

*«В одном мгновеньи видеть вечность,  
Огромный мир — в зерне песка,  
В единой горсти — бесконечность,  
И небо — в чашечке цветка»*

*У. Блейк*

## **АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗА МЛЕКОПИТАЮЩИХ — ОБЪЕКТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МЕДИЦИНЫ**

© 2003 г.

**И. П. АШМАРИН**

*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,  
Москва*

I. Введение. II. Алкогольдегидрогеназы и катализируемые ими реакции. III. Участие АДГ в интегральных биохимических и физиологических процессах. IV. Эволюция алкогольдегидрогеназ млекопитающих. V. Роль АДГ в механизмах влечения к алкоголю. VI. Заключение.

### **I. ВВЕДЕНИЕ**

Наряду с продолжающейся дивергенцией науки и формированием новых дисциплин происходят также процессы объединения усилий специалистов разного профиля в изучении ключевых реакций, сулящих тот или иной прорыв как в фундаментальных, так и в прикладных направлениях. Формируются своеобразные области глубокого слияния интересов, концепций и методов разных дисциплин. При этом трудно бывает указать ведущую область знаний, очевидна лишь плодотворность таких взаимодействий. Одна из таких областей исследования сформировалась вокруг реакций, катализируемых алкогольдегидрогеназой (АДГ).

Важным импульсом к фундаментальным исследованиям АДГ послужила медицинская и социальная проблема — все возрастающее распространение алкоголизма во многих регионах мира.

Два фермента занимают ключевые позиции в метаболизме этанола — алкогольдегидрогеназа (АДГ) и ацетальдегиддегидрогеназа

---

*Принятые сокращения:* АДГ — алкогольдегидрогеназа, АцДГ — ацетальдегиддегидрогеназа, КЦОР — короткоцепочечные оксидоредуктазы, МАО — моноаминоксидаза, 5-ГИАА — 5-гидрокси-индол-3-ацетальдегид.

*Адрес для корреспонденции:* факс (095)-939-3355

(А<sub>ц</sub>ДГ). Существенная роль принадлежит также системе цитохромов и относительно небольшая — каталазе. С окислением этанола связана преимущественно АДГ классов I и IV. Это определило особое внимание к этим энзимам, тем более, что содержание АДГ I особенно значительно в организме, в частности, в печени. Однако в течение последних 15–17 лет существенно расширились представления о функциях всех шести известных сейчас классов алкогольдегидрогеназ. Стало очевидным их значение как защитников организма против ряда эндо- и экзогенных токсических агентов и канцерогенов. Одновременно оказалось, что в определенных процессах АДГ, напротив, продуцируют повреждающие соединения. Далее было установлено участие АДГ в синтезе и катаболизме ряда нейромедиаторов, гормонов и других регуляторных соединений, а также ω-гидроокис жирных кислот. Весь этот сложный комплекс функций сочетается с данными об эволюции и этнических особенностях распространения изоформ АДГ, позволяющих понять основы неодинакового отношения к этанолу различных популяций людей. Наконец, иммунохимические исследования открыли новые перспективы лечения алкоголизма. Настоящий обзор имеет целью обобщить именно функциональные характеристики АДГ в связи с рядом фундаментальных и медицинских аспектов проблемы.

Всесторонняя характеристика функций всего сложного комплекса АДГ необходима также для оценки своеобразия или сходства с функциями открытых недавно короткоцепочечных оксидоредуктаз (КЦОР). В данном обзоре мы лишь в особых случаях касаемся активности последних.

## II. АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗЫ И КАТАЛИЗИРУЕМЫЕ ИМИ РЕАКЦИИ

Алкогольдегидрогеназы млекопитающих (алкоголь-НАД<sup>+</sup>оксидоредуктазы) являются димерами, состоящими из субъединиц с молекулярным весом около 40000 и содержащими ион Zn<sup>2+</sup>. В каждой субъединице имеются области, участвующие в образовании центров связывания субстрата и кофермента — НАД. Классификация АДГ была основана на различиях электрофоретической подвижности. Эти различия оказались соответствующими существенным различиям структур и функций энзимов. В настоящее время выявлено 6 классов АДГ. Межклассовые различия первичной структуры АДГ млекопитающих охватывают 40–50% аминокислотных остатков. Межвидовые различия не превышают 30%. Субъединицы, образующие энзим, могут кодироваться идентичными или разными генами. Так, АДГ I человека представлена многочисленными изозимами, которые явля-

ются парными комбинациями трех основных субъединиц –  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ , делящихся, в свою очередь, на варианты  $\alpha$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ,  $\gamma_1$  и  $\gamma_2$  (аллели – АДГ<sub>1</sub>, АДГ<sub>2</sub><sup>1</sup>, АДГ<sub>2</sub><sup>2</sup>, АДГ<sub>2</sub><sup>3</sup>, АДГ<sub>3</sub><sup>1</sup>, АДГ<sub>3</sub><sup>2</sup>). В результате кинетические характеристики и ряд особенностей действия изозимов класса I значительно различаются. АДГ классов II, III и IV состоят из пар идентичных субъединиц –  $\pi$ ,  $\chi$  и  $\sigma$ , соответственно [10, 12, 16, 22].

Наличие не менее чем 50% общих элементов первичной структуры АДГ разных видов млекопитающих и разных классов этого семейства энзимов определяет высокий уровень их иммунологического родства [3]. Вместе с тем, это же обстоятельство определяет возможность индукции аутоантител к собственной АДГ при иммунизации к АДГ другого вида млекопитающих [30].

Субстратная специфичность АДГ различных классов имеет существенные различия (табл. 1). Прежде всего, необходима оценка их способности к окислению этанола. В широком диапазоне концентраций – это функция именно АДГ I и АДГ IV. Важно подчеркнуть, что катализируемая этими энзимами реакция



характеризуется положением равновесия, когда при концентрациях, близких к физиологическим, оно смещено влево. Это отражает детоксицирующее действие АДГ I и АДГ IV по отношению к ацетальдегиду, постоянно образующемуся при многих метаболических процессах. Известно его негативное действие на широкий круг белков и структур. Формирующиеся при этом концентрации этанола (1–10 мкг/мл крови) заведомо нетоксичны. Однако ситуация принципиально меняется при поступлении этанола извне. Даже потребление этанола человеком в дозах, не вызывающих значительного опьянения, повышает концентрацию в крови до 0,1–1 мг/мл, и равновесие реакции смещается вправо. АДГ I и IV становятся генераторами ацетальдегида. Повреждая ряд энзимов, надмолекулярных образований, мембран и т.п., ацетальдегид индуцирует разнообразные патологические процессы. В числе таких процессов находится модификация части аминокислотных групп белков с образованием ацетальдегидных аддуктов [23]. По-видимому, этот процесс лежит в основе образования аутоантител к АДГ I при длительном потреблении этанола. В экспериментах на крысах невысокие, но достоверные титры аутоантител к АДГ выявляются после 4–6-й недели алкоголизации. По-видимому, модифицированная ацетальдегидом АДГ воспринимается иммунной системой как гетерологичный антиген. В то же время ацетальдегид служит аверсивным фактором, вызывающим синдром, снижающий влечение к этанолу, тормозящий развитие алкоголизма и даже способствующий его лечению. Как известно, это обстоятельство используется



в медицине [2]. Такая двойственность роли АДГ I и IV еще более усиливается тем фактом, что по крайней мере один из изоформ АДГ I ( $\gamma\gamma$ ) способен катализировать реакцию дисмутации, в результате которой возможно окисление ацетальдегида до ацетата [3, 4]. Важность этого последнего процесса при физиологических концентрациях этанола и ацетальдегида значительна. Однако при поступлении больших количеств этанола извне большая часть ацетальдегида окисляется ацетальдегиддегидрогеназой.

Очень ограниченное участие в окислении этанола принимает АДГ II.

Особо следует отметить относительно невысокую способность АДГ I и IV окислять метанол. АДГ II и III вовсе не обладают такой активностью.

Значение АДГ классов II и III в реакциях детоксикации спиртов (или, напротив, образования токсических альдегидов) связано преимущественно с превращениями длинноцепочечных алкоголей (табл. 1). Важной специальной функцией АДГ III является окисление формальдегида в реакции с участием глутатиона. Эта функция сопряжена с рядом процессов метаболизма одноуглеродных радикалов в организме.

В числе субстратов алкогольдегидрогеназ широко представлены соединения, участвующие в синтезе ряда эндогенных нейрорегуляторов и гормонов, а также их катаболитов (табл. 1) [18, 28, 32]. В частности – это катаболиты катехоламинов и серотонина, многие катаболиты стероидных гормонов, промежуточные продукты синтеза холестерина и желчных кислот, а также ретинол (преимущественно или исключительно свободный ретинол, не связанный с белками-носителями) [15]. Все это определяет рассматриваемый в следующем разделе спектр интегральных функций АДГ, далеко выходящий за рамки метаболизма алкоголей.

Как для фундаментальных, так и для медицинских исследований АДГ большое значение имеют поиски достаточно специфичных и особенно «переносимых» *in vivo* ингибиторов АДГ [8, 11, 13, 21, 27 и др.]. Естественно, наиболее широко они исследованы в отношении окисляющих этанол АДГ I и IV. Среди применимых в экспериментах *in vivo* следует особо отметить 4-метилпиразол, производные адамантана, метронидазол, циметидин и меркаптаны. Заметим, что производные адамантана зарекомендовали себя как индукторы выхода дофамина, используемые при лечении паркинсонизма и терапии гриппа. Метронидазол является ингибитором роста ряда протозоа и анаэробных бактерий. Циметидин – блокатор рецепторов гистидина  $H_2$  – известен как средство терапии язвы желудка. Некоторые меркаптаны используются при профилактике и лечении лучевой болезни.

АДГ принципиально отличаются по структуре от КЦОР, хотя функции их в ряде реакций оказались близкими. КЦОР являются двух-четырёхдоменными ферментами с молекулярным весом около 100–140 тыс. Отличие их от АДГ подчеркивается существованием особых генетических структур, кодирующих КЦОР [14, 17]. По крайней мере, часть реакций, катализируемых КЦОР, достаточно специфичны. Примером являются реакции окисления ретинола, но только в составе комплекса ретинола с белком-носителем [14], а также разнообразные реакции метаболизма мужских и женских половых гормонов [17]. Вместе с тем некоторые реакции, катализируемые КЦОР, пока трудно дифференцировать с полной определенностью. Во всяком случае, ведущая роль АДГ в реакциях превращения ксенобиотиков, включая разнообразные алкоголи, и в целом ряде реакций синтеза и катаболизма перечисленных выше соединений не вызывает сомнений.

### **III. УЧАСТИЕ АДГ В ИНТЕГРАЛЬНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ**

Из интегральных биохимических и физиологических процессов, связанных с АДГ (табл. 2), особого внимания заслуживают те, в которых эти ферменты занимают ключевые позиции. К ним относится, прежде всего, окисление ретинола (витамина А) в ретиналь (ближайший предшественник ретиноевой кислоты). Высокая активность АДГ I и, в особенности, АДГ IV характерна для адреналового слоя надпочечников, признанного теперь в качестве главного центра синтеза ретиноевой кислоты [15, 18]. Очевидно также функциональное значение АДГ-зависимого синтеза ретиналя в сетчатке глаза и в подкожной клетчатке [9]. При этом окисляется именно свободный ретинол в цитоплазме клетки. Ретинол, связанный с белком-носителем, окисляется в митохондриях КЦОР. Установлено также важное значение АДГ IV и АДГ I на ранних стадиях развития надпочечников в эмбриогенезе.

В поддержании оптимального уровня нейромедиаторов важную роль выполняют ферменты их катаболизма. Наряду с реакциями окисления аминокислот с образованием карбоксильных групп происходит восстановление части промежуточных альдегидов. Пример такого процесса представлен на рис. 1. Часть 5-гидроксииндол-3-ацетальдегида, образующегося из серотонина, восстанавливается до 5-гидроксииндола. Равновесие этой реакции, катализируемой АДГ I, смещено в сторону образования 5-гидроксииндола, выделяющегося далее с мочой [7, 16]. Пока неясно, в каких именно условиях предпочтителен синтез 5-гидроксииндола или 5-гидроксииндол-3-уксусной кислоты. Однако в V разделе настоящей статьи

Таблица 2  
**Интегральные характеристики процессов, протекающих с участием АДГ млекопитающих**

Класс АДГ	Преимущественная локализация	Детоксикация эндогенных соединений	Детоксикация экзогенных соединений (или трансформация в другие токсичные продукты)	Участие в катаболизме и синтезе биорегуляторов и других эндогенных соединений
I	Печень В других органах – значительно меньше НЕТ в мозге	Ацетальдегида – при физиологических концентрациях этанола Некоторых эндогенных алифатических и ароматических альдегидов	Этанол* трансформируется (при поступлении извне) Трансформация ксенобиотиков*, содержащих гидроксильные и альдегидные группы, в т.ч. дегидриратов 1,3-бутандиена (содержатся в бензине, сигаретном дыме, выделяющихся при производстве резины) Трансформация бензохинонов Соединения, родственные метилазобензену	Катаболизм нейромедиаторов (норадреналина, серотонина) Может катализировать реакцию γ-оксибутират Δ Синтез ретиноидов Участие в метаболизме гидрокси-стероидов Влияние на интенсивность синтеза холестерина Участие в синтезе желчных кислот
II	Печень НЕТ в мозге		Более ограниченный спектр трансформируемых ксенобиотиков по ср. с АДГ I Бензохиноны	Катаболизм нейромедиаторов (норадреналина, серотонина) Возможно участие в синтезе ретиноидов
III	В большинстве органов ЕСТЬ в мозге	Окисление формальдегида Детоксикация продуктов пероксидации липидов Детоксикация некоторых эндогенных алифатических и ароматических альдегидов		Участие в переносе одноуглеродных фрагментов Возможно участие в метаболизме ω-гидроксижирных кислот Стероидов Ретиноидов
IV	Слизистая желудка Глаза Меньше в кожном эпителии, надпочечнике и др. НЕТ в мозге	Сходно с АДГ I	Сходно с АДГ I	Синтез ретиноидов (участие в большей мере, чем АДГ I)
V	Печень эмбриона			

\* – *Примечание:* детоксикация только при условии последующего интенсивного окисления образующегося ацетальдегида или других альдегидов

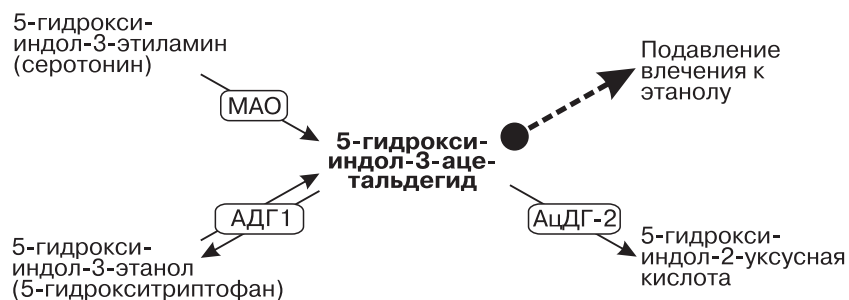


Рис. 1. Схематическое представление гипотезы о трех энзимах, контролирующих влечение к этанолу.

MAO – моноаминоксидаза; АДГ I – алкогольдегидрогеназа I; АцДГ 2 – ацетальдегиддегидрогеназа-2.

представлены аргументы в пользу особой роли торможения синтеза 5-гидроксиทริปтофа в формировании аверсии к алкоголю.

Сходная ситуация выявлена и в отношении катаболизма норадреналина и дофамина [24, 25, 26]. Важный путь деградации норадреналина, поступающего в кровь и тканевые жидкости, состоит в окислительном дезаминировании с образованием 3,4-диоксиминдального альдегида и, далее, восстановлении до 3,4-диоксифенилгликоля. Последняя реакция катализируется преимущественно АДГ II [25].

Заслуживают внимания также данные о способности АДГ катализировать превращение янтарного семиальдегида, образующегося из  $\gamma$ -аминомасляной кислоты, в  $\gamma$ -оксимасляную кислоту. Роль последней в качестве самостоятельного нейромедиатора и антиоксиданта привлекает все большее внимание в последнее десятилетие.

Способность АДГ I катализировать окисление гормональных гидроксистероидов не вызывает сомнений [29]. Однако открытие многочисленного семейства КЦОР, многие из которых оказались достаточно специфичными катализаторами метаболизма половых гормонов [17], не позволяет пока вполне объективно оценить значимость АДГ в этой области превращений биорегуляторов.

Все больше данных появляется об участии АДГ в синтезе и катаболизме холестерина,  $\omega$ -оксигирных кислот и простагландинов, хотя и в этом случае пока трудно дифференцировать роли АДГ и КЦОР [20].

Весьма сложной и противоречивой представляется роль АДГ в системах детоксикации ксенобиотиков. Выше упоминалось уже, что АДГ I и АДГ IV служат детоксикации эндогенного ацетальдегида в условиях, когда существенные количества этанола не поступают извне и, наоборот, генерируют повреждающие организм количества



ацетальдегида при алкоголизме. Еще более противоречивой эта же ситуация оказывается в аспекте влияния на влечение к этанолу, ибо ацетальдегид является важным фактором, способным снижать это влечение. Частично эти противоречия смягчаются, но не преодолеваются полностью, если оценивать активность АДГ I и АДГ IV в соотношении с активностью ацетальдегиддегидрогеназы, которая при высоких концентрациях этанола и генерируемого АДГ ацетальдегида становится главным детоксикантом последнего. Однако вклад АДГ в активность систем катаболизма нейромедиаторов ведет в некоторых ситуациях, как будет показано далее, к негативной роли высокой активности этого энзима в механизмах влечения к этанолу.

Окисление метанола с участием АДГ, хотя и протекает значительно медленнее, чем окисление этанола, ведет к образованию высокотоксичного формальдегида. При поступлении существенных количеств метанола извне окисление образующегося формальдегида не обеспечивается АДГ III в глутатионзависимой реакции. Негативная роль АДГ I в этой ситуации может быть частично компенсирована отвлечением ее на окисление экзогенного этанола. На этом основан своеобразный путь облегчения отравлений метанолом посредством введения значительных количеств этанола.

Роль АДГ в превращениях экзогенных гликолей также не может рассматриваться как детоксицирующая. При поступлении значительных количеств этиленгликоля происходит его окисление до соответствующего альдегида и далее до щавелевой кислоты, обладающей выраженной токсичностью. Один из путей подавления этого процесса состоит в отвлечении АДГ посредством введения при отравлениях этиленгликолем существенных количеств этанола.

Активность АДГ III в качестве ключевого энзима в переносе одноуглеродных остатков (глутатионзависимое окисление формальдегида) сочетается с особой важностью этой реакции для детоксикации метанола, который сравнительно медленно, но все же превращается в формальдегид с помощью АДГ I и АДГ IV.

Участие АДГ I и АДГ IV в метаболизме  $\omega$ -окис жирных кислот сопряжено с детоксикацией продуктов перекисного окисления липидов [35].

Постоянно растет перечень ксенобиотиков, в связывании и обезвреживании которых АДГ принадлежит важная роль. Целое семейство канцерогенных аминоазокрасителей, родственных метилазобензену – N-сульфонилокси-4-метиламино-3'-метилазобензен, 3'-метил-N,N-диметил-4-аминоазобензен и др. – связываются АДГ I с высоким уровнем афинности [6]. Важная группа токсических соединений бензина, сигаретного дыма и продуктов, выделяющихся при производстве резины, также обезвреживаются с участием АДГ [19].

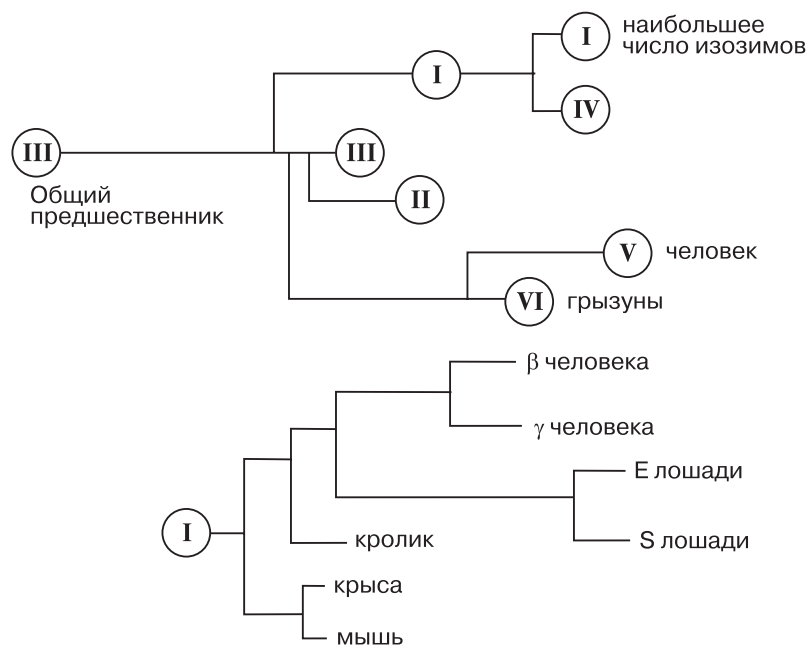


Рис. 2. Основные пути эволюции алкогольдегидрогеназ млекопитающих (римские цифры – классы АДГ).

При этом следует отметить главные органы барьеры, где АДГ I, АДГ III и АДГ IV осуществляют эти функции, – слизистая оболочка желудка, печень и кожа.

Детоксицирующие функции в отношении гликолей, как уже упоминалось, осуществляет АДГ II.

Таким образом, интегральные биохимические и физиологические функции АДГ входят в число ключевых для ряда систем организма млекопитающих. Все изложенное позволяет понять смысл полиморфности и очень широкого распространения АДГ в органах и тканях, а также некоторые особенности эволюции этого семейства энзимов.

#### IV. ЭВОЛЮЦИЯ АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Эволюция АДГ млекопитающих заинтересовала широкий круг исследователей не только в фундаментальном плане, но и в связи со значительными различиями системы АДГ–АцДГ у разных рас и этнических групп, которые оказались сопряжены с переносимостью этанола человеком. У европеоидов и монголоидов были выявлены,

во-первых, значительные различия в активности АцДГ (низкая у последних в основном за счет дефицитов изозима АцДГ-2). Во-вторых, опять-таки у монголоидов, часто выявляются особо высокоактивные изозимы АДГ I. К ним относится атипичная АДГ I (аллель АДГ<sup>2</sup>), состоящая из  $\beta$ -субъединиц, отличающихся единичным замещением аргинина на гистидин в 47-й позиции [33]. Активность такого энзима в отношении этанола превышает активность изозимов АДГ I, характерных для европеоидов, в 50–100 раз. Разумеется, это лишь общая статистически достоверная картина различий, хотя в рамках отдельных наций и этнических групп существуют разнообразные варианты изозимных спектров. Различия в переносимости этанола и в скорости наступления аверсии выявляются преимущественно при первичном контакте с алкоголем и обусловлены, прежде всего, быстротой образования ацетальдегида. При повторном систематическом потреблении аверсия снижается.

Эволюция алкогольдегидрогеназ представляется состоящей из трех основных процессов: 1) формирование различных классов АДГ, 2) формирование изоэнзимов АДГ и 3) образование вариантов отдельных изозимов [10, 16, 36]. Соответствующие схемы представлены на рис. 2.

Эволюция АДГ и АцДГ млекопитающих до эпохи, когда стали формироваться расовые и национальные традиции потребления алкогольных напитков, была, очевидно, связана с процессом адаптации к различным природным ксенобиотикам. Возможно, именно этим объясняется особенное разнообразие изозимов АДГ I, охватывающее наиболее широкий круг соединений, и больше всего представленных в печени и слизистой желудка и кишечника. Примечательно, что наибольшее число изозимов, кодируемых шестью отдельными генами, установлено у приматов. Лошади, овцы и кролики обладают двумя генами, а крыса и мышь – лишь одним [12, 22, 36]. В то же время, универсальность катализа глутатионзависимого окисления формальдегида, лежащего в основе многих процессов переноса одноуглеродных остатков, нашла отражение в эволюционной консервативности АДГ III. Описаны лишь посттрансляционные модификации этого энзима. В отличие от АДГ I и IV АДГ III способна взаимодействовать с гораздо более узким спектром спиртов и других ксенобиотиков. Что касается АДГ II, то установлены значительные вариации их первичных структур в рамках различных семейств млекопитающих, хотя изозимы не выявлены.

Существуют гипотезы эволюционного формирования спектров АДГ I, АДГ IV и АцДГ под влиянием резких различий в уровнях традиционного потребления алкогольных напитков народами Европы и Восточной Азии. Трудно пока оценить эти гипотезы, хотя воздей-

ствие таких традиций на процессы эволюции АДГ насчитывает, по-видимому, многие десятки тысяч лет. Обращает на себя внимание тот факт, что именно АДГ I, для которой характерна наибольшая эволюционная вариабельность в форме образования новых изоформ, обладает значительной этанол-окисляющей активностью.

## **V. РОЛЬ АДГ В МЕХАНИЗМАХ ВЛЕЧЕНИЯ К АЛКОГОЛЮ**

Роль АДГ в механизмах влечения к алкоголю представлялась в конце 80-х годов достаточно очевидной. Повышенная активность АДГ I и сниженная активность АцДГ, как уже отмечено выше, характерны для популяций людей, у которых быстро возникает аверсивный синдром, ограничивающий первичное потребление спиртных напитков [12, 33]. Сильными аверсивными факторами оказались ингибиторы ацетальдегиддегидрогеназы – тетурам, цианамид и др., занявшие определенное место в терапии алкоголизма. Таким образом, роль АДГ I в алкогольной мотивации казалась достаточно определенной в качестве одного из факторов, генерирующих ацетальдегид при повышенных концентрациях этанола. Постепенно, однако, появились данные, указывающие на гораздо более сложную роль АДГ I. Главным фактором, противоречащим «ацетальдегидному» механизму, оказалось значительное снижение влечения к этанолу как при активной, так и пассивной иммунизации к АДГ I [1, 4, 5, 30].

Использование иммунологических методов представляет особый интерес, так как они открывают возможность весьма длительного изменения активности АДГ при незначительном числе воздействий на экспериментальное животное. Длительность эффектов при первичной активной иммунизации измеряется месяцами, а после реиммунизации – годами. В этом состоит очевидное преимущество перед использованием фармакологических ингибиторов (например, пиразола), которые приходится вводить ежедневно. Вместе с тем, очевидны и трудности иммунологического подхода. Слишком интенсивная индукция аутоантител к АДГ может вызвать значительную патологию – аутоиммунную болезнь. Поэтому необходима отработка режима иммунизации, не вызывающего столь значительного снижения активности АДГ, которое может глубоко нарушить функции ряда описанных выше интегральных систем организма. Непростым является и выбор АДГ, которая способна индуцировать образование аутоантител, ингибирующих АДГ хозяина. Как известно, такая возможность открывается при использовании гетерологичных антигенов, близких, но не идентичных по структуре к антигенам рецепивента. В наших исследованиях для иммунизации белых крыс была избрана АДГ I лошади. Различия в первичной структуре АДГ лошади и крысы близки к 20%.

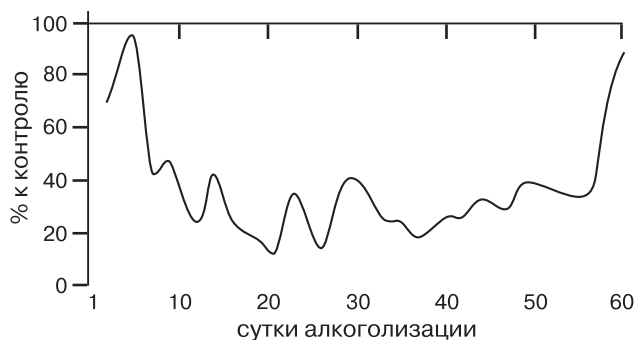


Рис. 3. Потребление 15%-ного этанола крысами линии MNRA (в% к контролю) после иммунизации к АДГ.

Различия между контролем и опытом статистически значимы при  $p < 0,005$ .

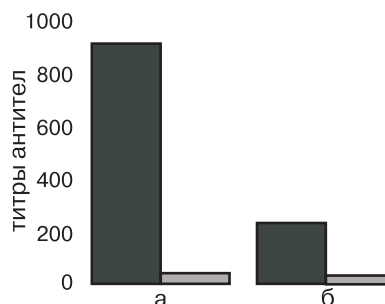


Рис. 4. Титры антител в сыворотках контрольных (светлые столбики) и иммунизированных АДГ (темные столбики) крыс: а – против АДГ печени лошади, б – АДГ печени крысы.

Активная иммунизация белых крыс (линия «Вистар» или «MNRA» с высоким влечением к алкоголю) посредством АДГ печени лошади (препараты фирмы «Сигма») приводит к появлению антител к АДГ I и длительному значительному снижению потребления крысами 15% этанола в условиях свободного выбора между водой и раствором этанола (рис. 3, 4). Иммунизация проводилась с адьювантом Фрейнда, причем характерно, что сам адьювант даже повышал влечение к этанолу по сравнению с контрольными животными. Эффект иммунизации к АДГ I наблюдался как в «профилактическом» варианте опыта, когда алкоголизация начиналась через 1–2 недели, так и с длительно алкоголизированными в течение 4–8 недель крысами при условии, что иммунизация начиналась после краткой (2–3 недельной) депривации от этанола. Последний вариант сходен с обычным начальным периодом лечения людей-алкоголиков. Пассивная иммунизация посредством введения кроличьих антител к АДГ I также снижала потребление этанола. Естественно, продолжительность эффекта была при этом меньше – несколько суток. Роль различных эпитопов

АДГ I была оценена посредством иммунизации к пептидным фрагментам энзима, конъюгированным ковалентно с белком-носителем. Оказалось, что ведущей является последовательность АДГ — 265–276. Наконец, подавление алкогольной мотивации было продемонстрировано у крыс-реципиентов, которым переносились лейкоциты от крыс-доноров, иммунизированных к АДГ I, на 1-е сутки после иммунизации [5].

Ряд параметров, характеризующих общее состояние подопытных крыс (динамика веса, различные показатели поведения и обучаемость в тестах пассивного и активного избегания) не выявили каких-либо негативных побочных эффектов иммунизации к АДГ.

Накапливающиеся данные свидетельствуют о сложности механизма описанного подавления алкогольной мотивации. Главным является, во-первых, уже отмеченное противоречие с «ацетальдегидной» концепцией. Во-вторых, степень подавления активности АДГ I в печени — органе, где сосредоточена большая часть этого энзима, при иммунизации невелика и значительно варьирует в зависимости от сроков после иммунизации. Это коррелирует со скромными титрами антител к АДГ I, достигаемыми при избранном режиме иммунизации (рис. 4). Поиски других органов и тканей, где действие иммунизации на активность АДГ I было бы большим, позволили пока обратить внимание на надпочечники, хотя и там степень снижения варьирует.

Существование ряда процессов, описанных в предшествующих разделах статьи, в которые вовлечена АДГ I, открывает широкое поле поисков систем, связанных с анализируемым феноменом. Особое внимание привлекают, естественно, АДГ I-зависимые реакции катаболизма катехоламинов и серотонина. Тесная их связь с особенностями поведения очевидна, хотя и неоднозначна. Отмеченные ранее влияния иммунизации на уровень катехоламинов и серотонина в мозге и плазме крови не позволяют пока квалифицировать это как прямое свидетельство их ведущей роли. Однако особого внимания заслуживает представление о роли АДГ I в формировании влечения к этанолу, если рассмотреть возможное совместное действие трех энзимов: моноаминоксидазы (MAO), алкогольдегидрогеназы I и ацетальдегиддегидрогеназы-2 (АцДГ-2). Все три энзима оказывают влияние на уровень 5-гидроксииндол-3-ацетальдегида (5-ГИАА) (рис. 1). MAO катализирует окисление серотонина до 5-ГИАА, АцДГ-2 — окисление 5-ГИАА до соответствующей кислоты, а АДГ обеспечивает путь катаболизма серотонина, на котором образуется 5-оксиптриптофол. Значение этого пути обосновано в ряде исследований [7]. Что касается действия 5-ГИАА на влечение к этанолу, то оно показано в исследовании Руук и сотр. [31] в связи с изучением механизма действия антиалкогольного средства — дайдзина. По оценке [16] равно-

весие в реакции 5-ГИАА  $\rightleftharpoons$  5-окситриптофол значительно смещено вправо. Поэтому подавление активности АДГ I должно способствовать повышению уровня 5-ГИАА и подавлению влечения к этанолу.

Экспериментальная проверка представленной гипотезы о совместном действии трех энзимов на влечение к этанолу является предметом будущих исследований. Особенности трудности на этом пути связаны с выявлением биохимических и физиологических механизмов действия 5-гидроксииндол-3-ацетальдегида на влечение к алкоголю. Однако преодоление этих трудностей сулит новые пути решения не только фундаментальных, но и прикладных проблем профилактики и лечения алкоголизма. В многочисленных случаях тяжелого алкоголизма, неизлечимого с помощью современных методов, использование определенных режимов иммунизации к АДГ I (возможно, в сочетании с иммунизацией к АДГ<sub>2</sub>) может быть важным терапевтическим подходом.

## VI. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Начальные этапы исследования любого фермента естественно связаны с фиксацией на какой-то одной его функции или на ограниченном круге функций в целостном организме. Далее следует обычно открытие его участия во многих процессах, причем нередко пересматриваются исходные представления о некоей ведущей функции. Алкогольдегидрогеназы не явились исключением и, более того, их можно отнести к категории наиболее полифункциональных ферментов. Различия между охарактеризованными выше интегральными функциями АДГ весьма значительны. Метаболизм ретиноидов, катаболизм нейромедиаторов, превращения стероидных гормонов и  $\omega$ -оксигирных кислот, процессы синтеза холестерина и желчных кислот – это, по-видимому, еще не полный перечень функций АДГ. С ними сопряжены или самостоятельны защитные функции АДГ в отношении многочисленных ксенобиотиков и экзогенного этанола, а также эндогенных токсических соединений. Следовательно, любые воздействия на активность различных АДГ могут иметь очень сложные следствия, а оценки их активностей в органах, тканях и жидкостях организма – важный элемент информации о состоянии многих систем. Пока вмешательство в активность АДГ с помощью фармакологических агентов или посредством индукции аутоантител рассматривается лишь в связи с проблемами алкоголизма. Очевидно, однако, что в недалеком будущем регуляция активности АДГ *in vivo* войдет в число важных методов молекулярной медицины, объединяющей методологию биохимии, физиологии, молекулярной биологии, генетики, иммунологии и других близких дисциплин.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П., Данилова Р.А., Федорова И.М., Обухова М.Ф., Ловать М.Л. (1997) Нейрохимия, **14**, 3–13.
2. Буров Ю.В., Ведерникова Н.Н. Нейрохимия и фармакология алкоголизма. 1985, М.: Медицина, 237 с.
3. Гребенищикова О.Г., Алексеева А.Е., Потаникина Т.А., Кузин С.А., Дединский И.Р., Прозоровский В.Н. (1994) Биохимия, **59**, 509–515.
4. Ashmarin I.P., Danilova R.A., Pshezhetsky A.V., Fedorova I.M., Obukhova M.F., Sagimbaeva Sh.K. (1992) FEBS Lett., **306**, 38–40.
5. Ashmarin I.P., Danilova R.A., Obukhova M.F., Moskvitina T.A., Prozorovsky V.N. (2000) FEBS Lett., **486**, 49–51.
6. Coles B., Beale D., Miller D., Lay J., Kadlubar F., Aitken A., Ketterer B. (1987) Chemico-Biological Interactions, **64**, 181–192.
7. Consalvi V., Mårdh G., Vallee B.L. (1986) Biochem. Biophys. Res. Commun., **139**, 1009–1016.
8. Cheng Li-Yao, Lek Lee-Hua (1992) FEBS Lett., **300**, 251–253.
9. Cheung C., Smith C.K., Höög J.-O., Hotchkiss S.A.M. (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun., **261**, 100–107.
10. Danielsson O., Atrian S., Luque T., Hjelmqvist L., Gonzalez-Duarte R. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci., **91**, 4980–4984.
11. Dawidek-Pietryka K., Szozepaniak S., Dudka J., Mazur M. (1998) Arch. Toxicol., **72**, 604–607.
12. Estonius M., Hjelmqvist L., Jörnvall H. (1994) Eur. J. Biochem., **224**, 373–378.
13. Goldstein B.M., Li H., Jones J.P., Bell J.E., Zeidler J., Pankiewicz K.W., Watanabe K.A. (1994) J. Med. Chem., **37**, 392–399.
14. Gough W.H., VanOoteghem S., Sint T., Kedishvili N. (1998) J. Biol. Chem., **273**, 19778–19785.
15. Haselbeck R., Duester G. (1998) Developmental dynamics, **213**, 114–120.
16. Höög J.-O., Hedberg J.J., Strömberg P., Svensson S. (2001) J. Biomed. Sci., **8**, 71–76.
17. Jörnvall H., Höög J.-O., Persson B. (1999) FEBS Lett., **445**, 261–264.
18. Kedishvili N., Gough W.H., Davis W., Parsons S., Li T.-K., Bosron W.F. (1998) Biochem. Biophys. Res. Commun., **249**, 191–196.
19. Kemper R.A., Elfarra A.A., Myers S.R. (1998) Drug Metab. Dispos., **26**, 914–200.
20. Keung W.-M. (1991) Biochem. Biophys. Res. Commun., **174**, 701–707.
21. Langeland B.T., McKinley-McKee J.S. (1994) Archiv. Biochem. Biophys., **308**, 367–373.
22. Li T.-K., Bosron W.F. (1987) Annals New York Academy Sci., **492**, 1–9.
23. Lin R.C., Smith J.B., Radtke D.B., Luming L. (1995) Alcohol. Clin. Exper., **19**, 314–319.
24. Mårdh G., Luehr C.A., Vallee B.L. (1985) Proc. Natl. Acad. Sci., **82**, 4979–4982.
25. Mårdh G., Dingley A.L., Auld D.S., Vallee B.L. (1986) Proc. Natl. Acad. Sci., **83**, 8908–8912.
26. Mårdh G., Vallee B. (1996) Biochemistry, **25**, 7279–7282.
27. Miwa K., Okuda H., Ogura K., Watabe T. (1987) Biochem. Biophys. Res. Commun., **142**, 993–998.
28. Page R.A., Kitson K.E., Hardman M.J. (1991) Biochem. J., **278**, 659–665.
29. Park D.-H., Plapp B. (1991) J. Biol. Chem., **266**, 13296–13302.
30. Pshezhetsky A.V., Danilova R.A., Fedorova I.M., Sagimbaeva S.K., Pervushina S.V., Obukhova M.F., Švedas V.K., Ashmarin I.P. (1993) Eur. J. Biochem., **212**, 757–761.
31. Rooke N., Li D.-J., Li J., Keung W.M. (2000) J. Med. Chem., **43**, 4169–4179.
32. Schindler J.F., Berst K.B., Plapp B.V. (1998) J. Med. Chem., **41**, 1696–1700.
33. Smith M. (1988) Biochem. Soc. Transactions, **16**, 227–230.
34. Svensson S., Lundsjö A., Cronholm T., Höög J.-O. (1996) FEBS Letters, **394**, 217–220.
35. Vallee B.L., Sellin S., Holmquist B., Mannervik B. (1991) Biochemistry, **30**, 2514–2518.
36. Yasunami M., Chen C.-S., Yoshida A. (1990) Biochem. Genetics, **28**, 591–599.