm$ 2,4	1,25 $\pm$ 0,50	1,13 $\pm$ 0,62
CEF	8,6 $\pm$ 3,6	6,1 $\pm$ 2,8	1,20 $\pm$ 0,90	0,83 $\pm$ 0,12
Ραβδωτό σώμα				
C	102,1 $\pm$ 17,4	16,2 $\pm$ 4,9	18,0 $\pm$ 3,5	0,34 $\pm$ 0,06
CEF	66,6 $\pm$ 15,9 *	4,1 $\pm$ 1,7 *	7,9 $\pm$ 2,4 *	0,18 $\pm$ 0,03 *
Μεσεγκεφαλιός				
C	7,6 $\pm$ 0,8	1,44 $\pm$ 0,13	0,64 $\pm$ 0,10	0,28 $\pm$ 0,05
CEF	7,0 $\pm$ 2,2	1,08 $\pm$ 0,27 *	0,44 $\pm$ 0,13 *	0,25 $\pm$ 0,12
Πρόσθιος φλοιός				
C	10,9 $\pm$ 1,7	2,16 $\pm$ 0,57	0,60 $\pm$ 0,14	0,26 $\pm$ 0,09
CEF	12,2 $\pm$ 3,6	1,62 $\pm$ 0,59	0,72 $\pm$ 0,27	0,19 $\pm$ 0,02



Σχήμα 23. Επίδραση της κεφαμανδόλης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

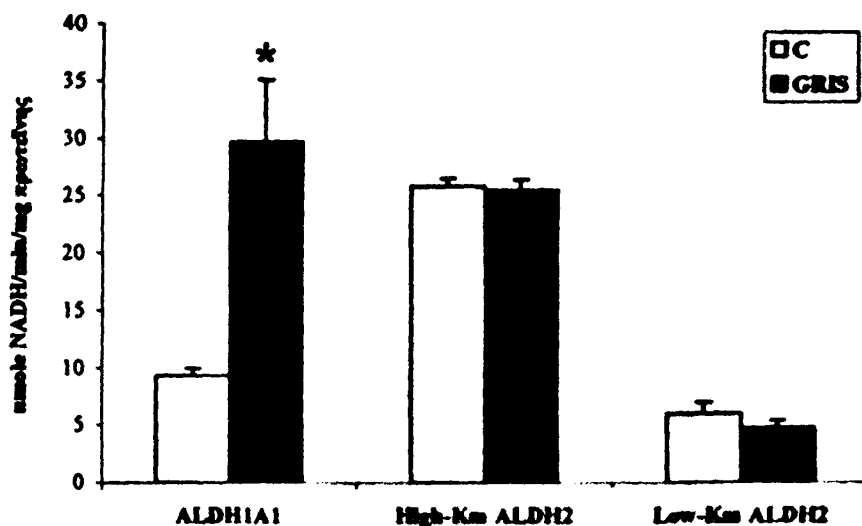


6. ΓΚΡΙΖΕΟΦΟΥΛΒΙΝΗ (GRIS)

Χορηγήθηκαν 100 mg/kg γκριζεοφουλβίνης, ως ελαιώρημα σε ελαιόλαδο.

6.1 Ενζυμικές δραστηριότητες

Η χορήγηση της γκριζεοφουλβίνης, προκάλεσε μία σημαντικού βαθμού επαγωγή της δραστηριότητας της ALDH1A1 ($P < 0,001$) (Σχήμα 24), χωρίς ωστόσο να επηρεάσει κανένα από τα υπόλοιπα υπό μελέτη ένζυμα (Σχήμα 24, Πίνακας 15).



Σχήμα 24. Επίδραση της γκριζεοφουλβίνης στη δραστηριότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

Πίνακας 15. Επίδραση της γκριζεοφουλβίνης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH (nmol NADH/min/mg πρωτεΐνης), του CYP2E1 (nmol 4-νιτροκατεχόλης/min/mg πρωτεΐνης) και της CAT (nmol H_2O_2 /min/mg πρωτεΐνης) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

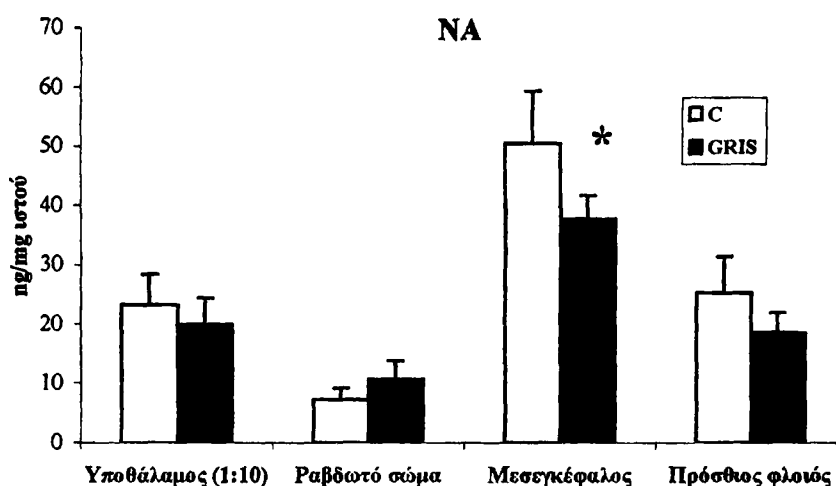
	ADH	CYP2E1	CAT
C	$7,4 \pm 0,3$	$0,80 \pm 0,24$	$804,1 \pm 127,9$
GRIS	$8,0 \pm 0,7$	$0,81 \pm 0,15$	$837,8 \pm 31,4$

6.2 Βιογενείς αμίνες

Νοραδρενεργικό σύστημα: η μόνη στατιστικώς σημαντική μεταβολή που επέφερε η γκριζεοφουλβίνη στο νοραδρενεργικό σύστημα, αφορά τη μείωση των επιπέδων της NA που προκάλεσε στο μεσεγκέφαλο ($P<0,025$) (Σχήμα 25).

Ντοπαμινεργικό σύστημα: παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της DA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,05$), με ταυτόχρονη μείωση των επιπέδων του HVA στο μεσεγκέφαλο ($P<0,01$) και του ρυθμού ανακύκλωσης της DA στο μεσεγκέφαλο ($P<0,05$) και στον πρόσθιο φλοιό ($P<0,05$) (Πίνακας 16).

Σεροτονινεργικό σύστημα: παρατηρήθηκε μία αύξηση των επιπέδων της 5-HT στον πρόσθιο φλοιό ($P<0,005$), με ταυτόχρονη μείωση του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT στην ίδια δομή ($P<0,0025$). Επιπλέον, η χορήγηση της γκριζεοφουλβίνης οδήγησε και σε μία στατιστικώς σημαντική αύξηση των επιπέδων του 5-HIAA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,05$) (Σχήμα 26).



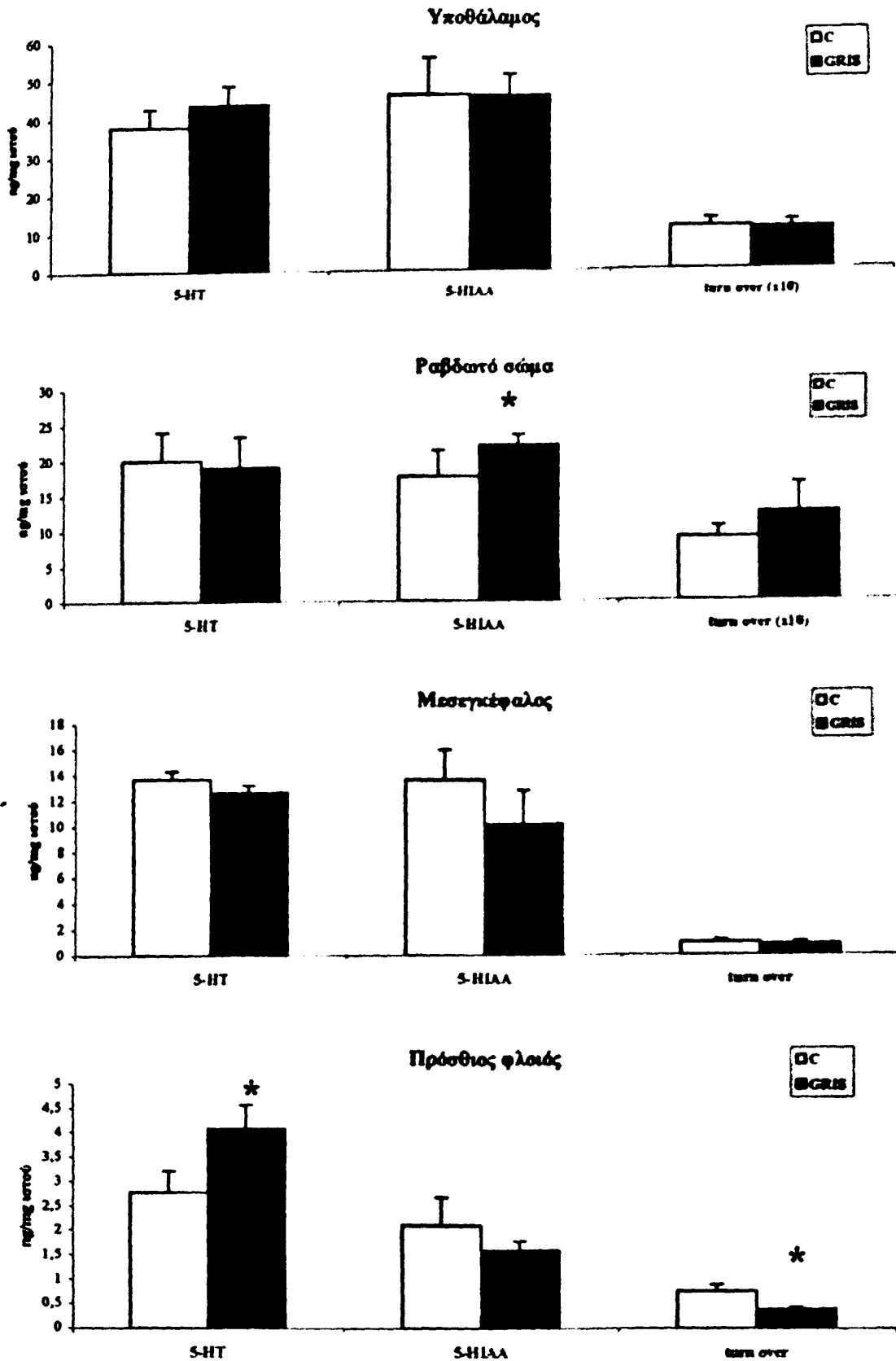
Σχήμα 25. Επίδραση της γκριζεοφουλβίνης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0,05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

Πίνακας 16. Επίδραση της γκριζεοφουλβίνης στα επίπεδα της DA (ng/mg ιστού) και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA) (ng/mg ιστού), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0,05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	DA	DOPAC	HVA	Ρυθμός Ανακύκλωσης DA
Υποθάλαμος				
C	7,6 $\pm$ 0,08	9,7 $\pm$ 3,6	2,80 $\pm$ 1,41	1,53 $\pm$ 0,71
GRIS	7,7 $\pm$ 2,5	10,5 $\pm$ 7,2	2,87 $\pm$ 1,79	1,02 $\pm$ 0,27
Ραβδωτό σώμα				
C	291,5 $\pm$ 93,9	99,6 $\pm$ 25,3	19,2 $\pm$ 5,4	0,39 $\pm$ 0,05
GRIS	483,2 $\pm$ 104,5*	187,6 $\pm$ 69,2	28,2 $\pm$ 5,8	0,45 $\pm$ 0,16
Μεσεγκέφαλος				
C	2,85 $\pm$ 0,97	1,70 $\pm$ 0,85	0,75 $\pm$ 0,21	0,85 $\pm$ 0,17
GRIS	2,56 $\pm$ 0,44	0,96 $\pm$ 0,27	0,37 $\pm$ 0,09 *	0,55 $\pm$ 0,12 *
Πρόσθιος φλοιός				
C	8,2 $\pm$ 0,2	2,04 $\pm$ 0,47	0,32 $\pm$ 0,10	0,29 $\pm$ 0,05
GRIS	8,4 $\pm$ 1,4	1,43 $\pm$ 0,19	0,20 $\pm$ 0,07	0,17 $\pm$ 0,07 *



Σχήμα 26. Επίδραση της γριζεοφουλβίνης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμικτων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

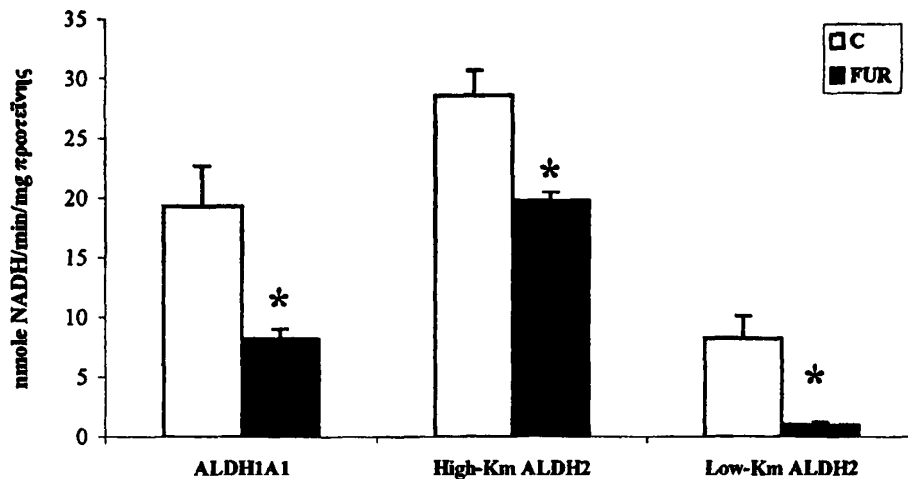


7. ΦΟΥΡΑΖΟΛΙΔΟΝΗ (FUR)

Χορηγήθηκαν 100 mg/kg φουραζολιδόνης, ως εναιώρημα σε ελαιόλαδο.

7.1 Ενζυμικές δραστηριότητες

Η χορήγηση φουραζολιδόνης, προκάλεσε σημαντικού βαθμού αναστολή της δραστηριότητας της ALDH1A1 ($P<0,001$), καθώς και της low- και high-Km ALDH2 ($P<0,001$) (Σχήμα 27). Αντίθετα, οδήγησε σε αύξηση της δραστηριότητας της CAT ($P<0,05$), ενώ δεν επηρέασε κανένα από τα υπόλοιπα ένζυμα που μετρήθηκαν (Πίνακας 17).



Σχήμα 27. Επίδραση της φουραζολιδόνης στη δραστηριότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

Πίνακας 17. Επίδραση της φουραζολιδόνης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH (nmol NADH/min/mg πρωτεΐνης), του CYP2E1 (nmol 4-νιτροκατεχόλης/min/mg πρωτεΐνης) και της CAT (nmol H_2O_2 /min/mg πρωτεΐνης) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	ADH	CYP2E1	CAT
C	8,0 $\pm$ 1,2	0,77 $\pm$ 0,16	804,1 $\pm$ 127,9
FUR	8,1 $\pm$ 0,3	0,95 $\pm$ 0,11	971,0 $\pm$ 45,1 *

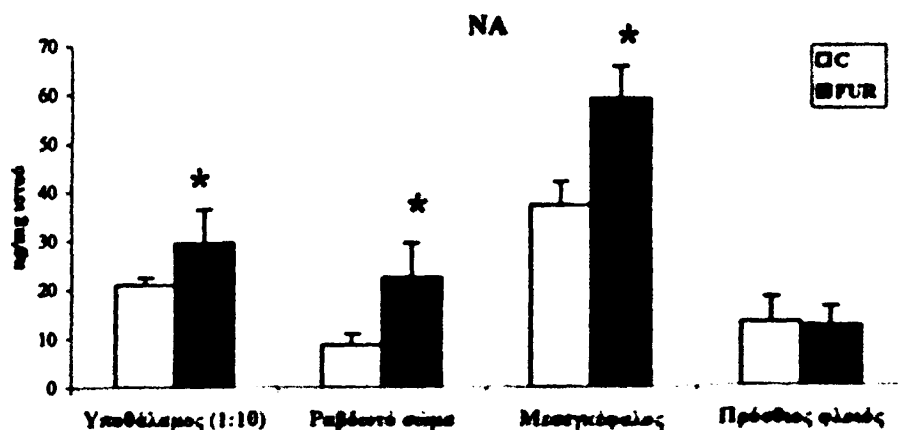
7.2 Βιογενείς αμίνες

Νοραδρενεργικό σύστημα: η χορήγηση της φουραζολιδόνης, οδήγησε στην αύξηση των επιπέδων της NA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,025$), στον υποθάλαμο ($P<0,025$) και στο μεσεγκέφαλο ($P<0,001$) (Σχήμα 28).



Ντοπαμινεργικό σύστημα: σημειώθηκε σημαντικού βαθμού αύξηση των επιπέδων της DA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,025$), στον υποθάλαμο ($P<0,001$) και στο μεσεγκέφαλο ($P<0,001$). Επιπλέον, σε όλες τις δομές του εγκεφάλου παρατηρήθηκε πτώση των επιπέδων του DOPAC (ραβδωτό σώμα: $P<0,001$, υποθάλαμος: $P<0,001$, μεσεγκέφαλος: $P<0,005$ και πρόσθιος φλοιός: $P<0,001$), του HVA ($P<0,001$), καθώς και του ρυθμού ανακύκλωσης της DA (ραβδωτό σώμα: $P<0,001$, υποθάλαμος: $P<0,0025$, μεσεγκέφαλος: $P<0,0025$ και πρόσθιος φλοιός: $P<0,005$) (Πίνακας 18).

Σεροτονινεργικό σύστημα: σε όλες τις δομές του εγκεφάλου, παρατηρήθηκε μία σημαντικού βαθμού αύξηση των επιπέδων της 5-HT ($P<0,001$), με ταυτόχρονη μείωση των επιπέδων του 5-HIAA (ραβδωτό σώμα: $P<0,025$, υποθάλαμος και πρόσθιος φλοιός: $P<0,001$, μεσεγκέφαλος: $P<0,05$) και του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT ($P<0,001$) (Σχήμα 29).



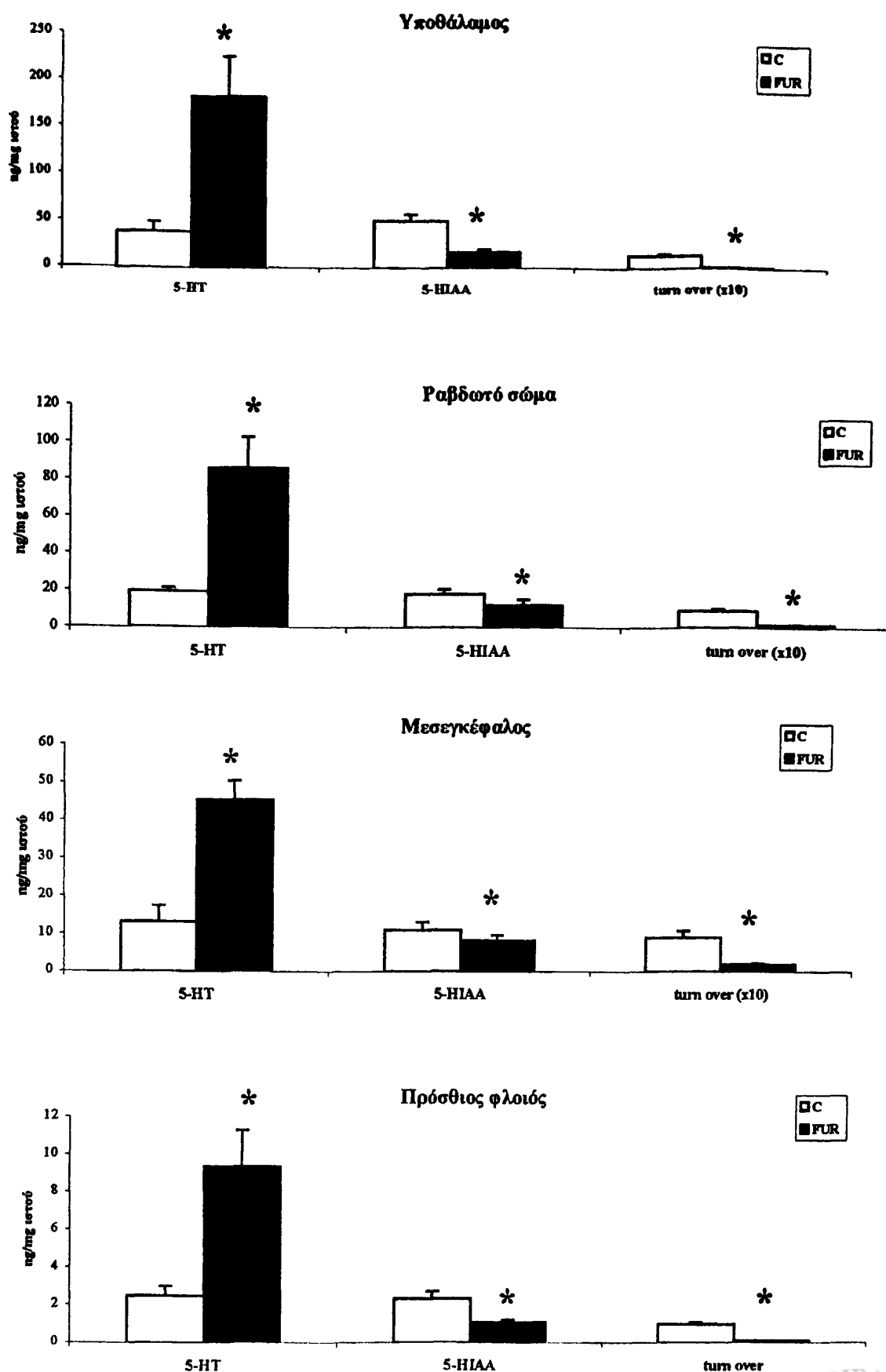
Σχήμα 28. Επίδραση της φουραζολιδόνης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμικων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

Πίνακας 18. Επίδραση της φουραζολιδόνης στα επίπεδα της DA (ng/mg ιστού) και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA) (ng/mg ιστού), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμικων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

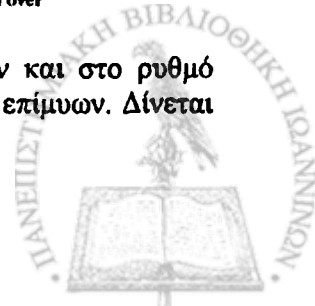
* $P<0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	DA	DOPAC	HVA	Ρυθμός Ανακύκλωσης DA
Υποθάλαμος				
C	$6,9 \pm 1,3$	$5,93 \pm 1,39$	$1,57 \pm 0,32$	$1,114 \pm 0,239$
FUR	$24,2 \pm 1,1$ *	$0,08 \pm 0,15$ *	$0,15 \pm 0,13$ *	$0,004 \pm 0,003$ *
Ραβδωτό σώμα				
C	$381,4 \pm 91,5$	$126,7 \pm 32,9$	$19,5 \pm 2,4$	$0,394 \pm 0,091$
FUR	$767,0 \pm 194,6$ *	$0,0 \pm 0,0$ *	$2,9 \pm 1,0$ *	$0,004 \pm 0,001$ *
Μεσεγκέφαλος				
C	$3,06 \pm 0,61$	$1,76 \pm 0,97$	$0,40 \pm 0,14$	$0,827 \pm 0,309$
FUR	$6,35 \pm 1,25$ *	$0,02 \pm 0,03$ *	$0,0 \pm 0,0$ *	$0,004 \pm 0,005$ *
Πρόσθιος φλοιός				
C	$8,2 \pm 3,4$	$3,25 \pm 1,29$	$0,63 \pm 0,17$	$0,71 \pm 0,10$
FUR	$12,7 \pm 2,2$	$0,03 \pm 0,03$ *	$0,08 \pm 0,06$ *	$0,01 \pm 0,01$ *



Σχήμα 29. Επίδραση της φουραζολιδόνης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

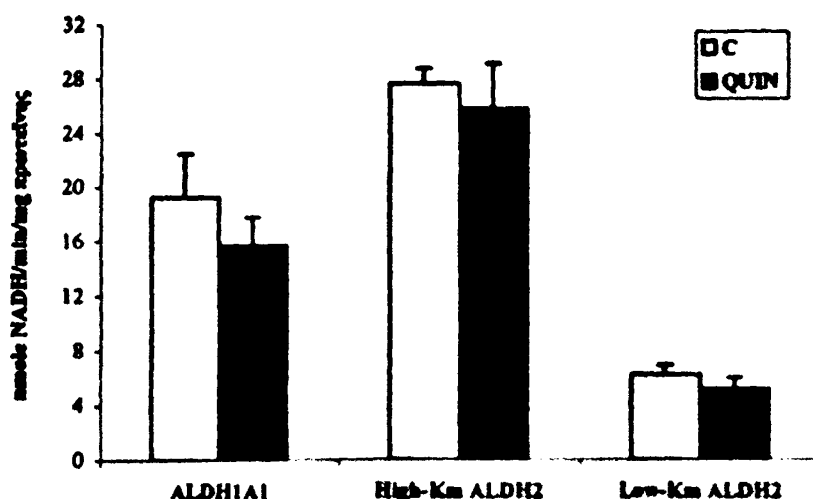


8. ΚΙΝΑΚΡΙΝΗ (QUIN)

Χορηγήθηκαν 50 mg/kg κινακρίνης, ως διάλυμα σε φυσιολογικό ορό.

8.1 Ενζυμικές δραστηριότητες

Η χορήγηση της κινακρίνης, άφησε ανεπηρέαστη τη δραστηριότητα των ισοενζύμων της ALDH (Σχήμα 30), της ADH και της CAT, ενώ σημειώθηκε πτώση της δραστηριότητας του CYP2E1 ($P < 0,025$) (Πίνακας 19).



Σχήμα 30. Επίδραση της κινακρίνης στη δραστηριότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

Πίνακας 19. Επίδραση της κινακρίνης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH (nmol NADH/min/mg πρωτεΐνης), του CYP2E1 (nmol 4-νιτροκατεχόλης/min/mg πρωτεΐνης) και της CAT (nmol H_2O_2 /min/mg πρωτεΐνης) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	ADH	CYP2E1	CAT
C	$8,9 \pm 1,2$	$3,4 \pm 0,7$	$804,1 \pm 127,9$
QUIN	$8,2 \pm 0,6$	$2,2 \pm 0,4$ *	$768,4 \pm 92,9$

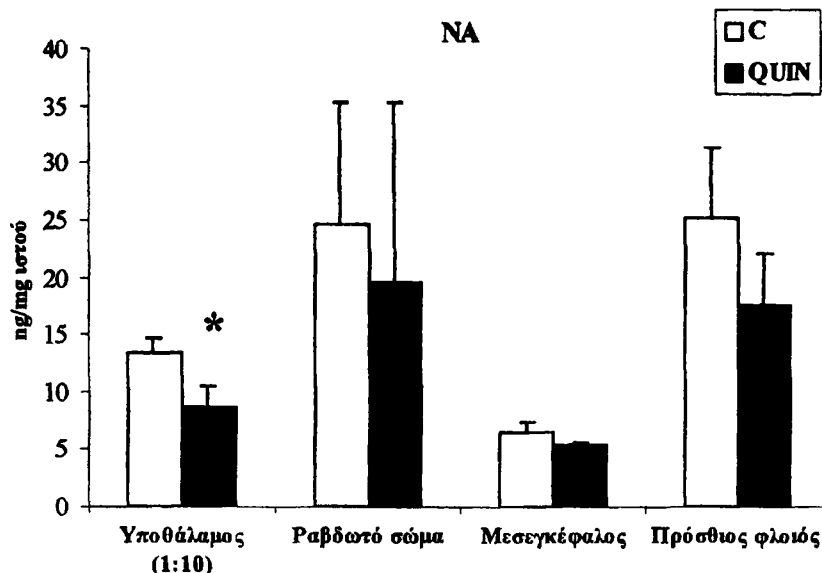
8.2 Βιογενείς αμίνες

Νοραδρενεργικό σύστημα: η κύρια επίδραση της κινακρίνης στο νοραδρενεργικό σύστημα συνίσταται σε μία στατιστικώς σημαντική πτώση των επιπέδων της NA στον υποθάλαμο ($P < 0,005$) (Σχήμα 31).



Ντοπαμινεργικό σύστημα: σημειώθηκε πτώση των επιπέδων της DA και του DOPAC στον πρόσθιο φλοιό ($P<0,005$ και $P<0,05$ αντίστοιχα) (Πίνακας 20).

Σεροτονινεργικό σύστημα: παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της 5-HT στον υποθάλαμο ($P<0,0025$), στο μεσεγκέφαλο ($P<0,05$) και στον πρόσθιο φλοιό ($P<0,005$) (Σχήμα 32). Επιπλέον, σε όλες τις δομές του εγκεφάλου μειώθηκε ο ρυθμός ανακύκλωσης της 5-HT (ραβδωτό σώμα: $P<0,05$, υποθάλαμος: $P<0,05$, μεσεγκέφαλος: $P<0,005$ και πρόσθιος φλοιός: $P<0,05$), ενώ επιπλέον, μειωμένα βρέθηκαν και τα επίπεδα του 5-HIAA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,025$).



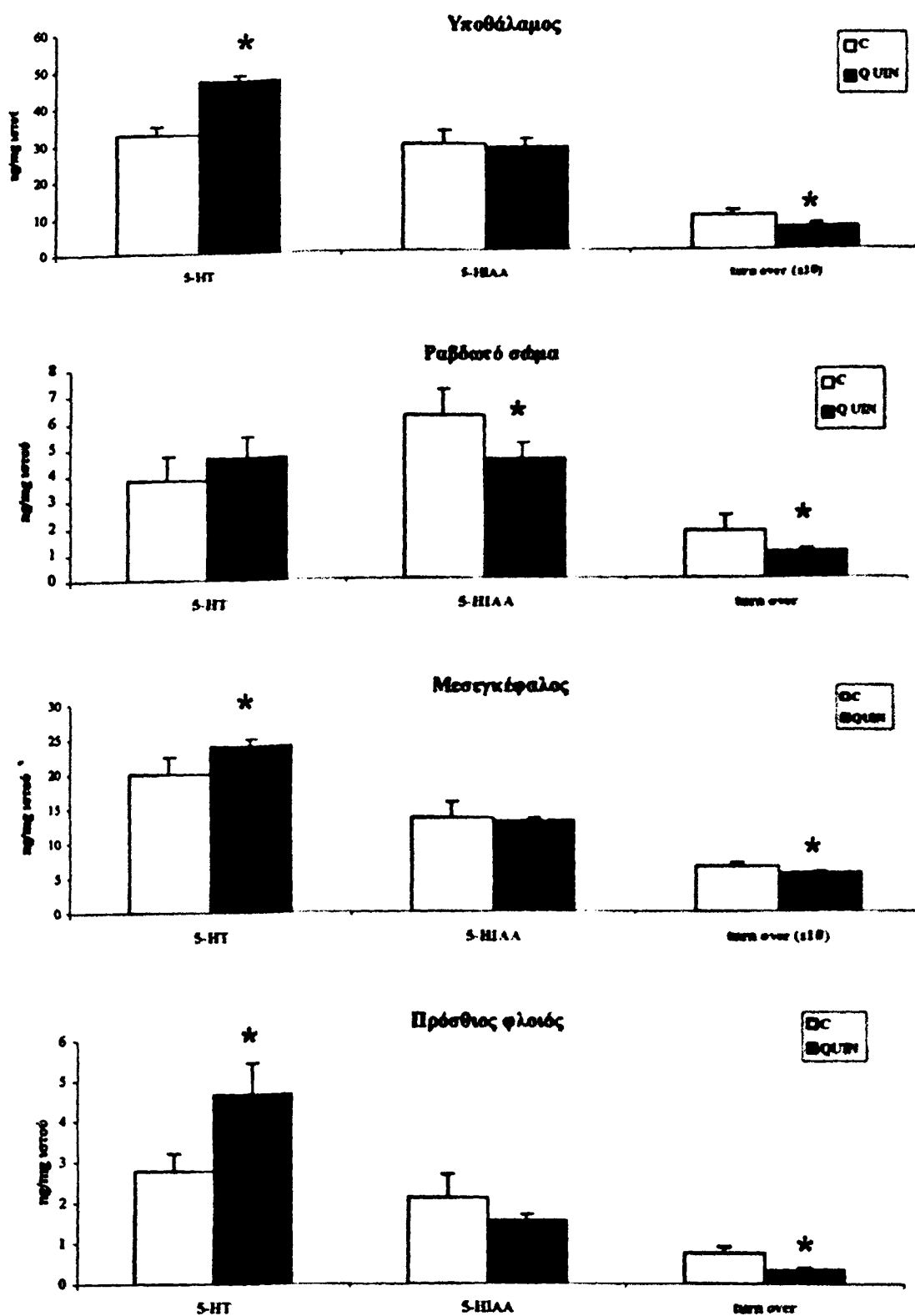
Σχήμα 31. Επίδραση της κινακρίνης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0,05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

Πίνακας 20. Επίδραση της κινακρίνης στα επίπεδα της DA, των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0,05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	DA	DOPAC	HVA	Ρυθμός Ανακύκλωσης DA
Υποθάλαμος				
C	$8,5 \pm 1,9$	$2,2 \pm 0,8$	$1,9 \pm 0,7$	$0,43 \pm 0,06$
QUIN	$7,1 \pm 1,1$	$3,2 \pm 1,1$	$1,0 \pm 0,5$	$0,59 \pm 0,17$
Ραβδωτό σώμα				
C	$157,1 \pm 31,5$	$18,3 \pm 8$	$20,4 \pm 4,3$	$0,24 \pm 0,04$
QUIN	$133,9 \pm 28,9$	$9,8 \pm 3,2$	$16,6 \pm 4,1$	$0,20 \pm 0,03$
Μεσεγκέφαλος				
C	$1,1 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$	$0,69 \pm 0,22$
QUIN	$0,9 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$	$0,82 \pm 0,23$
Πρόσθιος φλοιός				
C	$8,2 \pm 0,2$	$2,0 \pm 0,5$	$0,3 \pm 0,1$	$0,29 \pm 0,05$
QUIN	$5,0 \pm 1,5$ *	$1,1 \pm 0,5$ *	$0,2 \pm 0,1$	$0,25 \pm 0,05$



Σχήμα 32. Επίδραση της κινακρίνης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

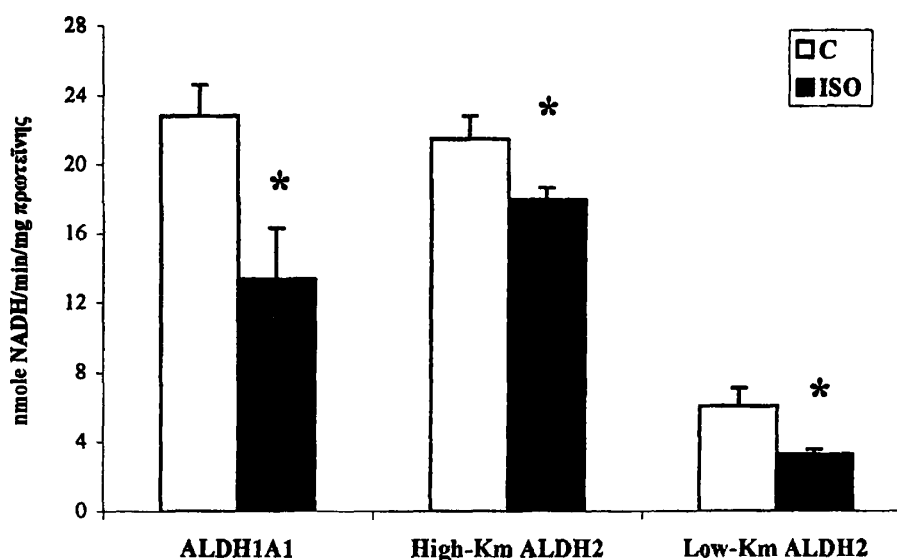


9. ΙΣΟΝΙΑΖΙΔΗ (ISO)

Χορηγήθηκαν 100 mg/kg ισονιαζίδης, ως διάλυμα σε φυσιολογικό ορό.

9.1 Ενζυμικές δραστηριότητες

Η χορήγηση της ισονιαζίδης, προκάλεσε αναστολή της δραστηριότητας της ALDH1A1 ($P<0,001$), ενώ επίσης ανασταλτική δράση είχε στη δραστηριότητα της low- και high-Km ALDH2 ($P<0,0025$) (Σχήμα 33). Αντίθετα, αύξησε τη δραστηριότητα του CYP2E1 ($P<0,001$), ενώ δεν επέφερε καμία μεταβολή στη δραστηριότητα της ADH ή της CAT (Πίνακας 21).



Σχήμα 33. Επίδραση της ισονιαζίδης στη δραστηριότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων

Πίνακας 21. Επίδραση της ισονιαζίδης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH (nmol NADH/min/mg πρωτεΐνης), του CYP2E1 (nmol 4-νιτροκατεχόλης/min/mg πρωτεΐνης) και της CAT (nmol H_2O_2 /min/mg πρωτεΐνης) επίμυων. Δίνεται μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα. * $P<0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	ADH	CYP2E1	CAT
C	8,5 $\pm$ 1,3	1,4 $\pm$ 0,3	642,1 $\pm$ 143,0
ISO	8,8 $\pm$ 0,6	4,7 $\pm$ 0,3 *	702,3 $\pm$ 22,8

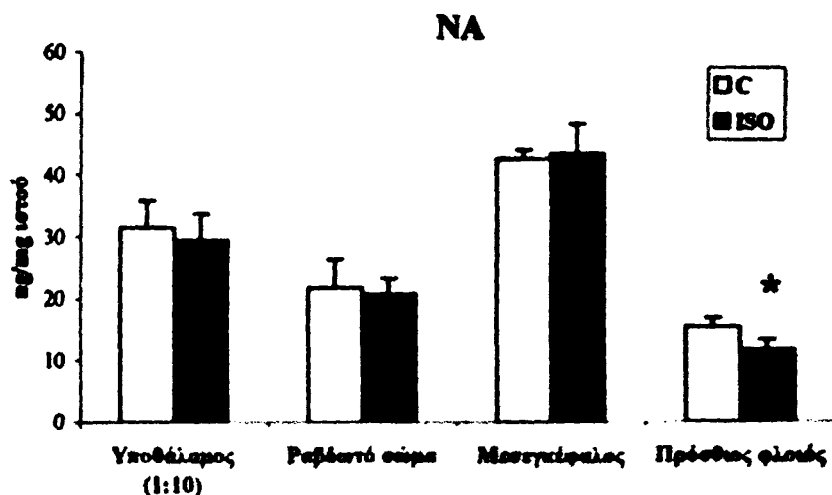
9.2 Βιογενείς αμίνες

Νοραδρενεργικό σύστημα: η χορήγηση της ισονιαζίδης είχε σαν αποτέλεσμα την πτώση των επιπέδων της NA στον πρόσθιο φλοιό ($P<0,05$) (Σχήμα 34).



Ντοπαμινεργικό σύστημα: η μοναδική επίδραση της ισονιαζίδης στο ντοπαμινεργικό σύστημα, αφορούσε την πτώση των επιπέδων του DOPAC ($P<0,05$) και του HVA ($P<0,025$) στον υποθάλαμο, καθώς και τη μείωση του ρυθμού ανακύκλωσης της DA στην ίδια δομή ($P<0,05$) (Πίνακας 22).

Σεροτονινεργικό σύστημα: σημειώθηκε αύξηση των επιπέδων του 5-ΗΙΑΑ, καθώς και του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT στο μεσεγκέφαλο ($P<0,025$ και $P<0,05$ αντίστοιχα) (Σχήμα 35).



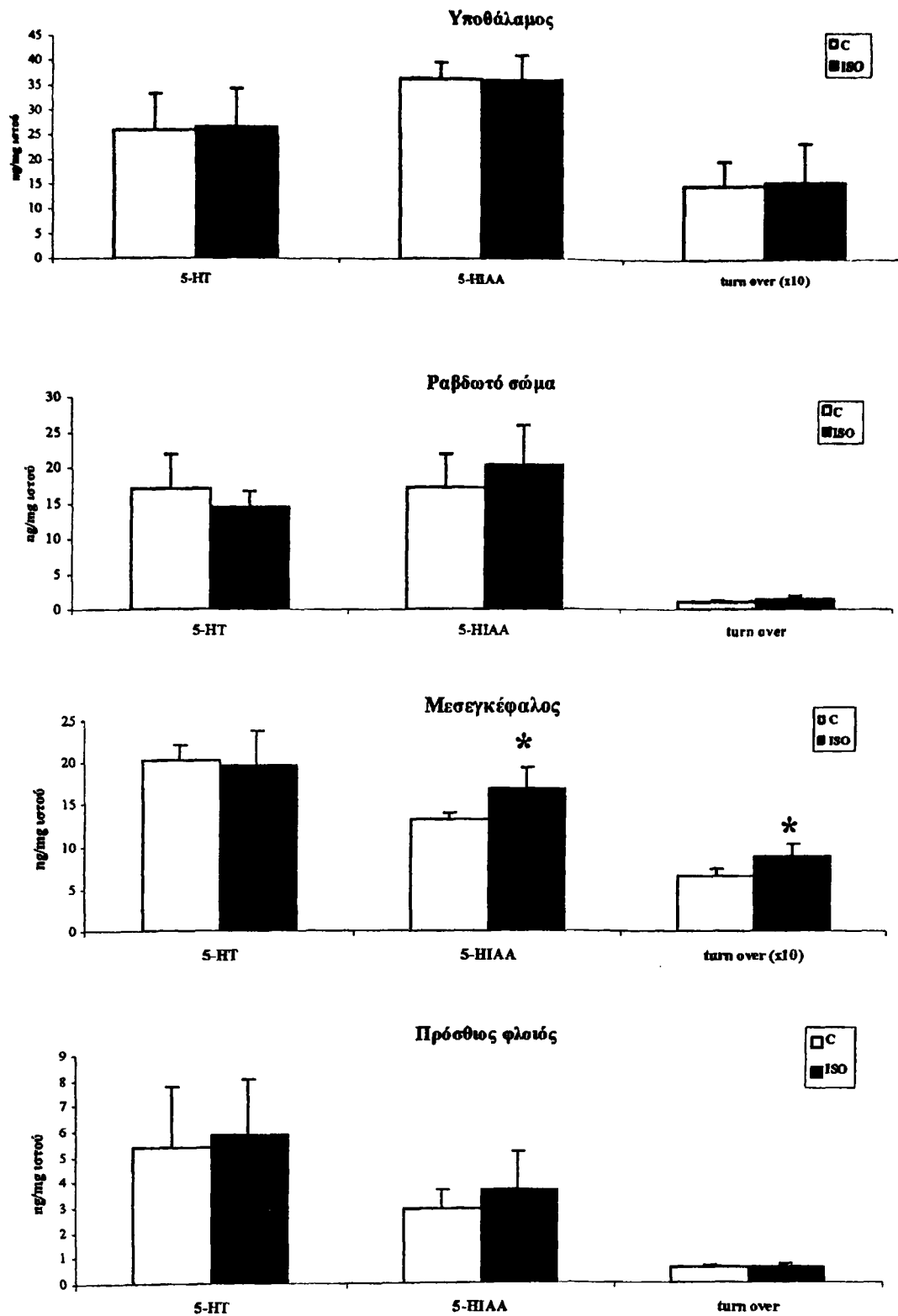
Σχήμα 34: Επίδραση της ισονιαζίδης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμικων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

Πίνακας 22. Επίδραση της ισονιαζίδης στα επίπεδα της DA (ng/mg ιστού) και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA) (ng/mg ιστού), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμικων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	DA	DOPAC	HVA	Ρυθμός Ανακύκλωσης DA
Υποθάλαμος				
C	27,2 $\pm$ 6,5	26,5 $\pm$ 11,5	5,4 $\pm$ 2,1	1,2 $\pm$ 0,3
ISO	21,6 $\pm$ 3,3	11,9 $\pm$ 1,5 *	1,8 $\pm$ 0,7 *	0,7 $\pm$ 0,1 *
Ραβδωτό σώμα				
C	120,9 $\pm$ 31,9	21,9 $\pm$ 6,1	21,0 $\pm$ 1,1	0,30 $\pm$ 0,08
ISO	99,6 $\pm$ 19,7	15,2 $\pm$ 3,3	17,6 $\pm$ 4,9	0,33 $\pm$ 0,07
Μεσεγκέφαλος				
C	3,4 $\pm$ 0,6	1,24 $\pm$ 0,5	0,52 $\pm$ 0,12	0,51 $\pm$ 0,14
ISO	3,9 $\pm$ 1,4	1,04 $\pm$ 0,2	0,82 $\pm$ 0,26	0,53 $\pm$ 0,16
Πρόσθιος φλοιός				
C	10,6 $\pm$ 2,5	3,7 $\pm$ 1,0	0,63 $\pm$ 0,11	0,43 $\pm$ 0,15
ISO	10,1 $\pm$ 2,5	2,4 $\pm$ 0,9	0,88 $\pm$ 0,34	0,33 $\pm$ 0,11



Σχήμα 35. Επίδραση της ισονιαζίδης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

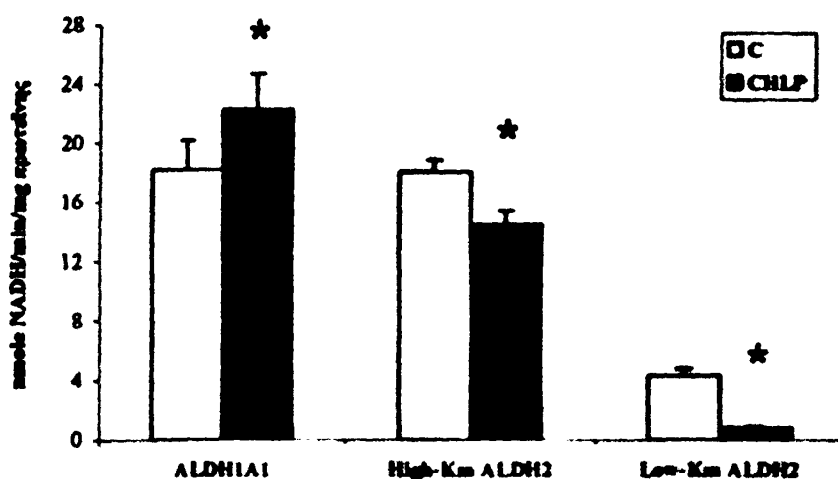


10. ΧΛΩΡΟΠΡΟΠΑΜΙΔΗ (CHLP)

Χορηγήθηκαν 80 mg/kg χλωροπροπαμίδης, ως εναιώρημα σε ελαιόλαδο.

10.1 Ενζυμικές δραστηριότητες

Οι κύριες επιδράσεις της χλωροπροπαμίδης, αφορούν τα ισοένζυμα της ALDH (Σχήμα 36), με τα υπόλοιπα ένζυμα (ADH, CAT και CYP2E1) να παραμένουν ανεπηρέαστα (Πίνακας 23). Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μία ήπια αύξηση της δραστηριότητας της ALDH1A1 ($P < 0,025$), ενώ παράλληλα σημειώθηκε αναστολή της δραστηριότητας της low- και high-Km ALDH2 ($P < 0,001$).



Σχήμα 36. Επιδράση της χλωροπροπαμίδης στη δραστηριότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμωνων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

Πίνακας 23. Επιδράση της χλωροπροπαμίδης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH (nmol NADH/min/mg πρωτεΐνης), του CYP2E1 (nmol 4-νιτροκατεχόλης/min/mg πρωτεΐνης) και της CAT (mmol H_2O_2 /min/mg πρωτεΐνης) επίμωνων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

	ADH	CYP2E1	CAT
C	4,9 $\pm$ 0,4	1,38 $\pm$ 0,33	884,5 $\pm$ 23,3
CHLP	4,9 $\pm$ 0,3	1,25 $\pm$ 0,22	872,6 $\pm$ 97,1

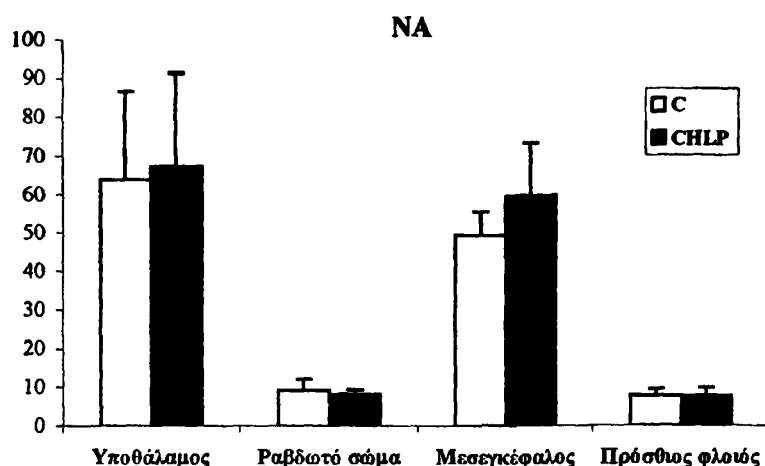
10.2 Βιογενείς αμίνες

Νοραδρενεργικό σύστημα: το κεντρικό νοραδρενεργικό σύστημα, παρέμεινε ανεπηρέαστο από τη χορήγηση της χλωροπροπαμίδης (Σχήμα 37).



Ντοπαμινεργικό σύστημα: σημειώθηκε πτώση των επιπέδων του DOPAC στο ραβδωτό σώμα ($P<0,05$), στο μεσεγκέφαλο ($P<0,01$) και στον πρόσθιο φλοιό ($P<0,01$), με ταυτόχρονη αύξηση των επιπέδων του HVA στον υποθάλαμο ($P<0,05$). Επιπλέον, παρατηρήθηκε μείωση του ρυθμού ανακύκλωσης της DA στον πρόσθιο φλοιό ($P<0,0025$) (Πίνακας 24).

Σεροτονινεργικό σύστημα: η χορήγηση της χλωροπροαμίδης, προκάλεσε αύξηση των επιπέδων του 5-ΗΙΑΑ στο ραβδωτό σώμα ($P<0,025$), στον υποθάλαμο ($P<0,005$) και στο μεσεγκέφαλο ($P<0,01$) (Σχήμα 38). Επιπλέον, παρατηρήθηκε αύξηση του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT στον υποθάλαμο ($P<0,025$), στο μεσεγκέφαλο ($P<0,005$) και στον πρόσθιο φλοιό ($P<0,005$).



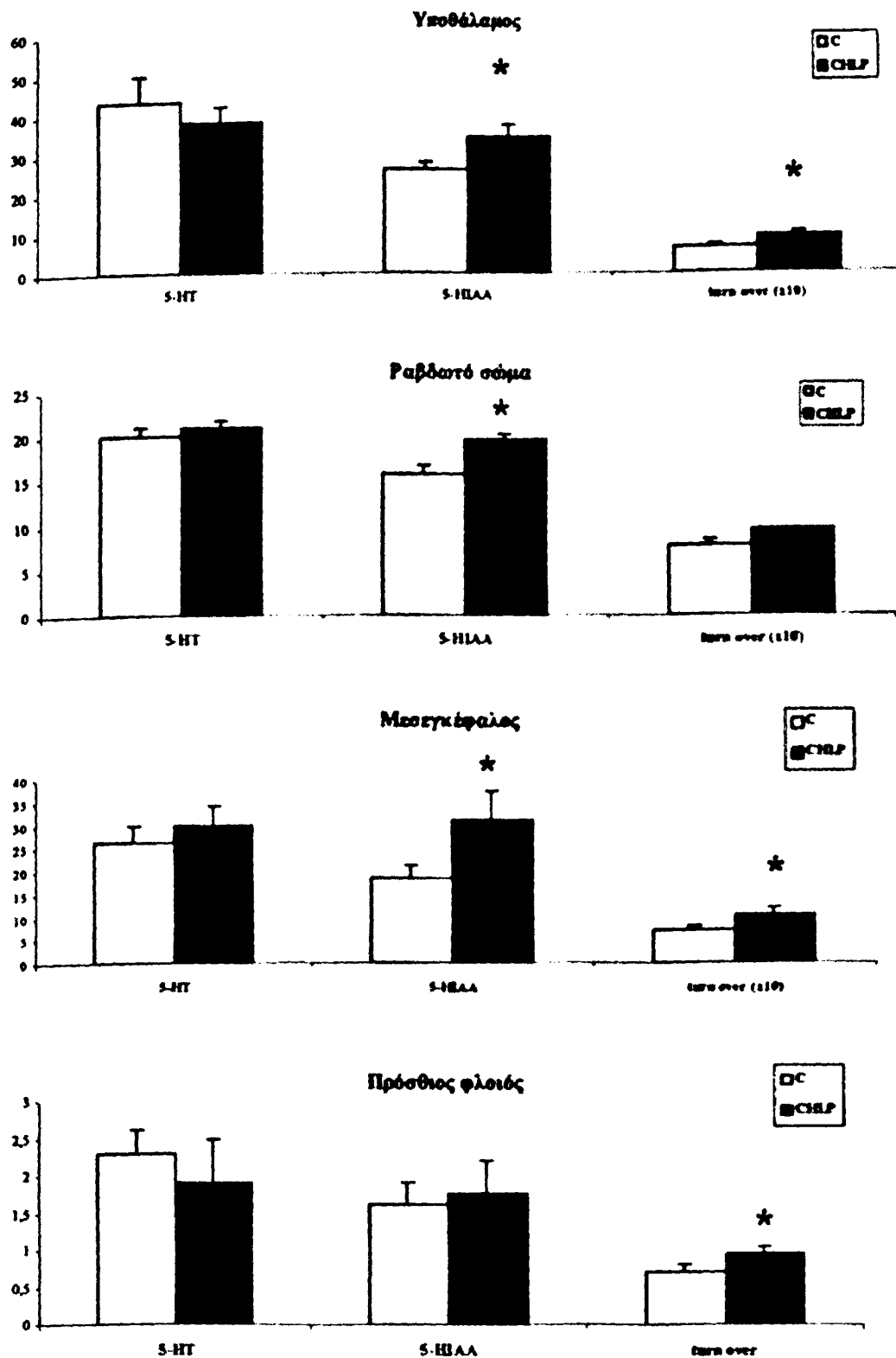
Σχήμα 37. Επίδραση της χλωροπροαμίδης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

Πίνακας 24. Επίδραση της χλωροπροαμίδης στα επίπεδα της DA και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	DA	DOPAC	HVA	Ρυθμός Ανακύκλωσης DA
Υποθάλαμος				
C	$5,3 \pm 2,2$	$1,97 \pm 0,64$	$2,23 \pm 0,61$	$0,89 \pm 0,30$
CHLP	$8,7 \pm 3,5$	$1,46 \pm 0,67$	$4,44 \pm 1,72 *$	$0,82 \pm 0,33$
Ραβδωτό σώμα				
C	$102,1 \pm 17,4$	$16,2 \pm 4,9$	$18,0 \pm 3,5$	$0,34 \pm 0,06$
CHLP	$95,1 \pm 14,1$	$7,5 \pm 3,3 *$	$17,9 \pm 3,2$	$0,27 \pm 0,05$
Μεσεγκέφαλος				
C	$0,83 \pm 0,53$	$0,32 \pm 0,18$	$0,46 \pm 0,10$	$1,65 \pm 1,21$
CHLP	$1,33 \pm 0,55$	$0,0 \pm 0,0 *$	$0,58 \pm 0,13$	$0,50 \pm 0,29$
Πρόσθιος φλοιός				
C	$2,75 \pm 0,88$	$0,90 \pm 0,32$	$0,32 \pm 0,09$	$0,46 \pm 0,11$
CHLP	$2,83 \pm 1,10$	$0,38 \pm 0,15 *$	$0,27 \pm 0,11$	$0,23 \pm 0,02 *$





Σχήμα 38. Επίδραση της χλωροπροπαμίδης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

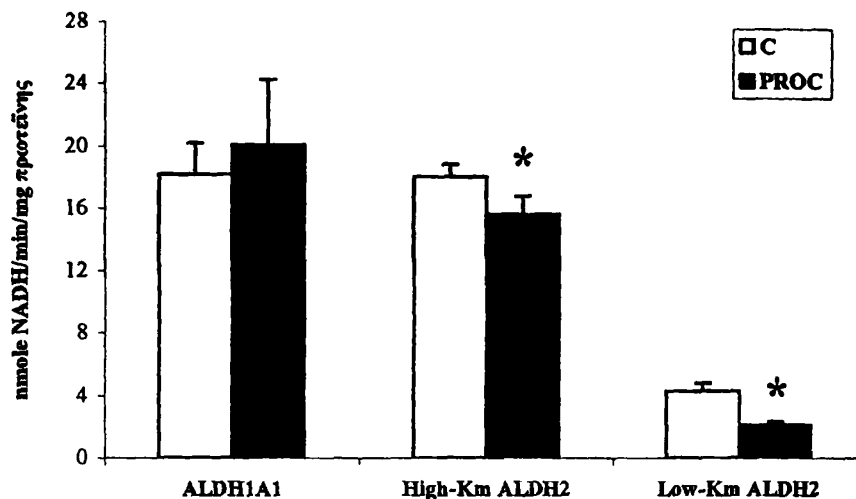


11. ΠΡΟΚΑΡΒΑΖΙΝΗ (PROC)

Χορηγήθηκαν 100 mg/kg προκαρβαζίνης, ως εναιώρημα σε ελαιόλαδο.

11.1 Ενζυμικές δραστηριότητες

Η χορήγηση της προκαρβαζίνης προκάλεσε σημαντικού βαθμού πτώση, τόσο της low-, όσο και της high-K_m ALDH2 ($P < 0,001$ και $P < 0,005$ αντίστοιχα) (Σχήμα 39), ενώ τα υπόλοιπα υπό μελέτη ένζυμα, παρέμειναν ανεπηρέαστα (Πίνακας 25).



Σχήμα 39. Επίδραση της προκαρβαζίνης στη δραστηριότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

Πίνακας 25. Επίδραση της προκαρβαζίνης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH (nmol NADH/min/mg πρωτεΐνης), του CYP2E1 (nmol 4-νιτροκατεχόλης/min/mg πρωτεΐνης) και της CAT (nmol H₂O₂/min/mg πρωτεΐνης) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

	ADH	CYP2E1	CAT
C	4,9 $\pm$ 0,4	1,38 $\pm$ 0,33	884,5 $\pm$ 23,3
PROC	5,5 $\pm$ 0,6	1,37 $\pm$ 0,29	800,2 $\pm$ 198,3

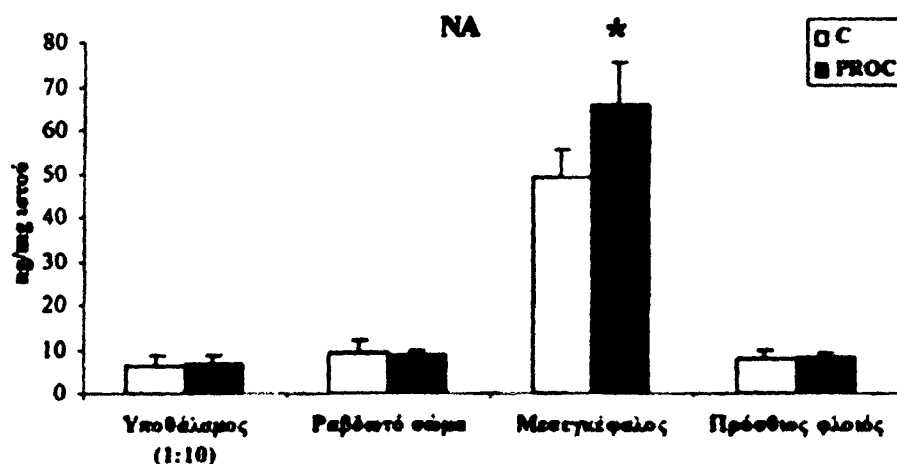
11.2 Βιογενείς αμίνες

Νοραδρενεργικό σύστημα: η μόνη αξιοσημείωτη επίδραση της προκαρβαζίνης στο νοραδρενεργικό σύστημα, σχετίζεται με μία στατιστικώς σημαντική αύξηση των επιπέδων της NA που προκάλεσε στο μεσεγκέφαλο ($P < 0,05$) (Σχήμα 40).

Ντοπαμινεργικό σύστημα: σημειώθηκε μία χαρακτηριστική μείωση του ρυθμού ανακύκλωσης της DA, σε όλες τις δομές του εγκεφάλου (ραβδωτό σώμα: $P < 0,001$, υποθάλαμος: $P < 0,025$, μεσεγκέφαλος: $P < 0,05$ και πρόσθιος φλοιός:

$P<0,001$), με συνοδό αύξηση των επιπέδων της DA στον πρόσθιο φλοιό ($P<0,05$). Επιπλέον, παρατηρήθηκε πτώση στα επίπεδα του DOPAC στο ραβδωτό σώμα, στον υποθάλαμο και στο μεσεγκέφαλο ($P<0,01$), καθώς και στα επίπεδα του HVA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,005$) και στο μεσεγκέφαλο ($P<0,001$) (Πίνακας 26).

Σεροτονινεργικό σύστημα: η χορήγηση της προκαρβαζίνης, προκάλεσε αύξηση των επιπέδων της 5-HT (Σχήμα 41) στο ραβδωτό σώμα ($P<0,025$), στον υποθάλαμο ($P<0,05$) και στο μεσεγκέφαλο ($P<0,001$). Επιπλέον, σε όλες τις δομές του εγκεφάλου, σημειώθηκε πτώση του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT (ραβδωτό σώμα: $P<0,001$, υποθάλαμος: $P<0,0025$, μεσεγκέφαλος: $P<0,001$ και πρόσθιος φλοιός: $P<0,05$), με ταυτόχρονη πτώση των επιπέδων του 5-HIAA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,01$).



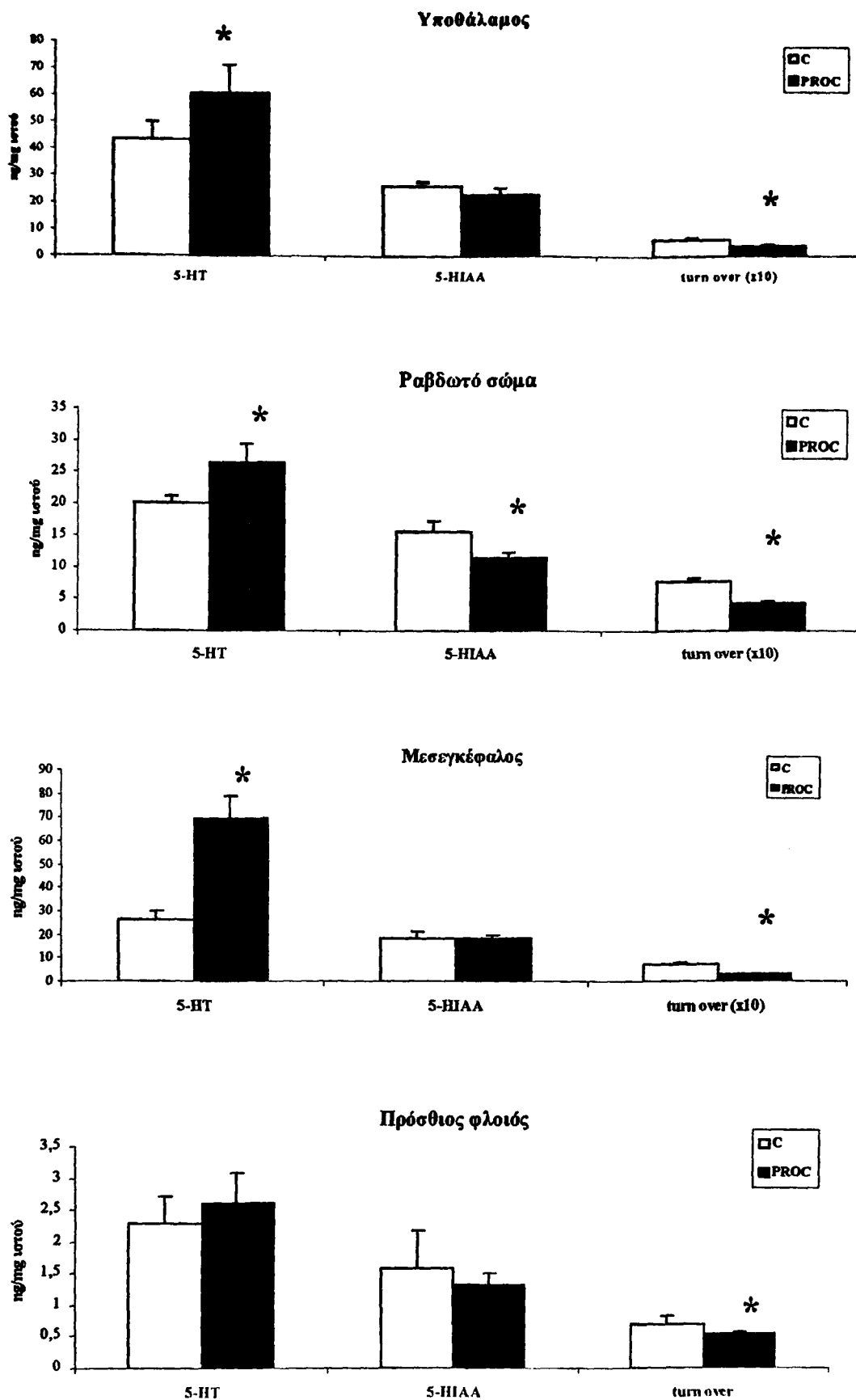
Σχήμα 40. Επίδραση της προκαρβαζίνης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμικων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0,05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

Πίνακας 26. Επίδραση της προκαρβαζίνης στα επίπεδα της DA (ng/mg ιστού) και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA) (ng/mg ιστού), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμικων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

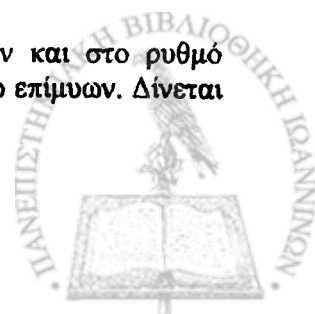
* $P<0,05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	DA	DOPAC	HVA	Ρυθμός Ανακύκλωσης DA
Υποθάλαμος				
C	5,3 $\pm$ 2,2	1,97 $\pm$ 0,64	2,23 $\pm$ 0,61	0,89 $\pm$ 0,30
PROC	7,5 $\pm$ 2,2	0,86 $\pm$ 0,27 *	1,65 $\pm$ 0,65	0,38 $\pm$ 0,16 *
Ραβδωτό σώμα				
C	102,1 $\pm$ 17,4	16,2 $\pm$ 4,9	18,0 $\pm$ 3,5	0,34 $\pm$ 0,06
PROC	107,5 $\pm$ 14,9	4,3 $\pm$ 0,4 *	7,8 $\pm$ 0,8 *	0,11 $\pm$ 0,01 *
Μεσεγκέφαλος				
C	0,83 $\pm$ 0,53	0,32 $\pm$ 0,18	0,46 $\pm$ 0,10	1,65 $\pm$ 1,21
PROC	4,0 $\pm$ 2,45	0,0 $\pm$ 0,0 *	0,08 $\pm$ 0,02 *	0,05 $\pm$ 0,06 *
Πρόσθιος φλοιός				
C	2,75 $\pm$ 0,88	0,90 $\pm$ 0,32	0,32 $\pm$ 0,09	0,46 $\pm$ 0,11
PROC	4,55 $\pm$ 1,23 *	0,58 $\pm$ 0,31	0,22 $\pm$ 0,07	0,18 $\pm$ 0,06 *



Σχήμα 41. Επίδραση της προκαρβαζίνης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$; στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

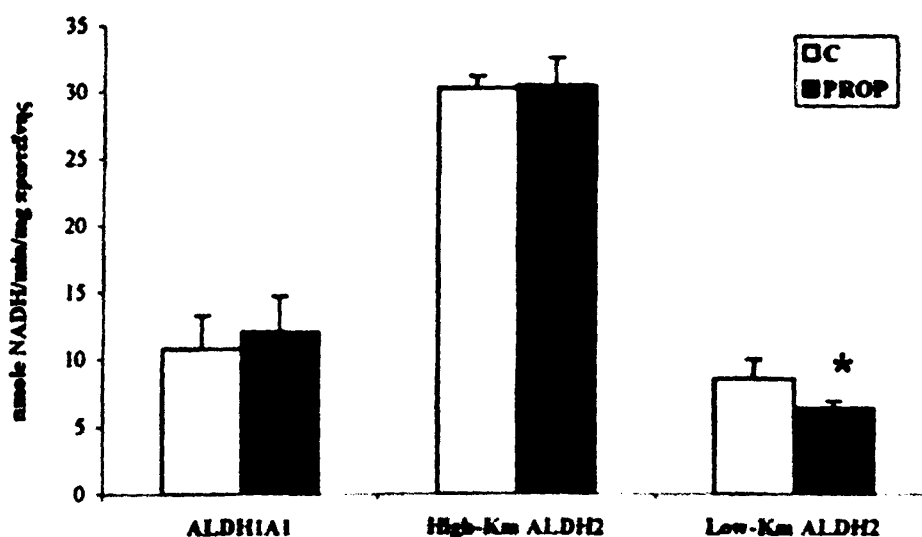


12. ΠΡΟΠΡΑΝΟΛΟΛΗ (PROP)

Χορηγήθηκαν 50 mg/kg προπρανολόλης, ως διάλυμα σε φυσιολογικό ορό.

12.1 Ενζυμικές δραστηριότητες

Οι επιδράσεις της προπρανολόλης στα ένζυμα τα οποία μελετήθηκαν, περιλαμβάνουν μία ήπια αναστολή της δραστηριότητας του low-Km ισοενζύμου της ALDH2 ($P < 0,025$) (Σχήμα 42), καθώς και μία αύξηση της δραστηριότητας του CYP2E1 ($P < 0,05$) (Πίνακας 27). Τα υπόλοιπα υπό μελέτη ένζυμα, δεν έδειξαν να επηρεάζονται από τη χορήγηση της προπρανολόλης (Πίνακας 27).



Σχήμα 42. Επίδραση της προπρανολόλης στη δραστηριότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

Πίνακας 27. Επίδραση της προπρανολόλης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH (nmol NADH/min/mg πρωτεΐνης), του CYP2E1 (nmol 4-νιτροκατεχόλης/min/mg πρωτεΐνης) και της CAT (nmol H_2O_2 /min/mg πρωτεΐνης) επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	ADH	CYP2E1	CAT
C	$8,9 \pm 0,7$	$3,18 \pm 0,75$	$803,7 \pm 54,2$
PROP	$9,3 \pm 0,5$	$4,18 \pm 0,31$ *	$865,3 \pm 12,2$

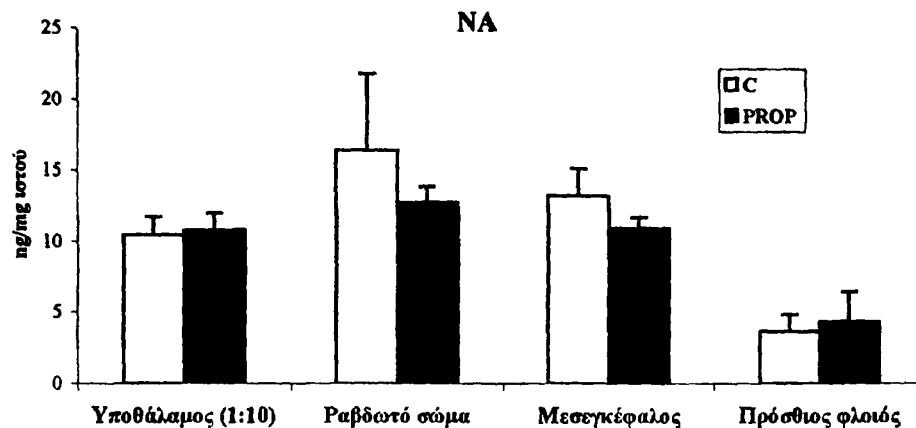
12.2 Βιογενείς αμίνες

Νοραδρενεργικό σύστημα: καμία μεταβολή δεν παρατηρήθηκε από τη χορήγηση της προπρανολόλης στα επίπεδα της NA του Κ.Ν.Σ. (Σχήμα 43).



Ντοπαμινεργικό σύστημα: παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων του DOPAC στον υποθάλαμο και στο μεσεγκέφαλο ($P<0,05$), καθώς και μείωση των επιπέδων του HVA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,0025$) και στον υποθάλαμο ($P<0,01$). Τέλος, μείωση του ρυθμού ανακύκλωσης της DA σημειώθηκε στο ραβδωτό σώμα ($P<0,025$) και στον υποθάλαμο ($P<0,05$) (Πίνακας 28).

Σεροτονινεργικό σύστημα: σημειώθηκε αύξηση των επιπέδων της 5-HT στον υποθάλαμο ($P<0,01$) και στο μεσεγκέφαλο ($P<0,05$) (Σχήμα 44). Επίσης, σε όλες τις δομές του εγκεφάλου, παρατηρήθηκε μείωση του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT (ραβδωτό σώμα: $P<0,025$, υποθάλαμος: $P<0,005$, μεσεγκέφαλος: $P<0,025$ και πρόσθιος φλοιός: $P<0,005$), με παράλληλη μείωση των επιπέδων του 5-HIAA στο ραβδωτό σώμα ($P<0,05$) και στο μεσεγκέφαλο ($P<0,05$).



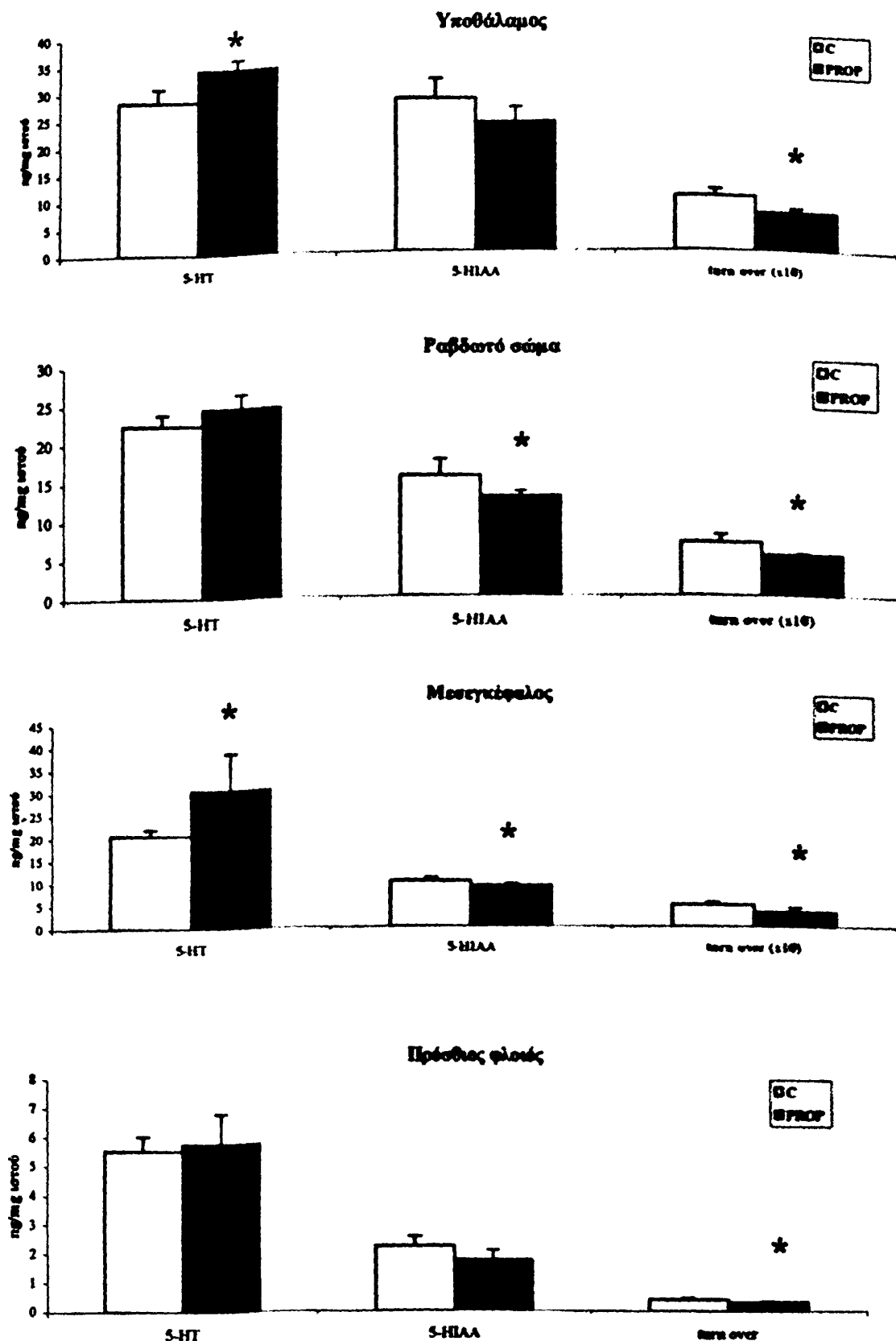
Σχήμα 43. Επίδραση της προπρανολόλης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

Πίνακας 28. Επίδραση της προπρανολόλης στα επίπεδα της DA (ng/mg ιστού) και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA) (ng/mg ιστού), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P<0,05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.

	DA	DOPAC	HVA	Ρυθμός Ανακύκλωσης DA
Υποθάλαμος				
C	7,0 $\pm$ 0,7	1,0 $\pm$ 0,2	1,88 $\pm$ 0,71	0,41 $\pm$ 0,11
PROP	6,3 $\pm$ 2,0	0,7 $\pm$ 0,1 *	0,58 $\pm$ 0,04 *	0,23 $\pm$ 0,08 *
Ραβδωτό σώμα				
C	127,4 $\pm$ 19,9	13,8 $\pm$ 3,6	18,4 $\pm$ 2,0	0,26 $\pm$ 0,04
PROP	117,5 $\pm$ 22,4	9,5 $\pm$ 2,0	11,8 $\pm$ 2,1 *	0,18 $\pm$ 0,03 *
Μεσεγκέφαλος				
C	1,72 $\pm$ 0,66	0,74 $\pm$ 0,19	0,50 $\pm$ 0,18	0,82 $\pm$ 0,33
PROP	1,06 $\pm$ 0,19	0,50 $\pm$ 0,06 *	0,36 $\pm$ 0,12	0,84 $\pm$ 0,23
Πρόσθιος φλοιός				
C	2,94 $\pm$ 0,64	0,30 $\pm$ 0,21	0,54 $\pm$ 0,08	0,29 $\pm$ 0,07
PROP	2,80 $\pm$ 1,46	0,33 $\pm$ 0,27	0,40 $\pm$ 0,17	0,25 $\pm$ 0,04





Σχήμα 44. Επίδραση της προπρανολόλης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (total over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων. Δίνεται η μέση τιμή ($\pm$ S.D.) 5 ζώων για κάθε ομάδα.

* $P < 0.05$: στατιστικά σημαντική διαφορά από την ομάδα των μαρτύρων.



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Όπως έχουμε αναφέρει, η δισουλφιράμη αποτελεί μία φαρμακευτική ουσία, η οποία βρίσκει εφαρμογή στα πλαίσια της εκούσιας προσπάθειας απεξάρτησης από το οινόπνευμα, των χρόνιων αλκοολικών. Η έναρξη της χορήγησής της λαμβάνει χώρα την περίοδο κατά την οποία ο αλκοολικός έχει σταματήσει να πίνει και έχει ως απώτερο σκοπό την πρόληψη των υποτροπών. Το σκεπτικό της χρήσης της, στηρίζεται στην ιδιότητα του φαρμάκου να προκαλεί μία σειρά δυσάρεστων συμπτωμάτων στο άτομο που λαμβάνει δισουλφιράμη, όταν καταναλώσει οινόπνευμα, αποτρέποντάς το έτσι από το να πίνει, εφόσον γνωρίζει τα δυσάρεστα συμπτώματα που θα βιώσει. Το σύνολο των δυσάρεστων αυτών συμπτωμάτων που προκύπτουν από τη συγχορήγηση δισουλφιράμης και οينوπνεύματος, αναφέρονται γενικά ως «αντίδραση δισουλφιράμης» και περιλαμβάνουν: ερυθρότητα στο δέρμα του προσώπου, του τραχήλου και του κορμού (flushing), αδυναμία, εφίδρωση, έντονη δίψα, κεφαλαλγία, ναυτία, έμετο, ίλιγγο, διπλωπία, ταχυκαρδία, δύσπνοια, πόνο στο στήθος, υπόταση και σε σοβαρότερες περιπτώσεις, καρδιακές αρρυθμίες και έμφραγμα του μυοκαρδίου, ενώ έχουν αναφερθεί ακόμη και θανατηφόρες αντιδράσεις.

Ήδη από το 1948, η αντίδραση αυτή είχε αποδοθεί στην αναστολή της ηπατικής αλδεϋδικής αφυδρογονάσης που προκαλεί η δισουλφιράμη, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση τοξικών συγκεντρώσεων ακεταλδεϋδης στο αίμα, μετά την κατανάλωση οينوπνεύματος (Hald & Jacobsen, 1948b). Άλλωστε, η ενδοφλέβια έγχυση ακεταλδεϋδης σε ανθρώπους, μιμείται τα συμπτώματα της «αντίδρασης δισουλφιράμης», συμπτώματα τα οποία εμφανίζονται και εξαφανίζονται με την αύξηση και τη μείωση, αντίστοιχα, των επιπέδων της ακεταλδεϋδης στο πλάσμα (Asmussen et al., 1948; Hine et al., 1952). Ακόμη και σήμερα, η ερμηνεία αυτή αποτελεί την πιο κοινά αποδεκτή εξήγηση του μηχανισμού της εν λόγω αντίδρασης.

Πέραν της δισουλφιράμης, στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται σειρά θεραπευτικών παραγόντων, οι οποίοι σε συνδυασμό με την αιθυλική αλκοόλη προκαλούν αντίδραση παρόμοια με την «αντίδραση δισουλφιράμης». Η αντίδραση αυτή, χαρακτηρίζεται ως «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» και έχει αποδοθεί κατά κανόνα στην αναστολή της ηπατικής ALDH και στην αύξηση της συγκέντρωσης της ακεταλδεϋδης που ακολουθεί. Ωστόσο, κάποια από τα φάρμακα αυτά, όπως είναι η μετρονιδαζόλη και η γκριζεοφουλβίνη, δεν αναστέλουν την ηπατική ALDH, με αποτέλεσμα η δυσανεξία που προκαλούν στην αιθυλική αλκοόλη να μην μπορεί να χαρακτηριστεί ως γνήσια «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» (Vasilίου et al., 1986). Με αφορμή το γεγονός αυτό και προκειμένου να μελετήσουμε το μηχανισμό με τον οποίο προκαλούν «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» όλοι αυτοί οι φαρμακευτικοί παράγοντες, εξετάσαμε την επίδρασή τους στα ηπατικά ένζυμα μεταβολισμού της αιθανόλης, καθώς επίσης και στα επίπεδα των βιογενών μονοαμινών του K.N.Σ.

1. Ηπατικές ALDHs

Το μεγαλύτερο ποσοστό της αιθυλικής αλκοόλης, μεταβολίζεται μέσω οξειδωσης προς ακεταλδεϋδη. Η ακεταλδεϋδη αποτελεί μία έντονα δραστική και τοξική ουσία, η οποία μπορεί να επηρεάσει την κατανάλωση και την ευαισθησία του ατόμου απέναντι στο οινόπνευμα, έχοντας παράλληλα κεντρικό ρόλο στην παθογένεια της αλκοολικής βλάβης του ήπατος (Lieber, 1990). Η αυξημένη αυτή τοξικότητα της ακεταλδεϋδης, οφείλεται σε μια σειρά επιδράσεων της στον

οργανισμό, όπως είναι η επαγωγή της λιπιδιακής υπεροξειδωσης, η αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών, η μείωση των επιπέδων της γλουταθειόνης, η διαταραχή της μιτοχονδριακής οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, καθώς και ο σχηματισμός πρωτεϊνικών προϊόντων προσθήκης, που οδηγεί στην αναστολή της δραστηριότητας διαφόρων ενζύμων ή ακόμη και στην παραγωγή αντισωμάτων έναντι των τροποποιημένων αυτών πρωτεϊνών (Peters & Ward, 1988; Lieber, 1990). Γίνεται λοιπόν αμέσως σαφές, η μεγάλη σημασία του να γνωρίζουμε πώς μεταβολίζεται *in vivo* το τοξικό αυτό παράγωγο του μεταβολισμού της αιθανόλης.

Ο ηπατικός μεταβολισμός της ακεταλδεύδης προς οξικό οξύ, επιτελείται κατά κύριο λόγο από δύο ισοένζυμα της ALDH, την κυτταροπλασματική ALDH1A1 και τη μιτοχονδριακή low-Km ALDH2, η οποία είναι και το κυρίως υπεύθυνο ισοένζυμο κατάλυσης της αντίδρασης αυτής (Koivula & Koivusalo, 1975; Tottmar et al., 1973; Tsutsumi et al., 1988). Χρησιμοποιώντας *in vitro* μεθόδους, και προσπαθώντας να εξακριβώσει το ποσοστό συμμετοχής των διαφόρων ενζυμικών συστημάτων στην οξείδωση της ακεταλδεύδης, ο Weiner (Weiner, 1987), κατέληξε στα εξής:

α) Η μιτοχονδριακή low-Km ALDH2, οξειδώνει το 60% περίπου της ακεταλδεύδης,

β) Η κυτταροπλασματική ALDH1A1, συμμετέχει στο μεταβολισμό της ακεταλδεύδης σε ποσοστό 20% περίπου, ενώ

γ) Στο υπόλοιπο 20% της οξείδωσης της ακεταλδεύδης, συμμετέχει κάποιο αδιευκρίνιστο ενζυμικό σύστημα, αναφορικά με το οποίο, ήρθαν οι Terelius και συν. το 1991 να υποστηρίξουν πως πρόκειται για το CYP2E1 (Terelius et al., 1991). Φαίνεται δηλαδή, πως το κυτόχρωμα αυτό αποτελεί μία μικροσωματική αλδευδική οξειδάση, με μία σταθερά Km για την ακεταλδεύδη γύρω στα 35 μM , παραπλήσια δηλαδή με την αντίστοιχη Km της ALDH1A1 (30 μM) και σαφώς μεγαλύτερη από αυτήν της low-Km ALDH2 (1-10 μM) (Lands, 1998; Kunitoh et al., 1997).

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας και κατά τη μελέτη των επιδράσεων στα ηπατικά ισοένζυμα της ALDH των φαρμάκων εκείνων που είναι γνωστό ότι προκαλούν «αντίδραση τύπου δισουλφιδράμης», τα αποτελέσματά μας ήταν ιδιαίτερα ενδιαφέροντα. Αναφορικά με την ALDH1A1, και με εξαίρεση τη δισουλφιδράμη, την κεφαμανδόλη, τη φουραζολιδόνη και την ισονιαζίδη, που ανέστελαν τη δραστηριότητα του ενζύμου, τα υπόλοιπα φάρμακα που μελετήθηκαν δεν είχαν καμία επίδραση (χλωραμφενικόλη, μετρονιδαζόλη, κοτριμοξαζόλη, κινακρίνη, προκαρβαζίνη και προπρανολόλη) ή ακόμη και αύξησαν τη δραστηριότητα της ALDH1A1 (γκριζεοφουλβίνη και χλωροπροπαμίδη). Όσον αφορά το low-Km ισοένζυμο της ALDH2, που όπως έχει αναφερθεί παίζει το σημαντικότερο ρόλο στην οξείδωση της ακεταλδεύδης, όλα τα χορηγούμενα φάρμακα ανέστελαν τη δραστηριότητά του, με εξαίρεση τη μετρονιδαζόλη, την κοτριμοξαζόλη, τη γκριζεοφουλβίνη και την κινακρίνη, που άφησαν το ένζυμο ανεπηρέαστο. Η σειρά κατά ποσοστό αναστολής του ενζύμου από τους φαρμακευτικούς αυτούς παράγοντες ήταν η εξής: FUR (88,1%) > CHLP (80,9%) > DIS (100 mg/kg β.σ., 80,6%) > CHL (58,5%) > PROC (50,3%) > CEF (48,6%) > ISO (45,2%) > PROP (25,3%). Τέλος, η high-Km ALDH2, η οποία ωστόσο δεν συμμετέχει στην οξείδωση της ακεταλδεύδης (Marchner & Tottmar, 1976), ακολούθησε τις μεταβολές του low-Km ισοενζύμου, με μόνη εξαίρεση την προπρανολόλη, η οποία ενώ προκάλεσε μία ήπια αναστολή της low-Km, δεν φάνηκε να επηρεάζει καθόλου τη δραστηριότητα της high-Km ALDH2.

Όσον αφορά τη χλωροπροπαμίδη, η οποία όπως είδαμε προκάλεσε μία έντονη αναστολή της ALDH2 (της τάξεως του 80,9%), τα βιβλιογραφικά δεδομένα από κλινικές μελέτες, κάνουν λόγο για μία ήπια συμπτωματολογία που προκύπτει από τη συγχορήγησή της με οινόπνευμα (κακουχία-ερυθρότητα προσώπου) (Czyzyk &

Mohnike, 1957; Signorelli, 1959; Logi et al., 1976), η οποία είναι προφανώς δυσανάλογη της ανασταλτικής της δράσης στην ALDH2. Επιπλέον, έχει τεθεί σε αμφισβήτηση η ιδιότητά της να προκαλεί μία γνήσια «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», καθώς τα συμπτώματα που προκύπτουν από την αλληλεπίδρασή της με το οινόπνευμα, έχουν αποδοθεί σε μία κληρονομούμενη ιδιότητα των διαβητικών με μη-ινσουλινοεξερτώμενο, κυρίως, σακχαρώδη διαβήτη, που σχετίζεται με αυξημένη ευαισθησία των ασθενών αυτών στα ενδογενή οπιοειδή (Leslie & Pyke, 1978; Leslie et al., 1979). Το γεγονός αυτό, προφανώς, εγείρει ερωτήματα και για το γενικότερο ρόλο της αναστολής της ALDH στη δυσανεξία που προκαλεί στο οινόπνευμα η δισουλφιράμη, αλλά και οι υπόλοιποι φαρμακευτικοί παράγοντες, καθώς μια τόσο έντονη αναστολή του ενζύμου από τη χλωροπροπαμίδη, δεν είναι σε θέση να επάγει μία κλασική «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης».

Αντίθετα από τη χλωροπροπαμίδη, η προπρανολόλη προκαλεί μία ήπια αναστολή της ηπατικής ALDH2 (της τάξεως του 25,3%), ενώ από τη βιβλιογραφία γνωρίζουμε πως προκαλεί μία τυπική «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», χωρίς ωστόσο να αυξάνει ιδιαίτερα τα επίπεδα της ακεταλδεΐδης στο αίμα (Guivernau et al., 1994). Και στην περίπτωση αυτή, δηλαδή, φαίνεται να τίθεται σε αμφισβήτηση ο κεντρικός ρόλος που έχει αποδοθεί στην αναστολή της ALDH, στη δυσανεξία που προκαλείται στο οινόπνευμα από διάφορα φάρμακα, αλλά και στην ίδια την «αντίδραση δισουλφιράμης».

Εξάλλου, από τα αποτελέσματα των πειραμάτων μας, γίνεται σαφές πως η δράση της μετρονιδαζόλης, της κοτριμοξαζόλης, της γκριζεοφουλβίνης και της κινακρίνης, στα ισoenζυμα της ALDH που εμπλέκονται στο μεταβολισμό της ακεταλδεΐδης (ALDH1A1 και low-Km ALDH2), διαφέρει από την αντίστοιχη δράση της δισουλφιράμης, η οποία όπως είδαμε προκαλεί σημαντικού βαθμού αναστολή των isoenζύμων αυτών. Φαίνεται δηλαδή, πως τα φάρμακα αυτά προκαλούν, μάλλον, μία μορφή δυσανεξίας στην αιθυλική αλκοόλη, παρά μία γνήσια «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», υπό την έννοια ότι δεν αναστέλλουν την ηπατική low-Km ALDH2, προϋπόθεση που θεωρείται απαραίτητη με τα μέχρι σήμερα βιβλιογραφικά δεδομένα, για να θεωρηθεί πως μία ουσία προκαλεί τέτοιου είδους αντίδραση. Εξάλλου, και πέραν της πιθανότητας τα φάρμακα αυτά να μην προκαλούν μία τυπική «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», αλλά μία δυσανεξία στην αιθυλική αλκοόλη με κάποιο άλλο μηχανισμό, θα μπορούσε ίσως να τεθεί το ερώτημα, μήπως έχει τελικά υπερτιμηθεί η σημασία της άθροισης ακεταλδεΐδης, συνεπεία της αναστολής της ALDH2, στο μηχανισμό της «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης» ή ακόμη και της ίδιας της «αντίδρασης δισουλφιράμης». Άλλωστε, πειραματικές μελέτες σε ανθρώπους, έδειξαν πως ενώ εμφάνιζαν επίπεδα ακεταλδεΐδης στο αίμα υψηλότερα από τα αντίστοιχα που παρατηρούνται σε μία τυπική «αντίδραση δισουλφιράμης», εντούτοις δεν εκδήλωσαν κανένα από τα συμπτώματα της αντίδρασης (Raby, 1956). Επιπλέον, περιγράφηκαν περιπτώσεις ατόμων με τυπική συμπτωματολογία «αντίδρασης δισουλφιράμης» μετά τη λήψη του φαρμάκου, των οποίων όμως η συγκέντρωση της ακεταλδεΐδης στο αίμα ήταν παραπλήσια ή και χαμηλότερη από την αντίστοιχη των μαρτύρων που δεν έλαβαν δισουλφιράμη (Sauter et al., 1977). Βλέπουμε δηλαδή, πως παρά τον κεντρικό ρόλο στην αιτιολογία της «αντίδρασης δισουλφιράμης», που είχε αποδοθεί από πολύ νωρίς στην άθροιση της ακεταλδεΐδης στον οργανισμό, τα πειραματικά δεδομένα είναι αλληλοαντικρουόμενα και ο ακριβής μηχανισμός της αντίδρασης αυτής δεν είναι απόλυτα ξεκαθαρισμένος.



2. ADH, CYP2E1, CAT

Το ηπατοκύτταρο διαθέτει τρία ενζυμικά συστήματα μεταβολισμού της αιθυλικής αλκοόλης προς ακεταλδεΐδη, καθένα εκ των οποίων εντοπίζεται σε διαφορετικό κυτταρικό διαμέρισμα. Έχουμε λοιπόν την ADH, η οποία είναι ένα κυτταροπλασματικό ένζυμο, το MEOS, με κύριο εκπρόσωπο το CYP2E1, το οποίο εντοπίζεται στα μικροσωμάτια και την CAT που ανιχνεύεται στα υπεροξυσωμάτια. Καθένα από τα ένζυμα αυτά, ασκεί συγκεκριμένες μεταβολικές και τοξικές επιδράσεις, με κοινό παρονομαστή την παραγωγή ακεταλδεΐδης.

Από τα τρία αυτά ενζυμικά συστήματα, η ADH αποτελεί το ένζυμο που είναι υπεύθυνο για την οξείδωση του μεγαλύτερου ποσοστού της αιθανόλης στο ήπαρ (90-95%), ιδιαίτερα μάλιστα όταν η συγκέντρωσή της στο αίμα βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα (<20 mM) (Hawkins & Kalant, 1972). Στον άνθρωπο έχουν ανιχνευθεί πέντε ξεχωριστές κλάσεις ADH (I-V) (Duester et al., 1999), εκ των οποίων τα ισoenζυμα της κλάσης I, έχουν χαμηλό K_m για την αιθανόλη (< 4 mM) και πιστεύεται ότι παίζουν το σημαντικότερο ρόλο στον ηπατικό μεταβολισμό της (Agarwal, 2001). Πέραν της αναστολής της ALDH2, που όπως έχει αναφερθεί κατέχει κεντρική θέση στην εξήγηση του μηχανισμού της «αντίδρασης δισουλφιράμης», σποραδικές μελέτες έχουν ενοχοποιήσει και την αναστολή της δραστηριότητας της ADH1 για τις κλινικές εκδηλώσεις της αντίδρασης αυτής. Η άθροιση δηλαδή της αιθανόλης, που θα ακολουθούσε την αναστολή της ADH, πιστεύεται πως θα μπορούσε, ενδεχομένως, να ερμηνεύσει κάποια από τα συμπτώματα της «αντίδρασης δισουλφιράμης», όπως είναι η ναυτία, ο ίλιγγος και η δυσλωπία, τα οποία δεν μπορούν να εξηγηθούν αποκλειστικά και μόνο από την άθροιση ακεταλδεΐδης. Άλλωστε, in vitro πειραματικές μελέτες, έχουν δείξει την ικανότητα της δισουλφιράμης αλλά και της μετρονιδαζόλης να αναστέλλουν την ADH, ενισχύοντας με τον τρόπο αυτό την προαναφερθείσα άποψη (Sharkawi, 1980; Carper et al., 1987; Gupta et al., 1970). Τα αποτελέσματα της παρούσας πειραματικής μελέτης, ωστόσο, έδειξαν πως η δισουλφιράμη δεν έχει καμία επίδραση στην ενζυμική δραστηριότητα της ADH in vivo, ενώ η μετρονιδαζόλη βρέθηκε πως πράγματι αναστέλλει τη δραστηριότητα του ενζύμου. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με το ότι η μετρονιδαζόλη αναφέρεται πως προκαλεί «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», χωρίς ωστόσο όπως δείξαμε να αναστέλλει την ηπατική ALDH2, είναι ενισχυτικό του ρόλου της αναστολής της ADH στην αντίδραση αυτή, τουλάχιστον όσον αφορά το συγκεκριμένο αντιβιοτικό. Αναφορικά με τα υπόλοιπα φάρμακα που χορηγήσαμε, το μόνο που επηρέασε την ADH ήταν η κεφαμανδόλη, η οποία μάλιστα αύξησε τη δραστηριότητα του ενζύμου. Καθώς η κεφαλοσπορίνη αυτή αναστέλλει την ηπατική ALDH2, η επαγωγή που προκαλεί στην ADH, θα μπορούσε ενδεχομένως, μετά την κατανάλωση οινόπνευματος, να προκαλέσει την ταχεία συσσώρευση υψηλών συγκεντρώσεων ακεταλδεΐδης στον οργανισμό. Το ενδεχόμενο αυτό, άλλωστε, φαίνεται να επιβεβαιώνεται από κλινικές παρατηρήσεις, όπου η λήψη αιθανόλης από ασθενείς που λαμβάνουν κεφαμανδόλη, προκαλεί την ταχύτερη εμφάνιση μίας «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης» (Uri & Parks, 1983).

Εκτός από την ADH, που όπως προαναφέρθηκε παίζει το σημαντικότερο ρόλο στον ηπατικό μεταβολισμό της αιθυλικής αλκοόλης, ένα ποσοστό 1-5% αυτής, μεταβολίζεται από το MEOS, του οποίου κύριος εκπρόσωπος είναι το CYP2E1 (Nebert et al., 1987; Ingelman-Sundberg, 1997). Καθώς μάλιστα το MEOS εμφανίζει σχετικά υψηλή τιμή K_m για την αιθανόλη (8-10 mM), όταν τα επίπεδά της στο αίμα αυξηθούν αρκετά, το ποσοστό συμμετοχής του ενζύμου αυτού στο μεταβολισμό της ανέρχεται στο 60% (Matsumoto et al., 1996). Επιπλέον, η χρόνια κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων αιθυλικής αλκοόλης, προκαλεί σημαντικού βαθμού επαγωγή του

CYP2E1, το οποίο τότε αναλαμβάνει το μεταβολισμό του 25% περίπου του προσλαμβανόμενου οινόπνευματος (<http://www.emedicine.com/emerg/byname/toxicity-alcohols.htm>). Εξάλλου, πρόσφατες σχετικά μελέτες, δείχνουν πως πέραν της συμμετοχής του στο μεταβολισμό της αιθανόλης, το CYP2E1 παίρνει μέρος και στο μεταβολισμό της ακεταλδεϋδης προς οξικό οξύ, μεταβολίζοντας περίπου το 20% αυτής (Terelius et al., 1991; Kunitoh et al., 1997). Μελετώντας τις επιδράσεις των φαρμάκων που προκαλούν «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» στη δραστηριότητα του CYP2E1, οδηγηθήκαμε σε σημαντικά αποτελέσματα, που μας βοηθούν να εξάγουμε κάποια χρήσιμα συμπεράσματα. Πέραν λοιπόν της ήδη γνωστής αναστολής του ενζύμου από τη δισουλφιράμη (αναστολέας CYP2E1) καθώς και της επίσης γνωστής επαγωγής του από την ισονιαζίδη (επαγωγέας CYP2E1), τα οποία και επιβεβαιώσαμε, εντοπίσαμε και κάποιες επιπλέον επιδράσεις ορισμένων από τα φάρμακα που χορηγήσαμε στο CYP2E1, που από όσο γνωρίζουμε δεν αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία. Πιο συγκεκριμένα, η μετρονιδαζόλη, η κοτριμοξαζόλη και η κινακρίνη, ανέστειλλαν τη δραστηριότητα του CYP2E1, ενώ η κεφαμανδόλη και η προπρανολόλη αύξησαν τη δραστηριότητα του ενζύμου. Η ανασταλτική αυτή δράση της μετρονιδαζόλης στο CYP2E1, σε συνδυασμό με την αναστολή της ADH που όπως είδαμε προκαλεί, καθώς και το γεγονός ότι αφήνει ανεπηρέαστη την ALDH2, ενισχύει τον πιθανό ρόλο της συσσώρευσης υψηλών συγκεντρώσεων αιθανόλης στην «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», που μπορεί να προκληθεί από το αντιβιοτικό αυτό. Αντίθετα, στην περίπτωση της κοτριμοξαζόλης και της κινακρίνης, που επίσης αναστέλλουν το CYP2E1, χωρίς να επηρεάζουν την ALDH2, αλλά ούτε και την ADH, κάτι αντίστοιχο δύσκολα θα μπορούσε να υποστηριχθεί, καθώς η ανασταλτική τους δράση στο CYP2E1 δεν θα αρκούσε για την άθροιση τοξικών συγκεντρώσεων αιθανόλης, δεδομένης της μικρής συμμετοχής του κυτοχρώματος αυτού στο μεταβολισμό του οινόπνευματος. Για τον ίδιο ακριβώς λόγο, η ανασταλτική δράση της δισουλφιράμης στο CYP2E1, δεν θα μπορούσε να οδηγήσει στη συσσώρευση αιθανόλης σε τέτοιο βαθμό, έτσι ώστε αυτή να θεωρηθεί ως υπεύθυνη για τη συμπτωματολογία της «αντίδρασης δισουλφιράμης». Ωστόσο, όπως προαναφέρθηκε, το CYP2E1, εκτός του μεταβολισμού της αιθυλικής αλκοόλης όπου συμμετέχει, επιτελεί και κάποιο ποσοστό της οξειδωσης της ακεταλδεϋδης. Υπό την έννοια αυτή, στην περίπτωση της δισουλφιράμης, η ανασταλτική της επίδραση στο ένζυμο θα μπορούσε απλώς να σημαίνει τη συσσώρευση μεγαλύτερου ποσοστού ακεταλδεϋδης στο πλάσμα, με αποτέλεσμα μια «αντίδραση δισουλφιράμης» με, ενδεχομένως, εντονότερη συμπτωματολογία από ότι αν δεν υπήρχε η αναστολή του CYP2E1. Αντιθέτως, η αναστολή του κυτοχρώματος αυτού από τη μετρονιδαζόλη, την κοτριμοξαζόλη και την κινακρίνη, αποκτά ιδιαίτερη σημασία, δεδομένου ότι κανένα από τα φάρμακα αυτά δεν αναστέλλει την ηπατική ALDH2. Καθώς λοιπόν στις περιπτώσεις των τριών αυτών φαρμάκων δεν υπάρχει κάποιος μηχανισμός που να ερμηνεύει την «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» που προκαλούν, η αναστολή του CYP2E1, με την πιθανή άθροιση κάποιας ποσότητας ακεταλδεϋδης που ακολουθεί, θα μπορούσε, ίσως, να θεωρηθεί υπεύθυνη, σε κάποιο βαθμό, για τη συμπτωματολογία της δυσανεξίας στο οινόπνευμα που συνοδεύει τη λήψη τους.

Εκτός από τα φάρμακα που αναφέρθηκε ότι αναστέλλουν το CYP2E1, η κεφαμανδόλη, η ισονιαζίδη και η προπρανολόλη, βρέθηκε πως αυξάνουν τη δραστηριότητα του ενζύμου. Όσον αφορά την περίπτωση της ισονιαζίδης, και εφόσον το φάρμακο αυτό δεν επηρεάζει κανένα άλλο από τα ένζυμα μεταβολισμού της αιθανόλης (ADH, CAT), αναστέλλοντας παράλληλα την ηπατική ALDH2, φαίνεται πως η ευοδωτική του δράση στο CYP2E1 δεν θα έχει ιδιαίτερη επίδραση στο

μεταβολισμό της αιθανόλης και ως εκ τούτου δεν θα συμβάλλει, πιθανότατα, στη συμπτωματολογία της «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης» που προκαλεί. Ωστόσο, στην περίπτωση της κεφαμανδόλης τα πράγματα είναι διαφορετικά. Καθώς δηλαδή η κεφαλοσπορίνη αυτή επάγει την ADH, η επαγωγή και του CYP2E1 που προκαλεί, συμβάλλει ακόμη περισσότερο στον ταχύ μεταβολισμό της αιθανόλης προς ακεταλδεύδη, η οποία συσσωρεύεται λόγω της αναστολής της ALDH2 και εξηγεί έτσι, πιθανότατα, την εμφάνιση μιας «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης» αμέσως σχεδόν μετά την κατανάλωση οινοπνεύματος. Εξάλλου, η επαγωγή που προκαλεί η προπανολόλη στο CYP2E1, σε συνδυασμό με την ήπια αναστολή της ηπατικής ALDH2, εξηγεί, ενδεχομένως, τα χαμηλά επίπεδα ακεταλδεύδης που ανευρίσκονται στο πλάσμα κατά τη συγχορήγησή της με οινόπνευμα, δεδομένου του ρόλου του κυτοχρώματος αυτού στο μεταβολισμό, πέραν της αιθανόλης, και της ακεταλδεύδης (Guignepau et al., 1994).

Πέραν των δύο ενζυμικών συστημάτων που αναφέρθηκαν (ADH και CYP2E1), στον ηπατικό μεταβολισμό της αιθανόλης συμμετέχει, αν και σε πολύ μικρό ποσοστό (<2%), και η CAT (Tillonen, 2000; Lieber, 1988). Μελετώντας τις επιδράσεις των φαρμάκων που προκαλούν «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» στη δραστηριότητα της ηπατικής CAT, βρήκαμε πως μόνο η κεφαμανδόλη και η φουραζολιδόνη επηρεάζουν το ένζυμο αυτό, αυξάνοντας τη δραστηριότητά του. Καθώς η φουραζολιδόνη δεν επηρεάζει κανένα από τα άλλα ένζυμα μεταβολισμού της αιθανόλης (ADH και CYP2E1), ενώ προκαλεί έντονη αναστολή της ηπατικής ALDH2 και δεδομένης της ελάχιστης συμμετοχής της CAT στο μεταβολισμό της αιθανόλης, φαίνεται πως η ευοδωτική της δράση στο ένζυμο αυτό δεν σχετίζεται με τη δυσανεξία «τύπου δισουλφιράμης» που προκαλεί. Αντίθετα, όσον αφορά την κεφαμανδόλη τα δεδομένα είναι κάπως διαφορετικά, καθώς η κεφαλοσπορίνη αυτή, όπως είδαμε, επάγει όλα τα ηπατικά ένζυμα μεταβολισμού της αιθανόλης (ADH, CYP2E1 και CAT). Στην περίπτωση αυτή, δηλαδή, η επαγωγή της CAT και σε συνδυασμό με την επαγωγή της ADH και του CYP2E1, θα μπορούσε να προκαλέσει την ταχεία οξείδωση της αιθανόλης προς ακεταλδεύδη. Το γεγονός αυτό και παράλληλα με την αναστολή του μεταβολισμού της ακεταλδεύδης που προκαλεί η κεφαμανδόλη, οδηγεί πιθανότατα στη γρήγορη άθροιση τοξικών συγκεντρώσεων της αλδεύδης, εξηγώντας με τον τρόπο αυτό την ταχύτητα με την οποία εμφανίζεται η «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» στα άτομα που λαμβάνουν το αντιβιοτικό αυτό.

3. Βιογενείς μονοαμίνες και Κ.Ν.Σ.

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης, εξετάσαμε τις επιδράσεις των φαρμακευτικών παραγόντων που προκαλούν «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», στα επίπεδα των βιογενών μονοαμινών (NA, DA και 5-HT), καθώς και των μεταβολιτών τους (DOPAC, HVA και 5-HIAA), σε τέσσερις, ιδιαίτερα σημαντικές δομές του εγκεφάλου (υποθάλαμος, ραβδωτό σώμα, μεσεγκέφαλος και πρόσθιος φλοιός).

Ο υποθάλαμος, αποτελεί ένα μικρού μεγέθους, αλλά πολύ σημαντικό τμήμα του Κ.Ν.Σ., το οποίο ρυθμίζει τη λειτουργία του αυτόνομου νευρικού και του νευροενδοκρινικού συστήματος, ελέγχοντας έτσι έμμεσα την ομοιοστασία του οργανισμού. Πιο συγκεκριμένα, συμμετέχει στη θερμορρύθμιση, στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, στον έλεγχο της πρόσληψης νερού και τροφής, καθώς και στον καθορισμό της συναισθηματικής συμπεριφοράς του ατόμου. Επιπλέον, μέσω εκλυτικών ή ανασταλτικών παραγόντων, ρυθμίζει την έκκριση των ορμονών του πρόσθιου λοβού της υπόφυσης (Guyton & Hall, 2001).



Το ραβδωτό σώμα, ανήκει στα βασικά γάγγλια και πέραν της συμμετοχής του στη ρύθμιση του μυϊκού τόνου και της θέσης του σώματος, πιστεύεται πως έχει μία γενικότερη επίδραση στην κινητικότητα, που συνίσταται στον προγραμματισμό και ακολούθως στην αυτοματική και υποσυνείδητη εκτέλεση της αλληλουχίας των κινήσεων. Ταυτόχρονα, μέσω προβολών προς το τετράδυμο, τις περιοχές του μεσεγκεφάλου που σχετίζονται με την κινητικότητα, το δικτυωτό σχηματισμό και άλλα «κατώτερα κέντρα», ρυθμίζονται σύνθετες αντιδράσεις προσανατολισμού στο χώρο με τον έλεγχο των οφθαλμικών κινήσεων και των κινήσεων κεφαλής-τραχήλου, ενώ παράλληλα τίθεται το επίπεδο της εγρήγορσης και της γενικότερης κινητικής ετοιμότητας του ατόμου (Κονιτσιώτης, 1989).

Ο μεσεγκέφαλος, αποτελεί τμήμα του εγκεφαλικού στελέχους και συμμετέχει στη ρύθμιση των αντανακλαστικών κινήσεων των οφθαλμών και του κορμού ως απάντηση σε οπτικά ερεθίσματα που προέρχονται από το θάλαμο, καθώς και στη ρύθμιση των αντανακλαστικών κινήσεων της κεφαλής και του κορμού ως απάντηση σε ακουστικά ερεθίσματα που προέρχονται από πυρήνες της γέφυρας και του προμήκη μυελού. Επιπλέον, παίζει σημαντικό ρόλο στη μετάδοση των αισθητικών ερεθισμάτων, στη ρύθμιση της κινητικότητας, του μυϊκού τόνου και των αντανακλαστικών, καθώς και στις διαδικασίες του ύπνου, της εγρήγορσης και της προσοχής (<http://psych.unn.ac.uk/users/nick/BBBwspp08/tsld008.htm>; Τζόνσον, 2000).

Τέλος, ο πρόσθιος φλοιός αποτελεί το φλοιό του μετωπιαίου λοβού, όπου εντοπίζονται μία σειρά από φλοιώδη κέντρα, τα οποία επιτελούν σημαντικές λειτουργίες. Πιο συγκεκριμένα, η περιοχή αυτή του εγκεφάλου συμμετέχει στον έλεγχο των εκούσιων και ακούσιων κινήσεων του σώματος, στον έλεγχο των εκούσιων ανιχνευτικών κινήσεων των οφθαλμών, ενώ επίσης ελέγχει την κινητικότητα των σπλάγγχνων. Επιπλέον, στον πρόσθιο φλοιό βρίσκεται το κέντρο σχηματισμού των λέξεων (έλικα του Broca), καθώς και το συνειρμικό κέντρο που σχετίζεται με τη διαμόρφωση της προσωπικότητας του ατόμου και ιδιαίτερα με τη ρύθμιση του βάθους των συναισθημάτων. (Τζόνσον, 2000).

3.1 Δισουλφιράμη

Πέραν της ALDH, είναι γνωστό πως η δισουλφιράμη αναστέλει και τη DBH, η οποία είναι υπεύθυνη για τη μετατροπή της DA σε NA, με αποτέλεσμα να αυξάνει τα επίπεδα της DA και να μειώνει τα επίπεδα της NA, τόσο στο κεντρικό, όσο και στο περιφερικό νευρικό σύστημα. Η δράση αυτή της δισουλφιράμης στη DBH και οι μεταβολές που επέρχονται στα επίπεδα των κατεχολαμινών, έχουν θεωρηθεί από πολλούς ερευνητές ως η αιτία της υπότασης, καθώς και άλλων συμπτωμάτων που παρατηρούνται στα πλαίσια της «αντίδρασης δισουλφιράμης» (Kitson, 1977; Eneanya et al., 1981; Richie, 1985). Στην παρούσα μελέτη, επιβεβαιώσαμε τις επιδράσεις της δισουλφιράμης στις κατεχολαμίνες του Κ.Ν.Σ., καθώς δείξαμε πως οι δόσεις των 50, 75 και 100 mg/kg, μείωσαν τα επίπεδα της NA στον υποθάλαμο, ενώ η δόση των 100 mg/kg, έριξε τα επίπεδα της αμίνης και στο μεσεγκέφαλο. Άλλωστε, κατά τα αναμενόμενα, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της DA στο ραβδωτό σώμα και στο μεσεγκέφαλο από τις δόσεις των 50 και 75, καθώς και στον υποθάλαμο από τη δόση των 100 mg/kg.

Αναφορικά με τη δράση της δισουλφιράμης στο κεντρικό σεροτονινεργικό σύστημα, δείξαμε πως οι δόσεις των 50, 75 και 100 mg/kg, αύξησαν το ρυθμό ανακύκλωσης της 5-HT στο μεσεγκέφαλο και στον πρόσθιο φλοιό, καθώς και τα

επίπεδα του 5-HIAA στο μεσεγκέφαλο. Επιπλέον, αυξημένα βρέθηκαν τα επίπεδα του 5-HIAA στον πρόσθιο φλοιό από τις δόσεις των 75 και 100 mg/kg, ενώ όλες οι δόσεις της δισουλφιράμης στο ραβδωτό σώμα, καθώς επίσης και δόσεις των 75 και 100 mg/kg στον υποθάλαμο, αύξησαν τα επίπεδα της 5-HT, κατά τρόπο ωστόσο μη στατιστικά σημαντικό. Παρόμοιες αυξήσεις στα επίπεδα του 5-HIAA στον εγκέφαλο επιμυών μετά τη χορήγηση δισουλφιράμης, έχουν αναφερθεί και από άλλους ερευνητές και έχουν αποδοθεί στην πιθανή αναστολή του συστήματος μεταφοράς οξέων του εγκεφάλου από τη δισουλφιράμη (Nilsson & Tottmar, 1989; Fukumori et al., 1980). Παράλληλα, οι ίδιοι ερευνητές (Nilsson & Tottmar, 1989) έδειξαν πως η δισουλφιράμη μπορεί να αυξήσει, πέραν του 5-HIAA, και τα κεντρικά επίπεδα της 5-HT, με έναν μηχανισμό που φαίνεται να σχετίζεται με την επαγωγή της δραστηριότητας της υδροξυλάσης της τρυπτοφάνης, του ρυθμοπεριοριστικού δηλαδή ενζύμου της σύνθεσης της 5-HT. Όταν μάλιστα η δισουλφιράμη συγχωρηγείται με αιθανόλη, της οποίας η ευοδωτική δράση στα επίπεδα της 5-HT του εγκεφάλου είναι γνωστή (Yoshimoto et al., 1992; LeMarquand et al., 1994; McBride et al., 1993; Thielen et al., 2001), προκαλείται ακόμη μεγαλύτερη αύξηση στα επίπεδα της αμίνης από την αντίστοιχη που επέρχεται κατά τη μεμονωμένη χορήγηση της δισουλφιράμης ή της αιθυλικής αλκοόλης (Fukumori et al., 1980). Εξάλλου, η άθροιση της ακεταλδεϋδης που ακολουθεί την αναστολή της ALDH από τη δισουλφιράμη, είναι δυνατόν να οδηγήσει μέσω Piclet-Spengler συμπύκνωσής της με τις κατεχολαμίνες του Κ.Ν.Σ., στο σχηματισμό ενώσεων τετραυδρο-ισοκινολίνης (TIQ) (Cohen, 1977), οι οποίες αυξάνουν τα επίπεδα της DA και της 5-HT στον εγκέφαλο (Matsuyama et al., 1993), συμβάλλοντας έτσι και με αυτόν τον τρόπο στη σημαντική αύξηση των κεντρικών επιπέδων της 5-HT κατά τη συγχωρήγηση δισουλφιράμης και αιθανόλης.

Από τις επιδράσεις της δισουλφιράμης στο Κ.Ν.Σ., αξίζει να αναφερθούμε ιδιαίτερα στο νοραδρενεργικό και στο σεροτονινεργικό σύστημα. Είδαμε λοιπόν πως η χορήγηση του φαρμάκου μειώνει τα κεντρικά επίπεδα της NA, γεγονός που έχει συσχετισθεί με μία κατασταλτική δράση στο Κ.Ν.Σ. Δεδομένης δε της γνωστής κατασταλτικής δράσης του οινόπνευματος, μπορούμε να υποθέσουμε πως η κατανάλωσή του παράλληλα με τη δισουλφιράμη, θα οδηγήσει σε ακόμη μεγαλύτερη καταστολή, λόγω συνέργειας των δύο αυτών παραγόντων σε επίπεδο Κ.Ν.Σ. Καθώς μάλιστα η κλινική εικόνα της καταστολής του Κ.Ν.Σ. προσομοιάζει με τη συμπτωματολογία της «αντίδρασης δισουλφιράμης», φαίνεται πιθανό η πτώση αυτή των επιπέδων της NA που προκαλεί στον εγκέφαλο η δισουλφιράμη, να αποτελεί έναν εναλλακτικό μηχανισμό εξήγησης της δυσανεξίας στο οινόπνευμα, ανεξάρτητα από την αναστολή της ALDH. Εξάλλου, όπως προαναφέραμε, η συγχωρήγηση δισουλφιράμης και αιθανόλης οδηγεί σε σημαντικού βαθμού αύξηση της 5-HT στον εγκέφαλο, μέσω μιας σειράς μηχανισμών που είτε περιλαμβάνουν, είτε όχι την αναστολή της ALDH. Καθώς μάλιστα είναι γνωστός ο ρόλος που έχει αποδοθεί σε μια τέτοια αύξηση της 5-HT του Κ.Ν.Σ. στη συμπτωματολογία της «αντίδρασης δισουλφιράμης» (Snow et al., 1955; Kitson, 1977), θα μπορούσαμε να υποθέσουμε, πως εκτός από την αναστολή της ALDH ή και σαν αποτέλεσμα αυτής, η αύξηση των επιπέδων της 5-HT που προκαλείται από τη συγχωρήγηση δισουλφιράμης και αιθανόλης, φαίνεται να συμβάλλει σε κάποιο ποσοστό στην πρόκληση της «αντίδρασης δισουλφιράμης».



3.2 Χλωραμφαινικόλη

Αναφορικά με τις επιδράσεις του φαρμάκου αυτού στα συστήματα των κεντρικών μονοαμινών, δείξαμε πως δεν είχε καμία επίδραση στο νοραδρενεργικό σύστημα καμιάς από τις δομές του Κ.Ν.Σ. που εξετάστηκαν. Επίσης, ήπιες ήταν οι επιδράσεις του και στο ντοπαμινεργικό σύστημα, όπου μείωσε τα επίπεδα της DA στο ραβδωτό σώμα και του DOPAC στον πρόσθιο φλοιό και στο ραβδωτό σώμα. Μείωση παρατηρήθηκε επίσης και στη συγκέντρωση του HVA στο ραβδωτό σώμα, η οποία ωστόσο δεν έφτασε στο επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας. Η πτώση αυτή των επιπέδων των μεταβολιτών της DA, θα μπορούσε πιθανότατα να αποδοθεί στην ανασταλτική δράση της χλωραμφαινικόλης στην ALDH του Κ.Ν.Σ., η οποία ως γνωστόν συμμετέχει στον καταβολισμό της DA προς DOPAC και HVA.

Πέραν αυτών των μέτριας έντασης μεταβολών που προκάλεσε η χλωραμφαινικόλη στο κεντρικό ντοπαμινεργικό σύστημα, ιδιαίτερα χαρακτηριστική ήταν η αύξηση που προκάλεσε στα επίπεδα της 5-HT στο ραβδωτό σώμα και στο μεσεγκέφαλο, καθώς και η πτώση των επιπέδων του 5-HIAA και του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT στο ραβδωτό σώμα. Η δράση δε αυτή της χλωραμφαινικόλης, είναι σε ακολουθία με την ιδιότητά της ως αναστολέα της MAO, και μάλιστα της MAO-A, η οποία είναι υπεύθυνη για τον καταβολισμό της 5-HT (Banerjee & Basu, 1978; Turska et al., 1977). Επιπλέον, στην πτώση των επιπέδων του 5-HIAA, συμβάλλει προφανώς και η αναστολή της ALDH του εγκεφάλου, η οποία είναι υπεύθυνη για το μεταβολισμό της 5-υδροξυ-ινδολοακεταλδεΐδης (5-HIAL) προς 5-HIAA.

Δεδομένης της αύξησης της 5-HT που προκαλεί στον εγκέφαλο η οξεία κατανάλωση οιοπνεύματος (Yoshimoto et al., 1992; LeMarquand et al., 1994; McBride et al., 1993; Thielen et al., 2001), θα μπορούσαμε να υποθέσουμε πως η συγχορήγηση αιθανόλης και χλωραμφαινικόλης, θα οδηγούσε σε ακόμη μεγαλύτερη αύξηση των επιπέδων της αμίνης στο Κ.Ν.Σ., καθώς όπως δείξαμε και η ίδια η χλωραμφαινικόλη αυξάνει τα επίπεδα της 5-HT στον εγκέφαλο, πιθανώς λόγω αναστολής της MAO. Επιπλέον, και καθώς είναι γνωστή η ανασταλτική δράση του φαρμάκου στην ALDH, θα μπορούσε στην αύξηση αυτή των επιπέδων της 5-HT να συμβάλλει, όπως αναφέραμε και στην περίπτωση της δισουλφιράμης, και η άθροιση ακεταλδεΐδης στον εγκέφαλο που επέρχεται μετά την κατανάλωση οιοπνεύματος και η οποία θα οδηγήσει στην απελευθέρωση και αύξηση της 5-HT στο Κ.Ν.Σ. Καθώς έχει ήδη τονιστεί ο ρόλος των αυξημένων επιπέδων της 5-HT στον εγκέφαλο, στη συμπτωματολογία της «αντίδρασης δισουλφιράμης», φαίνεται πως η αύξηση αυτή των επιπέδων της 5-HT που προκαλεί η χλωραμφαινικόλη στο ραβδωτό σώμα και στο μεσεγκέφαλο, αποτελεί έναν ακόμη μηχανισμό, ξέχωρα ή και σε συνδυασμό με την αναστολή της ηπατικής ALDH2, που εξηγεί τη δυσανεξία στην αιθανόλη που προκαλεί το φάρμακο.

3.3 Μετρονιδαζόλη

Όσον αφορά τις επιδράσεις του αντιβιοτικού αυτού στις βιογενείς μονοαμίνες του Κ.Ν.Σ., δείξαμε πως αφήνει ανεπηρέαστο το κεντρικό νοραδρενεργικό σύστημα, ενώ μειώνει τα επίπεδα του DOPAC σε όλες τις δομές του εγκεφάλου που μελετήθηκαν και του HVA στο ραβδωτό σώμα και στο μεσεγκέφαλο, αποτελέσματα συμβατά με τη γνωστή ανασταλτική δράση της μετρονιδαζόλης στη δραστηριότητα



της MAO (Befani et al., 2001). Επιπλέον, μείωση σημειώθηκε και στο ρυθμό ανακύκλωσης της DA στο ραβδωτό σώμα.

Σχετικά με το σεροτονινεργικό σύστημα, τα αποτελέσματα ήταν πιο θεαματικά. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της 5-HT σε όλες τις δομές του εγκεφάλου που εξετάσαμε, με εξαίρεση τον πρόσθιο φλοιό, όπου η αύξηση δεν έφτασε το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας. Αντίθετα, σημειώθηκε πτώση στα επίπεδα του 5-HIAA στον υποθάλαμο, καθώς και στο ραβδωτό σώμα, όπου όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Τέλος, η χορήγηση του αντιβιοτικού μείωσε το ρυθμό ανακύκλωσης της 5-HT σε όλες τις δομές του εγκεφάλου που μελετήθηκαν. Η δράση αυτή της μετρονιδαζόλης στο κεντρικό σεροτονινεργικό σύστημα, θα μπορούσε πιθανότατα να αποδοθεί στην ανασταλτική δράση του φαρμάκου στη MAO A του εγκεφάλου, ένζυμο το οποίο όπως έχει αναφερθεί είναι υπεύθυνο για τη διάσπαση της 5-HT στον κύριο μεταβολίτη της (5-HIAA) (Befani et al., 2001).

Φαίνεται πως στην περίπτωση της μετρονιδαζόλης, η δυσανεξία που προκαλείται στο οινόπνευμα δεν θα μπορούσε να εξηγηθεί με την κλασική θεωρία της αναστολής της ALDH, καθώς το ένζυμο αυτό δεν αναστέλλεται από τη μετρονιδαζόλη. Από την άλλη πλευρά, έχουμε ήδη αναφέρει πως μια μεγάλη αύξηση της 5-HT στον εγκέφαλο προκαλεί συμπτώματα παρόμοια με τα αντίστοιχα της «αντίδρασης δισουλφιράμης». Στην παρούσα μελέτη, δείξαμε πως η μετρονιδαζόλη αυξάνει τα επίπεδα της 5-HT στον εγκέφαλο, χωρίς όμως να είναι ικανή από μόνη της, όπως φαίνεται από κλινικές παρατηρήσεις, να επιφέρει τα συμπτώματα εκείνα που παρατηρούνται στα πλαίσια μιας «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης». Στην περίπτωση, ωστόσο, που το αντιβιοτικό συγχωρηγείται με αιθανόλη, της οποίας η ιδιότητα να αυξάνει τη 5-HT στον εγκέφαλο είναι γνωστή, θα μπορούσαν τα επίπεδα της αμίνης να αυξηθούν σε τέτοιο βαθμό, ώστε να μπορούν να δικαιολογήσουν τη δυσανεξία στο οινόπνευμα που εμφανίζουν άτομα υπό αγωγή με μετρονιδαζόλη. Φαίνεται λοιπόν, πως στην «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» που αναφέρεται πως προκαλεί το αντιβιοτικό αυτό, ο ρόλος του κεντρικού μηχανισμού θα μπορούσε να αποδοθεί στην ιδιότητά του να αυξάνει τα επίπεδα της 5-HT στο Κ.Ν.Σ., πιθανότατα λόγω αναστολής της MAO A.

3.4 Κοτριμοξαζόλη

Σχετικά με τις επιδράσεις της κοτριμοξαζόλης στο Κ.Ν.Σ. και όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα της μελέτης μας, η χορήγηση του αντιβιοτικού επηρεάζει όλα τα συστήματα των κεντρικών μονοαμινών. Έτσι, σημειώθηκε μείωση στα επίπεδα των κατεχολαμινών (NA και DA) και του DOPAC στον υποθάλαμο, καθώς και μία μη στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων του HVA στον υποθάλαμο και στο ραβδωτό σώμα. Επιπλέον, αύξηση παρατηρήθηκε στα επίπεδα της 5-HT και του 5-HIAA στον υποθάλαμο, στο ραβδωτό σώμα και στο μεσεγκέφαλο. Ωστόσο, η αύξηση αυτή των επιπέδων της 5-HT, ήταν στατιστικά σημαντική μόνο στον υποθάλαμο. Τέλος, αύξηση σημειώθηκε και στο ρυθμό ανακύκλωσης της 5-HT στο μεσεγκέφαλο και στον πρόσθιο φλοιό.

Γνωρίζοντας τη μεταβολική οδό των κατεχολαμινών, φαίνεται πως η μείωση που σημειώθηκε στα επίπεδα της DA και των μεταβολιτών της, καθώς και στα επίπεδα της NA στο Κ.Ν.Σ., θα μπορούσε ενδεχομένως να αποδοθεί στη μειωμένη σύνθεση των αμινών αυτών, πιθανώς μέσω επίδρασης του φαρμάκου στη δραστηριότητα της υδροξυλάσης της τυροσίνης, που αποτελεί το ρυθμοπεριοριστικό

ένζυμο στη σύνθεση των κατεχολαμινών. Αναφορικά δε με την αύξηση των επιπέδων της 5-HT και του 5-HIAA που προκαλεί η κοτριμοξαζόλη, θα μπορούσαν να σχετίζονται με κάποια αύξηση στη σύνθεση της 5-HT, πιθανώς λόγω επιδράσεων του φαρμάκου στην υδροξυλάση της τρυπτοφάνης, που αποτελεί το ρυθμοπεριοριστικό ένζυμο στη σύνθεση της μονοαμίνης αυτής.

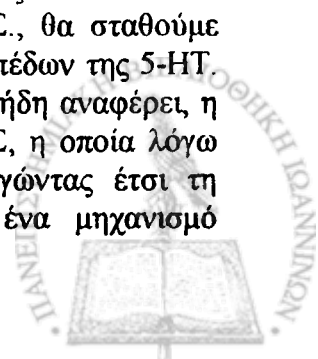
Τα δεδομένα αυτά, μας επιτρέπουν να θεωρήσουμε πως η συγχορήγηση κοτριμοξαζόλης και αιθανόλης, θα μπορούσε να έχει συνεργική δράση σε επίπεδο Κ.Ν.Σ., οδηγώντας έτσι σε μία αύξηση των επιπέδων της 5-HT, μεγαλύτερη από την αντίστοιχη που προκαλείται κατά τη μεμονωμένη χορήγηση καθενός από τους παράγοντες αυτούς. Επιπλέον, έχουμε ήδη αναφερθεί στην ομοιότητα των συμπτωμάτων που προκύπτουν από μία μεγάλη αύξηση στη 5-HT του εγκεφάλου και στα αντίστοιχα της «αντίδρασης δισουλφιράμης». Δεδομένης λοιπόν της μη αναστολής της ALDH από την κοτριμοξαζόλη, φαίνεται πως η αύξηση αυτή των επιπέδων της 5-HT που προκαλεί στον εγκέφαλο, θα μπορούσε να αποτελεί τον κύριο αιτιολογικό μηχανισμό της δυσανεξίας στο οινόπνευμα που επιφέρει. Εξάλλου, όπως έχει αναφερθεί και στην περίπτωση της δισουλφιράμης, η πτώση των επιπέδων της NA που προκαλεί στον εγκέφαλο η κοτριμοξαζόλη, πέραν της υποτασικής δράσης, θα έχει και μία γενικότερη κατασταλτική επίδραση στο Κ.Ν.Σ., η οποία θα επιταθεί προφανώς με τη συγχορήγηση αιθανόλης. Καθώς λοιπόν η κατασταλτική δράση του οινόπνευματος στο Κ.Ν.Σ. προσομοιάζει με τα συμπτώματα της «αντίδρασης δισουλφιράμης», θεωρούμε εύλογη τη συμμετοχή της πτώσης των κεντρικών επιπέδων της NA, στο μηχανισμό της «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης» που προκαλεί η κοτριμοξαζόλη.

3.5 Κεφαμανδόλη

Οι επιδράσεις της κεφαλοσπορίνης αυτής στο Κ.Ν.Σ. παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε πτώση των επιπέδων της NA, της DA και του ρυθμού ανακύκλωσης της DA στο ραβδωτό σώμα, καθώς επίσης και πτώση των επιπέδων του DOPAC και του HVA στο ραβδωτό σώμα και στο μεσεγκέφαλο. Οι μεταβολές αυτές, φαίνεται πως θα μπορούσαν να προέρχονται από μία μείωση στη σύνθεση των κατεχολαμινών, πιθανώς μέσω δράσης του φαρμάκου στην υδροξυλάση της τυροσίνης, ενώ και η αναστολή της ALDH, η οποία συμμετέχει στο σχηματισμό του DOPAC και του HVA, συμβάλλει στη μείωση των επιπέδων των μεταβολιτών αυτών.

Όσον αφορά το κεντρικό σεροτονινεργικό σύστημα, σημειώθηκε αύξηση των επιπέδων της 5-HT στο ραβδωτό σώμα, με παράλληλη μείωση των επιπέδων του 5-HIAA στον υποθάλαμο και στο ραβδωτό σώμα, καθώς και του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT στο ραβδωτό σώμα. Οι μεταβολές αυτές, είναι συμβατές με πιθανή αναστολή της MAO-A, η οποία όπως έχει αναφερθεί είναι υπεύθυνη για την οξειδωτική απαμίνωση της 5-HT, ενώ στην πτώση των επιπέδων του 5-HIAA φαίνεται να συμβάλλει και η αναστολή της ALDH που προκαλεί η κεφαμανδόλη, καθώς με τον τρόπο αυτό θα εμποδίζεται η μετατροπή της 5-HIAL προς 5-HIAA.

Αξιολογώντας τις επιδράσεις της κεφαμανδόλης στο Κ.Ν.Σ., θα σταθούμε κυρίως στην πτώση των επιπέδων της NA και στην αύξηση των επιπέδων της 5-HT. Σχετικά με το κεντρικό νοραδρενεργικό σύστημα, και όπως έχουμε ήδη αναφέρει, η πτώση των επιπέδων της NA, θα προκαλέσει καταστολή του Κ.Ν.Σ., η οποία λόγω συνέργειας θα επιταθεί με την κατανάλωση οινόπνευματος, εξηγώντας έτσι τη δυσανεξία που προκαλεί η κεφαμανδόλη στην αιθανόλη, με ένα μηχανισμό



ανεξάρτητο από την αναστολή της ALDH. Εξάλλου, και στην περίπτωση της κεφμανδόλης, η οποία αυξάνει τα κεντρικά επίπεδα της 5-HT, πιθανώς μέσω αναστολής της MAO A, η συγχορήγηση αιθανόλης θα μπορούσε να οδηγήσει σε ακόμη μεγαλύτερη αύξηση της συγκέντρωσης της αμίνης στο Κ.Ν.Σ., εξηγώντας έτσι τα συμπτώματα της «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης» που προκαλεί.

3.6 Γκριζεοφουλβίνη

Μελετώντας τις επιδράσεις της γκριζεοφουλβίνης στο Κ.Ν.Σ., είδαμε με μεγάλο ενδιαφέρον πως οι μεταβολές που προκάλεσε στις κατεχολαμίνες ήταν παρόμοιες με τις αντίστοιχες της δισουλφιράμης. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων της NA στον υποθάλαμο, στο μεσεγκέφαλο και στον πρόσθιο φλοιό, φτάνοντας ωστόσο τη στατιστική σημαντικότητα μόνο στο μεσεγκέφαλο. Επιπλέον, σημειώθηκε αύξηση των επιπέδων της DA στο ραβδωτό σώμα, με παράλληλη μείωση του ρυθμού ανακύκλωσης της DA στο μεσεγκέφαλο και στον πρόσθιο φλοιό, καθώς και των επιπέδων του HVA στο μεσεγκέφαλο. Γνωρίζοντας την ανασταλτική επίδραση της δισουλφιράμης στη DBH και με βάση τις προαναφερθείσες μεταβολές των κεντρικών κατεχολαμινών μετά τη χορήγηση της γκριζεοφουλβίνης, θα μπορούσαμε να αποδώσουμε τις μεταβολές αυτές σε πιθανή αναστολή της DBH από το φάρμακο. Επομένως, και κατ' αντιστοιχία με τη δισουλφιράμη, η πτώση των επιπέδων της NA στον εγκέφαλο από τη γκριζεοφουλβίνη, θα έχει κατασταλτική δράση στο Κ.Ν.Σ., η οποία θα επιταχίσει μετά την κατανάλωση οινοπνεύματος, εξηγώντας έτσι πιθανώς τη δυσανεξία στην αιθυλική αλκοόλη που προκαλεί το φάρμακο, παρά το ότι δεν αναστέλλει την ALDH.

Εξάλλου, η χορήγηση της γκριζεοφουλβίνης, αύξησε τα επίπεδα της 5-HT στον πρόσθιο φλοιό, καθώς και στον υποθάλαμο, όπου όμως δεν έφτασε το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων του 5-HIAA στο ραβδωτό σώμα, με παράλληλη πτώση του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT στον πρόσθιο φλοιό. Μία ενδεχόμενη αύξηση στη σύνθεση της 5-HT, λόγω αύξησης της δραστηριότητας της υδροξυλάσης της τρυπτοφάνης από τη γκριζεοφουλβίνη, θα μπορούσε να ερμηνεύσει τις μεταβολές αυτές στο κεντρικό σεροτονινεργικό σύστημα. Δεδομένης δε της αύξησης των επιπέδων της 5-HT που προκαλεί στον εγκέφαλο η οξεία χορήγηση της αιθυλικής αλκοόλης, θα μπορούσε σε ενδεχόμενη συγχορήγηση με τη γκριζεοφουλβίνη, να οδηγήσει σε ακόμη μεγαλύτερη αύξηση της αμίνης στο Κ.Ν.Σ., σε τέτοιο βαθμό, ώστε να μπορούν να εξηγηθούν τα συμπτώματα της «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης» που προκαλεί το φάρμακο. Συμπερασματικά, και εφόσον η γκριζεοφουλβίνη δεν επηρεάζει την ALDH, η πτώση της NA ή/και η αύξηση της 5-HT, θα μπορούσε να αποτελέσει το μηχανισμό εξήγησης της δυσανεξίας που επιφέρει η λήψη της στην κατανάλωση οινοπνεύματος.

3.7 Φουραζολιδόνη

Σχετικά με τη δράση της φουραζολιδόνης στο Κ.Ν.Σ., δείξαμε πως προκαλεί χαρακτηριστικές μεταβολές σε όλα τα συστήματα των κεντρικών βιογενών μονοαμινών. Συγκεκριμένα, αυξάνει τα επίπεδα της NA, της DA και της 5-HT, σε όλες τις δομές του εγκεφάλου που μελετήθηκαν, με εξαίρεση τον πρόσθιο φλοιό, όπου η NA παρέμεινε ανεπηρέαστη. Επιπλέον, μειώνει το ρυθμό ανακύκλωσης της DA και της 5-HT, καθώς και τα επίπεδα του DOPAC, του HVA και του 5-HIAA σε

όλες τις εξεταζόμενες δομές του Κ.Ν.Σ. Για να ερμηνεύσουμε τις μεταβολές αυτές, θα πρέπει να θυμήσουμε μία σημαντική ιδιότητα της φουραζολιδόνης, που σχετίζεται με τη σημαντικού βαθμού αναστολή της ΜΑΟ που προκαλεί (Planz et al., 1972; Palm et al., 1967), με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται ο καταβολισμός των βιογενών μονοαμινών, οι οποίες και συσσωρεύονται, ενώ κατά τα αναμενόμενα μειώνονται τα επίπεδα των μεταβολιτών τους. Επιπλέον, πρέπει να αναφέρουμε πως στη μείωση της συγκέντρωσης του DOPAC, του HVA και του 5-HIAA, συμβάλλει και η αναστολή της ALDH από τη φουραζολιδόνη, καθώς το εν λόγω ένζυμο συμμετέχει στο σχηματισμό των μεταβολιτών αυτών από τη DA και τη 5-HT.

Βλέπουμε λοιπόν, πως και στην περίπτωση αυτή, ένα φάρμακο που προκαλεί «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», αυξάνει τα κεντρικά επίπεδα της 5-HT, αύξηση η οποία θα επιταθεί προφανώς κατά τη συγχορήγηση αιθυλικής αλκοόλης. Επιπλέον, η ακεταλδεϋδη που θα συσσωρευτεί, λόγω αναστολής της ALDH, θα αυξήσει περαιτέρω τα επίπεδα της 5-HT, είτε άμεσα, είτε έμμεσα, μέσω συμπίκνωσής της με κατεχολαμίνες και σχηματισμό ενώσεων TIQ. Τελικά, θα επέλθει μία σημαντικού βαθμού αύξηση των επιπέδων της 5-HT στο Κ.Ν.Σ., η οποία όπως έχει αναφερθεί μπορεί να εξηγήσει τα συμπτώματα της αλληλεπίδρασης του φαρμάκου με την αιθανόλη. Φαίνεται συνεπώς, πως τα αυξημένα επίπεδα της 5-HT στον εγκέφαλο, είτε σε συνδυασμό με την αναστολή της ALDH, είτε όχι, θα μπορούσαν να αποτελέσουν τον κεντρικό μηχανισμό ερμηνείας της «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης» που προκαλεί η φουραζολιδόνη.

3.8 Κινακρίνη

Κατά τη χορήγηση της κινακρίνης, είδαμε πως επηρεάστηκαν όλα τα συστήματα των κεντρικών μονοαμινών. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε πτώση των επιπέδων των κατεχολαμινών σε όλες τις δομές του εγκεφάλου που μελετήθηκαν, πτώση η οποία ωστόσο ήταν στατιστικά σημαντική μόνο στον υποθάλαμο για τη NA και στον πρόσθιο φλοιό για τη DA. Επιπλέον, στον πρόσθιο φλοιό σημειώθηκε πτώση των επιπέδων του DOPAC. Οι μεταβολές αυτές, φαίνεται πως θα μπορούσαν να αποδοθούν σε κάποια ανασταλτική δράση της κινακρίνης στην υδροξυλάση της τυροσίνης, ένζυμο ρυθμιστικό της σύνθεσης των κατεχολαμινών, γεγονός που θα είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων των αμινών αυτών στο Κ.Ν.Σ.

Αναφορικά με το σεροτονινεργικό σύστημα, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της 5-HT σε όλες τις δομές του εγκεφάλου που εξετάστηκαν, με εξαίρεση το ραβδωτό σώμα, όπου η αύξηση δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Επίσης, σε όλες τις δομές σημειώθηκε πτώση του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT, ενώ βρέθηκαν μειωμένα τα επίπεδα του 5-HIAA στον υποθάλαμο, στο ραβδωτό σώμα και στον πρόσθιο φλοιό, μείωση ωστόσο που ήταν στατιστικά σημαντική μόνο στο ραβδωτό σώμα. Η επίδραση αυτή της κινακρίνης στο κεντρικό σεροτονινεργικό σύστημα, είναι σε ακολουθία με τη δράση της ως αναστολέα της ΜΑΟ-A, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση της 5-HT και την ταυτόχρονη μείωση της σύνθεσης του μεταβολίτη της 5-HIAA (<http://www.emdbiosciences.com/docs/PDS/551850-000.pdf>).

Αξιολογώντας τις επιδράσεις της κινακρίνης στο Κ.Ν.Σ., και προσπαθώντας να εντοπίσουμε κάποια συσχέτιση μεταξύ αυτών και της δυσανεξίας που προκαλεί στο οινόπνευμα, θα σταθούμε κυρίως στην πτώση των επιπέδων της NA και στην αύξηση των επιπέδων της 5-HT που προκαλεί. Έχουμε ήδη αναφέρει την κατασταλτική δράση που ασκούν στο Κ.Ν.Σ. τα μειωμένα επίπεδα της NA, επίπεδα

τα οποία μειώνονται ακόμη περισσότερο με την κατανάλωση της αιθανόλης, η οποία άλλωστε είναι γνωστό κατασταλτικό του Κ.Ν.Σ. Εξάλλου, καθώς η αιθανόλη αυξάνει τα κεντρικά επίπεδα της 5-HT, θα μπορούσαμε να υποθέσουμε πως σε περίπτωση συγχωρήγησής της με την κινακρίνη, θα προκύψει μία σημαντικού βαθμού αύξηση της αμίνης στον εγκέφαλο. Δεδομένης της συσχέτισης μεταξύ των μειωμένων επιπέδων της NA ή των αυξημένων επιπέδων της 5-HT στον εγκέφαλο και της συμπτωματολογίας της «αντίδρασης δυσουλφιράμης», καθώς και του ότι η κινακρίνη αφήνει ανεπηρέαστη την ηπατική ALDH2, θα μπορούσαμε να υποστηρίξουμε πως κάποια από αυτές τις επιδράσεις του φαρμάκου στο Κ.Ν.Σ. ή και ο συνδυασμός τους, αποτελεί την αιτία της «αντίδρασης τύπου δυσουλφιράμης» που προκαλεί η κινακρίνη.

3.9 Ισονιαζίδη

Για το πρωτεύον αυτό αντιφυματικό φάρμακο, δείξαμε πως μειώνει τα επίπεδα της NA στον υποθάλαμο και στον πρόσθιο φλοιό, καθώς και τα επίπεδα της DA στον υποθάλαμο και στο ραβδωτό σώμα. Ωστόσο, από τις μεταβολές αυτές, μόνο η πτώση της NA στον πρόσθιο φλοιό ήταν στατιστικά σημαντική. Επιπλέον, μείωση παρατηρήθηκε στο ρυθμό ανακύκλωσης της DA, καθώς και στα επίπεδα του DOPAC και του HVA στον υποθάλαμο. Οι επιδράσεις αυτές της ισονιαζίδης στις κατεχολαμίνες του Κ.Ν.Σ., θα μπορούσαν, ενδεχομένως, να αποδοθούν σε κάποια μείωση της δραστηριότητας του ρυθμοπεριοριστικού ενζύμου της σύνθεσης των αμινών αυτών, δηλαδή της υδροξυλάσης της τυροσίνης, γεγονός που θα εξηγούσε τις μεταβολές που προαναφέραμε.

Η χορήγηση της ισονιαζίδης, επηρέασε και το σεροτονινεργικό σύστημα, αυξάνοντας τα επίπεδα του 5-HIAA, καθώς και το ρυθμό ανακύκλωσης της 5-HT στο μεσεγκέφαλο. Αντίστοιχες μεταβολές, παρατηρήθηκαν και στο ραβδωτό σώμα, χωρίς ωστόσο να φτάσουν το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας, ενώ μία μη στατιστικώς σημαντική αύξηση στα επίπεδα του 5-HIAA σημειώθηκε και στον πρόσθιο φλοιό. Οι επιδράσεις αυτές της ισονιαζίδης στο 5-HIAA, είναι παρόμοιες με τις αντίστοιχες της δυσουλφιράμης, οι οποίες όπως έχει προαναφερθεί, αποδίδονται στην αναστολή του συστήματος της μεταφοράς οξέων του εγκεφάλου. Στο μηχανισμό αυτό, θα μπορούσαν να αποδοθούν και οι δράσεις της ισονιαζίδης στο κεντρικό σεροτονινεργικό σύστημα, όπου αυξάνει τα επίπεδα του 5-HIAA, αφήνοντας ανεπηρέαστα τα επίπεδα της 5-HT.

Συμπερασματικά, και προσπαθώντας να ερμηνεύσουμε την «αντίδραση τύπου δυσουλφιράμης» που προκαλεί η ισονιαζίδη με βάση τις επιδράσεις της στις μονοαμίνες του Κ.Ν.Σ., αξίζει να επικεντρωθούμε στο νοραδρενεργικό και στο σεροτονινεργικό σύστημα. Έτσι, το γεγονός ότι η ισονιαζίδη μειώνει τα κεντρικά επίπεδα της NA, προκαλώντας συνεπώς κάποιου βαθμού καταστολή του Κ.Ν.Σ., σε συνδυασμό με τη γνωστή κεντρική κατασταλτική δράση της αιθανόλης, καθώς και τη συσχέτιση μεταξύ μιας έντονης τέτοιας καταστολής του Κ.Ν.Σ. και της συμπτωματολογίας της «αντίδρασης δυσουλφιράμης», μας επιτρέπει να προτείνουμε τη συμμετοχή της πτώσης αυτής της NA στον εγκέφαλο, στην «αντίδραση τύπου δυσουλφιράμης» που προκαλεί η ισονιαζίδη. Η συγχωρήγηση δηλαδή της ισονιαζίδης με αλκοολούχα ποτά, θα μπορούσε να προκαλέσει μια συνεργική έντονη κατασταλτική δράση στο Κ.Ν.Σ., που θα οδηγήσει στην εκδήλωση μιας «αντίδρασης τύπου δυσουλφιράμης», ανεξάρτητα από την αναστολή της ALDH. Εξάλλου, και παρά το γεγονός ότι από τα πειράματα της μελέτης μας δεν φάνηκε να επηρεάζονται

τα κεντρικά επίπεδα της 5-HT από την ισονιαζίδη, είναι γνωστό πως το φάρμακο αυτό ασκεί ασθενή ανασταλτική δράση στη δραστηριότητα της MAO (Self et al., 1999; DiMartini, 1995; Udura, 1995) και συνεπώς κάποια μεγαλύτερη δοσολογία ή η μακροχρόνια χορήγησή της στα πλαίσια της αντιφυματικής αγωγής, θα μπορούσε ίσως να προκαλέσει μια πιο ισχυρή αναστολή του εν λόγω ενζύμου, οδηγώντας τελικά σε αύξηση των επιπέδων της 5-HT στο Κ.Ν.Σ. Επιπλέον, η αναστολή της ALDH από την ισονιαζίδη, θα έχει ως αποτέλεσμα την άθροιση ακεταλδεϋδης μετά την κατανάλωση οινόπνευματος και συνεπώς την περαιτέρω, μέσω της δράσης της ακεταλδεϋδης, αύξηση των κεντρικών επιπέδων της 5-HT. Δεδομένης δε της αύξησης της 5-HT που προκαλεί στον εγκέφαλο η αιθανόλη, η συγχορήγησή της με την ισονιαζίδη θα μπορούσε να οδηγήσει σε ακόμη μεγαλύτερη αύξηση των επιπέδων της αμίνης στο Κ.Ν.Σ. Συμπερασματικά και καθώς έχουμε ήδη αναφέρει τον πιθανό ρόλο μιας τέτοιας αύξησης της 5-HT στο Κ.Ν.Σ. στην εκδήλωση της «αντίδρασης δισουλφιράμης», θα μπορούσαμε ενδεχομένως να αποδώσουμε στα αυξημένα επίπεδα της 5-HT στον εγκέφαλο τη δυσανεξία «τύπου δισουλφιράμης» που προκαλεί η ισονιαζίδη στην αιθανόλη, που είτε θα σχετίζεται, είτε όχι με την αναστολή της ALDH.

3.10 Χλωροπροπαμίδη

Οι επιδράσεις της χλωροπροπαμίδης στις βιογενείς μονοαμίνες του εγκεφάλου, φαίνεται να αφορούν κυρίως το σεροτονινεργικό σύστημα. Έτσι, πέρα από τη μείωση των επιπέδων του DOPAC στο ραβδωτό σώμα, στο μεσεγκέφαλο και στον πρόσθιο φλοιό, καθώς και την πτώση του ρυθμού ανακύκλωσης της DA στον πρόσθιο φλοιό, δεν παρατηρήθηκαν άλλες μεταβολές στις κατεχολαμίνες του Κ.Ν.Σ. Αντίθετα, σε όλες τις δομές του εγκεφάλου που μελετήθηκαν, σημειώθηκε αύξηση των επιπέδων του 5-HIAA, καθώς και του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT, με εξαίρεση τον πρόσθιο φλοιό και το ραβδωτό σώμα, αντίστοιχα, όπου τα παραπάνω μεγέθη παρέμειναν ανεπηρέαστα.

Αξιολογώντας τα αποτελέσματα αυτά, βλέπουμε πως όπως και με την ισονιαζίδη, έτσι και στην περίπτωση της χλωροπροπαμίδης, οι επιδράσεις της στα κεντρικά επίπεδα του 5-HIAA είναι παρόμοιες με τις αντίστοιχες της δισουλφιράμης. Κατά αντιστοιχία μάλιστα με αυτήν, μία πιθανή αναστολή του συστήματος μεταφοράς οξέων του εγκεφάλου, από το αντιδιαβητικό αυτό φάρμακο, θα μπορούσε να εξηγήσει τα αυξημένα επίπεδα του 5-HIAA που βρέθηκαν στον εγκέφαλο. Ωστόσο, στην περίπτωση της χλωροπροπαμίδης και αντίθετα από ό,τι συμβαίνει με τη δισουλφιράμη και την ισονιαζίδη, δεν είναι εμφανής κάποιος μηχανισμός που θα μπορούσε να οδηγήσει σε αύξηση των επιπέδων της 5-HT στο Κ.Ν.Σ., η οποία μάλιστα θα επιτεινόταν με τη συγχορήγηση αιθανόλης και θα εξηγούσε έτσι ίσως τη δυσανεξία που προκαλεί στο οινόπνευμα η χλωροπροπαμίδη. Εξάλλου, καθώς υπάρχει αυτή η δυσαναλογία μεταξύ της ισχυρής αναστολής της ηπατικής ALDH2 και της ήπιας «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης», που προκαλεί η χλωροπροπαμίδη, φαίνεται να απομακρύνεται και η άποψη περί κεντρικού ρόλου της αναστολής του ενζύμου στην αντίδραση αυτή. Άλλωστε, περισσότερο έδαφος φαίνεται πως κερδίζει η άποψη των Leslie και Pyke (Leslie & Pyke, 1978), οι οποίοι υποστηρίζουν πως η χλωροπροπαμίδη δεν προκαλεί μία γνήσια «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», αλλά ότι τα συμπτώματα που προκύπτουν από την αλληλεπίδρασή της με το οινόπνευμα, οφείλονται σε μία κληρονομούμενη ιδιότητα των διαβητικών με μη-ινσουλινοεξερτώμενο, ως επί το πλείστον, σακχαρώδη διαβήτη, που σχετίζεται με

αυξημένη ευαισθησία των ασθενών αυτών στα ενδογενή οπιοειδή (Leslie et al., 1979). Το γεγονός αυτό μάλιστα, φαίνεται να εξασθενίζει γενικότερα το ρόλο της αναστολής της ηπατικής ALDH2 στην «αντίδραση δισουλφιράμης», τονίζοντας την ανάγκη για την ανεύρεση ενός εναλλακτικού μηχανισμού, που θα εξηγήει καλύτερα τη δυσανεξία που προκαλεί στο οινόπνευμα η δισουλφιράμη, καθώς και οι υπόλοιποι φαρμακευτικοί παράγοντες.

3.11 Προκαρβαζίνη

Η χορήγηση της προκαρβαζίνης επηρέασε όλα τα συστήματα των βιογενών μονοαμινών του εγκεφάλου, κατά τέτοιον τρόπο, ώστε οι μεταβολές που επέφερε να μπορούν να αποδοθούν στη γνωστή ανασταλτική της δράση στη MAO (Calabresi & Parks, 1985). Σημειώθηκε αύξηση στα επίπεδα της NA και της DA στο μεσεγκέφαλο και στον πρόσθιο φλοιό, αντίστοιχα, ενώ ο ρυθμός ανακύκλωσης της DA βρέθηκε μειωμένος σε όλες τις δομές του εγκεφάλου που εξετάστηκαν. Επιπλέον, μείωση σημειώθηκε στα επίπεδα του DOPAC στον υποθάλαμο, στο ραβδωτό σώμα και στο μεσεγκέφαλο, καθώς και στα επίπεδα του HVA στο ραβδωτό σώμα και στο μεσεγκέφαλο. Η αύξηση αυτή στα επίπεδα των κατεχολαμινών του Κ.Ν.Σ., με την ταυτόχρονη μείωση των επιπέδων των μεταβολιτών της DA, μπορεί να αποδοθεί, όπως προαναφέρθηκε, στην αναστολή της MAO, η οποία είναι υπεύθυνη για τη διάσπαση των αμινών αυτών προς τους αντίστοιχους μεταβολίτες τους. Εξάλλου, στη μείωση των επιπέδων του DOPAC και του HVA, συμβάλλει και η αναστολή της ALDH από την προκαρβαζίνη, καθώς το ένζυμο αυτό οξειδώνει τα ενδιάμεσα προϊόντα διάσπασης της DA προς τους εν λόγω μεταβολίτες.

Σχετικά με το κεντρικό σεροτονινεργικό σύστημα, η προκαρβαζίνη μείωσε το ρυθμό ανακύκλωσης της 5-HT, καθώς και τα επίπεδα του 5-HIAA, σε όλες τις δομές του εγκεφάλου που μελετήθηκαν. Ωστόσο, η πτώση αυτή των επιπέδων του μεταβολίτη της 5-HT, ήταν στατιστικά σημαντική μόνο στο ραβδωτό σώμα. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της 5-HT σε όλες τις εξεταζόμενες δομές του Κ.Ν.Σ., με εξαίρεση τον πρόσθιο φλοιό, όπου η αύξηση των επιπέδων της αμίνης δεν έφτασε το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας. Η αναστολή της MAO, η οποία απαμινώνει οξειδωτικά τη 5-HT προς 5-HIAL, καθώς και της ALDH, η οποία οξειδώνει την 5-HIAL προς 5-HIAA, φαίνεται να σχετίζονται με τις μεταβολές αυτές που παρατηρήθηκαν στα επίπεδα της 5-HT και του 5-HIAA, αντίστοιχα, μετά τη χορήγηση της προκαρβαζίνης.

Όπως αναφέραμε και στις περιπτώσεις των άλλων φαρμάκων που με κάποιον τρόπο αυξάνουν τη 5-HT στον εγκέφαλο, έτσι και με την προκαρβαζίνη, θα μπορούσαμε να συνδέσουμε την «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» που προκαλεί, με την ευοδωτική της επίδραση στα επίπεδα της 5-HT του Κ.Ν.Σ. Καθώς έχουμε ήδη αναφέρει ότι η κατανάλωση οινόπνευματος αυξάνει τη 5-HT στον εγκέφαλο, φαίνεται πιθανό η συγχορήγησή της με την προκαρβαζίνη να οδηγεί σε σημαντικού βαθμού αύξηση της αμίνης στο Κ.Ν.Σ., γεγονός στο οποίο, προφανώς, θα συμβάλλει και η άθροιση της ακεταλδεϋδης στον εγκέφαλο που θα επέλθει κατά τη συγχορήγηση αυτή, λόγω της αναστολής της ALDH από την προκαρβαζίνη. Δεδομένου δε, πως τέτοιες μεγάλες αυξήσεις της 5-HT σχετίζονται με τη συμπτωματολογία της «αντίδρασης δισουλφιράμης», μπορούμε να υποστηρίξουμε πως εκτός από την αναστολή της ALDH ή και σε συνδυασμό με αυτή, η δυσανεξία που προκαλείται στο οινόπνευμα από τη λήψη της προκαρβαζίνης, οφείλεται πιθανότατα και στην ευοδωτική της δράση στα κεντρικά επίπεδα της 5-HT.

3.12 Προπρανολόλη

Όσον αφορά τις επιδράσεις της προπρανολόλης στο Κ.Ν.Σ., δείξαμε πως αφήνει ανεπηρέαστο το νοραδρενεργικό σύστημα, ενώ μικρές ήταν και οι μεταβολές που επέφερε στο ντοπαμινεργικό σύστημα, όπου μείωσε τα επίπεδα του DOPAC στον υποθάλαμο και στο μεσεγκέφαλο, καθώς και τα επίπεδα του HVA στον υποθάλαμο και στο ραβδωτό σώμα. Επιπλέον, μείωση σημειώθηκε στο ρυθμό ανακύκλωσης της DA στον υποθάλαμο και στο ραβδωτό σώμα. Οι πτώσεις αυτές που παρατηρήθηκαν στα επίπεδα των μεταβολιτών της DA, θα μπορούσαν να αποδοθούν στην αναστολή της ALDH του εγκεφάλου από την προπρανολόλη, καθώς το ένζυμο αυτό συμμετέχει στην οξείδωση των ενδιάμεσων προϊόντων του μεταβολισμού της DA προς τους τελικούς αυτούς μεταβολίτες της.

Αντίθετα από τις ήπιες μεταβολές που παρατηρήθηκαν στις κατεχολαμίνες του Κ.Ν.Σ. από τη χορήγηση της προπρανολόλης, ιδιαίτερα σημαντικές ήταν οι επιδράσεις της στο κεντρικό σεροτονινεργικό σύστημα. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της 5-HT στον υποθάλαμο και στο μεσεγκέφαλο, με παράλληλη μείωση των επιπέδων του 5-HIAA στο ραβδωτό σώμα και στο μεσεγκέφαλο, καθώς και του ρυθμού ανακύκλωσης της 5-HT σε όλες τις δομές του εγκεφάλου που μελετήθηκαν. Οι μεταβολές αυτές, φαίνεται να σχετίζονται με κάποια αναστολή του καταβολισμού της 5-HT, πιθανώς λόγω ανασταλτικής δράσης της προπρανολόλης στη MAO A του εγκεφάλου, η οποία είναι υπεύθυνη για την οξειδωτική απαμίνωση της 5-HT προς 5-HIAL. Εξάλλου, στη μείωση των επιπέδων του 5-HIAA συμβάλλει, ενδεχομένως, και η ήπια αναστολή της ALDH που προκαλεί το φάρμακο, καθώς το ένζυμο αυτό είναι επιφορτισμένο με την οξείδωση της 5-HIAL προς 5-HIAA.

Τα πειραματικά μας δεδομένα, σχετικά με την προπρανολόλη, δείχνουν πως το φάρμακο αυτό προκαλεί μια ήπια αναστολή της ηπατικής ALDH2. Παράλληλα, είναι γνωστό πως σε συνδυασμό με οινόπνευμα, η προπρανολόλη προκαλεί «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», χωρίς ωστόσο τα επίπεδα της ακεταλδεϋδης στο αίμα να αυξάνονται σημαντικά (Guivernau et al., 1994). Φαίνεται λοιπόν, πως στην περίπτωση της δυσανεξίας στο οινόπνευμα που προκαλεί η προπρανολόλη, είναι πιθανό να υπεισέρχεται και κάποιος μηχανισμός ανεξάρτητος από την αναστολή της ALDH. Άλλωστε, δείξαμε πως ο β αυτός αναστολέας, προκαλεί μια σημαντική αύξηση των επιπέδων της 5-HT στο Κ.Ν.Σ., αύξηση η οποία όπως έχουμε αναφέρει μπορεί να επιταθεί με την ταυτόχρονη κατανάλωση οινοπνεύματος. Καθώς δε, έχει τονιστεί η ενδεχόμενη σχέση μεταξύ μιας σημαντικής αύξησης της 5-HT στον εγκέφαλο και της συμπτωματολογίας της «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης», φαίνεται πιθανό, ο μηχανισμός της «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης» που προκαλεί η προπρανολόλη, να αφορά μάλλον την αύξηση της 5-HT στο Κ.Ν.Σ. που προκαλεί το φάρμακο, παρά την αναστολή της ALDH.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης, και προκειμένου να διερευνήσουμε το μηχανισμό με τον οποίο μια σειρά φαρμακευτικών ουσιών προκαλούν «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», καθώς και το μηχανισμό της ίδιας της «αντίδρασης δισουλφιράμης», μελετήσαμε τις επιδράσεις των ουσιών αυτών σε συγκεκριμένες βιοχημικές και νευροφαρμακολογικές παραμέτρους του επίμυος (τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα των πειραμάτων φαίνονται στον Πίνακα 29).

Τα σημαντικότερα συμπεράσματα στα οποία θα πρέπει να εντοπίσουμε το ενδιαφέρον μας είναι τα εξής:

1) Η δισουλφιράμη, η φουραζολιδόνη, η χλωροπροπαμίδη, η χλωραμφαινικόλη, η προκαρβαζίνη, η κεφαμανδόλη και η ισονιαζίδη, αναστέλλουν την ηπατική ALDH2. Αντίθετα, η μετρονιδαζόλη, η κοτριμοξαζόλη, η γκριζεοφουλβίνη και η κινακρίνη, δεν έχουν καμία επίδραση στη δραστικότητα του ενζύμου, ενώ η προπρανολόλη προκαλεί μία ήπια αναστολή του.

2) Η δισουλφιράμη αναστέλλει το CYP2E1, μειώνει τα κεντρικά επίπεδα της ΝΑ και αυξάνει-κατά μη στατιστικά σημαντικό ωστόσο τρόπο- τα κεντρικά επίπεδα της 5-HT, επιδράσεις στις οποίες θα μπορούσε να αποδοθεί η συμπτωματολογία της «αντίδρασης δισουλφιράμης», ανεξάρτητα από την αναστολή της ηπατικής ALDH2.

3) Η φουραζολιδόνη, η χλωραμφαινικόλη και η προκαρβαζίνη, αυξάνουν τα κεντρικά επίπεδα της 5-HT, προσφέροντας έτσι έναν ακόμη μηχανισμό εξήγησης της «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης» που προκαλούν, ξέχωρα από την ανασταλτική τους δράση στην ηπατική ALDH2.

4) Η κεφαμανδόλη επάγει όλα τα ένζυμα μεταβολισμού της αιθανόλης προς ακεταλδεύδη, εξηγώντας έτσι πιθανότατα, και σε συνδυασμό με την αναστολή της ηπατικής ALDH2, την ταχύτατη εκδήλωση μιας «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης» που προκαλεί. Επιπλέον, πέραν της αναστολής της ηπατικής ALDH2, η μείωση των επιπέδων της ΝΑ και η αύξηση των επιπέδων της 5-HT που επιφέρει στο Κ.Ν.Σ., αποτελούν δύο εναλλακτικούς μηχανισμούς εξήγησης της αντίδρασης αυτής.

5) Η ισονιαζίδη μειώνει τα κεντρικά επίπεδα της ΝΑ, αυξάνοντας δυνητικά-ενδεχομένως μέσω επίτασης, κατά την πολύμηνη αντιφυματική αγωγή, της γνωστής ασθενούς ανασταλτικής της δράση στη ΜΑΟ του Κ.Ν.Σ.- τα αντίστοιχα επίπεδα της 5-HT, επιδράσεις οι οποίες θα μπορούσαν να ενέχονται στην «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» που προκαλεί, ανεξάρτητα από την ανασταλτική της δράση στην ηπατική ALDH2.

6) Η χλωροπροπαμίδη δεν έχει καμία επίδραση στα επίπεδα των βιογενών μονοαμινών του Κ.Ν.Σ., ενώ ασκεί μία ισχυρή ανασταλτική δράση στην ηπατική ALDH2, προκαλώντας ωστόσο, όπως γνωρίζουμε από τη βιβλιογραφία, κάποιου τύπου δυσανεξία στο οινόπνευμα με πολύ ήπια και δυσανάλογη της έντονης αναστολής της ALDH2 κλινική εικόνα. Σύμφωνα λοιπόν με τα δεδομένα αυτά, δεν τίθεται σε αμφισβήτηση μόνον η ικανότητα της χλωροπροπαμίδης να προκαλέσει μία «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», αλλά και η γενικότερη συμμετοχή της αναστολής της ALDH2 στην ίδια την «αντίδραση δισουλφιράμης».



7) Η μετρονιδαζόλη αναστέλλει την ADH και το CYP2E1, ενώ παράλληλα αυξάνει τα κεντρικά επίπεδα της 5-HT, δράσεις οι οποίες μεμονωμένα ή και σε συνδυασμό, θα μπορούσαν να ερμηνεύσουν την «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» που προκαλεί.

8) Η κοτριμοξαζόλη και η κιν ακρίνη ασκούν ανασταλτική επίδραση στο CYP2E1, ενώ επιπλέον μειώνουν τα επίπεδα της NA και αυξάνουν τα επίπεδα της 5-HT στο Κ.Ν.Σ., δικαιολογώντας έτσι την «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» που μπορούν να προκαλέσουν.

9) Η γκριζεοφουλβίνη μειώνει τα κεντρικά επίπεδα της NA, αυξάνοντας παράλληλα τα αντίστοιχα επίπεδα της 5-HT, γεγονός που μας επιτρέπει να τοποθετήσουμε τη βάση της «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης» που προκαλεί σε επίπεδο Κ.Ν.Σ.

10) Η προπρανολόλη αυξάνει τα επίπεδα της 5-HT στο Κ.Ν.Σ., δράση στην οποία θα μπορούσε να αποδοθεί αποκλειστικά ή/και σε συνδυασμό με την ήπια αναστολή της ηπατικής low-Km ALDH2 που προκαλεί, η «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» που μπορεί να επιφέρει.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, μπορούμε να υποστηρίξουμε πως η «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», αποτελεί μία πολυπαραγοντική αντίδραση, οι κλινικές εκδηλώσεις της οποίας είναι το αποτέλεσμα μίας σειράς φαρμακολογικών και βιοχημικών αλληλεπιδράσεων, τόσο στο ήπαρ, όσο και στο Κ.Ν.Σ., της αιθυλικής αλκοόλης με τους φαρμακευτικούς παράγοντες που μελετήσαμε. Πιστεύουμε μάλιστα, πως έναντι του όρου «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», ο όρος «φαρμακευτική δυσανεξία στην αιθυλική αλκοόλη» είναι προτιμότερος, καθώς είναι γενικότερος και περιλαμβάνει όλο το φάσμα των υποκείμενων μηχανισμών. Με βάση δε τα αποτελέσματα της μελέτης μας, δικαιούμαστε να υποστηρίξουμε, και σε αντίθεση με τα μέχρι σήμερα βιβλιογραφικά δεδομένα, πως κεντρικό μηχανισμό της «φαρμακευτικής δυσανεξίας στην αιθυλική αλκοόλη», αποτελεί κυρίως η αύξηση των κεντρικών επιπέδων της 5-HT, που προκαλούν με κάποιον τρόπο όλα τα φάρμακα αυτά-πλην της χλωροπροπαμίδης-, παρά η αναστολή της ALDH2, η οποία, ούτως ή άλλως, δεν παρατηρείται σε όλες τις περιπτώσεις των φαρμακευτικών παραγόντων που εξετάστηκαν.

Εξάλλου, και για την ίδια την «αντίδραση δισουλφιράμης», δείξαμε πως πέραν της αναστολής της ALDH2, υπάρχουν μηχανισμοί που μπορούν να ερμηνεύσουν, εν μέρη ή και καθολοκληρίαν, τη συμπτωματολογία που παρατηρείται στα πλαίσια της αντίδρασης αυτής. Φαίνεται δηλαδή, πως ο ρόλος της αναστολής της ALDH2, ακόμη και στην «αντίδραση δισουλφιράμης» έχει ενδεχομένως υπερεκτιμηθεί. Αν θέλαμε μάλιστα να εντοπίσουμε έναν κοινό μηχανισμό που να εξηγεί, τόσο την «αντίδραση δισουλφιράμης», όσο και τη γενικότερη «φαρμακευτική δυσανεξία στην αιθυλική αλκοόλη», αυτός θα ήταν η αύξηση της 5-HT στο Κ.Ν.Σ., που προκαλείται, τόσο από τη δισουλφιράμη (έστω και κατά μη στατιστικά σημαντικό τρόπο), όσο και από όλα τα άλλα φάρμακα που μελετήσαμε, πλην της χλωροπροπαμίδης, της οποίας άλλωστε τα συμπτώματα που προκύπτουν από την αλληλεπίδραση με το οινόπνευμα, οφείλονται κυρίως σε μία κληρονομούμενη ιδιότητα των διαβητικών που σχετίζεται με αυξημένη ευαισθησία στα ενδογενή οπιοειδή.



Πίνακας 29. Επιδράσεις των υπό μελέτη φαρμάκων, στη δραστητικότητα των ηπατικών ενζύμων μεταβολισμού της αιθανόλης, καθώς και στα επίπεδα των βιογενών μονοαμινών του Κ.Ν.Σ. και το ρυθμό ανακύκλωσής τους (turn over).

ΦΑΡΜΑΚΑ	Ηπατικά ένζυμα μεταβολισμού αιθυλικής αλκοόλης							Βιογενείς μονοαμίνες Κ.Ν.Σ.				
	ADH	CYP2E1	CAT	ALDH1A1	ALDH2		NA	DA	turn over DA	5-HT	turn over 5-HT	
					High-Km	Low-Km						
DIS	-	↓	-	↓	↓	↓	↓	↑	↓	-	↑	
CHL	-	-	-	-	↓	↓	-	↓	-	↑	↓	
MET	↓	↓	-	-	-	-	-	-	↓	↑	↓	
COT	-	↓	-	-	-	-	↓	↓	-	↑	↑	
CEF	↑	↑	↑	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↑	↓	
GRIS	-	-	-	↑	-	-	↓	↑	↓	↑	↓	
FUR	-	-	↑	↓	↓	↓	↑	↑	↓	↑	↓	
QUIN	-	↓	-	-	-	-	↓	↓	-	↑	↓	
ISO	-	↑	-	↓	↓	↓	↓	-	↓	-	↑	
CHLP	-	-	-	↑	↓	↓	-	-	↓	-	↑	
PROC	-	-	-	-	↓	↓	↑	↑	↓	↑	↓	
PROP	-	↑	-	-	-	↓	-	-	↓	↑	↓	

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η δισουλφιράμη αποτελεί ένα φάρμακο γνωστό για περισσότερο από 50 χρόνια, το οποίο ακόμη και σήμερα βρίσκει εφαρμογή στη θεραπεία του χρόνιου αλκοολισμού. Η λογική της χρήσης της στηρίζεται στο γεγονός ότι ο αλκοολικός που βρίσκεται υπό θεραπεία με δισουλφιράμη, βιώνει μια σειρά δυσάρεστων συμπτωμάτων μετά την κατανάλωση οινοπνεύματος, γεγονός το οποίο τον αποτρέπει τελικά από το να «πίνει». Η προκαλούμενη κλινική εικόνα από το συνδυασμό δισουλφιράμης και οινοπνεύματος, είναι γνωστή ως «αντίδραση δισουλφιράμης» και έχει αποδοθεί στην αύξηση της ακεταλδεΐδης στο αίμα, λόγω της αναστολής από τη δισουλφιράμη της ηπατικής αλδεϋδικής αφυδρογονάσης (ALDH), και μάλιστα του low-Km μιτοχονδριακού ισοενζύμου της (ALDH2), που φαίνεται να παίζει το σημαντικότερο ρόλο στο μεταβολισμό της αλδεΐδης αυτής. Επιπλέον, η δισουλφιράμη αναστέλλει τη β-υδροξυλάση της ντοπαμίνης (DBH), ένα ένζυμο υπεύθυνο για τη μετατροπή της ντοπαμίνης (DA) σε νοραδρεναλίνη (NA), τόσο στο κεντρικό (Κ.Ν.Σ.), όσο και στο περιφερικό νευρικό σύστημα (Π.Ν.Σ.). Το γεγονός αυτό, έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της DA, με ταυτόχρονη μείωση των επιπέδων της NA στο κεντρικό και στο Π.Ν.Σ., μείωση στην οποία μπορεί να αποδοθεί η συμπτωματολογία της «αντίδρασης δισουλφιράμης», πιθανώς λόγω της καταστολής του Κ.Ν.Σ. που συνεπάγεται η μείωση της NA στον εγκέφαλο.

Εκτός από τη δισουλφιράμη, στη βιβλιογραφία αναφέρεται μία σειρά φαρμακευτικών ουσιών, οι οποίες σε συνδυασμό με οινόπνευμα προκαλούν μία αντίδραση παρόμοια με την «αντίδραση δισουλφιράμης», η οποία είναι γνωστή ως «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» και έχει γενικά αποδοθεί στην αναστολή της ηπατικής ALDH2 και στη συνεπακόλουθη άθροιση ακεταλδεΐδης στο αίμα. Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης, και προκειμένου να μελετήσουμε το μηχανισμό της «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης», εξετάσαμε τις επιδράσεις των κυριότερων φαρμάκων που προκαλούν μία τέτοια αντίδραση (δισουλφιράμη, χλωραμφαινικόλη, μετρονιδαζόλη, κοτριμοξαζόλη, κεφαμανδόλη, γκριζεοφουλβίνη, φουραζολιδόνη, κινακρίνη, ισονιαζίδη, χλωροπροπαμίδη, προκαρβαζίνη και προπρανολόλη) στη δραστηριότητα των ενζύμων που συμμετέχουν στον ηπατικό μεταβολισμό της αιθυλικής αλκοόλης, καθώς επίσης και στα επίπεδα των βιογενών μονοαμινών του Κ.Ν.Σ. επίμυων. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν οι επιδράσεις των φαρμάκων αυτών, στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της αλκοολικής αφυδρογονάσης (ADH), του κυτοχρώματος 2E1 (CYP2E1), της καταλάσης (CAT), της ALDH1A1 και της ALDH2 (low και high-Km). Επιπλέον, με τη βοήθεια υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC), προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις της NA, της DA και των μεταβολιτών της [3,4 διϋδροξυφαινυλοξικού οξέος (DOPAC) και ομοβαλινικού οξέος (HVA)], καθώς επίσης της σεροτονίνης (5-HT) και του κύριου μεταβολίτη της 5-υδροξυ-ινδολο-3-οξικού οξέος (5-HIAA), σε 4 δομές του εγκεφάλου επίμυος (υποθάλαμος, ραβδωτό σώμα, μεσεγκέφαλος και πρόσθιος φλοιός).

Από τα φάρμακα που χορηγήθηκαν, η μετρονιδαζόλη, η κοτριμοξαζόλη, η γκριζεοφουλβίνη και η κινακρίνη, άφησαν ανεπηρέαστη τη δραστηριότητα της ALDH2 (low και high-Km), καθώς και της ALDH1A1, με εξαίρεση τη γκριζεοφουλβίνη, η οποία φαίνεται να επάγει την ALDH1A1. Εξάλλου, μόλις υποσημαινόμενη ήταν η μείωση της δραστηριότητας της low-Km ALDH2 από την προπρανολόλη. Όλα τα υπόλοιπα φάρμακα, προκάλεσαν μία στατιστικώς σημαντική πτώση στη δραστηριότητα της ALDH2 (low και high-Km), ενώ διάφορη ήταν η επίδρασή τους στη δραστηριότητα της ALDH1A1. Φαίνεται λοιπόν, πως τουλάχιστον για τα πέντε αυτά φάρμακα (μετρονιδαζόλη, κοτριμοξαζόλη, γκριζεοφουλβίνη,

κινακρίνη και προπρανολόλη), ο μηχανισμός με τον οποίο προκαλούν δυσανεξία στο οινόπνευμα δεν σχετίζεται με τον αντίστοιχο της δισουλφιράμης. Εξάλλου, δείξαμε πως η μετρονιδαζόλη αναστέλλει τη δραστηριότητα της ADH, γεγονός που θα είχε ως αποτέλεσμα την άθροιση αιθανόλης στο αίμα, μετά την ταυτόχρονη κατανάλωσή της με το αντιβιοτικό αυτό, εξηγώντας έτσι κάποια από τα συμπτώματα της «αντίδρασης τύπου δισουλφιράμης» που προκαλεί η μετρονιδαζόλη. Επιπλέον, τόσο η μετρονιδαζόλη, όσο η κινακρίνη και η κοτριμοξαζόλη, μειώνουν τη δραστηριότητα του CYP2E1, ενζύμου που συμμετέχει εκτός από το μεταβολισμό της αιθανόλης και στο μεταβολισμό της ακεταλδεΐδης, της οποίας η συγκέντρωση στο αίμα θα μπορούσε ενδεχομένως να αυξηθεί κατά τη συγχορήγηση των φαρμάκων αυτών με οινόπνευμα. Ωστόσο, λόγω του μικρού ποσοστού συμμετοχής του CYP2E1 στο μεταβολισμό της ακεταλδεΐδης (20% περίπου), δεν είμαστε σε θέση να γνωρίζουμε αν η αναστολή του ενζύμου αυτού θα μπορούσε να αυξήσει τα επίπεδα της ακεταλδεΐδης στο αίμα, τόσο, ώστε να προκληθεί μία «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», δεδομένου ότι η δραστηριότητα της ALDH2 παραμένει ανεπηρέαστη.

Πέραν των μεταβολών που επέφεραν στα ηπατικά ένζυμα μεταβολισμού της αιθανόλης, τα φάρμακα τα οποία μελετήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας μελέτης, είχαν ιδιαίτερα σημαντικές επιδράσεις και στα επίπεδα των βιογενών μονοαμινών του Κ.Ν.Σ. Από τις μεταβολές αυτές, ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την αντίδραση που μελετήσαμε, παρουσιάζουν οι επιδράσεις των φαρμάκων αυτών στο κεντρικό νораδρενεργικό και σεροτονινεργικό σύστημα. Έτσι, δείξαμε πως πέραν της δισουλφιράμης, πτώση των επιπέδων της NA στο Κ.Ν.Σ., προκαλούν επίσης η κοτριμοξαζόλη, η γκριζεοφουλβίνη, η κινακρίνη, η κεφαμανδόλη και η ισονιαζίδη. Λαμβάνοντας υπόψη το ρόλο που έχει αποδοθεί στη μείωση των κεντρικών επιπέδων της NA στην εκδήλωση της συμπτωματολογίας της «αντίδρασης δισουλφιράμης», φαίνεται πως η ιδιότητα των φαρμακευτικών αυτών παραγόντων να μειώνουν τη NA στον εγκέφαλο, σε συνδυασμό με τη γνωστή αντίστοιχη ιδιότητα της αιθανόλης, θα μπορούσε να θεωρηθεί υπεύθυνη για τη δυσανεξία που προκαλούν στο οινόπνευμα. Το γεγονός αυτό μάλιστα, έχει ιδιαίτερη σημασία στις περτυώσεις της κοτριμοξαζόλης, της γκριζεοφουλβίνης και της κινακρίνης, φάρμακα τα οποία μπορούν να επάγουν μία «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», χωρίς ωστόσο να αναστέλλουν την ηπατική ALDH2.

Αναφορικά με τις επιδράσεις των υπό μελέτη φαρμακευτικών παραγόντων στο κεντρικό σεροτονινεργικό σύστημα, δείξαμε πως όλα τα φάρμακα αυτά, αυξάνουν τα επίπεδα της 5-HT στο Κ.Ν.Σ. Εξαιρέση αποτέλεσαν η χλωροπροπαμίδη, η οποία ωστόσο απ'ότι φαίνεται μάλλον δεν προκαλεί μία γνήσια «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», καθώς επίσης και η ισονιαζίδη, η οποία αν και δεν επηρέασε τα κεντρικά επίπεδα της 5-HT κάτω από τις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες, θα μπορούσε ενδεχομένως στα πλαίσια της μακροχρόνιας χορήγησής της να οδηγήσει τελικά σε αύξηση της αμίνης στον εγκέφαλο, λόγω της ασθενούς ανασταλτικής δράσης που ασκεί στη μοναμινοξειδάση (MAO). Δεδομένου του ρόλου που έχει αποδοθεί στα αυξημένα κεντρικά επίπεδα της 5-HT στη συμπτωματολογία της «αντίδρασης δισουλφιράμης», καθώς και του ότι η ίδια η αιθανόλη αυξάνει τα επίπεδα της αμίνης στον εγκέφαλο, είναι λογικό να υποθέσουμε πως η συγχορήγηση των φαρμάκων αυτών με οινόπνευμα, θα μπορούσε να οδηγήσει σε μια σημαντικού βαθμού αύξηση της 5-HT στο Κ.Ν.Σ., η οποία και θα εξηγεί τη δυσανεξία «τύπου δισουλφιράμης» που προκαλούν όλα αυτά τα φάρμακα στο οινόπνευμα.

Συμπερασματικά, θα μπορούσαμε να πούμε πως η «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης» που προκαλούν οι φαρμακευτικοί αυτοί παράγοντες, δεν οφείλεται

αποκλειστικά και μόνο στην αναστολή της ηπατικής ALDH2, καθώς ούτως ή άλλως κάποιοι από αυτούς τους παράγοντες δεν επηρεάζουν τη δραστικότητα του ενζύμου, αλλά σε μια σειρά αλληλεπιδράσεων των φαρμάκων αυτών με την αιθυλική αλκοόλη, σε επίπεδο ηπατικού μεταβολισμού της ή/και σε επίπεδο Κ.Ν.Σ. Έναντι μάλιστα του όρου «αντίδραση τύπου δισουλφιράμης», προτείνουμε τον όρο «φαρμακευτική δυσανεξία στην αιθυλική αλκοόλη», καθώς είναι γενικότερος και περιλαμβάνει όλο το φάσμα των υποκείμενων μηχανισμών. Φαίνεται μάλιστα, πως το μόνο κοινό χαρακτηριστικό όλων αυτών των φαρμάκων, είναι η αύξηση της 5-HT που προκαλούν στον εγκέφαλο. Το χαρακτηριστικό δε αυτό μάλλον, παρά η αναστολή της ALDH, θα μπορούσε ενδεχομένως να θεωρηθεί ως ο κυρίως υπεύθυνος μηχανισμός για τη δυσανεξία που προκαλούν οι θεραπευτικοί αυτοί παράγοντες στο οινόπνευμα και ίσως ακόμη και για την ίδια την «αντίδραση δισουλφιράμης».



NEUROPHARMACOLOGY AND HEPATIC BIOCHEMISTRY OF THE PHARMACEUTICAL INTOLERANCE TO ETHYL ALCOHOL. INVESTIGATION OF THE MECHANISMS INVOLVED IN THE SO CALLED "DISULFIRAM TYPE REACTION"

Petros N. Karamanakos

SUMMARY

Disulfiram is a well-known therapeutic agent, for more than 50 years, which is still in use in the treatment of chronic alcoholism. The rationale behind its use relies on the alcoholics's supposed fear of the unpleasant symptoms experienced upon drinking alcoholic beverages after having previously ingested the drug. The clinical syndrome arising by the interaction of disulfiram with ethanol is referred to as "disulfiram reaction" and has been attributed to the accumulation of acetaldehyde in the blood due to inhibition by disulfiram of the hepatic aldehyde dehydrogenase (ALDH) and mainly the low-K_m mitochondrial isozyme (ALDH2), which is most important for the metabolism of acetaldehyde. Moreover, disulfiram inhibits dopamine-beta-hydroxylase (DBH), an enzyme responsible for the conversion of dopamine (DA) to noradrenaline (NA), leading to increased levels of DA and decreased levels of NA in the central (CNS) and peripheral nervous system (PNS). These changes in the levels of catecholamines and most importantly the reduction of NA has been proposed as another mechanism for the explanation of the "disulfiram reaction", possibly via a sedative action on the CNS which follows the reduction of brain NA.

Besides disulfiram, various drugs have been reported to produce untoward effects when combined with ethanol, which is depicted as "disulfiram type reaction" and has been also attributed to the inhibition of the hepatic ALDH2 and the subsequent accumulation of acetaldehyde. In the present study, in order to investigate the mechanism of this manifestation, we studied the effects of these pharmaceutical products (disulfiram, chloramphenicol, metronidazole, cotrimoxazole, cefamandole, griseofulvin, furazolidone, quinacrine, isoniazid, chlorpropamide, procarbazine and propranolol) on the hepatic enzyme activities of alcohol dehydrogenase (ADH), cytochrome 2E1 (CYP2E1), catalase (CAT) and ALDH (ALDH1A1 and ALDH2). In addition, in four brain subregions (hypothalamus, striatum, midbrain and frontal cortex), the levels of NA, DA, serotonin (5-HT), as well as their metabolites [3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), homovanillic acid (HVA) and 5-hydroxyindole-3-acetic acid (5-HIAA)] were determined by high performance liquid chromatography (HPLC).

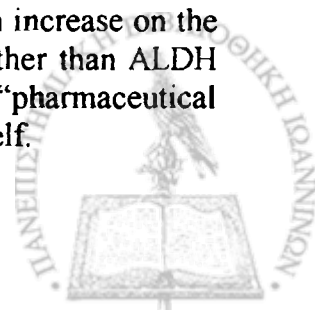
Metronidazole, cotrimoxazole, griseofulvin and quinacrine had no effect on the activity of ALDH2 (low and high-K_m) and ALDH1A1, with the exception of griseofulvin, which induced ALDH1A1 activity. Moreover, ALDH2 activity was only marginally inhibited by propranolol. All the other drugs tested, produced a statistically significant reduction of ALDH2 activity (low and high-K_m), while ALDH1A1 responded in an inconsistent way. Consequently, it seems that at least for these five drugs (metronidazole, cotrimoxazole, griseofulvin, quinacrine and propranolol) the mechanism by which they provoke alcohol intolerance, is irrelevant to that of disulfiram. Additionally, metronidazole inhibited ADH activity, which

could result in elevated concentrations of ethanol after the administration of alcoholic beverages, contributing, possibly, to some of the symptoms seen in the "disulfiram type reaction" elicited by this drug. Moreover, metronidazole, quinacrine and cotrimoxazole, inhibited CYP2E1 activity, an enzyme known to participate in the elimination of both ethanol and acetaldehyde. However, due to the minor participation of CYP2E1 in the metabolism of acetaldehyde (about 20%), it is not clear whether the inhibition of this enzyme could result in elevated acetaldehyde levels, enough to produce a "disulfiram type reaction" since the activity of ALDH2 remains unaffected.

In addition to the effects on the activity of the hepatic ethanol metabolizing enzymes, the drugs tested in the present study, produced a number of significant changes on the levels of brain biogenic monoamines, among which, those concerning the noradrenergic and the serotonergic system appear to be most important for the explanation of the "disulfiram type reaction". According to our results, disulfiram, cotrimoxazole, griseofulvin, quinacrine, cefamandole and isoniazid, decreased the central levels of NA. Moreover, it is already known that reduction of brain NA has been implicated in the symptomatology of the "disulfiram reaction", predisposing to increased sedation of the CNS. Consequently, the capacity of these drugs to reduce the levels of NA in the CNS, in combination with the corresponding property of ethanol, could be responsible for the intolerance to alcohol they produce, by a mechanism of true synergism, as in the case of the concomitant use of other sedative drugs. Further support to this proposition, can be drawn from the fact that cotrimoxazole, griseofulvin and quinacrine, reduce brain NA, without affecting hepatic ALDH2, while they are known to precipitate a "disulfiram type reaction".

Regarding the effects of the drugs administered in our study on the brain serotonergic system, we showed that all these pharmaceutical products increased the levels of 5-HT in the CNS, with the exception of chlorpropamide and isoniazid. However, chlorpropamide is believed not to produce a true "disulfiram type reaction", while the use of isoniazid for a long period of time, as it is prescribed in the case of tuberculosis, could lead to an increase of brain 5-HT levels due to its weak inhibitory action on MAO-A activity. Moreover, it is known that ethanol itself enhance the levels of 5-HT in the CNS, while patients with major elevation of brain 5-HT, show a toxic reaction to ethanol very similar to the "disulfiram reaction". Accordingly, it can be assumed that co-administration of these drugs with ethyl alcohol could result in a substantial increase of central 5-HT levels, explaining the "disulfiram type reaction" they provoke.

In conclusion, the results of our study suggest that the "disulfiram type reaction" produced by a number of drugs, cannot be exclusively attributed to the inhibition of the hepatic ALDH2, since some of these agents do not exhibit any influence on this enzyme. Instead, it seems that an interaction of these pharmaceutical products with ethyl alcohol affecting the hepatic metabolism of ethanol or/and the levels of brain biogenic monoamines could better explain the mechanism involved in the response of these drugs to ethanol. Consequently, instead of the term "disulfiram type reaction", we propose the introduction of the term "pharmaceutical intolerance to ethyl alcohol", which we believe that better describes the interaction between this drugs and ethyl alcohol, because it includes all the related mechanisms. Moreover, the only common feature of the drugs tested in the present study, was an increase on the levels of brain 5-HT they produced. This common characteristic, rather than ALDH inhibition, could possibly be considered as the core mechanism of the "pharmaceutical intolerance to ethyl alcohol" and even of the "disulfiram reaction" itself.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aebi H. (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* **105**, 121-126
- Agarwal D.P. & Goedde H.W. (1990) Pharmacogenetics of Alcohol Dehydrogenase. *Pharmacol. Ther.* **45**, 69-83
- Agarwal D.P. (2001) Genetic polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes. *Pathol. Biol.* **49**, 703-709
- Agarwal D.P. & Goedde W. (1989) Human aldehyde dehydrogenases: their role in alcoholism. *Alcohol* **6**, 517-523
- American Society of Health-System Pharmacists. (2001) Furazolidone. AHFS Drug Information, McEvoy G.K. editor
- Ahlenius S.D., Carlsson A., Engel J. et al. (1973) Antagonism by alpha methyltyrosine of the ethanol-induced stimulation and euphoria in man. *Clin. Pharmacol. Ther.* **14**, 586-593
- Althoff H. (1968) Multiple haemorrhagic necroses of the brain as a complication of disulfiram (Antabuse) therapy. *German Med. Monthly* **13**, 180-183
- Asai H., Imaoka S., Kuroki T. et al. (1996) Microsomal ethanol oxidizing system activity by human hepatic cytochrome P450s. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **277**(2), 1004-1009
- Asmussen A., Hald J. & Larsen V. (1948) The pharmacological action of acetaldehyde on the human organism. *Acta Pharmacol. et. toxicol.* **4**, 311-320
- Banerjee S. & Basu P.S. (1978) Inhibition of rat tissue mitochondrial monoamine oxidase by chloramphenicol & its intermediates. *Indian J. Biochem. Biophys.* **15**(6), 479-482
- Baraona E., Yokoyama A., Ishii H. et al. (1991) Lack of alcohol dehydrogenase isoenzyme activities in the stomach of Japanese subjects. *Life Sci.* **49**, 1929-1934
- Becker M.C. & Sugarman G. (1952) Death following test drink of alcohol in patients receiving Antabuse. *JAMA* **149**, 568-571
- Befani O., Grippa E., Saso L. et al. (2001) Inhibition of monoamine oxidase by metronidazole. *Inflamm. Res.* **50** (Suppl) **2**, S136-137
- Bergstrom B., Ohlin H., Lindblom P.E. et al. (1982) Is disulfiram implantation effective? *Lancet* **1**(8262), 49-50
- Berridge K.C. & Robinson T.E. (1998) What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Res. Rev.* **28**, 309-369



Blair A.H. & Vallee B.L. (1966) Some catalytic properties of human liver alcohol dehydrogenase. *Biochemistry* **5**(6), 2026-34

Boleda M.D., Saubi N., Farres J. et al. (1993) Physiological substrates for rat alcohol dehydrogenase classes: Aldehydes of lipid peroxidation, ω -hydroxyfatty acids, and retinoids. *Arch. Biochem. Biophys.* **307**, 85-90

Borchard U. (1998) Pharmacological properties of β -adrenoceptor blocking drugs. *J. Clin. Bas. Cardiol.* **1**, 1-9

Borg S., Kvande H. & Sedvall G. (1983) Monoamine metabolites in lumbar cerebrospinal fluid and urine in alcoholic patients before and after treatment with disulfiram. *Alcohol Alcohol.* **18**, 61-65

Brady J.F., Xiao F., Wang M.H. et al. (1991) Effects of disulfiram on hepatic P450IIE1, other microsomal enzymes and hepatotoxicity in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **108**, 366-373

Brewer C. (1993) Recent developments in disulfiram treatment. *Alcohol Alcohol.* **28**(4), 383-95

Brewer C. (1984) How effective is the standard dose of disulfiram? A review of the alcohol-disulfiram reaction in practice. *Br. J. Psychiatry* **144**, 200-202

Brodie M.S., Trifunovic R.D. & Shefner S.A. (1995) Serotonin potentiates ethanol-induced excitation of ventral tegmental area neurons in brain slices from three different rat strains. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **273**, 1139-1146

Brown Z.W. & Amit Z. (1977) The effects of selective catecholamine depletions by 6-hydroxydopamine on ethanol preference in rats. *Neurosci. Lett.* **5**, 333-336

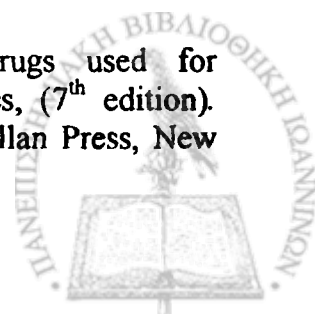
Bruno F. (1989) Buspirone in the treatment of alcoholic patients. *Psychopathol.* **22** (Suppl. 1), 49-59

Caballeria J., Baraona E., Rodamilans M. et al. (1989) Effects of cimetidine on gastric alcohol dehydrogenase activity and blood ethanol levels. *Gastroenterology* **96**, 388-392

Caballeria J., Frezza M., Hernandez-Munoz R. et al. (1989) The gastric origin of the first pass metabolism of ethanol in man: effect of gastrectomy. *Gastroenterology* **97**, 1205-1209

Cabrera-Vera T.M., Garcia F., Pinto W. & Battaglia G. (2000) Neurochemical changes in brain serotonin neurons in immature and adult offspring prenatally exposed to cocaine. *Brain Res.* **870**, 1-9

Calabresi P. & Parks R.E. Antiproliferative agents and drugs used for immunosuppression. In: *The pharmacological basis of therapeutics*, (7th edition). Gilman A.G., Goodman L.S., Rall T.W. & Murad F. (Eds.), McMillan Press, New York, 1985



Carlsson, A. (1959) The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacol. Rev.* 11, 490-493

Carlsson A. & Lindqvist M. (1973) Effect of ethanol on the hydroxylation of tyrosine and tryptophan in rat brain in vitro. *J. Pharm. Pharmac.* 25, 437-440

Carulli N., Manenti I., Gallo M. et al. (1971) Alcohol-drugs interaction in man: Alcohol and tolbutamide. *Eur. J. Clin. Invest.* 1, 421-424

Carper W.R., Dorey R.C. & Beber J.H. (1987) Inhibitory effect of disulfiram (Antabuse) on alcohol dehydrogenase activity. *Clin. Chem.* 33(10), 1906-1908

Cederbaum A.I. (1989) Introduction: role of lipid peroxidation and oxidative stress in alcohol toxicity. *Free Rad. Biol. Med.* 7, 537-539

Charness M.E., Simon R.P. & Greenberg D.A. (1989) Ethanol and the nervous system. *N. Engl. J. Med.* 321, 442-454

Chou W.Y., Stewart M.J., Carr L.G. et al. (1999) An A/G polymorphism in the promoter of mitochondrial aldehyde dehydrogenase (ALDH2): Effects of the sequence variant on transcription factor binding and promoter strength. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 23, 963-968

Ciak J. & Hahn F.E. (1967) Quinacrine (Aterbin): mode of action. *Science* 156, 655-656

Cina S.J., Russell R.A. & Conradi S.E. (1996) Sudden death due to metronidazole/ethanol interaction. *Am. J. Forensic Med. Pathol.* 17(4), 343-346

Cohen G.A. Mechanism for altered adrenergic activity in alcoholism. In: *Alcohol and Opiates. Neurochemical and behavioural mechanisms.* Blum K. (Ed), Academic Press, New York, San Francisco, London, 1977

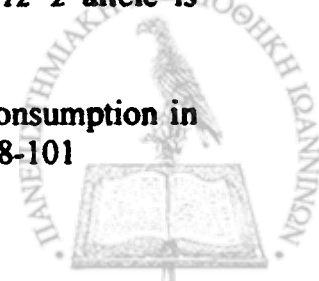
Cohen G., Sinet P.M. & Heikkila R. (1980) Ethanol oxidation by rat brain in vivo. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 4, 366-370

Coopler JR, Bloom FE, Roth RH. Οι Βιοχημικές Βάσεις της Νευροφαρμακολογίας, 6th ed. (1991), Μετάφραση: Σταματόπουλος Κ.Ε., Εκδόσεις: Λέξημα, Τσουκαλαδάκης Α., Αθήνα, 1996

Cotzias G.C., Van Woert M.H. & Schiffer L.K. (1967) Aromatic amino acids and modification of parkinsonism. *New Engl. J. Med.* 276, 374-379

Crabb D.W., Edenberg H.J., Borson W.F. et al. (1989) Genotypes for aldehyde dehydrogenase deficiency and alcohol sensitivity. The inactive *ALDH2*2* allele is dominant. *J. Clin. Invest.* 83, 314-316

Crabbe J.C., Phillips T.J., Feller D.J. et al. (1996) Elevated alcohol consumption in null mutant mice lacking 5-HT_{1B} serotonin receptors. *Nat. Genet.* 14, 98-101



Cross A. & Jones O.T.G. (1991) Enzymic mechanisms of superoxide production. *Biochim. Biophys. Acta.* **1057**, 281-298

Czyzyk A. & Mohnike G. (1957) Über die beeinflussung der alkoholtoleranz durch blutzuckersenkende harnstoffderivate. *Dtsch. Med. Wschr.* **82**, 1585-1586

Dahlstrom A. & Fuxe K. (1964) Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I Demonstration of monoamine in the cell bodies of the brain stem neurons. *Acta Physiol. Scand.* **62 (Suppl. 232)**, 1-55

Dahlstrom A. & Fuxe K. (1965) Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. II Experimentally induced changes in the intraneuronal amine levels of bulbospinal neuron systems. *Acta Physiol. Scand.* **64 (Suppl. 247)**, 1-36

Davis W.M., Smith S.G. & Werner T.E. (1978) Noradrenergic role in self-administration of ethanol. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **9**, 369-374

Diana M., Pistis M., Carboni S. et al. (1993) Profound decrement of mesolimbic dopaminergic neuronal activity during ethanol withdrawal syndrome in rats: electrophysiological and biochemical evidence. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **90**, 7966-7969

Dillon K. A., Gross-Isseroff R., Israeli M. et al. (1991) Autoradiographic analysis of serotonin 5-HT_{1A} receptor binding in the human brain postmortem: effects of age and alcohol. *Brain Res.* **554**, 56-64

DiMartini A. (1995) Isoniazid, tricyclics and the "cheese reaction". *Int. Clin. Psychopharmacol.* **10(3)**, 197-198

Ding, X., Koop D.R., Crump B. I. et al. (1986) Immuno-chemical identification of cytochrome P-450 isozyme 3a [P450ALC] in rabbit nasal and kidney microsomes and evidence for differential induction by alcohol. *Mol. Pharmacol.* **30**, 370-378

Doh-Ura K., Iwaki T. & Caughey B. (2000) Lysosomotropic agents and cysteine protease inhibitors inhibit scrapie-associated prion protein accumulation. *J. Virol.* **74(10)**, 4894-4897

Douglas W.W. Autacoids. In: *The pharmacological basis of therapeutics*, (7th edition). Gilman A.G., Goodman L.S., Rall T.W. & Murad F. (Eds.), McMillan Press, New York, 1985

Duester G., Farres J., Felder M.R. et al. (1999) Recommended Nomenclature for the Vertebrate Alcohol Dehydrogenase Gene Family. *Biochem. Pharmacol.* **58**, 389-395

Duncan J.S.R. (1973) The inhibition of alcohol and aldehyde dehydrogenases by propranolol. *Mol. Pharmacol.* **9**, 191



Duritz G. & Truitt E.B. Jr. (1966) Importance of acetaldehyde in the action of ethanol on brain norepinephrine and 5-hydroxytryptamine. *Biochem. Pharmacol.* 15(6), 711-721

Eade N.R. (1959) Mechanism of sympathomimetic action of aldehydes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 127, 29-34

Edwards D.L., Fink P.C. & Van Dyke P.O. (1986) Disulfiram-like reaction associated with intravenous trimethoprim-sulfamethoxazole and metronidazole. *Clin. Pharmacol.* 5(12), 999-1000

Ellenhorn M.J. & Barceloux D.G. Disulfiram. In: *Medical Toxicology, Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*, Elsevier, 1988

Emilien G., Maloteaux J-M., Geurts M. et al. (1999) Dopamine receptors-physiological understanding to therapeutic intervention potential. *Pharmacol. Ther.* 84, 133-156

Emorine L.J., Marullo S., Briend-Sutren M.M. et al. (1989) Molecular characterization of the human beta3-adrenergic receptor. *Science* 245(4922), 1118-1121

Eneanya D.I., Bianchine J.R., Duran D.O. et al. (1981) The actions of metabolic fate of disulfiram. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 21, 575-596

Eriksson C.J.P., Marselos M. & Koivula T. (1975) Role of cytosolic aldehyde dehydrogenase in the oxidation of acetaldehyde during ethanol metabolism in vivo. *Biochem. J.* 152, 709-712

Estonius M., Svensson S. & Hoog J.O. (1996) Alcohol dehydrogenase in human tissues: localisation of transcripts coding for five classes of the enzyme. *FEBS Lett.* 397, 338-342

Εθνικό Συνταγολόγιο 2003

Fett D.L. & Vukov L.F. (1994) An unusual case of severe griseofulvin-alcohol interaction. *Ann. Emerg. Med.* 24(1), 95-97

Franks N.P. & Lieb W.R. (1994) Molecular and cellular mechanisms of general anesthesia. *Nature* 367, 607-614

Frezza M., Di Padova C., Pozzato G. et al. (1990) High blood alcohol levels in women: Role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first pass metabolism. *New Engl. J. Med.* 322, 95-99

Fried R. (1980) Biochemical action of anti-alcoholic agent. *Subst. Alc. Act./Mis.* 1, 5-27



Fukumori R., Minegishi A., Satoh T. et al. (1980) Changes in the serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid contents in rat brain after ethanol and disulfiram treatments. *Eur. J. Pharmacol.* **61**, 199-202

Gailis L. Cardiovascular effects of acetaldehyde: evidence for the involvement of SH-groups. In: *The role of acetaldehyde in the actions of ethanol*. Eds.: Lindros KO & Eriksson CJP. The Finnish Foundation for alcohol studies, 1975

Gaunt G.L. & De Duve C. (1976) Subcellular distribution of D-amino acid oxidase and catalase in rat brain. *J. Neurochem.* **26**, 749-759

Gessa G. L., Muntoni F., Collu M. et al. (1985) Low doses of ethanol activate dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. *Brain Res.* **348**, 201-203

Gill K., Menez J.F., Lucas D. et al. (1992) Enzymatic production of acetaldehyde from ethanol in rat brain tissue. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **16**, 910-915

Goedde H.W., Agarwal D.P. & Harada S. (1979) Alcohol metabolizing enzymes: studies of isozymes in human biopsies and cultured fibroblasts. *Clin. Genet.* **16**(1), 29-33

Goedde H.W. & Agarwal D.P. (1990) Pharmacogenetics of aldehyde dehydrogenase (ALDH). *Pharmacol. Ther.* **45**, 345-371

Goldstein M., Anagnoste B., Lauber E. et al. (1964) Inhibition of dopamine-b-hydroxylase by disulfiram. *Life Sci.* **3**, 763-767

Goldstein M. & Nakajima K. (1967) The effect of disulfiram on catecholamine levels in the brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **157**(1), 96-102

Goodman D.W. & Deykin D. (1963) Fatty acid ethyl ester formation during ethanol metabolism in vivo. *Proc. Soc. Exp. Biol.* **113**, 65-67

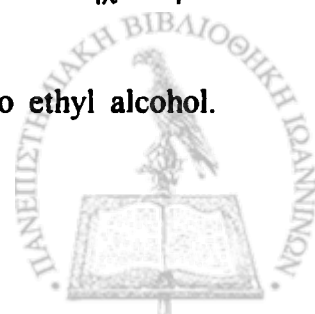
Grassi G.G. & Grassi C. (1975) Ethanol-antibiotic interactions at hepatic level. *J. Clin. Pharmacol. Biopharmacol.* **11**, 216-225

Guivernau M., Quintanilla M.E. & Tampier L. (1994) Investigations on the ethanol-induced flushing reaction: effects of propranolol and dipyridamole on acetaldehyde and prostacyclin metabolism. *Toxicology* **90**(1-2), 1-9

Gupta N.K., Woodley C.L. & Fried R. (1970) Effect of metronidazole on liver alcohol dehydrogenase. *Biochem. Pharmacol.* **19**, 2805-2808

Guyton A.C. & Hall J.E. Ενεργοποίηση του εγκεφάλου-εγρήγορηση και ύπνος-εγκεφαλικές λειτουργίες συμπεριφοράς. *Φυσιολογία του ανθρώπου και Μηχανισμοί των νόσων*, 6^η έκδοση, Παρισιάνος Α.Ε., Αθήνα, 2001

Hald J. & Jacobsen E. (1948a) A drug sensitizing the organism to ethyl alcohol. *Lancet* **255**, 1001



Hald J. & Jacobsen E. (1948b) Formation of acetaldehyde in the organism after ingestion of Antabuse (tetraethylthiuramdisulphide) and alcohol. *Acta Pharmacol. Toxicol.* **4**, 305-310

Hald J., Jacobsen E. & Larsen V. (1948) The sensitizing effect of tetraethylthiuram disulphide (Antabuse) to ethyl alcohol. *Acta Pharmacol.* **4**, 285-296

Handler J.A. & Thurman R.G. (1985) Fatty acid-dependent ethanol metabolism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **133**, 44-51

Harada S., Agarwal D.P. & Goedde H.W. (1980) Electrophoretic and biochemical studies of human aldehyde dehydrogenase isozymes in various tissues. *Life Sci.* **26**, 1773-1780

Hart B.W. & Faiman M.D. (1992) In vitro and in vivo inhibition of rat liver aldehyde dehydrogenase by S-methyl N,N-diethylthiolcarbamate sulfoxide, a new metabolite of disulfiram. *Biochem. Pharmacol.* **43**(3), 403-406

Hawkins R.D. & Kalant H. (1972) The metabolism of ethanol and its metabolic effects. *Pharmacol. Rev.* **24**(1), 67-157

Heath M.J., Pachar J.V., Perez Martinez A.L. et al. (1992) An exceptional case of lethal disulfiram-alcohol reaction. *Forensic Sci. Int.* **56**(1), 45-50

Heelon M.W. & White M. (1998) Disulfiram-cotrimoxazole reaction. *Pharmacotherapy* **18**(4), 869-870

Heinzel B., John M., Klatt P. et al. (1992) Ca^{+2} /calmodulin-dependent formation of hydrogen peroxide by brain nitric oxide synthase. *Biochem. J.* **281**, 627-630

Hellstrom E. & Totmar O. (1982) Effects of aldehyde dehydrogenase inhibitors on enzymes involved in the metabolism of biogenic aldehydes in rat liver and brain. *Biochem. Pharmacol.* **31**(23), 3899-3905

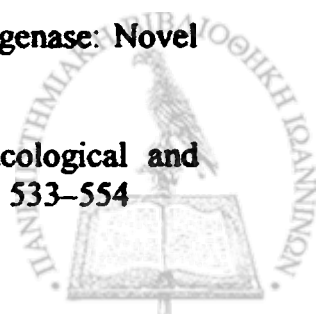
Hine C.H., Shick A.F., Margolis L. et al. (1952) Effects of alcohol in small doses and tetraethylthiuramdisulphide (antabus) on the cerebral blood flow and cerebral metabolism. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **106**(3), 253-260

Hoffman B.B. & Lefkowitz R.J. Catecholamines, sympathomimetic drugs and adrenergic receptor antagonists. In: *The pharmacological basis of therapeutics*, (9th edition). Molinoff P.B. & Ruddon R.W. (Eds.), McGraw-Hill, 1996

Holtz, P. (1950) U È ber die sympathicomimetische Wirksamkeit von Gehirnexttracten. *Acta Phys. Scand.* **20**, 354-362

Hoog J.O. & Brandt M. (1995) Mammalian class VI alcohol dehydrogenase: Novel types of the rodent enzymes. *Adv. Exp. Med. Biol.* **372**, 355-364

Hoyer D., Hannon J.P. & Martin G.R. (2002) Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **71**, 533-554



Hu P., Jin L. & Baillie T.A. (1997) Studies on the metabolic activation of disulfiram in rat. Evidence for electrophilic S-oxygenated metabolites as inhibitors of aldehyde dehydrogenase and precursors of urinary N-acetylcysteine conjugates. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **281**(2), 611-617

Huttunen P. (1991) Microdialysis of extracellular noradrenaline in the hippocampus of the rat after long-term alcohol intake. *Brain Res.* **560**, 225-228

Ingelman-Sundberg M. (1997) The Gerhard Zbinden Memorial Lecture. Genetic polymorphism of drug metabolizing enzymes. Implications for toxicity of drugs and other xenobiotics. *Arch. Toxicol. (Suppl.)* **19**, 3-13

Iseri O.A., Gottlieb L.S. & Lieber C.S. (1964) The ultrastructure of ethanol induced fatty liver (Abstr.). *Feder. Proc.* **23**, 579

Jacobsen E. (1952) Deaths of alcoholic patients treated with disulfiram (tetraethylthiuram disulfide) in Denmark. *Q.J. Stud. Alcohol* **13**, 16-26

Johnson B.A. (2003) The role of serotonergic agents as treatments for alcoholism. *Drugs Today (Barc.)* **39**(9), 665-672

Jornvall H., Shafqat J., el-Ahmad M. et al. (1997) Alcohol dehydrogenase variability. Evolutionary and functional conclusions from characterization of further variants. *Adv. Exp. Med. Biol.* **414**, 281-289

Kalant H & Khanna J.M. The alcohols. In: *Principles of Medical Pharmacology* (5th Edition). Kalant H & Roschlau W.H.E. (Eds), 1989

Kamei C., Sugimoto Y., Muroi N. et al. (1986) Effects of various cephem antibiotics on ethanol metabolism and their structure-activity relations. *J. Pharm. Pharmacol.* **38**(11), 823-828

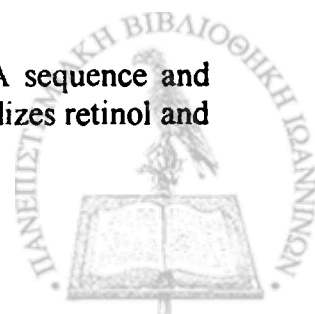
Kandel E.R., Schwartz J.H., Jessell T.M. Brain stem modulation of sensation, movement and consciousness. In: *Principles of Neural Sciences*, 4th ed, McGraw-Hill, USA, 2000

Kater R.M.H., Roggin G., Tobon F. et al. (1969) Increased rate of clearance of drugs from the circulation of alcoholics. *Am. J. Med. Sci.* **258**, 35-39

Kato S., Alderman J. & Lieber C.S. (1987) Respective roles of the microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) and catalase in ethanol metabolism by deermice lacking alcohol dehydrogenase. *Arch. Biochem. Biophys.* **254**(2), 586-591

Kebabian J.W. & Calne D.B. (1979) Multiple receptors for dopamine. *Nature* **277**, 93-96

Kedishvili N.Y., Gough W.H., Chernoff E.A.G. et al. (1997) cDNA sequence and catalytic properties of a chick embryo alcohol dehydrogenase that oxidizes retinol and 3b,5a-hydroxysteroids. *J. Biol. Chem.* **272**, 7494-7500



Keilin D. & Hartree E.F. (1945) Properties of catalase: catalysis of coupled oxidation of alcohols. *Biochem. J.* **39**, 293-301

King C.T. & Holmes R.S. (1997) Human corneal and lens aldehyde dehydrogenases. *Adv. Exp. Med. Biol.* **414**, 19-27

Kitson T.M. (1977) The disulfiram-ethanol reaction: a review. *J. Stud. Alcohol.* **38**(1), 96-113

Kamino K., Nagasaka K., Imagawa M. et al. (2000) Deficiency in mitochondrial aldehyde dehydrogenase increases the risk for late-onset Alzheimer's disease in the Japanese population. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **273**, 192-196

Koivisto T & Salaspuro M. (1996) Aldehyde dehydrogenases of the rat colon: comparison with other tissues of the alimentary tract and the liver. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **20**(3), 551-555

Koivula T., Koivusalo M. & Lindros O. (1975) Liver aldehyde and alcohol dehydrogenase activities in rat strains genetically selected for their ethanol preference. *Biochem. Pharmacol.* **24**, 1-5

Koivula T. & Koivusalo M. (1975) Different forms of rat liver aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochim. Biophys. Acta* **397**, 9-23

Κονιτσιώτης Σ.Θ. Νευροφαρμακολογία και λειτουργική ανατομία των βασικών γαγγλίων του εγκεφάλου. Διδακτορική Διατριβή, Ιωάννινα, 1989

Koop D.R. (1986) Hydroxylation of p-nitrophenol by rabbit ethanol-inducible cytochrome P-450 isozyme 3a. *Mol. Pharmacol.* **29**, 399-404

Koob G.F & Le Moal M. (1997) Drug abuse: hedonic homeostatic dys-regulation. *Science* **278**, 52-58

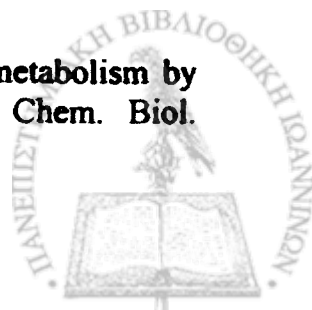
Kostowski W. & Dyr W. (1992) Effects of 5-HT_{1A} receptor agonists on ethanol preference in the rat. *Alcohol* **9**, 283-286

Kunitoh S., Imaoka S., Hiroi T. et al. (1997) Acetaldehyde as well as ethanol is metabolized by human CYP2E1. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **280**(2), 527-532

Lal H., Prather P.L. & Rezazadeh S.M. (1993) Potential role of 5HT_{1C} and/or 5HT₂ receptors in the mianserin-induced prevention of anxiogenic behaviors occurring during ethanol withdrawal. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **17**(2), 411-417

Lands W.E.M. (1998) A review of alcohol clearance in humans. *Alcohol* **15**(2), 147-160

Lang M., Marselos M & Torronen R. (1976) Modifications of drug metabolism by disulfiram and diethyldithiocarbamate. Mixed-function oxygenase. *Chem. Biol. Interact.* **15**(3), 267-276



- am (Antabuse)-
methylpyrazole.

- Lipsky J.J., Shen M.L. & Naylor S. (2001) In vivo inhibition of aldehyde dehydrogenase by disulfiram. *Chem-Biol. Interact.* 130-132(1-3), 93-102
- Little R.G. & Petersen D.R. (1985) Effect of tolbutamide and chlorpropamide on acetaldehyde metabolism in two inbred strains of mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 80, 206-214
- Ljungberg T. & Ungerstedt U. (1976) Reinstatement of eating by dopamine agonists in aphagic dopamine denervated rats. *Physiol. Behav.* 16, 277-283
- Logi A.W., Galloway D.B. & Petrie J.C. (1976) Drug interactions and long-term antidiabetic therapy. *Brit. J. Clin. Pharmacol.* 5, 186-194
- Lovinger D.M. (1997) Alcohols and neurotransmitter gated ion channels: past, present and future. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 356, 267-282
- Lovinger D.M. (1999) The role of serotonin in alcohol's effects on the brain. *Curr. Separ.* 18(1), 23-28
- Lovinger D.M. & White G. (1991) Ethanol potentiation of 5-hydroxytryptamine₃ receptor-mediated ion current in neuroblastoma cells and isolated adult mammalian neurons. *Mol. Pharmacol.* 40(2), 263-70
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. et al. (1951) Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275
- Madan A., Parkinson A. & Fainman M.D. (1993) Role of flavin-dependent monooxygenases and cytochrome P450 enzymes in the sulfoxidation of S-methyl N,N-diethylthiolcarbamate. *Biochem. Pharmacol.* 46(12), 2291-2297
- Madan A., Parkinson A. & Fainman M.D. (1995) Identification of the human and rat P450 enzymes responsible for the sulfoxidation of S-methyl N,N-diethylthiolcarbamate (DETC-ME). The terminal step in the bioactivation of disulfiram. *Drug Metab. Disp.* 23(10), 1153-1162
- Madan A., Parkinson A. & Fainman M.D. (1998) Identification of the human P-450 enzymes responsible for the sulfoxidation and thiono-oxidation of diethyldithiocarbamate methyl ester: role of P-450 enzymes in disulfiram bioactivation. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 22(6), 1212-1219
- Marchner H. & Tottmar O. (1976) Influence of the diet on the metabolism of acetaldehyde in rats. *Acta pharmacol. et toxicol.* 38, 59-71
- Marjanen L.A. (1973) Comparison of aldehyde dehydrogenases from cytosol and mitochondria of rat liver. *Biochim. Biophys. Acta* 327, 238-246
- Marsden C.D. (1982) Neurotransmitters and CNS disease. Basal ganglia disease. *Lancet* 2, 1141-1146



Marselos M. (1976) Genetic variation of drug metabolizing enzymes in the Wistar rat. *Acta Pharmacol. et toxicol.* **39**, 186-197

Μαρσέλος Μ. Αιθυλική Αλκοόλη. Στο: Εξαρτησιογόνες Ουσίες. Τυπωθήτω, Δαρδανός Γ. (Εκδ.), Αθήνα, 1997

Μαρσέλος Μ. και Μάλαμας Μ. Ιατρική Φαρμακολογία II, Ιωάννινα 2003

Marselos M., Alakuijala P., Lang M. & Törrönen R. Studies on the mechanism by which disulfiram and diethyldithiocarbamate affect drug metabolism. In: *Microsomes and drug oxidations*. Ullrich V., Roots I., Hildebrandt A., Estabrook R.W. & Conney A.H. (Eds.), Pergamon Press, Oxford, 1977

Marselos M., Strom S. & Michalopoulos G. (1986) Enhancement of aldehyde dehydrogenase activity in human and rat hepatocyte cultures by 3-methylcholanthrene. *Cell Biol. Toxicol.* **2**, 257-269

Martensen-Larsen O. (1948) Treatment of alcoholism with a sensitizing drug. *Lancet* **2**, 1004-1005

Maruyama W., Nakahara D., Dostert P. et al. (1993) Selective release of serotonin by endogenous alkaloids, 1-methyl-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines, (R)- and (S)salsolinol, in the rat striatum; in vivo microdialysis study. *Neurosci. Lett.* **149(2)**, 115-8

Matsumoto H., Matsubayashi K. & Fukui Y. (1996) Evidence that cytochrome P-4502E1 contributes to ethanol elimination at low doses: effects of diallyl sulfide and 4-methyl pyrazole on ethanol elimination in the perfused rat liver. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **20**, 6A-12A

McBride W. J., Murphy J. M., Lumeng L. et al. (1990) Serotonin, dopamine and GABA involvement in alcohol drinking of selectively bred rats. *Alcohol* **7**, 199-205

McBride W.J., Murphy J.M., Gatto G.J. et al. (1993) CNS mechanisms of alcohol self-administration. *Alcohol Alcohol. (Suppl.)* **2**, 463-467

McBride W.J., Bodart B., Lumeng L. et al. (1995) Association between low contents of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens and high alcohol preference. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **19**, 1420-1422

Mccarver D.G., Thomasson H.R., Martier S.S. et al. (1997) Alcohol dehydrogenase-2*3 allele protects against alcohol-related birth defects among African-Americans. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **283**, 1095-101

McKenna O., Arnold G. & Holtzman E. (1976) Microperoxisome distribution in the central nervous system of the rat. *Brain Res.* **117**, 181-194

McKenzie-Quirk S.D. & Miczek K.A. (2003) 5-HT1A agonists: alcohol drinking in rats and squirrel monkeys. *Psychopharmacol. (Berl)*. **167(2)**, 145-152



Mefford I.N. (1981) Application of high performance chromatography with electrochemical detection to neurochemical analysis: measurement of catecholamines, serotonin and metabolites in rat brain. *J. Neurosci. Meth.* **3**, 207-224

Mefford I.N., Gilberg M. & Barchas J.D. (1980) Simultaneous determination of catecholamines and unconjugated 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) in brain tissue by ion-pairing reverse phase HPLC with electrochemical detection. *Anal. Biochem.* **104**, 469-472

Misra P.S., Lefevre A., Ishii H. et al. (1971) Increase of ethanol meprobamate and pentobarbital metabolism after chronic ethanol administration in man and in rats. *Am. J. Med.* **51**, 346-351

Murata M., Tagawa M., Watanabe S. et al. (1999) Genotype difference of aldehyde dehydrogenase 2 gene in alcohol drinkers influences the incidence of Japanese colorectal cancer patients. *Jpn. J. Cancer Res.* **90**, 711-719

Muto M., Hitomi Y., Ohtsu A. et al. (2000) Association of aldehyde dehydrogenase 2 gene polymorphism with multiple oesophageal dysplasia in head and neck cancer patients. *Gut* **47**, 256-261

Murphy J. M., McBride W. J., Lumeng L. et al. (1987) Contents of monoamines in forebrain regions of alcohol-preferring (P) and non-preferring (NP) lines of rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **26**, 389-392

Musacchio J.M., Goldstein M., Anagnoste B. et al. (1966) Inhibition of dopamine-beta-hydroxylase by disulfiram in vivo. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **152**(1), 56-61

Nakano J., Gin A.C. & Nakano S.K. (1974) Effects of disulfiram on cardiovascular responses to acetaldehyde and ethanol in dogs. *Q. J. Stud. Alcohol.* **35**(Pt A), 620-634

Nassberger L. (1984) Hepatotoxicity due to disulfiram. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* **22**(4), 403-408

Nebert D.W., Adesnik M., Coon M.J. et al. (1987) The P-450 gene superfamily: recommended nomenclature. *DNA* **6**, 1-11

Neu H.C. & Prince A.S. (1980) Interaction between moxalactam and alcohol. *Lancet* **2**, 1422

Nevo I. & Hamon M. (1995) Neurotransmitter and neuromodulatory mechanisms involved in alcohol abuse and alcoholism. *Neurochem. Int.* **26**(4), 305-336

Nilsson G.E. & Totmar O. (1989) Effects of disulfiram and coprine on rat brain tryptophan hydroxylation in vivo. *Neurochem. Res.* **14**(6), 537-540

Nora A.H., Nora J.J. & Blu J. (1977) Limb-reduction anomalies in infants born to disulfiram-treated alcoholic mothers. *Lancet* **2**(8039), 664



Nowak K.L., McBride W.J., Lumeng L. et al. (2000) Involvement of dopamine D2 autoreceptors in the ventral tegmental area on alcohol and saccharin intake of the alcohol-preferring P rat. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **24**, 476-483

Ohnishi K. & Lieber C.S. (1977) Reconstitution of the microsomal ethanol oxidizing system (MEOS): qualitative and quantitative changes of cytochrome P-450 after chronic ethanol consumption. *J. Biol. Chem.* **252**, 7124-7131

Orme-Johnson W.H. & Ziegler D.M. (1965) Alcohol mixed function oxidase activity of mammalian liver microsomes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **21**, 78-82

Ostrovsky Y.M., Sadovnik M.N., Satanovskaya V.I. et al. (1980) Monoamine oxidase and the enzymes of ethanol metabolism in rats after administration of tetrahydroisoquinolines. *Adv. Exp. Med. Biol.* **126**, 137-143

Palm D., Magnus U., Grobecker H. et al. (1967) Inhibition of monoamine oxidase by bacteriostatically active nitrofurans derivatives. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* **256**(2), 281-300

Pappas P. Biological role and regulatory factors of the induction of aldehyde dehydrogenase-3. Ph.D Thesis, Ioannina, 1996

Pawlak D., Malinowska B. & Buczek W. (1992) Cardiovascular effects of acetaldehyde in pithed rats. *Pharmacology* **45**(2), 83-89

Peng G.S., Wang M.F., Chen C.Y. et al. (1999) Involvement of acetaldehyde for full protection against alcoholism by homozygosity of the variant allele of mitochondrial aldehyde dehydrogenase gene in Asians. *Pharmacogenetics* **9**(4), 463-476

Perozich J., Nicholas H., Lindahl R. et al. (1999) The big book of aldehyde dehydrogenase sequences: an overview of the extended family. *Adv. Exp. Med. Biol.* **463**, 1-8

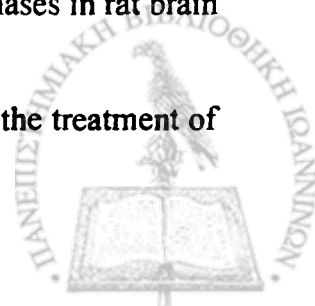
Persson B., Zigler J.S. Jr & Jornvall H. (1994) A super-family of medium-chain dehydrogenases/reductases (MDR). Sub-lines including z-crystallin, alcohol and polyol dehydrogenases, quinone oxidoreductases, enoyl reductases, VAT-1 and other proteins. *Eur. J. Biochem.* **226**, 15-22

Peters T.J. & Ward R.J. (1988) Role of acetaldehyde in the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Mol. Aspects Med.* **10**, 179-190

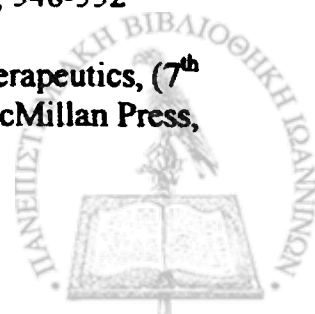
Petersen D.R. & Lindahl R. Aldehyde Dehydrogenases. In: *Comprehensive Toxicology, Biotransformation*, vol. 3, pp. 97-118, Guengerich F.P. (eds), Pergamon Press, New York, 1997

Pettersson H. & Tottmar O. (1982) Inhibition of aldehyde dehydrogenases in rat brain and liver by disulfiram and coprine. *J. Neurochem.* **39**(3), 628-634

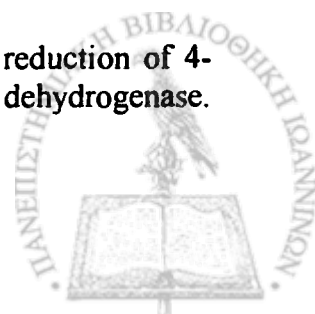
Pettinati H.M. (1996) Use of serotonin selective pharmacotherapy in the treatment of alcohol dependence. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **20**, 23A-29A



- Pfeffer A.O. & Samson H.H. (1985) Oral ethanol reinforcements: interactive effects of amphetamine, pimozide and food restriction. *Alcohol Drug Res.* 6, 37-48
- Phillips T.J., Brown K.J., Burkhart-Kasch S. et al. (1998) Alcohol preference and sensitivity are markedly reduced in mice lacking dopamine D2 receptors. *Nat. Neurosci.* 1, 610-615
- Pinaire J., Chou W.Y., Stewart M. et al. (1999) Activity of the human aldehyde dehydrogenase 2 promoter is influenced by the balance between activation by hepatocyte nuclear factor 4 and repression by peroxisome proliferator activated receptor delta, chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor, and apolipoprotein regulatory protein-1. *Adv. Exp. Med. Biol.* 463, 115-21
- Planz G., Quiring K. & Palm D. (1972) Rates of recovery of irreversibly inhibited monoamine oxidases: a measure of enzyme protein turnover. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 273(1), 27-42
- Podgany H. & Bressler R. (1968) Biochemical basis of the sulfonylurea induced Antabuse syndrome. *Diabetes* 17, 679-683
- Portier H., Chalopin J.M., Freysz M. et al. (1980) Interaction between cephalosporins and alcohol. *Lancet* 2, 263
- Pratt A.G. & Turrens J.F. (1990) Ascorbate- and hemoglobin-dependent brain chemiluminescence. *Free Rad. Biol. Med.* 8, 319-325
- Raby K. (1956) The antabus-alcohol reaction; summary of clinical and experimental investigations. *Dan. Med. Bull.* 3(6), 168-171
- Racker E. (1949) Formation of adenosine triphosphate from Pi and adenosine diphosphate by purified Ca-2+-adenosine triphosphatase. *J. Biol. Chem.* 177, 883
- Ramchandani V.A., Borson W.F. & Li T.K. (2001) Research advances in ethanol metabolism. *Pathol. Biol.* 49, 676-682
- Reeves D.S. & Davies A.J. (1980) Antabuse effects with cephalosporins. *Lancet* 2, 540
- Reinke, L.A., Moore, D.R., Hague, C.M. et al. (1994) Metabolism of ethanol to 1-hydroxyethyl radicals in rat liver microsomes: comparative studies with three spin trapping agents. *Free Rad. Res.* 21, 213-222
- Reinke L.A. & Moyer M.J. (1985) p-Nitrophenol hydroxylation. A microsomal oxidation which is highly inducible by ethanol. *Drug Metab. Dispos.* 13, 548-552
- Richie, J.M. The aliphatic alcohols. In: *The pharmacological basis of therapeutics*, (7th edition). Gilman A.G., Goodman L.S., Rall T.W. & Murad F. (Eds.), McMillan Press, New York, 1985



- Riley J.N. & Walker D.W. (1978) Morphological alterations in hippocampus after long-term alcohol consumption in mice. *Science* **201**, 646-648
- Roine R., Gentry R.T., Hernandez-Munioz R. et al. (1990) Aspirin increases blood alcohol concentrations in human after ingestion of ethanol. *JAMA* **264**, 2406-2408
- Rommelspacher H., Raeder C., Kaulen P. et al. (1992) Adaptive changes of dopamine-D2 receptors in rat brain following ethanol withdrawal: a quantitative autoradiographic investigation. *Alcohol* **9**, 1-8
- Rossetti Z.L., Longu G., Mercurio G. et al. (1992) Biphasic effect of ethanol on noradrenaline release in the frontal cortex of awake rats. *Alcohol* **27**, 477-480
- Rothblat D.S., Rubin E., & Schneider J.S. (2001) Effects of chronic alcohol ingestion on the mesostriatal dopamine system in the rat. *Neurosci. Lett.* **300**, 63-66
- Rothstein E. & Clancy D.D. (1969) The toxicity of disulfiram combined with metronidazole. *N. Engl. J. Med.* **280**, 1066
- Samson H.H. & Harris R.A. (1992) Neurobiology of alcohol abuse. *Trends Pharmacol.Sci.* **13**, 206-211
- Sauter A.M., Boss D. & Von Wartburg J.P. (1977) Reevaluation of the disulfiram-alcohol reaction in man. *J. Stud. Alcohol.* **38**(9), 1680-1695
- Schade R.R., Gray J.A., Dekker A. et al. (1983) Fulminant hepatitis associated with disulfiram. *Arch. Intern. Med.* **143**, 1271-1273
- Schauenstein E., Esterbauer H. & Zollner H. In: *Aldehydes in Biological Systems: Their natural occurrence and biological activities*, Pion, London, 1977
- Schurr A., Ho B.T. & Schoolar J.C. (1984) The effects of disulfiram on rat liver mitochondrial monoamine oxidase. *Life Sci.* **22**, 1979-1984
- Scott R.B., Reddy K.S., Husain K. et al. (2000) Dose response of ethanol on antioxidant defense system of liver, lung and kidney in rat. *Pathophysiol.* **7**, 25-32
- Seeman P. & Lee T. (1974) The dopamine-releasing actions of neuroleptics and ethanol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **190**, 131-135
- Seeman P. (1972) The membrane actions of anesthetics and tranquilizers. *Pharmacol. Rev.* **24**, 583-655
- Self T.H., Chrisman C.R., Baciewicz A.M. et al. (1999) Isoniazid drug and food interactions. *Am. J. Med. Sci.* **317**(5), 304-311
- Sellin S., Holmquist B., Mannervik B. et al. (1991) Oxidation and reduction of 4-hydroxyalkenals catalyzed by isozymes of human alcohol dehydrogenase. *Biochemistry* **30**, 2514-2518



Sellman R., Kanto J., Rajjola E. et al. (1975) Human and animal study on elimination from plasma and metabolism of diazepam after chronic alcohol intake. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 36, 33-38

Sharkawi M. (1980) Inhibition of alcohol dehydrogenase by disulfiram: possible relation to the disulfiram-ethanol reaction. *Life Sci.* 27, 1939-1945

Shen M.L., Johnson K.L., Mays D.C. et al. (2001) Determination of in vivo adducts of disulfiram with mitochondrial aldehyde dehydrogenase. *Biochem. Pharmacol.* 61(5), 537-545

Shimizu M., Lasker J.M., Tsutsumi M. et al. (1990) Immunohistochemical localization of ethanol inducible P450IIE1 in the rat alimentary tract. *Gastroenterology* 99, 1044-1053

Signorelli S. (1959) Tolerance for alcohol in patients on chlorpropamide. *Ann. NY Acad. Sci.* 74, 810-816

Simonian J., Haldar D., Delmaestro E. et al. (1992) Effect of disulfiram (DS) on mitochondria from rat hippocampus: metabolic compartmentation of DS neurotoxicity. *Neurochem. Res.* 17(10), 1029-1035

Simonson S.G., Zhang J., Canada Jr A.T. et al. (1993) Hydrogen peroxide production by monoamine oxidase during ischemia-reperfusion in the rat brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 13, 125-134

Sladek N.E. (2003) Human Aldehyde Dehydrogenases: Potential Pathological, Pharmacological and Toxicological Impact. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 17 (1), 7-19

Sohda T., Shimizu M., Kamimura S. et al. (1993) Immunohistochemical demonstration of ethanol inducible P-450 2E1 in rat brain. *Alcohol Alcohol. (Suppl.)* 1B, 69-75

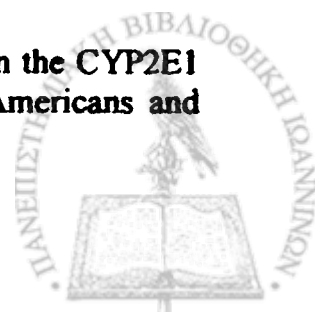
Solanto M.V. (1998) Neuropsychopharmacological mechanisms of stimulant drug action in attention-deficit hyperactivity disorder: a review and integration. *Behav. Brain Res.* 94, 127-152

Sophos N.A., Pappa A., Ziegler T. et al. (2001) Aldehyde dehydrogenase gene superfamily: the 2000 update. *Chem- Biol. Interact.* 130-132(1-3), 323-337

Sotaniemi E.A., Anttila M., Rautio A. et al. (1981) Propranolol and sotalol metabolism after a drinking party. *Clin. Pharmacol. Ther.* 29, 705-710

Snow P.J.D., Lennard-Jones J.E., Curzon G. et al. (1955) Humoral effects of metastasizing carcinoid tumours. *Lancet* 2, 1004-1009

Stephens E.A., Taylor J.A., Kaplan N. et al. (1994) Ethnic variation in the CYP2E1 gene: polymorphism analysis of 695 African-Americans, European-Americans and Taiwanese. *Pharmacogenetics* 4, 185-192



Stewart M.J., Dipple K.M., Estonius M. et al. (1998) Binding and activation of the human aldehyde dehydrogenase 2 promoter by hepatocyte nuclear factor 4. *Biochim. Biophys. Acta* 1399, 181-186

Stewart M.J., Malek K. & Crabb D.W. (1996) Distribution of messenger RNAs for aldehyde dehydrogenase 1, aldehyde dehydrogenase 2 and aldehyde dehydrogenase 5 in human tissues. *J. Invest. Med.* 44, 42-46

Stroeher V.L., Boothe J.G. & Good A.G. (1995) Molecular cloning and expression of a turgor-responsive gene in *Brassica napus*. *Plant. Mol. Biol.* 27, 541-551

Tabakoff B., Anderson R. & Alivisatos S.G.A. (1973) Enzymatic reduction of "biogenic" aldehydes in brain. *Mol. Pharmacol.* 9, 428-437

Takahashi T., Lasker J.M., Rosman A.S. et al. (1993) Induction of cytochrome P-4502E1 in the human liver by ethanol is caused by a corresponding increase in encoding messenger RNA. *Hepatology* 17, 236-245

Taylor J.A.T. (1964) Metronidazole: A new agent for combined somatic and psychic therapy of alcoholism. *Bull. Los Angeles Neurol. Soc.* 29, 58

Terelius Y., Norsten-Hoog C., Cronholm T. et al. (1991) Acetaldehyde as a substrate for ethanol-inducible cytochrome P450 (CYP2E1). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 179(1), 689-694

Thevananther S. & Brecher A.S. (1993) Acetaldehyde inhibits angiotensin-converting enzyme activity of bovine lung. *Alcohol* 10(6), 545-548

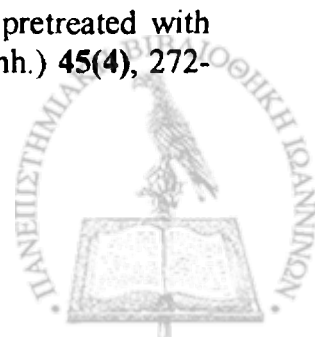
Thielen R.J., Morzorati S.L. & McBride W.J. (2001) Effects of ethanol on the dorsal raphe nucleus and its projections to the caudate putamen. *Alcohol* 23(3), 131-139

Tillonen J. Ethanol, acetaldehyde and gastrointestinal flora: regulatory factors and pathophysiological consequences of microbial ethanol oxidation and acetaldehyde production in digestive tract. Ph.D Thesis, Helsinki, 2000

Tillonen J., Vakevainen S., Salaspuro V. et al. (2000) Metronidazole increases intracolonic but not peripheral blood acetaldehyde in chronic ethanol-treated rats. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 24(4), 570-575

Tomlinson A.J., Johnson K.L., Lam-Holt J. et al. (1997) Inhibition of human mitochondrial aldehyde dehydrogenase by the disulfiram metabolite S-methyl-N,N-diethylthiocarbamoyl sulfoxide: structural characterization of the enzyme adduct by HPLC-tandem mass spectrometry. *Biochem. Pharmacol.* 54(11), 1253-1260

Tottmar O. & Hellstrom E. (1979) Blood pressure response to ethanol in relation to acetaldehyde levels and dopamine-beta-hydroxylase activity in rats pretreated with disulfiram, cyanamide and coprine. *Acta Pharmacol. Toxicol. (Copenh.)* 45(4), 272-281



Tottmar S.O.C., Peterson H. & Kiessling K.H. (1973) The subcellular distribution and properties of aldehyde dehydrogenase in rat liver. *Biochem. J.* 135, 577-586

Tsutsumi M., Leo M.A., Kim C. et al. (1990) Interaction of ethanol with enflurane metabolism and toxicity: Role of P450IIE1. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 14, 174-179

Tsutsumi M., Takada A. & Takase S. (1988) The intralobular distribution of aldehyde dehydrogenase isozyme: Differences with respect to species. *Alcohol* 5, 33-38

Turska E., Konopka K. & Turski W. (1977) The effect of chloramphenicol and cycloheximide on the activity of enzyme "markers" of mitochondrial substructures of the rat liver. *Acta Biol. Med. Ger.* 36(9), 1231-1236

Tygstrup N., Ranek L., Ramsøe K. & Keiding S. The effect of submaximal ethanol elimination on hepatic redox levels in man. In: *Alcohol and Aldehyde Metabolizing Systems*, pp. 469-481, Thurman RG, Yonetani T, Williamson JR & Chance B (eds) Academic Press, New York, 1974

Tynes R., Sabourin P.J., Hodgson E. et al. (1986) Formation of hydrogen peroxide and N-hydroxylated amines catalyzed by pulmonary flavine-containing monooxygenases in the presence of primary alkylamines. *Arch. Biochem. Biophys.* 251, 654-664

Τζόνσον Ε. Σημειώσεις Λειτουργικής Νευροανατομίας, Ιωάννινα, 2000

Udupa S.L. (1995) Inhibition of lysyl oxidase by isoniazid and its effect on wound healing. *Indian J. Exp. Biol.* 33(4), 278-280

Umeno M., Song B.J., Kozac C. et al. (1988a) The rat P-450IIE1 gene: complete intron and exon sequence, chromosome mapping and correlation of developmental expression with specific 5' cytosine demethylation. *J. Biol. Chem.* 263, 4956-4962

Umeno M., McBride O.W., Yang C.S. et al. (1988b) Human ethanol-inducible P-450IIE1: complete gene sequence, promoter characterization, chromosomes mapping and cDNA directed expression. *Biochemistry* 27, 9006-9013

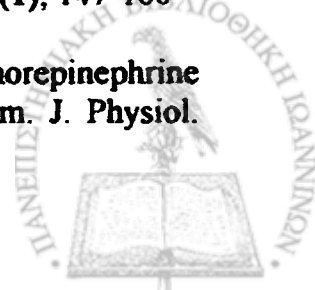
Ungerstedt U. Central dopamine mechanisms and unconditioned behaviour. In: *Neurobiology of dopamine*. Horn AS et al., (eds.), Academic Press, 1979

Uri J.V. & Parks D.B. (1983) Disulfiram-like reaction to certain cephalosporins. *Ther. Drugs Mon.* 5, 219-224

Vallee B.L. & Bazzone T.J. (1983) Isozymes of human liver alcohol dehydrogenase. *Curr. Top. Biol. Med. Res.* 8, 219-244

Van Beek M.J. & Piette W.W. (2001) Antimalarials. *Dermatol. Clin.* 19(1), 147-160

Van Huysse J.W. & Bealer S.L. (1991) Central nervous system norepinephrine release during hypotension and hyperosmolality in conscious rats. *Am. J. Physiol.* 260, R1071-1076



Vasiliou V. & Marselos M. (1989) Tissue distribution of inducible aldehyde dehydrogenase activity in the rat after treatment with Phenobarbital or methylcholanthrene. *Pharmacol. Toxicol.* **64**(1), 39-42

Vasiliou V., Malamas M. & Marselos M. (1986) The mechanism of alcohol intolerance produced by various therapeutic agents. *Acta Pharmacol. et toxicol.* **58**, 305-310

Vasiliou V., Pappa A. & Petersen D.R. (2000) Role of aldehyde dehydrogenases in endogenous and xenobiotic metabolism *Chem-Biol. Interact.* **129**, 1-19

Vessell E.S., Page J.G. & Passananti G.T. (1971) Genetic environmental factors affecting ethanol metabolism in man. *Clin. Pharmacol. Ther.* **12**, 192-201

Visapaa J.P., Tillonen J.S., Kaihovaara P.S. et al. (2002) Lack of disulfiram-like reaction with metronidazole and ethanol. *Ann. Pharmacother.* **36**(6), 971-974

Vogt M. (1954) The concentration of sympathin in different parts of central nervous system under normal condition and after the administration of drugs. *J. Physiol.* **123**, 451-481

Volkow N.D., Wang G-J., Maynard L. et al. (2002) Effects of alcohol detoxification on dopamine D2 receptors in alcoholics: a preliminary study. *Psych. Res.: Neuroimag.* **116**, 163-172

Von Euler U.S. (1946) A specific sympathomimetic ergone in adrenergic nerve fibres (sympathin) and its relation to adrenaline and noradrenaline. *Acta Physiol. Scand.* **12**, 73-97

Wall T.L., Garcia-Andrade C., Thomasson H.R. et al. (1996) Alcohol elimination in Native American Mission Indians: an investigation of inter-individual variation. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **20**, 1159-64

Weiner H. (1987) Subcellular localization of acetaldehyde oxidation on liver. *Ann. NY Acad. Sci.* **492**, 25-34

Williams E.E. (1937) Effects of alcohol on workers with carbon disulfide. *JAMA* **109**, 1472-1473

Williamson J.R., Scholz R., Browning E.T. et al. (1969) Metabolic effects of ethanol in perfused rat liver. *J. Biol. Chem.* **25**, 5044-5054

Wise R.A. (1988) The neurobiology of craving: implications for the understanding of addiction. *J. Abnorm. Psychol.* **97**, 118-132

Yamanaka Y., Yamamoto T., & Egashira T. (1983) Effects of cepem antibiotics on rat liver aldehyde dehydrogenases. *Japan. J. Pharmacol.* **33**, 717-723



Yasunami M., Chen C.S. & Yoshida A. (1991) A human alcohol dehydrogenase gene (ADH6) encoding an additional class of isozyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**, 7610-7614

Yokoyama A., Muramatsu T., Omori T. et al. (1999) Alcohol and aldehyde dehydrogenase gene polymorphisms influence susceptibility to esophageal cancer in Japanese alcoholics. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **23**, 1705-1710

Yin S.J., Li T.K. Genetic polymorphism and properties of human alcohol and aldehyde dehydrogenases: Implications for ethanol metabolism and toxicity. In: *Molecular Mechanisms of Alcohol: Neurobiology and Metabolism*, pp. 227-247. Sun GY, Rudeen PK, Wood WG, Wei YH, Sun AY (eds). Clifton, NJ: Humana Press, 1989

Yoshida A., Huang I.-Y. & Ikawa M. (1984) Molecular abnormality of an inactive aldehyde dehydrogenase variant commonly found in Orientals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**, 258-261

Yoshimoto K., McBride W.J., Lumeng L. et al. (1992) Ethanol enhances the release of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens of HAD and LAD lines of rats. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **16**(4), 781-785

Yourick J.J. & Faiman M.D. (1987) Diethyldithiocarbamic acid-methyl ester: a metabolite of disulfiram and its alcohol sensitizing properties in the disulfiram-ethanol reaction. *Alcohol.* **4**(6), 463-467

Yourick J.J. & Faiman M.D. Disulfiram metabolism as a requirement for the inhibition of rat liver mitochondrial low Km aldehyde dehydrogenase. *Biochem. Pharmacol.* **42**(7), 1361-1366

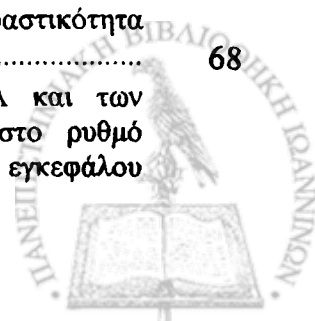
Zheng Y.W., Bey M., Liu H. et al. (1993) Molecular basis of the alcohol dehydrogenase-negative deer mouse. Evidence for deletion of the gene for class I enzyme and identification of a possible new enzyme class. *J. Biol. Chem.* **268**, 24933-24939

Zimatkin S.M. & Deitrich R.A. (1997) Ethanol metabolism in the brain. *Addict. Biol.* **2**, 387-399



ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 1:	Σύγχρονη ονοματολογία της ADH σε ανθρώπους και τρωκτικά.....	4
Πίνακας 2:	Σύγχρονη ονοματολογία των ισοενζύμων της ALDH στον άνθρωπο: γονίδια, χρωμοσωμιακή εντόπιση, υποστρώματα.....	9
Πίνακας 3:	Παρενέργειες από τη χρόνια χρήση δισουλφιράμης.....	34
Πίνακας 4:	Συγκεντρωτικός πίνακας των φαρμάκων που χορηγήθηκαν, των δόσεων και του διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε στα πλαίσια της παρούσας μελέτης.....	41
Πίνακας 5:	Επίδραση της δισουλφιράμης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH, του CYP2E1 και της CAT επίμυων.....	49
Πίνακας 6:	Επίδραση της δισουλφιράμης στα επίπεδα του DOPAC, του HVA και του ρυθμού ανακύκλωσης της DA (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	52
Πίνακας 7:	Επίδραση της χλωραμφαινικόλης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH, του CYP2E1 και της CAT επίμυων.....	53
Πίνακας 8:	Επίδραση της χλωραμφαινικόλης στα επίπεδα της DA και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	54
Πίνακας 9:	Επίδραση της δισουλφιράμης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH, του CYP2E1 και της CAT επίμυων.....	56
Πίνακας 10:	Επίδραση της μετρονιδαζόλης στα επίπεδα της DA και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	57
Πίνακας 11:	Επίδραση της κοτριμοξαζόλης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH, του CYP2E1 και της CAT επίμυων.....	59
Πίνακας 12:	Επίδραση της κοτριμοξαζόλης στα επίπεδα της DA και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	60
Πίνακας 13:	Επίδραση της κεφαμανδόλης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH, του CYP2E1 και της CAT επίμυων.....	62
Πίνακας 14:	Επίδραση της κεφαμανδόλης στα επίπεδα της DA, των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	63
Πίνακας 15:	Επίδραση της γκριζεοφουλβίνης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH, του CYP2E1 και της CAT επίμυων.....	65
Πίνακας 16:	Επίδραση της γκριζεοφουλβίνης στα επίπεδα της DA και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	66
Πίνακας 17:	Επίδραση της φουραζολιδόνης στην ηπατική ενζυμική δραστηριότητα της ADH, του CYP2E1 και της CAT επίμυων.....	68
Πίνακας 18:	Επίδραση της φουραζολιδόνης στα επίπεδα της DA και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου	

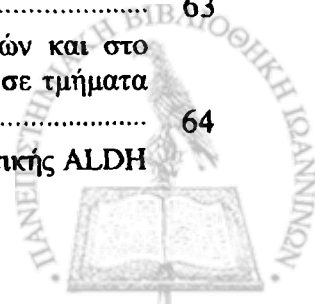


	επίμυων.....	69
Πίνακας 19:	Επίδραση της κινακρίνης στην ηπατική ενζυμική δραστικότητα της ADH, του CYP2E1 και της CAT επίμυων.....	71
Πίνακας 20:	Επίδραση της κινακρίνης στα επίπεδα της DA, των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	72
Πίνακας 21:	Επίδραση της ισονιαζίδης στην ηπατική ενζυμική δραστικότητα της ADH, του CYP2E1 και της CAT επίμυων.....	74
Πίνακας 22:	Επίδραση της ισονιαζίδης στα επίπεδα της DA και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	75
Πίνακας 23:	Επίδραση της χλωροπροκαμίδης στην ηπατική ενζυμική δραστικότητα της ADH, του CYP2E1 και της CAT επίμυων.....	77
Πίνακας 24:	Επίδραση της χλωροπροκαμίδης στα επίπεδα της DA και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	78
Πίνακας 25:	Επίδραση της προκαρβαζίνης στην ηπατική ενζυμική δραστικότητα της ADH, του CYP2E1 και της CAT επίμυων.....	80
Πίνακας 26:	Επίδραση της προκαρβαζίνης στα επίπεδα της DA και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	81
Πίνακας 27:	Επίδραση της προπρανολόλης στην ηπατική ενζυμική δραστικότητα της ADH, του CYP2E1 και της CAT επίμυων.....	83
Πίνακας 28:	Επίδραση της προπρανολόλης στα επίπεδα της DA και των μεταβολιτών της (DOPAC και HVA), καθώς και στο ρυθμό ανακύκλωσής της (DOPAC+HVA/DA) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	84
Πίνακας 29:	Επιδράσεις των υπό μελέτη φαρμάκων, στη δραστικότητα των ηπατικών ενζύμων μεταβολισμού της αιθανόλης, καθώς και στα επίπεδα των βιογενών μονοαμινών του Κ.Ν.Σ. και το ρυθμό ανακύκλωσής τους (turn over).....	105



ΣΧΗΜΑΤΑ

Σχήμα 1:	Μοντέλο ρύθμισης της έκφρασης της ALDH2.....	11
Σχήμα 2:	Σύνθεση και καταβολισμός της σεροτονίνης.....	14
Σχήμα 3:	Κατανομή των κύριων σεροτονινεργικών οδών στο κεντρικό νευρικό σύστημα των αρουραίων.....	15
Σχήμα 4:	Μεταβολική οδός της ντοπαμίνης.....	19
Σχήμα 5:	Κατανομή των κύριων ντοπαμινεργικών οδών στο κεντρικό νευρικό σύστημα των αρουραίων.....	20
Σχήμα 6:	Μεταβολική οδός της νοραδρεναλίνης.....	23
Σχήμα 7:	Κατανομή των κύριων νοραδρενεργικών οδών στο κεντρικό νευρικό σύστημα.....	24
Σχήμα 8:	Μεταβολική ενεργοποίηση της δισουλφιράμης.....	28
Σχήμα 9:	Επίδραση της δισουλφιράμης στη δραστικότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων.....	48
Σχήμα 10:	Επίδραση της δισουλφιράμης στα επίπεδα των κατεχολαμινών τμημάτων εγκεφάλου επίμυων.....	50
Σχήμα 11:	Επίδραση της δισουλφιράμης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	51
Σχήμα 12:	Επίδραση της χλωραμφαινικόλης στη δραστικότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων.....	53
Σχήμα 13:	Επίδραση της χλωραμφαινικόλης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων.....	54
Σχήμα 14:	Επίδραση της χλωραμφαινικόλης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	55
Σχήμα 15:	Επίδραση της μετρονιδαζόλης στη δραστικότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων.....	56
Σχήμα 16:	Επίδραση της μετρονιδαζόλης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων.....	57
Σχήμα 17:	Επίδραση της μετρονιδαζόλης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	58
Σχήμα 18:	Επίδραση της κοτριμοξαζόλης στη δραστικότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων.....	59
Σχήμα 19:	Επίδραση της κοτριμοξαζόλης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων.....	60
Σχήμα 20:	Επίδραση της κοτριμοξαζόλης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	61
Σχήμα 21:	Επίδραση της κεφαμανδόλης στη δραστικότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων.....	62
Σχήμα 22:	Επίδραση της κεφαμανδόλης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων.....	63
Σχήμα 23:	Επίδραση της κεφαμανδόλης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	64
Σχήμα 24:	Επίδραση της γκριζεοφουλβίνης στη δραστικότητα της ηπατικής ALDH	



	(ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων.....	65
Σχήμα 25:	Επίδραση της γκριζεοφουλβίνης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων.....	66
Σχήμα 26:	Επίδραση της γκριζεοφουλβίνης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	67
Σχήμα 27:	Επίδραση της φουραζολιδόνης στη δραστικότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων.....	68
Σχήμα 28:	Επίδραση της φουραζολιδόνης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων.....	69
Σχήμα 29:	Επίδραση της φουραζολιδόνης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	70
Σχήμα 30:	Επίδραση της κινακρίνης στη δραστικότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων.....	71
Σχήμα 31:	Επίδραση της κινακρίνης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων.....	72
Σχήμα 32:	Επίδραση της κινακρίνης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	73
Σχήμα 33:	Επίδραση της ισονιαζίδης στη δραστικότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων.....	74
Σχήμα 34:	Επίδραση της ισονιαζίδης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων.....	75
Σχήμα 35:	Επίδραση της ισονιαζίδης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	76
Σχήμα 36:	Επίδραση της χλωροπροπαμίδης στη δραστικότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων.....	77
Σχήμα 37:	Επίδραση της χλωροπροπαμίδης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων.....	78
Σχήμα 38:	Επίδραση της χλωροπροπαμίδης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	79
Σχήμα 39:	Επίδραση της προκαρβαζίνης στη δραστικότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων.....	80
Σχήμα 40:	Επίδραση της προκαρβαζίνης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων.....	81
Σχήμα 41:	Επίδραση της προκαρβαζίνης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	82
Σχήμα 42:	Επίδραση της προπρανολόλης στη δραστικότητα της ηπατικής ALDH (ALDH2 και ALDH1A1) επίμυων.....	83
Σχήμα 43:	Επίδραση της προπρανολόλης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης τμημάτων εγκεφάλου επίμυων.....	84
Σχήμα 44:	Επίδραση της προπρανολόλης στα επίπεδα των ινδολαμινών και στο ρυθμό ανακύκλωσης (turn over) της 5-HT (5-HIAA/5-HT) σε τμήματα εγκεφάλου επίμυων.....	85



ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

A: αδενίνη

ADH: αλκοολική αφυδρογονάση

ALDH: αλδεϋδική αφυδρογονάση

C: κυτοσίνη

CAT: καταλάση

CEF: κεφαμανδόλη

CHL: χλωραμφαινικόλη

CHLP: χλωροπροπαμίδη

COMT: κατεχολο-O-μεθυλοτρανσφεράση

COT: κοτριμοξαζόλη

CYP: κυτόχρωμα P-450

Cys: κυστεΐνη

DA: ντοπαμίνη

DBH: β-υδροξυλάση της ντοπαμίνης

DDTC: διαιθυλοδιθειοκαρβαμίδιο

DDTC-Me: μεθυλεστέρας του διαιθυλοδιθειοκαρβαμιδίου

DDTC-MeSO: S-μεθυλ N,N-διαιθυλοδιθειοκαρβαμидικό σουλφοξείδιο

DHPG: 3,4-διϋδροξυφαινυλγλυκόλη

DHMA: 3,4-διϋδροξυμανδελικό οξύ

DHPA: 3,4-διϋδροξυφαινυλακεταλδεϋδη

DIS: δισουλφιράμη

DOPAC: 3,4-διϋδροξυφαινυλοξικό οξύ

ENY: εγκεφαλονωτιαίο υγρό

FAD: φλαβινο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο



FUR: φουραζολιδόνη

G: γουανίνη

GABA: γ-αμινοβουτυρικό οξύ

GRIS: γκριζεοφουλβίνη

5-HIAA: 5-υδροξυ-ινδολο-3-οξικό οξύ

5-HIAL: 5-υδροξυ-ινδολοακεταλδεϋδη

5-HTOL: 5-υδροξυτρυπτοφόλη

5-HT: 5-υδροξυτρυπταμίνη (σεροτονίνη)

5-HTP: 5-υδροξυτρυπτοφάνη

HVA: ομοβανιλλικό οξύ

i.p: ενδοπεριτοναϊκώς

ISO: ισονιαζίδη

kDa: kilodalton, μονάδα μοριακής μάζας $\times 10^3$

L-DOPA: L-διϋδροξυφαινυλαλανίνη

MEOS: μικροσωματικό ενζυμικό σύστημα οξείδωσης αιθανόλης

MAO-A: μοναμινοξειδάση A

MAO-B: μοναμινοξειδάση B

MET: μετρονιδαζόλη

MHPA: 3-μεθοξυ-4-υδροξυ-φαινυλακεταλδεϋδη

MHPG: 3-μεθοξυ-4-υδροξυ-φαινυλγλυκόλη

m-PST: φαινολική θειοτρανσφεράση

3-MT: 3-μεθοξυτυραμίνη

NA: νοραδρεναλίνη

NAD(H): νικοτιναμίδιο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο (ανηγμένο)

NADP(H): φωσφορικό νικοτιναμίδιο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο (ανηγμένο)



PB: φαινοβαρβιτάλη

PNMT: N, μεθυλοτρανσφεράση της φαινολαιθανολαμίνης

PROC: προκαρβαζίνη

PROP: προπρανολόλη

QUIN: κινακρίνη

T: θυμίνη

SAM: S-αδενοσυλομεθειονίνη

S.D.: τυπική απόκλιση

TIQ: τετραϋδρο-ισοκινολίνη

VMA: βανιλυλμανδελικό οξύ

v/v: όγκος κατ' όγκο

w/v: βάρος κατ' όγκο

