

## Udział katalazy w mózgowym i pozamózgowym utlenianiu etanolu

### Role of catalase in brain and peripheral oxidation of ethanol

Ewa Czech<sup>1</sup>, Joanna Lewin-Kowalik<sup>2</sup>, Marek Hartleb<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Zakład Radiodiagnostyki i Medycyny Nuklearnej

Katedra Radiologii i Medycyny Nuklearnej Śląskiej AM w Katowicach

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Fizjologii Śląskiej AM w Katowicach,

<sup>3</sup>Katedra i Klinika Gastroenterologii Śląskiej AM w Katowicach

**Abstract** – Principal physiological role of catalase is to prevent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> toxicity. Genetic polymorphisms of catalase may be either the source of pathological events or by contrast, yield a protective cellular effect. Another function of catalase is participation in oxidative metabolism of ethanol (EtOH), however, in comparison with main enzymatic systems operating within the liver, a role of catalase seems to be marginal. On the other hand, in central nervous system the catalase is first-line EtOH metabolizing enzyme, which has an important influence on alcohol-related psychopharmacological and behavioral effects. Pharmacological manipulation of enzymatic activity opens a way to alleviation or enforcement of brain effects of EtOH.

**Key words:** catalase, polymorphisms, ethanol, acetaldehyde

**Streszczenie** – Najważniejszą fizjologiczną funkcją katalazy jest ochrona przed toksycznością H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Genowe polimorfizmy katalazy mogą być przyczyną zjawisk chorobotwórczych lub przeciwnie – posiadać dla komórki znaczenie ochronne. Inną funkcją katalazy jest udział w metabolizmie etanolu (EtOH), jednakże na tle innych układów enzymatycznych obecnych w wątrobie rola katalazy jest marginalna. Z kolei w ośrodkowym układzie nerwowym katalaza jest pierwszoplanowym enzymem metabolizmu EtOH. Enzym ten ma istotny wpływ na wiele poalkoholowych efektów psychofarmakologicznych i behawioralnych. Farmakologiczna

manipulacja aktywnością katalazy otwiera możliwości łagodzenia lub wzmagania mózgowych efektów działania EtOH.

**Słowa kluczowe:** katalaza, polimorfizmy, etanol, acetaldehyd

## WSTĘP

Etanol (EtOH), jako mała cząsteczka dobrze rozpuszczalna w wodzie, łatwo przenika przez błony biologiczne. Bezpośrednio po jego spożyciu szybko ustala się równowaga pomiędzy stężeniem EtOH we krwi i tkankach różnych narządów. Biologiczne działanie EtOH jest wypadkową wielu czynników, takich jak dawka, droga wprowadzenia do organizmu, genetycznie uwarunkowana aktywność enzymów metabolizujących oraz interakcje z różnymi związkami chemicznymi pochodzenia egzogenne lub endogenne. Szczególną rolę biologiczną przypisuje się acetaldehydowi – metabolitowi pierwszego etapu utleniania EtOH, który jest odpowiedzialny za niektóre skutki oddziaływania alkoholu, tj. czerwienienie twarzy, zmiany rytmu serca, prowadzące do spadku ciśnienia tętniczego krwi oraz ospałość, nudności, wymioty<sup>1</sup>.

Najważniejszymi enzymami odpowiedzialnymi za tlenowy metabolizm EtOH w wątrobie są dehydrogenaza alkoholowa (ADH) i cytochrom P450 (CYP2E1) układu mikrosomalnego (MEOS). W procesie tym marginalny udział przypisuje się katalazie. Poza wątrobą, metabolizm alkoholu zachodzi na wiele mniejszą skalę, lecz różnice w proporcjach enzymów, operujących w poszczególnych narządach sprawiają, iż metabolizm EtOH jest swoisty narządowo. Jednym z głównych narządów docelowych EtOH jest mózg. EtOH i acetaldehyd wywołują liczne efekty psychofarmakologiczne i behawioralne, do których należą: awersja smakowa, pobudzenie aktywności ruchowej, senność lub tzw. „odruch postawy”. Efekty działania acetaldehydu są szczególnie wyraźne w przypadku bezpośredniego podania tego związku do śródmózgowia, a zwłaszcza do pola brzuszego nakrywki. Badania przeprowadzone na homogenatach mózgowych i hodowlach szczurzych astrocytów ujawniły, że katalaza odgrywa decydującą rolę w powstaniu biologicznie znaczących stężeń acetaldehydu w mózgu.

## CHARAKTERYSTYKA KATALAZY

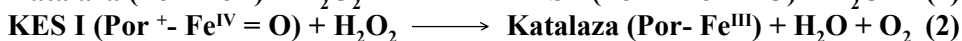
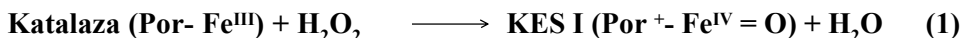
Katalaza (EC 1.11.1.6, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: oksydoreduktaza) jest białkiem zbudowanym z 4 identycznych podjednostek, z których każda o ciężarze molekularnym około 60 kDa zawiera 526 aminokwasów. Grupą prostetyczną tego enzymu jest hematyna (związek Fe<sup>+3</sup> z porfiryń IX). Obecność katalazy wykazano u wszystkich organizmów tlenowych, jak również u wielu beztlenowców. Ludzki gen katalazy znajduje się na krótkim ramieniu chromosomu 11p13 i jest zbudowany z 13 eksonów oraz 12 intronów (1).

---

Problem ten został szczegółowo omówiony w innym artykule: Czech E, Hartleb M (2003) Polimorfizm genetyczny dehydrogenazy aldehydowej – 2 (ALDH2) i znaczenie patofizjologiczne i kliniczne aldehydu octowego. Alkoholizm i Narkomania, 16, 1–2, 11–24.

Najwyższe stężenia katalazy występują w wątrobie, nerkach, krwinkach czerwonych oraz ośrodkowym układzie nerwowym (OUN). W obrębie hepatocytów katalaza znajduje się w peroksysomach i mikrosomach. Obecności tego enzymu nie stwierdzono natomiast w mięśniówce gładkiej naczyń ani w śródbłonku.

Cechą katalazy jest dwoistość jej działania w zależności od sposobu wykorzystania  $H_2O_2$ : reakcja „katalazowa” lub peroksydatywna. Reakcje katalizowane przez ten enzym zachodzą dwustopniowo. W pierwszym etapie (charakterystycznym dla obu typów reakcji) hemowe żelazo katalazy jest utleniane przez jedną cząsteczkę nadtlenu wodoru do formy oksyferylowej. W wyniku eliminacji po jednym elektronie z żelaza oraz pierścienia porfiryнового powstaje rodnik kationowy porfiryны ( $Por^+$ ; reakcja 1). W drugim etapie (reakcji „katalazowej”) powstały kompleks enzym-substrat [KES I] przyjmuje 2 elektrony z innej cząsteczki nadtlenu wodoru, a enzym powraca do stanu wyjściowego, z jednoczesnym uwolnieniem wody i tlenu cząsteczkowego (reakcja 2) (2, 3). Reakcje te mogą zachodzić w warunkach niskiego stężenia  $H_2O_2$  i nieobecności jego donora zewnętrznego, a  $H_2O_2$  występuje tu jednocześnie w roli akceptora i donora wodoru.



W przypadku obecności egzogennych donorów wodorowych (reakcja peroksydatywna), którymi mogą być m.in. alkohole alifatyczne ( $AH_2$ ), do których należy EtOH, produktami reakcji z KES I są aldehyd oraz forma spoczynkowa katalazy (2)



Katalaza jest enzymem wrażliwym na hamujące działanie związków reagujących z grupą hemową tego białka. Należą do nich m.in. cyjanek potasu, azydek sodu, hydroksylamina, 3-amino-1,2,4-triazol (aminotriazol) oraz 2-merkaptoetanol. Stężenie inhibitorów, wymagane dla połowiczego zahamowania aktywności katalazy, jest bardzo zróżnicowane i głównie zależy od pochodzenia tego enzymu (patrz tabela 1).

Tabela 1.

Stężenia inhibitorów potrzebne do zahamowania o 50% aktywności katalazy

Concentrations of inhibitors required for 50% inhibition of catalase activity

Pochodzenie katalazy	NaCN μM	NaN <sub>3</sub> μM	AT mM	NH <sub>2</sub> OH μM
Wątroba (wołowa)	30	1,5	40	3,0
<i>Escherichia coli</i>	9	130	>1000	0,12
<i>Helicobacter pylori</i>	150	1,5	350	6,0
<i>Proteus mirabilis</i>	80	60	>1000	100
Erytrocyt (ludzki)	20	1,5	30	2,0

Legenda: NaCN – cyjanek sodu; NaN<sub>3</sub> – azydek sodu; AT – 3-amino-1,2,4-triazol (aminotriazol); NH<sub>2</sub>OH – hydroksylamina

## Polimorfizm katalazy

Większość znanych mutacji genu katalazy nie pociąga za sobą istotnych zmian w stężeniu lub czynności enzymu, a co za tym idzie – nie posiada znaczenia patogenezy. Mutacje te dotyczą intronu 1 oraz eksonu 1, 9 i 10, i są związane z substytucją pojedynczych nukleotydów nie kodującego końca 5' (4). Stwierdzono też kilka mutacji/polimorfizmów genu katalazy, mających wpływ na zmianę ekspresji enzymu (patrz tabela 2) (4, 5, 6, 7, 8).

Tabela 2.

Polimorfizmy genu katalazy

Polymorphisms of the catalase gene

Typ mutacji	Rodzaj i lokalizacja mutacji	Fenotyp	Autor/Rok
Japoński A	5G>A; 4 intron	Akatalazemia (choroba Takahara)	Goth/2001 (5)
Japoński B	358T delecja; 4 ekson	Hipokatalazemia	Hirono/1995 (6)
Węgierski A	GA inercja; 2 ekson	Akatalazemia, hipokatalazemia	Goth/2001 (5)
Węgierski B	G inercja; 2 ekson	Hipokatalazemia	Goth/2001 (5)
Węgierski C	T>G; 7 intron	Hipokatalazemia	Goth/2001 (5)
Węgierski D	G>A; 9 ekson	Hipokatalazemia	Goth/2004 (4)
	-262C>T	Hiperkatalazemia	Forsberg/2001 (7) Christiansen/2004 (8)

Akatalazemią określa się deficyt aktywności katalazy w erytrocytach poniżej 10% wartości referencyjnej, natomiast hipokatalazemią – spadek aktywności tego enzymu o 50%, dotyczący zarówno erytrocytów, jak i innych tkanek (5). U szczurów i myszy z akatalazemią wykazano brak aktywności katalazy we krwi, około 50% spadek jej aktywności w mózgu i nerkach oraz prawidłową aktywność tego enzymu w wątrobie (9).

Pierwszy wrodzony przypadek akatalazemii rozpoznano w 1948 r. w Japonii, a do 2004 roku opisano 113 takich osób. Większość opisów pochodziło z Japonii, Korei, USA, Szwajcarii i Węgier. Deficyt enzymu jest wynikiem punktowej mutacji, której dziedziczenie jest autosomalne recesywne.

Ze względu na rzadkość występowania akatalazemii badania kliniczne, dotyczące znaczenia tego zjawiska, są skąpe. Wiadomo jednak, że obniżona aktywność katalazy sprzyja chorobom związanym ze stresem oksydacyjnym, takim jak miażdżyca, choroby zwyrodnieniowe układu nerwowego, nowotwory, reakcje alergiczne, a także cukrzyca (4, 7). Ponadto brak aktywności katalazy wiąże się z przedłużonym działaniem EtOH i zwykle z towarzyszącą temu zjawisku niechęcią do picia alkoholu. Nie wykazano jednak dziedziczności tego zachowania, bowiem mimo obniżonego stężenia katalazy u potomstwa osób z akatalazemią, skłonność do konsumpcji alkoholu była porównywalna ze skłonnością w grupie kontrolnej tej samej grupy etnicznej (10, 11).

Polimorfizm genu katalazy związany z zamianą C/T w –262 parze zasad od miejsca transkrypcji jest przyczyną występowania genotypów TT lub TC, które wiążą się z pod-

wyższą aktywnością enzymatyczną katalazy (7, 8). Wydaje się, że hiperakatalazemia jest zjawiskiem korzystnym chroniącym komórki przed skutkami stresu oksydacyjnego.

### Udział katalazy w mózgowym i pozamózgowym metabolizmie EtOH

Małe zainteresowanie wątrobową katalazą wynika z faktu nikłego udziału tego enzymu w oksydacji EtOH (12). Katalaza metabolizuje bowiem mniej niż 10% EtOH docierającego do wątroby. Z kolei w mózgu katalaza wydaje się być pierwszoplanowym enzymem, odpowiedzialnym za 50–70% produkcji acetaldehydu w ośrodkowym układzie nerwowym (13, 14). Duża aktywność katalazy wiąże się z zapotrzebowaniem na  $H_2O_2$ . Wśród wielu dostępnych źródeł powstawania  $H_2O_2$ , za główne uważa się proces utleniania kwasu askorbinowego, który w mózgu występuje w dużych ilościach (11, 15).

Od 10% do 30% dawki alkoholu jest metabolizowane przedwątrobowo, w przewodzie pokarmowym. Pronko i wsp. (16) badali aktywność ADH, MEOS, katalazy i dehydrogenazy aldehydowej (ALDH) w śluzówce żołądka, jelita cienkiego, okrężnicy i prostnicy szczura. Najwyższą aktywność katalazy stwierdzono w śluzówce okrężnicy i prostnicy, natomiast w żołądku enzymami dominującymi były ADH i MEOS. W trakcie przewlekłej podaży EtOH aktywność ADH w śluzówce prostnicy nie uległa zmianie, ale obserwowano jednocześnie 3-krotny wzrost aktywności MEOS i aż 5-krotny wzrost aktywności katalazy. Zgodnie z oczekiwaniem ta indukcja alkoholowa znacząco zwiększyła stężenie acetaldehydu w śluzówce okrężnicy i prostnicy szczura, gdzie osiągnął wyższe stężenia niż w wątrobie. Na wysokie stężenie acetaldehydu w jelicie grubym może mieć wpływ również fakt, że u zwierząt i ludzi stężenie ALDH w błonie śluzowej okrężnicy i prostnicy jest zdecydowanie niższe niż w błonie śluzowej żołądka i jelita cienkiego (17). Duża ekspozycja jelita grubego na acetaldehyd sprzyja nasileniu proliferacji nabłonka jelitowego, które jest związane z ryzykiem nowotworzenia (18).

Większość farmakologicznych i behawioralnych efektów, obserwowanych po spożyciu alkoholu, jest następstwem pojawienia się acetaldehydu w mózgu. Stąd sugeruje się nawet, by pojęcie alkoholizmu zastąpić aldehydyzmem. Pochodzenie acetaldehydu w mózgu jest nadal spornym tematem, gdyż wcześniejsze badania wykluczały obecność w tym narządzie zasadniczych systemów metabolizujących EtOH. Do niedawna sądzono więc, że acetaldehyd wyprodukowany poza mózgiem penetruje przez barierę krew–mózg w stopniu zależnym od stężenia tego związku we krwi oraz aktywności ALDH w ścianie naczyń mikrokrążenia mózgowego (19, 20). Ostatnie badania wskazują jednak, że aktywność ALDH w obrębie bariery krew–mózg jest na tyle wysoka, że na jej pokonanie potrzebne byłoby stężenie ponad 100  $\mu M$  acetaldehydu we krwi (21). Stężenie tego związku we krwi po spożyciu alkoholu jest zdecydowanie niższe, stąd powstała hipoteza o mózgowej produkcji acetaldehydu. Badania na szczurach wykazały niewielkie aktywności  $ADH_1$  i  $ADH_4$  w niektórych rejonach mózgu (mózdzek, hipokamp, kora mózgowa) (22). Dotychczas nie wiadomo, czy enzymy te są obecne w tych strukturach także u ludzi. Badania doty-

część udziału MEOS w mózgowym metabolizmie EtOH dostarczają sprzecznych wyników. Z jednej strony, zastosowanie inhibitorów MEOS nie miało wpływu na stężenie mózgowy acetaldehydu (23), z drugiej zaś – po spożyciu alkoholu stwierdzono w mózgu obecność rodnika  $\alpha$ -hydroksyetylowego, który jest produktem metabolizmu EtOH w układzie mikrosomalnym (13). Ostatnie badania przeprowadzone na homogenatach z perfundowanych mózgów, pochodzących od myszy z genetycznie uwarunkowanym niedoborem CYP2E1, wskazują na około 20% udział MEOS w mózgowym utlenianiu EtOH (24).

## INTERAKCJE ACETALDEHYDU W OBRĘBIE OUN

Acetaldehydowi przypisuje się wiele niekorzystnych efektów biologicznych, takich jak wzmaganie toksycznego działania EtOH, hamowanie różnicowania komórek, blokowanie funkcji enzymów, tworzenie wysoce reaktywnych związków chemicznych oraz modyfikację metabolizmu amin biogennych. Z obliczeń stechiometrycznych wynika, że na każde 5 cząsteczek EtOH utlenionego w mózgu pojawia się tylko 1 cząsteczka acetaldehydu. Przyczyną tej dysproporcji może być szybka eliminacja acetaldehydu na drodze utleniania do octanu, przy udziale ALDH oraz jego wiązanie przez kwasy nukleinowe, a także grupy aminowe białek, z którymi tworzy niestabilne połączenia o charakterze zasad Schiffa. Równoczesny wzrost stężenia NADH (dinukleotyd nikotynamidoadenylowy) prowadzi do redukcji zasad Schiffa z tworzeniem trwałych adduktów aldehydowo-białkowych. Addukty te, wiążąc się kowalencyjnie z reaktywnymi miejscami grup lizylowych, inaktywują wiele kluczowych enzymów biorących udział w syntezie DNA (25). Tworzenie hepatotoksycznych adduktów jest znane od wielu lat, lecz ich neurotoksyczność odkryto dopiero niedawno. W badaniach eksperymentalnych na szczurach przewlekle pojonych alkoholem stwierdzono obecność adduktów w korze płata czołowego mózgu oraz w mózdzku. Addukty ponoszą prawdopodobnie częściową odpowiedzialność za atroficzne zmiany w mózgu, obserwowane u alkoholików (26).

Z aminami biogennymi (tryptamina, 5-HT, tryptofan) acetaldehyd tworzy związki farmakologicznie aktywne. Po spożyciu alkoholu w prążkowie i układzie limbicznym rośnie stężenie salsolinolu, który jest kondensatem acetaldehydu oraz dopaminy. Związek ten występuje w mózgu w ilościach śladowych. Znaleziono go również w napojach alkoholowych (wino, piwo) oraz niektórych pokarmach (ser, banany). Po spożyciu EtOH salsolinol jest znajdowany także w płynie mózgowo-rdzeniowym i w moczu. W badaniach doświadczalnych stężenie mózgowy salsolinolu korelowało ze stężeniem acetaldehydu. Szczególnie wysokie stężenia salsolinolu obserwowano u szczurów, którym równocześnie z EtOH podawano cyjanamid – inhibitor ALDH (27).

Salsolinol podwyższa stężenie katecholamin w przestrzeniach synaptycznych na drodze hamowania aktywnego ich wychwytu i wzrostu uwalniania przez zakończenia nerwowe. Ponadto salsolinol hamuje aktywność monoaminoooksydazy i aktywatora hydroksylazy tyrozynowej.

## BEHAWIORALNE EFEKTY ALKOHOLU

### Nasenne działanie alkoholu

Badanie homogenatów mózgowych szczurów i myszy – z genetycznie uwarunkowaną wysoką i niską wrażliwością hipnotyczną indukowaną przez EtOH – wykazało zdecydowanie wyższe stężenie acetaldehydu w grupach zwierząt o wydłużonym czasie snu. Stwierdzono też korelację między długością snu a kumulacją acetaldehydu w mózgu (28). Badania przeprowadzone na transgenicznym myszach wskazują, że na długość snu po spożyciu EtOH mają wpływ zarówno aktywność katalazy i CYP2E1, jak również płeć zwierząt. U samców z akatalazemią ( $Cs^b / Cs^b$ ) długość poalkoholowego snu była dłuższa o 65%, w porównaniu z długością snu myszy szczepu dzikiego (29).

### Aktywność lokomotoryczna

Przewlekłe podawanie myszom octanu ołowiu, który indukuje syntezę mózgową katalazy, powoduje wzrost pobudzenia lokomotorycznego po spożyciu EtOH (30). Z kolei zahamowanie aktywności katalazy przez aminotriazol, cyjanamid lub azyd sodu zmniejsza aktywność ruchową zwierząt (31, 32, 33, 34). Dodatkowym argumentem na rzecz udziału mózgową katalazy w regulacji aktywności lokomotorycznej jest spowolnienie ruchowe gryzoni, w wyniku uszkodzenia jądra łukowatego, które jest obszarem o wysokiej ekspresji katalazy (35).

### Odruch postawy i ułożenia

Zmiany aktywności katalazy mają istotny wpływ na efekty mózgowego działania EtOH, dotyczące zaburzeń postawy ciała (36). Dootrzewnowa podaż myszom etanolu, wraz z dożylnym wstrzyknięciem octanu ołowiu, skracała, podczas gdy iniekcja dożylna aminotriazolu – wydłużała czas trwania zaburzeń postawy. Reakcje te miały związek z obserwowaną zmianą stężenia katalazy w mózgu, podczas gdy związek ołowiu zwiększał aktywność tego enzymu o 34%, aminotriazol zmniejszał ją o 41%.

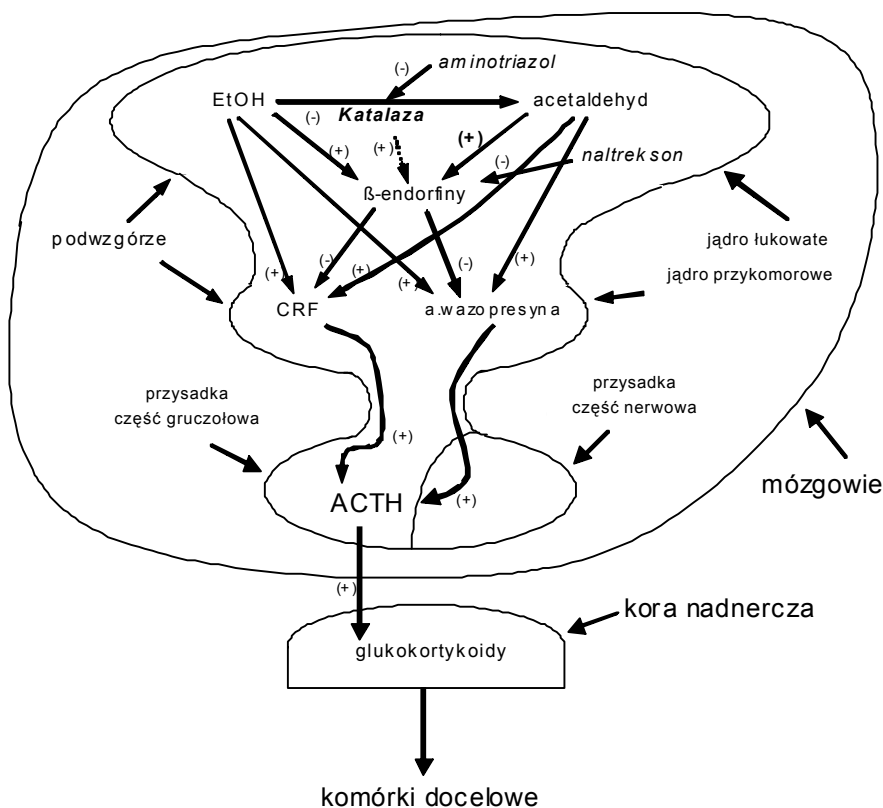
### Uwarunkowana awersja smakowa

Badania doświadczalne wskazują, że za zjawiska awersji smakowej są odpowiedzialne duże dawki EtOH, a nie jego metabolitu – acetaldehydu. W trakcie dootrzewnowej podaży wzrastających dawek alkoholu obserwowano u szczurów narastającą niechęć do spożywania, zwykle preferowanego przez te zwierzęta, roztworu sacharozy na korzyść samej wody. Podawanie wraz z EtOH acetaldehydu nie zwiększało awersji smakowej. Również wstrzyknięcie aminotriazolu (inhibitora katalazy) zwiększało awersję zwierząt do alkoholu (37). Podobny efekt zaobserwowano po iniekcji innego inhibitora katalazy – cyjanamidu (38).

## WPLYW EtOH I ACETALDEHYDU NA UKŁAD PODWZGÓRZOWO-PRZYSADKOWY

Podwzgórze wraz z przysadką tworzą czynnościowy układ wewnątrzwydzielniczy. Zasadniczą funkcją podwzgórza jest neuronalna synteza i wydzielanie hormonów o działaniu pobudzającym lub hamującym czynność hormonalną przysadki mózgowej. Wykazano, że wydzielanie hormonów przez podwzgórze znajduje się pod kontrolą neuroprzekazników o działaniu stymulującym (noradrenalina, kwas glutaminowy) lub hamującym (kwas  $\gamma$ -aminomasłowy,  $\beta$ -endorfina). Po podaniu EtOH obserwowano zmniejszone uwalnianie gonadoliberyny (LHRH), które było proporcjonalne do wielkości sekrecji  $\beta$ -endorfin, stymulowanej przez neurony jądra łukowego podwzgórza (39).

Wysoka ekspresja katalazy w jądrze łukowatym odgrywa kluczową rolę w regulacji uwalniania  $\beta$ -endorfin, ponieważ w porównaniu z EtOH, znacznie większy wpływ pobudzający na uwalnianie  $\beta$ -endorfin posiada acetaldehyd (40). U myszy, którym podawano EtOH stwierdzono we krwi obniżenie stężenia LH (hormon luteinizujący, lutropina), a równoczesne podanie aminotriazolu lub azydku sodu – eliminowało ten efekt.



Rys. 1.

Udział katalazy w regulacji sekrecji kortyzolu („+” oznacza pobudzenie, „-” hamowanie)

Contribution of catalase to regulation of cortisol secretion („+” means activation, „-” means inhibition)



EtOH aktywuje oś hormonalną podwzgórze – przysadka mózgowa – kora nadnerczy, powodując wzrost stężenia kortyzolu w stopniu proporcjonalnym do dawki alkoholu. Sugeruje się, że alkoholowa aktywacja tego układu jest efektem pobudzenia przez EtOH neuronów jądra przykomorowego podwzgórza, produkujących kortykotropinę (CRF) i wazopresynę (patrz rys. 1). Hormony te, działając synergistycznie, uwalniają z przedniego płata przysadki adrenokortykotropinę (ACTH), która indukuje sekrecję glukokortykoidów z kory nadnerczy. Mechanizmy aktywacji jądra przykomorowego przez EtOH nie są jednak dobrze poznane. Wiadomo, że uwalnianie CRF i wazopresyny z jądra przykomorowego jest wypadkową bezpośredniego działania EtOH i acetaldehydu oraz modyfikacji przez te związki stężenia mózgowego kilku neuroprzekaźników (41), z których najsilniejsze właściwości inhibicyjne wobec CRF i wazopresyny wykazuje  $\beta$ -endorfina. Zjawiska te mogą tłumaczyć rozbieżności w wynikach badań eksperymentalnych. W badaniach *in vitro* oraz *in vivo* farmakologiczne hamowanie aktywności katalazy prowadziło do wzrostu stężenia mózgowego CRF, co było wynikiem mniejszego wyrzutu  $\beta$ -endorfiny z jądra łukowatego do przykomorowego (42, 43, 44). Wskazuje się również, że hamujący wpływ  $\beta$ -endorfin na uwalnianie CRF i wazopresyny posiadają antagoniści receptorów opioidowych  $\mu$  i  $\delta$  (np. naltrekson) (45). W warunkach *in vivo* bezpośrednie pobudzenie uwalniania CRF i wazopresyny przez acetaldehyd wydaje się dominować nad efektem hamowania wyrzutu  $\beta$ -endorfiny, bowiem podanie szczurom cyjanamidu (inhibitor ALDH) powodowało wzrost ekspresji mRNA CRF i wazopresyny w jądrze przykomorowym (46) oraz wzrost stężenia kortykosteronu w osoczu (43).

## ROLA KATALAZY W STRESIE OKSYDACYJNYM

Stres oksydacyjny jest wynikiem zaburzenia równowagi między utleniaczami i antyoksydantami. Przyczyną stresu oksydacyjnego jest najczęściej nadprodukcja chemicznie aktywnych rodników, które odpowiadają m.in. za uszkodzenie DNA, zmiany potencjału błon biologicznych, modyfikację grup sulfhydrylowych białek enzymatycznych, peroksydację lipidów, odczyny zapalne oraz komórkową martwicę i apoptozę. Nadprodukcja NADH po ostrym zatruciu alkoholem oraz aktywacja CYP2E1 spowodowana przewlekłym spożyciem EtOH, są odpowiedzialne za tworzenie rodników tlenowych (rodnik etoksyłowy, hydroksyetyłowy) oraz reaktywnych form tlenu w postaci  $H_2O_2$ , rodnika ponadtlenkowego, hydroksyłowego i nadhydroksyłowego. Stres oksydacyjny wyczerpuje zapasy komórkowe związków antyoksydacyjnych, m.in. glutationu, dysmutazy ponadtlenkowej oraz peroksydazy glutationowej i katalazy. Niedobór dwóch ostatnich enzymów odgrywa decydującą rolę w zaburzeniach eliminacji  $H_2O_2$ .

W wątrobie podczas metabolizmu EtOH spadek aktywności katalazy wiąże się ze zwiększoną produkcją  $H_2O_2$  oraz zahamowaniem aktywności dysmutazy ponadtlenkowej.

Badania *in vitro* wykazały, że eksperymentalne zwiększenie ekspresji katalazy w mitochondriach i cytozolu hepatocytów linii HepG2, zmniejsza utratę potencjału błonowego mitochondriów w następstwie alkoholowego stresu oksydacyjnego (47). Nadekspresja katalazy chroniła także hepatocyty przed martwicą i apoptozą poalko-

holową, w wyniku hamowania generacji wolnych rodników tlenowych i peroksydacji lipidów. Wyniki tych badań wskazują na kluczową rolę  $H_2O_2$  jako mediatora alkoholowej cytotoxyczności wątrobowej.

W mózgu katalaza spełnia podwójną rolę, bowiem z jednej strony, katalizuje powstawanie acetaldehydu z EtOH, a z drugiej – chroni komórkę przed stresem oksydacyjnym, spowodowanym m.in. przez ten metabolit. W badaniach eksperymentalnych hamowanie aktywności katalazy przy użyciu aminotriazolu prowadziło nie tylko do kumulacji EtOH w astrocytach, ale również podwyższało stężenie  $H_2O_2$  oraz powodowało pęknięcie nici jądrowego DNA (48)

W erytrocytach osób uzależnionych od alkoholu aktywność katalazy jest skorelowana z okresem nadużywania EtOH. U osób spożywających EtOH od 20 do 40 lat aktywność katalazy była znamienne niższa niż u osób nadużywających go krócej niż 20 lat. Sugeruje się nawet, by aktywność katalazy oraz innych enzymów układu antyoksydacyjnego ustanowić biologicznymi wykładnikami alkoholizmu i czasu jego trwania (49). Spadek aktywności katalazy po spożyciu alkoholu nie jest zjawiskiem uniwersalnym, bowiem w nerkach, płucach i jądrach stwierdzono nawet wzrost aktywności tego enzymu. Zjawisko to może świadczyć o podwyższonej tolerancji tych narządów wobec EtOH, spowodowanej wydolnością zastępczych mechanizmów eliminacji toksycznego  $H_2O_2$  (50).

Wyniki licznych badań zarówno organizmów niższych, jak i ssaków wykazały, że za długość życia odpowiedzialnych jest kilka genów związanych z produkcją białek kontrolujących rozmiary stresu oksydacyjnego. Schriener i wsp. (51) skonstruowali szczep myszy, u których aktywność katalazy w mitochondriach mięśnia sercowego i mięśni szkieletowych była 50-krotnie wyższa, w porównaniu z aktywnością katalazy szczepu dzikiego. Transgeniczne myszy wykazywały obniżenie biochemicznych wykładników stresu oksydacyjnego oraz mniejszy stopień zaawansowania miażdżycy i zmian niedokrwiennych mięśnia sercowego. Nadekspresja katalazy przedłużała długość życia myszy o 17–21% (52).

## PODSUMOWANIE

W mózgu katalaza odgrywa decydującą rolę w powstawaniu biologicznie znaczących stężeń acetaldehydu z EtOH. Poza tym istnieje ścisła zależność między mózgową aktywnością tego enzymu a reakcją organizmu na alkohol. Farmakologiczne oddziaływanie na aktywność katalazy pozwala na osłabianie lub wzmacnianie efektów behawioralnych indukowanych przez EtOH.

## PIŚMIENNICTWO

1. Quan F, Korneluk R, Tropak M, Gravel R (1986) Isolation and characterization of the human catalase gene. *Nucleic Acids Research*, 14, 5321-5335.
2. Kalko S, Gelpi J, Fita I, Orozco M (2001) Theoretical study of mechanisms of substrate recognition by catalase. *Journal of American Chemical Society*, 123, 9665-9672.

3. Switala J, Loewen P (2002) Diversity of properties among catalases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 401, 145-154.
4. Goth L, Rass P, Pay A (2004) Catalase enzyme mutations and their association with diseases. *Molecular Diagnosis*, 8, 141-149.
5. Goth L (2001) A new type of inherited catalase deficiencies: its characterization and comparison to the Japanese and Swiss type of acatalasemia. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 27, 512-517.
6. Hirono A, Sasaya-Hamada F, Kanno H, Fujii H, Yoshida T, Shiro M (1995) A novel human catalase mutation (358T→del) causing Japanese-type acatalasemia. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 21, 232-234.
7. Forsberg L, Lyrenas L, de Faire U, Morgenstern R (2001) A common functional C-T substitution polymorphism in the promoter region of the human catalase gene influences transcription factor binding, reporter gene transcription and is correlated to blood catalase levels. *Free Radical Biology & Medicine*, 30, 500-505.
8. Christiansen L, Petersen H, Bathum L, Frederiksen H (2004) The catalase -262C/T promoter polymorphism and aging phenotypes. *The Journals of Gerontology*, 59A, 886-889.
9. Deitrich R (2004) Acetaldehyde: Deje vu, du jour. *Journal of Studies of Alcohol*, 65, 557-572.
10. Amit Z, Smith B, Weiss S (1999) Catalase as a regulator of propensity to ingest alcohol in genetically determined acatalasemic individuals from Israel. *Addiction Biology*, 4, 215-221.
11. McBride W, Li T, Deitrich R, Zimatkin S, Smith B, Rodd-Henricks Z (2002) Involvement of acetaldehyde in alcohol addiction. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 26, 114-119.
12. Lieber C (1999) Microsomal ethanol-oxidizing system (MEOS): the first 30 years (1968-1998) – a review. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 23, 991-1007.
13. Gonthier B, Jeunet A, Barret L (1991) Electron spin resonance study of free radicals produced from ethanol and acetaldehyde after exposure to a Fenton system or to brain and liver microsomes. *Alcohol*, 8, 369-375.
14. Zimatkin S, Liopo A, Deitrich R (1998) Distribution and kinetics of ethanol metabolism in rat brain. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 22, 1623-1627.
15. Huang M, Liu W, Li Q, Wu C (2002) Endogenous released ascorbic acid suppresses ethanol-induced hydroxyl radical production in rat striatum. *Brain Research*, 944, 90-96.
16. Pronko P, Bardina L, Satanowskaya V, Kuzmich A, Zimatkin S (2002) Effect of chronic alcohol consumption on the ethanol- and acetaldehyde-metabolizing systems in the rat gastrointestinal tract. *Alcohol & Alcoholism*, 37, 229-235.
17. Agarwal D, Meier-Tackmann D, Seitz H (1997) Aldehyde dehydrogenase activity in human rectum. *Alcohol & Alcoholism*, 32, 397.
18. Simanowski U, Homann N, Knühl M, Arce L, Waldherr R, Conradt C, Bosch F, Seitz H (2001) Increased rectal cell proliferation following alcohol abuse. *Gut*, 49, 418-422.
19. Quertemont E, Tambour S (2005) Is ethanol a pro-drug? The role of acetaldehyde in the central effects of ethanol. *TRENDS in Pharmacological Science*, 25, 130-134.
20. Quertemont E (2004) Genetic polymorphism in ethanol metabolism: acetaldehyde contribution to alcohol abuse and alcoholism. *Molecular Psychiatry*, 9, 570-581.

21. Zimatkin SM, Deitrich RA (1997) Ethanol metabolism in the brain. *Addiction Biology*, 2, 387-399.
22. Martinez SE, Vagnelova J, Sabria J, Martinez MC, Farres J, Pares X (2001) Distribution of alcohol dehydrogenase mRNA in the rat central nervous system. *European Journal of Biochemistry*, 268, 5045-5056.
23. Gill K, Menez J, Lucas D, Deitrich R (1992) Enzymatic production of acetaldehyde from ethanol in rat brain tissue. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 16, 910-915.
24. Quertemont E, Eriksson C, Zimatkin S, Pronko P, Diana M, Pisano M, Rodd Z, Bell R, Ward R (2005) Is ethanol a pro-drug? Acetaldehyde contribution to brain ethanol effects. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 95, 1514-1521
25. Tuma DJ, Newman MR, Donohue TM., Sorrell MF (1987) Covalent binding of acetaldehyde to proteins: Participation of lysine residues. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 11, 579-584.
26. Rintala J, Jaatinen P, Parkkila S, Sarviharju M, Kiianmaa, Hervonen, Niemelä O (2000) Evidence of acetaldehyde-protein adduct formation in rat brain after lifelong consumption of ethanol. *Alcohol & Alcoholism*, 35, 458-463.
27. Jamal M, Ameno K, Kubota T, Ameno S, Zhang X, Kumihashi M, Ijiri I (2003) In vivo formation salsolinol induced by high acetaldehyde concentration in rat striatum employing microdialysis. *Alcohol & Alcoholism*, 38, 197-201.
28. Zimatkin S, Liopo A, Satanovskaja V, Bardina L, Deitrich R (2001) Relationship of brain ethanol metabolism to the hypnotic effect of ethanol. II: Studies in selectively bred rats and mice. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 25, 982-988.
29. Vasiliou V, Ziegler T, Bludeau P, Petersen D, Gonzales F, Deitrich R (2006) CYP2E1 and catalase influence ethanol sensitivity in the central nervous system. *Pharmacogenetics and Genomics*, 16, 51-58.
30. Correa M, Miquel M, Aragon C (2000) Lead acetate potentiates brain catalase activity and enhances ethanol-induced locomotion in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 66, 137-142.
31. Correa M, Sanchis-Segura C, Aragon C (1999) Acute lead acetate administration potentiates ethanol-induced locomotor activity in mice: the role of brain catalase. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 23,799-805.
32. Correa M, Sanchis-Segura C, Aragon C (2001) Brain catalase activity is highly correlated with ethanol-induced locomotor activity in mice. *Physiology & Behavior*, 73, 641-647.
33. Escarabajal MD, Aragon C (2002) The effect of cyanamide and 4-methylpyrazole on the ethanol-induced locomotor activity in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 72, 389-395.
34. Sanchis-Segura C, Miquel M, Correa M, Aragon C (1999) The catalase inhibitor sodium azide reduces ethanol-induced locomotor activity. *Alcohol*, 19, 37-42.
35. Sanchis-Segura C, Correa M, Miquel M, Aragon C (2005) Catalase inhibition in the arcuate nucleus blocks ethanol effects on the locomotor activity of rats. *Neuroscience Letters*, 376, 66-70.
36. Correa M, Sanchis-Segura C, Aragon C (2001) Influence of brain catalase on ethanol-induced loss of righting reflex in mice. *Drug and Alcohol Dependence*, 65, 9-15.

37. Quertemont E, Escarabajal M, De Witte P (2003) Role of catalase in ethanol-induced conditioned taste aversion: a study with 3-amino-1,2,4-triazole. *Drug and Alcohol Dependence*, 70, 77-83.
38. Escarabajal M, De Witte P, Quertemont E (2003) Role of acetaldehyde in ethanol-induced conditioned taste aversion. *Psychopharmacology*, 167, 130-136.
39. Olive MF, Koenig HN, Nannini MA, Hodge CW (2001) Stimulation of endorphin neurotransmission in the nucleus accumbens by ethanol, cocaine, and amphetamine. *Journal of Neuroscience*, 21, RC184, 1-5.
40. Sanchis-Segura C, Aragon C (2002) Brain catalase inhibition blocks ethanol-related decrease of blood luteinizing hormone levels in mice. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 26, 1275-1280.
41. Sanchis-Segura C, Grisel J, Olive M, Ghazland S, Koob G, Roberts A, Cowen M (2005) Role of endogenous opioid system on the neuropsychopharmacological effects of ethanol: new insights about an old question. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 29, 1522-1527.
42. Canales J (2004) Catalase-independent early-gene expression in rat brain following acute ethanol exposure. *Brain Research*, 1016, 96-101.
43. Pastor R, Sanchis-Segura C, Aragon C (2004) Brain catalase activity inhibition as well as opioid receptor antagonism increases ethanol-induced HPA axis activation. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 28, 1898-1906.
44. Reddy BV, Boyadijeva N, Sarkar DK (1995) Effect of ethanol, propanol, butanol, and catalase enzyme blockers on  $\beta$ -endorphin secretion from primary cultures of hypothalamic neurons: evidence for a mediatory role of acetaldehyde in ethanol stimulation of  $\beta$ -endorphin release. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 19, 339-344.
45. Oswald L, Wand G (2004) Opioids and alcoholism. *Physiology & Behavior*, 81, 339-358.
46. Kinoshita K, Jessop D, Finn D, Coventry T, Roberts D, Ameno K, Harbuz M (2001) Acetaldehyde, a metabolite of ethanol, activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. *Alcohol & Alcoholism*, 36, 59-64.
47. Mari M, Bai J, Cederbaum A (2002) Adenovirus-mediated overexpression of catalase in the cytosolic or mitochondrial compartment protects against toxicity caused by glutathione depletion in HepG2 cells expressing CYP2E1. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 301, 111-118.
48. Signorini-Alliepe N, Gonthier B, Lamarche F, Eysseric H, Barret L (2005) Chronic consumption of ethanol leads to substantial cell damage in cultured rat astrocytes in conditions promoting acetaldehyde accumulation. *Alcohol & Alcoholism*, 40, 163-171.
49. Bogdanska J, Todorova B, Labudovic C, Korneti PG (2005) Erythrocyte antioxidant enzymes in patients with alcohol dependence syndrome. *Bratislavské Lekárske Listy*, 106, 107-113.
50. Husain K, Scott B, Reddy S, Somani S (2001) Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defense system. *Alcohol*, 25, 89-97.
51. Schriener SE, Linford NJ, Martin GM, Treuting P, Ogburn CE, Emond M, Coskun PE, Ladiges W, Wolf N, Van Remmen H, Wallace DC, Rabinovitch PS (2005) Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria. *Science*, 308, 1909-1911.

52. Cutler R (2005) Oxidative stress and aging: catalase is a longevity determinant enzyme. *Rejuvenation Research*, 8, 138-140.

Adres do korespondencji

Ewa Czech

Zakład Radiodiagnostyki i Medycyny Nuklearnej

Katedra Radiologii i Medycyny Nuklearnej Śląskiej AM

ul. Medyków 18, 40-752 Katowice

tel. (032) 2088-419

e-mail: [eczech@slam.katowice.pl](mailto:eczech@slam.katowice.pl)