

# THE EFFECT OF THE PRODUCTS OF ETHANOL METABOLISM ON THE LIVER – A REVIEW

## WPŁYW PRODUKTÓW METABOLIZMU ALKOHOLU ETYLOWEGO NA WĄTROBĘ – PRZEGLĄD LITERATURY

Aleksandra Kołota

The Warsaw University of Life Sciences, Faculty of Human Nutrition and Consumer Sciences, Department of Dietetics, Warsaw, Poland

*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Katedra Dietetyki, Warszawa, Polska*

Alcohol Drug Addict 2018; 31 (3): 225-242

DOI: <https://doi.org/10.5114/ain.2018.81664>

### Abstract

The consequences of consuming excessive amounts of alcoholic beverages are currently an important problem for many societies, not only in the context of treatment of alcohol dependence, but also the health effects of alcohol abuse. Long-term consumption of alcoholic beverages is associated with increased risk of hypertension, ischemic heart disease, also mouth and throat, stomach, liver or large intestine cancer. Due to almost 90% of consumed alcohol being broken down in the liver by oxidative pathways, this organ is particularly vulnerable to the effects of alcohol metabolism. The consequences of alcohol metabolism in the liver is the formation of byproducts, namely acetaldehyde and interaction between acetaldehyde and proteins, lipoproteins, DNA, also formation of reactive oxygen species and markers of inflammation, which can intensify immunological and inflammatory reactions and oxidative stress, thus contributing to the damage of hepatocytes,

### Streszczenie

Następstwa spożywania zbyt dużych ilości napojów alkoholowych stanowią obecnie poważny problem wielu społeczeństw, nie tylko w kontekście leczenia uzależnienia od alkoholu, lecz także zdrowotnych skutków jego nadużywania. Długotrwałe spożywanie napojów alkoholowych wiąże się m.in. ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia nadciśnienia tętniczego czy choroby niedokrwiennej serca, ale również nowotworów jamy ustnej, gardła, żołądka, wątroby czy jelita grubego. Z uwagi na to, że niemal 90% spożytego alkoholu ulega w wątrobie przemianom metabolicznym w obecności tlenu, to ten narząd jest najbardziej narażony na uszkodzenia wynikające ze spożywania jego nadmiernych ilości. W trakcie przemian etanolu powstają metabolity, a mianowicie aldehyd octowy, oraz tworzą się połączenia między nim a innymi cząsteczkami, np. białkami, lipoproteinami, DNA. Ponadto powstają duże ilości reaktywnych form tlenu i mediatorów stanu zapalnego, które nasilają reakcje immunologiczno-zapalne oraz stres oksydacyjny, przyczyniając się w ten sposób do

**Correspondence to/**Adres do korespondencji: Aleksandra Kołota, Katedra Dietetyki, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159c, 02-766 Warszawa, phone: +48 22 593 71 26, e-mail: [aleksandra\\_kolota@sggw.pl](mailto:aleksandra_kolota@sggw.pl)

**Authors' contribution/**Wkład pracy autorów: No ghostwriting declared./Nie występuje zjawisko *ghostwriting*.

**Submitted/**Otrzymano: 09.07.2018• **Accepted/**Przyjęto do druku: 18.10.2018

and development of alcoholic liver disease. There are three stages of alcoholic liver disease: alcoholic fatty liver disease, alcoholic hepatitis and alcoholic cirrhosis. The more advanced the disease, the worse the prognosis tends to be and the smaller the chance of recovery. Thus, alcoholic liver disease is a significant public health problem.

**Keywords:** Ethanol, Acetaldehyde, Adducts, Reactive oxygen species, Alcoholic liver disease

uszkodzenia hepatocytów, a następnie do rozwoju alkoholowej choroby wątroby. Wyróżnia się trzy stadia tego schorzenia: stłuszczenie, stan zapalny oraz włóknienie z marskością wątroby, przy czym im bardziej zaawansowane stadium, tym gorsze rokowanie dla pacjenta i mniejsze szanse na powrót do zdrowia. Tym samym alkoholowa choroba wątroby stanowi istotny problem polityki zdrowotnej.

**Słowa kluczowe:** alkohol etylowy, aldehyd octowy, addukty, reaktywne formy tlenu, alkoholowa choroba wątroby

## ■ INTRODUCTION

Ethanol is a psychoactive substance and its biological effects on the organism depend on age, gender [1], genetic factors [2], general health and the comorbidity of various illnesses [3]. The effect of ethanol is detrimental to all the body's systems and organs [4], and its long-term consumption is linked with, amongst other things, an increased risk of hypertension or ischemic heart disease [5] and cancer of the mouth, throat, stomach, liver or large intestine [6]. Due to almost the entire consumed ethanol being metabolised by the liver with the presence of oxygen, this organ is especially exposed to damage from the consumption of excessive amounts of alcoholic beverages. During the course of the oxidation of ethanol, metabolites like acetaldehyde with proteins and reactive oxygen species (ROS) are produced. Excessive quantities of these compounds also damage cellular structures, which then results in damage to tissues and organs [7] and contributes the development of a variety of illnesses above all, alcoholic liver disease (ALD) [8]. Alcohol abuse leads to steatosis, then a state of inflammation and in the end liver cirrhosis, also increasing the risk of the development of liver cancer [9]. It has been estimated that in Poland in 2014, alcoholic liver disease was the cause of 40% of deaths resulting from illnesses of the digestive tract as a whole [10]. The health and social consequences of consuming excessive amounts of alcoholic beverages constitute a significant public health problem today.

## ■ WPROWADZENIE

Etanol jest substancją o działaniu psychoaktywnym, a jego biologiczne oddziaływanie na organizm zależy m.in. od wieku, płci [1], czynników genetycznych [2], ogólnego stanu zdrowia czy współwystępowania różnych schorzeń [3]. Etanol wpływa niekorzystnie na wszystkie układy i narządy organizmu [4], a jego długotrwałe spożywanie wiąże się m.in. ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia nadciśnienia tętniczego czy choroby niedokrwiennej serca [5], a także nowotworów jamy ustnej, gardła, żołądka, wątroby czy jelita grubego [6]. Z uwagi na to, że prawie cała ilość spożytego alkoholu etylowego ulega w wątrobie przemianom metabolicznym w obecności tlenu, ten narząd w największym stopniu jest narażony na uszkodzenia wynikające ze spożywania nadmiernych ilości napojów alkoholowych. W toku przemian oksydacyjnych alkoholu etylowego w organizmie powstają metabolity, np. połączenia aldehydu octowego z białkami oraz reaktywne formy tlenu (RFT). Nadmierne ilości tych związków również uszkadzają struktury komórkowe, co z kolei powoduje uszkodzenia tkanek i narządów [7] i przyczynia się do rozwoju różnych schorzeń, przede wszystkim alkoholowej choroby wątroby (ALD) [8]. Nadużywanie alkoholu prowadzi do stłuszczenia, następnie stanu zapalnego, a na końcu do marskości wątroby, zwiększając także ryzyko rozwoju raka wątroby [9]. Szacuje się, że w Polsce w 2014 roku alkoholowa choroba wątroby była przyczyną prawie 40% zgonów z powodu chorób układu pokarmowego ogółem [10]. Zdrowotne oraz społeczne następstwa spożywania nadmiernych ilości napojów alkoholowych stanowią istotny problem zdrowia publicznego.

The aim of the study was the characterisation, based on the available literature, of the effect on the organism of the byproducts of ethanol oxidation, and thus explaining the mechanisms leading to damage of liver parenchyma, the result of which is the development of alcoholic liver disease.

## ■ REVIEW OF LITERATURE

### Metabolism of ethanol

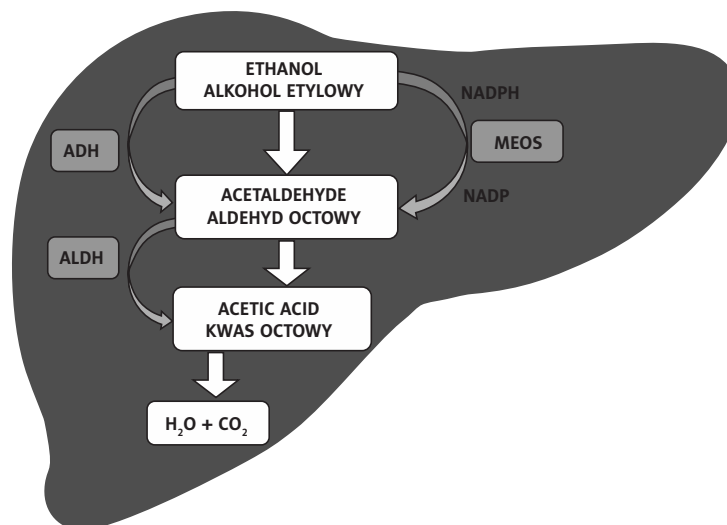
The metabolism of ethanol takes place along three enzyme pathways located in various organelles: in cytosol mainly hepatocytes through the action of alcohol dehydrogenase (ADH), in the endoplasmic reticulum through the action of the microsomal ethanol oxidising system (MEOS) associated with cytochrome P450, and in the peroxisomes by the action of the catalase present therein [11]. The mechanisms by which each of these systems operate are different but all contribute to the creation of acetaldehyde, a compound that is far more toxic than ethanol [12]. The next stage involves aldehyde dehydrogenase, which catalyses the oxidation of acetaldehyde into acetic acid, and is then released from the liver into the blood and transported to peripheral tissues, where it is finally metabolised into water and CO<sub>2</sub> [13] (Figure 1).

Celem pracy była charakterystyka, na podstawie dostępnego piśmiennictwa, oddziaływania na organizm produktów powstających w trakcie oksydacyjnych przemian etanolu, a tym samym wyjaśnienie mechanizmów prowadzących do uszkodzenia mięszu wątroby, którego konsekwencją jest rozwój alkoholowej choroby wątroby.

## ■ PRZEGLĄD LITERATURY

### Metabolizm alkoholu etylowego w organizmie

Przemiany metaboliczne etanolu zachodzą przy udziale trzech szlaków enzymatycznych zlokalizowanych w różnych organellach komórkowych: w cytosolu głównie hepatocytów poprzez działanie dehydrogenazy alkoholowej (ADH), w retikulum endoplazmatycznym poprzez działanie mikrosomalnego systemu utleniania etanolu (MEOS) związanego z cytochromem P450 oraz w peroksysoinach poprzez działanie obecnej tam katalazy [11]. Mechanizm działania każdego z tych układów jest inny, ale wszystkie prowadzą do powstania aldehydu octowego, związku o dużo większej toksyczności niż etanol [12]. W kolejnym etapie uczestniczy dehydrogenaza aldehydowa, która katalizuje utlenianie aldehydu octowego do kwasu octowego, a ten jest następnie uwalniany z wątroby do krwi i transportowany do tkanek obwodowych, gdzie ostatecznie ulega przekształceniu do wody i CO<sub>2</sub> [13] (ryc. 1).



**Figure 1.** The pathway of ethanol metabolism in the liver – ADH and the MEOS system, see List of abbreviations  
Rycina 1. Przemiany metaboliczne etanolu w wątrobie z udziałem ADH i systemu MEOS, patrz Wykaz skrótów

Alcohol dehydrogenase is a key enzyme in the metabolism of ethanol when alcohol consumption is moderate. However, long-term alcohol consumption leads to adaptive mechanisms taking place in the liver. There is a proliferation of endoplasmic reticulum in hepatocytes and activation in the process of ethanol oxidation dependent on enzymes located in microsomes or vesicles of the endoplasmic reticulum [14]. This is how the MEOS is established, of which the basic component is the cytochrome P450 molecule consisting of several isoenzymes, including: cytochrome P450 1A2, 2E1, 2A6 and 3A4, while cytochrome P450 2E1 is the most important for ethanol metabolism [7]. Apart from the oxidative pathways that play a basic role in the detoxification of ethanol, its elimination may also take place in anaerobic conditions [15]. However, this form of detoxification is of minor importance as it is only responsible for 0.1% of ethanol metabolism [16].

### The effect of acetaldehyde

The effect of ethanol metabolism with alcohol dehydrogenase, the MEOS system and catalase is the production of acetaldehyde. This compound also exists naturally in alcoholic beverages, where it is produced by yeast, acetic acid bacteria and also as a result of auto-oxidation of ethanol and phenol compounds present in those beverages [17]. The content of acetaldehyde in alcoholic beverages differs, with there being much less in beer than wine or spirits [18]. Acetaldehyde is an active metabolite of highly toxic properties demonstrating mainly pharmacological and behavioural effects [19]. It may enhance the sedative or stimulating effects of ethanol depending on its concentration in the blood [20]. In the opinion of certain researchers, acetaldehyde, like ethanol, may have a psychoactive effect, perhaps through the enhancement of the action of ethanol, to encourage the abuse of alcohol, though the mechanisms at the basis of this phenomenon are still unclear [21].

Acetaldehyde alters the liver homeostasis of lipids, contributing to their accumulation in the organ and also activates Kupffer's cells, which increases the production of free radicals and proinflammatory cytokines [8]. It can also be stated that acetaldehyde medi-

Przy umiarkowanym spożywaniu alkoholu kluczowym enzymem uczestniczącym w jego przekształcaniu jest dehydrogenaza alkoholowa, jednakże długotrwałe spożywanie alkoholu prowadzi do wytworzenia w wątrobie mechanizmów adaptacyjnych. W hepatocytach następuje proliferacja gładkiego retikulum endoplazmatycznego i aktywacja procesu utleniania etanolu zależnego od enzymów zlokalizowanych w mikrosomach lub pęcherzykach retikulum endoplazmatycznego [14]. W ten sposób powstaje mikrosomalny system utleniania etanolu (MEOS), którego podstawowym komponentem jest cząsteczka cytochromu P450 składająca się z kilku izoenzymów, m.in. cytochromu P450 1A2, 2E1, 2A6 oraz 3A4, przy czym dla metabolizmu etanolu najistotniejszy jest cytochrom P450 2E1 [7]. Oprócz szlaków oksydacyjnych odgrywających podstawową rolę w detoksykacji alkoholu etylowego, jego eliminacja może również zachodzić w warunkach beztlenowych [15]. Ten sposób detoksykacji ma jednak niewielkie znaczenie, gdyż odpowiada jedynie za 0,1% przemian etanolu [16].

### Oddziaływanie aldehydu octowego

Efektom przemian metabolicznych etanolu z udziałem dehydrogenazy alkoholowej, systemu MEOS oraz katalazy jest wytworzenie aldehydu octowego. Związek ten występuje także naturalnie w napojach alkoholowych, w których jest produkowany przez drożdże i bakterie kwasu octowego, a także w wyniku autoutleniania etanolu i związków fenolowych obecnych w tych napojach [17]. Zawartość aldehydu octowego w napojach alkoholowych jest zróżnicowana, przy czym w piwie jest go znacznie mniej niż w winie czy napojach spirytusowych [18]. Aldehyd octowy jest aktywnym metabolitem o silnych właściwościach toksycznych, wykazującym głównie działanie farmakologiczne i behawioralne [19]. Może wzmacniać uspokajające lub pobudzające działanie alkoholu etylowego, w zależności od jego stężenia we krwi [20]. W opinii niektórych badaczy aldehyd octowy, wykazując – podobnie jak alkohol etylowy – działanie psychoaktywne, może poprzez wzmacnianie działania etanolu sprzyjać nadużywaniu napojów alkoholowych, jednak mechanizmy leżące u podstaw tego zjawiska nadal pozostają niejasne [21].

Aldehyd octowy zmienia w wątrobie homeostazę lipidów, przyczyniając się do ich akumulacji w tym narządzie, jak również aktywuje komórki Kupffera, co zwiększa produkcję wolnych rodników



ates in the detrimental effect of ethanol on the liver as it forms adducts with various molecules that impair the functioning of many key proteins and enzymes in the liver, causing the occurrence and intensification of oxidative stress and inflammatory state and through the damaging of DNA encourage carcinogenic processes [22].

#### Effect on the liver of acetaldehyde adducts with other molecules

The toxicity of acetaldehyde partly results from its capacity to create covalent bonds with enzymes and other proteins like albumin, collagen, tubulin, haemoglobin and also DNA and lipoproteins [23]. The arising in this way compounds, so called adducts display a different structure and properties [7]. According to Clot *et al.* [24], acetaldehyde may create adducts also in reaction with cytochrome CYP2E1 enzymes and radicals arising in the course of ethanol metabolism. On the other hand, Niemelä *et al.* [25] observed that CYP2E1 expression was positively correlated with the amount of acetaldehyde adducts with proteins in rat livers that received 35% ethanol solution and a high-fat diet. These adducts may handicap the functioning of proteins taking part in immune response and cause inflammatory and immune reactions that are partially responsible for liver damage and also stimulate the processes of liver fibrosis. At the initial stage of alcoholic liver disease (ALD), adducts are present in those areas of the liver parenchyma that show the first symptoms of damage [19]. This is confirmed by Niemelä *et al.* [26], who demonstrated that samples taken in liver parenchyma biopsy of persons drinking excessive amounts of alcohol contain acetaldehyde adducts with proteins not present in healthy persons hepatocytes. The same authors also observed that both in the study with alcoholic liver disease (ALD) patients and in the animal model of this disease, the amount of acetaldehyde adducts with proteins present in the liver increases with the onset of the disease [27].

Acetaldehyde also forms compounds with tubulin, a component of the cell structures called microtubule, which give the cell shape and regulate the transport of proteins in the cell. These adducts disrupt microtubule function, which leads to

i cytokin prozapalnych [8]. Można także stwierdzić, że aldehyd octowy pośredniczy w niekorzystnym oddziaływaniu etanolu na wątrobę, tworzy bowiem addukty z różnymi cząsteczkami, które upośledzają w wątrobie funkcjonowanie wielu kluczowych białek i enzymów, przyczyniając się do powstawania i nasilania stresu oksydacyjnego oraz stanu zapalnego, a poprzez uszkodzanie DNA sprzyjają procesom karcinogenezy [22].

#### Oddziaływanie na wątrobę adduktów aldehydu octowego z innymi cząsteczkami

Toksyczność aldehydu octowego wynika częściowo z jego zdolności do tworzenia wiązań kowalencyjnych z enzymami i innymi białkami, np. albuminą, kolagenem, tubuliną, hemoglobina, a także DNA i lipoproteinami [23]. Powstałe w ten sposób związki, tzw. addukty, charakteryzują się odmienną strukturą i właściwościami [7]. Według Clot i wsp. [24] aldehyd octowy może tworzyć addukty także w reakcji z enzymami cytochromu CYP2E1 i rodnikami powstającymi w toku przemian etanolu. Natomiast w doświadczeniu Niemelä i wsp. [25] zaobserwowano, że ekspresja CYP2E1 była dodatnio skorelowana z ilością adduktów aldehydu octowego z białkami w wątrobie szczurów, którym podawano 35-procentowy roztwór etanolu i dietę wysokotłuszczową. Addukty mogą upośledzać funkcjonowanie białek biorących udział w odpowiedzi immunologicznej i wywoływać reakcje zapalno-immunologiczne, które częściowo odpowiadają za uszkodzenia wątroby, a także stymulować procesy włóknienia wątroby. W początkowym stadium alkoholowej choroby wątroby (ALD) addukty są obecne w tych obszarach mięszu wątroby, które wykazują pierwsze oznaki uszkodzenia [19]. Potwierdziło to doświadczenie przeprowadzone przez Niemelä i wsp. [26], którzy wykazali, że w pobranych w trakcie biopsji próbkach mięszu wątroby osób spożywających nadmierne ilości alkoholu występują addukty aldehydu octowego z białkami, natomiast w hepatocytach osób zdrowych nie odnotowano ich obecności. Ci sami autorzy zaobserwowali także, że zarówno w badaniu przeprowadzonym z udziałem pacjentów z ALD, jak i w zwierzęcym modelu tego schorzenia ilość adduktów aldehydu octowego z białkami obecnych w wątrobie zwiększa się wraz z progresją choroby [27].

Aldehyd octowy tworzy również połączenia z tubuliną, będącą składnikiem struktur komórkowych zwanych mikrotubulami, które nadają kształt

deregulation of the protein transport pathway in the liver and structural changes of hepatocytes and as a result to damage of liver parenchyma structure [23].

The appearance of acetaldehyde adducts with proteins in the liver not only disrupt their functioning but also intensify the immune response, resulting in a significant increase in the production of IgG, IgM and IgA antibodies directed against these adducts. Further adduct creation intensifies the process of creating antibodies as well as the inflammation and oxidative stress, which causes hepatocyte necrosis and deepens the process of liver fibrosis [22]. An example might be the occurrence of acetaldehyde adducts with plasma albumin [28] or erythrocytes [29], which may be employed as markers of excessive alcohol consumption. The quantitative marking of adducts with collagen may also reflect the degree of liver damage though these adducts may lead to damage to that organ [30]. According to Latval *et al.* [31] quantitative adduct marking as biological markers of alcohol abuse seemed promising, but there was a problem with the lack of sensitive and specific marking methods. At the same time, the authors indicate that the basis of new diagnostic tests could be acetaldehyde adducts with lipoproteins, and the most effective in the identification of acetaldehyde adducts *in vivo* are antibodies to counter the combination of acetaldehyde with very low density lipoproteins (VLDL) [31].

It is worth mentioning that acetaldehyde adducts with proteins are present not only in the liver but in other tissues and organs like the heart, brain, intestines or muscles, intensifying the toxic effects of alcohol in those areas [32].

A further compound type is acetaldehyde adducts with DNA. The carcinogenesis process involves the appearance of mutagenic DNA adducts in proliferating cells and if these are not repaired, they may cause mutation in course of DNA replication, which are then transferred to cells in the course of mitosis [33]. Acetaldehyde creates various kinds of adducts with DNA, and so interferes with DNA replication and induces its damage [12]. It contributes both to pinpoint DNA mutation and changes to chromosomes, and also hampers the natural process of damaged DNA repair by blocking the activity of methylguanine methyltransferase,

komórkom i warunkują transport białek w komórce. Tworzenie tych adduktów zaburza funkcję mikrotubul, co prowadzi do deregulacji szlaku transportu białka w wątrobie oraz zmian strukturalnych hepatocytów, a w konsekwencji do uszkodzenia struktury mięszu narządu [23].

Powstawanie w wątrobie adduktów aldehydu octowego z białkami nie tylko upośledza ich funkcjonowanie, lecz także nasila odpowiedź immunologiczną, dochodzi bowiem do znacznego wzrostu produkcji przeciwciał IgG, IgM i IgA skierowanych przeciwko tym adduktom. Dalsze tworzenie adduktów nasila proces wytwarzania przeciwciał oraz stan zapalny i stres oksydacyjny, co powoduje martwicę hepatocytów i tym samym pogłębia proces włóknienia wątroby [22]. Przykładem może być powstawanie adduktów aldehydu octowego z albuminami surowicy [28] czy erytrocytów [29], które mogą być wykorzystywane jako markery nadmiernego spożycia etanolu. Ilościowe oznaczanie adduktów z kolagenem również może odzwierciedlać stopień uszkodzenia wątroby, choć te addukty mogą powodować uszkodzenia tego narządu [30]. Według Latvala i wsp. [31] ilościowe oznaczanie adduktów jako biologicznych markerów nadużywania alkoholu wydawało się obiecujące, problemem okazał się jednak brak czułych i swoistych metod ich oznaczania. Jednocześnie autorzy wskazują, że podstawą dla nowych testów diagnostycznych mogą być addukty acetaldehydu z lipoproteinami, a najbardziej skuteczne w wykrywaniu adduktów acetaldehydu *in vivo* są przeciwciała przeciwko połączeniom acetaldehydu z lipoproteinami o bardzo małej gęstości (VLDL) [31].

Warto dodać, że addukty acetaldehydu z białkami są obecne nie tylko w wątrobie, lecz także w innych tkankach i narządach, a mianowicie w sercu, mózgu, jelitach czy mięśniach, nasilając tym samym toksyczne działanie alkoholu w tych obszarach [32].

Kolejnym rodzajem połączeń są addukty aldehydu octowego z DNA. Proces karcinogenezy polega na powstawaniu mutagennych adduktów DNA w komórkach proliferujących i jeśli nie zostaną one naprawione, mogą powodować mutacje podczas replikacji DNA, które są następnie przekazywane do komórek podczas mitozy [33]. Aldehyd octowy tworzy z DNA różne typy adduktów, tym samym zakłóca replikację DNA i indukuje jego uszkodzenia [12]. Przyczynia się on zarówno do mutacji punktowych DNA, jak i zmian chromosomowych, a także utrudnia naturalny proces naprawy uszkodzeń DNA poprzez blo-

the enzyme responsible for the repair of DNA. Furthermore, acetaldehyde adducts with DNA may cause errors in the replication and/or mutation of genes causing tumours or suppressor genes, which are those that in correct conditions prevent the development of cancer. Acetaldehyde adducts with DNA differ in terms of stability of structure and property. An example of a compound with a stable structure is N<sub>2</sub>-ethyl-2-deoxyguanosine, which is built into new DNA molecules created in replication [34]. Quantitative marking of reduced N<sub>2</sub>-ethyl-2-deoxyguanosine is possible, thanks to which it is a biomarker of DNA damage induced by alcohol [35]. In alcohol abusing persons' DNA separated from leukocytes and granulocytes, a much higher quantity of N<sub>2</sub>-ethyl-2-deoxyguanosine was detected than in the control group [36]. Another example of acetaldehyde adduct with DNA is 1N<sub>2</sub>-propane-2-deoxyguanosine, which generates secondary DNA damage that modifies its replication and at the same time promotes cell apoptosis [37].

#### The effect of reactive oxygen species on the liver

The basis of aerobic cellular respiration taking place in the mitochondria is the breakdown of oxygen, with the complete oxygen breakdown leading to water molecules, while when the breakdown is incomplete, so called reactive oxygen species (ROS) are formed. The most numerous of ROS group are free radicals characterised by an unstable structure, which means that these are highly reactive forms quickly entering into uncontrolled chemical reactions with molecules present in cells [38]. As a result of single electron oxygen breakdown superoxide anion radical is formed and we get hydrogen peroxide in the case of two-electron breakdown and a hydroxyl radical with three electrons. The latter is considered the most reactive and harmful as it may oxidise the majority of biologically important compounds in the body generating further free radical products [39]. Free radicals destroy or damage various cell structures including mitochondria, proteins, DNA and lipids, which leads to disruption of their biological function [40]. Furthermore, these compounds may cause the release of proapoptotic proteins, inducing apoptosis or necrosis [41].

The physiological concentration of ROS is beneficial for the body because, in conditions

kowanie aktywności metylotransferazy metyloguaninowej – enzymu zaangażowanego w naprawę DNA. Ponadto addukty acetaldehydu z DNA mogą powodować błędy w replikacji i/lub mutacji genów powodujących nowotwory lub genów supresorowych, czyli takich, które w prawidłowych warunkach zapobiegają rozwojowi nowotworów. Addukty acetaldehydu z DNA różnią się stabilnością struktury oraz właściwościami. Przykładem związku charakteryzującego się stabilną strukturą jest N<sub>2</sub>-etylo-2-deoksyguanozyna, która jest wbudowywana do nowych cząsteczek DNA powstających podczas replikacji [34]. Możliwe jest ilościowe oznaczanie zredukowanej postaci N<sub>2</sub>-etylo-2-deoksyguanozyny, dzięki czemu stanowi ona biomarker uszkodzenia DNA indukowanego przez alkohol [35]. W DNA wyizolowanym z leukocytów i granulocytów osób nadużywających alkoholu stwierdzono znacznie wyższe ilości N<sub>2</sub>-etylo-2-deoksyguanozyny niż w grupie kontrolnej [36]. Innym przykładem adduktu aldehydu octowego z DNA jest 1N<sub>2</sub>-propano-2-deoksyguanozyna, która generuje wtórne uszkodzenia DNA, modyfikując jego replikację i tym samym promując apoptozę komórki [37].

#### Oddziaływanie reaktywnych form tlenu na wątrobę

Podstawą tlenowego oddychania komórkowego zachodzącego w mitochondriach jest redukcja tlenu, przy czym całkowita redukcja tlenu prowadzi do powstania cząsteczki wody, podczas niepełnej redukcji wytwarzane są tzw. reaktywne formy tlenu (RFT). Najliczniejszą grupę RFT stanowią wolne rodniki, charakteryzujące się niestabilną strukturą, co powoduje, że są to formy bardzo reaktywne, szybko wchodzące w dowolne reakcje chemiczne z cząsteczkami obecnymi w komórkach [38]. W wyniku jednoelektronowej redukcji tlenu powstaje anionorodnik ponadtlenkowy, dwuelektronowej – nadtlenek wodoru, a trzelektronowej – rodnik hydroksylowy. Ten ostatni jest uznawany za najbardziej reaktywny i szkodliwy, gdyż może utleniać większość biologicznie ważnych związków w organizmie, generując przy tym powstawanie kolejnych produktów wolnorodnikowych [39]. Wolne rodniki niszczą lub uszkadzają rozmaite struktury komórkowe, m.in. mitochondria, białka, DNA i lipidy, co prowadzi do zaburzeń ich funkcji biologicznej [40]. Ponadto związki te mogą powodować uwalnianie proapoptotycznych białek indukujących apoptozę lub nekrozę [41].

Fizjologiczne stężenie RFT jest dla organizmu korzystne, w warunkach homeostazy pełni one



of homeostasis, they fulfil the role of regulators and mediators of a range of metabolic processes and, among others, take part in the activation of the cytochrome P450, signalling between and inside cellular and induce cell growth and differentiation [42]. It is estimated that around 3% of oxygen used in the respiratory chain is broken down into ROS and though these are small amounts, the mitochondrial respiratory chain makes up the main source of ROS in the organism, these may also arise in other organelles, e.g. in the peroxisomes [42]. Another source of ROS is also the activity of various kinds of non-phagocytic cells, e.g. fibroblasts, myocytes and smooth muscle cells or endothelial cells. For the purpose of the intracellular signal cascade regulation these cells generate free radicals with the participation of the oxidase NADPH [43]. A significant role in the production of ROS is played by immune cells (phagocytes) like macrophages, neutrophils and monocytes, the activity of which is induced by the presence of pathogen in the body. Mediators like proinflammatory cytokines activate NADPH oxidase complexes located in these cells that generate the creation of significant amounts of ROS taking part in the cell's defences [39, 44]. In order to ensure optimal immune response, T lymphocytes take advantage of free radicals to protect against infection or inflammatory factors [45].

The speed of ethanol and acetaldehyde oxidation depends on the supply of oxygen and the cell's requirement for adenosine-5-triphosphate (ATP), so an insufficient amount of one of these two factors results in a reduction of the transport of electrons in the respiratory chain so that the process slows down. The consequences are that first ethanol and acetaldehyde are metabolised less effectively and second, electrons transported in the respiratory chain are directed to the production of ROS [46]. ROS are also created by various oxidising enzymes like xanthine oxidase, aldehyde oxidase, monoamine oxidase, cyclooxygenase or the NADPH oxidase complex [47]. In the course of processing ethanol into acetaldehyde, excessive amounts of NADH are produced, which leads to a rise in the synthesis of xanthine oxidase taking part in the oxidation of acetaldehyde [48]. Laboratory animal studies showed that substances causing slowing of xanthine oxidase prevent oxidation liver damage caused by long-term alcohol con-

bowiem funkcję regulatorów i mediatorów szeregu procesów metabolicznych, m.in. biorą udział w aktywacji cytochromu P450, sygnalizacji między- i wewnątrzkomórkowej, indukują wzrost i różnicowanie komórek [42]. Szacuje się, że około 3% tlenu zużywanego w łańcuchu oddechowym ulega konwersji do RFT i choć są to niewielkie ilości, to mitochondrialny łańcuch oddechowy stanowi główne źródło RFT w organizmie, mogą one również powstawać w innych organellach komórkowych, np. peroksysomach [42]. Źródłem RFT jest także aktywność różnego rodzaju komórek niefagocytujących, np. fibroblastów, miocytów, komórek mięśni gładkich czy komórek śródbłonna. W celu regulacji wewnątrzkomórkowej kaskady sygnałowej te komórki, przy udziale oksydazy NADPH, wytwarzają wolne rodniki [43]. Znaczącą rolę w produkowaniu RFT odgrywają komórki odpornościowe (fagocytujące), a mianowicie makrofagi, neutrofile i monocyty, których aktywność jest indukowana obecnością patogenu w organizmie. Mediatory, takie jak cytokiny prozapalne, aktywują zlokalizowany w tych komórkach kompleks oksydazy NADPH, który generuje powstawanie znacznych ilości RFT biorących udział w obronie komórki [39, 44]. W zapewnieniu optymalnej odpowiedzi immunologicznej limfocyty T wykorzystują wolne rodniki do ochrony przed czynnikami infekcyjnymi i zapalnymi [45].

Szybkość utleniania etanolu i aldehydu octowego zależy od podaży tlenu i zapotrzebowania komórki na adenosyno-5-trifosforan (ATP), dlatego niewystarczająca ilość jednego z tych dwóch czynników powoduje zmniejszenie transportu elektronów w łańcuchu oddechowym, a tym samym proces ten ulega zahamowaniu. W konsekwencji, po pierwsze etanol i aldehyd octowy są metabolizowane w sposób nieefektywny, a po drugie – elektrony transportowane w łańcuchu oddechowym są kierowane do produkcji RFT [46]. RFT są również wytwarzane przez różne enzymy utleniające, takie jak oksydaza ksantynowa, oksydaza aldehydowa, monoaminooksydazy, cyklooksygenazy czy kompleks oksydazy NADPH [47]. W trakcie przemian etanolu do aldehydu octowego wytwarzane są nadmierne ilości NADH, co prowadzi do wzrostu syntezy oksydazy ksantynowej uczestniczącej w utlenianiu acetaldehydu [48]. Badania prowadzone na zwierzętach laboratoryjnych wykazały, że podawanie substancji hamujących aktywność oksydazy ksantynowej zapobiega uszkodzeniom oksydacyjnym



sumption [49]. The over-production of NADH in the course of acetaldehyde metabolism into acetic acid, like that during ethanol into acetaldehyde leads to a disruption of the oxidoreductive balance in liver cells. The metabolic consequences of this over-production is the slowing of oxidation processes in the mitochondria, increase of lactate and free fatty acids synthesis in the liver, and as a result also an increase of triglycerides [40]. Certain quantities of ROS also arise in the liver with the participation of the cytochrome enzyme P450, of which the isoenzyme CYP2E1 plays a particular role [50]. The activation of CYP2E1 is associated with generation of various ROS including the hydroxyethyl radical, hydrogen peroxide, superoxide anion radical, hydroxyl radical and lipid peroxides [51], and their excessive quantities are significant in the occurrence of so called oxidative stress, which leads to liver damage [52]. The disruption of the equilibrium between generated free radicals and the capacity of cells to eliminate them is defined as oxidative stress. This may occur as a result of many exogenous factors like incorrect diet, smoking or drinking [53].

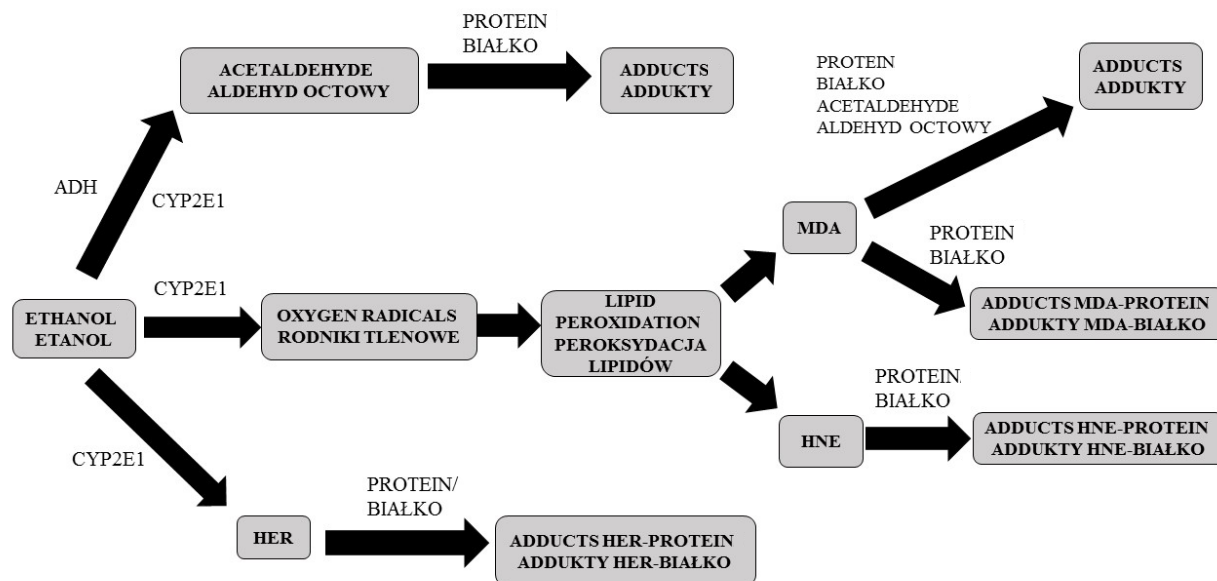
In the course of ethanol oxidation by isoenzyme CYP2E1, an unstable temporary product gem-diol is formed, which then breaks down into acetaldehyde. It is as a result of this reaction that NADPH is oxidised with the creation of hydrogen peroxide [7]. A consequence of the production of the latter is an initiation of the process of unsaturated fatty acid oxidation, that is lipid peroxidation, which leads to the production of lipid peroxides. At the first stage, the free radicals cause a hydrogen atom to break away from cell membrane fatty acids like polyunsaturated acids or acidic residues [54]. Then, alkaloid free radicals enter into a reaction with oxygen forming peroxide radicals that may also break a hydrogen atom off many unsaturated fatty acids. This process, repeated many times, is finishes in a termination reaction between two radicals and the product of these reactions in cell membranes are phospholipid dimers. Further changes of the lipid peroxidation products lead to the appearance of aldehydes and hydroxyaldehydes, including malonic dialdehyde and 4-hydroxynonenal (Figure 2).

Both of these compounds may form adducts with proteins and so induce inflammatory pro-

wątroby spowodowanym przez długotrwałe spożywanie napojów alkoholowych [49]. Nadprodukcja NADH w trakcie przekształcania aldehydu octowego do kwasu octowego, podobnie jak w trakcie przemian etanolu do aldehydu octowego, prowadzi do zaburzenia równowagi oksydoredukcyjnej w komórkach wątroby. Metabolicznymi konsekwencjami tej nadprodukcji jest m.in. hamowanie procesów utleniania w mitochondriach, wzrost syntezy mleczanów i wolnych kwasów tłuszczowych w wątrobie, a tym samym również triglicerydów [40]. Pewne ilości RFT powstają także w wątrobie przy udziale grupy enzymów cytochromu P450, z których izoenzym CYP2E1 odgrywa szczególną rolę [50]. Z aktywacją CYP2E1 wiąże się generowanie różnych rodzajów RFT, m.in. rodnika hydroksyetylowego, nadtlenku wodoru, anionorodnika ponadtlenkowego, rodnika hydroksyloowego, nadtlenków lipidowych [51], a ich nadmiar ma znaczenie w powstawaniu tzw. stresu oksydacyjnego prowadzącego do uszkodzenia wątroby [52]. Zachwianie równowagi między generowaniem wolnych rodników a zdolnością komórek do ich eliminowania definiowane jest jako stres oksydacyjny. Zjawisko to może powstawać w następstwie działania wielu czynników egzogennych, m.in. stosowania nieodpowiedniej diety, palenia papierosów czy spożywania alkoholu [53].

Podczas utleniania etanolu przez izoenzym CYP2E1 powstaje niestabilny produkt przejściowy – gem-diol, który następnie rozkłada się do acetaldehydu. W wyniku tej reakcji utlenieniu ulega NADPH z wytworzeniem nadtlenku wodoru [7]. Konsekwencją produkcji nadtlenku wodoru jest inicjowanie procesów utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych, czyli peroksydacja lipidów, która prowadzi do wytworzenia nadtlenków lipidowych. W pierwszym etapie wolne rodniki powodują oderwanie atomu wodoru od obecnych w błonach komórkowych kwasów wielonienasyconych lub reszt kwasowych [54]. Następnie wolne rodniki alkilowe wchodzi w reakcje z tlenem, tworząc rodniki nadtlenkowe, które również mogą odrywać atomy wodoru od cząsteczek wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Proces ten, wielokrotnie powtarzany, kończy reakcja terminacji między dwoma rodnikami, a produktami tych reakcji w błonach komórkowych są dimery fosfolipidów. Dalsze przemiany produktów peroksydacji lipidów prowadzą do powstania aldehydów i hydroksyaldehydów, m.in. dialdehydu malonowego oraz 4-hydroksynonenalu (ryc. 2).

Oba te związki mogą tworzyć addukty z białkami i w ten sposób indukować procesy zapalne



**Figure 2.** Byproducts of ethanol metabolism [23], see List of abbreviations  
 Rycina 2. Produkty powstające w toku przemian alkoholu etylowego [23], patrz Wykaz skrótów

cesses in liver cells, which contributes to its damage [23]. Furthermore, aldehydes arising in the course of lipid peroxidation may also damage DNA and act in a cytotoxic, mutagenic and carcinogenic manner [55].

The peroxidation of lipids causes a slowing of the action of certain membrane enzymes and transporting proteins and also the modification of the physical properties of cell membranes through changes in their permeability which in consequence leads to loss of the integrity of intracellular membranes and cellular membrane [56]. Studies on chain reactions in chemical systems showed that one initiation of a process of this kind, before the sequence of the reaction is completed, may cause the oxidation and resulting damage of from 200 to 400 lipid molecules [57]. The process of lipid peroxidation described above is of a non-enzymatic character but the oxidation of these compounds also takes place with the participation of enzymes, for example in the arachidonic acid alternating cycle, which stimulates the production of ROS in reactions catalysed by the oxidation of NADPH, lipoxygenase, cyclooxygenase and xanthine oxidase [58].

Free radicals including the hydroxyl radical and hydrogen peroxide initiate the processes of protein oxidation, as result the polypeptide chain being broken and appear the modified amino acid rem-

w komórkach wątroby, co przyczynia się do jej uszkodzenia [23]. Ponadto aldehydy powstające w czasie peroksydacji lipidów mogą także uszkadzać DNA oraz działać cytotoksycznie, mutagenie i karcinogennie [55].

Peroksydacja lipidów powoduje zahamowanie aktywności niektórych enzymów błonowych i białek transportujących oraz modyfikację właściwości fizycznych błon komórkowych poprzez zmianę ich przepuszczalności, co w konsekwencji prowadzi do utraty integralności błon wewnątrzkomórkowych i błony komórkowej [56]. Badania nad reakcjami łańcuchowymi w układzie chemicznym wykazały, że jedna inicjacja takiego procesu, zanim sekwencja reakcji zakończy się, może spowodować utlenienie i w konsekwencji uszkodzenie od 200 do 400 cząsteczek lipidów [57]. Opisany powyżej proces peroksydacji lipidów ma charakter nieenzymatyczny, ale utlenianie tych związków odbywa się również z udziałem enzymów, np. w cyklu przemian kwasu arachidonowego, który stymuluje produkcję RFT w reakcjach katalizowanych przez oksydazy NADPH, lipooksygenazy, cyklooksygenazy i oksydazy ksantynowej [58].

Wolne rodniki, m.in. rodnik hydroksylowy i nadtlenek wodoru, inicjują procesy utleniania białek, w efekcie łańcuch polipeptydowy ulega rozerwaniu, powstają zmodyfikowane reszty aminokwasowe oraz tworzą się dimery. Szczególnym

nants and create dimers. Of particular threat to cells is the oxidation of thiol groups in membranes as this leads to their destabilisation and increased permeability [59]. A consequence of oxidation damage is a loss of biological activity of enzymes, regulatory proteins and membrane transporters which subsequently disrupts cell functioning and may lead to their possible apoptosis [44].

As has already been mentioned, long-term consumption of alcohol contributes to the appearance of oxidative stress in the body. As a result of the ethanol oxidation process, significant quantities of ROS are produced, there is a change of the level of NADH and NADH/NAD<sup>+</sup> in the hepatocytes, and the decreased relation of the oxidised form to the reduced form of this compound leads to the disruption of the oxidant-reduction balance in liver cells [7]. A consequence of the long-term consumption of alcohol is the development of alcoholic liver disease, which is characterised by various degrees of damage to the organ: steatosis, inflammation, fibrosis and cirrhosis [60]. Liver steatosis occurs when there is a disruption of the equilibrium between the synthesis and oxidation of free fatty acids in the hepatocytes. The liver is damaged by free radicals the excessive quantity of which arises as a result of the activity of the MEOS system. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress to the greatest degree contribute to steatohepatitis as a result of the consumption of significant amounts of alcohol [61]. Acetaldehyde and adducts arose between it and proteins (e.g. collagen, tubulin), causing organ damage as a result of stimulating immune response, take part in the development of liver inflammation [22, 23]. Of significant importance are also the free radicals and proinflammatory cytokines produced as a result of the activation of Kupffer's cells and the induction of CYP2E1, which damage hepatocytes [62]. Further stages include fibrosis of the liver parenchyma caused by the replacement of hepatocytes with connective tissue fibres, which disturbs the blood flow through the organ and its proper functioning, and also cirrhosis, the most severe form of alcoholic liver disease, which is a potential threat to life due to hepatic encephalopathy and increased susceptibility to infection [61].

It is also worth adding that the mentioned oxidative stress inducted by the consumption of al-

zagrożeniem dla komórek jest oksydacja grup tiolowych w błonach, gdyż prowadzi to do ich destabilizacji i zwiększonej przepuszczalności [59]. Konsekwencją uszkodzeń oksydacyjnych jest utrata aktywności biologicznej enzymów, białek regulatorowych, transporterów błonowych, a to z kolei zaburza funkcjonowanie komórek i może spowodować ich apoptozę [44].

Jak już wspomniano, przewlekłe spożywanie alkoholu przyczynia się do powstawania stresu oksydacyjnego w organizmie. W wyniku procesów utleniania alkoholu etylowego produkowane są znaczne ilości RFT, następuje zmiana poziomu NADH oraz wskaźnika NADH/NAD<sup>+</sup> w hepatocytach, a zmniejszenie stosunku formy utlenionej do zredukowanej tego związku prowadzi z kolei do zaburzenia równowagi oksydoredukcyjnej w komórkach wątroby [7]. Konsekwencją długotrwałego spożywania alkoholu jest rozwój alkoholowej choroby wątroby, która charakteryzuje się różnymi stopniami uszkodzenia narządu: stłuszczeniem, zapaleniem, zwłóknieniem i marskością [60]. Do stłuszczenia wątroby dochodzi w wyniku zaburzenia równowagi między syntezą a utlenianiem wolnych kwasów tłuszczowych w hepatocytach. Następnie wątroba jest uszkodzana przez wolne rodniki, których nadmierne ilości powstają m.in. w wyniku aktywności układu MEOS. Dysfunkcja mitochondriów i stres oksydacyjny w największym stopniu przyczyniają się do nasilenia stłuszczeniowego zapalenia wątroby w wyniku spożywania znacznych ilości alkoholu [61]. W rozwoju zapalenia wątroby udział ma aldehyd octowy oraz addukty powstałe między nim a białkami (np. kolagenem, tubuliną) powodujące uszkodzenie narządu w wyniku stymulacji odpowiedzi immunologicznej [22, 23]. Istotne znaczenie mają również wytwarzane w wyniku aktywacji komórek Kupffera oraz indukcji CYP2E1 wolne rodniki oraz cytokiny prozapalne, które uszkodzają hepatocyty [62]. W dalszym etapie dochodzi do włóknienia miększu wątroby spowodowanego zastępowaniem hepatocytów włóknami tkanki łącznej, co zaburza przepływ krwi przez narząd i zakłóca jego prawidłowe funkcjonowanie, a marskość, będąca najcięższą postacią alkoholowej choroby wątroby, stanowi potencjalne zagrożenie dla życia z powodu encefalopatii wątrobowej oraz zwiększonej podatności na infekcje [61].

Warto jeszcze dodać, że wspomniany stres oksydacyjny indukowany spożywaniem alkoholu jest związany nie tylko z produkowaniem dużych ilości wolnych rodników w procesach jego metabolizmu,

cohol is related not only to production of the large amounts of free radicals in the process of its metabolism but also a rise in the permeability of the digestive tract barrier to bacterial endotoxins. These enter the bloodstream and end up in the liver, where they activate Kupffer's cells to produce free radicals through the NADPH oxidase complex, leading to inflammation states of the liver [63]. Activation of Kupffer's cells also causes hypoxia probably resulting from the increase of oxygen uptake from blood, which is essential for the metabolism of ethanol in hepatocytes [7].

Long-term consumption of ethanol also changes erythrocyte morphology and significantly increases their average diameter (makrocytosis) and damaging their membrane, which not only contributes to anaemia but also an accumulation of iron in the liver [64]. The synergic activity of ethanol and excess iron play a significant role in the occurrence of oxidative stress as the most toxic compound belonging to ROS, which is the hydroxyl radical, is produced in reactions catalysed by iron ions [65]. The level of cellular iron rises with long-term alcohol consumption, which increases the production of ROS and the occurrence of oxidative stress. Additionally, the abuse of alcohol causes increase in iron absorption from digestion and lab animal studies revealed that alcohol combined with iron dietary supplement intensifies the processes that damage the liver. However, application of agents that uptake free iron may alleviate the toxic effects of alcohol on the liver [40].

## ■ SUMMARY

The metabolism of ethanol in the body generates many harmful products that are responsible for a range of undesirable effects including hepatocyte hypoxia, activation of Kupffer's cells by intestinal bacterial endotoxins, formation of acetal adducts by acetaldehyde, formation of ROS that increase the oxidative stress and inflammation state in the liver. As a consequence, these changes lead to liver damage, namely steatosis and inflammation, and in the advanced stage of ALD, to fibrosis and cirrhosis of the organ as well as liver cancer [7, 8] (Figure 3).

The mechanisms of liver damage resulting from alcohol abuse presented in this work constitute an up-to-date approach to this issue, but

lecz także ze wzrostem przepuszczalności bariery przewodu pokarmowego dla endotoksyn bakteryjnych. Przenikają one do krwiobiegu i dostają się do wątroby, gdzie aktywują komórki Kupffera do produkcji wolnych rodników przez kompleks oksydazy NADPH, co prowadzi do powstania stanów zapalnych w wątrobie [63]. Aktywacja komórek Kupffera powoduje również hipoksję powstającą prawdopodobnie w wyniku zwiększonego wychwytu z krwi tlenu, który jest niezbędny w hepatocytach do metabolizowania etanolu [7].

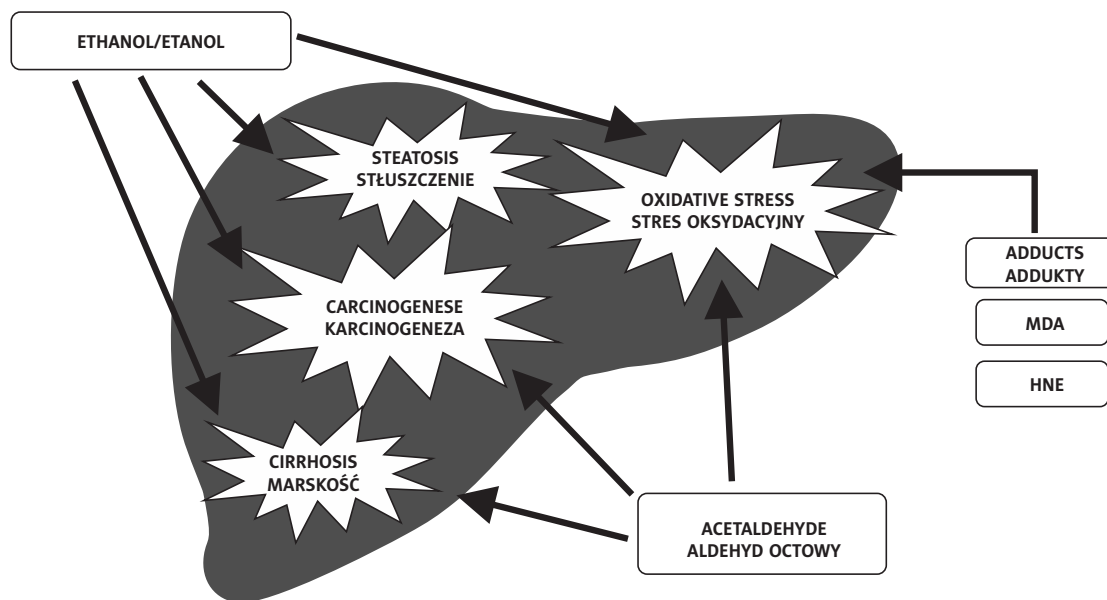
Spożywanie alkoholu etylowego przez długi czas zmienia też morfologię erytrocytów, znacznie zwiększając ich średnią objętość (tzw. makrocytoza) oraz uszkodzając ich błonę, co sprzyja nie tylko powstawaniu niedokrwistości, lecz także gromadzeniu żelaza w wątrobie [64]. Synergistyczne działanie alkoholu etylowego i nadmiaru żelaza odgrywa istotną rolę w powstawaniu stresu oksydacyjnego, gdyż najbardziej toksyczny związek należący do RFT, tj. rodnik hydroksylowy, jest wytwarzany w reakcjach katalizowanych przez jony żelaza [65]. Przy przewlekłym spożywaniu alkoholu wzrasta poziom żelaza w komórkach, co wzmacnia wytwarzanie RFT i powstawanie stresu oksydacyjnego. Dodatkowo nadużywanie alkoholu powoduje zwiększenie wchłaniania żelaza z pożywienia, a badania przeprowadzone na zwierzętach laboratoryjnych wykazały, że podawanie alkoholu połączone z suplementacją diety żelazem nasila procesy uszkodzenia wątroby. Natomiast stosowanie środków wychytujących wolne żelazo może łagodzić toksyczne skutki działania alkoholu na wątrobę [40].

## ■ PODSUMOWANIE

Przemiany alkoholu etylowego w organizmie powodują powstawanie wielu szkodliwych produktów, które są odpowiedzialne za szereg niekorzystnych efektów, m.in. hipoksję hepatocytów, aktywację komórek Kupffera przez endotoksyny bakteryjne pochodzące z jelit, tworzenie adduktów przez aldehyd octowy oraz powstawanie RFT nasilających stres oksydacyjny i stanu zapalnego w wątrobie. W konsekwencji zmiany te prowadzą do uszkodzenia wątroby, a mianowicie stłuszczenia i stanu zapalnego, a w zaawansowanym stadium ALD do włóknienia i marskości narządu, jak również raka wątroby [7, 8] (ryc. 3).

Przedstawione w niniejszej pracy mechanizmy powstawania uszkodzeń wątroby w wyniku naduży-





**Figure 3.** Selected directions of the impact of ethanol and its metabolites on the liver, see List of abbreviations  
**Rycina 3.** Wybrane kierunki oddziaływania alkoholu etylowego i jego metabolitów na wątrobę, patrz Wykaz skrótów

it should be emphasised that in the case of ALD it is not possible to determine the contribution of each etiological factor in the development of this disease, because the toxicity of ethanol metabolites is different, and additionally the course is also affected by comorbidities, including hepatitis B and C, viral infections, antibiotic abuse, toxic metabolites of used medicines, or autoimmune diseases [66]. Knowledge of these mechanisms may help to develop new therapies for patients with alcoholic liver disease by modifying or preventing the formation of adducts, as well as their use in the detection of new biological markers of ethyl alcohol abuse and/or degree of liver damage. There are still no diagnostic tests to diagnose this condition. Despite many years of research on the pathogenesis of alcoholic liver disease, knowledge in this field is still incomplete and justifies further research.

### ■ List of abbreviations:

- ADH alcohol dehydrogenase
- ALD alcoholic liver disease
- ALDH aldehyde dehydrogenase
- ATP adenosine-5-triphosphate
- CYP2E1 cytochrome P450 2E1
- HNE 4-hydroxynonenal
- HER hydroxyethyl radical

wania alkoholu stanowią aktualne ujęcie tego zagadnienia, ale należy podkreślić, że w przypadku ALD nie jest możliwe określenie udziału każdego czynnika etiologicznego w rozwoju tego schorzenia, gdyż toksyczność metabolitów etanolu jest różna, a dodatkowo na jego przebieg mają wpływ także choroby współistniejące, w tym wirusowe zapalenie wątroby typu B i C, infekcje wirusowe, nadużywanie antybiotyków, oddziaływanie toksycznych metabolitów stosowanych leków czy choroby autoimmunologiczne [66]. Znajomość tych mechanizmów może pomóc w opracowywaniu nowych sposobów leczenia pacjentów z alkoholową chorobą wątroby poprzez modyfikację lub zapobieganie powstawaniu adduktów, jak również dzięki ich wykorzystaniu do wykrywania nowych markerów biologicznych nadużywania alkoholu etylowego i/lub stopnia uszkodzenia wątroby. Nadal bowiem brakuje testów diagnostycznych do rozpoznawania tego schorzenia. Pomimo prowadzonych od wielu lat badań nad patogenezą alkoholowej choroby wątroby wiedza z tego zakresu wciąż pozostaje niekompletna i uzasadnia prowadzenie dalszych prac badawczych.

### ■ Wykaz skrótów:

- ADH dehydrogenaza alkoholowa
- ALD alkoholowa choroba wątroby
- ALDH dehydrogenaza aldehydowa

- IgA immunoglobulin A
- IgG immunoglobulin G
- IgM immunoglobulin M
- MDA malondialdehyde
- MEOS microsomal ethanol oxidising system
- NAD<sup>+</sup> nicotinamide adenine dinucleotide (oxidised form)
- NADH nicotinamide adenine dinucleotide (reduced form)
- NADP<sup>+</sup> nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (oxidised form)
- NADPH nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form)
- ROS reactive oxygen species
- VLDL very low density lipoprotein
- ATP adenozy-5'-trifosforan
- CYP2E1 cytochrom P450 2E1
- HNE 4-hydroksynonenal
- HER rodnik hydroksyetylowy
- IgA immunoglobulina A
- IgG immunoglobulina G
- IgM immunoglobulina M
- MDA dialdehyd malonowy
- MEOS mikrosomalny system utleniania etanolu
- NAD<sup>+</sup> dinukleotyd nikotynamidoadeninowy (forma utleniona)
- NADH dinukleotyd nikotynamidoadeninowy (forma zredukowana)
- NADP<sup>+</sup> fosforan dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (forma utleniona)
- NADPH fosforan dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (forma zredukowana)
- RFT reaktywne formy tlenu
- VLDL lipoproteiny o bardzo małej gęstości

#### **Conflict of interest/Konflikt interesów**

None declared./Nie występuje.

#### **Financial support/Finansowanie**

None declared./Nie zadeklarowano.

#### **Ethics/Etyka**

The work described in this article has been carried out in accordance with the Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) on medical research involving human subjects, EU Directive (210/63/EU) on protection of animals used for scientific purposes, Uniform Requirements for manuscripts submitted to biomedical journals and the ethical principles defined in the Farmington Consensus of 1997.

Treści przedstawione w pracy są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej odnoszącymi się do badań z udziałem ludzi, dyrektywami UE dotyczącymi ochrony zwierząt używanych do celów naukowych, ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych oraz z zasadami etycznymi określonymi w Porozumieniu z Farmington w 1997 r.

#### **References/Piśmiennictwo**

1. Guerri C, Pascual M. Mechanisms involved in the neurotoxic, cognitive, and neurobehavioral effects of alcohol consumption during adolescence. *Alcohol* 2010; 44: 15-26.
2. Li TK, Yin SJ, Crabb DW, O'Connor S, Ramchandani VA. Genetic and environmental influences on alcohol metabolism in humans. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25: 136-44.
3. Rigamonti C, Mottaran E, Reale E, Rolla R, Cipriani V, Capelli F, et al. Moderate alcohol consumption increases oxidative stress in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 42-9.
4. World Health Organization. *WHO Global Status Report on Alcohol*. Geneva; 2004.
5. Sesso HD, Cook NR, Buring JE, Manson JE, Gaziano JM. Alcohol consumption and the risk of hypertension in women and men. *Hypertension* 2008; 51: 1080-7.

6. Bagnardi V, Blangiardo M, La Vecchia C, Corrao G. A meta-analysis of alcohol drinking and cancer risk. *Br J Cancer* 2001; 85: 1700-5.
7. Zakhari S. Overview: How is alcohol metabolized by the body? *Alcohol Res Health* 2006; 29: 245-54.
8. Ceni E, Mello T, Galli A. Pathogenesis of alcoholic liver disease: Role of oxidative metabolism. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 17756-72.
9. Schwartz JM, Reinus JF. Prevalence and natural history of alcoholic liver disease. *Clin Liver Dis* 2012; 16: 659-66.
10. Wojtyniak B, Goryński P. *Sytuacja zdrowotna ludności Polski i jej uwarunkowania*. Warszawa: Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny; 2016.
11. Lieber CS. Metabolism of alcohol. *Clin Liver Dis* 2005; 9: 1-35.
12. Seitz HK, Stickel F. Acetaldehyde as an underestimated risk factor for cancer development: role of genetics in ethanol metabolism. *Genes Nutr* 2010; 5: 121-8.
13. Caballería J. Current concepts in alcohol metabolism. *Ann Hepatol* 2003; 2: 60-8.
14. Lieber CS. The discovery of the microsomal ethanol oxidizing system and its physiologic and pathologic role. *Drug Metab Rev* 2004; 36: 511-29.
15. Paton A. Alcohol in the body. *BMJ* 2005; 330: 85-7.
16. Cylwik B, Chrostek L, Szmitkowski M. Nieoksydacyjne metabolity etanolu jako markerzy ostatniego picia alkoholu. *Pol Merk Lek* 2007; 23: 235-8.
17. Liu SQ, Pilone GJ. An overview of formation and roles of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications. *Int J Food Sci Technol* 2000; 35: 49-61.
18. Lachenmeier DW, Sohnius EM. The role of acetaldehyde outside ethanol metabolism in the carcinogenicity of alcoholic beverages: evidence from a large chemical survey. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 2903-11.
19. Quertemont E, Didone V. Role of acetaldehyde in mediating the pharmacological and behavioral effects of alcohol. *Alcohol Res Health* 2006; 29: 258-65.
20. Tambour S, Closon C, Tirelli E, Quertemont E. Effects of cyanamide and acetaldehyde accumulation on the locomotor stimulant and sedative effects of ethanol in mice. *Behav Pharmacol* 2007; 18: 777-84.
21. Quertemont E, Tambour S, Tirelli E. The role of acetaldehyde in the neurobehavioral effects of ethanol: A comprehensive review of animal studies. *Prog Neurobiol* 2005; 75: 247-74.
22. Setshedi M, Wands JR, Monte SM. Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease. *Oxid Med Cell Longev* 2010; 3:178-85.
23. Tuma DJ, Casey CA. Dangerous byproducts of alcohol breakdown: Focus on adducts. *Alcohol Res Health* 2003; 27: 285-90.
24. Clot PE, Albano E, Eliasson M, Tabone M, Aricò S, Israel Y, et al. Cytochrome P4502E1 hydroxyethyl radical adducts as the major antigen in autoantibody formation among alcoholics. *Gastroenterology* 1996; 111: 206-16.
25. Niemelä O, Parkkila S, Pasanen M, Imuro Y, Bradford B, Thurman RG. Early alcoholic liver injury: formation of protein adducts with acetaldehyde and lipid peroxidation products, and expression of CYP2E1 and CYP3A. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 22: 2118-24.
26. Niemelä O, Juvonen T, Parkkila S. Immunohistochemical demonstration of acetaldehyde-modified epitopes in human liver after alcohol consumption. *J Clin Invest* 1991; 87: 1367-74.
27. Niemelä O, Parkkila S, Ylä-Herttua S, Halsted C, Witztum JL, Lanca A, et al. Covalent protein adducts in the liver as a result of ethanol metabolism and lipid peroxidation. *Lab Invest* 1994; 70: 537-46.
28. Romanazzi V, Schilirò T, Carraro E, Gilli G. Immune response to acetaldehyde-human serum albumin adduct among healthy subjects related to alcohol intake. *Environ Toxicol Pharmacol* 2013; 36: 378-83.
29. Niemelä O, Israel Y. Hemoglobin-acetaldehyde adducts in human alcohol abusers. *Lab Invest* 1992; 67: 246-52.

30. Svegliati-Baroni G, Baraona E, Rosman AS, Lieber CS. Collagen-acetaldehyde adducts in alcoholic and nonalcoholic liver diseases. *Hepatology* 1994; 20: 111-8.
31. Latvala J, Melkko J, Parkkila S, Järvi K, Makkonen K, Niemelä O. Assays for acetaldehyde-derived adducts in blood proteins based on antibodies against acetaldehyde/lipo-protein condensates. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25: 1648-53.
32. Niemelä O. Acetaldehyde adducts in circulation. *Novartis Found Symp* 2007; 285: 183-92, discussion 193-7.
33. Balbo S, Brooks PJ. Implications of acetaldehyde-derived DNA adducts for understanding alcohol-related carcinogenesis. *Adv Exp Med Biol* 2015; 815: 71-88.
34. Seitz H, Becker P. Alcohol metabolism and cancer risk. *Alcohol Res Health* 2007; 30: 38-47.
35. Balbo S, Juanes RC, Khariwala S, Baker EJ, Daunais JB, Grant KA. Increased levels of the acetaldehyde-derived DNA adduct N 2-ethyldeoxyguanosine in oral mucosa DNA from Rhesus monkeys exposed to alcohol. *Mutagenesis* 2016; 31: 553-8.
36. Fang JL, Vaca CE. Detection of DNA adducts of acetaldehyde in peripheral white blood cells of alcohol abusers. *Carcinogenesis* 1997; 18: 627-32.
37. Brooks PJ, Theruvathu JA. DNA adducts from acetaldehyde: implications for alcohol-related carcinogenesis. *Alcohol* 2005; 35: 187-93.
38. Koop D. Alcohol metabolism's damaging effects on the cell. A focus on reactive oxygen generation by the enzyme cytochrome P450 2E1. *Alcohol Res Health* 2006; 29: 274-80.
39. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1-40.
40. Wu D, Cederbaum A. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Res Health* 2003; 27: 277-84.
41. Kadenbach B, Arnold S, Lee I, Hüttemann M. The possible role of cytochrome c oxidase in stress-induced apoptosis and degenerative diseases. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1655: 400-8.
42. Esrefoglu M. Oxidative stress and benefits of antioxidant agents in acute and chronic hepatitis. *Hepat Mon* 2012; 12: 160-7.
43. Finkel T. Redox-dependent signal transduction. *FEBS Letters* 2000; 476: 52-4.
44. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44-84.
45. Williams M, Kwon J. T cell receptor stimulation, reactive oxygen species and cell signaling. *Free Radic Biol Med* 2004; 37: 1144-51.
46. Hoek JB, Cahill A, Pastorino JG. Alcohol and mitochondria: A dysfunctional relationship. *Gastroenterology* 2002; 122: 2049-63.
47. Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int* 1999; 49: 91-102.
48. Hirano T. Alcohol consumption and oxidative DNA damage. *Int J Environ Res Public Health* 2011; 8: 2895-906.
49. Tahir M, Sultana S. Chrysin modulates ethanol metabolism in Wistar rats: a promising role against organ toxicities. *Alcohol Alcohol* 2011; 46: 383-92.
50. Cederbaum AI, Lu Y, Wu D. Role of oxidative stress in alcohol-induced liver injury. *Arch Toxicol* 2009; 83: 519-48.
51. Badger T, Ronis M, Seitz H, Albano E, Ingelman-Sundberg M, Lieber CS. Alcohol metabolism: role in toxicity and carcinogenesis. *Alcohol Clin Exp Res*, 2003; 27: 336-47.
52. Frazier TH, Stocker AM, Kershner NA, Marsano LS, McClain CJ. Treatment of alcoholic liver disease. *Therap Adv Gastroenterol* 2011; 4: 63-81.
53. Ravindra PS, Shashwat S, Suman K. Free radicals and oxidative stress in neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. *J Indian Acad Clin Med* 2004; 5: 218-22.
54. Sakharov DV, Elstak EDR, Chenryak BV, Wirtz KW. Prolonged lipid oxidation after photodynamic treatment. Study with oxidation-sensitive probe C11-BODIPY581/591. *FEBS Letters* 2005; 579: 1255-60.
55. Nowis D, Legat M, Grzela T, Niderla J, Wilczek E, Wilczynski GM, et al. Heme oxygenase-1 protects tumor cells against photodynamic therapy-mediated cytotoxicity. *Oncogene* 2006; 25: 3365-74.



56. Moor ACE. Signaling pathways in cell death and survival after photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B* 2000; 57: 1-13.
57. Jones DP. Radical-free biology of oxidative stress. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 295: C849-68.
58. Bobba A, Atlante A, Petragallo VA, Marra E. Different sources of reactive oxygen species contribute to low potassium-induced apoptosis in cerebellar granule cells. *Int J Mol Med* 2008; 21: 737-45.
59. Balcerczyk A, Bartosz G. Thiols are main determinants of total antioxidant capacity of cellular homogenates. *Free Radic Res* 2003; 37: 537-41.
60. Miller AM, Horiguchi N, Jeong WI, Radaeva S, Gao B. Molecular mechanisms of alcoholic liver disease: Innate immunity and cytokines. *Alcohol Clin Exp Res* 2011; 35: 787-93.
61. Völzke H. Multicausality in fatty liver disease: Is there a rationale to distinguish between alcoholic and non-alcoholic origin? *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3492-501.
62. Gao B. Hepatoprotective and anti-inflammatory cytokines in alcoholic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 89-93.
63. Goral J, Karavitis J, Kovacs EJ. Exposure-dependent effects of ethanol on the innate immune system. *Alcohol* 2008; 42: 237-47.
64. Koivisto H, Hietala J, Anttila P, Parkkila S, Niemelä O. Long-term ethanol consumption and macrocytosis: diagnostic and pathogenic implications. *J Lab Clin Med* 2006; 147: 191-6.
65. Harrison-Findik DD, Schafer D, Klein E, Timchenko NA, Kulaksiz H, Clemens D, et al. Alcohol metabolism mediated oxidative stress down-regulates hepcidin transcription and leads to increased duodenal iron transporter expression. *J Biol Chem* 2006; 281: 22974-82.
66. Boye A, Zou YH, Yang Y. Metabolic derivatives of alcohol and the molecular culprits of fibro-hepatocarcinogenesis: Allies or enemies? *World J Gastroenterol* 2016; 22: 50-71.

