

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Metabolismus etanolu, enzymatické poruchy a toxické důsledky

Nikola Kostková

Bakalářská práce

2019

University of Pardubice  
Faculty of Chemical Technology

Metabolism of ethanol, enzymatic disorders and toxic effects

Nikola Kostková

Bachelor thesis

2019

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2018/2019

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Nikola Kostková**  
Osobní číslo: **C16251**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Název tématu: **Metabolismus etanolu, enzymatické poruchy a toxické  
důsledky**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Vypracovat teoretickou rešerši týkající se užití etanolu a důsledkům, které vznikají po jeho požití.
2. V první části popsat jednotlivé kroky metabolismu etanolu.
3. Druhou část věnovat popisu enzymatických poruch, které se mohou vyskytovat u některých jedinců.
4. Třetí část věnovat podrobnému popisu toxických důsledků etanolu na jednotlivé části organismu.
5. V poslední části stručně zhodnotit aktuální situaci požívání alkoholu v ČR a ve světě.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**  
Seznam odborné literatury:


Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Katarína Vorčáková, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **21. prosince 2018**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**



Ing. Petr Kalenda, Ph.D.  
děkan

L.S.



prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 28. 6. 2019

Nikola Kostková

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych touto cestou poděkovala Mgr. Kataríně Vorčákové, Ph.D. za odborný dohled nad mojí bakalářskou prací, cenné rady a poznatky, trpělivost a především za čas, který mi věnovala. Dále děkuji svým rodičům a přátelům za podporu po celou dobu studia.

## **ANOTACE**

Bakalářská práce se zaměřuje na fungování metabolismu etanolu v organismu a vysvětluje, jakými způsoby se etanol odbourává.

V další části se práce zabývá popisem poruch a genetických polymorfismů, které se vyskytují na celém světě a liší se u jednotlivých populací. Vysvětluje, jaké následky mají jednotlivé polymorfismy.

V závěru se věnuje toxickým důsledkům, které vznikají chronickou konzumací alkoholu. Popisuje některá závažná onemocnění vyvíjející se u jednotlivců závislých na alkoholu.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Etanol; alkoholdehydrogenáza; aldehyddehydrogenáza; genetický polymorfismus

## **TITLE**

Metabolism of Ethanol, enzymatic disorders and toxic effects

## **ANNOTATION**

The thesis is focused on the working of ethanol metabolism in the human body and its degradation pathways.

Disorders and genetic polymorphisms, which occur in the whole world and vary in each population, are described in the next part. This part explains consequences of each polymorphism.

The end of the thesis is about toxic consequences that rise from a chronic alcohol consumption. It also described some of severe diseases that are developed amongst people addicted to the alcohol.

## **KEYWORDS**

Ethanol; alcohol dehydrogenase; aldehyde dehydrogenase; genetic polymorphism

# OBSAH

Úvod.....	13
1 Metabolismus etanolu.....	14
1.1 Alkoholdehydrogenáza .....	15
1.2 Mikrozomální etanolový oxidační systém .....	15
1.3 Kataláza.....	16
1.4 Neoxidativní systém.....	16
1.5 Acetaldehyddehydrogenáza .....	17
1.6 Energetický výtěžek .....	18
2 Enzymatické poruchy a polymorfismus .....	19
2.1 ADH.....	19
2.1.1 Třída I .....	20
2.1.1.1 ADH1A .....	21
2.1.1.2 ADH1B .....	21
2.1.1.3 ADH1C .....	22
2.1.1.4 Rozdíly mezi ADH1B a ADH1C .....	22
2.1.2 Třída II .....	23
2.1.3 Třída III.....	23
2.1.4 Třída V .....	23
2.1.5 Třída IV.....	23
2.2 ALDH.....	23
2.2.1 ALDH1 .....	25
2.2.2 ALDH2 .....	25
2.3 Enzymy P450 .....	26
2.4 Kataláza.....	27
3 Toxické důsledky.....	28
3.1 Akutní účinky etanolu vznikající ze zvýšeného poměru NADH/NAD <sup>+</sup> .....	28
3.1.1 Alkoholická hypoglykémie, laktátová acidóza a ketoacidóza .....	30
3.1.1.1 Hypoglykémie .....	30
3.1.1.2 Laktátová acidóza.....	30
3.1.1.3 Ketoacidóza.....	30
3.1.1.4 Hyperlipidemie.....	31
3.2 Fetální alkoholový syndrom.....	31
3.3 Alkoholové poškození jater.....	33



3.3.1	Steatóza.....	34
3.3.2	Steatohepatitida.....	35
3.3.3	Fibróza .....	36
3.3.4	Cirhóza.....	37
3.4	Alkoholická pankreatitida .....	39
3.5	Alkohol a rakovina .....	41
3.5.1	Rakovina horního aerodigestivního traktu.....	42
3.5.2	Rakovina jater .....	42
3.5.3	Rakovina tlustého střeva a konečníku .....	43
3.5.4	Rakovina prsu .....	43
3.6	Vitaminový deficit .....	44
3.6.1	Deficit thiaminu .....	44
3.6.2	Deficit vitamínu A .....	46
4	Závěr.....	47
5	Seznam použité literatury .....	48

## SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Obrázek 1: Metabolické dráhy etanolu .....	14
Tabulka 1: Enzymy podílející se na katabolismu etanolu .....	15
Obrázek 2: Metabolické působení ADH.....	15
Obrázek 3: Metabolické působení MEOS .....	16
Obrázek 4: Metabolické působení katalázy .....	16
Obrázek 5: Metabolické působení ALDH .....	17
Obrázek 6: Hlavní cesta metabolismu etanolu a využití acetátu svalstvem .....	17
Obrázek 7: Přeměna acetátu na acetyl-CoA .....	18
Tabulka 2: Vliv genetických variant na citlivost k alkoholu .....	19
Tabulka 3: Rozdělení alkoholdehydrogenáz.....	20
Tabulka 4: Geny kódované alkoholdehydrogenázami.....	24
Tabulka 5: Významné alelické varianty genu ALDH podílející se na metabolismu acetaldehydu u lidí .....	24
Obrázek 8: Akutní účinky metabolismu etanolu na metabolismus lipidů v játrech .....	29
Obrázek 9: Princip vzniku ketoacidózy .....	31
Obrázek 10: Typické rysy obličeje u dítěte s FAS .....	32
Obrázek 11: Stádia onemocnění jater .....	33
Obrázek 12: Potenciální mechanismy, které jsou základem steatózy.....	34
Obrázek 13: Mechanismy podporující zánět u ASH .....	36
Obrázek 14: Mechanismus transketolázy v pentózovém cyklu.....	45

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

$\alpha$ -KGDH	$\alpha$ -ketoglutarátdehydrogenáza
Acetyl-coA	acetylkoenzym A
ACh	acetylcholin
ADH	alkoholdehydrogenáza
ALDH	aldehyddehydrogenáza
ALT	alaninaminotransferáza
AMK	aminokyselina
AMPK	AMP-aktivovaná proteinkináza
AP-1	aktivující protein 1
Arg	arginin
ASH	alkoholická steatohepatitida
AST	aspartátaminotransferáza
ATP	adenosintrifosfát
CCK	cholecystokinin
CNS	centrální nervový systém
CRC	kolorektální rakovina
Cys	cystein
DNA	deoxyribonukleotidová kyselina
ECM	extracelulární matrix
ER	endoplazmatické retikulum
FAS	fetální alkoholový syndrom
GABA	gama-aminomáselná kyselina
GGT	gama-glutamyltransferáza
Gln	glutamin
His	histidin
Ile	izoleucin
$K_M$	Michaelisova konstanta
MEOS	mikrozomální etanolový oxidační systém
MK	mastná kyselina
NADH	nikotinamidadenindinukleotid
NADPH	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NF- $\kappa$ B	nukleární faktor $\kappa$ B

PDH	pyruvátdehydrogenáza
ROS	reaktivní formy kyslíku
RR	relativní riziko
SNP	jednonukleotidový polymorfismus
TGF- $\beta$	transformující růstový faktor $\beta$
TLR4	Toll-like receptor 4
TNF- $\alpha$	tumor nekrotizující faktor $\alpha$
Val	valin
VLDL	lipoprotein s velmi nízkou hustotou
WE	Wernickeho encefalopatie

## Úvod

Etanol, známý také jako etylalkohol, je jedním z alkoholů, které jsou charakterizovány přítomností hydroxylové skupiny (OH) v molekule. Jedná se o čirou bezbarvou kapalinu, která je známá jako rozpouštědlo mísící se neomezeně s vodou a dalšími organickými rozpouštědly, germicid, nemrzoucí směs apod. Dále se používá jako přísada do nápojů. Je běžnou složkou vína, piva a destilovaných lihovin. Pro lidi požívající alkoholické nápoje ve velkém množství je také významným zdrojem energie. Obsah kalorií v etanolu je přibližně 7 kcal/g, což se pohybuje mezi hodnotou glukózy (4 kcal/g) a tuku (9 kcal/g) [1, 2, 3, 4].

Etanol se získává zkvašováním sacharidů nebo hydratací etylenu. Působí excitačně a omamně [3].

V klinických toxikologických a chemických laboratořích se etanol určuje v séru nebo plazmě, ale ne v plné krvi. Vzhledem k tomu, že řada hodnotících kritérií obvykle odkazuje na koncentraci v g/kg (‰) v plné krvi, můžou se výsledky lišit. Proto se pro výpočet koncentrace alkoholu v krvi, kde se gram etanolu na kilogram plné krve značí ‰, využívá jednotný vzorec [5].

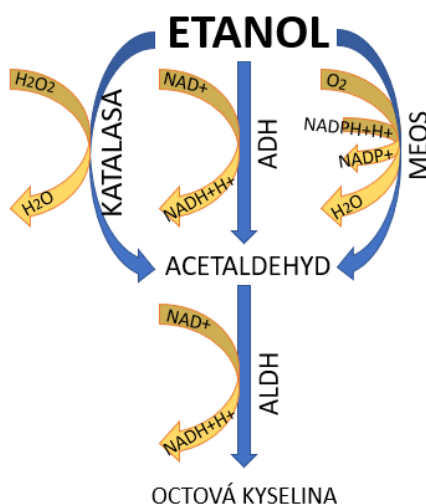
Průměrná denní spotřeba u osob pijících alkohol se pohybuje okolo 33 gramů čistého alkoholu denně. Toto množství odpovídá 2 sklenicím (150 ml) vína, nebo 750ml láhvi piva, nebo velkému panáku (40 ml) tvrdšího alkoholu. Největší spotřeba alkoholu (45 %) je ve formě lihovin. Na druhém místě (34 %) je pivo a za ním následuje víno (12 %) [6].

Dle Světové zdravotnické organizace (WHO) zemřelo v roce 2016 více než 3 miliony lidí v důsledku užívání alkoholu, což připadá na 1 z 20 úmrtí. Více než tři čtvrtiny těchto úmrtí byly u mužů. Ze všech úmrtí souvisejících s alkoholem bylo 28 % způsobeno zraněním (dopravní nehody, sebepoškození, násilí), 21 % způsobeno poruchami trávení, 19 % v důsledku kardiovaskulárních chorob a zbytek kvůli infekčním onemocněním, rakovinám, duševním poruchám a dalšími [6].

# 1 Metabolismus etanolu

Vzhledem k tomu, že je etanol malá molekula rozpustná ve vodě i tucích, je snadno vstřebávána pasivní difúzí ze střeva. Malé procento požitého etanolu (0–5 %) vstupuje do žaludečních mukózních buněk horního gastrointestinálního traktu, kam patří jazyk, dutina ústní, jícen a žaludek, a tam dochází k metabolismu. Zbylé množství vstupuje do krve. Z toho je 85–98 % metabolizováno v játrech a 2–10 % je vylučováno plícemi a ledvinami [7].

Principem metabolismu etanolu jsou 2 kroky znázorněné na obrázku 1 – oxidace alkoholu na acetaldehyd a následná oxidace acetaldehydu na acetát. Existují 3 enzymatické systémy, které se podílí na prvním kroku a oxidují etanol na acetaldehyd, a to alkoholdehydrogenáza (ADH), mikrozomální etanolový oxidační systém (MEOS) a kataláza. V druhém kroku je acetaldehyd, vzniklý výše uvedenými mechanismy, pomocí  $\text{NAD}^+$  dependentní aldehyddehydrogenázy (ALDH) dále oxidován na acetát. Tyto 4 enzymatické systémy jsou vyznačené v tabulce 1 [4].



Obr. 1: Metabolické dráhy etanolu (převzato a upraveno z [4])

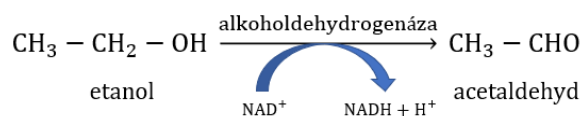
Každý z enzymů podílejících se na metabolismu etanolu (ADH, ALDH, CYP2E1) obsahuje podskupinu izoenzymů. Jejich množství ovlivňuje několik faktorů, jako je rychlost clearance etanolu z krve, stupeň opojení jednotlivce a individuální náchylnost k alkoholu [7].

Tab. 1: Enzymy podílející se na katabolismu etanolu (převzato a upraveno z [7])

Enzym	Subcelulární lokalizace	Podíl na katabolismu (%)
Alkoholdehydrogenáza	Cytoplazma	90–95
Mikrozomální etanol-oxidující systém	Endoplazmatické retikulum	10–20
Kataláza	Peroxisom	2
Aldehyddehydrogenáza	Mitochondrie Cytoplazma	100

## 1.1 Alkoholdehydrogenáza

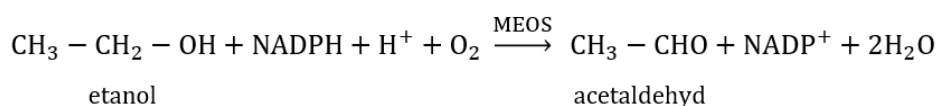
Hlavní cesta metabolismu etanolu v játrech vede přes jaterní alkoholdehydrogenázu, enzym přítomný v cytosolu oxidující etanol na acetaldehyd za vzniku NADH (viz obr. 2). Acetaldehyd je velmi reaktivní molekula schopna tvořit adukty s proteiny, nukleovými kyselinami a dalšími molekulami. Právě tato schopnost reagovat s různými molekulami se podílí na výskytu toxických účinků etanolu. Pokud nedojde k odstranění acetaldehydu metabolismem, může vstoupit do krve a působit toxicky i na jiné tkáně. Vzniklé NADH může být využito v mitochondriích pro syntézu ATP [4, 7, 8].



Obr. 2: Metabolické působení ADH (převzato a upraveno z [8])

## 1.2 Mikrozomální etanolový oxidační systém

Přibližně 10–20 % spotřebovaného etanolu je oxidováno mikrozomálním etanolovým oxidačním systémem, který také oxiduje etanol na acetaldehyd (viz obr. 3). MEOS obsahuje enzymy cytochromu P450, konkrétně oxidázový izoenzym CYP2E1. CYP2E1 má pro etanol mnohem vyšší hodnotu Michealisovy konstanty  $K_M$  (11 mmol/l) než alkoholdehydrogenáza (0,05–4 mmol/l) a MEOS vykazuje svoje funkce pouze při vyšších koncentracích etanolu, tudíž až při nadměrné a chronické konzumaci alkoholu. Při chronickém alkoholismu může také zvyšovat metabolickou jaterní clearanci. MEOS zajišťuje snášenlivost při opakovaném požívání alkoholu [4, 7, 8, 9].

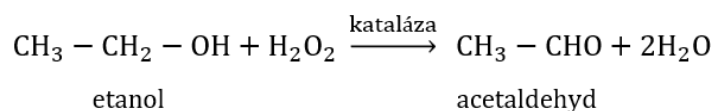


*Obr. 3: Metabolické působení MEOS. (převzato a upraveno z [4])*

Enzymy cytochromu P450 mají dvě hlavní katalytické bílkovinné složky – elektronový donorový reduktázový systém, který přenáší elektrony z NADPH, a bílkovinu cytochromu P450, která obsahuje vazebná místa pro O<sub>2</sub> a substrát (např. etanol) a provádí reakci. CYP2E1 tedy využívá NADPH jako donor a O<sub>2</sub> jako akceptor elektronů [4, 7].

### 1.3 Kataláza

Kataláza je všudypřítomný enzym se schopností oxidace etanolu. Podíl katalázy na metabolismu etanolu je však minimální. K oxidaci kataláza využívá peroxid vodíku, jenž získává především z katabolismu purinů nebo ze sekvenčních účinků NADPH oxidázy a superoxiddismutázy. Reakce je znázorněna na obrázku 4 [4].



*Obr. 4: Metabolické působení katalázy (převzato a upraveno z [4])*

### 1.4 Neoxidativní systém

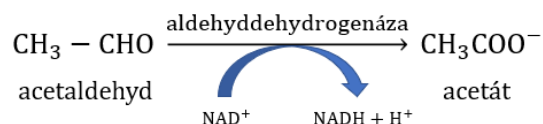
Kromě hlavních oxidačních cest je etanol také metabolizován, ač v menší míře, neoxidativní cestou. Tato dráha je katalyzována syntázou etylesterů mastných kyselin (MK). Vede tedy k tvorbě etylesterů mastných kyselin a probíhá primárně v játrech a slinivce břišní, které jsou vysoce citlivé na toxické účinky alkoholu [10, 11].

Etylestery mastných kyselin mohou interferovat nezávisle na acetaldehydu s fyziologickou funkcí srdce. Ačkoliv je množství mastných kyselin v srdečním svalu malé, po konzumaci alkoholu se může koncentrace etylesterů mastných kyselin zvýšit až 115 000x. Akumulace těchto látek je schopna snížit index respiračního kontrolního poměru vazby oxidační fosforylace a maximální rychlosti spotřeby kyslíku, což vysvětluje zhoršenou mitochondriální funkci a neefektivní produkci energie spojenou s toxickými účinky etanolu na srdce [12].



## 1.5 Acetaldehyddehydrogenáza

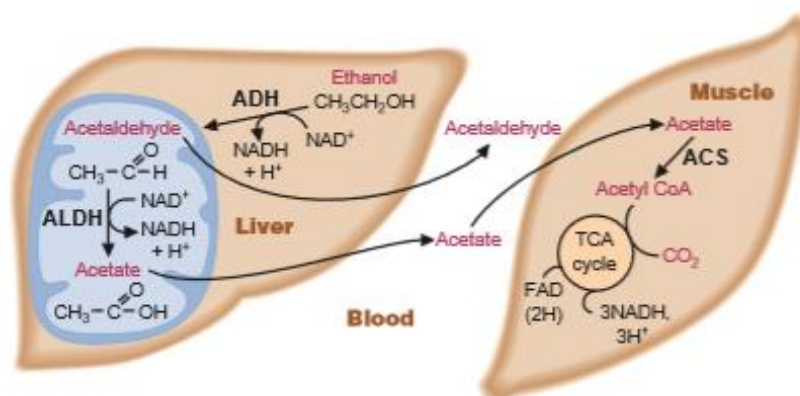
Přibližně 90 % acetaldehydu, který vzniká, se dále v játrech metabolizuje na acetát pomocí mitochondriálního enzymu aldehyddehydrogenázy. Současně vzniká i NADH. Průběh reakce je na obrázku 5 [7].



Obr. 5: Metabolické působení ALDH (převzato a upraveno z [7])

Acetát, který již toxický není, může být v játrech aktivován acetátovou thiokinázou (acetyl-CoA syntetázou) na acetylkoenzym A (acetyl-CoA), a pak může vstoupit do citrátového cyklu (viz obrázek 6), či se stát součástí cest pro syntézu mastných kyselin a cholesterolu. Nicméně většina vzniklého acetátu vstupuje do krve a v kosterních svalech či jiných tkáních je aktivován opět na acetyl-CoA [7].

Zvýšení poměru NADH/NAD<sup>+</sup> způsobuje zvýšení poměru laktát/pyruvát [8].

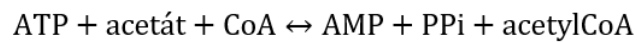


Obr. 6: Hlavní cesta metabolismu etanolu a využití acetátu svalstvem [7]

Acetát je obecně považován za netoxický a je normální složkou stravy. Normální fyziologické zdroje acetátu zahrnují bakteriální fermentaci stravy s vysokým obsahem vlákniny. Tento intestinální acetát vstupuje do portálního oběhu a je vychytáván játry, kde je přeměněn na acetyl-CoA. Intracelulární tvorba acetátu je důsledkem všudypřítomně exprimovaného cytosolového enzymu acetyl-CoA hydrolázy. Acetát pak může být zachráněn reaktivací na acetyl-CoA. V nervovém systému je neurotransmitter acetylcholin (ACh) degradován na acetát pomocí acetylcholinesterázy. Za účelem doplnění zásoby ACh musí být acetát reaktivován na acetyl-CoA tak, aby se mohl podílet na reakci, kde je cholin katalyzován acetyltransferázou. Acetát je také působením histonových deacetyláz tvořen v jádrech všech

buněk. Stejně jako jiné zdroje acetátu musí být i tento jaderný acetát reaktivován dříve, než by došlo k oxidaci či jeho opětovnému využití. Po konzumaci etanolu mohou být hladiny acetátu až 20x zvýšeny [7, 10].

Acetát, vzniklý z jakéhokoliv zdroje, je konvertován acetyl-CoA syntetázami na acetyl-CoA (viz obr. 7) [10].



*Obr. 7: Přeměna acetátu na acetyl-CoA [10]*

## 1.6 Energetický výtěžek

Výtěžek adenosintrifosfátu (ATP) získaný oxidací etanolu na acetát je různý dle drah metabolismu etanolu [7].

Pokud je etanol oxidován cestou cytosolové ADH a dále mitochondriální ALDH, vznikají 2 NADH s maximálním výtěžkem 5 molekul ATP. Oxidací acetyl-CoA v Krebsově (citrátovém) cyklu a v elektronovém transportním řetězci (součást dýchacího řetězce) dochází k tvorbě 10 fosfátových vazeb. Musí se odečíst 2 vysokoenergetické fosfátové vazby, neboť je vyžaduje aktivace acetátu na acetyl-CoA. Maximální výtěžek je tedy 13 molekul ATP na 1 molekulu etanolu a odpovídá kalorické hodnotě etanolu (přibližně 7 kcal/g) [7].

Oxidace etanolu přes MEOS (pomocí CYP2E1) spotřebovává energii ve formě NADPH odpovídající hodnotě 2,5 ATP. Tato ztráta se vyvažuje vznikem NADH za pomoci aldehyddehydrogenázy. 10 ATP se získá oxidací acetyl-CoA v Krebsově cyklu a 2 ATP se spotřebuje pro aktivaci acetátu. Touto cestou je energetický výtěžek menší, poněvadž může být vytvořeno maximálně 8 molekul ATP na 1 molekulu etanolu [7].

## 2 Enzymatické poruchy a polymorfismus

Zatímco konkrétních poruch enzymů nebylo doposud zaznamenáno příliš mnoho, mutací a polymorfismů genů kódujících enzymy, které metabolizují alkohol, byla charakterizována celá řada. Genetické polymorfismy ovlivňují hladinu alkoholu v krvi a některé mohou chránit jedince před alkoholismem [4, 13].

Vzhledem k tomu, že polymorfismy ADH a ALDH2 hrají důležitou roli při určování maximálních hladin acetaldehydu v krvi a dobrovolné konzumaci etanolu, ovlivňují taktéž náchylnost ke vzniku závislosti na alkoholu. Očekává se, že rychlá aktivita ADH nebo pomalá aktivita ALDH zvýší hladinu acetaldehydu a sníží tak míru pití alkoholu. Aktivita izoenzymů ADH a ALDH také ovlivňuje prevalenci poškození tkáně způsobeného alkoholem. Alkoholická cirhóza je snížena o více než 70 % u populací nesoucí alelu ALDH2\*2. Pozitivní korelace se vyskytuje u genetických polymorfismů s málo aktivní ADH a ALDH a u rakoviny jícnu, hlavy a krku. Mírní konzumenti alkoholu jsou homozygotní pro pomalu oxidující alelu ADH1C\*2 a předpokládá se u nich, že pijí alkohol ve vyšších koncentracích než pacienti s alelou ADH1C\*1, zároveň však mají podstatně nižší riziko srdečního infarktu. Pozitivní a negativní vlivy jednotlivých alel jsou zapsány v tabulce 2 [10].

Tab. 2: Vliv genetických variant na citlivost k alkoholu [14]

Obranné účinky při konzumaci alkoholu	Může zvýšit riziko vzniku alkoholismu
ALDH2*2	ADH1B*1
ADH1B*2	ADHC2*1
kombinace ALDH2*2 a ADH1B*2	ALDH2*1
ADH1B*3	
ADHC*1	

Pohlavní rozdíly a genetické varianty v enzymech zodpovědných za metabolismus etanolu mohou být příčinou některých individuálních odlišností v toleranci alkoholu. Ženy před menopauzou mají obvykle nižší hladiny žaludeční ADH než muži. Nižší hladina žaludeční ADH, stejně jako rozdíly ve velikosti a celkovém tělesném prostoru, je u žen příčinou nižší tolerance vůči etanolu oproti mužům [4].

### 2.1 ADH

U lidí existuje více izoforem alkoholdehydrogenázy, které jsou kódovány sedmi různými geny. Všechny sedm genů sídlí v oblasti 365kbp na chromozomu 4q23. Funkční ADH

se vyskytuje buď jako homo, nebo heterodimer, a aktivní enzymy se dělí do pěti tříd označených I-V (viz tabulka 3) [10].

Většina variant ADH genů zahrnuje polymorfismus s jedním nukleotidem (SNP). Některé z těchto variant se vyskytují v části genu, který je zodpovědný za kódování proteinu – takové SNP se nazývají „kódující variace“, které mohou vést ke generování ADH enzymů se změněnými aktivitami. Některé varianty se však mohou vyskytovat v nekódujících oblastech genu. Takové změny se nazývají „nekódující variace“, ale mohou taktéž ovlivňovat expresi genu [13].

Tab. 3: Rozdělení alkoholdehydrogenáz [10]

Název genu/alely	Třída	Název proteinu	$K_M$ pro etanol (mmol/l)	Výskyt
ADH1A	I	$\alpha$	4	játra
ADH1B*1		$\beta_1$	0,05	
ADH1B*2		$\beta_2$	0,9	
ADH1B*3		$\beta_3$	40	
ADH1C*1		$\gamma_1$	1	
ADH1C*2		$\gamma_2$	0,6	
ADH4	II	$\pi$	30	játra, rohovka
ADH5	III	X	>1000	široký výskyt
ADH6	V	ADH6	neznámé	játra, žaludek
ADH7	IV	$\sigma$	30	játra, žaludek

### 2.1.1 Třída I

Alkoholdehydrogenázy, jež vykazují největší specifitu vůči etanolu, jsou ze třídy I. Enzymy této třídy jsou kódovány třemi geny, které se vyskytují v různých alelových variantách (polymorfismy). Tyto geny se nazývají ADH1A (známé také jako ADH1), ADH1B (ADH2) a ADH1C (ADH3). Vyskytují se ve velkém množství v játrech, proto se označují jako jaterní alkoholdehydrogenázy [7, 10].

Enzymy třídy I kódované geny ADH1A, ADH1B a ADH1C hrají nejdůležitější roli v metabolismu etanolu. Vyjma ADH1B\*3 mají velmi nízkou Michealisovu konstantu pro etanol (0,05–4 mmol/l), to znamená, že mají vysokou afinitu a kapacitu pro etanol v nízkých koncentracích. Játra jsou tedy hlavním místem metabolismu etanolu a tvorby toxického

metabolitu acetaldehydu. Jsou schopné mezi sebou vytvářet homodimery a heterodimery, avšak žádná ADH ze třídy I nemůže tvořit dimery s ADH tříd II, III, IV a V [7, 10, 13].

Dva ze tří enzymů této třídy vykazují genetický polymorfismus – existují 3 různé alely pro ADH1B a 2 pro ADH1C. Enzymy kódované alelami ADH1B\*2, ADH1B\*3 a ADH1C\*1 mají větší enzymatickou aktivitu, což naznačuje rychlejší oxidaci etanolu na acetaldehyd [11].

#### 2.1.1.1 ADH1A

O kódování variací v genu ADH1A neexistují žádné zprávy [13].

#### 2.1.1.2 ADH1B

Existují tři různé ADH1B alely měnící aminokyselinovou (AMK) sekvenci kódované  $\beta$  podjednotky. Referenční alela pro ADH1B gen je ADH1B\*1. Tato alela kóduje  $\beta_1$  podjednotku ADH enzymu, která má arginin (Arg) v polohách 48 a 370. Běžný polymorfismus alely ADH1B\*2 kódující  $\beta_2$  podjednotku má aminokyselinu histidin (His) na pozici 48. Polymorfismus alely ADH1B\*3, která kóduje  $\beta_3$  podjednotku, má v poloze 370 místo argininu cystein (Cys). V podjednotkách  $\beta_2$  a  $\beta_3$  se AMK substituce vyskytují v té aminokyselině, jež je v kontaktu s koenzymem  $\text{NAD}^+$ , který je potřebný pro oxidaci etanolu. V obou případech způsobují substituce ty enzymy, které mají 70–80x větší rychlost přeměny než podjednotka  $\beta_1$ , protože koenzym je uvolňován mnohem rychleji na konci reakce [13, 15].

Referenční alela ADH1B\*1 (divoký typ) je převažující alela pozorovaná na celém světě u bělochů, domorodých Američanů a lidí afrického původu, ale je málo běžná u východních Asiatů. Tato alela je spojena s trojnásobně vyšším rizikem k alkoholismu, než je alela ADH1B\*2, protože alelu ADH1B\*2 kóduje enzym s větší rychlostí oxidace etanolu [11, 13].

Přestože je ADH1B\*1 převažující alelou ve většině populací, alela ADH1B\*2 se může vyskytovat až v 90 % u některých asijských populací. ADH1B\*2 alela, která je spojena s obzvláště rychlou oxidací etanolu, prokázala ochranné účinky proti závislosti na alkoholu u různých populací. Ve východní Asii, kde je tento polymorfismus zastoupen ve velké míře, je protektivní proti alkoholismu. U evropských nebo afrických populací však tato alela není příliš běžná, vyskytuje se v nízké frekvenci, a to přibližně v 5 %. I mezi lidmi židovského původu je tato alela nalezena v malých frekvencích. Tato alela se více vyskytuje u abstinentů a mírných konzumentů a snižuje riziko nadměrného pití a riziko alkoholismu. Celkově se zdá, že ochranný účinek této alely je v evropských populacích slabší než u asijské populace [11, 15].

Oproti tomu se alela ADH1B\*3 nalézá téměř výhradně u lidí afrického původu a domorodých Američanů a u jiných populací může být pouze výjimečně. Má tedy významný ochranný účinek vůči vzniku závislosti na alkoholu u afroamerických rodin. Dále má ochranný

účinek mezi indiány jihozápadní Kalifornie. Jedná se o alelu vyskytující se především u abstinentů či mírných konzumentů. Alela ADH1B\*3 je spojena s ochranou proti fetálnímu alkoholovému syndromu (FAS) [11, 13, 15].

Izoenzymy ADH kódované alelami ADH1B\*2 nebo ADH1B\*3 jsou superaktivní enzymy (vzhledem k výrazně vyšší rychlosti přeměny těchto enzymů), což vede k 30–40násobnému zvýšení metabolismu etanolu ve srovnání s normálně fungujícími enzymy kódovanými geny divokého typu ADH1B\*1. V důsledku toho se může v krvi vytvořit acetaldehyd způsobující nežádoucí účinky po užití alkoholu. To odrazuje lidi, kteří takové alely nesou, od konzumace alkoholu [13].

#### 2.1.1.3 ADH1C

U genu ADH1C existují také tři alely. Tyto polymorfismy vedou ke změně AMK sekvence v podjednotce  $\gamma$ . ADH1C\*1 kóduje podjednotku  $\gamma_1$ , která má Arg v poloze 272 a izoleucin (Ile) v poloze 350. ADH1C\*2 kóduje podjednotku  $\gamma_2$ , která vykazuje dva rozdíly v porovnání s ADH1C\*1, a to, že v poloze 272 kóduje glutamin (Gln) a v poloze 350 valin (Val). Téměř ve všech případech se tyto dva SNP vyskytují společně (kvůli velmi vysoké vazebné nerovnováze). ADH složená ze dvou podjednotek  $\gamma_1$  (tj. homodimerní enzym  $\gamma_1\gamma_1$ ) má rychlost obratu, která je přibližně o 70 % vyšší než rychlost enzymu  $\gamma_2\gamma_2$ . ADH1C\*Thr352 kóduje podjednotku s threoninem v poloze 352 [13, 15].

Alela ADH1C\*1 má u asijských populací také ochranné účiny proti alkoholismu. Tato ochrana však může být připočítána skutečnosti, že je tato alela obvykle ko-dědičná s ochrannou alelou ADH1B\*2 [15].

#### 2.1.1.4 Rozdíly mezi ADH1B a ADH1C

Rozdíly v AMK sekvencích kódovaných různými alelami ADH1B a ADH1C vedou k odlišnostem v predikovaných rychlostech metabolismu etanolu v játrech. Na základě kinetických vlastností různých variant a odhadovaného obsahu enzymů ADH v játrech byla vypočtena kontribuce schopnosti různých ADH enzymů oxidovat etanol [15].

Přítomnost alely ADH1C\*2 je spojena s mírně sníženou oxidační kapacitou, zatímco přítomnost alel ADH1B\*2 a ADH1B\*3 je spojena s podstatně vyšší oxidační kapacitou (to znamená rychlejší oxidací etanolu na acetaldehyd). Tyto výpočty jsou však hrubé aproximace, protože se předpokládá, že různé alely jsou vyjádřeny na stejných úrovních. Ve skutečnosti jiné faktory, včetně velikosti jater a rozdílů v genové expresi, mohou vést k rozdílům i mezi jedinci nesoucími stejné alely (jedinci se stejným genotypem) [15].

### 2.1.2 Třída II

ADH třídy II mají střední  $K_M$  pro etanol a hrají méně důležitou roli oproti ADH I. třídy. Jejich role je důležitá zejména při vysoké koncentraci etanolu v krvi. V důsledku zvyšování koncentrace etanolu v játrech přispívá izoforma  $\pi$ -ADH kódována genem ADH4 k celkové oxidaci etanolu. Geny této třídy jsou primárně exprimovány v játrech a v menším množství také v dolním gastrointestinálním traktu [7, 10, 11, 13].

### 2.1.3 Třída III

Gen ADH5 je všudypřítomný a kóduje podjednotku  $\chi$ . Kódovaný protein funguje jako formaldehyddehydrogenáza a má malou afinitu k etanolu, jak je patrné z extrémně vysoké hodnoty  $K_M$  uvedené v tabulce 3. Hlavní funkcí toho enzymu je oxidace formaldehydu na kyselinu mravenčí a ukončení signalizace oxidu dusnatého. Jedná se o jediný enzym detekovaný v mozku. Při celkovém metabolismu etanolu má malou roli, přispívá mu při prvním průchodu žaludkem, kde se po konzumaci alkoholu obvykle nalézají vysoké koncentrace etanolu [10, 11, 13, 15].

### 2.1.4 Třída V

Gen ADH6 produkuje mRNA, která je přítomna v játrech plodu i dospělých jedinců. Katalytická aktivita tohoto enzymu je vzhledem k jeho labilní povaze neznámá [13, 15].

### 2.1.5 Třída IV

Gen ADH7 kóduje  $\sigma$ -ADH, což přispívá k oxidaci etanolu i retinolu. Tento enzym je schopný přeměnit retinol na retinal, stejně jako etanol na acetaldehyd. Vykazuje špatné katalytické vlastnosti etanolu. Může být však zapojen do metabolismu etanolu při prvním průchodu žaludkem [11, 13, 15].

## 2.2 ALDH

Geny, které kódují enzymy ALDH, jsou umístěny na několika různých chromozomech. 19 potenciálně funkčních genů a 3 pseudogeny byly ve skupině genů ALDH identifikovány jako kódující izoenzymy, ale pouze dva z nich, cytosolová ALDH1 (ALDH1A1, 9q21.13) a mitochondriální ALDH2 (12q24.2), se významně účastní metabolismu acetaldehydu. Přehled většiny genů je ukázán v tabulce 4 a přehled významně aktivních genů je v tabulce 5. Více než 80 % reakce oxidace na acetaldehyd je v játrech katalyzováno ALDH2, která má velmi vysokou afinitu k acetaldehydu ( $K_M=0,2$  mol/l). Zbylé množství acetaldehydu je oxidováno ALDH1. Oba geny mají podobnou strukturu obsahující 13 exonů. Proteiny, které kódují, jsou ze 70 % sekvenčně identické [7, 10, 15, 16].

Mutace genů ALDH vedoucí k defektu aldehydového metabolismu jsou molekulárním základem několika onemocnění, mezi které patří  $\gamma$ -hydroxybutyrová acidurie, Sjögren-Larssonův syndrom a hyperprolinémie typu II [13].

Tab. 4: Geny kódované alkoholdehydrogenázami [11]

Gen	Hlavní substrát	Katalytická účinnost acetaldehydu
ALDH1A1	Retinal	Střední ( $K_M$ 50–100 $\mu$ M)
ALDH1A6	Alifatický aldehyd, retinal	
ALDH1A7	Retinal	
ALDH1B1	Propionaldehyd	Vysoká ( $K_M$ 30 $\mu$ M)
ALDH1L1	Folát	
ALDH2	Acetaldehyd	Velmi vysoká ( $K_M > 5\mu$ M)
ALDH3A1	Mastný a aromatický aldehyd	
ALDH3A2	Mastný a aromatický aldehyd	
ALDH3B1	Alifatický a aromatický aldehyd	
ALDH3B2	Není definován	
ALDH4A1	Glutamát- $\gamma$ -semialdehyd	
ALDH5A1	Sukcynyl-semialdehyd	
ALDH6A1	Methylmalonát-semialdehyd	
ALDH7A1	Není definován	
ALDH8A1	Není definován	
ALDH9A1	Aminaldehyde	

Tab. 5: Významné alelické varianty genu ALDH podílející se na metabolismu acetaldehydu u lidí [13]

Třída	Gen	Alela	Poznámka
I	ALDH1A1	ALDH1A1*1	Cytosolová ALDH
		ALDH1A1*2	
		ALDH1A1*3	
II	ALDH2	ALDH2*1	Mitochondriální ALDH, hlavní enzym zodpovědný za metabolismus acetaldehydu
		ALDH2*2	Inaktivní mitochondriální ALDH



### 2.2.1 ALDH1

Enzym cytosolového ALDH1 (kódovaný genem ALDH1A1 umístěným na 9. chromozomu) také přispívá eliminaci acetaldehydu, obzvláště pokud je mitochondriální enzym ALDH2 neaktivní. Tento enzym tedy pomáhá kontrolovat hladinu acetaldehydu u osob majících alelu ALDH2\*2 [14, 15].

Alely genu ALDH1A1 podílející se na metabolismu acetaldehydu jsou tři, a to ALDH1A1\*1, ALDH1A1\*2 a ALDH1A1\*3. Polymorfismus tohoto genu je z části spojen se závislostí na alkoholu. Alela ALDH1A1\*2 je přítomna u Indo-Trinidadciánů a turecké populace, dále ve velmi nízké frekvenci mezi Asiaty, bělochy, židovskými obyvateli a Afroameričany. Lidé nesoucí tuto alelu mají nižší míru závislosti na alkoholu. Alela ALDH1A1\*3 novodobě tvoří trend u afroamerické populace, kde může být indikátorem asociace s alkoholismem, nicméně pro potvrzení tohoto údaje je potřeba ještě více pozorování [13, 14, 15].

Enzym ALDH1B, který je mitochondriální povahy, je kódován genem ALDH1B1 umístěným také na chromozomu 9. Tento gen neobsahuje v kódující sekvenci introny. Existují čtyři běžné varianty chybného ALDH1B1. Účinky těchto variant nebyly zatím dobře prozkoumány [13].

### 2.2.2 ALDH2

Enzym ALDH2 je kódován stejně pojmenovaným genem ALDH2 a je umístěn na 12. chromozomu. Existuje významný polymorfismus genu ALDH2, jehož výsledkem jsou dvě alelické varianty ALDH\*1 a ALDH\*2 [10, 13].

Většina studií genetického polymorfismu ALDH se zaměřila právě na účinky alely ALDH2\*2, která chrání před závislostí na alkoholu, neboť tato mutace vedoucí k substituci lysinu za glutamát v poloze 487 produkuje téměř neaktivní enzym a v důsledku toho se acetaldehyd již neoxiduje na acetát a hromadí se v krvi. Tato alela poskytuje silnou ochranu vůči alkoholismu, zejména u homozygotů této alely. Tato alela poskytuje až 10násobné snížení rizika vzniku závislosti. Pokud je ALDH2\*2 přítomen spolu s ADH1B\*2, má tato kombinace ještě silnější protektivní účinek [13, 14, 15].

Vzhledem k tomu, že je ALDH2 hlavním enzymem metabolismu acetaldehydu a tento enzym mají jedinci nesoucí alelu ALDH2\*2 neaktivní či málo aktivní, dochází k vysoké koncentraci acetaldehydu v krvi i po příjmu malého množství alkoholu. To způsobuje nepříjemné účinky, jako je zvýšení teploty, pokles krevního tlaku, nevolnost, bolest hlavy, návaly horka se zarudnutím obličeje nebo sucho v ústech, které jsou způsobeny akumulací

acetaldehydu. Tento polymorfismus může také zvýšit riziko vzniku ischemické choroby a infarktu myokardu [4, 11, 12, 13].

Varianta ALDH2\*2 je téměř dominantní. To znamená, že lidé nesoucí jednu alelu ALDH2\*1 a jednu alelu ALDH2\*2 (heterozygoti) nemají v podstatě žádnou detekovatelnou aktivitu ALDH2 v játrech stejně jako lidé nesoucí dvě kopie alely ALDH2\*2 (homozygoti). Homozygotnost vede k úplné ztrátě aktivity ALDH2, což způsobuje negativní fyziologickou reakci na alkohol. Tento polymorfismus může jedince odradit od pití a tím je chránit před vznikem závislosti na alkoholu [10, 11, 13, 15].

Inaktivní alela ALDH2\*2 je běžná u lidí čínského a korejského původu, kde může mít až 50% prevalenci. Je výrazně pozorována i mezi Korejci a Vietnamci. Četnost 1–10 % byla zaznamenána u Tibetanů, Mongolů, Thajců, Malajců, Filipínců a tchajwanských domorodců. Tato alela nebyla nalezena mimo populaci východní Asie, to znamená, že zcela chybí u lidí evropské nebo africké populace [11, 13, 15].

Ačkoli má alela ALDH2\*2 ochranný účinek proti alkoholismu, funkční polymorfismus ALDH2\*1 (alela divokého typu) naopak může zvýšit riziko ke vzniku závislosti na alkoholu, neboť funkční enzym může rychle přeměnit acetaldehyd na acetát. Enzym kódovaný genem divokého typu se nachází v různých frekvencích mezi světovou populací [13, 14].

Nežádoucí účinky akumulace acetaldehydu v krvi jsou základem pro léčbu chronických alkoholiků za pomoci inhibitorů klíčového enzymu ALDH2. ALDH inhibitory, jako disulfiram (Antabus) a karbimid vápenatý (Abstem, Temposil), se využívají při prevenci relapsu. Po konzumaci alkoholu způsobují tyto léky vysoké hladiny acetaldehydu v krvi, což má za následek řadu nepříjemných stavů [11, 13].

### 2.3 Enzymy P450

Enzym CYP2E1 je kódován genem CYP2E1 umístěným na chromozomu 10. Genetické polymorfismy byly popsány i v genech CYP2E1. Ačkoli existuje několik polymorfismů, souvislost s alkoholismem a souvisejícími poruchami mají pouze čtyři polymorfismy – CYP2E1\*5B (alela c2), CYP2E1\*6 (alela C), CYP2E1\*1B (alela A1) a CYP2E1\*1D (alela IC) [13].

Nosiče alely c2 mají často zvýšené riziko onemocnění jater, pravděpodobně kvůli zvýšené tendenci konzumovat nadměrné množství alkoholu. Alela C je spojena s predispozicí alkoholismu u japonských mužů. Alela A1 se nejčastěji nachází u alkoholiků mexicko-indické populace [13].

Zejména vzácná mutantní alela, pojmenovaná c2, je spojena s vyšší transkripční aktivitou a hladinami proteinu a zvýšenou enzymatickou aktivitou ve srovnání s běžnou alelou divokého typu c1 (CYP2E1\*5A) [11].

Zvýšení CYP2E1 při konzumaci etanolu nastává transkripční, posttranskripční a posttranslační regulací. U pacientů aktivně požívajících alkohol se vyskytují zvýšené hladiny mRNA, které vyplývají z indukce transkripce genu nebo stabilizace mediátoru [4].

Chronická konzumace etanolu může v játrech až 10–20násobně zvýšit hladinu CYP2E1, který metabolizuje etanol na acetaldehyd, vysoce toxickou a mutagenní molekulu, a produkuje reaktivní formy kyslíku (ROS). Etanol zvyšuje i expresi jiných genů cytochromu P450. Když indukce MEOS zvyšuje rychlost metabolismu etanolu, zvýšená produkce acetaldehydu může překročit schopnost ALDH dále oxidovat acetaldehyd. Výsledná akumulace acetaldehydu zvyšuje riziko poškození jater [4, 17].

## 2.4 Kataláza

Aktivita katalázy v krvi významně koreluje s konzumací alkoholu, neboť u lidského mozku moduluje motivaci k pití alkoholu. Subjekty s rodinnou historií alkoholismu mají vyšší průměrnou aktivitu katalázy než ostatní subjekty. Genetický základ tohoto vztahu mezi aktivitou katalázy a konzumací alkoholu však zůstává neznámý. Další studie o genetickém polymorfismu katalázy zatím žádnou souvislost s chováním při konzumaci alkoholu nenalezly [11].

### 3 Toxické důsledky

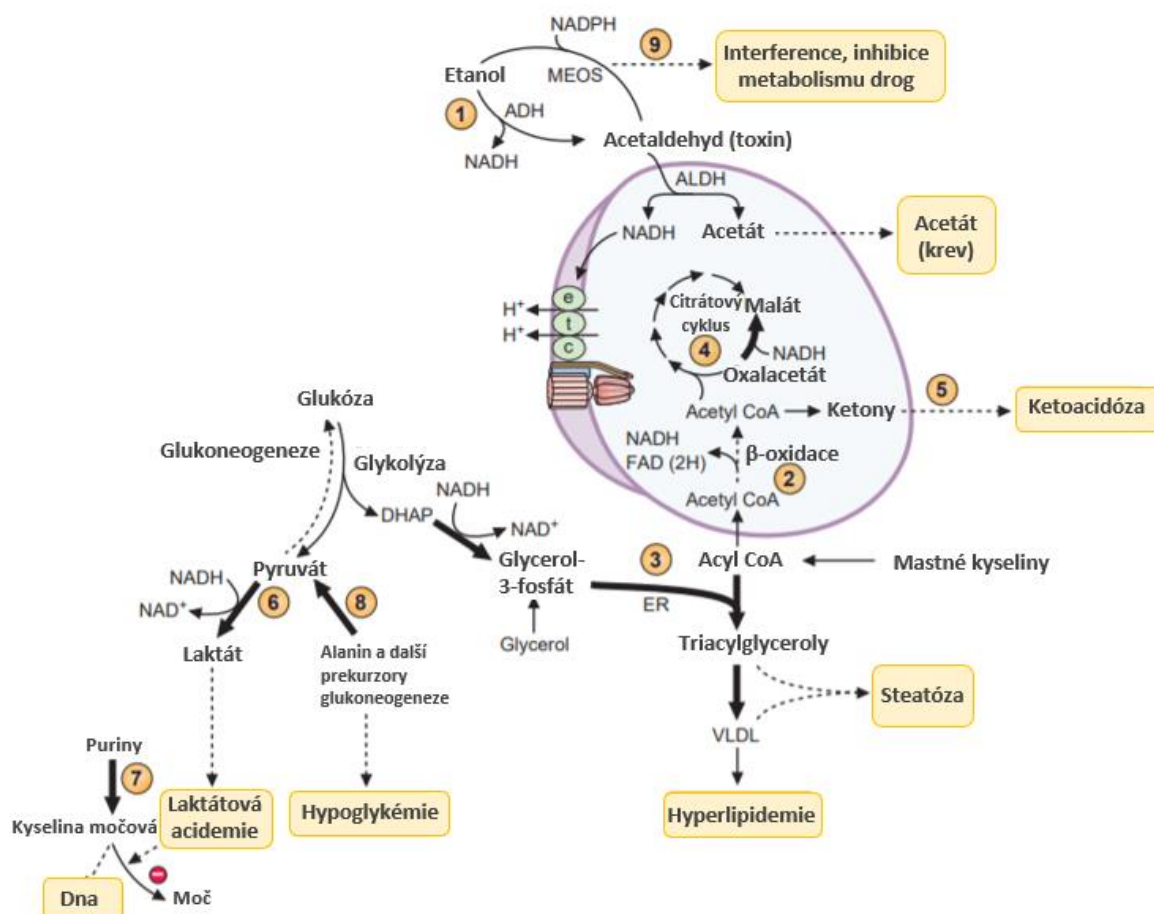
Alkohol způsobuje více než 60 různých onemocnění, zhoršuje některé již existující nemoci a zvyšuje negativní účinky toxinů, některých xenobiotik a léků. Tato kapitola je věnována některým z nich [18].

Způsoby a rychlost oxidace etanolu se liší od jednotlivce k jednotlivci. Rozdíly v metabolismu etanolu mohou ovlivnit, zda se jedinec stane chronickým alkoholikem. Dále mohou vyvíjet onemocnění vyvolaná alkoholem nebo onemocnění spojená se zvýšenou konzumací alkoholu. Faktory, které určují rychlost a mechanismus oxidace etanolu, jsou [7]:

- **Genotyp** – polymorfní formy ADH a ALDH mohou významně ovlivnit rychlost oxidace etanolu a akumulace acetaldehydu. Aktivita CYP2E1 se může mezi jednotlivci lišit až 20x, částečně kvůli rozdílům v indukovatelnosti různých alelických variant.
- **Historie pití alkoholu** – čím je spotřeba alkoholu vyšší a častější, tím hladina žaludeční ADH klesá a hladina CYP2E1 roste.
- **Pohlaví** – hladina etanolu v krvi po konzumaci nápoje je obvykle vyšší u žen než u mužů, především kvůli nižším hladinám aktivity žaludeční ADH u žen. Při chronické konzumaci etanolu však tato aktivita klesá jak u žen, tak i u mužů. Genderové rozdíly v hladinách alkoholu v krvi se vyskytují, protože jsou obvykle ženy menší a složení jejich těl sestává z většího množství tuku a menšího množství vody.
- **Množství** – množství etanolu, které jedinec spotřebuje během krátké doby, určuje jeho metabolickou cestu. Malá množství etanolu jsou metabolizována nejúčinněji skrze cesty s nízkou hladinou  $K_M$ , a to pomocí ADH1 a ALDH2 genů. Pokud se však spotřebuje vyšší množství etanolu v krátkém období, dochází k metabolismu prostřednictvím MEOS, který má mnohem vyšší hodnotu  $K_M$  a funguje především při vysokých koncentracích etanolu.

#### 3.1 Akutní účinky etanolu vznikající ze zvýšeného poměru $\text{NADH}/\text{NAD}^+$

Mnoho akutních účinků po požití etanolu vzniká ze zvýšeného poměru  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  v játrech. Jejich mechanismy jsou ukázány na obrázku 8. NADH není velmi účinným inhibitorem ADH nebo ALDH a neexistuje žádná jiná zpětnovazební regulace pomocí ATP, ADP nebo AMP. Proto má NADH generovaný v cytosolu a mitochondriích tendenci hromadit se a dochází tedy ke zvýšení poměru  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  na vysoké hladiny. Nárůst je ještě větší, pokud jsou mitochondrie poškozeny acetaldehydem či působením volných radikálů [7].



Obr. 8: Akutní účinky metabolismu etanolu na metabolismus lipidů v játrech [7]

V prvním kroku metabolismu etanolu se vytvoří vysoký poměr  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$ . Ve druhém kroku vysoký poměr  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  inhibuje oxidaci mastných kyselin a citrátový cyklus, což vede k akumulaci mastných kyselin. Ve třetím kroku jsou mastné kyseliny v endoplazmatickém retikulu (ER) reesterifikovány na glycerol-3-fosfát. Hladiny glycerol-3-fosfátů se zvyšují, protože velký poměr  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  podporuje jeho tvorbu z dihydroxyacetonfosfátu (meziprodukt glykolýzy). Tvoru triacylglycerolu také podporuje zvýšení enzymů endoplazmatického retikula stimulovaných etanolem. U čtvrtého kroku může  $\text{NADH}$  generovaný oxidací etanolu splňovat požadavky buňky pro vznik ATP oxidační fosforylací. Tím je inhibována oxidace acetyl-CoA v citrátovém cyklu. Vysoký poměr  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  v kroku 5 přesouvá oxaloacetát k malátu a acetyl-CoA je směřován do syntézy ketonů [7].

### 3.1.1 Alkoholická hypoglykémie, laktátová acidóza a ketoacidóza

Požítí etanolu má akutní účinky na metabolismus jater, včetně inhibice oxidace mastných kyselin hromadících se v játrech a stimulace syntézy triacylglycerolů. Výsledkem může být ketoacidóza, laktátová acidóza, hypoglykémie či hyperglykémie [7].

#### 3.1.1.1 Hypoglykémie

Zvracení vyvolané alkoholem má za následek snížení objemu extracelulární tekutiny, což vede k hypotenzi a sympatické odpovědi. Hypoglykémie a vyplavování katecholaminu má za následek řadu hormonálních účinků. Sekrece inzulínu klesá, zatímco hladiny kortisolu, adrenalinu a glukagonu se zvyšují spolu se zvýšeným uvolňováním růstového hormonu [19].

#### 3.1.1.2 Laktátová acidóza

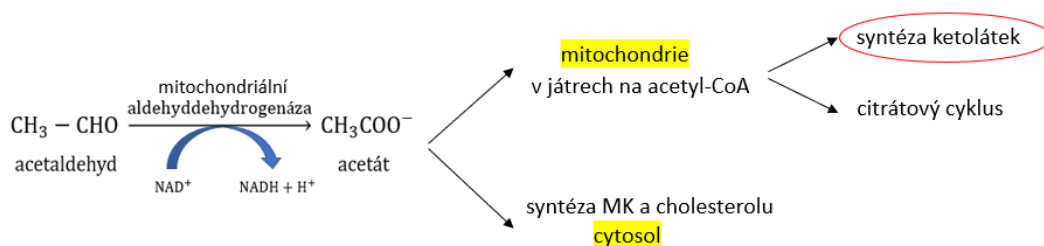
Dalším důsledkem velmi vysokého poměru NADH/NAD<sup>+</sup> je posunutí rovnováhy v reakci laktátdehydrogenázy směrem k laktátu, což vede k laktátové acidóze [7].

Glukóza je štěpena na pyruvát prostřednictvím glykolýzy a pyruvát je pak konvertován na laktát jako konečný produkt anaerobního metabolismu. Laktáty mohou být metabolizovány pouze jejich přeměnou zpět na pyruvát. Zvýšení poměru NADH/NAD<sup>+</sup> podporuje přeměnu pyruvátu na laktát, přebytek laktátu je exportován z jater do krve, kde se pak laktát udržuje v ustáleném stavu na mnohem vyšších úrovních, než je obvyklé [19, 20].

Eliminace laktátu závisí především na přeměně pyruvátu na acetyl-CoA, glukoneogenezi a jeho absorpci játry a ledvinami. Zvýšené hladiny laktátu v krvi může snížit vylučování kyseliny močové ledvinami. Pacientům se dnou, která je výsledkem vysrážených krystalů kyseliny močové v kloubech, se proto doporučuje, aby nepili nadměrné množství etanolu. Zvýšená degradace purinů může také přispět k hypourikémii [7, 20].

#### 3.1.1.3 Ketoacidóza

Jak již bylo zmíněno dříve, metabolismus etanolu v cytosolu a mitochondriích vede ke zvýšení NADH v obou kompartmentech. Zvýšené množství mitochondriální NADH je rozhodující jak při vývoji laktátové acidózy, tak i při vývoji ketoacidózy (zejména pokud se v plazmě sníží koncentrace inzulínu). Jak je znázorněné na obrázku 9, acetát vzniklý v mitochondriích působením ALDH může být prostřednictvím mitochondriální acetyl-CoA syntetázy konvertován na acetyl-CoA, nebo může přecházet do cytosolu, kde je konvertován na acetyl-CoA cytosolovou acetyl-CoA syntetázou. V cytosolu acetyl-CoA přispívá k syntéze MK a tuků v hepatocytech. V mitochondriích je acetyl-CoA odkloněn do cesty syntézy ketonů produkující acetoacetát [10].



Obr. 9: Princip vzniku ketoacidózy

Vysoký poměr  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  v důsledku snížení aktivity malátdehydrogenázy vázané na  $\text{NAD}^+$  posouvá v citrátovém cyklu oxaloacetát na malát, čímž zpomaluje vstup acetyl-CoA do citrátového cyklu. Acetyl-CoA místo toho vstupuje do dráhy syntézy ketolátek. To znamená, že oxidované mastné kyseliny se převedou na acetyl-CoA a následně na ketolátky (acetoacetát a  $\beta$ -hydroxybutyrát). Nadměrná produkce kyseliny acetoctové a kyseliny  $\beta$ -hydroxymáselné je základem pro vznik této metabolické acidózy [4, 7, 21].

Alkoholická ketoacidóza je častější u pacientů s dlouhodobým příjmem etanolu než u akutní intoxikace etanolem a je doprovázena dehydratací, která je způsobena zvracením, omezeným příjmem tekutin a inhibicí sekrece antidiuretického hormonu etanolem. Dehydratace poté zhoršuje renální vylučování ketonů [4, 21].

#### 3.1.1.4 Hyperlipidemie

Vysoký podíl  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  vzniklý oxidací etanolu inhibuje oxidaci mastných kyselin, které se hromadí v játrech. Tyto mastné kyseliny jsou reesterifikovány do triacylglycerolů kombinací s glycerol-3-fosfátem. Zvýšený poměr  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  zvyšuje dostupnost glycerol-3-fosfátů podporou jeho syntézy z meziproductů glykolýzy. Triacylglyceroly jsou začleněny do lipoproteinů s velmi nízkou hustotou (VLDL), které se akumuluji v játrech a vstupují do krve, což vede k hyperlipidemii. I když jen několik alkoholických nápojů může mít za následek hromadění jaterních tuků, chronická konzumace alkoholu výrazně zvyšuje vývoj jaterních onemocnění [7].

## 3.2 Fetální alkoholový syndrom

Užívání alkoholu má za následek nejen poškození zdraví konzumenta, ale i dalších osob s konzumentem spojených. Klasickým příkladem je poškození způsobené konzumací alkoholu během těhotenství. Alkohol je teratogen, který může snadno procházet placentou, což má za následek poškození mozku a dalších orgánů vyvíjejícího se embrya. Užívání alkoholu během těhotenství může mít fatální následky, např. porod mrtvého dítěte, spontánní potraty, předčasné

porody, intrauterinní retardace růstu a nízké porodní hmotnosti. Jedním z nejčastějších rizik je však vznik fetálního alkoholového syndromu [22].

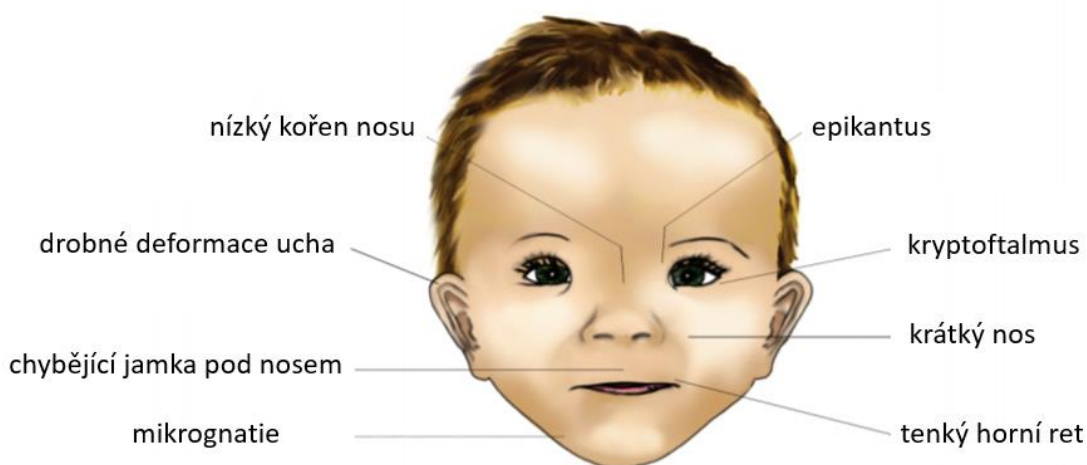
Čtyři diagnostická kritéria pro charakterizaci FAS [23]:

- růstové deficity
- abnormální rysy obličeje
- trvalé poškození mozku
- užívání alkoholu během těhotenství

FAS je spojován se širokou škálou poruch spojených s kognitivním, behaviorálním, emocionálním a adaptivním funkčním deficitem. Poruchy zahrnují trvalé změny ve vývoji centrálního nervového systému (CNS), vrozené anomálie, restrikce prenatálního nebo postnatálního růstu, dysmorfie obličeje. Jedinci s FAS trpí mnoha komorbidními stavy s vrozenými malformacemi, deformitami a chromozomálními abnormalitami (43 %) a psychickými poruchami a poruchami chování (18 %) [22, 24].

Alkohol má mnoho různých vlastností, kvůli kterým může poškodit vyvíjející se embrya a fetu v důsledku snížení exprese několika klíčových genů nezbytných pro vývoj. Tato snížená genová exprese má za následky menší velikost hlavy (mikrocefalie), abnormálně malé oči (mikroftalmie), celkové zpomalení růstu, nízkou tělesnou hmotnost a zpoždění vývoje střev [23, 25].

Mnoho jedinců s FAS má abnormální rysy obličeje, jako je špička nosu zahnutá nahoru, plochý nosní můstek, hladký hřbet mezi nosem a horním rtem, tenký horní ret, extra rýhování uší a zakřivený malíček (viz obr. 10) [23].



Obr. 10: Typické rysy obličeje u dítěte s FAS [25]



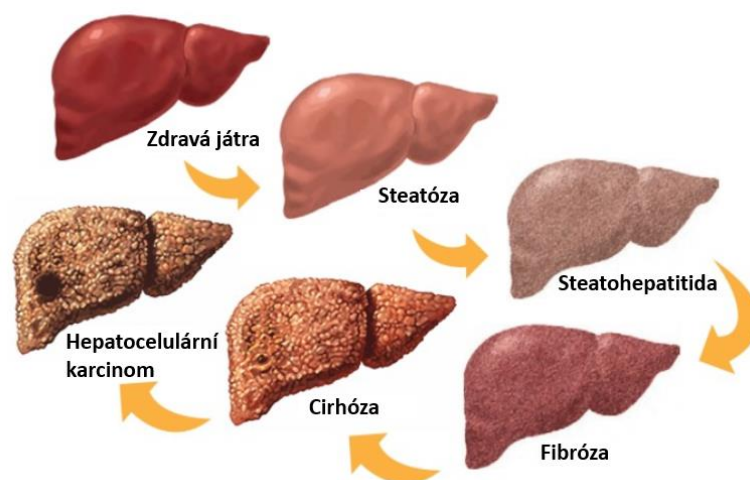
Kromě fyzických vlastností je zde několik zdravotních problémů, které jsou závislé na tom, v jaké míře byl plod vystaven alkoholu. U FAS jsou časté vrozené vady zraku, sluchu, srdce, ledvin nebo kostí. Strukturální změny v mozku zahrnují permanentní ztrátu tkáně v *corpus callosum*, stejně jako poškození bazálních ganglií a zakrnění růstu mozečku. Tyto abnormality ztěžují různým částem mozku spolupráci a omezují schopnosti porozumění. Tito jedinci mají často zhoršené kognitivní funkce, které způsobují poruchy učení, potíže s pochopením důsledků jejich chování, špatné paměťové dovednosti, nepozornost, nízké rozumové schopnosti a zpoždění řeči a jazyka. Obtíže s komunikací vedou ke špatnému budování vzájemných vztahů. Poškození CNS přispívá k potížím se samoregulací, kdy až 90 % dětí s FAS vykazuje příznaky hyperaktivity a impulsivity. Mladí lidé s FAS vykazují problémové chování jako porušování pravidel, což vede k potížím se zákonem [23].

Do mechanismu, kterým alkohol vyvolává tyto vývojové změny, jsou zapojeny i vysoce reaktivní molekuly obsahující kyslík (reaktivní formy kyslíku) a potenciálně reaktivní formy dusíku. V souladu s tímto faktem může antioxidant kyselina askorbová (vitamin C) chránit před alkoholovými mikrocefaliemi a celkovým zhoršením růstu [25].

Programovaná buněčná smrt (apoptóza) je základním procesem pro normální vývoj. Pokud se však apoptóza projeví příliš brzy nebo v přebytku, může být změněna vývojová dráha. Oxidační stres způsobený alkoholem může částečně způsobit apoptózu snížením hladin buněk a aktivity antioxidantů [25].

### 3.3 Alkoholové poškození jater

Chronická potřeba etanolu produkuje široké spektrum lézí, od steatózy, přes steatohepatitidu, jaterní fibrózu až po cirhózu jater (viz obr. 11) [26, 27].



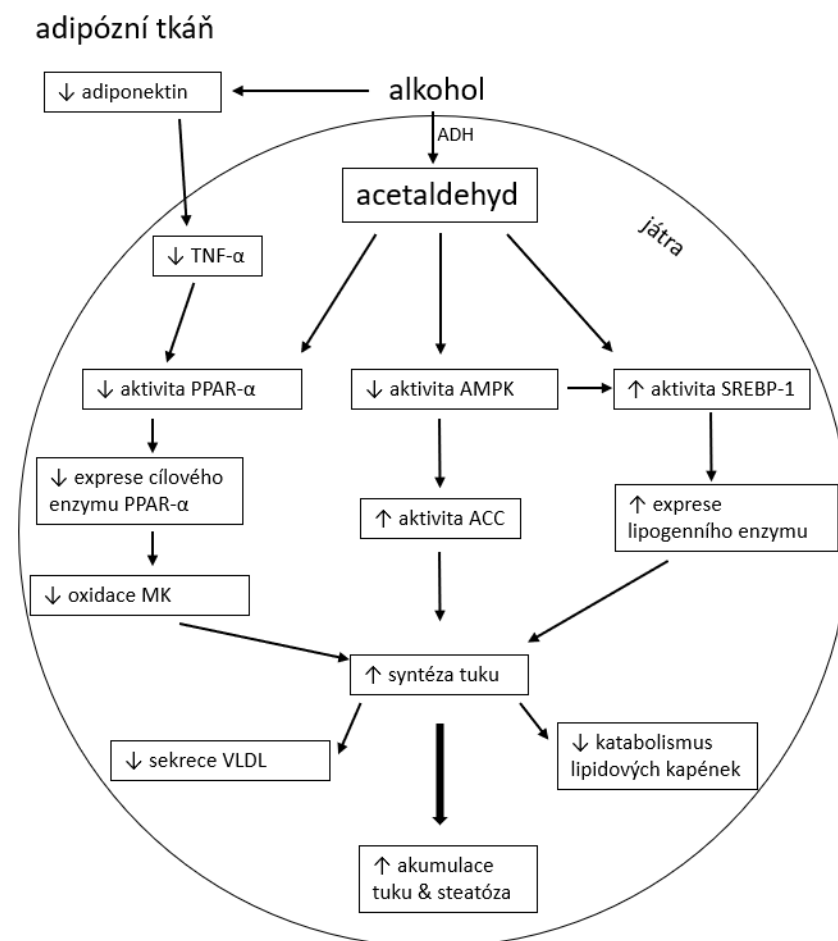
Obr. 11: Stádia onemocnění jater [26]

### 3.3.1 Steatóza

Steatóza je nejčasnější stadium onemocnění jater způsobené alkoholem. Vyvíjí se u více než 90 % problémových pacientů konzumujících 4 až 5 standardních nápojů denně po celá desetiletí, ale i u lidí, kteří mají spotřebu 4 až 5 nápojů za 2 hodiny a méně. Charakteristickým histologickým nálezem je depozice tuku viditelná jako lipidové kapénky bez zánětu nebo nekrózy, zpočátku v hepatocytech obklopujících centrální žílu jater, dále postupující do středně lobulárních hepatocytů a nakonec do hepatocytů obklopujících jaterní portál žíly. Pokud se příjem alkoholu zastaví, může být steatóza reverzibilní [26, 27, 28].

Tento stav je typicky asymptomatický s normální nebo mírně zvýšenou hladinou aminotrasferáz a gama-glutamyltransferázy (GGT) v séru [28].

Celkové množství tuku v játrech závisí na syntéze mastných kyselin a jejich oxidaci. Patogeneze alkoholické steatózy je založena na kombinaci zvýšené syntézy acylglycerolů a snížené oxidaci mastných kyselin v mitochondriích. Na obrázku 12 jsou ukázány mechanismy vedoucí ke vzniku steatózy [27].



Obr. 12: Potenciální mechanismy, které jsou základem steatózy [27]

V játrech je za syntézu MK zodpovědný protein 1 vázající regulační prvek sterolu. Za oxidaci mastných kyselin je zodpovědná AMP-aktivovaná proteinkináza (AMPK) a adiponektin. Etanol může ovlivňovat aktivitu receptorů PPAR- $\alpha$ , SREBP-1 a AMPK přímo nebo prostřednictvím adiponektinu a tumor nekrotizujícímu faktoru TNF- $\alpha$ . Tyto účinky aktivují lipogenní cesty a inhibují oxidaci mastných kyselin. Dochází ke změnám metabolismu lipidových kapének v hepatocytech a sekreci lipoproteinů s velmi nízkou hustotou z jater. Všechny tyto změny přispívají ke steatóze vyvolané alkoholem [27].

Steatotická játra jsou náchylná k reaktivním kyslíkovým formám, endotoxinům a adipocytokinům jako TNF- $\alpha$  a další cytokiny [27].

### 3.3.2 Steatohepatitida

Alkoholická steatohepatitida (ASH) je definována přítomností tuků v játrech, zánětlivých neutrofilních infiltrátů (složených především z polymorfonukleárních leukocytů), které často obklopují eosinofilní inkluzivní Malloryho tělíska, a hepatocelulárního poškození. U pacientů s ASH se může rozvinout progresivní fibróza [17, 27].

U ASH jsou rozšířeny mnohé alkoholem podmíněné poruchy metabolismu lipidů, jako je inhibice oxidace mastných kyselin a zvýšená lipogeneze, a výrazný nekrotický zánět způsobený endotoxiny ze střeva. Endotoxiny pocházejí převážně z gramnegativních bakterií, vážou se a aktivují Kupfferovy buňky, které vylučují cytokiny vedoucí k zánětu jater. Klíčovým cytokinem je TNF- $\alpha$ , který je vysoce exprimován u pacientů s ASH a koreluje s mortalitou. Klinicky je zvýšená exprese TNF- $\alpha$  spojena s typickým syndromem chřadnutí společně s horečkou, úbytkem hmotnosti a anorexií. Další cytokiny integrálně přispívající k ASH zahrnují interleukin-8, monocytový chemotaktický protein (přitahující neutrofilny), transformující růstový faktor  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) a růstový faktor odvozený od krevních destiček (PDGF), které aktivují jaterní stelátové buňky jako hlavní zdroje vláknité složky matrix [17].

Kromě cytokinů má ve vývoji ASH významnou roli oxidační stres a tvorba reaktivních forem kyslíku a peroxidů lipidů. Bylo prokázáno, že indukce CYP2E1 je spojena s akumulací tuků a zánětem [17].

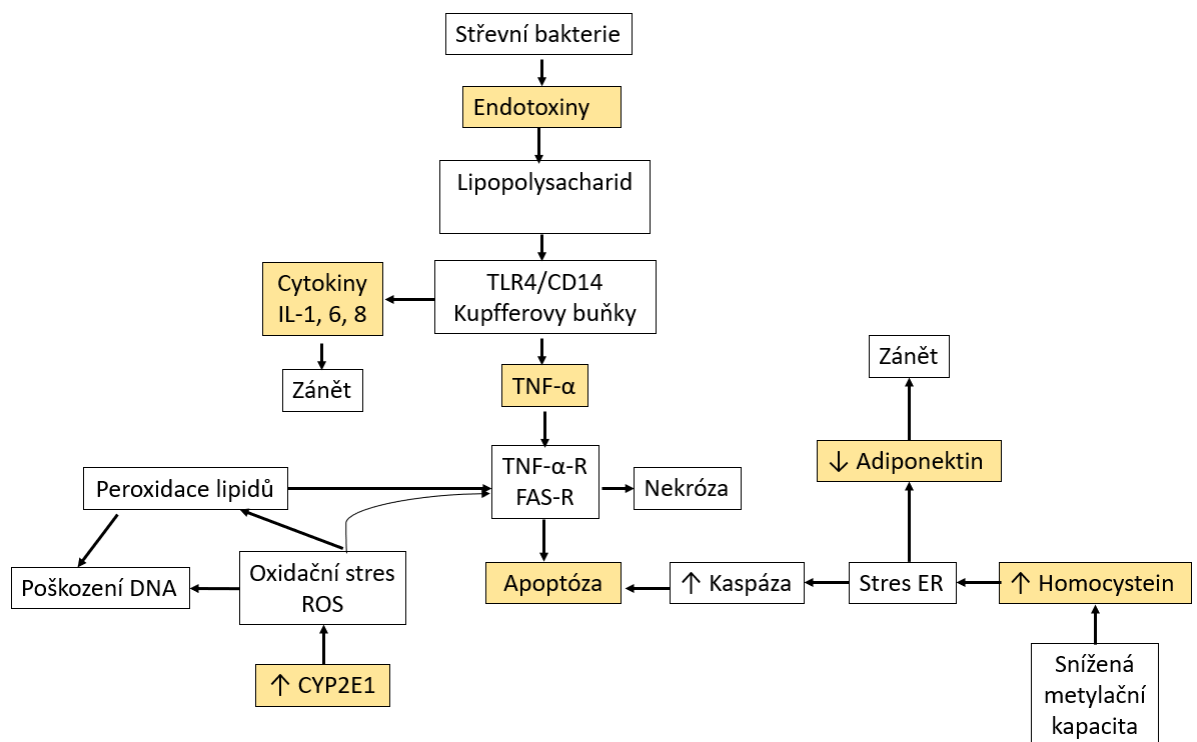
ASH by měla být zvážena, pokud mají běžní spotřebitelé alkoholu rychlý nástup žloutenky a klinické a biochemické příznaky jater. Některé pacienty provází horečka a při fyzickém vyšetření jsou játra obvykle citlivá a zvětšená. Může být doprovázena jinými projevy chronické toxicity alkoholu (polyneuropatie, kardiomyopatie a anamnézy chronické pankreatitidy). Mezi obvyklé příznaky patří hyperhomocysteinémie způsobená přenosem

metylskupin. Typickým nálezem u lidí s ASH je syndrom chřadnutí způsobený podvýživou, který se projevuje svalovou atrofií, nízkými hladinami sérového albuminu, negativní bilancí dusíku, hypovitaminózou vitaminu B, C, E a nízkou hladinou zinku [17].

Diagnóza je stanovena se zvýšeným množstvím jaterních transamináz, neutrofilů, bilirubinu v séru a zhoršenou koagulací. Hladiny transamináz se obvykle zvyšují 5–8x, což je charakteristické s převahou aspartátaminotransferázy (AST) oproti alaninaminotransferáze (ALT). Typický je poměr AST/ALT > 2. Patofyziologie zahrnuje ukládání tuků v játrech, zvýšené jaterní vychytávání endotoxinů ze střev, které spouštějí aktivaci Kupfferových buněk [17].

Mechanismy podporující zánět u ASH, které jsou znázorněny na obr. 13, zahrnují [17]:

- 1) dodávání endotoxinů ze střeva do jater, aktivaci Kupfferových buněk a sekreci prozánětlivých cytokinů a chemokinů (TNF- $\alpha$  a interleukiny)
- 2) oxidační stres a tvorba ROS převážně prostřednictvím cytochromu P450E1
- 3) hyperhomocysteinémie způsobená změnou přenosu metylu spojenou se stresem endoplazmatického retikula



Obr. 13: Mechanismy podporující zánět u ASH [17]

### 3.3.3 Fibróza

Fibróza je nadměrné hromadění pojivové tkáně v parenchymálních orgánech. U chronického onemocnění jater, jako je právě chronická intoxikace etanolem, se fibróza vyvíjí

jako důsledek nerovnováhy mezi novou depozicí extracelulární matrix (ECM) a její resorpcí, která představuje reakci jater na hojení ran při opakovaném poranění. Vývoj souvisí se stimulací mitogenního vývoje stelátových buněk na myofibroblasty a stimulací produkce kolagenu typu I a fibronektinu těmito buňkami. Hladké buňky jsou perisinusoidální buňky uložené v Disseho prostoru, které produkují protein extracelulární matrix. Disseho prostor obvykle obsahuje bazální membránu tvořenou kolagenem (typu IV) a lamininem. Když jsou aktivovány stelátové buňky, mění se z klidové buňky naplněné lipidy a vitamínem A na buňku, která proliferuje, ztrácí obsah vitamínu A a vylučuje velké množství složek extracelulární matrix [7, 29].

Sérové markery jaterní fibrózy mohou být rozděleny na přímé a nepřímé. Nepřímé markery odrážejí změny funkce jater, např. počet krevních destiček, koagulačních faktorů a transamináz. Přímé markery fibrózy odrážejí obrat ECM. Mezi ně patří produkty matrixové syntézy nebo degradace a enzymy zapojené do těchto procesů. Markery matrixové depozice jsou prokolagen typu I C-terminální, prokolagen typu III N-terminální, tenascin, tkáňový inhibitor metaloproteináz, nádorový růstový faktor TGF- $\beta$ . Markery pro odstranění matrix jsou peptid prokolagenu typu IV C-terminální, peptid prokolagenu typu IV N-terminální, kolagen typu IV, undulin, matrixové metaloproteinázy, močový desmosin a hydroxylsypiridinolin [30].

Hepatální stelátové buňky, hlavní zdroje extracelulární matrix v jaterní fibróze, jsou také stimulovány ROS. Aktivace stelátových buněk je pozorována během poškození jater, což vede k jejich proliferaci a výsledné fibrogenezi. Nedávná identifikace receptoru pro bakteriální lipopolysacharid, Toll-like receptor 4 (TLR4), ve stelátových a Kupfferových buňkách odhaluje jeho úlohu ve fibrogenezi. TLR4 zvyšuje signalizaci TGF- $\beta_1$ , který je hlavním fibrogenním cytokinem v játrech [31].

#### 3.3.4 Cirhóza

Konečným výsledkem je vývoj cirhózy, difúzní morfologie, která zahrnuje nahrazení normálního jaterního parenchymu nadbytkem fibrózní tkáně, jež obepíná parenchymální uzly skládající se z regenerujících hepatocytů, a deformaci v jaterní vaskulární struktuře. Následným rizikem může být portální hypertenze a selhání jater [27, 28, 29].

Poškození jater je ve stádiu jaterní cirhózy nevratné. Zpočátku mohou být játra zvětšená, plná tuku a zkrížená kolagenovými vlákny (fibróza). Jakmile se játra „scvrknou“, jejich funkce je ztracena. Během vývoje cirhózy dochází ke ztrátě normálních metabolických funkcí jater včetně biosyntetických a detoxikačních cest. Je snížena syntéza krevních proteinů včetně krevních koagulačních faktorů a sérového albuminu. Dále je snížena schopnost inkorporovat

aminokyseliny do močovinny, to vede k hromadění toxických hladin amoniaku v krvi. Dochází ke snížené konjugaci a vylučování žlutého pigmentu bilirubinu, tudíž se bilirubin hromadí v krvi a ukládá se v mnoha tkáních včetně kůže a sklér očí. Pacienti jsou poté žlutí [7].

Dále mohou mít pacienti podvýživu, zvětšené příušní žlázy, pavoučkové névy, palmární erytém, hepatosplenomegálii, portální hypertenzi, redistribuci tekutin a elektrolytů, feminizaci, neuropatii a encefalopatii [31].

Potíže doprovázející cirhózu jater [31]:

- **Ascites** – retence tekutin v peritoneální dutině. Ascites je nejčastější komplikací cirhózy. Mechanismy retence sodíku a vody zahrnují aktivaci systému renin-angiotensin-aldosteron a sympatického nervového systému. Ascites se vyvíjí u 58 % pacientů s kompenzovanou cirhózou do 10 let.
- **Varixy a související krvácení** – krvácení z varixů se vyskytuje u 25–40 % pacientů s cirhózou.
- **Jaterní encefalopatie**
- **Spontánní bakteriální peritonitida** – pozitivní nález bakteriální kultury v ascitu a zvýšený absolutní počet polymorfonukleárních leukocytů.
- **Hepatorenální syndrom** – akutní selhání ledvin.
- **Hepatopulmonální syndrom** – zvýšený gradient alveolárního a arteriálního tlaku při dýchání a intrapulmonální cévní dilatace.
- **Hepatoceulární karcinom**

U pacientů s pokročilou alkoholickou cirhózou se diagnóza obvykle provádí na základě klinických, biochemických, zobrazovacích a hemodynamických nálezů. U těch, kteří nemají typické projevy, je pro stanovení diagnózy nutná biopsie jater. Ultrazvuk, počítačová tomografie a magnetická rezonance jsou dobře známé zobrazovací nástroje pro další diagnostiku cirhózy. Typické zobrazovací studie alkoholové cirhózy mohou ukázat hepatomegálii, nepravidelný povrch jater a hrubou strukturu jater [31].

Pacienti s dekompenzovanou cirhózou mohou zažádat o transplantaci jater. Pro zařazení do seznamu je ale požadována minimálně šestiměsíční abstinence. Transplantace je dále povolena, pokud je velká pravděpodobnost dobrého výsledku a malé riziko recidivy. Pacienti s alkoholickým jaterním onemocněním, kteří podstoupili transplantaci jater, mají zvýšené riziko rakoviny plic, jater a orofaryngeálního karcinomu [31].

### 3.4 Alkoholická pankreatitida

Alkoholická pankreatitida je potenciálně smrtelné onemocnění, které může být akutní (krátkodobé) nebo chronické (dlouhodobé). Symptomy jsou u obou typů podobné, zahrnují především abdominální bolest. Předpokládá se, že přibližně 70 % případů pankreatitidy je způsobeno chronickým pitím alkoholu. Ne však všechny alkoholiky pankreatitida postihne, což naznačuje, že k zahájení zjevného onemocnění je zapotřebí další spouštěcí faktor. Mezi faktory zvyšující riziko pankreatitidy také patří žlučové kameny, cystická fibróza, hyperlipidemie, infekce, genetické faktory a autoimunitní onemocnění [32, 33].

Toxické účinky etanolu na slinivku břišní jsou zprostředkovány různými mechanismy, jako je [32]:

- senzibilizace acinárních buněk na cholecystokinin (CCK) indukující předčasnou aktivaci zymogenů
- zesílení účinku CCK k aktivaci transkripčních faktorů, nukleárního faktoru  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) a aktivujícího proteinu 1 (AP-1)
- vytváření toxických metabolitů, jako je acetaldehyd a etylestery MK
- senzibilizace slinivky břišní k toxickým účinkům viru coxsackie B3
- aktivaci stelátových buněk pankreatu acetaldehydem a oxidačním stresem a následnou zvýšenou produkci kolagenu a dalších proteinů matrixu

I když jsou játra hlavním orgánem v těle metabolizujícím etanol, pankreas může metabolizovat etanol jak oxidativními, tak neoxidativními cestami [32, 33]:

- 1) Vedlejším produktem oxidační dráhy metabolismu alkoholu jsou ROS, které vedou k oxidačnímu stresu a mohou poškodit proteiny lipidových membrán a buněčné DNA. Zvýšené hladiny ROS spojené se souběžnou deplecí antioxidantních faktorů (jako je např. glutathion) vedou k oxidačnímu napětí uvnitř buňky. Tento stres může přispívat ke vzniku pankreatitidy.
- 2) Neoxidativní cesta zahrnuje esterifikaci alkoholu MK za vzniku etylesterů MK. Tato reakce je katalyzována etylesterovými syntázami MK, mezi které patří karboxylesterová lipáza a triglyceridová lipáza. Pankreas vykazuje mnohonásobně vyšší aktivitu syntázy etylesterů MK než játra. Mechanismy, kterými etylestery MK vyvíjejí své toxické účinky:
  - a. přímá interakce sloučenin s buněčnými membránami
  - b. stimulace syntézy cholesterylesteru transesterifikací

- c. uvolňování volných MK hydrolýzou etylesterů MK (způsobuje mitochondriální poškození)

Tři hlavní typy buněk pankreatu ovlivněné expozicí alkoholu jsou acinární, stelátové a duktální buňky. Poškození těchto buněk způsobuje smrt acinárních buněk, kalcifikaci a fibrózu [33].

Acinární buňka je továrna na enzymy, která syntetizuje a vylučuje významná množství trávicích enzymů. Chronické užívání alkoholu [32, 33]:

- Zvyšuje syntézu trávicích enzymů (trypsinogenu, chymotrypsinogenu, lipázy a katepsinu B) v acinárních buňkách.
- Snižuje sekreci enzymů acinárních buněk vedoucí k mikrotubulární dysfunkci, morfologickým změnám pankreatu a dochází k narušení exocytózy, což vede k akumulaci intracelulárních enzymů.
- Snižuje stabilitu membrán zymogenních granulí a zymogenu. Zvýšení obsahu trávicího a lyzozomálního enzymu spolu se sníženou stabilitou organel, kterou tyto enzymy obsahují, dochází ke zvýšení potenciálu pro kontakt mezi těmito buňkami. V přítomnosti vhodného spouštěcího faktoru může dojít k předčasné intracelulární aktivaci trávicích enzymů, což vede k autodigestivnímu poškození žlázy.
- Indukuje expresi NF- $\kappa$ B a AP-1 transkripčních faktorů, které regulují expresi cytokinů. Vystavení acinárních buněk etylesteru kyseliny palmitoolejové způsobuje zvýšení cytosolového vápníku v důsledku zvýšeného uvolňování z intracelulárních zdrojů, jako je ER. Dalším zdrojem zvýšeného intracelulárního vápníku v alkoholem exponovaných acinárních buňkách je zvýšený přítok extracelulárního vápníků. Trvalý vzestup intracelulárního vápníku vede k přetížení a depolarizaci mitochondrií, což způsobuje smrt acinárních buněk.

Aktivované pankreatické stelátové buňky hrají centrální úlohu v pankreatické fibrogenezi. Aktivace těchto buněk je zprostředkovaná vznikem oxidačního stresu. Pro alkoholickou pankreatitidu je také důležitý další potenciální aktivační faktor, konkrétně bakteriální endotoxin. Zvýšená propustnost střev je známým důsledkem konzumace alkoholu, který může usnadnit přesun střevních bakterií do oběhu a vést ke zvýšení hladin cirkulujícího endotoxinu. Lipopolysacharid endotoxinů má klíčovou úlohu při zahájení a progresi alkoholické pankreatitidy. LPS také aktivuje pankreatické stelátové buňky [33].



Nejvíce studovaný gen s ohledem na alkoholickou pankreatitidu je gen ADH1B, který zvyšuje riziko vzniku pankreatitidy. Konkrétně se jedná o alelickou variantu ADH1B\*2, která je u pacientů s alkoholickou pankreatitidou zvýšena. Nižší riziko existuje u jedinců nesoucích ALDH2\*2 nebo ADH1C\*2 [32, 33].

Mezi mutovaným genem SPINK1 a alkoholickou pankreatitidou byla také popsána asociace. Mutace N34S vedoucí k substituci asparaginu serinem v kodonu 34 byla nalezena u 5,8 % pacientů s alkoholickou pankreatitidou. Lidský SPINK1 mutovaný N34S nevykazuje žádnou změněnou schopnost inhibitoru trypsinu, funkční důsledky této mutace jsou nejasné [32, 33].

Existuje spojitost rozvoje pankreatitidy u pacientů s polymorfismem genu pro syntázu etylesterů MK – karboxylesterlipázu. Kromě toho se ukázalo, že varianta G191R v genu pro aniontový trypsinogen má formu trypsinu, který je u pacientů s alkoholickou pankreatitidou snadno degradovatelný [32].

### 3.5 Alkohol a rakovina

Alkohol sám o sobě není karcinogenní, ale jeho metabolit, acetaldehyd, u kterého je známo, že interferuje se syntézou a opravami DNA a následně zvyšuje riziko rakoviny, ano. Proto mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) klasifikuje alkohol jako karcinogen skupiny I. Alkohol je kauzálně spojen s rakovinou horního aerodigestivního traktu (ústní dutina, hltan, hrtan, jícen) a rakovinou konečníku, tlustého střeva, jater a ženských prsou. Karcinogeneze je nejčastější ve tkáních, které jsou v přímém kontaktu s alkoholem [34, 35, 36, 37].

Acetaldehyd hraje v karcinogenezi ústřední roli. Jedinci, u kterých dochází k akumulaci acetaldehydu, protože nesou určité alely genů kódujících ADH nebo ALDH, mají zvýšené riziko pro vznik rakoviny, neboť tyto mutace ovlivňující enzymy podílející se na oxidačním metabolismu etanolu silně ovlivňují karcinogenní potenciál alkoholu. Důkazy naznačují, že účinek alkoholu je modulován polymorfismy v genech kódujících enzymy pro metabolismus etanolu, metabolismus folátu a opravu DNA. Přítomnost těchto variant může predisponovat určitým typům rakovin [35, 38, 39].

Ačkoli se mechanismus může lišit podle typu tkáně, je konzistentní pro různé formy alkoholu a přispívají mu i tyto faktory [34, 35, 38]:

- **Genotoxický acetaldehyd** – je látkou, která u pokusných zvířat způsobuje rakovinu a reaguje s DNA za vzniku sloučenin podporujících rakovinu
- **Polymorfismy** – varianty genotypů narušující aldehyddehydrogenázu

- **Vysoce reaktivní molekuly kyslíku** – vznikají během určitých cest metabolismu alkoholu a mohou poškodit DNA a tím vyvolat vývoj nádoru
- **Alkohol jako rozpouštědlo** – zejména pro tabákové karcinogeny

Velmi mírné nebo mírné pití alkoholu (do 2 alkoholických nápojů za den) není spojeno s rizikem většiny běžných rakovin (vyjma malého zvýšení výskytu rakoviny prsu u žen a kolorektálního karcinomu u mužů) [36].

### 3.5.1 Rakovina horního aerodigestivního traktu

Rakovina aerodigestivního traktu, zahrnující rakovinu dutiny ústní, hltanu, hrtanu a jícnu, patří mezi nejčastější typ rakoviny na světě. Několika metaanalýzami byla prokázána jistá souvislost pití alkoholu a kouření na rozvoj této rakoviny [40].

Má vysokou míru recidivy a incidence je přibližně 3x vyšší u mužů. Existuje 50% šance, že pacienti s karcinomem budou žít 5 let. Konzumace alkoholických nápojů je nejvíce spojena s rakovinou hrtanu [41].

Existují dva typy rakoviny jícnu – spinocelulární karcinom (karcinom jícnových dlaždicových buněk) a adenokarcinom. Celkově se výskyt rakoviny jícnu jeví jako stabilní. Onemocnění je 2x častější u mužů než u žen [41].

Několik studií prokázalo, že riziko rakoviny aerodigestivního traktu související s alkoholem je významně zvýšeno u lidí s nízkou aktivitou ALDH2, s relativním rizikem (RR) 11 u rakoviny hltanových a hrtanových cest a s RR 12,5 u rakoviny jícnu. Kromě toho mají tito lidé 50x větší riziko než lidé bez alely ALDH2\*2 [38].

### 3.5.2 Rakovina jater

Hepatocelulární karcinom je nejčastější primární jaterní malignita, pro kterou je nejdůležitějším rizikovým faktorem cirhóza. Konzumace alkoholu zůstává významným rizikovým faktorem pro rozvoj cirhózy, a tedy i hepatocelulárního karcinomu. Vztah mezi alkoholem a onemocněním jater koreluje s množstvím požitého alkoholu za celý život, přičemž hlavním rizikem je chronický alkoholismus. Alkoholismus v Evropě představuje 40–50 % všech případů hepatocelulárního karcinomu, zbylá procenta souvisí s hepatitidou B a C. Rakovina jater je téměř smrtelná [38, 42].

Přítomnost polymorfismu genu ADH1B koreluje s incidencí hepatocelulárního karcinomu u alkoholiků s cirhózou. Nedávná analýza zjistila, že i přítomnost polymorfismu PstI/RsaI uvnitř genu CYP2E1, který výrazně mění jeho transkripční aktivitu, může u alkoholiků zvýšit riziko rakoviny jater. Mezi další rizikové faktory patří SNP v genu

PNPLA3, NCAN a nadměrná exprese protoonkogenu c-myc, která urychluje progresi jaterních onemocnění do prekancerózních stádií [42].

Spotřeba 3 a více alkoholických nápojů denně vede k 16% zvýšení rizika rakoviny jater a denní spotřeba 6 a více nápojů má za následek zvýšení rizika na 22 % [42].

### 3.5.3 Rakovina tlustého střeva a konečníku

Kolorektální rakovina (CRC) je třetí nejčastější diagnostikovaná rakovina u mužů a druhá u žen na celém světě. Odhaduje se, že alkohol zvyšuje riziko vzniku CRC až o 60 % [43].

Relativní rizika byla zaznamenána ve vyšší míře u karcinomu konečníku než karcinomu tlustého střeva. Zanedbatelné vyšší riziko bylo oproti proximálnímu tračníku i u rakoviny distálního tračníku [44].

Vliv alkoholu se liší v závislosti na individuálních rozdílech v metabolismu alkoholu. Dopad alkoholu na CRC se široce uplatňuje u asijských populací v důsledku prevalence genetických polymorfismů. Polymorfismy ADH1B jsou spojeny se zvýšeným rizikem CRC [38].

### 3.5.4 Rakovina prsu

Spojitosť mezi alkoholem a rakovinou prsu byla poprvé navržena na počátku 80. let. Rakovina prsu je u žen nejčastějším nádorovým onemocněním a nejčastější příčinou úmrtí na rakovinu na celém světě, a to i přesto, že je smrtelná pouze v polovině případů. Výskyt rakoviny prsu je úzce spojen s industrializací a urbanizací [41, 45].

Alkohol zvyšuje riziko rakoviny prsu o 7–10 % na každých 10 g alkoholu konzumovaných ženami. Tato asociace je pozorována u žen před menopauzou i po menopauze, kde se jednotlivá rizika lehce liší. Prsa jsou oproti jiným orgánům náchylnější ke karcinogenním účinkům alkoholu [41, 46].

Pozdní nástup menstruace, časně těhotenství a časný nástup menopauzy zahrnují menší riziko vzniku rakoviny prsu. Největší riziko se objevuje v období od menarche, kdy prsní tkáň prochází rychlou proliferací, až po ukončení prvního těhotenství, kdy dochází k více biologickým změnám v prsu a činí epiteliální buňky rezistentní vůči transformaci na rakovinné buňky [46].

Rakovina prsu souvisí s hormony a mezi nejčastěji zkoumané cesty patří vliv alkoholu právě na hladiny cirkulujícího estrogenu v endoplazmatickém retikulu v epiteliálních buňkách mléčné žlázy. Zvýšené hladiny intracelulárních estrogenů způsobené příjmem alkoholu mohou prostřednictvím endoplazmatického retikula podpořit růst nádoru prsu. Studie

u postmenopauzálních žen užívajících hormonální léčbu ukázaly, že vysoké hladiny estrogenu v krvi jsou spojeny se zvýšeným rizikem následného karcinomu prsu. U premenopauzálních dospělých žen byl příjem alkoholu spojen s vyššími hladinami estradiolu a estronu v krevním oběhu [41, 46].

### 3.6 Vitaminový deficit

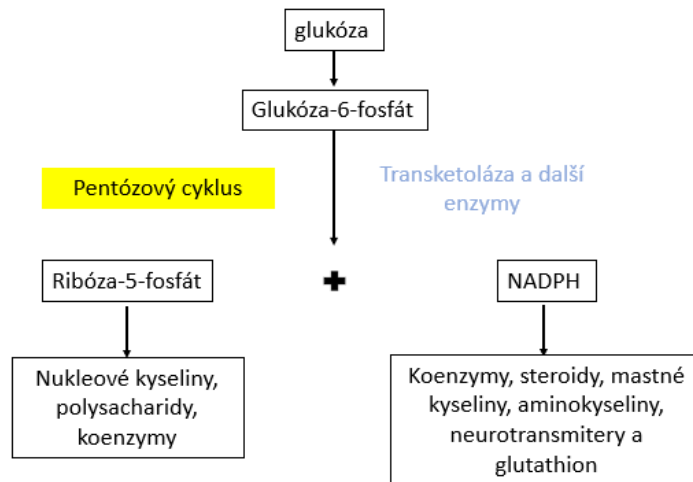
Nadměrná konzumace etanolu může způsobit také ztráty mnohých vitaminů.

#### 3.6.1 Deficit thiaminu

Thiamin, známý také jako vitamin B<sub>1</sub>, je nezbytnou živinou, kterou vyžadují všechny tkáně včetně mozku. Lidské tělo samo o sobě nemůže thiamin produkovat, musí ho přijímat s potravou. Nedostatek thiaminu plynoucí z chronického alkoholismu způsobuje poškození mozku, zhoršuje oxidační metabolismus, zvyšuje oxidační stres, který může vyvolat různá neurodegenerativní onemocnění (např. Alzheimerovu chorobu, Parkinsonovu nemoc). Etanol inhibuje transport a absorpci thiaminu ve střevě, snižuje jaterní zásoby thiaminu a ovlivňuje fosforylaci thiaminu, která ho přeměňuje na jeho aktivní formu [47, 48, 49].

Thiamin, sloužící jako kofaktor, je důležitý pro tyto tři enzymy – transketolázu, pyruvátdehydrogenázu (PDH) a  $\alpha$ -ketoglutarátdehydrogenázu ( $\alpha$ -KGDH). Všechny tyto enzymy se účastní dvou cest katabolismu molekul sacharidů v těle. Vzhledem k tomu, že meziprodukty těchto drah jsou potřebné pro tvorbu dalších esenciálních molekul v buňkách (např. stavební bloky proteinů a DNA), může redukce thiaminu interferovat s mnoha buněčnými funkcemi, což vede k závažné poruše mozku [48, 49].

Každý z těchto enzymů sestává z několika složek, aby se získal funkční enzym, a thiamin zajišťuje jejich sestavování. Nedostatek thiaminu tedy způsobuje nízké hladiny funkčních enzymů, které navíc interferují s aktivitou těchto základních enzymů. Transketoláza je důležitým enzymem v biochemické dráze pentózového cyklu, kde je molekula glukóza-6-fosfát modifikována transketolázou na dva produkty – ribóza-5-fosfát a NADPH. Sacharid ribóza-5-fosfát je potřebný pro syntézu nukleových kyselin a dalších sloučenin. NADPH poskytuje atomy vodíku pro chemické reakce, které vedou k produkci steroidů, mastných kyselin, AMK, některých neurotransmiterů atd. Kromě toho hraje NADPH důležitou roli v syntéze antioxidantu glutathionu, což je sloučenina, která je nezbytná pro ochranu těla před oxidačním stresem, neboť absorbuje reaktivní kyslíkové látky, čímž chrání buňky před poškozením. Celý tento proces je zaznamenán na obrázku 14 [48, 49].



Obr. 14: Mechanismus transketolázy v pentózovém cyklu [48]

PDH a  $\alpha$ -KGDH se také podílejí na různých krocích rozkladu a přeměny glukóza-6-fosfátu prostřednictvím dvěma po sobě následujících řetězců zvaných glykolýza a citrátový cyklus. Hlavní funkcí těchto cest je tvorba molekul ATP, které poskytují energii pro mnoho buněčných cyklů a reakcí. Snížení aktivity PDH a  $\alpha$ -KGDH může mít za následek snížení syntézy ATP, to způsobuje poškození nebo dokonce smrt buněk. Zejména snížení  $\alpha$ -KGDH může vést k poškození mitochondrií, které produkují zdaleka nejvíce energie potřebné pro buněčnou funkci, což může mít za následek nekrózu buněk. Citrátový cyklus a  $\alpha$ -KGDH hrají roli při udržování hladin glutamátu neurotransmiterů, kyseliny gamaaminomáselné (GABA) a aspartátu [48, 49].

Zvýšená energetická náročnost buněk nervového systému zvyšuje citlivost na nedostatek thiaminu. Zhoršení funkce enzymů tedy ovlivní především kardiovaskulární a nervový systém. V mozku je thiamin vyžadován jak neurony, tak i podpůrnými buňkami neurogliemi. Nedostatek thiaminu způsobený konzumací alkoholu se projeví neurologickou poruchou, známou jako Wernickeův-Korsakovův syndrom, ale způsobuje také jiné formy poranění mozku, například alkoholickou demenci [48, 49].

Wernickeův-Korsakovův syndrom se skládá ze dvou složek – Wernickeho encefalopatie (WE) a Korsakovovy psychózy. Příznakem WE je zmatenost, paralýza očních nervů, zhoršená schopnost koordinace pohybů a porucha paměti. WE je reverzibilní, pokud je léčena adekvátními dávkami thiaminu, nejlépe během 48–72 hodin od nástupu symptomů. V případě selhání léčby může dojít k úmrtí (20 % případů), nebo k progresi na Korsakovův syndrom. Korsakovův syndrom vzniká nedostatečnou léčbou WE a je převážně irreverzibilní [48, 49, 50].

### 3.6.2 Deficit vitamínu A

Alkohol se jeví jako kompetitivní inhibitor oxidace vitamínu A na kyselinu retinovou, protože metabolismus těchto dvou sloučenin sdílejí enzymy kritické pro jejich katabolismus, jako je alkoholdehydrogenáza a acetaldehyddehydrogenáza. Navíc alkoholem indukovaný cytochrom P450, zejména CYP2E1, zvyšuje katabolismus vitamínu A a kyseliny retinové, zatímco mění retinoidní homeostázu zvýšením mobilizace vitamínu A z jater do extrahepatických tkání. Snížený obsah jaterního retinolu přispívá k rozvoji hepatocelulárního karcinomu prostřednictvím mechanismů ovlivňujících apoptózu a buněčnou proliferaci [39].

## 4 Závěr

Tato bakalářská práce byla věnována etanolu – jako látce obsažené v alkoholických nápojích, neboť jeho užívání je stále čím dál větší problematikou ve světě.

V první části byly popsány jednotlivé způsoby metabolismu etanolu, kde ho konkrétní enzymy mění na škodlivý acetaldehyd, který má negativní dopad na orgány a různé metabolické děje v organismu.

V druhé části bylo poukázáno na existující poruchy a polymorfismy genů kódující enzymy, jež se podílejí na metabolismu etanolu. Varianty těchto genů jsou rozšířené po celém světě a různí se u jednotlivých populací.

Třetí část se zabírala právě následky konzumace alkoholu. Jedná se o širokou škálu nemocí. V této kapitole byly popsány některé z nich a vliv alkoholu na jejich vznik.

## 5 Seznam použité literatury

- [1] DRUMMER, Olaf H. a Morris ODELL. *The Forensic Pharmacology of Drugs of Abuse*. Great Britain: Arnold, 2001, s. 275–276. ISBN 0-340-76257-8.
- [2] MANAHAN, Stanley E. *Toxicological chemistry: a guide to toxic substances in chemistry*. Chelsea, Mich.: Lewis Publishers, 1989, 192. ISBN 0-87371-149-1.
- [3] MATOUŠ, Bohuslav. *Základy lékařské chemie a biochemie*. Praha: Galén, 2010. ISBN 978-80-7262-702-8.
- [4] ROSENTHAL, Miriam D. a Robert H. GLEW. *Medical biochemistry: human metabolism in health and disease*. Hoboken, NJ: John Wiley, 2009, 191–198. ISBN 978-0-470-12237-2.
- [5] KÜLPMANN, Wolf R. *Clinical toxicological analysis: procedures, results, interpretation*. Chichester: John Wiley, distributor, 2009, 514–516. ISBN 978-3-527-31890-2.
- [6] World Health Organization. Global status report on alcohol and health 2018. Geneva, 2018. ISBN 978-92-4-156563-9. Dostupné z: <https://www.who.int/>.
- [7] LIEBERMAN, Michael, Allan D. MARKS a Alisa PEET. *Marks' basic medical biochemistry: a clinical approach*. 4th edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2013, 457–467. ISBN 978-1-60831-572-7.
- [8] MURRAY, Robert K. *Harper's illustrated biochemistry*. 28th edition. New York: McGraw-Hill Medical, 2009, 218–219. ISBN 978-0-07-163827-2.
- [9] ŠVIHOVEC, Jan, Jan BULTAS, Pavel ANZENBACHER, Jaroslav CHLÁDEK, Jan PŘÍBORSKÝ, Jiří SLÍVA a Martin VOTAVA, ed. *Farmakologie*. Praha: Grada Publishing, 2018, 154. ISBN 978-80-247-5558-8.
- [10] Dostupné z: <https://themedicalbiochemistrypage.org/ethanol-metabolism.php>
- [11] QUERTEMONT, Etienne. Genetic polymorphism in ethanol metabolism: acetaldehyde contribution to alcohol abuse and alcoholism. *Molecular Psychiatry*. 2004, 9(6), 570–581. DOI: 10.1038/sj.mp.4001497. ISSN 1359-4184.
- [12] GUO, Rui a Jun REN. Alcohol and Acetaldehyde in Public Health: From Marvel to Menace. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2010, 7(4), 1285–1301. DOI: 10.3390/ijerph7041285. ISSN 1660-4601.



- [13] DASGUPTA, Amitava. Genetic Aspects of Alcohol Metabolism and Drinking Behavior. *Alcohol and its Biomarkers*. Elsevier, 2015, 37–63. DOI: 10.1016/B978-0-12-800339-8.00002-X. ISBN 9780128003398.
- [14] DASGUPTA, Amitava. Genetic Markers of Alcohol Use Disorder. *Alcohol and its Biomarkers*. Elsevier, 2015, 245–288. DOI: 10.1016/B978-0-12-800339-8.00010-9. ISBN 9780128003398.
- [15] EDENBERG, Howard J. The genetics of alcohol metabolism: role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants. *Alcohol Res Health*. 2007, 30(1), 5–13.
- [16] KUO Po-Hsiu, Gursharan KALSI, Carol A. PRESCOTT, et al. Association of ADH and ALDH genes with alcohol dependence in the Irish Affected Sib Pair Study of alcohol dependence (IASPSAD) sample. *Alcohol Clin Exp Res*. 2008, 32(5), 785–795. DOI: 10.1111/j.1530-0277.2008.00642.x.
- [17] STICKEL, Felix a Helmut K. SEITZ. Alcoholic steatohepatitis. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2010, 24(5), 683–693. DOI: 10.1016/j.bpg.2010.07.003. ISSN 15216918.
- [18] SEITZ, Helmut K. a Sebastian MUELLER. Alcohol: Metabolism, Toxicity and Its Impact on Nutrition. *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier, 2014, 1–13. DOI: 10.1016/B978-0-12-801238-3.00229-4. ISBN 9780128012383.
- [19] MCGUIRE, Larry. Alcoholic ketoacidosis. *Emergency Medicine Journal*. 2006, 23(6), 417–420. DOI: 10.1136/emj.2004.017590. ISSN 1472-0205.
- [20] YANG, Chun-Chieh, Khee-Siang CHAN, Kuei-Ling TSENG a Shih-Feng WENG. Prognosis of alcohol-associated lactic acidosis in critically ill patients: an 8-year study. *Scientific Reports*. 2016, 6(1), 1–5. DOI: 10.1038/srep35368. ISSN 2045-2322.
- [21] KRAUT, Jeffrey A. a Ira KURTZ. Toxic Alcohol Ingestions: Clinical Features, Diagnosis, and Management. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2008, 3(1), 208–225. DOI: 10.2215/CJN.03220807. ISSN 1555-9041.
- [22] POPOVA, Svetlana, Shannon LANGE, Charlotte PROBST, Gerrit GMEL a Jürgen REHM. Estimation of national, regional, and global prevalence of alcohol use during pregnancy and fetal alcohol syndrome: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health*. 2017, 5(3), 290–299. DOI: 10.1016/S2214-109X(17)30021-9. ISSN 2214109X.

- [23] WILHOIT, Lauren F., David A. SCOTT a Brooke A. SIMECKA. Fetal Alcohol Spectrum Disorders: Characteristics, Complications, and Treatment. *Community Mental Health Journal*. 2017, 53(6), 711–718. DOI: 10.1007/s10597-017-0104-0. ISSN 0010-3853.
- [24] GLASS, Leila., Ashley L. WARE a Sarrah N. MATTSON. Neurobehavioral, neurologic, and neuroimaging characteristics of fetal alcohol spectrum disorders. *Alcohol and the Nervous system*. 2014, 435–462. DOI: 10.1016/b978-0-444-62619-6.00025-2.
- [25] WARREN Kenneth R., Brenda G. HEWITT, Jennifer D. THOMAS. Fetal alcohol spectrum disorders: research challenges and opportunities. *Alcohol Res Health*. 2011, 34(1), 4–14.
- [26] OSNA Natalia A., Terrence M. DONOHUE Jr., Kusum K. KHARBANDA. Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and Current Management. *Alcohol Res*. 2017, 38(2), 147–161.
- [27] RASINENI Karuna a Carol A. CASEY. Molecular mechanism of alcoholic fatty liver. *Indian J Pharmacol*. 2012, 44(3), 299–303. DOI:10.4103/0253-7613.96297.
- [28] CHACKO, Kristina Rachel a John REINUS. Spectrum of Alcoholic Liver Disease. *Clinics in Liver Disease*. 2016, 20(3), 419–427. DOI: 10.1016/j.cld.2016.02.002. ISSN 10893261.
- [29] LACKNER, Carolin a Dina TINIAKOS. Fibrosis and alcohol-related liver disease. *Journal of Hepatology*. 2019, 70(2), 294–304. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.12.003. ISSN 01688278.
- [30] CHROSTEK Lech a Anatol PANASIUK. Liver fibrosis markers in alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014, 20(25), 8018–8023. DOI: 10.3748/wjg.v20.i25.8018.
- [31] KAO, Jia-Horng, HUANG a YANG. Pathogenesis and management of alcoholic liver cirrhosis: a review. *Hepatic Medicine: Evidence and Research*. 2011, 3, 1–11. DOI: 10.2147/HMER.S10265. ISSN 1179-1535.
- [32] HERREROS-VILLANUEVA, Marta. Alcohol consumption on pancreatic diseases. *World Journal of Gastroenterology*. 2013, 19(5), 638–647. DOI: 10.3748/wjg.v19.i5.638. ISSN 1007-9327.
- [33] APTE, Minotti V., Romano C. PIROLA a Jeremy S. WILSON. Alcohol and the Pancreas. *Pancreapedia: Exorcine Pancreas Knowledge Base*. 2016, 1, 1–19. DOI: 10.3998/panc.2016.17

- [34] THE LANCET. Alcohol and cancer. *The Lancet*. 2017, 390(10109), 2215. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)32868-4. ISSN 01406736.
- [35] BOFFETTA, Paolo a Mia HASHIBE. Alcohol and cancer. *The Lancet Oncology*. 2006, 7(2), 149–156. DOI: 10.1016/S1470-2045(06)70577-0. ISSN 14702045.
- [36] CHOI, Yoon-Jung, Seung-Kwon MYUNG a Ji-Ho LEE. Light Alcohol Drinking and Risk of Cancer: A Meta-Analysis of Cohort Studies. *Cancer Research and Treatment*. 2018, 50(2), 474–487. DOI: 10.4143/crt.2017.094. ISSN 1598-2998.
- [37] ZUO, Wei, Zhenyu ZHAN, Lin MA, Wei BAI a Shanggan ZENG. Effect of ALDH2 polymorphism on cancer risk in Asians. *Medicine*. 2019, 98(13), 14855-14864. DOI: 10.1097/MD.00000000000014855. ISSN 0025-7974.
- [38] SEITZ, Helmut K. a Peter BECKER. Alcohol metabolism and cancer risk. *Alcohol Res Health*. 2007, 30(1), 38–47.
- [39] RAMADORI, Pierluigi, Francisco CUBERO, Christian LIEDTKE, Christian TRAUTWEIN a Yulia NEVZOROVA. Alcohol and Hepatocellular Carcinoma: Adding Fuel to the Flame. *Cancers*. 2017, 9(12). DOI: 10.3390/cancers9100130. ISSN 2072-6694.
- [40] LI, YingJun, YingYing MAO, Yang ZHANG, et al. Alcohol drinking and upper aerodigestive tract cancer mortality: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncology*. 2014, 50(4), 269–275. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2013.12.015. ISSN 13688375.
- [41] ROSWALL, Nina a Elisabete WEIDERPASS. Alcohol as a Risk Factor for Cancer: Existing Evidence in a Global Perspective. *Journal of Preventive Medicine and Public Health*, 2015. DOI: 10.3961/jpmp.14.052. ISSN 1975-8375.
- [42] BALOGH, Julius, David VICTOR, Emad H ASHAM, et al. Hepatocellular carcinoma: a review. *Journal of Hepatocellular Carcinoma*. 2016, 3, 41–53. DOI: 10.2147/JHC.S61146. ISSN 2253-5969.
- [43] ROSSI, Marco, Muhammad JAHANZIB ANWAR, Ahmad USMAN, et al. Colorectal Cancer and Alcohol Consumption-Populations to Molecules. *Cancers (Basel)*. 2018, 10(2), 38. DOI:10.3390/cancers10020038.
- [44] FEDIRKO, V., I. TRAMACERE, V. BAGNARDI, et al. Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. *Annals of Oncology*. 2011, 22(9), 1958–1972. DOI: 10.1093/annonc/mdq653. ISSN 0923-7534.

- [45] SEITZ, Helmut K., Claudio PELUCCHI, Vincenzo BAGNARDI a Carlo La VECCHIA. Epidemiology and Pathophysiology of Alcohol and Breast Cancer: Update 2012. *Alcohol and Alcoholism*. 2012, 47(3), 204–212. DOI: 10.1093/alcalc/ags011. ISSN 1464-3502.
- [46] LIU, Ying, Nhi NGUYEN a Graham A COLDITZ. Links between Alcohol Consumption and Breast Cancer: A Look at the Evidence. *Women's Health*. 2015, 11(1), 65–77. DOI: 10.2217/WHE.14.62. ISSN 1745-5065.
- [47] CHOPRA, Kanwaljit a Vinod TIWARI. Alcoholic neuropathy: possible mechanisms and future treatment possibilities. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2012, 73(3), 348–362. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2011.04111.x. ISSN 03065251.
- [48] MARTIN, Peter R., Charles K. SINGLETON a Susanne HILLER-STURMHÖFEL. The role of thiamine deficiency in alcoholic brain disease. *Alcohol Res Health*. 2003, 27(2), 134–142.
- [49] MANZARDO, Ann M. Thiamine Deficiency and Alcoholism Psychopathology. *Molecular Aspects of Alcohol and Nutrition*. Elsevier, 2016, 85–94. DOI: 10.1016/B978-0-12-800773-0.00007-0. ISBN 9780128007730.
- [50] LATT, N. a G. DORE. Thiamine in the treatment of Wernicke encephalopathy in patients with alcohol use disorders. *Internal Medicine Journal*. 2014, 44(9), 911–915. DOI: 10.1111/imj.12522. ISSN 14440903.