

GRAŻYNA ŚWIDERSKA-KOŁACZ<sup>1,3</sup>, KRZYSZTOF KUMAŃSKI<sup>2</sup>, BARBARA PARKA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Zakład Fizjologii Zwierząt*

*Instytut Biologii*

*Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach*

*Świętokrzyska 15, 25-406 Kielce*

<sup>2</sup>*Samodzielny Publiczny Zakład Opieki Zdrowotnej*

*Miejski Ośrodek Profilaktyki i Terapii Uzależnień im. bł. Rafała Chylińskiego w Łodzi*

*Niciarniana 41, 92-320 Łódź*

<sup>3</sup>*Katedra Zdrowia Publicznego*

*Wyższa Szkoła Umiejętności w Kielcach im. Stanisława Staszica*

*Olszewskiego 6, 25-663 Kielce*

*E-mail kolacz@ujk.edu.pl*

## ALKOHOL A STRES OKSYDACYJNY

### WSTĘP

Reaktywne formy tlenu (RFT), do których zalicza się także wolne rodniki tlenowe (WRT), stały się w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat obiektem dużego zainteresowania. Przyczyną tego może być fakt, że są one przedstawiane jako jeden z najważniejszych czynników patogennych większości aktualnie występujących chorób (PĘDZIK i współaut. 2010). Ogólnie wiadomo, że szczególne znaczenie w utrzymaniu homeostazy organizmu ma równowaga potencjału utleniająco-redukcyjnego. Stres oksydacyjny charakteryzuje się nadmierną aktywnością reaktywnych form tlenu, wynikającą z zachwiania równowagi pomiędzy ich powstawaniem a usuwaniem z komórki przez systemy antyoksydacyjne.

W warunkach homeostazy RFT regulują metabolizm i pełnią funkcję mediatorów (VALKO i współaut. 2007). Wpływają one na proliferację i różnicowanie komórek, aktywują geny, oddziałują na syntezę i uwalnianie lub inaktywację śród błonkowego czynnika rozszerzającego naczynia, stymulują transport glukozy do komórek, a także indukują apoptozę. Jednym z ważniejszych zadań wykonywanych przez RFT jest regulacja procesów przekazywania sygnałów między komórkami oraz w jej obrębie (DRÖGE 2002). Mogą także hamować działanie receptorów, między

innymi tych, które zawierają grupy -SH (ZABŁOCKA i JANUSZ 2008). Komórki fagocytykujące wykorzystują wolne rodniki do eliminacji patogenów (HAMPTON i współaut. 1998).

Głównym źródłem RFT w warunkach fizjologicznych jest łańcuch transportu elektronów w mitochondriach (CHEN i współaut. 2003, TURRENS 2003). Oprócz łańcucha mitochondrialnego, w komórce występują jeszcze inne drogi transportu elektronów. Jedną z nich jest łańcuch mikrosomalny w błonach siateczki śródplazmatycznej, który jest odpowiedzialny za utlenianie ksenobiotyków, leków i pestycydów. Peroksysomy i występujący w nich łańcuch transportu elektronów stanowią główne źródło  $H_2O_2$  w komórce. Czynnikiem generującym RFT jest również promieniowanie ultrafioletowe, które doprowadza do wytwarzania ozonu, stanowiącego strukturę wyjściową do powstawania innych rodników tlenowych. Źródłem wolnych rodników może być także promieniowanie gamma, które powoduje radiolizę wody oraz proces sonolizy, czyli rozkładu wody w wyniku sonikacji – działania ultradźwięków.

Mechanizm wytwarzania RFT ma charakter kaskadowy. W początkowej reakcji do tlenu przyłączany jest np. elektron i powstaje anionorodnik ponadtlenkowy ( $O_2^-$ ). Jest on

produktem jednoelektronowej redukcji tlenu i formą wyjściową dla innych, groźniejszych rodzajów RFT. Łączy się także z jonami metali przejściowych, głównie żelaza, redukując je z  $Fe^{+3}$  do  $Fe^{+2}$ . Anionorodnik  $O_2^-$  ulega dysmutacji, w wyniku której powstaje anion nadtlenu wodoru ( $HO_2^-$ ) i tlen. Może również reagować z rodnikiem wodoronadtlenkowym ( $HO_2^{\cdot}$ ), tworząc nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ) i tlen. Wolne jony  $Fe^{+2}$ , utworzone przy udziale anionorodnika ponadtlenkowego, także uczestniczą w reakcjach tworzenia RFT, gdyż ulegają utlenianiu przez  $H_2O_2$  podczas tzw. Reakcji Fentona, w wyniku której powstaje rodnik hydroksylowy (OH) (MILLER i współaut. 2007).

#### CHARAKTERYSTYKA GŁÓWNYCH REAKTYWNYCH FORM TLENOWYCH

Anionorodnik ponadtlenkowy ( $O_2^-$ ) powstaje podczas jednoelektronowej redukcji tlenu cząsteczkowego. Wytwarzany jest głównie na skutek przecieku elektronów w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym. Anionorodnik ponadtlenkowy powstaje także w organizmie w reakcji utleniania ksantyny do kwasu moczowego, katalizowanej przez oksydazę ksantynową w obecności reduktazy NADPH i cytochromu P-450, podczas metabolizmu ksenobiotyków w mikrosomach (DRÖGE 2002). Aktywowane fagocyty mogą również wytwarzać  $O_2^-$ . Charakter ładunku elektrycznego anionorodnika ponadtlenkowego uniemożliwia przenikanie go przez błony komórkowe, dlatego w czasie transportu przez nie ulega on przekształceniu do rodnika wodoronadtlenkowego. Ten, po przejściu przez błonę, dysocjuje tworząc ponownie anionorodnik ponadtlenkowy (HAMPTON i współaut. 1998, KIRKMAN i GAETANI 2006).

Nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ) powstaje w wyniku reakcji dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego lub podczas dwuelektronowej redukcji tlenu cząsteczkowego, pod

Szkodliwy efekt utleniania jest przede wszystkim wynikiem reakcji wolnych rodników. Rodnik może reagować z innym związkami, który nie jest rodnikiem lub z innym rodnikiem. Podczas reakcji wolnego rodnika ze związkiem nierodnikowym ten ostatni oddaje elektron i przechodzi w formę wolnorodnikową. Przykładem tego typu reakcji jest tworzenie nadtlenu lipidów, które z kolei uszkadzają błony białko-lipidowe. Błona komórkowa traci wtedy swoje właściwości biologiczne, staje się nieuszczelną, powodując osmotyczne zniszczenie komórki.

wpływem takich enzymów jak oksydaza ksantynowa lub oksydaza moczanowa. W obecności jonów żelaza ulega rozpadowi do rodnika hydroksylowego i anionu wodorotlenowego (reakcja Fentona). Nadtlenek wodoru z łatwością dyfunduje przez błony komórkowe i dlatego może działać w komórkach znacznie odległych od miejsca wytworzenia. Nadmiar nadtlenu wodoru jest rozkładany przez katalazę oraz peroksydazy (HAMPTON i współaut. 1998, CUZZOCREA i współaut. 2001, DRÖGE 2002).

Rodnik hydroksylowy (OH), najbardziej reaktywny z wolnych rodników, powstaje w wyniku reakcji Fentona. Nie przenika on przez błony komórkowe (BOGNDAN i współaut. 2000, CUZZOCREA i współaut. 2001). Anionorodnik ponadtlenkowy i nadtlenek wodoru w reakcji Habera-Weissa mogą się przekształcać w rodniki hydroksylowe. Rodnik hydroksylowy może utleniać praktycznie wszystkie, ważne biologicznie związki występujące w organizmie (HAMPTON i współaut. 1998, BOGNDAN i współaut. 2000, CUZZOCREA i współaut. 2001, VALKO i współaut. 2007).

#### OKSYDACYJNE USZKODZENIA ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH

##### OKSYDACYJNE USZKODZENIA BIAŁEK

Utlenianie białek prowadzi do zmian strukturalnych i funkcjonalnych ich molekuł. Za oksydacyjne modyfikacje reszt aminokwasowych, grup prostetycznych enzymów, fragmentację czy agregację białek odpowiedzialne są przede wszystkim reaktywne for-

my tlenu  $HO^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$  i  $O_2^{\cdot-}$ . Podstawowym mediatorem oksydacyjnych uszkodzeń białek jest rodnik hydroksylowy. Jego działanie utleniające prowadzi do powstania rodników alkilowych, alkilonadtlenkowych, alkilowodoronadtlenków czy w dalszych przemianach rodników alkoksyłowych, których obecność sprzyja reakcjom, prowadzącym do rozerwa-

nia łańcucha polipeptydowego (NASKALSKI i BARTOSZ 2000, DAVIES 2003). Najbardziej podatne na działanie RFT są reszty aminokwasów aromatycznych i siarkowych. Szczególną wrażliwość wykazują tyrozyna, tryptofan, cysteina i metionina. Utlenianie przez RFT aminokwasów z wolną grupą aminową, amidową lub hydroksylową prowadzi do powstania pochodnych karbonylowych. Pochodne karbonylowe mają zdolność do reagowania z wolnymi grupami aminowymi reszt lizyny. Reakcja ta prowadzi do powstawania w białku wiązań krzyżowych (MARNETT i współaut. 2003).

RFT mogą indukować peroksydację białek, która powoduje powstawanie nadtlenków białek i nadtlenków aminokwasów (NASKALSKI i BARTOSZ 2000).

RFT wykazują również utleniające działanie w stosunku do grup prostetycznych w enzymach. Mogą one utleniać np. węglowodany czy jony metali zawarte w białkach, co często prowadzi do zaburzenia ich funkcji biologicznych. Wykazano, że pod wpływem RFT dochodzi do utraty aktywności niektórych enzymów, m.in. dehydrogenazy gliceraldehydofosforanowej i dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (CIOLINO i LEVINE 1997, SOHAL 2002). Powstające w wyniku modyfikacji oksydacyjnych agregaty są odporne na degradację, co przy zmniejszonej wydajności działania mechanizmów naprawczych sprzyja gromadzeniu się zmienionych białek w komórkach i prowadzi do stopniowej utraty ich biochemicznych i fizjologicznych funkcji (SOHAL 2002, ALVAREZ i RADI 2003). Przy dużej ilości RFT, a zmniejszonej skuteczności działania układów antyoksydacyjnych i proteolitycznych, dochodzi do akumulacji utlenionych produktów białkowych. Zmodyfikowane oksydacyjnie białka wykryto w licznych tkankach i wykazano, że stres oksydacyjny i modyfikacja białek, zachodząca pod wpływem RFT, odgrywają rolę w patogenezie wielu schorzeń, w tym choroby nowotworowej (BEAL 2002).

#### OKSYDACYJNE USZKODZENIA DNA

Stabilność DNA jest warunkiem prawidłowego funkcjonowania komórek. Jego uszkodzenia mogą prowadzić do zaburzenia procesów komórkowych i rozwoju różnych schorzeń, w tym nowotworów. Uszkodzenia te powstają zarówno w procesach endogennych (błędy replikacyjne, uszkodzenia zasad w wyniku stresu oksydacyjnego), jak i w wyniku ekspozycji na czynniki zewnętrzne (kse-

nobiotyki, leki, niewłaściwa dieta) (COOKE i współaut. 2003). Reakcje RFT z DNA prowadzą do powstawania wielu uszkodzeń związanych z nadmierną oksydacją, wśród których można wyróżnić m.in. zmiany struktury pojedynczych zasad azotowych, pęknięcia nici DNA czy tworzenie się niepożądanych adduktów (BARTOSZ 2003, COOKE i współaut. 2003). Za uszkodzenia oksydacyjne DNA odpowiedzialny jest przede wszystkim rodnik hydroksylowy. Anionorodnik ponadtlenkowy i  $H_2O_2$  nie powodują bezpośrednio zmian w DNA jednak  $H_2O_2$ , który łatwo przenika przez błonę jądrową jest w jądrze substratem w reakcji Fentona, w której powstaje  $HO^\cdot$ .

W wyniku oddziaływania  $HO^\cdot$  z DNA dochodzi do uszkodzenia zasad azotowych, deoksyrybozy, rozerwania wiązań fosfodiesterowych, łączących nukleotydy oraz tworzenia wiązań poprzecznych DNA-białko (MARNETT i współaut. 2003). Oddziaływanie  $HO^\cdot$  z resztami deoksyrybozy powoduje powstawanie pojedynczych i podwójnych pęknięć w łańcuchu DNA.

Powstające w wyniku działania RFT, wspomniane mutacje punktowe DNA, mogą zwiększać ekspresję protoonkogenów komórkowych (AUST i EVELEIGH 1999, KASAI 2002). RFT mogą również wpływać na wewnątrzkomórkowe stężenie jonów wapnia. Zwiększają one napływ jonów  $Ca^{2+}$  do komórki, a także wpływają na ich uwalnianie z rezerw komórkowych. Wzrost stężenia  $Ca^{2+}$  prowadzi do aktywacji zależnych od tych jonów endonukleaz, które są odpowiedzialne za degradację DNA. Stwierdzono również, że indukcja niektórych protoonkogenów jest spowodowana bezpośrednio działaniem cytozolowych jonów  $Ca^{2+}$  (SANCAR 1994, PAREKH i PENNER 1997, MARNETT 2002). Wykazano, że wzrost stężenia jonów  $Ca^{2+}$  stymulowany działaniem RFT, jest związany z aktywacją  $Ca^{2+}$  zależnych kinaz białkowych, które odpowiadają za fosforylację czynników transkrypcyjnych, a tym samym wpływają na przebieg procesu transkrypcji (VALKO i współaut. 2004). Szczególnie narażony na oksydacyjne uszkodzenia jest mitochondrialny DNA. Wynika to z bliskiego sąsiedztwa łańcucha oddechowego, ograniczonych możliwości naprawczych, a także braku białek chroniących dodatkowo tę strukturę przed uszkodzeniami. Potwierdzono to w badaniach doświadczalnych na tkankach prawidłowych, w których wykazano 16-krotnie większą ilość 8-hydroksyguaniny w mitochondrialnym niż w jądrowym DNA. Oksydacyjne modyfikacje DNA spo-

wodowane działaniem RFT mogą stanowić element zapoczątkowujący proces nowotworowy. Dowodem na to jest podwyższony poziom zmodyfikowanych zasad w tkance nowotworowej, w porównaniu do otaczających nowotwór tkanek prawidłowych. Przypuszcza się również, że tego typu zmiany w DNA są czynnikiem sprzyjającym przekształceniu zmiany łagodnej w zmianę złośliwą a także przyspieszają wzrost potencjału przerzutowania (GUYTON i KENCLER 1993, COOKE i współaut. 2003, NICCO i współaut. 2005).

#### PEROKSYDACJA LIPIDÓW

Jednym z ważniejszych procesów biologicznych, związanych z działaniem RFT jest peroksydacja lipidów. Kaskadowy proces utleniania obecnych w lipidach nienasyconych kwasów tłuszczowych, w którym powstają nadtlarki tych związków, zapewnia również ciągły dopływ wolnych rodników, inicjujących kolejne reakcje peroksydacji. Peroksydacji ulegają przede wszystkim reszty wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, wchodzące w skład fosfolipidów, które są podstawowym składnikiem budulcowym błon biologicznych (MARNETT 2002).

Peroksydacja lipidów jest procesem wieloetapowym, który nieodłącznie towarzyszy reakcjom metabolizmu organizmów aerobowych. Może on przebiegać nie enzymatycznie, jak i w wyniku reakcji enzymatycznych. Końcowym produktem peroksydacji lipidów są rodniki alkilowe i nadtlarkowe, które ulegają dalszym przemianom. Do końcowych produktów procesu peroksydacji lipidów zaliczamy m.in. ugrupowania alkanów i alkenów, które prowadzą do zmiany struktury błon komórkowych i ich płynności, wpływając na zmiany zachowania integralności komórek (PORTER i współaut. 1995, MARNETT 2002). Końcowe produkty peroksydacji lipidów, do których należy m.in. dialdehyd malonowy (MDA), wykazują mutagenne i kancerogenne działanie, a także mogą wpływać regulacyjnie na tempo proliferacji komórki (ESTERBAUER i współaut. 1991). Reaktywne formy tlenu biorą udział w rozwoju wielu chorób (BARTOSZ 2003). Zaobserwowano na tym tle, że podczas metabolizmu etanolu powstaje dużo reaktywnych form tlenu i dochodzi do stresu oksydacyjnego (ALBANO 2006, 2008).

#### RFT JAKO CZYNNIK CHOROBOTWÓRCZY U OSÓB PRZEWLEKLE PIJĄCYCH

Do najczęściej występujących zaburzeń chorobowych spowodowanych działaniem reaktywnych form tlenu, u osób przewlekle pijących, należy zaliczyć m.in.: choroby wątroby, miażdżycę, nadciśnienie tętnicze, nowotwory, zaburzenia odporności, zaburzenia funkcji seksualnych a nawet sam proces starzenia się skóry.

#### CHOROBY WĄTROBY A REAKTYWNE FORMY TLENU

Narządem szczególnie narażonym na szkodliwe oddziaływanie etanolu i jego metabolitów jest wątroba. Chroniczne spożywanie alkoholu w ilości przekraczającej 80g/dobę powoduje z reguły zwyrodnienie hepatocytów. Do uszkodzenia wątroby związanego z nadmiernym piciem zalicza się m.in.: alkoholowe stłuszczenie, alkoholowe zapalenie oraz marskość wątroby. Jak wiadomo, alkohol etylowy bardzo szybko jest wchłaniany poprzez błony śluzowe przewodu pokarmowego do krwiobiegu. Jest on metabolizowany głównie w wątrobie (90%), a pozostała część w nerkach i płucach. Utlenianie etanolu w komórkach wątroby odbywa się w

kilku etapach. Początkowy, to utlenianie etanolu do aldehydu octowego przez dehydrogenazę alkoholową. Z kolei aldehyd utleniany jest do kwasu octowego przy pomocy dehydrogenazy aldehydowej. Podczas tych obu reakcji redukowany jest kofaktor dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NAD<sup>+</sup>). W wyniku zużycia NAD w przebiegu wymienionych reakcji zmniejsza się stosunek formy utlenionej do formy zredukowanej (NADH), co powoduje zaburzenie potencjału redukcyjnego. Zmiany w funkcjonowaniu np. cyklu Krebsa powodują gromadzenie się nadmiernych ilości kwasu mlekowego, gdyż brak NAD blokuje utlenianie pirogronianu do kwasu mlekowego. Najważniejszym patologicznym objawem poalkoholowych zmian wątrobowych jest jednak jej stłuszczenie, które wynika ze wzrostu stężenia  $\alpha$ -glicerofosforanu, a to z kolei powoduje przyspieszenie syntezy triacylogliceroli. Działanie to związane jest z zablokowaniem  $\beta$ -oksydacji poprzez upośledzenie sprawności cyklu Krebsa (BAILEY i CUNNINGHAM 2002).

Przewlekle nadużywanie alkoholu zwiększa aktywność mikrosomalnego systemu

utleniania etanolu (MEOS). W skład MEOS wchodzi cytochrom P-450, który w obecności NADPH, tlenu oraz reduktazy NADPH i cytochromu c utlenia etanol do kwasu octowego (MINICIS i BRENNER 2008). Większe stężenia etanolu powodują w konsekwencji wzrost tempa wytwarzania RFT przez hepatocyty. W wytwarzaniu RFT szczególnie aktywną jest izoforma 2E1 cytochromu P-450 (CYP2E1). Niezależnie jednak od szlaku, metabolizm alkoholu zaczyna się od powstawania aldehydu octowego, a następnie kwasu octowego. Aldehyd octowy jak i inne aldehydy wytwarzające się w wyniku metabolizmu etanolu, między innymi dialdehyd malonowy (MDA) oraz 4-hydrokso-2-nonenal (HNE) mogą reagować z białkami. Następstwem tego jest rozwój stanu zapalnego i autoagresywnych reakcji układu immunologicznego w wątrobie.

Stres oksydacyjny jest głównym elementem w rozwoju alkoholowej choroby wątroby, procesy stanowiące o jego istocie są bowiem silnie powiązane z wytwarzaniem cząsteczek sygnałowych (cytokin, chemokin i interleukin). Jest to samonapędzający się mechanizm, którego następstwem jest rozwój procesów włóknienia wątroby. Należy dodać jednak, że w warunkach fizjologicznych generowane wolne rodniki usuwane są przez komórkowe systemy antyoksydacyjne tak enzymatyczne, jak i nieenzymatyczne.

#### MIAŻDŻYCA I NADCIŚNIENIE TĘTNICZE

Podstawowym zaburzeniem odpowiedzialnym za rozwój zmian miażdżycowych jest akumulacja utlenionych lipoprotein o niskiej gęstości (LDL). Modyfikacje struktury LDL przebiegają z udziałem wolnych rodników tlenowych (MAHFOUZ i KUMMEROW 1998, BLACHE i współaut. 1999).

Rola RFT w patogenezie miażdżycy nie ogranicza się do oksydacji lipoprotein. Powodują one również uszkodzenia śródbłoka naczyniowego i rozwój blaszki miażdżycowej. Śródbłonek naczyniowy jest wrażliwy na działanie wolnych rodników, które uszkadzają białka, lipidy, DNA oraz aktywują fosfolipazy, endonukleazy i proteazy. Procesy te uszkadzają śródbłonek i doprowadzają do wykrzepiania i dysfunkcji śródbłoka.

Etiologia nadciśnienia tętniczego pozostaje nieznana w około 90% przypadków. W poszukiwaniu przyczyn nadciśnienia tętniczego coraz większą uwagę zwraca się na możliwość udziału reaktywnych form

tlenu w jego patogenezie. W procesach fizjologicznego metabolizmu komórkowego w ścianie naczyń krwionośnych tlen ulega serii etapowych redukcji, z sekwencyjnym wytwarzaniem anionu ponadtlenkowego ( $O_2^-$ ), nadtlenu wodoru ( $H_2O_2$ ) i wody.

Reaktywne formy tlenu wykazują różnokierunkowe działanie w naczyniach krwionośnych. Uczestniczą one w komórkowych torach sygnalizacyjnych oraz wzroście i proliferacji komórek. Ponadto, RFT modyfikują syntezę i degradację elementów macierzy zewnątrzkomórkowej oraz związane są z utlenianiem lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) i oddziaływaniem na metabolizm tlenu azotu (MARTYNOWICZ i współaut. 2004). Mimo licznych badań doświadczalnych i klinicznych związek między stresem oksydacyjnym a rozwojem nadciśnienia tętniczego pozostaje niewyjaśniony.

Mechanizmy indukcji nadciśnienia tętniczego przez wolne rodniki tlenowe są złożone i obejmują między innymi wpływ na opór obwodowy (ograniczenie biodostępności naczyniorozszerzającego tlenu azotu, naczyniokurczące działanie anionu nadtlenuazotynowego, upośledzenie rozkurczu naczyniowego w wyniku peroksydacji lipidów błonowych, podwyższone stężenie naczyniokurczących F2-izoprostanów, pobudzenie wytwarzania endoteliny i proliferacji mięśni gładkich ściany krwionośnych) oraz wpływ na wolemie przez zwiększenie resorpcji sodu w cewkach nerkowych.

Anion ponadtlenkowy może także wchodzić w reakcje z NO, w efekcie czego powstaje anion nadtlenuazotynowy ( $ONOO^-$ ). Anion ponadtlenkowy ma prawdopodobnie zasadnicze znaczenie w etiologii nadciśnienia tętniczego, ponieważ przekształcając tlenek azotu (NO) do anionu nadtlenuazotynowego, ogranicza biodostępność NO (MARTYNOWICZ i współaut. 2004). Anion nadtlenuazotynowy może utleniać lipidy i nitrozylować białka błonowe, posiada również silne właściwości naczyniokurczące. W ścianie naczyń krwionośnych zachodzi także peroksydacja lipidów. Powstające tu rodniki lipidowe ( $L^{\cdot}$ ) w połączeniu z tlenem tworzą rodniki nadtlenukowe ( $LOO^{\cdot}$ ), a te z kolei, reagując z innymi lipidami, generują kolejne rodniki lipidowe oraz wodoronadtlenki lipidów (LOOH). Błony komórkowe zawierające wodoronadtlenki lipidów stają się bardziej narażone na uszkodzenia, przepuszczalne dla jonów, sztywne i mniej sprawne czynnościowo (MARTYNOWICZ i współaut. 2004).

## NOWOTWORY

Liczne badania wskazują na związek pomiędzy konsumpcją napojów alkoholowych a zwiększonym ryzykiem wystąpienia choroby nowotworowej. Wielkość szacowanego ryzyka jest jednak znacznie zróżnicowana i zależy m.in. od ilości spożywanego alkoholu, jego rodzaju oraz wpływu innych czynników. Występują też różnice w wartości określonego ryzyka wystąpienia nowotworu złośliwego o różnej lokalizacji. W badaniach eksperymentalnych na zwierzętach nie wykazano, że etanol indukuje kancerogenezę. Mimo to, u ludzi konsumpcję napojów alkoholowych łączy się ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia wielu nowotworów. Ryzyko wystąpienia raka jamy ustnej, gardła, krtani, przełyku i wątroby jest zdecydowanie wyższe u osób spożywających alkohol.

Powszechnie panuje pogląd, że złośliwe transformacje komórkowe i rozwój nowotworów są związane z uszkodzeniem genomu. Ostatnio wiele uwagi poświęcono działaniu reaktywnych form tlenu, w szczególności rodnika hydroksylowego, który uszkadza DNA. Jak wiadomo, uszkodzenia DNA obserwowane w komórkach poddanych stresowi oksydacyjnemu mogą prowadzić do mutacji (PRZYBYSZEWSKI i RZESZOWSKA-WOLNY 2009).

## ODPORNOŚĆ

Uszkodzenia odporności tkanek mogą być spowodowane bezpośrednio działaniem etanolu oraz pośrednio na drodze jego toksycznych metabolitów, m.in. aldehydu octowego, RFT, a także metabolitów nieoksydacyjnych w postaci estrów etylowych wolnych kwasów tłuszczowych (KUROSE i współaut. 1997, LAPOSATA 1998).

Wraz ze zwiększeniem przepuszczalności bariery przewodu pokarmowego, indukowanej etanolem oraz zwiększeniem się ilości bakterii Gram ujemnych zawierających endotoksynę lipopolisacharydową (LPS), zwiększona zostaje stymulacja endotoksyną makrofagów i następcze wytwarzanie przez nie mediatorów, takich jak: czynnik martwicy guza [TNF], IL-1 i IL-6 (interleukina 1 i 6), RFT, reaktywne formy azotu, prostaglandyny E2 i D2 (PGE2, PGD2), czy endotelina-1 (ET-1) (WASZKIEWICZ i współaut. 2009). W tych przypadkach dochodzi do rozwinięcia się procesów zapalnych, zwiększenia tempa metabolizmu komórek i uszkodzenia tkanek.

Nadużywanie alkoholu jest znanym czynnikiem sprzyjającym zapaleniom płuc powodowanym przez *Pseudomonas aeruginosa*,

*Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*) czy wirusowym zapaleniem wątroby typu C (MELLEN-CAMP 1996, NELSON i KOLLS 2002).

Nadużywanie alkoholu jest łącznie też z atrofią grasicy, śledziony, pogorszeniem dystrybucji leukocytów we krwi oraz pogorszeniem odpowiedzi immunologicznej humoralnej i komórkowej (DIAZ i współaut. 2002, BUDEC i współaut. 2005). Długotrwałe nadużywanie alkoholu upośledza funkcjonowanie zarówno swoistego, jak i nieswoistego systemu oporności.

## ZABURZENIA FUNKCJI SEKSUALNYCH

Pomimo dość powszechnej opinii, że alkohol i inne substancje psychoaktywne wpływają korzystnie na wydolność seksualną, często obserwuje się efekt odwrotny. Wiele tych substancji, z alkoholem włącznie, ma działanie „odhamowujące” i może rzeczywiście powodować zwiększenie popędu płciowego. Długotrwałe, nadmierne picie alkoholu prowadzi jednak najczęściej do osłabienia wydolności seksualnej. Systematyczne, a niekiedy nawet okazyjne spożywanie alkoholu może u części mężczyzn prowadzić do impotencji. Stwierdzono, że wzrost stężenia alkoholu we krwi powoduje zaburzenia wzwodu, opóźnienie ejakulacji i osłabienie orgazmu. Z badań wynika, że impotencja może występować nawet u 50% osób długotrwałe nadużywających alkoholu. Ponadto, u wielu zdarza się atrofia jąder i obniżenie płodności. Mechanizm tego zjawiska jest złożony i prawdopodobnie jest skutkiem bezpośredniego toksycznego działania alkoholu na komórki Leydiga oraz wynikiem zaburzeń czynności podwzgórza. Poziom testosteronu może być obniżony, jednakże ostatnie badania dowiodły, że u wielu mężczyzn uzależnionych od alkoholu poziom hormonów płciowych jest prawidłowy.

Wpływ alkoholu na wydolność seksualną kobiet jest gorzej poznany. Wiele spośród uzależnionych kobiet skarży się na osłabienie popędu płciowego, zmniejszenie wydzielania śluzu pochwowego i zaburzenia cyklu miesięczkowego. Często występują zmiany zanikowe jajników i zahamowanie owulacji. Z badań wynika, że kobiety mają obniżoną płodność na skutek zmniejszonej częstości owulacji i większej liczby poronień samoistnych. Picie alkoholu przed okresem pokwitania może opóźnić dojrzewanie płciowe poprzez obniżenie poziomu hormonu wzrostu i

hormonu luteinizującego (LH). U kobiet uzależnionych od alkoholu częściej występuje wczesna menopauza.

Jednym z najważniejszych związków potrzebnych do prawidłowych fizjologicznych zachowań seksualnych jest tlenek azotu (NO). Tlenek azotu powoduje relaksację mięśni gładkich przez aktywację związanego z błoną podstawną enzymu, cykazy guanylowej, i zwiększenia stężenia drugiego przekaznika, cyklicznego guanozynomonofosforanu (cGMP). Z kolei, cGMP moduluje stężenie wapnia w mięśniówce gładkich naczyń i w ten sposób wpływa na ich napięcie.

W trakcie stymulacji seksualnej z zakończeń i śródbłonna zatok jamistych uwalniany jest NO. Pobudza on syntezę cGMP. Wysoka aktywność tego enzymu odpowiada za rozluźnienie mięśniówki gładkiej ciał jamistych oraz naczyń krwionośnych prącia i w efekcie, za wystąpienie erekcji.

Tlenek azotu działa silnie, ale krótkotrwale, jest szybko unieczynniany przez reakcję z wolnym rodnikiem. Anion ponadtlenkowy, indukowany przez alkohol, może wchodzić w reakcje z NO i w efekcie powstaje anion nadtlenoazotynowy (ONOO<sup>-</sup>), który ma silne właściwości naczynioskurczowe.

### PROCES STARZENIA SIĘ SKÓRY A WOLNE RODNIKI

Zauważono również, że alkoholicy mają tendencję do szybszego „wizualnego” starzenia się. Na działanie wolnych rodników narażona jest również skóra. W procesie jej starzenia można zaobserwować wiotkość skóry właściwej i tkanki podskórnej, degradację i zanik włókien kolagenowych i elastycznych.

Wolne rodniki zaburzają wytwarzanie nowego kolagenu, który służy do odbudowy skóry i wzmacniania tkanek i narządów. Takie zaburzenia powodują wolniejsze gojenie się ran, skłonność do rozstępów i tworzenie się cellulitu.

### NAJWAŻNIEJSZE ANTYOKSYDANTY WEWNĄTRZKOMÓRKOWE

Organizmy żywe wytworzyły wiele mechanizmów obronnych, umożliwiających prawidłowe funkcjonowanie komórek w obecności WRT i ich pochodnych. Do elementów bariery antyoksydacyjnej należą enzymy antyoksydacyjne oraz drobnocząsteczkowe antyoksydanty, np. glutation. Szczególną rolę w barierze antyoksydacyjnej odgrywają enzymy, do których należą dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT) oraz enzymy GSH-zależne: peroksydaza glutationowa (GPx), transferaza glutationowa (GST) oraz reduktaza glutationowa (GR).

Dysmutaza ponadtlenkowa (EC 1.5.1.1) jest głównym enzymem, chroniącym komórki organizmu przed działaniem wolnych rodników. Występuje w postaci 2 izoform: cytoplazmatycznej (CuZnSOD) oraz mitochondrialnej (MnSOD). Oba izoenzymy SOD biorą udział w unieczynnianiu anionorodnika ponadtlenkowego (BARTOSZ 2003, GAŁECKA i współaut. 2008).

Drugim ważnym enzymem o działaniu antyoksydacyjnym jest katalaza (EC 1.11.1.6), chroniąca komórki przed toksycznym działaniem nadtlenu wodoru, który rozkłada do tlenu i wody. Ponieważ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> jest substratem

wyjściowym w powstawaniu najbardziej reaktywnego rodnika hydroksylogowego, bardzo często inicjującego transformację nowotworową w komórkach organizmu, udział katalazy w reakcji jego bezpośredniej eliminacji jest bardzo istotny (KIRKMAN i GAETANI 2006, ŚCIBOR i CZECZOT 2006).

Szczególnym związkiem drobnocząsteczkowym o działaniu antyoksydacyjnym jest glutation (GSH). To „zmiatacz” wolnych rodników i reaktywnych form tlenu, a także substrat w reakcjach katalizowanych przez peroksydazy oraz w reakcjach sprzęgania z udziałem transferaz, które prowadzą do detoksykacji wielu elektrofilowych endo- i egzogennych związków (WINIARSKA i DROŻAK 2002, ŁUKASZEWICZ-HUSSAIN 2003).

Peroksydazy glutationowe (GPx) katalizują redukcję nadtlenu wodoru oraz nadtlenu organicznych z udziałem zredukowanego GSH. W komórkach organizmu człowieka występują m.in. selenozależna peroksydaza glutationowa (Se-GPx; EC 1.11.1.9), która unieczynnia przede wszystkim H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, oraz selenoniezależna GPx (non-Se-GPx; EC. 1.11.1.7), odpowiedzialna za unieczynnianie powstających w komórce w

wyniku peroksydacji lipidów nadtlenujących organicznych.

Transferaza glutationowa (EC 2.5.1.18) neutralizuje endo- i egzogenne związki o działaniu mutagennym i kancerogennym oraz produkty peroksydacji lipidów. Enzym ten katalizuje ich koniugację z glutationem. Enzymem wspomagającym działanie GSHPx i GST jest reduktaza glutationowa (EC 1.6.4.2), która w obecności NADPH katalizuje reduk-

cję utlenionego glutationu (GSSG) do jego formy zredukowanej (GSH) (WALTER 1994).

Enzymy antyoksydacyjne najefektywniej współdziałają ze sobą i innymi składnikami bariery antyoksydacyjnej organizmu, gdy ich aktywność pozostaje w równowadze. Zmiana aktywności nawet jednego z nich zakłóca tę równowagę, co może stać się przyczyną zmian patologicznych, prowadzących do wielu chorób (CZECZOT i współaut. 2006).

## ALKOHOL I ANTYOKSYDANTY

Mimo bogatego arsenału antyoksydacyjnego jaki ujawnia wątroba, przewlekłe nadużywanie alkoholu etylowego prowadzi do wyczerpania możliwości obrony przed reaktywnymi formami tlenu (RFT). Dzieje się tak nie tylko z powodu nadmiernego wytwarzania RFT, ale również w wyniku upośledzenia mechanizmów antyoksydacyjnych przez etanol lub jego metabolity.

Badania CZECZOT i współaut. (2006) wykazały, że alkohol obniża stężenie glutationu w wątrobie pacjentów, prowadzi do spadku aktywności Se-GPx (peroksydazy selenozależnej) i non-Se-GPx (peroksydazy selenoniezależnej). Obniża się także aktywność CuZnSOD i MnSOD (dysmutaz ponadtlenujących) i CAT (katalazy). Wzrasta natomiast aktywność GR (reduktazy glutationowej). U szczurów karmionych etanolem wykryto obniżenie zarówno poziomu i aktywności CAT, GPx oraz CuZnSOD. Przewlekłe spożywanie alkoholu etylowego powoduje niedożywienie organizmu oraz spadek poziomu witamin i mikroelementów. Dzieje się tak na skutek zaburzenia trawienia i wchłaniania z przewodu pokarmowego pod wpływem etanolu. Inną przyczyną takiej sytuacji jest szkodliwe oddziaływanie alkoholu na metabolizm komórek, a zwłaszcza pracę mitochondriów. Czynniki te powodują spadek stężenia witamin i mikroelementów, spośród których wiele ma charakter antyoksydantów: witaminy C, A i E czy cynk i selen. Alkohol inaktywuje także adenozynttransferazę metioniny, enzym, którego niedobór obniża syntezę glutationu.

Badania mózgu zwierząt doświadczalnych wykazały, że alkohol etylowy może mieć różnokierunkowe oddziaływanie na aktywność dysmutazy ponadtlenującej. Może się ona obniżać, wzrastać lub nie ulegać istotnym zmianom (SOMANI i współaut.

1996). Głównym miejscem wytwarzania RFT w układzie nerwowym jest kora mózgowa. W związku z tym, obserwowany w tym obszarze wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenującej, jest traktowany jako odpowiedź adaptacyjna na stres oksydacyjny indukowany ostrym zatruciem etanolem. Natomiast w wyniku przewlekłego zatrucia etanolem w korze mózgowej dochodzi do obniżenia aktywności cytozolowej dysmutazy ponadtlenującej, a w mózdzku również mitochondrialnej dysmutazy ponadtlenującej (CALABRESE i współaut. 1998). Do obniżenia aktywności SOD dochodzi również w rdzeniu kręgowym, co przypisuje się oksydacyjnej inaktywacji enzymu i akumulacji nadtlenujących, wywołanej zarówno ostrym, jak i przewlekłym zatruciem etanolem (LEDIG i współaut. 1991).

Z dysmutazą ponadtlenującą ściśle współdziała katalaza. W ośrodkowym układzie nerwowym aktywność tego enzymu jest wysoka (EYSSERIC i współaut. 2000). Wykazano, że w zatruciu alkoholem etylowym może dochodzić do różnych zmian w aktywności katalazy w zależności od badanego obszaru mózgu. Do obniżenia aktywności tego enzymu dochodzi w mózdzku (CALABRESE i współaut. 2000) i podwzgórzcu (SOMANI i współaut. 1996), natomiast wzrost aktywności obserwowano w rdzeniu kręgowym i prądkowiu szczurów przewlekłe zatrutowanych etanolem (SOMANI i współaut. 1996). Wzrost aktywności katalazy w następstwie działania etanolu, obserwowany w OUN, jest związany z małą aktywnością dehydrogenazy alkoholowej. Wykazano, że podwyższenie aktywności katalazy w OUN szczura może być również wynikiem wzrostu ilości lub zwiększenia szybkości różnicowania się oligodendrocytów zawierających duże ilości mikroperoksysomów. Wzrost aktywności katalazy jest



szczególnie niebezpieczny ze względu na możliwość powstawania lokalnie dużych stężeń acetaldehydu (TOTTMAR 1985, ASPBERG i współaut. 2004).

W ośrodkowym układzie nerwowym występują dwie izoformy peroksydazy glutationowej, przy czym aktywność selenoniezależnej jest około cztery razy mniejsza w stosunku do selenozależnej. Antyoksydacyjne właściwości tego enzymu polegają głównie na redukcji nadtlenków lipidów, które ze względu na dużą zawartość fosfolipidów w ośrodkowym układzie nerwowym, powstają w warunkach stresu oksydacyjnego w szczególnie dużych ilościach. Natomiast peroksydaza niezależna od selenu działa w obecności dużych stężeń nadtlenku wodoru i dlatego także ta postać enzymu może odgrywać istotną rolę w zapobieganiu stresowi oksydacyjnemu w OUN. W wyniku działania etanolu może dochodzić zarówno do obniżenia, jak i wzrostu aktywności peroksydazy glutationowej (EYSSERIC i współaut. 2000). Przypuszcza się, że wzrost aktywności tego enzymu może wskazywać na procesy adaptacyjne w komórce spowodowane nadmiernym wytwarzaniem nadtlenków w zatruciu etanolem (SOMANI i współaut. 1996). Z kolei, powodem obniżenia aktywności GSH-Px, obserwowanego głównie w tkance nerwowej na skutek przewlekłego zatrucia etanolem, mogą być reakcje cząsteczek tego enzymu z końcowymi produktami peroksydacji lipidów, takimi jak MDA, 4-hydroksynonenal, co może prowadzić nawet do inaktywacji enzymu.

W ostrym zatruciu etanolem obserwuje się istotne obniżenie aktywności reduktazy glutationowej w korze mózgu. Natomiast wzrost aktywności GR na skutek przewlekłego zatrucia etanolem zachodzi w prążkowiu i rdzeniu kręgowym, co może być wynikiem dążenia komórek do utrzymania prawidłowego poziomu GSH lub stanowi odpowiedź adaptacyjną na towarzyszący zatruciu etanolem, obniżony poziom NADPH (SOMANI i współaut. 1996).

Najważniejszym nieenzymatycznym antyoksydantem cytozolowym, współdziałającym z peroksydazą glutationową, jest glutation zredukowany (GSH). Zarówno ostre, jak i przewlekłe zatrucie alkoholem etylowym powoduje obniżenie stężenia glutationu zredukowanego (ROMERO 1996).

Spożywanie etanolu zmniejsza dodatkowo zawartość tokoferolu, obniżając zdolności antyoksydacyjne i przyspieszając zużywanie się GSH w reakcjach wolnorodnikowych indukowanych przez etanol. Ponadto, obniżenie zawartości GSH może być związane ze wzrostem zawartości metabolitu etanolu, acetaldehydu, który, podobnie jak inne toksyczne związki, jest usuwany z komórki z udziałem S-transferazy glutationowej i GSH (DRINGEN 2000). Wzrost zawartości acetaldehydu jest również przyczyną obniżenia zawartości GSH w prążkowiu, które ze względu na duże stężenia dopaminy jest uważane za miejsce szczególnie podatne na uszkodzenia wolnorodnikowe. Do obniżenia poziomu GSH dochodzi również w korze mózgu, która jest wyjątkowo wrażliwa na zmiany wywołane przez etanol (BONDY i GUO 1995).

Obniżeniu stężenia GSH często towarzyszy wzrost stężenia utlenionej postaci glutationu, disulfidu glutationu (GSSG), oraz obniżenie stosunku GSH/GSSG (CALABRESE i współaut. 1998).

Ze względu na dużą zawartość struktur błonowych w OUN, ważnym antyoksydantem egzogennym jest tam witamina E, która ma właściwości lipofilowe i dzięki temu może chronić fosfolipidy błonowe przed ich peroksydacją. Stres oksydacyjny indukowany etanolem powoduje obniżenie zawartości witaminy E. Uważa się, że jest to spowodowane wychwytywaniem przez witaminę E rodników powstających w czasie utleniania alkoholu etyloвого, takich jak anionorodnik ponadtlenkowy oraz rodnik hydroksylowy. Właściwości antyoksydacyjne wykazuje także metabolit  $\beta$ -karotenu, witamina A (retinol).

Zdrowa dieta nie jest w stanie skorygować skutków zdrowotnych alkoholizmu, nie może też uleczyć poważnego uszkodzenia wątroby, które zwykle jest nieodwracalne. Jednakże, zwiększenie dawki żywieniowej i zdrowa dieta mogą pomóc zatrzymać rozwój marskości i wzmocnić system obrony organizmu przed dalszymi poważnymi chorobami. Oznacza to regularne spożywanie kolorowych warzyw i owoców w codziennej diecie, pokarmów bogatych w witaminę C (np. pomarańcze, grejpfruty, kiwi, pomidory), żywności bogatej w witaminę E (oleju z kielków pszenicy).

## ALKOHOL A STRES OKSYDACYJNY

## Streszczenie

Etanol ma istotny wpływ na proces wytwarzania reaktywnych form tlenu, a tym samym na generowanie stresu oksydacyjnego. Dokonano charakterystyki RFT oraz opisano mechanizm ich powstawania. Oksydacyjnym uszkodzeniom ulegają białka, DNA i lipidy. Istotną rolę odgrywają reaktywne formy tlenu w procesach chorobotwórczych u osób przewlekłe spożywających alkohol. Wśród chorób związanych z

oddziaływaniem RFT i nadużywaniem alkoholu wyróżnia się: choroby wątroby, miażdżycę, nadciśnienie tętnicze, rozwój nowotworów, spadek odporności, zaburzenia funkcji seksualnych, a także przyspieszenie procesu starzenia się skóry. Organizm ochraniają antyoksydanty wewnątrzkomórkowe i zewnątrzkomórkowe.

## ALCOHOL AND OXIDATIVE STRESS

## Summary

Ethanol significantly influences formation of reactive oxygen species (ROS) in cells, and thus generation therein of oxidative stress. At present, ROS and mechanisms of their formation and action are well characterized. Under the stress condition, proteins, DNA and lipids undergo oxidative damages. In persons consuming alcohol protractedly, ROS play

an important role in etiology of pathogenic processes, in particular such as liver diseases, arteriosclerosis, arterial hypertension, development of tumors, decrease in immunity, disorder of sexual functions, and acceleration of skin aging. Intracellular and outside antioxidants help to protect organism from the oxidative stress.

## LITERATURA

- ALBANO E., 2006. *Alcohol, oxidative stress and free radical damage*. Proc. Nutrit. Soc. 65, 278-290.
- ALBANO E., 2008. *New concepts in the pathogenesis of alcoholic liver disease*. Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol. 2, 749-759.
- ALVAREZ B., RADI R., 2003. *Peroxynitrite reactivity with amino acids and proteins*. Amino Acids 25, 295-311.
- ASPERG A., SODERBACK M., TOTTMAR O., 2004. *Increase in catalase activity in developing rat brain cell reaggregation cultures in the presence of ethanol*. Biochem. Pharmacol. 46, 1873-1876.
- AUST A. E., EVELEIGH J. F., 1999. *Mechanisms of DNA oxidation*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 222, 246-252.
- BAILEY S. M., CUNNINGHAM C. C., 2002. *Contribution of mitochondria to oxidative stress associated with alcoholic liver disease*. Free Rad. Biol. Med. 32, 11-16.
- BARTOSZ G., 2003. *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. PWN. Warszawa.
- BEAL M. F., 2002. *Oxidatively modified proteins in aging and disease*. Free Rad. Biol. Med. 32, 797-803.
- BLACHE D., GESQUIERE L., LOREAU N., DURAND P., 1999. *Oxidant stress: the role of nutrients in cell-lipoprotein interactions*. Proc. Nutrit. Soc. 58, 559-563.
- BOGNDAN C. H., RÖLLINGHOFF M., DIEFENBACH A., 2000. *Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates in innate and specific immunity*. Curr. Opin. Immunol. 12, 64-76.
- BONDY S. C., GUO S. X., 1995. *Regional selectivity in ethanol-induced pro-oxidant events within the brain*. Biochem. Pharmacol. 49, 69-72.
- BUDEC M., TODOROVIC V., DRNDAREVIC N., 2005. *Acute effect of ethanol on IgA immunoreactive cells in the intestine-associated immune system*. Pharmacol. Rep. 57, 385-389.
- CALABRESE V., RENIS M., CALDERONE A., RUSSO A., REALE S., BARCELLONA M. L., RIZZA V., 1998. *Stress proteins and SH-groups in oxidant-induced cellular injury after chronic ethanol administration in rat*. Free Rad. Biol. Med. 24, 1159-1167.
- CALABRESE V., TESTA G., RAVAGNA A., BATES T. E., STELLA A. M., 2000. *HSP70 induction in the brain following ethanol administration in the rat: regulation by glutathione redox state*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 269, 397-400.
- CHEN C. H., CHERN C. L., LIN C. C., LU F. J., SHIH M. K., HSIEH P. Y., LIU T. Z., 2003. *Involvement of reactive oxygen species, but not mitochondrial permeability transition in the apoptotic induction of human SK-Hep-1 hepatoma cells by shikonin*. Planta Med. 69, 1119-1124.
- CIOLINO H. P., LEVINE R. L., 1997. *Modification of proteins in endothelial cell death during oxidative stress*. Free Rad. Biol. Med. 22, 1277-1282.
- COOKE M. S., EVANS M. D., DIZDAROGLU M., LUNEC J., 2003. *Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease*. FASEB J. 17, 1195-1214.
- CUZZOCREA S., RILEY D. P., CAPUTI A. P., SALVENIM D., 2001. *Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury*. Pharmacol. Rev. 53, 135-159.
- CZECZOT H., SCIBIOR D., SKRZYCKI M., PODSIAD M., 2006. *Aktywność enzymów antyoksydacyjnych u chorych z marskością wątroby*. Wiad. Lek. 59, 762-766.
- DAVIES M. J., 2003. *Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 305, 761-770.
- DIAZ L. E., MONTERO A., GONZALEZ-GROSS M., 2002. *Influence of alcohol consumption on immunological status: a review*. Eur. J. Clin. Nutr. 56, 50-53.
- DRINGEN R., 2000. *Metabolism and functions of glutathione in brain*. Prog. Neurobiol. 62, 649-671.
- DRÖGE W., 2002. *Free radicals in the physiological control of cell function*. Physiol. Rev. 82, 47-95.
- ESTERBAUER H., SCHAUR R. J., ZOLLNER H., 1991. *Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal*.

- malonaldehyde and related aldehydes. *Free Rad. Biol. Med.* 11, 81-128.
- EYSSERIC H., GONTHIER B., SOUBEYRAN A., RICHARD M.J., DAVELOOSE D., BARRET L., 2000. *Effects of chronic ethanol exposure on acetaldehyde and free radical production by astrocytes in culture.* *Alcohol* 21, 117-125.
- GAŁECKA E., JACEWICZ R., MROWICKA M., FLORKOWSKI A., GAŁECKI P., 2008. *Enzymy antyoksydacyjne – budowa, właściwości, funkcje.* *Pol. Merk. Lek.* XXV, 147, 266-268
- GUYTON K. Z., KENCLER T. W., 1993. *Oxidative mechanisms in carcinogenesis.* *Brit. Med. Bull.* 49, 523-544.
- HAMPTON M. B., KETTLE A.J., WINTERBOURN CH. C., 1998. *Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase and bacterial killing.* *Blood*, 92, 3007-3017.
- KASAI H., 2002. *Chemistry-based studies on oxidative DNA damage: formation, repair, and mutagenesis.* *Free Rad. Biol. Med.* 33, 450-456.
- KIRKMAN H. N., GAETANI G. F., 2006. *Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries.* *Trends in Biochem. Sci.* 32, 44-50.
- KUROSE I., HIGUCHI H., MIURA S., SAITO H., WATANABE N., HOKARI R., HIROKAWA M., TAKAISHI M., ZEKI S., NAKAMURA T., EBINUMA H., KATO S., ISHII H., 1997. *Oxidative stress-mediated apoptosis of hepatocytes exposed to acute ethanol intoxication.* *Hepatology* 25, 368-378.
- LAPOSATA M., 1998. *Fatty acid ethyl esters: ethanol metabolites which mediate ethanol-induced organ damage and serve as markers of ethanol intake.* *Prog. Lipid. Res.* 37, 307-316.
- LEDIG M., THOLEY G., MEGIAS-MEGIAS L., KOPP P., WEDLER R., 1991. *Combined effects of ethanol and manganese on cultured neurons and glia.* *Neurochem. Res.* 16, 591-596.
- ŁUKASZEWICZ-HUSSAIN A., 2003. *Rola glutationu i enzymów z nim związanych w procesach antyoksydacyjnych organizmu.* *Med. Prac.* 54, 473-479.
- MAHFOUZ M. M., KUMMEROW F. A., 1998. *Oxysterols and TBARS are among the LDL oxidation products which enhance thromboxane A2 synthesis by platelets.* *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 56, 197-217.
- MARNETT L. J., 2002. *Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage.* *Toxicol.* 181/182, 219222.
- MARNETT L. J., RIGGINS J. N., WEST J. D., 2003. *Endogenous generation of reactive oxidants and electrophiles and their reactions with DNA and protein.* *J. Clin. Invest.* 111, 583-593.
- MARTYNOWICZ H., SKOCZYŃSKA A., SILBER M., ANDRZEJAK R., 2004. *Rola stresu oksydacyjnego w patogenezie nadciśnienia tętniczego.* *Arter. Hyperten.* 8, 431-438.
- MELLENCAMP M. A., 1996. *Effects of ethanol consumption on susceptibility to pulmonary and gastrointestinal factors.* *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 20, 192A-195A.
- MILLER E., RUTKOWSKI M., MROWICKA M., MATUSZEWSKI T., 2007. *Udział reaktywnych form tlenu w uszkodzeniu mięśni wywołanych hipokinezą.* *Pol. Merk. Lek.* 130, 314-317.
- MINICIS S., BRENNER D. A., 2008. *Oxidative stress in alcoholic liver disease: role of NADPH oxidase complex.* *J. Gastroenter. Hepatol.* 23, S98-S103.
- NASKALSKI J. W., BARTOSZ G., 2000. *Oxidative modifications of protein structures.* *Adv. Clin. Chem.* 35, 161-253.
- NELSON S., KOLLS J. K., 2002. *Alcohol, host defence and society.* *Natr. Rev. Immunol.* 2, 205-209.
- NICCO C., LAURENT A., CHEREAU C., WEILL B., BATTEUX F., 2005. *Differential modulation of normal and tumour cell proliferation by reactive oxygen species.* *Biomed. Pharmacother.* 59, 169-174.
- PAREKH A. B., PENNER R., 1997. *Store depletion and calcium influx.* *Physiol. Rev.* 77, 901-930
- PĘDZIK A., PARADOWSKI M., RYSZ J., 2010. *Stres oksydacyjny w nefrologii.* *Pol. Merk. Lek.* 163, 56-60.
- PORTER N. A., CALDWELL S. E., MILLS K. A., 1995. *Mechanisms of free-radical oxidation of unsaturated lipids.* *Lipids* 30, 277-290.
- PRZYBYSZEWSKI W. M., RZESZOWSKA-WOLNY J., 2009. *Stres oksydacyjny w procesach przerostu i kancerogenezy gruczołu skrzowego.* *Post. Hig. Med. Dośw.* 63, 340-350.
- ROMERO F. J., 1996. *Antioxidants in peripheral nerve.* *Free Radic. Biol. Med.* 20, 925-932.
- SANCAR A., 1994. *Mechanisms of DNA excision repair.* *Sci.* 266, 1954-1956.
- SOHAL R. S., 2002. *Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process.* *Free Radic. Biol. Med.* 33, 37-44.
- SOMANI S. M., HUSAIN K., DIAZ-PHILLIPS L., LANZOTTI D. J., KARETI K. R., TRAMMELL G. L., 1996. *Interaction of exercise and ethanol on antioxidant enzymes in brain regions of the rat.* *Alcohol* 13, 603-610.
- ŚCIBOR D., CZECZOT H., 2006. *Katalaza – budowa, właściwości, funkcje.* *Post. Hig. Med. Dośw.* 60, 170-180.
- TOTTMAR O., 1985. *Biogenetic aldehydes: metabolism, binding to brain membranes and electrophysiological effects.* [W:] *Aldehyde Adducts in Alcoholism.* COLLINS M. A. (red.). Alan R. Liss, New York, 51-80.
- TURRENS J. F., 2003. *Mitochondrial formation of reactive oxygen species.* *J. Physiol.* 552, 335-344.
- VALKO M., IZAKOVIC M., MAZUR M., RHODES C. J., TELSER J., 2004. *Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence.* *Mol. Cell. Biochem.* 266, 37-56.
- VALKO M., LEIBFRITZ D., MONCOL J., CRONIN M. T., MAZUR M., TELSER J., 2007. *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.* *Int. J. Bioch. Cell Biol.* 39, 44-84.
- WALTER Z., 1994. *Specyficzność tkankowa transferaz S-glutationowych.* [W:] *Białka komórek prawidłowych i patologicznych.* KILIAŃSKA Z., KRAJEWSKA M. W., LIPIŃSKA A. (red.). Łódzkie Towarzystwo Naukowe, Łódź 151-171.
- WASZKIEWICZ N., SZAJDA S. D., JANKOWSKA A., 2009. *Catabolism of salivary glycoconjugates in acute ethanol intoxication.* *Med. Sci. Monit.* 15, 413-417.
- WINIARSKA K., DROŻAK J., 2002. *Glutation w terapii.* *Post. Hig. Med. Dośw.* 56, 521-536.
- ZABŁOCKA A., JANUSZ M., 2008. *Dwa oblicza wolnych rodników tlenowych.* *Post. Hig. Med. Dośw.* 62, 118-124.