

AGNIESZKA KAMIŃSKA<sup>1</sup>, KRZYSZTOF KUMAŃSKI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Praktyka Lekarska*

*Mehoffera 160 J/1, 03-081 Warszawa*

<sup>2</sup>*Miejski Ośrodek Profilaktyki i Terapii Uzależnień*

*Niciarniana 41, 92-320 Łódź*

*E-mail: mopitu@hot.pl*

## ALKOHOL A GLUTATION

### WSTĘP

Współczesna medycyna analizuje coraz częściej dane biologii molekularnej dotyczące badań antyoksydantów i reaktywnych form tlenu. Okazuje się, że wiele chorób i patologii wymaga dalszych obserwacji na tym polu, a prawidłowa diagnoza musi brać pod uwagę układy potencjałów oksydacyjno-redukcyjnych w komórce, tkankach i płynach ustrojowych (AMES i współaut. 1993; KLATT i LAMAS 2000; BARTOSZ 2003; TOWNSEND i TEW 2003; WŁODEK 2003a, b; GENDŹWIŁ 2007; KAROLCZAK i współaut. 2009; KARWICKA 2010).

Z właściwą interpretacją i rozumieniem etiologii wielu chorób wiąże się także tematyka oporności wielolekowej, uzależnień i stosowania właściwych dróg terapii (DORSHOW i współaut. 1990, KNAPEN i współaut. 1999, PERLA-KAJAN i współaut. 2007, RISTOFF i LARSSON 2007, BALLATORI i współaut. 2009, KARWICKA 2010).

Na tym tle podkreślana jest, zwłaszcza w okresie ostatniego dziesięciolecia, szczególna rola glutationu i grup sulfhydrylowych, jako

ważnego antyoksydanta, aspirującego już do specyficznego udziału w stosowanej farmakologii medycznej i weterynaryjnej (MEISTER i ANDERSON 1983, ARRIGO 1999, BALD 2003, DZIUBEK 2005, BILSKA i współaut. 2007, KAMIŃSKA 2011, KSIĄŻEK 2010).

Dane te upoważniają do wstępnego przeglądu obserwacji dotyczących wpływu uzależnienia alkoholowego na przemiany glutationu i grup tiolowych w organizmie ludzkim i doświadczalnych gatunków niektórych zwierząt modelowych, używanych do badań laboratoryjnych.

Alkohol doczekał się olbrzymiej liczby publikacji zarówno biologicznych, jak medycznych także u badaczy analizujących problemy uzależnienia z punktu widzenia społecznego, psychologicznego oraz ekonomicznego. Każdego roku pojawia się na ten temat ponad 1500 publikacji. Liczne informacje zawierają też opracowania podręcznikowe i książkowe (KOSTOWSKI i WALD 1991, WORONOWICZ 2009, GAŚSIOR i CHODKIEWICZ 2010).

### GLUTATION

Glutation, odkryty przez Hopkinsa w 1921 r., jest aktywnym biologicznie związkiem tiolowym, chemicznie definiowanym jako glutamylcysteinylglicyna ( $\gamma$ -glu-cys-gly), a więc zawierającym siarkę w swoim składowym aminokwasie, cysteinie. Ze względu na specyficzne właściwości antyok-

sydacyjne występuje prawie we wszystkich żywych komórkach Prokaryota i Eukaryota. Na ten temat istnieje bogate piśmiennictwo zarówno dawniejsze (JOCELYN 1972, MEISTER i ANDERSON 1983, KOŁATAJ 1986, HWANG i współaut. 1992, SEN i współaut. 1992, BARTOSZ 1993, ZAMAN i współaut. 1995, LU 2000,

SEN i PARKER 2000), jak i z ostatniego dziesięciolecia (WINIARSKA 2000, HANSEN i współaut. 2001, SCHAFER i BUETTNER 2001, TURSKI i BALD 2005, YOSHIDA i współaut. 2006, BILSKA i współaut. 2007, PERLA-KAJAN i współaut. 2007, MOHAN i współaut. 2008, FASANO i współaut. 2009, KAROLCZAK i współaut. 2009, KARWICKA 2010, KAMIŃSKA 2011).

Wszystkie uzyskane dane są zgodne co do tego, że glutation, a także inne związki zawierające reaktywną grupę sulfhydrylową -SH, pełnią aktywną funkcję w regulacji wielu szlaków metabolicznych, różnicowania i wzrostu komórek, skurczu mięśniowego, przewodnictwa nerwowego, obrony przeciw ksenobiotykom i toksykacji komórek, a przede wszystkim w obronie komórek przed utlenianiem w specyficznych reakcjach oksydacyjno-redukcyjnych, aktywacji wielu enzymów, szlakach biosyntezy DNA i białek, regulacji aktywności receptorów, czynników transkrypcyjnych, aktywności kinaz białkowych, a także biodegradacji białek (DEMASI i współaut. 2001). Glutation ma kilka ciekawych właściwości: grupę reaktywną SH, wiązanie  $\gamma$  cysteinoglutamyłowe, zdolność do rozpuszczania się w wodzie i jednocześnie w tłuszczach. Umożliwia mu to szeroką reaktywność w obu tych rodzajach środowisk oraz szerokie spektrum działania biologicznego. Może on ujawniać się w komórkach jako forma zredukowana -GSH, forma mieszana, jako związek glutationu i białek, oraz forma tzw. S-nitrozoglutationu (GSNO). Częsteczką glutationu zredukowanego (GSH) może też bezpośrednio, na drodze nieenzymatycznej, zredukować pewne, inne, utlenione cząsteczki. Proces ten może zachodzić także poprzez „dwuelektronową” reakcję uwalniania wodoru z cząsteczki GSH, a to dzięki działaniu enzymu peroksydazy glutationowej. Dzieje się tak wtedy, gdy w środowisku jest obecny związek w postaci fosforanu dwunukleotydu nikotynoamidoadeninowego zredukowanego (NADPH). Istotą przemian glutationu jest też możliwość reakcji odwrotnej, mianowicie przejście z formy utlenionej (GSSG) do GSH, poprzez reduktazę glutationową, w obecności i przy udziale NADPH jako koenzymu, lub przy pomocy innego związku, dihydroliopionianu. Wszyscy badacze są zgodni, że GSH stanowi z reguły 95–99% zawartości puli całkowitego glutationu w komórce. Około 90% zredukowanego glutationu w komórce jest obecne w cytozolu, zaledwie około 10% w mitochondriach, a zupełnie małe ilości w siateczce śródplazmatycznej. Według WANGA i

współaut. (2005), glutation utleniony właśnie w obrębie siateczki stanowi od 30 do 50% zawartości GSSG.

Miarą funkcji glutationu jest tworzenie w komórce buforu tiolowego. Jeśli w jej układzie oksydacyjno-redukcyjnym jest więcej GSSG niż GSH, to można uznać, że komórka ta znajduje się w stresie oksydacyjnym, a więc pod wpływem niekorzystnych czynników na nią oddziaływujących, łącznie z toksycznymi (BODA i współaut. 1998, RODRIGUEZ i współaut. 1998, SCHULZ i współaut. 2000, DZIUBEK 2005, BILSKA i współaut. 2007, KARWICKA 2010).

Wartość stosunku GSH do GSSG, wynosząca w prawidłowych warunkach fizjologicznych, np. w hepatocytach, 200:1 lub 400:1, może gwałtownie obniżyć się właśnie w stresie oksydacyjnym, nawet do 2:1 (HWANG i współaut. 1992). Sytuacja taka może ujawnić się podczas uszkodzenia komórki, w stanie niektórych chorób neurodegradacyjnych lub np. w procesie nowotworzenia.

Jest ciekawe, że komórki w ogromnej większości same syntetyzują potrzebny im glutation. Wynikają stąd trudności z podawaniem glutationu egzogenego *per os*, np. w pokarmie, gdyż ulega on hydrolizie w przewodzie pokarmowym, prawie nie przedostaje się przez błony komórkowe, słabo przenika przez barierę krew-mózg. Przechodzenie przez błony komórkowe umożliwia glutationowi zredukowanemu -GSH „przeobrażenie się” do postaci estrów, np. etylowego, metylowego czy propylowego. Wtedy nabiera on wprawdzie hydrofobowego charakteru, jednakże substancje te ujawniają szkodliwy wpływ na nerki. Tak więc, jedną z praktycznych dróg powiększenia koncentracji GSH w komórce jest dostarczenie jej odpowiednich prekursorów do jego syntezy, a przede wszystkim cysteiny, aminokwasu, który jest w ramach tej syntezy najważniejszy (MEISTER i ANDERSON 1983, KARWICKA 2010, KAMIŃSKA 2011). Najważniejszym gruczołem, którego komórki syntetyzują glutation jest wątroba, gdyż hepatocyty ujawniają najszybszą zdolność do demetylacji metioniny w cysteinę (BILSKA i współaut. 2007). Gdy glutation znajduje się poza komórką ulega rozpadowi, czyli swoistej degradacji, stąd zawartość w komórce GSH jest około kilkaset razy wyższa niż w środowisku zewnętrznym poza jej błonami, gdzie według TEW (1994) wynosi zaledwie 0,1–10 milimola.

W zasadzie glutation jest syntetyzowany w cytozolu komórek z trzech wymienionych

aminokwasów, a mianowicie kwasu glutaminowego, cysteiny i glicyny. Reakcja biosyntezy jest dwustopniowa (KAMIŃSKA 2011) i odbywa się głównie dzięki dwóm enzymom: syntetazie  $\gamma$ -glutamylcysteiny i syntetazie glutationowej (MEISTER i ANDERSON 1983, BARTOSZ 2003). Proces łączenia się tych trzech aminokwasów odbywa się poza szlakami transkrypcji, a więc bez udziału swoistego mRNA. Część wytworzonego glutationu jest eksportowana z komórki poza nią, głównie w postaci glutationu utlenionego GSSG lub w postaci połączonej z innymi cząsteczkami. Zjawisko to zostało dokładniej opisane przez ŁUKASIEWICZA-HUSSAINA (2003), GENDŹWIŁŁA (2007), RISTOFFA i LARSSONA (2007) oraz KARWICKĄ (2010).

Wspomniano już, iż jedną z głównych funkcji i zadań glutationu jest jego rola antyutleniacza, utrzymującego równowagę oksydacyjno-redukcyjną w komórce i czynnika przeciwstawiającego się stresowi oksydacyjnemu. Do tego rodzaju zadań należy, między innymi, redukcja reaktywnych form tlenu (RFT) powstających głównie w wyniku reakcji endogennych albo napływających ze środowiska zewnętrznego komórki. Ten proces zabezpiecza przed utlenianiem grupy

sulfhydrylowe rozmaitych rodzajów białek, przyczynia się do naprawy struktury molekuł białkowych niszczonej przez rodniki tlenowe, zabezpiecza też prawidłową strukturę lipidów i kwasów nukleinowych. Co ciekawe, glutation współpracuje poza tym z innymi przeciwutleniaczami, np. ochraniając przed zbyt szybkim tempem oksydacji kwas askorbinowy czy tokoferol. Gdy w komórce ma miejsce bardzo silny stres oksydacyjny, to duża pula formy zredukowanej -GSH utlenia się do formy GSSG. Wtedy glutation zredukowany gromadzi się w cytozolu. Ta sytuacja stwarza niebezpieczeństwo dla komórki, bo GSSG może ją opuszczać przedostając się przez błony, co nie dotyczy GSH. Glutation zredukowany nie tylko zabezpiecza komórkę poprzez „neutralizację” RFT (KARWICKA 2010), ale chroni ją przed szkodliwymi ksenobiotykami i substancjami toksycznymi doprowadzając do ich inaktywacji. W wielu tego rodzaju reakcji biorą udział specyficzne enzymy glutationowe, mianowicie tzw. komórkowe S-transferazy glutationowe. Jest oczywiste, że w tych reakcjach detoksykacji maleje także pula GSH w cytozolu komórki, a w jej interesie leży szybka jego odbudowa.

#### ALKOHOL ETYLOWY

Alkohol etylowy jest w ostatnich 20 latach także tematem bardzo wielu opracowań. Dotyczą one nie tylko jego roli biochemicznej, ale i alkoholizmu jako problemu społecznego (ZIÓŁKOWSKI i RYBAKOWSKI 1998, BARTOSZ 2003, MILLER i MUNOZ 2006, SAMOCHOWIEC 2007, WORONOWICZ 2009, GAŚSIOR i CHODKIEWICZ 2010, KUMAŃSKI i PISARSKI 2010). Alkoholizm stał się niezwykle istotnym problemem społecznym. Jak podają m.in. GAUTHIER i współaut. (2005), oszacowano, że tylko w Stanach Zjednoczonych nadużywa alkoholu około 35% kobiet znajdujących się w ciąży (EBRAHIM i współaut. 1998, 1999; LESTER i współaut. 2001). Wywołane alkoholem różnorodne zaburzenia w obrębie struktur i czynności rozwojowych dziecka ujawniają się w proporcji 1/1000 przypadków ciąży. Obserwuje się także zależność między nadużywaniem alkoholu a nadużywaniem narkotyków, zwłaszcza kokainy. Przyjmowanie tych substancji przez matki w ciąży może doprowadzić do przedwczesnych urodzeń dziecka lub poronień. Takie postępowanie dopro-

wadza do sytuacji tzw. „alkohol *un uterus*”, czyli wystawiania dzieci na oddziaływania alkoholu poprzez macicę.

Zauważono na modelach zwierzęcych, pozwalających obserwować wpływ etanolu na rozwijający się płód, że alkohol powiększa stres oksydacyjny w tkankach płodu (BROOKS 1997, COLTON i współaut. 1998, RAMACHANDRAN i współaut. 2001) i jednocześnie zmniejsza poziom glutationu zredukowanego jako antyoksydanta (REYES i współaut. 1993, AMINI i współaut. 1996, ADDOLORATO i współaut. 1997) w hepatocytach płodu. Zmniejszenie koncentracji glutationu zredukowanego, jako jednego z najsilniej działających antyoksydantów, było też zauważone w płucach i w wątrobie płodów wystawionych na działanie alkoholu (HENDERSON i współaut. 1995). W warunkach prawidłowego stężenia glutation jest obecny w płynie nabłonkowych komórek epitelialnych płuc (BAI i współaut. 1994). W płodowym płucu poddanym działaniu alkoholu pojawia się ryzyko niosące szczególne niebezpieczeństwo, gdyż poziom

oksydacyjnego stresu, podczas wzrostu i rozwoju płodu w różnych stadiach ciąży, wpływa na koncentrację GSH i może zależeć od różnych niekorzystnych wpływów środowiskowych (SMITH i współaut. 1993). Tego rodzaju sytuacje doprowadzają do uszkodzeń rozwijających się u zarodka płuc. Okazuje się więc, iż alkohol wprowadzony do ustroju płodu przez matkę w ciąży może być takim samym czynnikiem szkodliwym, jak przy bezpośrednim picu i wpływać ujemnie na rozwijające się płuca dziecka (GRIGG i współaut. 1993).

Glutation jest także podstawowym czynnikiem zapewniającym prawidłowe, optymalne funkcjonowanie komórek fagocytarnych, między innymi makrofagów pęcherzykowych (RAJKOVIĆ i WILLIAMS 1985). Można wysunąć hipotezę, że alkohol docierający do płodu (poprzez łożysko od pijącej matki) może zmniejszać zdolność GSH do aktywowania pęcherzykowych makrofagów w jego płucu i zwiększać ryzyko uszkodzeń w tej tkance. GAUTHIER i współaut. (2005) użyli modelu świnki morskiej, aby badać chroniczny wpływ alkoholu na rozwijające się płuca płodu w macicy matki i jego relacji z glutationem (GSH) oraz aby przekonać się czy suplementacja glutationem *in vitro* i *in vivo* może utrzymać lub odnowić funkcje płodowych makrofagów pęcherzykowych. Sugerowali oni, że etanol uszkadzał funkcje płodowych makrofagów na drodze zmniejszenia możliwości oddziaływania glutationu. Podawanie glutationu wyraźnie polepszyło funkcje płodowych makrofagów i ich żywotność. Według tych autorów można sugerować stosowanie terapii glutationowej w podtrzymywaniu prawidłowych funkcji rozwoju płuc płodów, gdy matka w ciąży nadużywa alkoholu.

Badania te pozwoliły także utwierdzić się w ogólnym przekonaniu, że glutation zredukowany jest silnie oddziaływującym czynnikiem na tkankę w sytuacji, gdy znajdzie się ona w stresie oksydacyjnym wywołanym, między innymi, wprowadzeniem do niej etanolu (VIDELA i GUERRI 1990; DEVI i współaut. 1993; BROWN 1994; GUIDOT i współaut. 1999; BROWN i współaut. 1996, 2001; HOLGUIN i współaut. 1998; MOSS i współaut. 2000; FOREMAN i współaut. 2002; BURNHAM i współaut. 2003; VOGT i RICHIE 2007).

Wpływ chronicznego przyjmowania alkoholu na status oksydacyjny i koncentrację

glutationu w płucach dorosłych ludzi był tematem szczegółowych badań zespołu Mary Yeh (YEH 2007, YEH i współaut. 2008). Pobierali oni plazmę krwi i płyn pęcherzykowy od zdrowych osobników kontrolnych nie używających alkoholu i od osób uzależnionych od etanolu, w jednorodnych grupach płci, wieku, palących i niepalących tytoniu. W pobieranych próbkach oznaczali poziom glutationu. Okazało się, że poziom glutationu utlenionego był wyższy u osobników palących niż u pacjentów kontrolnych, ale poziom ten był zależny od nadużywania alkoholu. Najwyższa koncentracja GSH ujawniła się w grupie osób palących, ale nie pijących, najmniejsza u nie palących, ale chronicznie pijących, natomiast najwyższy poziom GSSG, czyli glutationu utlenionego, zaobserwowano u osób palących i chronicznie pijących.

Potencjał oksydacyjno-redukcyjny plazmy, wytworzony przez stosunek GSH/GSSG, został tu obliczony zgodnie z równaniem Nersta (MORIARTY i współaut. 2003) w oparciu o wartości obu stężeń tych form glutationu. U palaczy chroniczny alkoholizm był skorelowany ze zmniejszeniem w plazmie wartości GSH/GSSG, a więc ze zwiększeniem wartości dla GSSG o około 30 mV.

Jak podają prawie wszyscy badacze, alkohol jest najbardziej znaną i powszechnie stosowaną substancją szkodliwą dla zdrowia, powodującą utratę życia około 100 tysięcy osób rocznie w skali świata i kosztującą ponad 100 milionów dolarów rocznie, wydawanych w związku z problemem alkoholowym (LIEBER 1995). Tylko w USA rocznie klasyfikowanych jest 15–20 milionów osób uzależnionych od alkoholu. Stan taki pociąga za sobą rozwój różnego rodzaju schorzeń, wśród których choroby płuc stają się coraz powszechniejsze. Ryzyko zapadania na te choroby, pociągające za sobą choćby trudności w zwykłym oddychaniu płucnym (nie tkankowym), są bardziej częste właśnie u alkoholików chronicznych. Na przykład ostra choroba oddechowego distresu, tzw. zespół ostrej niewydolności oddechowej (ang. acute respiratory distress syndrome, ARDS), dotyczy około 70% pacjentów uzależnionych od alkoholu, w porównaniu do pozostałych 30% innych rodzajów schorzeń. Używanie alkoholu zwiększa więc wyraźnie częstość pojawiania się tego rodzaju objawów.

## INTERAKCJA GLUTATION-ETANOL

Wiele badań wskazuje na to (SAMIEC i współaut. 1998; JONES i współaut. 2000; JONES 2002, 2006), że zmiany w koncentracji GSH i GSSG, a także odchylenia od wartości optymalnej potencjału redukcyjno-oksydacyjnego w tkankach więcej niż 140 mV, mogą być wskaźnikiem miary stresu oksydacyjnego. Obserwacje LOGUERCIO i współaut. (1997), przeprowadzone na 10 pacjentach używających chronicznie alkoholu, wykazały zmniejszenie zawartości GSH w ich plazmie, ale nie udało się tego wyniku uzyskać podczas eksperymentu YEH (2007). Używanie alkoholu w sposób intensywny i palenie tytoniu istotnie powiększało procentowy udział formy GSSG w całkowitej puli glutationu osocza. To powiększenie, według YEH (2007), było szczególnie odzwierciedlone u alkoholików-palaczy poprzez zmianę potencjału oksydacyjno-redukcyjnego w układzie GSH/GSSG w kierunku jego utlenienia. U osobników pijących alkohol i jednocześnie używających tytoniu kumulują się więc niekorzystne zmiany w układzie oksydacyjnym ich osocza krwi. Dane te potwierdzają już nie hipotezę, a fakt, że glutation zredukowany, także w przestrzeni pęcherzyków płucnych, ochrania ich potencjał oksydacyjno-redukcyjny przed uszkadzającymi wpływami środowiska zewnętrznego, neutralizując reaktywne formy tlenu (FORMAN i SKELTON 1990, SCHAFER i BUETTNER 2001, HALSTED i współaut. 2002, CARBONE i współaut. 2005, GO i JONES 2005, JONES 2006, RAHMAN i ADCOCK 2006, VAN DE POLL i współaut. 2006).

W innej pracy YEH i współaut. (2008) potwierdzają, że chroniczny alkoholizm wywołuje wzrastające ryzyko różnych infekcji płucnych i może przyczynić się aż do trzykrotnego wzrostu śmiertelności z powodu wspomnianego syndromu distressu oddechowego. Wykazali oni, że poziom GSH był w sposób statystycznie istotny bardzo obniżony u systematycznych (ostrych) alkoholików, do 4,7 nmoli/mg białka. Podnosił się natomiast wyraźnie poziom glutationu utlenionego (GSSG) nawet do 35,3%. Ten układ przesunął więc wartość statusu oksydacyjnego GSH/GSSG w kierunku stanu utlenionego. Z tego rodzaju spostrzeżeniami występowali wcześniej MOSS i współaut. (2000) oraz BURNHAM i współaut. (2003) Analiza statystyczna wykazuje, że u chronicznych alkoholików powiększa się ryzyko infekcji, szczególnie w płucach (BAKER i JERRELLS 1993, GUIGOT i współaut. 1999). W

układ ten zaangażowanych jest wiele czynników, ale jednymi z najważniejszych wydają się także być problemy sprawności immunologicznej, stany zapalne pęcherzyków płucnych i wydolność ogólna pęcherzykowych makrofagów. Zmniejszony poziom odpowiedzi z ich strony na zagrożenia ujawnia się w postaci niewystarczającej zdolności tych makrofagów do fagocytozy i likwidacji infekujących substancji drogą powietrzną (BAUGHMAN i ROSELLE 1987, GREENBERG i współaut. 1999). Ważne wydają się tu też zapalenia wywołane przez różne cytokiny, substancje chemiczne i rodniki tlenowe (OMIDVARI i współaut. 1998). W płynie epitelialnych komórek pęcherzyków płucnych znajduje się glutation w formie GSH, jako podstawowy antyoksydant, zajmujący się detoksykacją wewnątrznych i zewnętrznych rodników tlenowych, dostających się tam z metabolicznych szlaków własnych przemian, jak i wdychanego powietrza. W warunkach np. hipoksji, pęcherzykowe makrofagi „liczą” na ratunek w postaci puli glutationu zredukowanego w celu odtworzenia aminokwasów glutationowych, koniecznych do jego ponownej syntezy, do obrony samych siebie przed zbytnim utlenianiem lub uszkodzeniem (LOEB i współaut. 1998), czy do utrzymania właściwej przepuszczalności błon w komórce (PIETARINEN i współaut. 1995). W sytuacjach braku wystarczającego, wewnątrzkomórkowego poziomu GSH, konieczna staje się dla danych komórek dostępność GSH z zewnątrz albo jego prekursorowych aminokwasów (cysteiny, kwasu glutaminowego i glicyny) tak, by dzięki ich odpowiedniemu stężeniu wewnątrzkomórkowemu makrofagi mogły rozwinąć swą sprawną działalność, także między innymi, poprzez funkcjonowanie fagocytozy. Gdy dostępność GSH w układzie uszkodzeń wyściółki epitelialnej pęcherzyków jest niewystarczająca, fagocytoza nie może wypełniać swych zadań i oddychanie staje się utrudnione (RAJKOVIC i WILLIAMS 1985, SERES i współaut. 2000). U osobników nadużywających alkoholu problemy te stają się pogłębione i są zależne od zmniejszonej puli GSH, gdyż długotrwałe wprowadzanie do ustroju alkoholu wywołuje zaburzenia w homeostazie glutationu, także na obszarze działania pęcherzyków płucnych (HOLGUIN i współaut. 1998, GUIDOT i BROWN 2000). Sprawność biochemiczna pęcherzykowych makrofagów jest więc zależna od poziomu glutationu GSH w płynie komórek

alweolarnych, a długotrwałe przyjmowanie alkoholu zmniejsza jego koncentrację komórkową. Hipoteza, że alkohol indukuje dysfunkcje makrofagów i redukuje pulę GSH w ogólnej ilości glutationu w ich komórkach, może okazać się poprawna. Jeśli tak się dzieje, to obecność GSH podczas tego rodzaju dysfunkcji pęcherzyków powinna stanowić pewną barierę ochronną przeciwko indukowanemu etanolem zmniejszaniu się tempa makrofagowej fagocytozy. Te sugestie byłyby zgodne ze spostrzeżeniami MOSSA i współaut. (2000, 2004), że poziom GSH w wyściółce nabłonkowej pęcherzyków płucnych może być zmniejszony u pacjentów nadużywających chronicznie alkoholu. Warto powtórzyć, że to zmniejszenie, czyli po prostu strata GSH na rzecz pewnej akumulacji GSSG, sugeruje, iż to długotrwałe picie etanolu wytwarzać może w tzw. przestrzeni pęcherzykowej chroniczny stres oksydacyjny. Wykazano także, że nadużywanie alkoholu w długotrwałych okresach zmniejszało w ogóle koncentrację GSH w tkance płucnej u szczurów doświadczalnych, jako zwierząt modelowych (HOLGUIN i współaut. 1998). To zmniejszenie było wysoko skorelowane ze zwiększeniem się i to podwójnie, ilości glutationu utlenionego. Są też sugestie, iż również w tych warunkach, tj. podczas długotrwałego przyjmowania alkoholu, zmniejsza się także tempo syntezy GSH i zmniejsza się tempo transportu i pobierania GSH przez komórki pęcherzyków płucnych oraz szybkość transportu GSH do przestrzeni pęcherzykowej. Według LIEBERA (1993, 1995), pomimo tego, że stres oksydacyjny generował się podczas metabolizowania etanolu, dodanie prekursorów GSH, np. N-acetylocysteiny lub procysteiny, do spożywanego etanolu nie zwiększało intensywności tego stresu podczas eksperymentu badającego cechy płynu komórkowego wyściółki epitelialnej płuc. Badania na ten temat prowadzili też u dzieci CORRADI (2003), a EFFROS i współaut. (2006) oraz JACKON i współaut. (2007) u innych pacjentów.

Wątroba u alkoholików również okazała się organem bardzo wrażliwym na zakłócenia odpowiedniego statusu oksydacyjno-redukcyjnego, generowanego przy współudziale alkoholu w obecności glutationu (MCVICKER i współaut. 2009). Wielu autorów sugeruje, że rozwój kliniczny choroby alkoholowej jest skorelowany z powiększeniem się tempa powstawania uszkodzeń komórek wątrobowych, które przyspieszają procesy apoptozy (OH i współaut. 1997; RONACH i

współaut. 1997; BARTOSZ 1998; CAI i JONES 1998; HENTZE i współaut. 1999, 2003; HAOUZI i współaut. 2001; HELEWSKI i współaut. 2006; MCVICKER i współaut. 2009; OKŁOTA i współaut. 2009). W wyniku badań na modelowych komórkach WIF-B *in vitro*, hodowanych w środowisku 100 mmol etanolu ujawniono, że poziom glutationu zredukowanego był niezmienny pod wpływem samego etanolu, ale traktowanie etanolem wywołało istotne, bo dwukrotne powiększenie aktywacji enzymu kaspazy 3, a więc enzymu związanego z apoptozą. W konkluzji można stwierdzić, iż apoptotyczna śmierć komórki indukowana etanolem, ujawniająca się jako pewien skutek metabolizmu, nie zależy w tak dużym stopniu od rodników tlenowych, czyli statusu RFT, ale od właściwego utrzymania odpowiedniego poziomu glutationu zredukowanego. Obniżenie się poziomu GSH w komórkach traktowanych etanolem było obserwowane jedynie po wewnątrzkomórkowej oksydacji, dokonanej przez aktywację układem CYP2E1, po wprowadzeniu pyrazolu. Wprowadzenie do hodowli inhibitora syntezy GSH w postaci BSO (ang. L-butionine sulfoximine), znanego odczynnika hamującego tempo powstawania glutationu w hepatocytach, dało efekt supresyjny w stosunku do aktywności wspomnianej kaspazy, a tym samym wprowadzało elementy obrony przeciwko apoptozie indukowanej przez alkohol etylowy. Ciekawy może być tutaj sam rodzaj interpretacji zjawiska apoptozy w ogóle, biorący pod uwagę fakt, że gdy w komórkach zmniejszona była koncentracja GSH, zmniejszona była też aktywność kaspazy 8. Ta obserwacja może sugerować, że odpowiedni poziom GSH, zabezpieczony w komórce w sposób długotrwały, wydaje się być wymaganym elementem składowym cytoplazmy komórkowej, koniecznym do samorealizowania się apoptozy zależnej od kaspaz. Poziom GSH zależny jest między innymi od proteaz cysteinowych, mających także wpływ na czułość potencjału oksydacyjno-redukcyjnego w komórce (HENTZE i współaut. 1999, 2003). Można też przypuszczać, że wyraźne zmniejszenie się koncentracji GSH w komórce wpływa na tempo jej apoptozy, zwłaszcza gdy ten ubytek jest znaczny. Jeżeli wspomniany ubytek GSH jest przedłużony w czasie, może „unieważniać” ochronę anty-apoptycznych procesów w komórce i tym sposobem być ewentualnym mediatorem w akcji apoptotycznej śmierci komórki (HAOUZI i współaut. 2001, MORIARTY i współaut. 2003).

Inni autorzy także potwierdzają, że „alkoholowe” choroby wątroby są skorelowane ze stanem obniżonej aktywności enzymów antyoksydacyjnych (POLAVARAPU i współaut. 1998; GUPTA i współaut. 2003; MALLIKARJUNA i współaut. 2007, 2010). Należy podkreślić, że zjawisko to uwydatnia się bardziej u osobników starszych niż młodszych.

Warto przypomnieć także, właśnie przy okazji omawiania problemu wpływu alkoholu na przemiany oksydacyjno-redukcyjne w komórce, że wytwarzanie w niej energii, przede wszystkim pod postacią ATP, jest procesem złożonym. Istniejący w mitochondriach tlenowy łańcuch enzymatyczny układu metabolicznego wytwarzającego energię nie jest całkowicie sprawny, gdyż 5–7% pobranego tlenu nie ulega redukcji i w formie jego reaktywnych form, czyli RFT, przedostaje się z mitochondriów do cytozolu. Jest dowiedzione już od ponad 20 lat, że RFT są bardzo aktywne i szybko wchodzi w reakcje redukcyjno-oksydacyjne, z reguły o charakterze kaskadowo-łańcuchowym (LICZMAŃSKI 1988, NORDMAN i współaut. 1992, NUTT i PETERS 1994, GUL i współaut. 2000, BAILEY i współaut. 2001, BARTOSZ 2003, CAHILL i współaut. 2005). Jak wiadomo, unieszkodliwianie RFT jest niezbędne zarówno do prawidłowego funkcjonowania komórki, ale i do jej przeżycia. I tu właśnie ujawnia się różnica, zarówno w tempie generowania RFT, jak ich eliminowania, zależna od wieku komórki. Hyperoksja u organizmów w starszym wieku polega, między innymi, na zmniejszonym zużyciu glukozy, jednakże bez zauważalnego zmniejszenia zużycia tlenu, którego tempo utylizacji pozostaje prawie na niezmiennym, wysokim poziomie. W tkankach wszystkich gatunków ssaków, oczywiście z człowiekiem włącznie, wiek starczy, czy w ogóle starość, jest skorelowana ze zmianą stosunku prooksydantów do antyoksydantów, na widoczną korzyść tych pierwszych. Można więc sądzić, iż podłożem starości jest zakłócenie równowagi między ilością pobieranego tlenu a jego ilością wymaganą i potrzebną do prowadzenia, obniżonego zresztą w tym okresie, tempa metabolicznych przemian. Tego rodzaju naruszenie optymalnej równowagi w ramach potencjału oksydacyjno-redukcyjnego pociąga za sobą dalsze osłabienie mechanizmów obronnych komórki i organizmu jako całości. Można wtedy mówić, według niektórych badaczy, o „metabolicznym zegarze starzenia się”.

Badania takie prowadzili MALLIKARJUNA i współaut. (2010), analizując w wątrobie starych szczurów wpływ wieku „alkoholików” na zmienność enzymów „rodziny glutationowej”. Doszli oni do wniosku, iż choroby wątroby wywodzące się z nadużywania alkoholu są bardziej rozpowszechnione u osobników starych niż u młodych. Zjawisko to może wynikać z nadmiaru gromadzących się w ich wątrobach reaktywnych form tlenu (MATUSO 1993, ŁUCZAJ i współaut. 2004, CAHILL i współaut. 2005, MEIR i SEITZ 2008). Stan ten prowadzi do obniżonej aktywności enzymów antyoksydacyjnych, jak np. dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (KAT), i wspomnianych enzymów związanych z glutationem, glutationowej peroksydazy zależnej i niezależnej od selenu, glutationowej reduktazy czy grupy glutationowych peroksydaz i transferaz (BAILEY 2001, DAS i VASUDEVAN 2005, JURCZUK i współaut. 2006). MALLIKARJUNA i współaut. (2007) oraz KUMARAN i współaut. (2008) wskazywali, że aktywność tych właśnie enzymów obniżała się u starych szczurów, w porównaniu z młodymi. Tego rodzaju zmiany w wątrobie powodują, iż staje się ona bardziej czuła na zakłócenia oksydacyjne, szczególnie u starszych osób nadużywających alkoholu (KIM i współaut. 2003, MOOS i współaut. 2004). Klinicyści leczący starych, chronicznych alkoholików muszą więc pamiętać, że ich wątroba może być bardziej wrażliwa na uszkodzenia metaboliczne niż wątroba alkoholików znajdujących się w młodym wieku. Grupa autorów sugeruje, że regularne ćwiczenia fizyczne podwyższają antyoksydacyjny status w wielu tkankach, a więc także i w wątrobie (JI 1993, 1995; GUNDUZ i współaut. 2004; KAKARLA i KESIREDDY 2005). Dyskusja na ten temat trwa, gdyż nie wszystkie wyniki okazują się być jednoznaczne (DUNCAN i współaut. 1997; HUSAIN i SOMANI 1997a, b), zwłaszcza w eksperymentach z modelowymi szczurami traktowanymi alkoholem.

MALLIKARJUNA i współaut. (2010) rozszerzyli swe obserwacje dotyczące statusu antyoksydacyjnego starych osobników, zmieniającego się pod wpływem alkoholu, o badanie roli treningu fizycznego. Postulowali oni, że wysiłek fizyczny u osobników starych (ruchu w kołowrocie) może chronić ich wątrobę przed uszkodzeniami typu oksydacyjnego, powodowanymi przez alkohol. Jedna grupa zwierząt doświadczalnych obejmowała szczury młode, w wieku 3 miesięcy, druga szczury stare, będące w wieku 18 miesięcy.

Obie grupy liczyły po 24 osobniki i podzielone były na podgrupy kontrolne oraz ćwiczące i pijące alkohol (2,0 g/ kg m.c. per os). Otrzymane wyniki ujawniły w sposób wysoko statystycznie istotny obniżoną aktywność wątrobowych enzymów antyoksydacyjnych u starych szczurów, w porównaniu z młodymi. To zmniejszenie aktywności, wynikające z zaawansowanego wieku, było w dodatku pogłębione poprzez przyjmowanie alkoholu, który czynił wątrobę tych zwierząt jeszcze bardziej podatną na stres oksydacyjny. Zauważono jednak, że obniżenie wątrobowego statusu antyoksydacyjnego po przyjmowaniu alkoholu było niejako „polepszone”, a więc nie było tak wielkie, po okresie 2 miesięcznego treningu wysiłkowego, zarówno u starych, jak i młodych zwierząt. Dane te mogą sugerować, że skorelowane z wiekiem zmniejszenie w wątrobie odporności na stres oksydacyjny pogarsza się wprawdzie poprzez przyjmowanie alkoholu, jednak ćwiczenia fizyczne mogą zmniejszyć jego negatywne skutki. Jak wiadomo, wątroba jest głównym i najważniejszym miejscem w ustroju, gdzie metabolizuje się alkohol. Chroniczne przyjmowanie etanolu z jednej strony, a starzenie się ustroju z drugiej, są więc poważnymi czynnikami prowadzącymi do zmniejszenia aktywności enzymów układu antyoksydacyjnego w wątrobie (KIM i współaut. 2003; MALLIKARJUNA i współaut. 2007, 2010). Zwracano również uwagę na efekt starzenia (CAHILL i współaut. 2005, MEIR i SEITZ 2008), wspominając o treningu fizycznym (HUSAIN i SOMANI 1997a). Warto jeszcze raz podkreślić, że MALLIKARJUNA i współaut. (2010) stwierdzili, iż nie tylko u młodych zwierząt, ale i osobników starych (18 miesięcznych badanych szczurów), po wysiłku fizycznym odtwarza się bardziej poprawny układ antyoksydacyjnej aktywności badanych enzymów, zmniejszony po przyjmowaniu alkoholu. Dane te potwierdziłyby jeszcze raz znany już fakt, że w miarę starzenia się organizmów obniża się intensywnie aktywność enzymu SOD (JI 1993, 1995). Używanie alkoholu pogłębia to zjawisko znacznie wyraźniej u osobników starszych. Podobnie dzieje się z aktywnością enzymu oksydazy ksantynowej w wątrobie po spożyciu alkoholu (MALLIKARJUNA i współaut. 2007, 2010). Na ten temat pojawia się coraz większa liczba doniesień (DUNCAN i współaut. 1997, HUSAIN i SOMANI 1997b, BINDU i współaut. 2002, OJEDA i współaut. 2009). HUSAIN i SOMANI (1997b) ujawnili już przed 15 laty, że kombinacja intensywnych ćwiczeń wraz z

przyjmowaniem alkoholu może zmieniać aktywność SOD w wątrobie.

Katalaza, to specyficzny enzym biorący udział w detoksykacji  $H_2O_2$  poprzez rozkład tego związku do wody i tlenu. Zjawisko starzenia się, jako postępujący, samoistny proces, i jednocześnie „wystawianie się” starzejącego się organizmu na dodatkowe wpływy alkoholu, pogarsza aktywność enzymatyczną antyoksydacyjnych enzymów, a więc i katalazy. W tych warunkach rozkład  $H_2O_2$  do  $H_2O$  i  $O_2$  może być niewystarczający i w środowisku komórki zaczynają generować się wolne rodniki, w tym wypadku głównie bardzo szkodliwy rodnik hydroksylowy. Pociąga to za sobą kaskadę reakcji oksydacyjno-redukcyjnych (KNECHT i współaut. 1993, BINDU i współaut. 2002). MALLIKARJUNA i współaut. (2010) sugerowali, że powiększona aktywność katalazy u starych osobników przyjmujących alkohol po treningu fizycznym, zwiększa tempo rozkładu  $H_2O_2$ , chroniąc w ten sposób ich stare komórki wątroby przed uszkodzeniem przez RFT. O udziale katalazy w metabolizmie etanolu donosili także ZIMA i współaut. (2001). Jest ciekawe, że aktywność tego enzymu powiększała się po zastosowaniu fizycznego treningu, razem ze wzrostem aktywności innych enzymów. Znacznie wcześniej DUNCAN i współaut. (1997) wspomnieli o możliwości ochrony przed ryzykiem raka wątroby wywołanego spożyciem etanolu, poprzez zwiększoną po ćwiczeniach fizycznych aktywność antyoksydantów, w tym właśnie i antyoksydacyjnego enzymu, katalazy (SOMANI i RYBACK 1996).

Na tym tle badano także rolę enzymów glutationowych, zarówno seleno-zależnych, jak i seleno-niezależnych. Na rolę selenu, jako jednego z najbardziej istotnych czynników antyoksydacyjnych, wskazywali wielokrotnie CZUCZEJKO i współaut. (2002, 2003), PIEKUTOWSKI i współaut. (2007) i ZACHARA i współaut. (2005, 2006, 2009), a ich opracowania stanowią bardzo bogate piśmiennictwo na temat biochemicznej roli tego pierwiastka. Wiadomo więc, że enzymy GSH-Px (peroksydazy glutationowe) odgrywają znaczącą rolę w usuwaniu toksycznego nadtlenku wodoru z komórek. Wspomniani już wielokrotnie MALLIKARJUNA i współaut. (2010) zaobserwowali, że obie formy tych enzymów, Se-GSH-Px i GSH-Px(seleno-zależne i seleno-niezależne), zmniejszyły istotnie statystycznie swą aktywność zarówno u młodych, jak i starych szczurów, wtedy gdy zwierzęta te przyjmowały alkohol. Potwierdza to przy-



puszczenie, że obecność alkoholu w ustroju nasila w jego tkankach generowanie mitochondrialnych rodników tlenowych, a więc i przyspiesza w hepatocytach zmniejszanie się koncentracji glutationu zredukowanego, obniżając aktywność glutationowych peroksydaz (HIRANO i współaut. 1992, BAILEY i współaut. 2001). Obniżanie się aktywności Se-GSH-Px po przyjęciu etanolu było bardziej widoczne w wątrobie szczurów starszych niż młodszych. A więc, alkohol może nie tylko generować nadmierną produkcję rodników, ale może także redukować zdolność do utrzymywania odpowiedniej ilości selenu w wątrobie (OJEDA i współaut. 2009), koniecznego dla działalności Se-GSH-Px. Ilość selenu w wątrobie zmniejszała się wraz z postępem starzenia także u ludzi (SAVARINO i współaut. 2001). Z tych powodów stare szczury przyjmujące alkohol ujawniały niższą aktywność Se-GSH-Px niż młode, pijące szczury. Sugerowałoby to, że starsze zwierzęta i starsi ludzie są bardziej wrażliwi na stres oksydacyjny indukowany alkoholem niż osobniki młodsze. Niższe tempo metabolizmu alkoholu, likwidujące wolniej jego skutki i koncentrację jego produktów przejściowych u starych szczurów (MALLIKARJUNA i współaut. 2010), może być odpowiedzialne za uszkodzenia wątroby przez alkohol. Zmniejszenie aktywności GSH-Px, powodowane wiekiem i alkoholem, może być wynikiem inaktywacji tego enzymu przez nadmiar RFT lub zmniejszenie ilości współpracujących z nimi GSH i NADPH w środowisku starzejącej się komórki (CHANDRA i współaut. 2000, KUMARAN i współaut. 2008). Z badań grupy MALLIKARJUNY i współaut. (2010) wynika też hipoteza, że wysiłek fizyczny lub ćwiczenia fizyczne odbudowują niejako obie formy enzymu GSH-Px, prowadząc do zwiększenia ich aktywności, a tym samym przeciwstawiając się toksyczności alkoholu. A więc, aktywność enzymów GSH-Px w wątrobie może powiększać się dzięki przyspieszonemu metabolizmowi przyjmowanego alkoholu (SUTER i współaut. 1992, EL-SAYED i współaut. 2005), a podwyższony poziom GSH podczas ćwiczeń czy wysiłków fizycznych może być odpowiedzialny za wzrost aktywności GSH-Px. Jest to więc kompensacyjna odpowiedź przeciw wytwarzanym produktom pośrednim (hydronadltenkom), generowanym podczas szeregu etapów metabolizmu etanolu.

Należy podkreślić też niekorzystny wpływ alkoholu na aktywność reduktazy glutationowej, która zmniejsza się podczas intotoksa-

cji etanolem, a tempo tej zmiany powiększa swą intensywność wraz z wiekiem. Podobne do wyników MALLIKARJUNY i współaut. (2010) rezultaty uzyskali wcześniej JURCZUK i współaut. (2006), podając szczurom 5 g/kg m.c. etanolu i obserwując reakcje reduktazy w ich wątrobie. Gdy w innym eksperymencie zwiększano dawki przyjmowanego alkoholu (0,8, 1,2, 1,6 i 2 g/kg m.c. w okresie 4 tygodni) (DAS i VASUDEVAN 2005), aktywność tego enzymu w wątrobie badanych szczurów zmniejszała się w sposób istotny statystycznie. Taki kierunek reakcji może doprowadzić do zmiany stosunku GSH/GSSG na niekorzyść GSH i wywoływać oksydacyjne zagrożenie dla komórki hepatocytu, a u starych osobników powiększać swą intensywność i wzmacniać tym samym toksyczność oddziaływania alkoholu (RIKANS i SNOWDEN 1989, MALLIKARJUNA i współaut. 2007). Warto podkreślić, że aktywność badanych enzymów antyoksydacyjnych, w tym reduktazy glutationowej, powiększała się nie tylko podczas samych ćwiczeń fizycznych, ale i podczas stosowania ćwiczeń fizycznych połączonych z przyjmowaniem alkoholu. Ujawniało się to w obu grupach wiekowych, tzn. u młodych i starych testowanych zwierząt. Można sugerować, że trening fizyczny połączony z oddziaływaniem alkoholu może indukować mikrosomalny cytochrom P450 II EL z cytozoliczną dehydrogenazą alkoholową i ułatwiać klirens (współczynnik oczyszczania) (ang. clearance) organizmu (EL-SAYED i współaut. 2005). Można też przypuszczać (MALLIKARJUNA i współaut. 2010), że wzrastająca podczas wysiłku fizycznego temperatura ciała i ilość GSH są czynnikami wpływającymi na powiększanie się aktywności reduktazy glutationowej w wątrobie, zwłaszcza starych szczurów.

W tego rodzaju eksperymentach był obserwowany także wzrost aktywności innego, specyficznego enzymu związanego z przemianami glutationu, a mianowicie glutationowej S-transferazy (GST), również w warunkach przyjmowania alkoholu. Sądzi się, że utleniające mogą aktywować geny związane z ekspresją enzymów tiolowych w warunkach alkoholowego stresu (SKRZYDLEWSKA i współaut. 2005). Na tym tle, podwyższona aktywność GST w wątrobie szczurów pojo-nych etanolem może być analizowana jako odpowiedź adaptacyjna, chroniąca tkanki przeciw wytworzonym przez alkohol stresowi oksydacyjnemu (OH i współaut. 1997, DAS i VASUDEVAN 2005). Okazało się, iż indukowane wzrastającym wiekiem osobnika

tempo redukcji aktywności GST było odwracalne poprzez stosowanie treningu fizycznego, co pozostawałoby w zgodzie z danymi SENA i współaut. (1992) i DUNCANA i współaut. (1997). Te dwa czynniki mogą, działając jednocześnie, zwiększać aktywność GST w wątrobie, co u starych zwierząt okazało się pomocne w usuwaniu toksycznych nadtlenków i w ochronie hepatocytów przed biochemicznymi uszkodzeniami.

Nasuwa się więc wniosek, iż przyjmowanie alkoholu drastycznie zmniejsza aktywność antyoksydacyjnych enzymów w wątrobie, zwłaszcza u starszych osobników, przede wszystkim tych enzymów, które zaangażowane są w przemiany glutationu zredukowanego, jego biosyntezę i odtwarzanie aż do uzyskania prawidłowych wartości. Jest to szczególnie ważne w tkankach zwierząt i ludzi starych, których wątroba jest bardziej podatna na różnego rodzaju, także samoistne, procesy toksykologiczne, mogące ją uszkadzać.

Podobne badania wpływu treningu fizycznego przeciw skutkom przyjmowania alkoholu na utrzymywanie homeostazy glutationu w mięśniu serca przeprowadzili KAKARLA i KESIREDDY (2005). Stwierdzili oni, że glutation odgrywa bardzo ważną, centralną rolę w utrzymywaniu komórkowej obrony antyoksydacyjnej przeciw wolnym rodnikom i innym utleniającym czynnikiem.

W rodzinie enzymów odpowiedzialnych za poziom zredukowanego glutationu są przede wszystkim syntetaza i wspomniana już glutationowa reduktaza, GR. Działają one wspólnie z glutationem zredukowanym, w ramach dekompozycji i rozkładu rozmaitych hydronadtlenków lub innego rodzaju organicznych oksydantów (LEEUWENBURGH i współaut. 1994, LEEUWENBURGH i Ji 1995).

Proces starzenia się został uznany także za czynnik sprzyjający kumulowaniu się efektów działania RFT we wszystkich tkankach, u prawie wszystkich gatunków (HARMAN 1986). Podczas procesów starzenia zwiększa się wyraźnie tempo wytwarzania RFT, przede wszystkim w wyniku upośledzenia funkcji mitochondriów, zarówno w zakresie oddziaływania enzymatycznego, jak i nieenzymatycznego (MATUSO 1993), przede wszystkim w takich narządach jak wątroba, serce, mózg czy nerki. Chroniczne przyjmowanie alkoholu prowadzi np. do uszkodzeń funkcji serca, włącznie ze zmniejszeniem siły i zakresu jego skurczów, przerostu komór i różnego typu nieprawidłowości elektrofizjologicznych (NICHOLAS i JUN 2003). Podejrzewa się, że

przyczyną tego rodzaju zaburzeń jest przede wszystkim aldehyd octowy, jako pierwszy metabolit na drodze utleniania przyjętego do ustroju alkoholu. Prooksydacyjny efekt etanolu zależy według EKSTROMA i INGELMANA-SUNDBERGA (1989), od indukowania głównej formy, właściwie izoformy, cytochromu P450 z rodziny CYP 2 E1, który może prowadzić w sposób przyśpieszony do wytwarzania RFT, oddziałujących negatywnie na przemiany zarówno wielu substratów energetycznych, jak i kwasów nukleinowych. Glutation w postaci GSH odgrywa główną rolę detoksykacyjną w odniesieniu do różnych, pochodnych związków wywodzących się z przemian wywołanych rodnikami tlenowymi. HIRANO i współaut. (1992) zaobserwowali wybiórcze zmniejszanie się ilości glutationu w mitochondriach wątroby, wywołane częściową inhibicją specjalnego mitochondrialnego nośnika, który przeprowadza GSH z cytozolu do mitochondriów. Zmniejszenie mitochondrialnej ilości glutationu, wywołane alkoholem, może natomiast zwiększać poziom oksydacyjnego stresu w komórkach i powstających z tego powodu zaburzeń biochemicznych.

Poziom GSH w mięśniu serca i aktywność antyoksydacyjnych enzymów są relatywnie niższe niż w innych tkankach (SOHAL i współaut. 1994). Wpływ alkoholu może być więc szczególnie szkodliwy dla serca, którego mięsień nie metabolizuje alkoholu tak intensywnie (NORDMANN i współaut. 1992). Należy przypomnieć, że aldehyd octowy, jako pierwszy produkt metabolizmu etanolu, powoduje zmniejszenie ilości GSH w tkance, a zwiększa liczbę, a więc i toksyczność wolnych rodników tlenowych, czyli także i peroksydację lipidów. Pogłębieniu i zwiększeniu tempa intoksykacji, a także uwalnianiu np. kwasu gamma-amino-butyrowego, mogą towarzyszyć również inne objawy przyjmowania alkoholu przez osoby w starszym wieku. Badania LEEUWENBURGHA i współaut. (1994), OH i współaut. (1997) oraz PUSHPALATA i współaut. (2007) także zwróciły uwagę na fakt, że grupy sulfhydrylowe, zarówno pochodzenia białkowego, jaki i niebiałkowego, są podstawowym czynnikiem biorącym udział w ochronie przeciwko szkodliwym efektom działalności RFT. Ćwiczenia fizyczne zdają się zwiększać zdolności antyutleniające komórki oraz powiększać jej poziom odporności i „wytrzymałości”. Zdolność ta zmniejsza się z jednej strony z wiekiem, a z drugiej, w wyniku ewentualnych oddziaływań przyjmowanego alkoholu u nadużywa-

jących go osobników. Możliwość obronnego „włączania się” glutationu zredukowanego, w charakterze czynnika przeciwdziałającego procesom oksydacyjnym, zmniejsza się więc istotnie podczas starzenia.

Reasumując, mechanizm ujemnego wpływu etanolu na badane wskaźniki, w szczególności na poziom GSH i aktywność enzymów związanych z jego przemianami, nie jest jeszcze dokładnie poznany i wymaga dalszych obserwacji. Nie można jednak zapominać, iż aldehyd octowy w tkankach, tworzący się podczas przemian biochemicznych po przyjęciu alkoholu, wiąże np. cysteinę, jeden ze składowych aminokwasów glutationu, i w ten sposób może ograniczać tempo jego bio-

syntezy (KAPLOWITZ i współaut. 1985). Tak więc, glutation zredukowany dzięki swym funkcjom antyoksydacyjnym i detoksykacyjnym jest jedną z najważniejszych linii obrony przed RFT.

Literatura dotycząca interakcyjnego współdziałania glutationu i alkoholu w tkankach człowieka i zwierząt doświadczalnych jest bardzo liczna. Wskazuje ona na fakt, że intensywność wzajemnych relacji ich metabolicznych produktów zależy od rodzaju organu, rodzaju komórek, rodzaju struktur komórkowych, wieku organizmu i jego wielokierunkowych uzależnień od warunków środowiskowych.

## ALKOHOL A GLUTATION

### Streszczenie

Glutation jest jednym z najsilniej działających antyoksydantów, a alkohol w środowisku komórki zaburza prawidłowe procesy systemu oksydacyjno-redukcyjnego, wpływając niekorzystnie m.in. na stosunek GSH/GSSG. Powoduje to liczne zaburzenia prawie we wszystkich tkankach i narządach, szczególnie w wątrobie, płucach, mięśniach szkieletowych,

mięśniu sercowym, również w procesie apoptozy i mechanizmach odpornościowych komórki. Zjawiska te stają się bardziej widoczne u ludzi w starszym wieku, u których możliwości obronne tkanek są już wyraźnie osłabione, zwłaszcza w odniesieniu do aktywności enzymów glutationowych.

## ALCOHOL AND GLUTATHIONE

### Summary

Glutathione is one of the strongest cellular anti-oxidants. Presence of ethyl alcohol in cells influences disadvantageously glutathione redox GSH/GSSG equilibrium and evokes numerous disorders in all tissues and organs, particularly in liver, lung, skeletal

muscles, heart muscles, and in apoptosis and immunity processes. These disorders are more evident in the older people owing to the lower efficiency of their defense systems.

## LITERATURA

- ADDOLORATO G., GASBARRINI A., MARCOCCIA S., SIMONCINI M., BACCARINI P., VAGNI G., GRIECO A., SBRICCOLI A., GRANATO A., STEFANINI G.F., GASBARRINI G., 1997. *Prenatal exposure to ethanol in rats: effects on liver energy level and antioxidant status in mothers, fetuses, and newborns*. Alcohol 14, 569-573.
- AMES B. N., SHIGENAGA M. K., HAGEN M., 1993. *Oxidants, antioxidants, and generative diseases of aging*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 7915-7922.
- AMINI S. A., DUNSTAN R. H., DUNKLEY P. R., MURDOCH R.N., 1996. *Oxidative stress and the fetotoxicity of alcohol consumption during pregnancy*. Free Radical Biol. Med. 21, 357-365.
- ARRIGO A. P. 1999. *Gene expression and the thiol redox state*. Free Radical Biol. Med. 7, 936-944.
- BAI C., BROWN L. A., JONES D. P., 1994. *Glutathione transport by type II cells in perfused rat lung*. Am. J. Physiol. 267, L447-L455.
- BAILEY S. M., PATEL V. B., YOUNG T. A., ASAYAMA K., CUNNINGHAM C. C., 2001. *Chronic ethanol consumption alters the glutathione/glutathione peroxidase-1 system and protein oxidation status in rat liver*. Alcoholism Clin. Exp. Res. 25, 726-733.
- BAKER R., JERRELLS T., 1993. *Recent developments in alcoholism: immunological aspects*. Recent Develop. Alcoholism Sociol. 11, 249-271.
- BALD E., 2003. *Homocysteina, niegdyś egzotyczny metabolit*. [W:] *Biotiole w warunkach fizjologicznych, patologicznych i w terapii*. WŁODEK I. (red.). Wyd. Uniw. Jagiellońskiego, 73-97.
- BALLATORI N., KRANCE S. M., MARCHAN R., HARMMOND C. L., 2009. *Plasma membrane glutathione transporters and their roles in cell physiology and pathophysiology*. Mol. Aspects Med. 30, 13-28.
- BARTOSZ G., 1993. *Metabolizm glutationu*. Post. Bioch. 39, 32-37.
- BARTOSZ G., 1998. *Rola reaktywnych form tlenu w apoptozie*. Post. Bioch. 44, 22-31.
- BARTOSZ G., 2003. *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. PWN, Warszawa.

- BAUGHMAN R., ROSELLE G., 1987. *Surfactant deficiency with decreased opsonic activity in a guinea pig model of alcoholism*. Alcoholism Clin. Exp. Res. 11, 261-264.
- BILSKA A., KRAWCZYK A., WŁODEK L., 2007. *Różne oblicza biologicznej roli glutationu*. Post. Hig. Med. Dośw. 61, 438-453.
- BINDU M. P., SREEKANTH K. S., ANNAMALI P. T., AUGUSTI K. T., 2002. *Effect of S-allyl cysteine sulphoxide on lipid metabolism and free radical scavengers in alcohol-fed rats*. Curr. Sci. 82, 628-631.
- BODA D., NEMETH I., PINTER S., 1998. *Surface tension, glutathione content and redox ratio of the tracheal aspirate fluid of premature infants with IRDS*. Biol. Neonate 74, 281-288.
- BROOKS P. J., 1997. *DNA damage, DNA repair, and alcohol toxicity – a review*. Alcoholism Clin. Exp. Res. 21, 1073-1082.
- BROWN L. A., 1994. *Glutathione protects signal transduction in type II cells under oxidative stress*. Am. J. Physiol. 266, L172-L177.
- BROWN L. A., PEREZ J. A., HARRIS F. L., CLARK R. H., 1996. *Glutathione supplements protect preterm rabbits from oxidative lung injury*. Am. J. Physiol. 270, L446-L451.
- BROWN L. A., HARRIS F. L., BECHARA R., GUIDOT D. M., 2001. *Effect of chronic ethanol ingestion on alveolar type II cell: glutathione and inflammatory mediator-induced apoptosis*. Alcoholism Clin. Exp. Res. 25, 1078-1085.
- BURNHAM E. L., BROWN L. A., HALLS L., MOSS M., 2003. *Effects of chronic alcohol abuse on alveolar epithelial barrier function and glutathione homeostasis*. Alcoholism Clin. Exp. Res. 27, 1167-1172.
- CAHILL A., HERSHMAN S., DAVIES A., SYKORA P., 2005. *Ethanol feeding enhances age related deterioration of the rat hepatic mitochondrion*. Am. J. Physiol. Gastrointestinal Liver Physiol. 289, G.1115-G.1123.
- CAI J., JONES D. P., 1998. *Superoxide in apoptosis. Mitochondrial generation triggered by cytochrome c loss*. J. Biol. Chem. 273, 1141-11404.
- CARBONE D. L., DOORN J. A., KIEBLER Z., PETERSEN D. R., 2005. *Cysteine modification by lipid peroxidation products inhibits protein disulfide isomerase*. Chem. Res. Toxicol. 18, 1324-1331.
- CHANDRA R., ANEJA R., REWAL C., KONDURI R., DAS S. K., AGARWAL S., 2000. *An opium alkaloid-papaverine ameliorates ethanol-induced hepatotoxicity: diminution of oxidative stress*. Indian J. Clin. Biochem. 15, 155-160.
- COLTON C. A., SNEEL-CALLANAN J., CHERNYSHEV O. N., 1998. *Ethanol induced changes in superoxide anion and nitric oxide in cultured microglia*. Alcoholism Clin. Exp. Res. 2, 710-716.
- CORRADI M., 2003. *Aldehydes and glutathione in exhaled breath condensate of children with asthma exacerbation*. Am. J. Resp. Critical Care Med. 167, 395-399.
- CZUCZEJKO J., HALOTA W., ZACHARA B. A., STAUBACH-TOPCZEWSKA E., 2002. *Plasma selenium concentration, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase activities in patients with chronic liver diseases*. Pol. Merk. Lek. 13, 312-315.
- CZUCZEJKO J., ZACHARA B. A., STAUBACH-TOPCZEWSKA E., HALOTA W., KEDZIORA J., 2003. *Selenium, glutathione and glutathione peroxidases in blood of patients with chronic liver diseases*. Acta Biochim. Pol. 50, 1147-1154.
- DAS S. K., VASUDEVAN D. M., 2005. *Effect of ethanol on liver antioxidant defense system: a dose dependent study*. Indian J. Clin. Biochem. 20, 80-84.
- DEMASI M., SHRINGAPURE R., DAVIES K. J., 2001. *Glutathione of the proteasome is enhanced by proteolytic inhibitors*. Arch. Biochem. Biophys. 389, 254-263.
- DEVI B. G., HENDERSON G. I., FROSTO T. A., SCHENKER S., 1993. *Effect of ethanol on rat fetal hepatocytes: studies on cell replication, lipid peroxidation and glutathione*. Hepatology 18, 648-659.
- DORSHOW J.H., AKMAN S., CHU F.F., ESWORTHY S., 1990. *Role of the glutathione-glutathione peroxidase cycle in the cytotoxicity of the anticancer quinones*. Pharmacol. Therapeutics 47, 359-367.
- DUNCAN K., HARRIS S., ARDIES C. M., 1997. *Running exercise may reduce risk of lung and liver cancer by inducing activity of antioxidant and phase II enzymes*. Cancer Lett. 116, 151-158.
- DZIUBEK K., 2005. *Badania nad wpływem różnych czynników chemicznych i fizycznych na stężenie glutationu zredukowanego (GSH) i utlenionego (GSSG) w wybranych organach Rana esculenta L. w okresie zimowania*. Wyd. Nauk. Akademii Pedagogicznej w Krakowie, Kraków.
- EBRAHIM S. H., LUMAN E. T., FLOYD R. L., MURPHY C. C., BENNETT E. M., BOYLE C. A., 1998. *Alcohol consumption by pregnant women in the United States during 1988-1995*. Am. J. Obstetrics Gynecol. 92, 187-192.
- EBRAHIM S. H., DIEKMAN S. T., FLOYD R. L., DECOUFLE P., 1999. *Comparison of binge drinking among pregnant and nonpregnant women in United States, 1991-1995*. Am. J. Obstetrics Gynecol. 180, 1-7.
- EFFROS R. M., CASABURI R., SU J., DUNNING M., TORDAY J., BILLER J., SHAKER R., 2006. *The effects of volatile salivary acids and bases on exhaled breath condensate pH*. Am. J. Resp. Critical Care Med. 173, 386-392.
- EKSTROM G., INGELMAN-SUNDBERG M., 1989. *Rat liver microsomal NADPH – supported oxidase activity and lipid peroxidation dependent on ethanol – inducible cytochrome P 450*. Biochem. Pharmacol. 38, 1313-1319.
- EL-SAYED M. S., ALI N., EL-SAYED A. Z., 2005. *Interaction between alcohol and exercise: physiological and haematological implications*. Sports Med. 35, 257-269.
- FASANO W. J., SWEENEY L. M., MAWIN M. P., NABB D., SZOSTEK B., BUCK R. C., GARGAS M. L., 2009. *Kinetics of 8-2 fluorotelomer alcohol and its metabolites, and liver glutathione status following daily oral dosing for 45 days in male and female rats*. Chem. Biol. Interactions 181, 281-295.
- FOREMAN M. G., HOOR T. T., BROWN L. A., MOSS M., 2002. *Effects of chronic hepatic dysfunction on pulmonary glutathione homeostasis*. Am. J. Resp. Critical Care Med. 26, 1840-1845.
- FORMAN H., SKELTON D., 1990. *Protection of alveolar macrophages from hyperoxia by gamma-glutamyl transpeptidase*. Am. J. Physiol. (Lung Cell Molecular Physiol). 259, L102-L107.
- GAUTHIER T. W., PING X. D., HARRIS F. L., WONG M., ELBAHESH H., BROWN L. A., 2005. *Fetal alcohol exposure impairs alveolar macrophage function via decreased glutathione availability*. Pediatric Res. 57, 76-81.
- GAŚIOR K., CHODKIEWICZ J. (red.), 2010. *Leczenie alkoholików i członków ich rodzin*. Wydawnictwo Jedność, Kielce.
- GENDŹWIŁ A., 2007. *Reaktywne formy tlenu i hipokreatywność naczyń we wstrząsie septycznym*. Pol. Merk. Lek. 23, 284-287.
- GO Y. M., JONES D. P., 2005. *Intracellular proatherogenic events and cell adhesion modulated by extracellular thiol/disulfide redox state*. Circulation 111, 2973-2980.
- GREENBERG S., ZHAO X., HUA L., WANG J., NELSON S., OUYANG J., 1999. *Ethanol inhibits lung clear-*

- ance of *Pseudomonas aeruginosa* by a neutrophil and nitric oxide-dependent mechanism in vivo. *Alcoholism Clin. Exp. Res.* 23, 735-744.
- GRIGG J., BARBER A., SILVERMAN M., 1993. *Bronchoalveolar lavage fluid glutathione in intubated premature infants.* *Arch. Disease Childhood* 69, 49-51.
- GUIDOT D., MOSS M., HOLGUIN F., LOIS M., BROWN L., 1999. *Ethanol ingestion impairs alveolar epithelial glutathione homeostasis and function, and predisposes to endotoxin-mediated acute lung injury.* *Chest* 116, 82S-83S.
- GUIDOT D., BROWN L., 2000. *Mitochondrial glutathione replacement restores surfactant synthesis and secretion in alveolar epithelial cells of ethanol-fed rats.* *Alcoholism Clin. Exp. Res.* 24, 1070-1076.
- GUL M., KUTAY F. Z., TEMOCIN S., HANNINEN O. 2000. *Cellular and clinical implications of glutathione.* *Indian J. Exp. Biol.* 38, 625-634.
- GUNDUZ F., SENTURK U. K., KURU O., AKTEKIN B., AKTEKIN M. R. 2004. *The effect of one year's swimming exercise on oxidant stress and antioxidant capacity in aged rats.* *Physiol. Res.* 53, 171-176.
- GUPTA S., PANDEY R., KATYAL R., AGGARWAL H. K., AGGARWAL R. P., AGGARWAL S. K., 2003. *Lipid peroxidation levels and antioxidant status in alcoholic liver disease.* *Indian J. Clin. Biochem.* 20, 67-71.
- HALSTED C. H., VILLANUEVA J. A., DEVLIN A. M., CHANDLER C. J. 2002. *Metabolic interactions of alcohol and folate.* *Am. Soc. Nutr. Sci.* 132, 2367S-2372S.
- HANSEN J. M., CHOE H. S., CARNEY E. W., HARRIS C., 2001. *Differential antioxidant enzyme activities and glutathione content between rat and rabbit conceptuses.* *Free Rad. Biol. Med.* 30, 1078-1088.
- HAOUZI D., LEKEHAL M., TINEL M., VADROT N., CAUSSANEL L., LETTERON P., MOREAU A., FELDMANN G., FAU D., PESSAYRE D., 2001. *Prolonged, but not acute, glutathione depletion promotes Fas-mediated mitochondrial permeability transition and apoptosis in mice.* *Hepatology* 33, 1181-1188.
- HARMAN D., 1986. *Free radical theory of aging: role of free radicals in the origination and evolution of life, aging and disease process.* [W:] *Biology of aging.* JOHNSON J., WALFORD J.V, HARMAN, J. MIQUEL R. (red). New York Liss, New York, 255-275.
- HELEWSKI K. J., KOWALCZK-ZIOMEK J., KONECKI J., 2006. *Apoptoza i martwica – dwie drogi jednego celu.* *Wiad. Lek.* 59, 679-684.
- HENDERSON G. I., DEVI B. G., PEREZ A., SCHENKER S., 1995. *In utero ethanol exposure elicits oxidative stress in the rat fetus.* *Alcoholism Clin. Exp. Res.* 19, 714-720.
- HENTZE H., KUNSTLE G., VOLBRACHT C., ERTEL W., WENDEL A., 1999. *CD95-mediated murine hepatic apoptosis requires an intact glutathione status.* *Hepatology* 30, 177-185.
- HENTZE H., LATTA M., KUNSTLE G., LUCAS R., WENDEL A., 2003. *Redox control of hepatic cell death.* *Toxicol. Lett.* 139, 111-118.
- HIRANO T., KAPLOWITZ N., TSUKAMOTO H., KAMIMURA S., FERNANDEZ-CHECA J. C., 1992. *Hepatic mitochondrial glutathione depletion and progression of experimental alcoholic liver diseases in rats.* *Hepatology* 16, 1423-1427.
- HOLGUIN F., MOSS I., BROWN L. A., GUIDOT D. M., 1998. *Chronic ethanol ingestion impairs alveolar type II cell glutathione homeostasis and function and predisposes to endotoxin-mediated acute edematous lung injury in rats.* *J. Clin. Invest.* 101, 761-768.
- HUSAIN K., SOMANI S. M., 1997a. *Interaction of exercise training and chronic ethanol ingestion on hepatic and plasma antioxidant system in rat.* *J. Appl. Toxicol.* 17, 189-194.
- HUSAIN K., SOMANI S. M., 1997b. *Interaction of exercise and ethanol on hepatic and plasma antioxidant system in rat.* *Pathophysiology* 4, 69-74.
- HWANG C., SINKSEY A. J., LODISH H. F., 1992. *Oxidized redox state of glutathione in the endoplasmic reticulum.* *Science* 257, 1496-1502.
- JACKSON A. S., SANDRINI A., CAMPBELL C., CHOW S., THOMAS P. S., H. YATES D. H., 2007. *Comparison of biomarkers in exhaled breath condensate and bronchoalveolar lavage.* *Am. J. Resp. Critical Care Med.* 175, 222-227.
- Ji L. L., 1993. *Antioxidant enzyme response to exercise and aging.* *Med. Sci. Sports Exercise* 25, 225-231.
- Ji L.L., 1995. *Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems.* *Exercise Sport Sci. Rev.* 23, 135-166.
- JOCELYN P. C., 1972. *Biochemistry of the SH groups.* Academic Press, London, New York.
- JONES D. P., 2002. *Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance.* *Methods Enzymol.* 348, 93-112.
- JONES D. P., 2006. *Extracellular redox state: refining the definition of oxidative stress in aging.* *Rejuvenation Res.* 9, 169-181.
- JONES D. P., CARLSON J. L., MODY V. C., CAI J., LYNN M. J., STERNBERG P., 2000. *Redox state of glutathione in human plasma.* *Free Rad. Biol. Med.* 28, 625-635.
- JURCZUK M., MONIUSZKO-JAKONIUK J., ROGALIKA J., 2006. *Glutathione related enzyme activity in liver and kidney of rats exposed to cadmium and ethanol.* *Pol. J. Env. Studies* 15, 861-868.
- KAKARLA P., KESIREDDY S. R., 2005. *Age and ethanol-induced oxidative stress: impact of exercise training on glutathione metabolism in rat myocardium.* *Free Rad. Res.* 39, 1211-1217.
- KAMIŃSKA A., 2011. *Dyskretny związek biochemiczny – glutation.* *Salubritas, Polska* 2, 69-87.
- KAPLOWITZ N., AW T. Y., OOKHTENS M., 1985. *The regulation of hepatic glutathione.* *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 25, 715-744.
- KAROLCZAK K., OLAS B., KOŁODZIEJCZYK J., 2009. *Rola tioli w aktywacji płytek krwi.* *Post. Biol. Kom.* 36, 101-120.
- KARWICKA E., 2010. *Rola glutationu w oporności wielolekowej nowotworów.* *Post. Biol. Kom.* 37, 323-341.
- KIM Y. C., KIM Y. S., SOHN Y. R., 2003. *Effect of age increase on metabolism and toxicity of ethanol in female rats.* *Life Sci.* 74, 509-519.
- KLATT P., LAMAS S., 2000. *Regulation of protein function by S-glutathione in response to oxidative and introsative stress.* *Eur. J. Biochem.* 267, 4928-4944.
- KNAPEN M. F., ZUSTERZEEL P. L., PETERS W. H., STEEGERS E. A., 1999. *Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction.* *Eur. J. Obestic Reprod. Biol.* 82, 171-184.
- KNECHT K. T., THURMAN R. G., MASON R. P., 1993. *Role of superoxide and trace transition metals in production of  $\alpha$ -hydroxyethyl radical from ethanol by microsomes from alcohol dehydrogenase deficient deermice.* *Arch. Biochem. Biophys.* 303, 339-348.
- KOŁATAJ A., 1986. *Fizjologiczna rola grup tiolowych.* *Kieleckie Studia Biol.* Kielce 3, 127-167.
- KOSTOWSKI W., WALD I. (red.), 1991. *Działanie biologiczne alkoholu etylowego.* PWN, Warszawa.
- KSIĄŻEK K., 2010. *Stres oksydacyjny jako uniwersalna przyczyna starzenia się – od somatycznych komórek człowieka do jednokomórkowych drożdży i prokariotycznych komórek bakterii.* *Post. Biochem.* 56, 260-268.

- KUMAŃSKI K., PISARSKI A., 2010. *Zintegrowany model leczenia osób uzależnionych od alkoholu*. [W:] *Leczenie alkoholików i członków ich rodzin*. GAŚSIOR K., CHODKIEWICZ J. (red.). Wyd. Jedność, Kielce, 180-186.
- KUMARAN S. V., ARULMATHI K., SRIVIDHYA R., KALAISELVI P., 2008. *Repletion of antioxidant status by EGCG and retardation of oxidative damage induced macromolecular anomalies in aged rats*. *Exp. Gerontol.* 43, 176-183.
- LEEUWENBURGH C., JI L. L., 1995. *Glutathione depletion in rested and exercised mice: biochemical consequence and adaptation*. *Arch. Biochem. Biophys.* 316, 941-949.
- LEEUWENBURGH C., FIEBIG R., CHANDWANEY R., JI L. L., 1994. *Aging and exercise training in skeletal muscle: responses of glutathione and antioxidant enzyme systems*. *Am. J. Physiol.* 267, R439-R445.
- LESTER B. M., EL SOHLY M., WRIGHT L. L., SMERIGLIO V. L., VERTER J., BAUER C. R., SHANKARAN S., BADA H. S., WALLS H. H., HUESTIS M. A., FINNEGAN L. P., MAZA P. L., 2001. *The maternal lifestyle study: drug use by meconium toxicology and maternal self-report*. *Pediatrics* 107, 309-317.
- LICZMAŃSKI A. E., 1988. *Toksyczność tlenu*. *Post. Bioch.* 34, 273-310.
- LIEBER C. S., 1993. *Biochemical factors in alcoholic liver disease*. *Seminars Liver Diseases* 13, 136-153.
- LIEBER C. S., 1995. *Medical disorders of alcoholism*. *New Engl. J. Med.* 333, 1058-1065.
- LOEB G., SKELTON D., COATES T., FORMAN H., 1998. *Role of selenium-dependent glutathione peroxidase in antioxidant defenses in rat alveolar macrophages*. *Exp. Lung Res.* 14 (Suppl.), 921-936.
- LOGUERCIO C., CLOT P., ALBANO E., ARGENZIO F., GRELLA A., DE GIROLAMO V., DELLE CAVE M., DEL VECCHIO BIANCO C., NARDI G., 1997. *Free radicals and not acetaldehyde influence the circulating levels of glutathione after acute or chronic alcohol abuse: in vivo and in vitro studies*. *Italian J. Gastroenterol. Hepatol.* 29, 168-173.
- LU S. C., 2000. *Regulation of glutathione synthesis*. *Curr. Top Cell Regulation* 36, 95-116.
- ŁUCZAJ W., WASZKIEWICZ E., SKRZYDLEWSKA E., ROSZKOWSKA-JAKIMIEC W., 2004. *Green tea protection against age-dependent ethanol-induced oxidative stress*. *J. Toxicol. Environ. Health A* 67, 595-606.
- ŁUKASZEWICZ-HUSSAIN A., 2003. *Rola glutationu i enzymów z nim związanych w procesach antyoksydacyjnych organizmu*. *Med. Pracy* 54, 473-479.
- MALLIKARJUNA K., NISHANTH K., REDDY K. S., 2007. *Hepatic glutathione mediated antioxidant system in ethanol treated rats: decline with age*. *Pathophysiology* 14, 17-21.
- MALLIKARJUNA K., SHANMUGAM K. R., NISHANTH K., MING-CIEH W., CHEIN-WEN H., CHIA-HUA K., REDDY K. S., 2010. *Alcohol-induced deterioration in primary antioxidant and glutathione family enzymes reversed by exercise training in the liver of old rats*. *Alcohol* 44, 523-529.
- MATUŠO M., 1993. *Age-related alterations in antioxidant defense*. [W:] *Free radicals in aging*. YU B. P. (red.). CRC Press, Boca Raton, 143-181.
- MCVICKER B. L., TUMA P. L., KHARBANDA K. K., SERENE M. L., DEAN J., 2009. *Relationship between oxidative stress and hepatic glutathione levels in ethanol-mediated apoptosis of polarized hepatic cells*. *Tuma World J. Gastroenterol.* 15, 2609-2616.
- MEIR P., SEITZ H. K., 2008. *Age, alcohol metabolism and liver disease*. *Cur. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 11, 21-26.
- MEISTER A., ANDERSON M., 1983. *Glutathione*. *Ann. Rev. Biochem.* 52, 711-760.
- MILLER W. R., MUNOZ R. F., 2006. *Picie kontrolowane*. Wyd. Eduk. PARPAMEDIA, Warszawa, 5-150.
- MOHAN I. V., JAGROOP I. A., MIKHAILIDIS D. P., STANSBY G. P., 2008. *Homocysteine activates platelets in vitro*. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 14, 8-18.
- MOSS M., GUIDOT D. M., WONG-LAMBERTINA M., TEN HOOR T., PEREZ R. L., BROWN L. A., 2000. *The effects of chronic alcohol abuse on pulmonary glutathione homeostasis*. *Am. J. Resp. Critical Care Med.* 161, 414-419.
- MOOS R. H., BRENNAN P. L., SCHUTTE K. K., MOOS B. S., 2004. *High-risk alcohol consumption and late-life alcohol use problems*. *Am. J. Public Health* 94, 1985-1991.
- MORIARTY S. E., SHAH J. H., LYNN M., JIANG S., OPENO K., JONES D. P., 2003. *Oxidation of glutathione and cysteine in human plasma associated with smoking*. *Free Radical Biol. Med.* 35, 1582-1588.
- NICHOLAS A. S. H., JUN R., 2003. *Short-term acetaldehyde exposure depresses ventricular myocyte contraction: role of cytochrome P 450 oxidase, xanthine oxidase and lipid peroxidation*. *Alcoholism Clin. Exp. Res.* 27, 577-583.
- NORDMANN R., RIBIERE C., ROUACH H., 1992. *Implication of free radical mechanism in ethanol-induced cellular injury*. *Free Radical Biol. Med.* 12, 219-240.
- NUTT D. J., PETERS T. J., 1994. *Alcohol - The Drug*. *Brit. Med. Bull.* 1, 5-7.
- OH S. I., KIM C. I., CHUN H. J., PARK S. C., 1997. *Chronic ethanol consumption affects glutathione status in rat liver*. *J. Nutr.* 128, 758-763.
- OJEDA M. L., NOGALES F., VAZQUEZ B., DELGADO M. J., MURILLO M. L., CARRERAS O., 2009. *Alcohol, gestation and breastfeeding: selenium as an antioxidant therapy*. *Alcohol Alcoholism* 44, 272-277.
- OKŁOTA M., NIEMCUMOWICZ-JANICA A., ZAŁUSKI J., PTA-SZYŃSKA-SAROSIEK J., 2009. *Udział etanolu w indukcji procesu apoptozy*. *Arch. Med. Sądowej Kryminalnej* 59, 238-242.
- OMIDVARI K., CASEY R., NELSON S., OLARIU R., SHELLITO J., 1998. *Alveolar macrophage release of tumor necrosis factor- $\alpha$  in chronic alcoholics without liver disease*. *Alcoholism Clin. Exp. Res.* 22, 567-572.
- PERLA-KAJAN J., TWARDOWSKI T., JAKUBOWSKI H., 2007. *Mechanisms of homocysteine toxicity in humans*. *Amino Acids* 32, 561-572.
- PIEKUTOWSKI K., MAKAREWICZ R., ZACHARA B. A., 2007. *The antioxidative role of selenium in pathogenesis of cancer of the female reproductive system*. *Neoplasma* 54, 374-378.
- PIETARINEN P., RAIVIO K., DEVLIN R., CRAPO J., CHANG L., KINNULA V., 1995. *Catalase and glutathione reductase protection of human alveolar macrophages during oxidant exposure in vitro*. *Am. J. Resp. Cell Mol. Biol.* 13, 434-441.
- POLAVARAPU R., SPITZ D. R., SIM J. E., FOLLANSBEE N. H., OBERLEY L. W., RAHEMTULLA A., 1998. *Increased lipid peroxidation and impaired antioxidant enzyme function is associated with pathological liver injury in experimental alcoholic liver disease in rats fed diets high in corn oil and fish oil*. *Hepatology* 27, 1317-1323.
- PUSHPALATA K., NISHANTH K., SATHYAVELU REDDY K., 2007. *Myocardial antioxidant status and oxidative stress after combined action of exercise training and ethanol in two different age groups of male albino rats*. *Acta Biol. Hung.* 58, 173-185.

- RAHMAN I., ADCOCK I. M., 2006. *Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD*. Eur. Resp. J. 28, 219-242.
- RAJKOVIĆ I. A., WILLIAMS R., 1985. *Inhibition of neutrophil function by hydrogen peroxide. Effect of SH- group-containing compounds*. Biochem. Pharmacol. 34, 2083-2090.
- RAMACHANDRAN V., PEREZ A., CHEN J., SENTHIL D., SCHENKER S., HENDERSON G. I., 2001. *In utero ethanol exposure causes mitochondrial dysfunction, which can result in apoptotic cell death in fetal brain: a potential role for 4-hydroxynonenal*. Alcoholism Clin. Exp. Res. 25, 862-871.
- REYES E., OTT S., ROBINSON B., 1993. *Effects of in utero administration of alcohol on glutathione levels in brain and liver*. Alcoholism Clin. Exp. Res. 17, 877-881.
- RIKANS L. E., SNOWDEN C. D., 1989. *Effects of acute ethanol administration on female rat liver as a function of aging*. Life Sci. 45, 1373-1379.
- RISTOFF E., LARSSON A., 2007. *Inborn errors in the metabolism glutathione*. Orphanet J. Rare Disord. 2, 16-24.
- RODRIGUEZ J. F., CORDERO J., CHANTRY C., GONZALES S., RIVERA C., FEBO I., COLON A., DIAZ C., 1998. *Plasma glutathione concentrations in children infected with human immunodeficiency virus*. Pediatr. Infect. Disease J. 17, 236-241.
- RONACH H., FARACCIOLI V., GENTIL M., FRENCH S. W., MORIMOTO M., NORDMANN R., 1997. *Effect of chronic ethanol feeding on lipid peroxidation and protein oxidation in relation to liver pathology*. Hepatology 25, 351-355.
- SAMIEC P. S., DREWS-BOTSCH C., FLAGG E. W., KURTZ J. C., STERNBERG P. JR, REED R. L., JONES D. P., 1998. *Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes*. Free Radical Biol. Med. 24, 699-704.
- SAMOCHOWIEC S., 2007. *Czynniki genetyczne w uzależnieniu alkoholowym*. Neuropsych. Neuropsychol. 2, 54-56.
- SAVARINO L., GRANCHI D., CIAPETTI G., CENNI E., RAVAGLIA G., FORTI P., 2001. *Serum concentrations of zinc and selenium in elderly people: results in healthy nonagenarians/centenarians*. Exp. Gerontol. 36, 327-339.
- SCHAFFER F. Q., BUETTNER G. R., 2001. *Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple*. Free Radical Biol. Med. 30, 1191-1212.
- SCHULZ J. B., LINDENAU J., SEYFRIED J., DICHGANS J., 2000. *Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration*. Eur. J. Biochem. 267, 4904-4911.
- SEN C. K., PARKER L., 2000. *Thiol homeostasis and supplements in physical exercise*. Am. J. Clin. Nutr. 72, 653S-669S.
- SEN C. K., MARIN E., KRETZSCHMAR M., HANNINEN O., 1992. *Skeletal muscle and liver glutathione homeostasis in response to training, exercise, and immobilization*. J. Appl. Physiol. 73, 1265-1272.
- SERES T., KNICKELBEIN R., WARSHAW J., JOHNSTON R. JR., 2000. *The phagocytosis associated respiratory burst in human monocytes is associated with increased uptake of glutathione*. J. Immunol. 165, 3333-3340.
- SKRZYDLEWSKA E., AUGUSTYNIAK A., MICHALAK K., FARBISZEWSKI R., 2005. *Green tea supplementation in rats of different ages mitigates ethanol-induced changes in brain antioxidant abilities*. Alcohol 37, 89-98.
- SMITH C. V., HANSEN T. N., MARTIN N. E., McMICKEN H. W., ELLIOTT S. J., 1993. *Oxidant stress responses in premature infants during exposure to hydrogen peroxide*. Pediatric Res. 34, 360-365.
- SOHAL R. S., KU H. H., AGARWAL S., FORSTER M. J., LAL H., 1994. *Oxidative damage, mitochondrial oxidant generation and antioxidant defenses during aging in response to food restriction in the mouse*. Mechanisms Ageing Dev. 74, 121-133.
- SOMANI S. M., RYBACK L. P., 1996. *Comparative effects of exercise training on transcription of antioxidant enzyme and the activity in old rat heart*. Ind. J. Physiol. Pharmacol. 40, 205-212.
- SUTER P. M., SCHUTZ Y., JEQUIER E., 1992. *The effect of ethanol on fat storage in healthy subjects*. New Engl. J. Med., 326, 983-987.
- TEW K. D., 1994. *Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance*. Canc. Res. 54, 4313-4320.
- TOWNSEND D. M., TEW K. D., 2003. *The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance*. Oncogene, 22, 7369-7375.
- TURSKI A. T., BALD E., 2005. *Mechanizm molekularny biotoksyczności homocysteiny – fakty i hipotezy*. Post. Biochem. 51, 395-406.
- VAN DE POLL M. C., DEJONG C. H., SOETERS P. B., 2006. *Adequate range for sulfur containing amino acids and biomarkers for their excess: lessons from enteral and parenteral nutrition*. J. Nutr. 136, 1694S-1700S.
- VIDELA L., GUERRI C., 1990. *Glutathione and alcohol*. CRC Press, Boca Raton.
- VOGT B. L., RICHIE J. P. JR., 2007. *Glutathione depletion and recovery after acute ethanol administration in aging mouse*. Biochem. Pharmacol. 73, 1613-1621.
- WANG R., WANG S., DING T., PENG K., LIN X., QIAO X., LUI Y., WU CH., 2005. *Age related changes of the redox state of glutathione in plasma*. Chinese Med. J. 118, 1560-1563.
- WINIARSKA K., 2000. *Glutation: niezwykle funkcje pospolitego peptydu*. Post. Biochem. 46, 318-326.
- WŁODEK L., 2003a. *Cysteina, metabolizm, biologiczna rola i przyczyny toksyczności*. [W:] *Biotiole w warunkach fizjologicznych, patologicznych i w terapii*. WŁODEK L. (red.). Wyd. Uniwersytetu Jagiellońskiego, 35-63.
- WŁODEK L., 2003b. *Glutation, antyoksydacyjne i detoksykacyjne właściwości, biologiczna i farmakologiczna regulacja biosyntezy*. [W:] *Biotiole w warunkach fizjologicznych, patologicznych i w terapii*. WŁODEK L. (red.). Wyd. Uniwersytetu Jagiellońskiego, 111-151.
- WORONOWICZ B. T., 2009. *Uzależnienia. Geneza, terapia, powrót do zdrowia*. Media Rodzina, Poznań.
- YEH M. Y., 2007. *Chronic alcoholism alters systemic and pulmonary glutathione redox status*. Am. J. Resp. Crit. Care Med. 176, 270-276.
- YEH M. Y., BURNHAM E. L., MOSSC M., BROWN L. A.S., 2008. *Non-invasive evaluation of pulmonary glutathione in the exhaled breath condensate of otherwise healthy alcoholics*. Respiratory Med. 102, 248-255.
- YOSHIDA A., TAKEMUR H., INOUE H., MIYASHITA T., UEDA T., 2006. *Inhibition of glutathione synthesis overcomes Bcl-2-mediated topoisomerase inhibitor resistance and induces nonapoptotic cell death via mitochondrial-independent pathway*. Cancer Res. 66, 5772-5780.
- ZACHARA B. A., SZEWCZYK-GOLEC K., TYLOCH J., WOLSKI Z., SZYLBERG T., STEPIEN S., KWIAKOWSKI S., BLOCH-BOGUSLAWSKA E., WASOWICZ W., 2005. *Blood and tissue selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in patients with prostate cancer and benign prostate hyperplasia*. Neoplasma 52, 248-54.
- ZACHARA B. A., GROMADZIŃSKA J., WASOWICZ W., ZBRÓG Z., 2006. *Red blood cell and plasma glu-*

- tathione peroxidase activities and selenium concentration in patients with chronic kidney disease: a review.* Acta Biochim. Pol. 53, 663-677.
- ZACHARA B. A., GROMADZINSKA J., ZBROG Z., SWIECH R., WASOWICZ W., TWARDOWSKA E., JABLONSKA E., SOBALA W., 2009. *Selenium supplementation to chronic kidney disease patients on hemodialysis does not induce the synthesis of plasma glutathione peroxidase.* Acta Biochim. Pol. 56, 183-187.
- ZAMAN G. J., LANKELMA J., VAN TELLINGEN O., BEIJNEN J., DEKKER H., PAULUSMA C., OUDE ELFERINK R. P., BAAS F., BORST P., 1995. *Role of glutathione in the export of compounds from cells by the multidrug-resistance-associated protein.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 7690-7694.
- ZIMA T., FIALOVA L., MESTEK O., JANEBOVA M., CRKOVSKA J., MALBOHAN I., 2001. *Oxidative stress, metabolism of ethanol and alcohol-related diseases.* J. Biomed. Sci. 8, 59-70.
- ZIÓLKOWSKI M., RYBAKOWSKI J., 1998. *Farmakoterapia uzależnienia od alkoholu.* Alkoholizm Narkomania 4, 32-40.