

## PRACE ORYGINALNE

Anna WOŹNIAK<sup>1</sup>  
 Maksymilian KULZA<sup>1</sup>  
 Monika SEŃCZUK – PRZYBYŁOWSKA<sup>1</sup>  
 Francesco CIMINO<sup>2</sup>  
 Antonella SAIJA<sup>2</sup>  
 Ewa IGNATOWICZ<sup>3</sup>  
 Marek CHUCHRACKI<sup>4,5</sup>  
 Wojciech PIEKOSZEWSKI<sup>6,7</sup>  
 Lucyna KRAMER<sup>8</sup>  
 Ewa FLOREK<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Badań Środowiskowych,  
 Katedra i Zakład Toksykologii,  
 Uniwersytet Medyczny  
 im. Karola Marcinkowskiego, Poznań  
 Kierownik Laboratorium:  
 Prof. dr hab. Ewa Florek

<sup>2</sup>Dipartimento Farmaco-Biologico,  
 Facoltà di Farmacia, Università di Messina,  
 Italy  
 Kierownik:  
 Prof. Antonella Saija

<sup>3</sup>Katedra Biochemii Farmaceutycznej,  
 Uniwersytet Medyczny  
 im. Karola Marcinkowskiego, Poznań  
 Kierownik Katedry:  
 Prof. dr hab. Wanda Baer-Dubowska

<sup>4</sup>Katedra i Klinika Zdrowia Matki i Dziecka,  
 Uniwersytet Medyczny  
 im. Karola Marcinkowskiego, Poznań  
 Kierownik:  
 Prof. dr hab. med. Tomasz Opala

<sup>5</sup>Centralne Laboratorium GPSK,  
 Uniwersytet Medyczny  
 im. Karola Marcinkowskiego, Poznań  
 Kierownik:  
 Dr n. farm. Marek Chuchracki

<sup>6</sup>Pracownia Wysokorozdzielczej Spektrometrii  
 Mas, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński,  
 Kraków  
 Kierownik Pracowni:  
 Prof. dr hab. Wojciech Piekoszewski

<sup>7</sup>Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Chemii,  
 Uniwersytet Jagielloński, Kraków  
 Kierownik:  
 Prof. dr hab. Paweł Kościelniak

<sup>8</sup>Katedra i Zakład Informatyki i Statystyki,  
 Uniwersytet Medyczny im. Karola  
 Marcinkowskiego, Poznań  
 Kierownik:  
 Prof. dr hab. n. med. Jerzy Moczko

Adres do korespondencji:  
 prof. dr hab. Ewa Florek  
 Laboratorium Badań Środowiskowych  
 Katedra i Zakład Toksykologii  
 Uniwersytet Medyczny im. Karola  
 Marcinkowskiego  
 ul. Dojazd 30  
 60-631 Poznań  
 Tel.: 61 847 20 81  
 Faks: 61 847 20 81 w. 157  
 e-mail: [eflorek@ump.edu.pl](mailto:eflorek@ump.edu.pl)

## Wybrane parametry biochemiczne stresu oksydacyjnego w wyniku ekspozycji na dym tytoniowy zwierząt uzależnionych od alkoholu etylowego

Selected biochemical parameters of oxidative stress as a result of exposure to tobacco smoke in animals addicted to ethyl alcohol

Palenie tytoniu oraz uzależnienie od alkoholu stanowią poważny problem zagrożenia zdrowia i życia społeczeństwa. Dym tytoniowy prowadzi do powstawania wielu nowotworów, a badania wskazują, że choroba sercowo-naczyniowa oraz nowotwór płuca są najczęstszymi spośród wielu chorób wywołanych przez palenie tytoniu. Jeśli chodzi o etanol, to odpowiada on za uszkodzenia między innymi wątroby, trzustki, błony śluzowej żołądka oraz prowadzi do zaburzeń w centralnym i obwodowym układzie nerwowym. Badania wskazują, że wielu palaczy pije alkohol i odwrotnie. Niestety wówczas ryzyko chorób gwałtownie wzrasta. Oba te stymulanty prowadzą do zwiększenia produkcji reaktywnych form tlenu, co wiąże się z naruszeniem równowagi między pro i antyoksydacyjnymi procesami w organizmie. Wolne rodniki w normalnych warunkach spełniają pozytywną rolę, ale w połączeniu z dymem tytoniowym i alkoholem mogą prowadzić do poważnych zmian w organizmie. Uszkadzają narządy, dochodzi do naruszenia struktury białek, kwasów nukleinowych oraz tłuszczu, co w konsekwencji prowadzi do obniżenia odporności i wielu zmian chorobowych. Reaktywne formy tlenu spełniają też rolę w patogenezie wielu chorób: cukrzycy, miażdżycy, zespołu Downa. Mogą zwiększać ryzyko powstawania nowotworów trzustki, płuca, krtni i pęcherza moczowego.

Organizm broni się przed szkodliwym wpływem reaktywnych form tlenu dzięki obecności układów nie- i enzymatycznych. Do tych pierwszych należą m.in. antyoksydanty nieenzymatyczne: glutation, karoten, bilirubi-

Smoking cigarettes and alcohol addiction are serious problems in health hazard and life of society. Tobacco smoke leads to many kinds of cancer formation and scientific research indicates, that heart-vascular disease and lung cancer are the most common diseases caused by tobacco smoke. While talking about ethanol, it is responsible for liver, pancreas, mucous membrane damage and leads to central and circular nervous disorder. Scientific research indicates, that many smokers drink alcohol and vice versa. Unfortunately in that case the risk of many diseases increases. Both of these stimulants leads to enlarged production of reactive oxygen species, which is connected with unbalance between pro and antioxidant processes in human organism. Free radicals in normal conditions plays positive role but with tobacco smoke and alcohol connection may lead to serious changes in human organism. They damage organs, it comes to protein structure, nucleic acid and fat violation, which in consequence leads to immunity decrease and many pathological changes. Reactive oxygen species also plays role in pathogenesis of many diseases: diabetes mellitus, atherosclerosis and Down syndrome. ROS may also increase the risk of pancreas, lung, larynx and urinary bladder cancer formation.

Human organism defends oneself from harmful influence of reactive oxygen species owing to enzymatic and non-enzymatic systems presence. Non-enzymatic antioxidants: glutathione, carotene, bilirubin, tocopherol, uric acid and ions metals temporary complex belong to non-enzymatic systems.

**Dodatkowe słowa kluczowe:**  
 palenie tytoniu  
 uzależnienie alkoholowe  
 stres oksydacyjny  
 szczury

**Additional key words:**  
 tobacco smoking  
 alcohol addiction  
 oxidative stress  
 rats

na, tokoferol, kwas moczowy oraz kompleksy jonów metali przejściowych. Do układów enzymatycznych zaś należą: katalaza, dysmutaza ponadtlenkowa, reduktaza glutationowa, peroksydaza glutationowa.

Celem pracy była ocena wpływu dymu tytoniowego i alkoholu etylowego u zwierząt uzależnionych od tych związków na aktywność wybranych enzymów odpowiedzialnych za obronę organizmu przed działaniem związków toksycznych.

Do badań użyto 63 szczury białe szczepu Wistar w wieku 3,5 miesiąca – samce uzależnione od alkoholu etylowego. Zostały one podzielone na 3 grupy, każda po 21 szczurów. Zwierzęta Grupy I poddane zostały ekspozycji na szkodliwe działanie dymu tytoniowego. Grupę II stanowiły zwierzęta, którym jednorazowo podano sondą dożołądkowo roztwór 10% alkoholu etylowego w dawce 2g/kg m.c. Kolejną grupą była Grupa III, w której szczury najpierw zostały poddane ekspozycji na dym tytoniowy. Po zakończeniu ekspozycji zwierzętom podano jednorazowo sondą dożołądkowo roztwór 10% alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c.

W zależności od rodzaju markera i badanego narządu wykazano zmiany poziomów wybranych enzymów odpowiedzialnych za obronę organizmu przed reaktywnymi formami tlenu (RFT).

Zarówno dym tytoniowy, jak i alkohol etylowy spowodowały zmianę poziomu glutationu w surowicy i w tkankach zwierząt.

Dym tytoniowy najsilniej wpłynął na nitrozylację białek w mózgu, a alkohol etylowy miał największy wpływ na aktywność glutationu w surowicy, nerkach, mózgu oraz aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w mózgu.

Zastosowanie wielu markerów stresu oksydacyjnego pozwala na ocenę jego zróżnicowanego wpływu na różnorodne organy.

## Wstęp

Palenie tytoniu oraz uzależnienie od alkoholu stanowią główną przyczynę zagrożenia zdrowia społeczeństwa. Są przyczyną wielu chorób, często prowadzących do śmierci. Według ekspertów Światowej Organizacji Zdrowia ponad miliard ludzi na świecie pali tytoń, a ilość palących w Europie szacuje się na około 28,6% [39]. W Polsce osoby palące stanowią ponad połowę populacji dorosłych. Największy problem stanowi rozpowszechnienie palenia wśród coraz młodszych ludzi. Aż 50% palących nastolatków deklaruje zamiar kontynuowania palenia w przyszłości. Dlatego tak ważne jest zintensyfikowanie działań uświadamiających w stosunku do tej grupy wiekowej.

Co roku w krajach rozwiniętych umiera ponad 3 miliony osób z powodu schorzeń tytoniozależnych.

W skład dymu tytoniowego wchodzi kompleks 4300 związków chemicznych działających wielonarządowo i zaburzających funkcje wielu procesów życiowych. Są to m.in. takie substancje, jak nikotyna, tlenek węgla, metale ciężkie, N-nitrozoaminy, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, aminy aromatyczne, cyjanowodor oraz formaldehyd.

Nikotyna jest odpowiedzialna za występowanie szeregu różnych chorób. Obecnie uważa się, że około 80 substancji i związków chemicznych ma bezpośredni związek z powstawaniem nowotworów [30]. Na dzień dzisiejszy papierosy są odpowiedzialne za co najmniej jeden na dziesięć zgonów

wśród dorosłych, a do 2030 roku liczba ta prawdopodobnie wzrośnie do jednego na sześć zgonów. Szacuje się, że palenie papierosów przyczyni się do śmierci 10 milionów ludzi rocznie.

Dym tytoniowy prowadzi do powstania około 14 lokalizacji nowotworowych.

Z perspektywy badań nowotwór płuca, przewlekła obturacyjna choroba płuc oraz choroba sercowo-naczyniowa są najczęstszymi spośród wielu przewlekłych chorób wywołanych przez palenie tytoniu [23]. Oprócz nich dym tytoniowy powoduje uszkodzenia czynnościowe i organiczne nerek, kataraktę, tytoniowy niedosłuch i niedowidzenie, paradontozę, zwyrodnienie płamki związane z wiekiem, osteoporozę, chorobę Crohna, choroby układu pokarmowego – rak trzustki, rak żołądka oraz nowotwory przełyku. U kobiet dochodzi do zaburzenia przebiegu ciąży, dym wpływa też ujemnie na płodność oraz przyspiesza menopauzę [13].

Palenie tytoniu nasila rozwój miażdżycy w różny sposób. Wywiera niekorzystny wpływ na profil lipidowy – palacze mają obniżony poziom HDL-Ch, a zwiększony LDL-Ch i TG.

Dym tytoniowy prowadzi do zmian czynnościowych i morfologicznych w układzie oddechowym. Zwiększona zostaje przepuszczalność błony śluzowej, hipersekrekcji śluzu. Dochodzi też do upośledzenia funkcji aparatu rzęskowego, przyspieszenia proliferacji komórek nabłonka oraz przebudowy ścian dróg oddechowych.

To enzymatic ones belong: catalase, superoxide dismutase, glutathione reductase and glutathione peroxidase.

The aim of the study was tobacco smoke and ethyl alcohol influence evaluation in rats addicted to these substances on activity of chosen enzymes responsible for organism defense against toxic compounds action.

To this study 63 white, Wistar tribe rats at the age of 3,5 months were used – males addicted to ethyl alcohol. They were divided into 3 groups, each consist of 21 rats. Animals of Group I were exposed on harmful tobacco smoke influence. Group II constitute animals, which were given by stomach probe 10% alcohol dilution once at a dose of 2 g/kg weight. The next Group – III, in which animals at first were exposed on tobacco smoke influence. When exposition was over, animals were given by stomach probe 10% alcohol dilution once at a dose of 2 g/kg weight.

Depending on the type of marker and studied organ, changes in the levels of selected enzymes, responsible for defending organism against reactive forms of oxygen has been shown.

Both tobacco smoke and ethyl alcohol resulted in a change of glutathione levels in the serum and tissues of animals.

Tobacco smoke has the biggest influence on protein nitrozylation in the brain and ethyl alcohol had influence on glutathione level in serum, kidney, brain and superoxide dismutase activity in the brain.

Application of many oxidative stress markers allows for evaluation of its differential influence on various organs.

Najczęstszą przyczyną (95% przypadków) przewlekłej obturacyjnej choroby płuc jest palenie tytoniu. Charakteryzuje się ona słabo odwracalnym, postępującym zmniejszeniem przepływu powietrza przez drogi oddechowe. Rozwijają się u osób mających objawy kliniczne przewlekłego zapalenia oskrzeli i/lub rozedmę płuc. Zmiany, polegające na zmniejszeniu przepływu powietrza, które związane są ze stanami zapalnymi, powodują zwężenie obwodowych dróg oddechowych i są przyczyną patologicznej przebudowy płuc.

Ryzyko zachorowania na raka płuca zależy od wielu czynników, m.in. wieku, w którym rozpoczyna się palenie tytoniu, głębokości zaciągania się dymem tytoniowym oraz od liczby wypalanych papierosów. Szacuje się, że w 2020 roku nowotwór ten będzie prawdopodobnie piątą przyczyną zgonów na świecie.

Inną substancją, powodującą pojawienie się szeregu problemów medycznych, psychologicznych i socjologicznych jest alkohol etylowy. Na świecie ilość ludzi spożywających alkohol rozkłada się w różnorodny sposób. W krajach Unii Europejskiej szacuje się, że ¼ ludzi regularnie pije alkohol, począwszy od 6% kobiet i 19% mężczyzn we Włoszech, do 40% kobiet i 64% mężczyzn w Irlandii [19].

W Stanach Zjednoczonych alkohol spożywany jest przez około połowę dorosłej populacji, a około 15–20 milionów ludzi to alkoholicy [10].

Kiedy w organizmie zwiększy się ilość

toksycznych postaci tlenu lub kiedy zmniejszy się zawartość antyoksydantów, może dojść do zaburzenia równowagi pomiędzy proutleniaczami a przeciwutleniaczami. Jeżeli stan taki, nazywany stresem tlenowym potrwa dłużej, może dojść do poważnych uszkodzeń komórki [32].

Stres oksydacyjny może prowadzić do wystąpienia szeregu chorób, między innymi chorób sercowo – naczyniowych i neurodegeneracyjnych, nowotworów, miażdżycy, cukrzycy i wielu innych.

Według podziału, którego dokonał Gutterbridge, znanych jest ponad 100 chorób, w patogenezie których uczestniczą wolne rodniki. Znajduje się wśród nich również choroba związana ze zwiększoną produkcją RFT, spowodowana przez leki i toksyny (bleomycyna, alkohol) [16].

Alkohol jest bowiem jednym z czynników indukujących wytwarzanie reaktywnych form tlenu. Uważa się obecnie, że wytwarzany przez niego stres oksydacyjny jest jednym z elementów decydujących o jego toksyczności. Powoduje on zmniejszenie ilości glutationu w tkance mózgowej lub wątroby oraz zwiększenie ilości produktów peroksydacji lipidów.

Organizm ludzki posiada skuteczne mechanizmy obrony przeciwko wolnym rodnikom, do których zaliczamy układy nieenzymatyczne, takie jak: antyoksydanty nieenzymatyczne (m. in. glutation, bilirubina, kwas moczowy, melatonina), kompleksy jonów metali grup przejściowych – żelaza, miedzi i manganu, a także układy enzymatyczne, do których zaliczamy katalazę, dysmutazę nadtlenkową, peroksydazę glutationową oraz reduktazę glutationową [34]. Inne mechanizmy obrony to między innymi: peroksydaza cytochromu c, reduktaza wodoronadtlenków alkilowych, reduktaza dehydroaskorbinianowa, białka enzymatyczne: np. ceruloplazmina, a także hydrolazy epoksydów [2].

Celem pracy była ocena wpływu dymu tytoniowego i alkoholu etylowego u szczurów uzależnionych od tych związków na aktywność szerokiego spektrum enzymów antyoksydacyjnych i związków endogennych odpowiedzialnych za obronę organizmu przed działaniem związków o charakterze utleniającym.

### Materiał i metody

Na przeprowadzenie eksperymentu otrzymano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczalnej – Uchwała nr 2/2008 z dnia 18 stycznia 2008 r.

Zwierzęta uzyskano z hodowli własnej Katedry i Zakładu Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Szczury w czasie eksperymentu przetrzymywano w standaryzowanych warunkach wilgotności (50 – 60%), temperatury (20 – 22°C) i oświetlenia (12/12 godz).

Do badań użyto 63 szczury białe szczepu Wistar – samce, które wcześniej uzależniono od alkoholu. Zostały one podzielone na 3 grupy doświadczalne, każda po 21 szczurów:

Grupa I – szczury poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu (w przeliczeniu na tlenek węgla) 1500 mg/m<sup>3</sup> powietrza przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Grupa II – szczury, którym podano jednorazowo sondą dożołądkowo roztwór 10% alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c.

Grupa III – szczury, które zostały poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu (w przeliczeniu na tlenek węgla) 1500 mg/m<sup>3</sup> powietrza przez 5 dni, po 6 godzin dziennie. Po zakończeniu ekspozycji zwierzętom podano jednorazowo sondą dożołądkowo roztwór 10% alkoholu etylowego w dawce 2g/kg m.c.

Ekspozycja zwierząt na dym tytoniowy prowadzona była w następujący sposób: zwierzęta umieszczone zostały w komorze toksykologicznej. Ekspozycję prowadzono przez 5 dni, po 6 godzin dziennie. Papierosy umieszczone były w płucce do spalania. Przez cały czas kontrolowano zawartość tlenu węgla (CO), w powietrzu komory.

W celu uzależnienia zwierząt od alkoholu etylowego, podawano go szczurom sondą dożołądkowo w dawce 2 g/kg m.c.

Po zakończonej ekspozycji (Grupa I), podaniu alkoholu etylowego (Grupa II) oraz po narażeniu na oba z tych czynników jednocześnie, zwierzęta zostały poddane sekcji po uprzednim znieczuleniu (podanie domięśniowe ksylazyny z ketaminą w dawce 40 mg/kg m.c. + 5 mg/kg m.c.) i pobrano od nich krew do próbek heparynizowanych i na skrzep w celu badań biochemicznych i toksykologicznych. Oznaczono poziom glutationu zredukowanego (GSH), aktywność dysmutazy nadtlenkowej (SOD), aktywność katalazy (CAT), aktywność S-transferazy glutationowej (GST) poziom nitrozytacji białek, zdolność antyoksydacyjną ekwiwalentów troloxu – TEAC oraz stężenie tlenu azotu.

Od zwierząt pobrano nerki i mózg.

Po przygotowaniu homogenatów narządów i krwi do badań wykonano następujące oznaczenia:

1. Stężenie białka w surowicy i homogenatach tkankowych – oznaczenie wykonane zostało na podstawie metody Lowry'ego. Opiera się ono na reakcji, jaką dają wiązania peptydowe i aminokwasy aromatyczne z odczynnikiem Folina – Ciocalteu [28].

2. Oznaczanie poziomu glutationu zredukowanego (GSH) w surowicy i homogenatach tkankowych – na podstawie metody opracowanej przez Ellman [9]. Metoda ta polega na tworzeniu barwnego kompleksu, który powstaje w reakcji zredukowanego glutationu (GSH) z kwasem 5,5-ditio-bis-(2-nitrobenzoesowym) (DTNB).

3. Oznaczanie aktywności dysmutazy nadtlenkowej w surowicy i homogenatach tkankowych - do oznaczeń wykorzystano diagnostyczny test „Ransod-Superoxide dismutase”, firmy Randox. Opiera się on na wytwarzaniu wolnych rodników przez ksantynę i oksydazę ksantynę.

4. Oznaczanie aktywności S-transferazy glutationowej w surowicy i homogenatach tkankowych – oznaczenie wykonano na podstawie metody opracowanej przez Habig i wsp. [17]. Opiera się ona na reakcji, jaką daje transferaza glutationowa katalizując reakcję pomiędzy 1-chloro-2,4-dinitrobenzenem a glutationem, rezultatem czego jest powstanie barwnego kompleksu.

5. Oznaczanie aktywności katalazy (CAT) w surowicy i homogenatach tkankowych – zasada polega na

pomiarze szybkości rozkładu nadtlenu wodoru (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), w wyniku czego spada absorbancja przy długości fali λ = 240 nm [4].

6. Nitrozylacja białek - homogenaty tkankowe – wykorzystano metodę opracowaną przez Bonina et al. [6], w której wykorzystuje się kolorymetryczną reakcję przy użyciu sulfanilamidu i N-1-naftyetylenodiaminy.

7. TEAC – zdolność antyoksydacyjna ekwiwalentów troloxu – homogenaty tkankowe - metoda oparta jest na zdolności antyoksydacyjnych substancji do redukcji stabilnego rodnika ABTS (2,2'-Azyno-di[sulfonian 3-etylbentiazoliny])

w porównaniu ze wzorcem, jakim jest trolox [35].

8. Oznaczanie stężenia tlenu azotu – homogenaty tkankowe - Oznaczenie to pozwala na wykrycie obecności azotynów przy użyciu metody Griess zmodyfikowanej przez Kleinbongard et al. [25].

### Analiza statystyczna wyników

Wyniki badań poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu Statistica PL v. 6.0. Mierzone parametry charakteryzowano w poszczególnych grupach za pomocą średniej arytmetycznej i odchylenia standardowego. Do analizy różnic pomiędzy grupami wykorzystano:

1. Analizę wariancji, gdy potwierdzono zgodność z rozkładem normalnym (test Shapiro-Wilka) i homogeniczność wariancji (test Levene'a), gdy analiza wariancji ANOVA była istotna zastosowano test pos-hoc Tukey'a.

2. Gdy powyższe założenia nie były potwierdzone zastosowano test nieparametryczny Kruskala-Wallis'a z testem wielokrotnych porównań Dunn'a.

### Wyniki

Oznaczenia stężenia białka w surowicy i homogenatach tkankowych w grupie zwierząt, która była inhalowana dymem tytoniowym, a następnie podano im jednorazowo 10% roztwór alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c. (Grupa III) wykazały różnicę statystycznie znaczącą w stosunku do Grupy I w mózgu.

Stężenie białka w surowicy i narządach w badanych grupach przedstawia Tabela I.

Oznaczenia stężenia glutationu zredukowanego (GSH) w surowicy i homogenatach tkankowych wykazały, że w grupie szczurów, które były narażone na dym tytoniowy, a następnie podano im alkohol etylowy (Grupa III), stwierdzono statystycznie znaczącą różnicę w stosunku do grupy

Tabela I

Stężenie białka w surowicy i narządach w badanych grupach.

The protein concentration in serum and organs in the studied groups.

Grupa	Narząd	Białko [mg/g]				
		n	Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Grupa I	Surowica	6	49,96	3,63	44,76	54,84
	Mózg	6	28,80	7,95	22,49	40,18
	Nerka	6	38,52	17,20	11,88	51,61
Grupa II	Surowica	6	54,81	4,42	51,62	57,73
	Mózg	6	23,39	6,79	12,84	32,67
	Nerka	6	34,16	10,50	22,76	52,05
Grupa III	Surowica	6	55,93	3,63	52,50	60,32
	Mózg	6	15,17*	2,12	12,80	18,71
	Nerka	6	30,26	6,08	23,10	39,17

\* różnica statystycznie znacząca w stosunku do Grupy I

\*statistically significant difference compared to Group I



zwierząt poddanej wyłącznie ekspozycji na dym tytoniowy (Grupa I) w mózgu. W tej samej grupie (Grupa III) stwierdzono również statystycznie istotną różnicę w stosunku do grupy zwierząt, której jednorazowo podano sondą dożołądkowo alkohol etylowy (Grupa II) w następujących narządach: surowica, mózg, nerka.

Stężenie glutationu w surowicy i narządach w badanych grupach przedstawia Tabela II.

Średnie stężenie glutationu zredukowanego w surowicy u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 1.

Średnie stężenie glutationu zredukowanego w mózgu u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 2.

Średnie stężenie glutationu zredukowanego w nerkach u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 3.

Oznaczenia aktywności dysmutazy ponadtlenkowej w surowicy i homogenatach tkankowych wykazały, że w grupie zwierząt, którym jednorazowo podano alkohol etylowy (Grupa II) istnieje różnica statystycznie znamiennej w stosunku do grupy zwierząt poddanej ekspozycji na dym tytoniowy (Grupa I) w następujących narządach: surowica, mózg, nerka.

U zwierząt, które były inhalowane dymem tytoniowym, a następnie podano im jednorazowo alkohol etylowy (Grupa III), stwierdzono statystycznie znamiennej różnicę w stosunku do grupy szczurów poddanej ekspozycji na dym tytoniowy (Grupa I) w mózgu.

U zwierząt w tej samej grupie (Grupa III) stwierdzono również statystycznie istotną różnicę w stosunku do grupy zwierząt, której jednorazowo podano alkohol etylowy (Grupa II) w surowicy.

Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w surowicy i narządach w badanych grupach przedstawia Tabela III.

Średnią aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w surowicy u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 4.

Średnią aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w mózgu u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 5.

Średnią aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w nerkach u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 6.

Oznaczenia aktywności katalazy w surowicy

#### Objaśnienia:

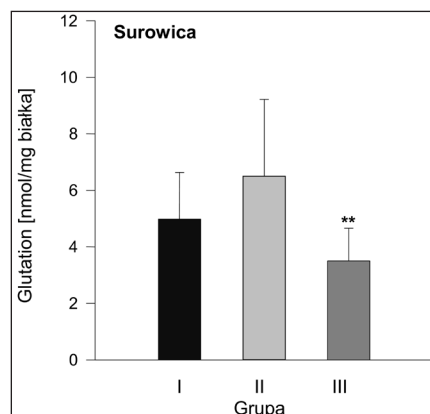
\* - różnica w stosunku do Grupy I

\*\* - różnica w stosunku do Grupy II

Description:

\* difference compared to Group I

\*\* difference compared to Group II



**Rycina 1**  
Średnie stężenie glutationu zredukowanego w surowicy zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

The average concentration of reduced glutathione in the serum of animals per Group I, II, III.

**Tabela II**

#### Stężenie glutationu w surowicy i narządach w badanych grupach.

The concentration of glutathione in plasma and organs of the treated groups.

Grupa	Narząd	Glutathion [nmol/mg białka]				
		n	Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Grupa I	Surowica	6	0,0050	0,0017	0,0035	0,0070
	Mózg	6	0,0088	0,0025	0,0054	0,0124
	Nerka	6	0,0143	0,0093	0,0073	0,0273
Grupa II	Surowica	6	0,0065	0,0027	0,0042	0,0112
	Mózg	6	0,0134*	0,0032	0,0111	0,0181
	Nerka	6	0,0066	0,0036	0,0045	0,0139
Grupa III	Surowica	6	0,0035**	0,0016	0,0024	0,0056
	Mózg	6	0,0249*,**	0,0049	0,0182	0,0321
	Nerka	6	0,0278**	0,0046	0,0197	0,321

\* różnica statystycznie znamiennej w stosunku do Grupy I

\*\* różnica statystycznie znamiennej w stosunku do Grupy II

\*statistically significant difference compared to Group I

\*\* statistically significant difference compared to Group II

**Tabela III**

#### Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w surowicy i narządach w badanych grupach.

Superoxide dismutase activity in serum and organs in the studied groups.

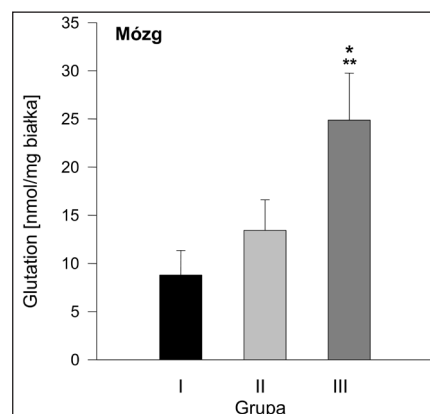
Grupa	Narząd	Dysmutaza ponadtlenkowa U/mg białka]				
		n	Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Grupa I	Surowica	6	0,50	0,23	0,11	0,70
	Mózg	6	5,94	1,28	4,17	7,33
	Nerka	6	18,21	4,41	12,84	24,72
Grupa II	Surowica	6	1,58*	0,33	1,05	1,97
	Mózg	6	11,25*	1,77	8,16	13,31
	Nerka	6	11,82*	2,23	8,16	14,33
Grupa III	Surowica	6	0,55**	0,35	0,08	1,01
	Mózg	6	11,27*	5,29	2,53	18,34
	Nerka	6	15,62	4,54	9,53	23,29

\* różnica statystycznie znamiennej w stosunku do Grupy I

\*\* różnica statystycznie znamiennej w stosunku do Grupy II

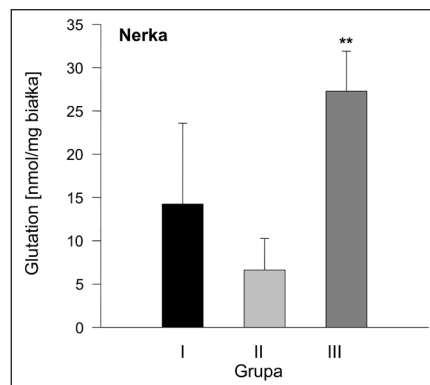
\*statistically significant difference compared to Group I

\*\* statistically significant difference compared to Group II



**Rycina 2**  
Średnie stężenie glutationu zredukowanego w mózgu zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

The average concentration of reduced glutathione in the brain of animals per Group I, II, III.



**Rycina 3**  
Średnie stężenie glutationu zredukowanego w nerkach zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

The average concentration of reduced glutathione in the kidneys of animals per Group I, II, III.

wicy i homogenatach tkankowych wykazały, że w grupie szczurów, które były inhalowane dymem tytoniowym, a następnie podano im alkohol etylowy (Grupa III), stwierdzono statystycznie zmienną różnicę w stosunku do grupy zwierząt poddanej ekspozycji na dym tytoniowy (Grupa I) w mózgu.

Aktywność katalazy w surowicy i narządach w badanych grupach przedstawia Tabela IV.

Średnią aktywność katalazy w surowicy u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 7.

Średnią aktywność katalazy w mózgu u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 8.

Średnią aktywność katalazy w nerkach u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 9.

Oznaczenia aktywności S-transferazy glutationowej w surowicy i homogenatach tkankowych wykazały, że w grupie zwierząt, którym jednorazowo podano alkohol etylowy (Grupa II) istnieje różnica statystycznie zmienna w stosunku do grupy zwierząt poddanych ekspozycji na dym tytoniowy (Grupa I) w nerkach.

W grupie szczurów, które były inhalowane dymem tytoniowym, a następnie podano im jednorazowo alkohol etylowy w

dawce 2 g/kg m.c (Grupa III), stwierdzono statystycznie zmienną różnicę w stosunku do grupy zwierząt poddanej ekspozycji na dym tytoniowy (Grupa I) w nerkach.

Aktywność S-transferazy glutationowej w surowicy i narządach w badanych grupach przedstawiono w Tabeli V.

Średnią aktywność S-transferazy gluta-

tionowej w surowicy u zwierząt Grup I, II, III przedstawia Rycina 10.

Średnią aktywność S-transferazy glutationowej w mózgu u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 11.

Średnią aktywność S-transferazy glutationowej w nerkach u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 12.

**Tabela IV**

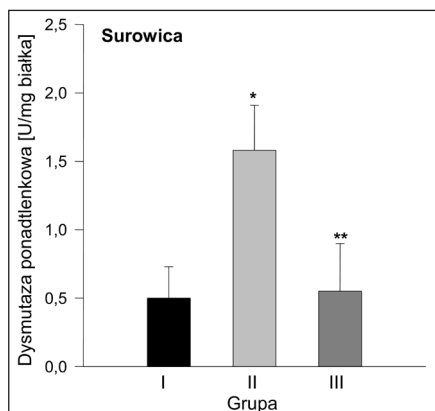
**Aktywność katalazy w surowicy i narządach w badanych grupach.**

Catalase activity in serum and organs in the studied groups.

Grupa	Narząd	Katalaza U/mg białka]				
		n	Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Grupa I	Surowica	6	0,0665	0,2264	0,3600	0,9400
	Mózg	6	19,51	14,82	5,61	46,04
	Nerka	6	75,43	19,37	48,85	101,09
Grupa II	Surowica	4	0,5550	0,3828	0,08	0,9300
	Mózg	5	28,12	19,14	10,27	55,45
	Nerka	6	71,51	22,88	37,54	99,78
Grupa III	Surowica	3	0,523	0,2264	0,11	1,06
	Mózg	6	5,71*	2,92	2,76	11,03
	Nerka	6	49,24	23,19	27,02	84,10

\* różnica statystycznie zmienna w stosunku do Grupy I

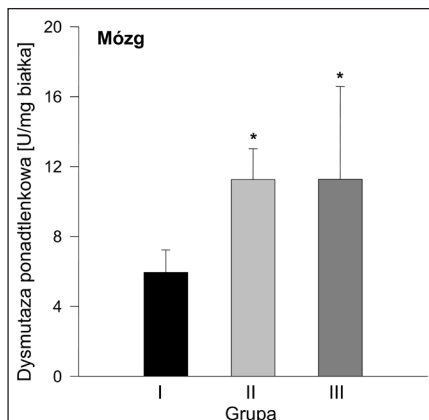
\*statistically significant difference compared to Group I



**Rycina 4**

Średnia aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w surowicy zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

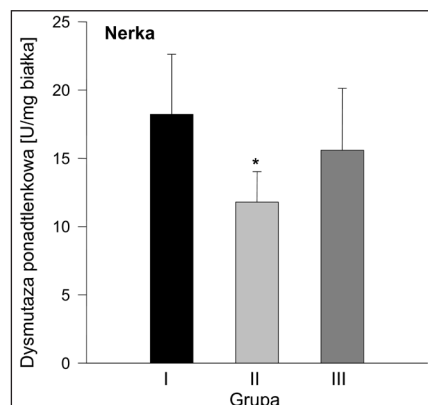
Average activity of superoxide dismutase in the serum of animals per Group I, II, III.



**Rycina 5**

Średnia aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w mózgu zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

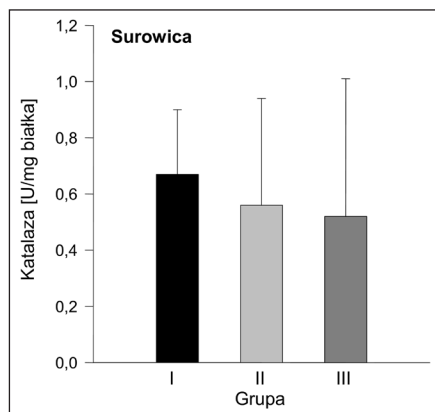
Average activity of superoxide dismutase in the brain of animals per Group I, II, III.



**Rycina 6**

Średnia aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w nerkach zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

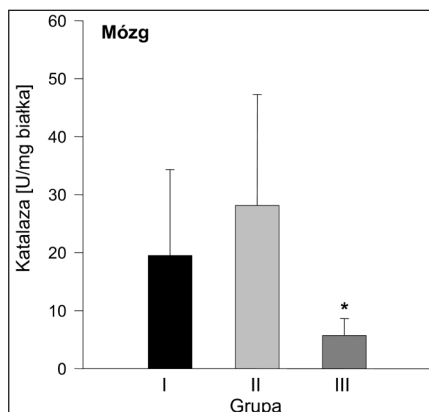
Average activity of superoxide dismutase in the kidneys of animals per Group I, II, III.



**Rycina 7**

Średnia aktywność katalazy w surowicy zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

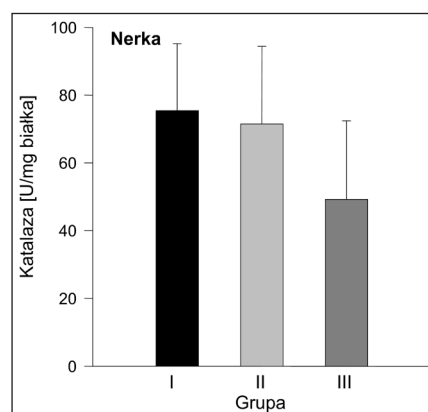
Average serum catalase activity in the serum of animals per Group I, II, III.



**Rycina 8**

Średnia aktywność katalazy w mózgu zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

Average serum catalase activity in the brain of animals per Group I, II, III.



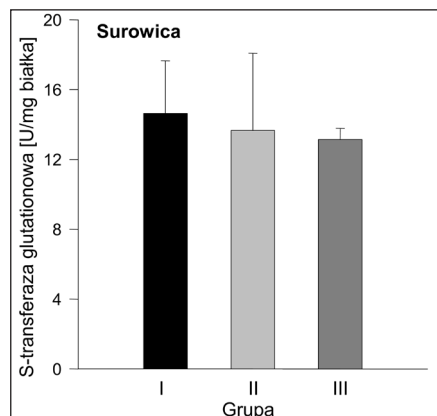
**Rycina 9**

Średnia aktywność katalazy w nerkach zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

Average serum catalase activity in the kidneys of animals per Group I, II, III.

Oznaczenia poziomu nitrozytacji białka w homogenatach tkankowych wykazały, że w grupie szczurów, która inhalowana była dymem tytoniowym, a następnie podano im jednorazowo alkohol etylowy (Grupa III) stwierdzono statystycznie istotną różnicę w stosunku do grupy zwierząt, którym jednorazowo podano roztwór alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c. (Grupa II) w mózgu.

Oznaczenia stężenia białka nitrozylo-



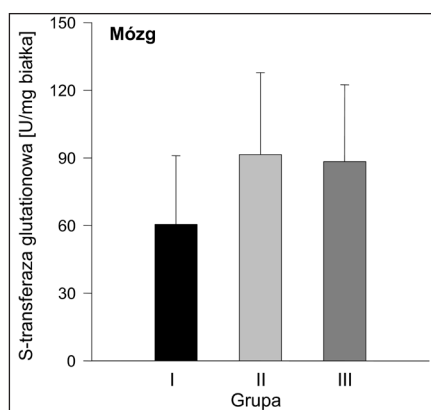
**Rycina 10**  
Średnia aktywność S-transferazy glutationowej w surowicy zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.  
Average activity of glutathione S-transferase in the serum of animals per Group I, II, III.

wanego w narządach w badanych grupach przedstawia Tabela VI.

Średnie stężenie nitrozylowanego białka w mózgu u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 13.

Średnie stężenie nitrozylowanego białka w nerkach u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 14.

W oznaczeniach aktywności TEAC nie wykazano statystycznie znamiennej różnicy



**Rycina 11**  
Średnia aktywność S-transferazy glutationowej w mózgu zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.  
Average activity of glutathione S-transferase in the brain of animals per Group I, II, III.

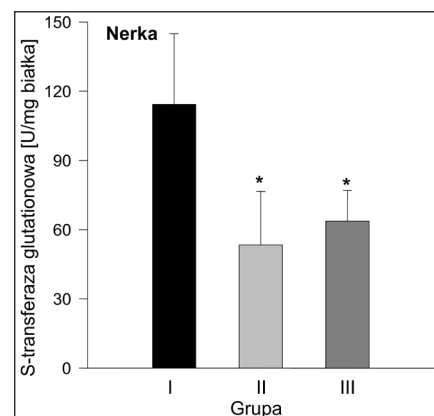
w żadnej z badanych grup.

Stężenie TEAC w narządach badanych grup przedstawia Tabela VII.

Średnie stężenie TEAC w mózgu u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 15.

Średnie stężenie TEAC w nerkach u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 16.

W oznaczeniach stężenia tlenu azotu nie wykazano statystycznie znamiennej



**Rycina 12**  
Średnia aktywność S-transferazy glutationowej w nerkach zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.  
Average activity of glutathione S-transferase in the kidneys of animals per Group I, II, III.

**Tabela V**  
Aktywność S-transferazy glutationowej w surowicy i narządach w badanych grupach.  
The activity of glutathione S-transferase in serum and organs in the studied groups.

Grupa	Narząd	S-transferaza glutationowa [U/mg białka]				
		n	Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Grupa I	Surowica	6	14,64	3,01	10,33	18,25
	Mózg	6	60,47	39,52	0,07	108,13
	Nerka	6	114,32	30,59	84,45	165,08
Grupa II	Surowica	6	13,66	4,42	8,23	20,99
	Mózg	6	91,46	36,38	65,83	101,57
	Nerka	6	53,38*	23,14	33,68	96,21
Grupa III	Surowica	6	13,14	0,64	12,33	13,88
	Mózg	6	88,38	34,06	56,83	152,53
	Nerka	6	63,67*	13,40	47,93	83,81

\* różnica statystycznie znamienna w stosunku do Grupy I

\*statistically significant difference compared to Group I

**Tabela VI**  
Stężenie białka nitrozylowanego w narządach w badanych grupach.  
Concentration of protein nitroxylation in the organs of the studied groups.

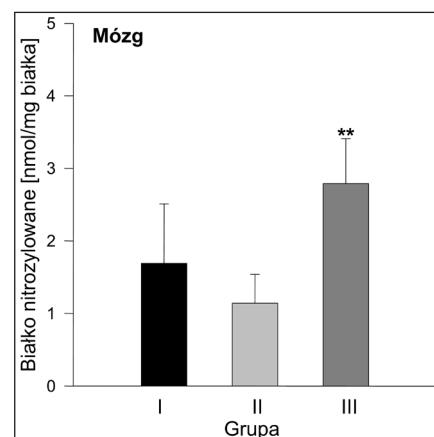
Grupa	Narząd	Białko nitrozylowane [nmol/mg białka]				
		n	Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Grupa I	Surowica		n.d.			
	Mózg	6	1,6867	0,8185	0,5760	2,5982
	Nerka	6	1,7900	1,3787	0,8213	4,5690
Grupa II	Surowica		n.d.			
	Mózg	6	1,1388	0,2017	0,7403	1,6676
	Nerka	6	1,6552	0,3369	1,3754	1,4597
Grupa III	Surowica		n.d.			
	Mózg	6	2,8180**	0,7061	2,0384	3,7400
	Nerka	5	1,9500	0,6611	1,2425	2,8000

n.d. – nie oznaczano

\*\* różnica statystycznie znamienna w stosunku do Grupy II

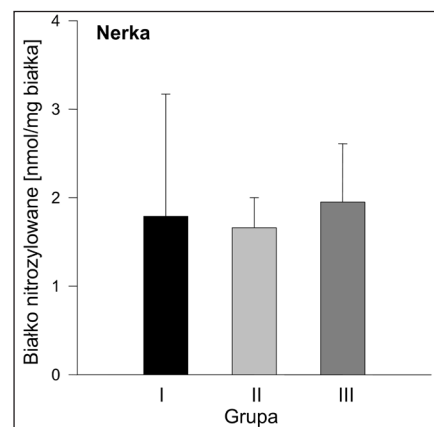
n.d. – not determined

\*\* statistically significant difference compared to Group II



**Rycina 13**  
Średnie stężenie nitrozylowanego białka w mózgu zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

The average concentration of the protein nitroxylation in the brain of animals per Group I, II, III.



**Rycina 14**  
Średnie stężenie nitrozylowanego białka w nerkach zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

The average concentration of the protein nitroxylation in the kidneys of animals per Group I, II, III.

różnicy w żadnej z badanych grup.

Stężenie tlenu azotu (NO) w narządach w badanych grupach przedstawia Tabela VIII.

Średnie stężenie tlenu azotu (NO) w mózgu u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 17.

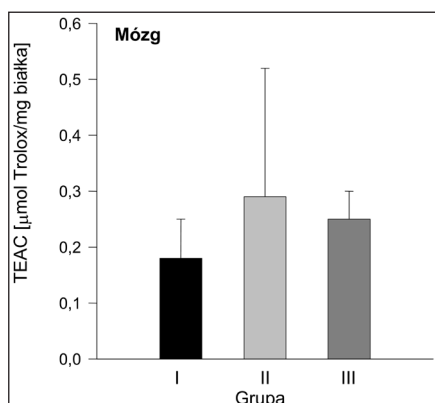
Średnie stężenie tlenu azotu (NO) w nerkach u zwierząt Grupy I, II, III przedstawia Rycina 18.

### Omówienie

Palenie tytoniu i spożywanie alkoholu to dwie używki, które od lat stanowią istotny problem zagrożenia zdrowia i życia ludności. Najczęściej ludzie uzależnieni od alkoholu są również palaczami tytoniu. Z danych literaturowych wynika, że większy jest odsetek palących alkoholików (80-95%), w porównaniu z osobami niepijącymi lub pijącymi okazjonalnie (25-30%). Mechanizmy prowadzące do rozwinięcia uzależnienia mogą być podobne dla alkoholu i nikotyny. Niektóre czynniki, takie jak stres, rozwój tolerancji, wrażliwość na powyższe ksenobiotyki, mogą jeszcze uzależnienie wzmacniać [21,27].

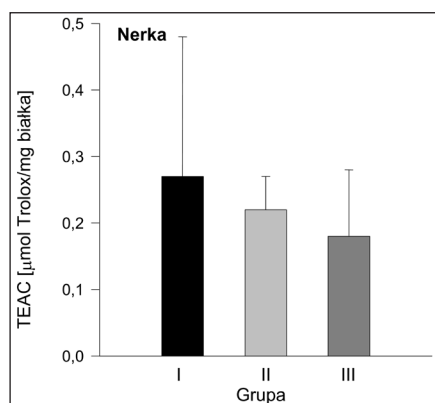
Dym tytoniowy i alkohol etylowy to dwa czynniki, które indukują produkcję wolnych rodników. Reaktywne formy tlenu mają duży wpływ na toksyczność tych ksenobiotyków.

W tych niesprzyjających warunkach



**Rycina 15**  
Średnie stężenie TEAC w mózgu zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

TEAC average concentration in the brain of animals per Group I, II, III.



**Rycina 16**  
Średnie stężenie TEAC w nerkach zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

TEAC average concentration in the kidneys of animals per Group I, II, III.

może nastąpić niekontrolowany wzrost reaktywnych form tlenu (RFT) który prowadzi do stresu oksydacyjnego. Stan ten charakteryzuje się przewagą procesów prooksydacyjnych nad antyoksydacyjnymi. Objawia się on tlenowymi uszkodzeniami białek, lipidów i DNA. Może to prowadzić do powstawania obniżenia odporności, zmian chorobowych i szybszego starzenia się organizmu [33].

Organizmy tlenowe stworzyły system

antyoksydacyjny nazywany obroną lub barierą antyoksydacyjną, obejmujący związki małowcząsteczkowe endo- (glutation, bilirubina, kwas moczowy) i egzogenne (witamina E, witamina C, β-karoten) oraz enzymy (katalaza (CAT), dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), peroksydaza glutationowa (GPx), reduktaza glutationowa (GR) [18].

W pracy podjęto próbę oceny wpływu dymu tytoniowego i alkoholu etylowego u uzależnionych szczurów na aktywność

**Tabela VII**

Stężenie TEAC w narządach w badanych grupach.

TEAC concentration in the organs of the studied groups.

Grupa	Narząd	TEAC [µmol Trolox/mg białka]				
		n	Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Grupa I	Surowica		n.d.			
	Mózg	6	0,1786	0,0663	0,0735	0,2612
	Nerka	6	0,2658	0,2106	0,1355	0,2380
Grupa II	Surowica		n.d.			
	Mózg	6	0,2933	0,2297	0,1646	0,7505
	Nerka	6	0,2146	0,0494	0,1490	0,2634
Grupa III	Surowica		n.d.			
	Mózg	6	0,2500	0,0481	0,2037	0,3113
	Nerka	6	0,1835	0,0956	0,0681	0,2977

n.d. – nie oznaczano

n.d. – not determined

**Tabela VIII**

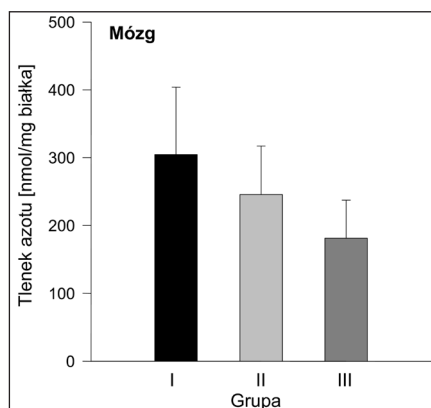
Stężenie tlenu azotu w narządach w badanych grupach.

The concentration of nitric oxide in the organs of the studied groups.

Grupa	Narząd	Białko nitrozylowane [nmol/mg białka]				
		n	Średnia	SD	Minimum	Maksimum
Grupa I	Surowica		n.d.			
	Mózg	5	304,56	99,35	145,55	416,56
	Nerka	5	952,33	269,14	593,89	1250,28
Grupa II	Surowica		n.d.			
	Mózg	5	245,62	71,64	146,25	323,12
	Nerka	6	774,14	116,16	563,89	723,44
Grupa III	Surowica		n.d.			
	Mózg	6	181,17	56,25	83,44	244,19
	Nerka	5	1121,86	661,17	648,75	700,63

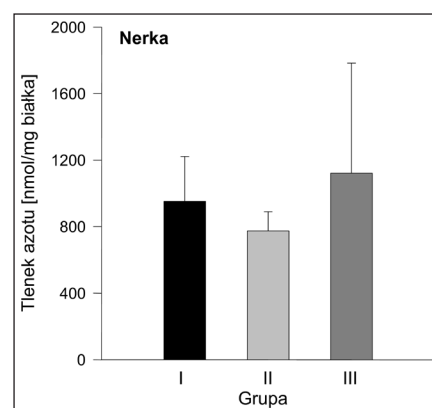
n.d. – nie oznaczano

n.d. – not determined



**Rycina 17**  
Średnie stężenie tlenu azotu (NO) w mózgu zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

The average concentration of nitric oxide (NO) in the brain of animals per Group I, II, III.



**Rycina 18**  
Średnie stężenie tlenu azotu (NO) w nerkach zwierząt poszczególnych Grup I, II, III.

The average concentration of nitric oxide (NO) in the kidneys of animals per Group I, II, III.



szerokiego spektrum enzymów i związków endogennych, które odpowiedzialne są za obronę organizmu przed działaniem związków toksycznych.

Zwierzęta podzielono na trzy grupy. Grupa I była eksponowana na dym tytoniowy w stężeniu (w przeliczeniu na tlenek węgla) 1500 mg/m<sup>3</sup> powietrza przez 5 dni, po 6 godzin dziennie. Grupa II to zwierzęta, którym jednorazowo podano sondą dożołądkowo 10% roztwór alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c. Ostatnia grupa (Grupa III) poddana została inhalacji dymem tytoniowym, a po zakończeniu ekspozycji podany został dożołądkowo alkohol etylowy.

Jednym z badanych związków był zredukowany glutation (GSH). Jest on związkiem endogennym, obecnym we wszystkich komórkach. Reaktywność uwarunkowana jest obecnością w jego cząsteczce grupy tiolowej [7]. GSH jest głównym czynnikiem obronnym przeciwko reaktywnym formom tlenu w różnych tkankach organizmu [8].

W grupie zwierząt, którym podano sondą dożołądkowo 10% roztwór alkoholu etylowego (Grupa II) stwierdzono statystycznie znamiennej różnicę w stosunku do grupy inhalowanej dymem tytoniowym (Grupa I) w mózgu. Natomiast w grupie, którą najpierw poddano ekspozycji na dym, a później podano alkohol etylowy (Grupa III), stwierdzono różnicę statystycznie znamiennej w stosunku do Grupy I w tym samym narządzie – w mózgu oraz różnicę statystycznie istotną w stosunku do Grupy II w surowicy i mózgu.

Według Romero obniżenie stężenie glutationu zredukowanego w ośrodkowym układzie nerwowym szczura może być spowodowane ostrym lub przewlekłym zatruciem alkoholem etylowym [37]. Największe zmiany stężenia GSH mają miejsce w korze mózgowej, która jest wyjątkowo wrażliwa na zmiany wywołane przez etanol [5], jak również w mózdzku i prądkowiu.

Wyniki badań dysmutazy nadadtlenkowej (SOD) wykazały, że grupa zwierząt uzależnionych od alkoholu, którym podano jednorazowo alkohol etylowy (Grupa II) wykazała statystycznie istotną różnicę w stosunku do szczurów inhalowanych dymem tytoniowym (Grupa I) w surowicy i w mózgu. Stwierdzono również, że w grupie zwierząt, które najpierw eksponowano na działanie dymu tytoniowego, a następnie jednorazowo podano alkohol etylowy (Grupa III) istnieje statystycznie znamiennej różnica w stosunku do zwierząt, którym podano tylko alkohol etylowy (Grupa II) – w surowicy oraz w stosunku do grupy inhalowanej dymem (Grupa I) – mózg.

Pod wpływem działania alkoholu etylowego, aktywność dysmutazy nadadtlenkowej w mózgu zwierząt może ulegać istotnym zmianom. Wzrost aktywności dysmutazy nadadtlenkowej w korze mózgowej, która ze względu na szybkość procesów metabolicznych jest głównym miejscem wytwarzania wolnych rodników, może być związany z odpowiedzią adaptacyjną na stres oksydacyjny powstały na skutek ostrego zatrucia alkoholem etylowym [1].

Luchese i współpracownicy wykazali, że dym tytoniowy wpływa na zwiększenie enzymatycznej obrony antyoksydacyjnej – aktywności dysmutazy nadadtlenkowej w

mózgu i płucach szczurów [29]. Badania innych autorów dostarczają przeciwstawnych wyników dotyczących aktywności enzymów antyoksydacyjnych.

Florek i współpracownicy wykazali spadek aktywności dysmutazy nadadtlenkowej w osobce zwierząt inhalowanych dymem tytoniowym w stosunku do zwierząt grupy kontrolnej. Te zmiany odzwierciedlają zmiany aktywności zachodzące w tkankach, zatem spadek SOD w grupie inhalowanych szczurów prawdopodobnie wynikał ze spadku jej aktywności w płucach. Są one bowiem pierwszym narządem narażonym na kontakt z toksycznymi składnikami dymu tytoniowego. Dysmutaza nadadtlenkowa chroni komórki nabłonka płuc przed transformacjami *in vitro*. Spadek jej aktywności mógłby odgrywać ważną rolę w patogenezie raka płuca [12,14,31].

SOD jest według wielu autorów głównym enzymem antyoksydacyjnym zabezpieczającym przed bliznowaceniem tkanki nerkowej na skutek działania RFT. Dysmutaza nadadtlenkowa zmiata też anionorodnik nadadtlenkowy, który powoduje degenerację tlenu azotu (NO). Tlenek azotu spełnia pozytywną rolę czynnika rozszerzającego naczynia. Funkcja ta ma duże znaczenie, ponieważ w czasie stresu oksydacyjnego wywołanego ksenobiotykami w nerkach dochodzi do silnego zwężenia naczyń [41].

W oznaczeniach aktywności katalazy (CAT) stwierdzono, że w grupie szczurów, które były inhalowane dymem tytoniowym, a następnie podano im alkohol etylowy (Grupa III), stwierdzono statystycznie znamiennej różnicę w stosunku do grupy zwierząt poddanej ekspozycji na dym tytoniowy (Grupa I) w mózgu.

Główną rolą katalazy jest rozkładanie nadadtlenku wodoru (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), który został wytworzony przez wolne rodniki lub przez SOD i przekształcenie go do H<sub>2</sub>O [36]. Drugą rolą CAT jest nieznaczny udział w metabolizmie etanolu [38]. Chroniczne spożywanie alkoholu etylowego znacząco zwiększa aktywność CAT w nerkach i jądrach. Zwiększona aktywność CAT w nerkach i jądrach wskazuje zwiększoną tolerancję alkoholu przez te narządy [22].

Baskaran i współpracownicy wykazali wzrost aktywności katalazy w wątrobie, płucach i nerkach u zwierząt inhalowanych dymem tytoniowym [3].

W wykonanych oznaczeniach S-transferazy glutationu wykazano, że grupa zwierząt, którym podano jednorazowo sondą dożołądkowo roztwór 10% alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c. (Grupa II) wykazuje statystycznie znamiennej różnicę w stosunku do grupy zwierząt poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu (w przeliczeniu na tlenek węgla) 1500 mg/m<sup>3</sup> powietrza (Grupa I) w nerkach. W tym samym narządzie stwierdzono statystycznie istotną różnicę pomiędzy grupą, która najpierw inhalowana była dymem tytoniowym, a następnie podano jej alkohol etylowy (Grupa III) a Grupą I (narażoną wyłącznie na dym tytoniowy).

S-transferaza glutationowa należy do rodziny białek, które katalizują sprzęganie glutationu ze związkami o charakterze elektrofilowym: z ksenobiotykami, jak i z sub-

stancjami endogennymi [24]. S-transferazy spełniają istotną rolę w ochronie przed uszkodzeniami wolnorodnikowymi błon komórkowych i DNA. Spełniają również rolę białek transportowych [26]. W badaniach brak jest sprzeczności co do tego, że chroniczne spożywanie alkoholu prowadzi do wzrostu wątrobowej transferazy S-glutationowej [20]. W badaniach przeprowadzonych przez Baskaran'a i współpracowników również wykazano zwiększoną aktywność S-transferazy glutationowej w płucach, wątrobie, nerkach i mózgu [3].

S-nitrozylacja to odwracalne przyłączenie NO do grup tiolowych białek. Nitrozylacja modyfikuje funkcje wielu biopolimerów, m.in. kanałów jonowych. S-nitrozylacja odgrywa zaś istotną rolę w przekazywaniu sygnałów i w obronie przed patogenami [2].

W oznaczeniu białka nitrozylowanego stwierdzono, że w grupie szczurów, która inhalowana była dymem tytoniowym, a następnie podano im jednorazowo alkohol etylowy (Grupa III), stwierdzono statystycznie istotną różnicę w stosunku do grupy zwierząt, którym jednorazowo podano roztwór alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c. (Grupa II) w mózgu.

W oznaczeniach aktywności antyoksydacyjnej wyrażonej w ekwiwalentach troloxolu – TEAC, nie stwierdzono różnicy statystycznie znamiennej, w żadnej z badanych grup zwierząt.

Pomiar całkowitej zdolności antyoksydacyjnej jest pewnym i czułym znacznikiem dla wykrycia zmian, które zachodzą pod wpływem stresu oksydacyjnego *in vivo*, które mogą nie zostać wykryte podczas pomiaru poszczególnych antyoksydantów [15]. Według Florek i współpracowników ekspozycja na dym tytoniowy zmniejsza wartość TEAC w wątrobie, mózgu i nerkach oraz zwiększa zdolność antyoksydacyjną w płucach w porównaniu do zwierząt kontrolnych [11].

W oznaczeniach stężenia tlenu azotu nie stwierdzono różnicy statystycznie znamiennej, w żadnej z badanych grup zwierząt.

Zima i współpracownicy wykazali zwiększone wytwarzanie tlenu azotu u alkoholików, które może być wywołane chroniczną stymulacją układu odpornościowego z późniejszą indukcją i NOS. Wysokie stężenia tlenu azotu u pacjentów alkoholowych mogą być związane z cytotoksycznością w neuronach. Produkcja NO może również odgrywać rolę w patogenezie chorób wątroby [43]. Wang et al. dowiedli, że stężenie tlenu azotu w surowicy zwiększa się u szczurów. Również inni autorzy wykazali, że stężenie tlenu azotu wzrasta w wątrobie zwierząt, którym podawano alkohol [42]. Znaczący wzrost stężenia NO w badaniach przeprowadzonych przez Uzun'a et al. może być przyczyną, dla którego stres oksydacyjny stymuluje peroksydację lipidów [40].

#### Piśmiennictwo:

1. Augustyniak A., Michalak K., Skrzydlewska E.: Wpływ stresu oksydacyjnego indukowanego etanolem na ośrodkowy układ nerwowy (OUN). Postępy Hig. Med. Dosw. (online) 2005, 59, 464.
2. Bartosz G.: Druga twarz tlenu - wolne rodniki w przyrodzie. PWN, Warszawa, Polska, 2003.
3. Baskaran S., Lakshmi S., Prasad P.R.: Effect of cigarette smoke on lipid peroxidation and antioxidant



- enzymes in albino rat. *Indian J. Exp. Biol.* 1999, 37, 1196.
4. **Beers R., Sizer T.:** Spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J. Biol. Chem.* 1952, 195, 133.
  5. **Bondy S.C., Guo S.X.:** Regional selectivity in ethanol-induced pro-oxidant events within the brain. *Biochem. Pharmacol.* 1995, 49, 69.
  6. **Bonina F.P., Puglia C., Frasca G. et al.:** Protective effects of a standardised red orange extract on air pollution-induced oxidative damage in traffic police officers. *Nat. Prod. Res.* 2008, 22, 1544.
  7. **Chełchowska M., Laskowska-Klita T.:** Poziom glutationu i aktywność peroksydazy i reduktazy glutationowej u kobiet palących w przebiegu ciąży. *Kobieta i Tytoń*, Poznań, Polska, 2002.
  8. **DeLeve, L. D., Kaplowitz, N.:** Importance and regulation of hepatic glutathione. *Semin. Liver Dis.* 1991, 10, 251.
  9. **Ellman G.L.:** Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 1959, 82, 70.
  10. **Flier J. S., Underhill L. H., Saul Lieber Ch.:** Medical disorders of alcoholism. *N. Engl. J. Med.* 1995, www.nejm.org.
  11. **Florek E., Ignatowicz E., Wrzosek J. et al.:** Effect on rutin on total antioxidant status of rats exposed to cigarette smoke. *Pharmacol. Rep.* 2005, 57, 84
  12. **Florek E., Ignatowicz E., Piekoszewski W. i wsp.:** Wpływ stężenia dymu tytoniowego i czasu narażenia na aktywność wybranych enzymów antyoksydacyjnych – badania eksperymentalne. *Przegl. Lek.* 2004, 61, 1098.
  13. **Florek E., Marszałek A.:** An experimental study of the influences of tobacco smoke on fertility and reproduction. *Hum. Exp. Toxicol.* 1999, 18, 272.
  14. **Florek E.:** Skład chemiczny i kancerogeny dymu tytoniowego. *Alkoholizm i Narkomania*, 1999, 36, 333.
  15. **Ghiselli A., Serafini N., Natella F.:** Total antioxidant capacity as tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic. Biol. Med.* 2000, 29, 1106.
  16. **Gutterbridge J.M.:** Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radic. Res. Commun.* 1993, 19, 141.
  17. **Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B.:** Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 1974, 249, 7130.
  18. **Halliwell B., Gutteridge J.M.C.:** *Free Radicals In Biology and Medicine*. 2nd Edition Clarendon Press Oxford, 1989.
  19. **Health statistics, key data on health 2002, Eurostat, 2003.**
  20. **Hetu C., Yelle L., Joly J.G.:** Influence on ethanol on hepatic glutathione content and on the activity of glutathione-S-transferases and epoxide hydrase in the rat. *Drug Metab. Dispos.* 1982, 10, 246.
  21. **Howard L.A., Miksys S., Hoffmann E. et al.:** Brain CYP2E1 is induced by nicotine and ethanol in rat and is higher in smokers and alcoholics. *Br. J. Pharmacol.* 2003, 138, 1376.
  22. **Husain K., Scott B.R., Reddy S.K. et al.:** Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defense system. Department of Pharmacology, Southern Illinois University School of Medicine, Springfield, IL, USA, 2001.
  23. **Kelly G.S.:** The interaction of cigarette smoking and antioxidants. Part I: diet and carotenoids – Smoking & Carotenoids. *Altern. Med. Rev.* 2002, 7, 370.
  24. **Ketteter B.:** Protective role of glutathione and glutathione transferases in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat. Res.* 1988, 202, 343.
  25. **Kleinbongard P., Rassaf T., Dejam A. et al.:** Griess method for nitrite measurement of aqueous and protein-containing samples. *Methods Enzymol.* 2002, 359, 158.
  26. **Listovsky I., Abramovitz M., Homma H. et al.:** Intracellular binding and transport of hormones and xenobiotic by glutathione-S-transferases. *Drug Metabol. Rev.* 1998, 19, 305.
  27. **Little H.J.:** Behavioral Mechanisms Underlying the Link Between Smoking and Drinking. *Alcohol Res. Health* 2000, 24, 215.
  28. **Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. et al.:** Protein measurements with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* 1951, 193, 265.
  29. **Luchese C., Pinton S., Noqueira C.W.:** Brain and lungs of rats are differently affected by cigarette smoke exposure: antioxidant effect of an organoselenium compound. *Pharmacol. Res.* 2009, 59, 194.
  30. **Marszałek A.:** Choroby tytoniowe – rola lekarza (patologa) w działaniach diagnostycznych i prewencyjnych. *Katedra i Zakład Patomorfologii Klinicznej Collegium Medicum Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Bydgoszcz, 2007.*
  31. **Melloni B., Lefebvre M.A., Bonnaud F. et al.:** Antioxidant activity in bronchoalveolar lavage fluid from patients with lung cancer. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997, 154, 1706.
  32. **Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A. i wsp. (Red. F. Kokot):** *Biochemia Harpera*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, Polska, 1995.
  33. **Papas A.M.:** Determinants of Antioxidant Status in Humans. *Lipids* 1996, 31, 77.
  34. **Piekutowski K., Roszkowski K.:** Wolne rodniki tlenowe. Ochronne działanie witamin antyoksydacyjnych w prewencji i leczeniu nowotworów. *Współcz. Onkol.* 1999, 4, 143.
  35. **Re R., Pellegrini N., Proteggente A. et al.:** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 1999, 26, 1231.
  36. **Ribiere, C., Hinginer, I., Rouach, H. et al.:** Effects of chronic ethanol administration on free radical defence in rat myocardium. *Biochem. Pharmacol.* 1992, 44, 1495.
  37. **Romero F.J.:** Antioxidant in peripheral nerve. *Free Radic. Biol. Med.* 1996, 20, 925.
  38. **Rubin E.:** The chemical pathogenesis of alcohol-induced tissue injury. *Alcohol Health Res. World* 1993, 17, 272.
  39. **The European Tobacco Control Report, World Health Organisation, 2007.**
  40. **Uzun H., Simsek G., Aydin S. et al.:** Potential effects of L - NAME on alcohol – induced oxidative stress. *Word J. Gastroenterol.* 2005, 11, 600.
  41. **Van Hoydonck P.G., Temme E.H., Schouten E.G.:** Serum bilirubin concentration in Belgian population: the association with smoking status and type of cigarettes. *Int. J. Epidemiol.* 2001, 30, 1465.
  42. **Wang J.F., Greenberg S.S., Spitzer J.J.:** Chronic alcohol administration stimulates nitric oxide formation in the rat liver wit or without pretreatment by lipopolysaccharide. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 1995, 19, 387.
  43. **Zima T., Fialova L., Mestek O. et al.:** Oxidative Stress, Metabolism of Ethanol and Alcohol-Related Diseases. *J. Biomed. Sci.* 2001, 8, 59.