

# Dysfunkcja bariery śluzówkowej jelit i endotoksemia – ogniwa kaskady zapalnej w alkoholowej chorobie wątroby

Intestinal barrier dysfunction and endotoxemia – links in the inflammatory cascade in alcoholic liver disease

Beata Kasztelan-Szczerbińska, Maria Słomka, Krzysztof Celiński

Katedra i Klinika Gastroenterologii z Pracownią Endoskopową Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Przegląd Gastroenterologiczny 2010; 5 (2): 77–82

DOI: 10.5114/pg.2010.14034

**Słowa kluczowe:** alkoholowa choroba wątroby, endotoksemia, zaburzenia bariery jelitowej.

**Key words:** alcoholic liver disease, endotoxemia, intestinal barrier dysfunction.

**Adres do korespondencji:** dr n. med. Beata Kasztelan-Szczerbińska, Katedra i Klinika Gastroenterologii z Pracownią Endoskopową, Uniwersytet Medyczny, ul. Jaczewskiego 8, 20-950 Lublin, tel./faks +48 81 724 45 35, e-mail: beata.szczerbinska@op.pl

## Streszczenie

Alkoholowa choroba wątroby (AChW) jest poważną konsekwencją zdrowotną przewlekłej konsumpcji etanolu. Mechanizmy, poprzez które alkohol prowadzi do rozwoju AChW, nadal pozostają nie do końca poznane. W ostatnich doniesieniach wskazuje się, że wywołana alkoholem zwiększona przepuszczalność ściany przewodu pokarmowego może wyzwać kaskadę zapalną i odgrywać istotną rolę w inicjacji i progresji choroby. Endotoksyny to lipopolisacharydy (LPS) pochodzące ze ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych. Przewlekła ekspozycja na alkohol może zwiększać ich penetrację z jelit do krwi wrotnej oraz stężenie w wątrobie. Identyfikacja LPS/endotoksyn przez receptory TLR4 (*Toll-like receptor 4*) obecne na błonie komórek Kupffera oraz aktywacja makrofagów wątrobowych powoduje wzmożoną syntezę cytokin zapalnych, chemokin oraz wolnych rodników tlenowych (*reactive oxygen species* – ROS). Reakcje te w dalszej kolejności odpowiadają za rekrutację do wątroby limfocytów i neutrofilów oraz sprzyjają odpowiedzi zapalnej, która wydaje się krytycznym zjawiskiem w rozwoju AChW. W niniejszym opracowaniu uwypuklono i omówiono mechanizm indukowanych alkoholem zaburzeń funkcji bariery jelitowej oraz uszkodzenia tkanki wątrobowej pod wpływem endotoksyn.

## Abstract

Alcoholic liver disease is a major health consequence of chronic ethanol consumption. The mechanisms by which alcohol promotes development of ALD are still not completely clear. Recent findings indicate that alcohol-related increased gut permeability may trigger the inflammatory cascade and play a crucial role in the onset and progression of this disease. Endotoxins are lipopolysaccharides (LPS) derived from the cell wall of Gram-negative bacteria. Chronic alcohol exposure may increase their penetration from the gut into the portal blood and their concentration in the liver. LPS/endotoxin recognition by Toll-like receptor 4 (TLR4) on Kupffer cells and activation of liver macrophages result in elevated synthesis of inflammatory cytokines, chemokines and reactive oxygen species (ROS). These events further account for recruitment of lymphocytes and neutrophils to the liver and promote inflammatory responses that seem to be critical in the development of alcoholic liver disease. In this review we highlight and discuss the mechanisms of alcohol-mediated alterations of intestinal barrier function as well as endotoxin-induced liver tissue injury.

## Wstęp

Śmiertelność z powodu alkoholowej choroby wątroby (AChW) w USA i w krajach Europy Zachodniej oszacowano na ok. 5–6%, co sprawia, że zajmuje ona 9. miejsce wśród najczęstszych przyczyn zgonów w tej populacji [1]. Średnie spożycie alkoholu przez dorosłego

Europejczyka w 2005 r. wynosiło 11 l, a w Polsce, gdzie nadużywanie alkoholu osiągnęło status choroby społecznej, 9,5 l [2]. Kryteria uzależnienia od alkoholu spełnia ok. 2% dorosłych Polaków [3]. Prawie u wszystkich nadużywających alkoholu pacjentów rozwija się stłuszczenie wątroby, jednak tylko u 10–35% stwierdza się

alkoholowe zapalenie wątroby, a progresję do marskości obserwuje się u ok. 8–20% chorych [1, 2].

Analiza danych epidemiologicznych pozwala przypuszczać, że poza nadmiernym spożyciem alkoholu również inne czynniki muszą odgrywać rolę w patogeniezie tego schorzenia. Wyniki badań z ostatnich lat wskazują, że etanol, jego metabolity oraz lipopolisacharydy (LPS) bakterii jelitowych wspólnie mogą mieć kluczowe znaczenie dla wystąpienia i rozwoju tej choroby. W piśmiennictwie medycznym istnieje już sporo dowodów na to, że destrukcja bariery jelitowej i endotoksemia stanowią istotny kofaktor w inicjacji i prawdopodobnie również progresji AChW [4–7]. Wyniki badań eksperymentalnych wskazują, że skojarzone oddziaływanie etanolu i endotoksyn uszkadza wątrobę w większym stopniu niż każda z tych substancji osobno [8]. Oznaczenia stężenia endotoksyn we krwi osób z AChW wykazały, że 5–20 razy przewyższa ono poziom obserwowany u zdrowych osobników [9, 10].

### Źródło endotoksemii u osób z alkoholową chorobą wątroby

Endotoksyny to LPS pochodzące ze ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych. W skład krążących endotoksyn wchodzi zarówno obumarłe bakterie, jak i LPS ścian komórkowych bakterii żywych. W normalnych warunkach absorpcja endotoksyn jest regulowana przez sprawnie działającą barierę śluzówkową jelit i tylko niewielka ich ilość przenika do krwi wrotnej [4, 6]. Klirens LPS z krwi odbywa się przy udziale komórek śródbłonka zatok wątrobowych (*liver sinusoidal endothelial cells* – LSEC), które stanowią pierwszą linię obrony przed szkodliwymi cząsteczkami napływającymi z przewodu pokarmowego [11]. Komórki śródbłonka zatok wątrobowych są odpowiedzialne za usuwanie z krążenia drogą endocytozy rozpuszczalnych makromolekuł i substancji koloidowych (cząsteczek mniejszych niż 100 nm), podczas gdy komórki Kupffera (*Kupffer cells* – KC) – rezydujące w wątrobie makrofagi – odpowiadają za eliminację nierozpuszczalnych molekuł drogą fagocytozy [12]. W fizjologicznych warunkach zarówno KC, jak i LSEC uczestniczą w regulacji stężenia LPS w wątrobie i utrzymują reakcje zapalne na minimalnym poziomie. Konsumpcja alkoholu zaburza funkcjonowanie i szczelność bariery jelitowej, zwiększając dowóz LPS do wątroby, co przerywa stan homeostazy. Zwiększenie stężenia endotoksyny we krwi pod wpływem ekspozycji na etanol mogą nasilać trzy czynniki: 1) przerost bakterii jelitowych – u alkoholików stwierdzono zwiększoną liczbę mikroorganizmów w aspiratach z jelita cienkiego w porównaniu z osobami zdrowymi; wykazano, że etanol spowalnia motorykę

żołądkowo-jelitową, a to sprzyja przerostowi bakterii w świetle przewodu pokarmowego [6, 13];

- 2) dysfunkcja bariery śluzówkowej jelit – wyniki badań wskazują, że konsumpcja alkoholu zwiększa przepuszczalność błony śluzowej jelit w stosunku do makromolekuł zarówno u alkoholików, jak i u zdrowych osobników [7, 10];
- 3) zmniejszony klirens endotoksyn z krwi – etanol upośledza czynność fagocytarną KC i zmniejsza wychwytywanie endotoksyn z krwi, nasilając ich przeciek do krążenia systemowego [4, 14].

Gdy dowóz endotoksyn przewyższa zdolność do ich usunięcia, dochodzi do: 1) lokalnej aktywacji KC [14], 2) upośledzenia funkcji oczyszczającej, wzmożonej ekspresji molekuł włóknienia (fibronektyna) i nasilonej apoptozy LSEC [5] oraz 3) zwiększenia poziomu endotoksyn w krążeniu systemowym [negatywnie oddziałuje na inne narządy: zapalenie trzustki, zespół ostrej niewydolności oddechowej dorosłych (*acute respiratory distress syndrome* – ARDS), uszkodzenie mózgu] [6].

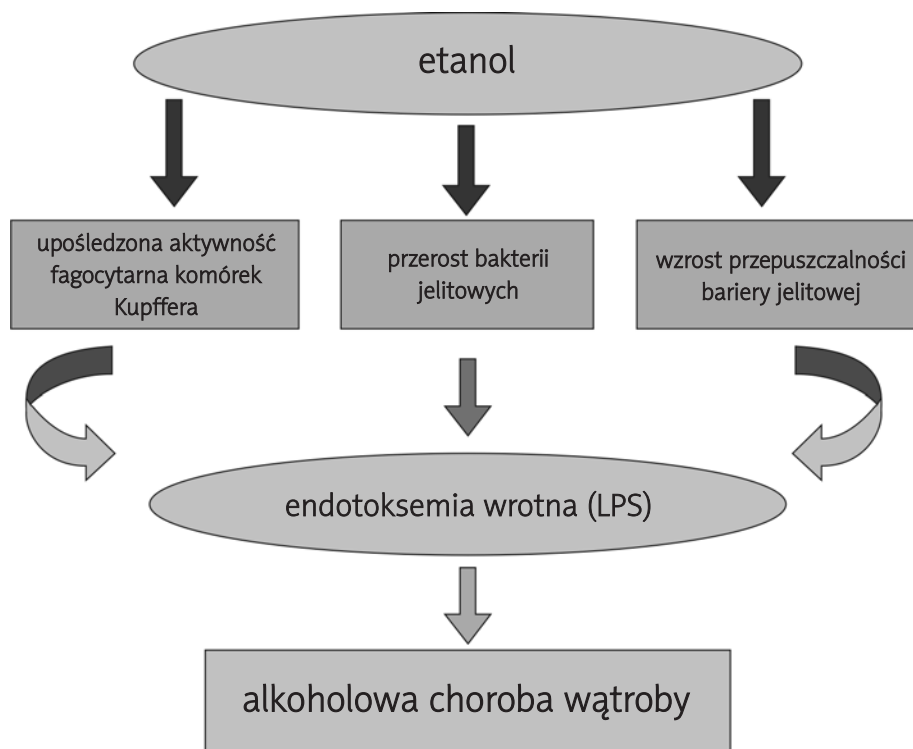
U przewlekle nadużywających alkoholu pacjentów z AChW wzrost przepuszczalności bariery jelitowej (*leaky gut syndrome*, *leaky intestine*) utrzymuje się długo, nawet do 2 tyg. po jego odstawieniu. U zdrowych osobników i alkoholików bez AChW dysfunkcja ma charakter przejściowy [6].

Udział endotoksemii w patogeniezie AChW przedstawiono na rycinach 1 i 2.

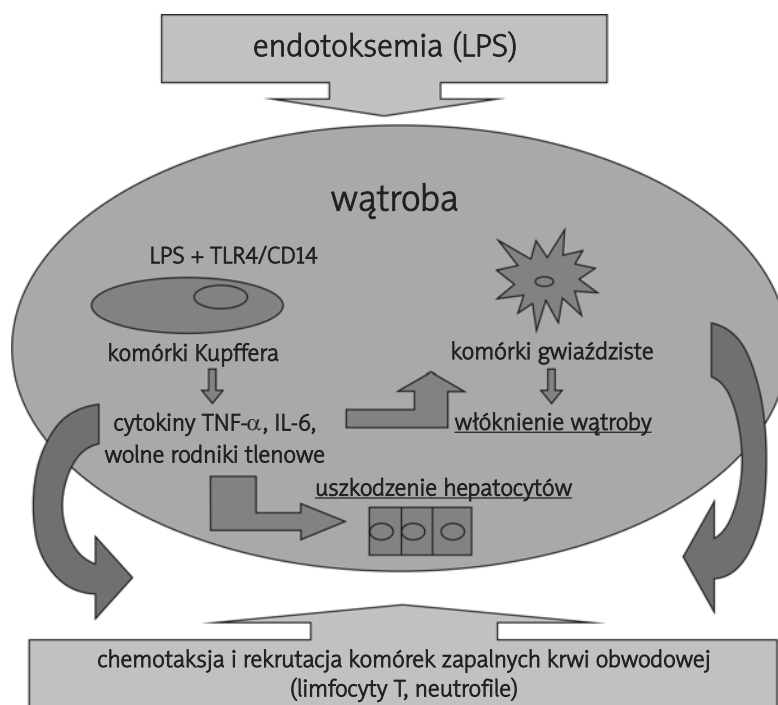
### Mechanizm uszkodzenia bariery jelitowej przez aldehyd octowy

Mikroflora jelit odgrywa istotną rolę w powstawaniu i akumulacji aldehydu octowego w świetle okrężnicy. Z obserwacji uzyskanych w warunkach doświadczalnych wynika, że sam etanol prawdopodobnie bezpośrednio negatywnie nie wpływa na barierę jelitową. W warunkach *in vitro* do upośledzenia bariery jelitowej było potrzebne jego stężenie ponad 1% [4]. Tak duże stężenie alkoholu nie zdarza się w dystalnym odcinku przewodu pokarmowego, nawet u alkoholików.

Wyniki badań sugerują, że kluczową rolę w zaburzeniach bariery jelitowej odgrywa aldehyd octowy. Dysfunkcję taką wykazano w błonie śluzowej okrężnicy ludzkiej [15]. Wydaje się, że rozkład etanolu do aldehydu octowego w obrębie światła jelita grubego jest niezbędnym warunkiem do przerwania bariery jelitowej. Głównym źródłem aldehydu octowego w tym obszarze są przemiany metaboliczne generowane przy udziale dehydrogenazy bakterii jelitowych, mimo że komórki nabłonka jelitowego również wykazują ekspresję tego enzymu [4, 16]. Do akumulacji acetaldehydu w świetle jelit dochodzi w wyniku niewielkiej zdolności jego dal-



Ryc. 1. Udział indukowanej etanolem endotoksemii w rozwoju alkoholowej choroby wątroby  
 Fig. 1. Impact of ethanol-induced endotoxemia on the development of alcoholic liver disease



Ryc. 2. Endotoksemia a kaskada zapalna w alkoholowej chorobie wątroby  
 Fig. 2. Endotoxemia and the inflammatory cascade in alcoholic liver disease

szego rozkładu do kwasu octowego przez mikroflorę przewodu pokarmowego. Zastosowanie antybiotyku częściowo zmniejsza stężenie jelitowego acetaldehydu, co potwierdza rolę mikroflory jelitowej w wytwarzaniu tego związku w świetle przewodu pokarmowego. Dwu-nastodniowa antybiotykoterapia redukowała przepuszczalność bariery jelitowej wyindukowaną u szczurów etanolem. Równolegle obserwowano zmniejszenie endotoksemii [17].

## Molekularny mechanizm dysfunkcji bariery jelitowej

Molekularny mechanizm uszkodzenia bariery jelitowej przez aldehyd octowy jest złożony. Przerwaniu ulegają ścisłe łąca komórkowe (*tight junctions* – TJ) oraz połączenia przylegające (*adherens junctions* – AJ). Każdy typ połączeń ma specyficzne komponenty białkowe. Należą do nich białka przezbłonowe: typowe dla połączeń ścisłych (TJ) – okludyna, kładyna; typowe dla połączeń przylegających (AJ) – kadheryna oraz tzw. białka peryferyjne reprezentowane przez białka strefy zamykającej (*zonula occludens-1*, czyli ZO-1, głównie w ścisłych łącach komórkowych TJ); oraz kateniny (w połączeniach przylegających, AJ). Ta ostatnia grupa białek peryferyjnych pozostaje w związku z mikrofilamentami aktynowymi cytoszkieletu komórki [18, 19].

Łąca komórkowe to wyspecjalizowane kompleksy połączeń międzykomórkowych, które tworzą barierę dla dyfuzji makromolekuł, natomiast AJ są zlokalizowane poniżej TJ i nie stanowią fizycznej bariery dla dyfuzji makromolekuł. Połączenia przylegające w sposób pośredni regulują integralność TJ i dlatego wpływają na funkcję bariery nabłonka. Zarówno TJ, jak i AJ są regulowane poprzez transdukcję sygnałów wewnątrzkomórkowych. Aldehyd octowy zmniejsza aktywność fosfatazy tyrozynowej i zwiększa fosforylację tyrozyny w połączeniach TJ i AJ. Prowadzi to do dysocjacji białek od cytoszkieletu aktynowego oraz redystrybucji E-kadheryny i  $\beta$ -kateniny w połączeniach międzykomórkowych i w pierwszym rzędzie zaburza integralność AJ. Zmiany te prawdopodobnie stanowią sygnał do przerwania TJ. Dezintegrację połączeń TJ i AJ pod wpływem aldehydu octowego w biopunktatach błony śluzowej jelita grubego ludzi opisali Basuroy i wsp. [15].

Alkohol może zwiększać przepuszczalność jelitową również poprzez nasilenie ekspresji indukowanej syntazy tlenu azotu (*inducible nitric oxide synthase* – iNOS). W badaniach na ludzkich liniach komórkowych Caco-2 stwierdzono wzmożoną syntezę tlenu azotu (NO) oraz wolnego rodnika nadtlenkowego [6, 20]. Towarzyszył temu zwiększony stopień nitrowania i utleniania tubuliny oraz uszkodzenie mikrotubul cytoszkieletu komórek. Wyniki badań sugerują, że NO i wolny rodnik nad-

tlenkowy, wytwarzane po ekspozycji na etanol, mogą reagować ze sobą i tworzyć anion nadtlenuazotynu (ONOO<sup>-</sup>), który ostatecznie upośledza funkcję bariery jelitowej. Podanie inhibitora iNOS lub zmiatacza wolnych rodników (L-cysteina) zmniejszało uszkodzenia generowane alkoholem [6].

## Profilaktyka zaburzeń bariery śluzówkowej po ekspozycji na etanol

W badaniach doświadczalnych zidentyfikowano kilka czynników, które zapobiegają uszkodzeniom bariery jelitowej przez alkohol i budzą nadzieję na możliwość potencjalnego ich wykorzystania w strategii terapeutycznej AChW. Należą do nich: epidermalny czynnik wzrostu (*epidermal growth factor* – EGF), L-glutamina, płatki owsiane, cynk i probiotyki.

Epidermalny czynnik wzrostu uwalniany w ślinie i innych wydzielinach przewodu pokarmowego chroni integralność błony śluzowej. Wykazano, że EGF zapobiega uszkodzeniom TJ pod wpływem acetaldehydu poprzez stabilizację cytoszkieletu aktynowego oraz przeciwdziałanie dysocjacji białek TJ i AJ za pośrednictwem supresji aktywności enzymu iNOS [21].

L-glutamina stanowi podstawowy składnik odżywczy dla wzrostu i różnicowania się komórek nabłonka jelit. Jej ochronne działanie wynika z przeciwdziałania redystrybucji białek (okludyny, ZO-1, E-kadheryny,  $\beta$ -kateniny) połączeń międzykomórkowych pod wpływem aldehydu octowego. Efekt ten L-glutamina wywiera za pośrednictwem receptora EGF. Ochronne działanie tego związku wykazano również w błonie śluzowej jelita grubego ludzi [15, 22].

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały również, że suplementacja cynku oraz podaż płatków owsianych redukuje uszkodzenie wątroby w połączeniu ze zmniejszeniem wyindukowanej etanolem przepuszczalności bariery jelitowej i endotoksemii [4, 6, 23]. Mechanizm działania powyższych czynników pozostaje w sferze badań.

Ochronną rolę probiotyków (*Lactobacillus* GG, *Bifidobacteria*) zaobserwowano w alkoholowym uszkodzeniu wątroby w modelu zwierzęcym. Mechanizm tego działania może wiązać się z hamowaniem przez probiotyki wzrostu bakterii jelitowych, co wtórnie przeciwdziała destrukcji bariery jelitowej i endotoksemii. Stwierdzono ponadto, że *Lactobacillus rhamnosus* GG ma zdolność metabolizowania aldehydu octowego do kwasu octowego. Probiotyki mogą więc zmniejszać ilość toksycznego dla nabłonka jelitowego aldehydu octowego dwutorowo: 1) poprzez redukcję źródła jego wytwarzania (bakterii jelitowych) oraz 2) poprzez metabolizowanie aldehydu octowego do kwasu octowego. Doniesienia te wymagają potwierdzenia w kolejnych badaniach [4, 6, 24].

## Rola endotoksemii w patogenezie alkoholowej choroby wątroby

Endotoksemia wywołuje uszkodzenie wątroby poprzez aktywację KC i inicjację ich profibrogennych i prozapalnych efektów [4–6]. Ekspozycja na etanol zwiększa stężenie LPS we krwi wrotnej. W krwiobiegu LPS łączy się z osoczowym białkiem transportującym (*lipopolysaccharide binding protein* – LBP) i docierają do wątroby. Do aktywacji KC dochodzi w wyniku interakcji kompleksu LPS–LBP z receptorami błony komórkowej – powierzchniowym CD14 i przezbłonowym TLR4 [4, 6, 14]. Białko CD14 mające wysokie powinowactwo do endotoksyny pośredniczy w rozpoznaniu LPS przez TLR4. TLR4 jest receptorem zaangażowanym w rozpoznawanie endotoksyn bakterii Gram-ujemnych. W odróżnieniu od białka CD14, TLR4 zawiera przezbłonową domenę sygnałową, która umożliwia transdukcję sygnału i aktywację jądrowego czynnika transkrypcyjnego (*nuclear factor*  $\kappa$ B – NF $\kappa$ B). W następstwie tej sygnalizacji dochodzi do intensywnej syntezy wolnych rodników tlenowych, chemokin i cytokin prozapalnych (głównie TNF- $\alpha$  i TGF- $\beta$ 1) [6, 14]. Rezultatem swoistej identyfikacji LPS przez KC jest rozwój kaskady zapalnej w wątrobie, tzn. wybiórcza aktywacja i gromadzenie komórek układu immunologicznego w celu skutecznego usunięcia obcej cząsteczki. Wydaje się, że przewlekła ekspozycja na etanol – w odróżnieniu od ekspozycji ostrej – zwiększa wrażliwość KC na stymulację LPS i dodatkowo wzmacnia produkcję cytokin prozapalnych. Stwierdzono również zwiększoną ekspresję CD14, co może sprzyjać tym efektom [25].

Aktywowane przez LPS KC, w wyniku zwiększonej syntezy TGF- $\beta$ 1, mogą pośredniczyć w aktywacji i proliferacji komórek gwiaździstych wątroby (*hepatic stellate cells* – HSC) – kluczowego regulatora procesu włóknienia wątroby. Efektem aktywacji HSC jest w dalszej kolejności wzmocniona synteza kolagenu i białek macierzy międzykomórkowej oraz włóknienie wątroby [26].

Stymulowana intensywną produkcją cytokin rekrutacja i napływ do wątroby komórek zapalnych z krążenia obwodowego potęgują uszkodzenie hepatocytów i zwrótnie podtrzymują proces aktywacji HSC. W taki sposób przewlekła konsumpcja alkoholu może prowadzić do marskości wątroby i wszelkich jej negatywnych skutków klinicznych (krwotoki z żyłaków przetyku, encefalopatia wątrobowa, wodobrzusze).

W podsumowaniu należy stwierdzić, że:

- 1) konsumpcja alkoholu prowadzi do przerwania bariery jelitowej oraz endotoksemii – istotnego ogniwa kaskady zapalnej w patogenezie AChW,
- 2) dehydrogenaza bakterii jelitowych jest głównym źródłem syntezy i akumulacji toksycznego dla nabłonka jelit aldehydu octowego w świetle przewodu pokarmowego,
- 3) molekularny mechanizm uszkodzenia bariery jelitowej przez aldehyd octowy opiera się na procesach: fosforylacji i destrukcji TJ i AJ oraz nitrowania i utleniania tubuliny, a w konsekwencji uszkodzenia cytoszkieletu komórek,
- 4) wyniki badań doświadczalnych wskazują, że redukcję endotoksemii w AChW można uzyskać poprzez zastosowanie probiotyków (*Lactobacillus* GG, *Bifidobacteria*), L-glutaminy, EGF, podaż płatków owsianych lub suplementację cynku,
- 5) aktywowane przez LPS KC stanowią istotny element w inicjacji i/lub progresji AChW.

### Piśmiennictwo

1. Vidali M, Stewart SF, Albano E. Interplay between oxidative stress and immunity in the progression of alcohol-mediated liver injury. *Trends Mol Med* 2008; 14: 63-71.
2. Hartleb M, Czech E. Alkoholowa choroba wątroby. *Przegl Gastroenterol* 2007; 2: 92-100.
3. Profilaktyka i rozwiązywanie problemów alkoholowych w samorządach lokalnych. Zestawienia statystyczne. Wydawnictwo Edukacyjne PARPA, Warszawa 2006.
4. Rao R. Endotoxemia and gut barrier dysfunction in alcoholic liver disease. *Hepatology* 2009; 50: 638-44.
5. Schaffert CS, Duryee MJ, Hunter CD, et al. Alcohol metabolites and lipopolysaccharide: roles in the development and/or progression of alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1209-18.
6. Purohit V, Bode JC, Bode C, et al. Alcohol, intestinal bacterial growth, intestinal permeability to endotoxin, and medical consequences: summary of a symposium. *Alcohol* 2008; 42: 349-61.
7. Keshavarzian A, Farhadi A, Forsyth CB, et al. Evidence that chronic alcohol exposure promotes intestinal oxidative stress, intestinal hyperpermeability and endotoxemia prior to development of alcoholic steatohepatitis in rats. *J Hepatol* 2009; 50: 538-47.
8. Lambert JC, Zhou Z, Wang L, et al. Prevention of alteration in intestinal permeability is involved in zinc inhibition of acute ethanol-induced liver damage in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 305: 880-6.
9. Fujimoto M, Uemura M, Nakatani Y, et al. Plasma endotoxin and serum cytokine levels in patients with alcoholic hepatitis: relation to severity of liver disturbance. *Alcohol Clin Exp Res* 2000; 24: 485-545.
10. Parlesak A, Schäfer C, Schütz T, et al. Increased intestinal permeability to macromolecules and endotoxemia in patients with chronic alcohol abuse in different stages of alcohol-induced liver disease. *J Hepatol* 2000; 32: 742-47.
11. Knolle PA, Limmer A. Control of immune responses by scavenger liver endothelial cells. *Swiss Med Wkly* 2003; 133: 501-6.
12. Gao B, Jeong WI, Tian Z. Liver: an organ with predominant innate immunity. *Hepatology* 2008; 47: 729-36.
13. Bode C, Koleyke R, Schäfer K, Bode JC. Breath hydrogen excretion in patients with alcoholic liver disease – evidence of small intestinal bacterial overgrowth. *Z Gastroenterol* 1993; 31: 3-7.



14. Hines IN, Wheeler MD. Recent advances in alcoholic liver disease III. Role of the innate immune response in alcoholic hepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: 310-4.
15. Basuroy S, Sheth P, Mansbach CM, Rao RK. Acetaldehyde disrupts tight junctions and adherens junctions in human colonic mucosa: protection by EGF and L-glutamine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289: G367-75.
16. Salaspuro M. Bacteriocolonial pathway for ethanol oxidation: characteristics and implications. *Ann Med* 1996; 28: 195-200.
17. Ferrier L, Berard F, Debrauwer L, et al. Impairment of the intestinal barrier by ethanol involves enteric microflora and mast cell activation in rodents. *Am J Pathol* 2006; 168: 1148-54.
18. Hartsock AW, Nelson JW. Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1778: 660-9.
19. Miyoshi J, Takai Y. Structural and functional associations of apical junctions with cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1778: 670-91.
20. Tang Y, Forsyth CB, Farhadi A, et al. Nitric oxide-mediated intestinal injury is required for alcohol-induced gut leakiness and liver damage. *Alcohol Clin Exp Res* 2009; 33: 1220-30.
21. Sheth P, Seth A, Thangavel M, et al. Epidermal growth factor prevents acetaldehyde-induced paracellular permeability in Caco-2 cell monolayer. *Alcohol Clin Exp Res* 2004; 28: 797-804.
22. Seth A, Basuroy S, Sheth P, et al. L-Glutamine ameliorates acetaldehyde-induced increase in paracellular permeability in Caco-2 cell monolayer. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G510-7.
23. Tang Y, Forsyth CB, Banan A, et al. Oats supplementation prevents alcohol-induced gut leakiness in rats by preventing alcohol-induced oxidative tissue damage. *J Pharmacol Exp Ther* 2009; 329: 952-8.
24. Forsyth CB, Farhadi A, Jakate SM, et al. Lactobacillus GG treatment ameliorates alcohol-induced intestinal oxidative stress, gut leakiness, and liver injury in a rat model of alcoholic steatohepatitis. *Alcohol* 2009; 43: 163-72.
25. Yin M, Bradford BU, Wheeler MD, et al. Reduced early alcohol-induced liver injury in CD14-deficient mice. *J Immunol* 2001; 166: 4737-42.
26. Kasztelan-Szczerbińska B, Słomka M, Daniluk J i wsp. Komórki gwiaździste jako główny regulator sygnalizacji międzykomórkowej w procesie włóknienia wątroby. *Postępy Nauk Medycznych* 2010; 23: 68-73.