

Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Wydział Farmaceutyczny

mgr analit. med. Maksymilian Kulza

**Interakcje metaboliczne pomiędzy
dymem tytoniowym
a alkoholem etylowym**

ROZPRAWA DOKTORSKA

Pracę wykonano
w Laboratorium Badań Środowiskowych
Katedry i Zakładu Toksykologii
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Promotor: prof. dr hab. Ewa Florek

Poznań 2011

Słowa kluczowe: dym tytoniowy, alkohol etylowy, interakcje farmakokinetyczne, zwierzęta

Składam serdeczne podziękowania
Pani Promotor prof. dr hab. Ewie Florek
za życzliwą pomoc i opiekę naukową
oraz cenne wskazówki merytoryczne
przy wykonywaniu pracy

Dziękuję
Panu Dziekanowi Wydziału Farmaceutycznego
prof. dr hab. Edmundowi Grześkowiakowi
za umożliwienie wykonania pracy doktorskiej
na Wydziale Farmaceutycznym
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Serdecznie dziękuję
Pracownikom Katedry i Zakładu Toksykologii
za życzliwą atmosferę jaka towarzyszyła
w czasie wykonywania pracy

Pracę dedykuję Rodzicom
oraz Mojej Kochanej Małgorzacie

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	16
2. DYM TYTONIOWY	18
2.1 DANE EPIDEMIOLOGICZNE	18
2.2 CHARAKTERYSTYKA FIZYKO-CHEMICZNA DYMU TYTONIOWEGO	20
2.3 METABOLIZM DYMU TYTONIOWEGO	26
2.4 ENZYMY UCZESTNICZĄCE W BIOTRANSFORMACJI NIKOTYNY I SKŁADNIKÓW DYMU TYTONIOWEGO	32
3. ALKOHOL ETYLOWY	34
3.1 DANE EPIDEMIOLOGICZNE	34
3.2 CHARAKTERYSTYKA FIZYKO – CHEMICZNA ALKOHOLU ETYLOWEGO	37
3.3 DIAGNOSTYKA ZATRUĆ ALKOHOLEM ETYLOWYM	40
3.4 FARMAKOKINETYKA ALKOHOLU ETYLOWEGO	45
3.4.1 WCHŁANIANIE	45
3.4.2 DYSTRYBUCJA	46
3.4.3 LOSY W ORGANIZMIE	47
3.4.4 DZIAŁANIE TOKSYCZNE U LUDZI	49
3.4.5 ZATRUCIE OSTRE	49
3.4.6 ZATRUCIE PRZEWLEKŁE I UZALEŻNIENIE	51
4. WYBRANE ASPEKTY WZAJEMNEGO WPŁYWU ALKOHOLU ETYLOWEGO I DYMU TYTONIOWEGO	54
5. CEL PRACY	82
6. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA	83
6.1 ZWIERZĘTA DOŚWIADCZALNE	83
6.2 PRZEBIEG BADANIA	84
6.2.1 DOBÓR ZWIERZĄT LABORATORYJNYCH	84
6.2.2 SCHEMAT UZALEŻNIENIA ZWIERZĄT OD ALKOHOLU ETYLOWEGO	86
6.3 EKSPOZYCJA ZWIERZĄT NA DYM TYTONIOWY	87
6.3.1 SPRZĘT I MATERIAŁY	87
6.3.2 KOMORA TOKSYKOLOGICZNA	87
6.3.3 PAPIEROSY	88
6.3.4 TOK POSTĘPOWANIA	88

6.4 JEDNORAZOWE PODANIE ALKOHOLU ETYLOWEGO	89
6.4.1 SPRZĘT I ODCZYNNIKI	89
6.4.2 TOK POSTĘPOWANIA	89
6.5 SZCZEGÓŁOWY OPIS EKSPERYMENTU	89
6.5.1 GRUPA AI, BI, CI, DI	89
6.5.2 GRUPA AII, BII, CII, DII	89
6.5.3. GRUPA AIII, BIII, CIII, DIII	90
6.5.4 GRUPA E	90
6.5.5 GRUPA F	91
6.6 OZNACZANIE ALKOHOLU ETYLOWEGO, ALDEHYDU OCTOWEGO, ACETONU, ALKOHOLU METYLOWEGO, ALKOHOLU N-PROPYLOWEGO, ALKOHOLU N-BUTYLOWEGO	92
6.6.1 ZASADA METODY	92
6.6.2 APARATURA I SPRZĘT	92
6.6.3 ODCZYNNIKI I ROZTWORY	92
6.7 WALIDACJA METODY	93
6.7.1 KALIBRACJA	93
6.7.2 GRANICE WYKRYWALNOŚCI (LOD) I OZNACZALNOŚCI (LOQ)	93
6.7.3 POWTARZALNOŚĆ	95
6.7.4 DOKŁADNOŚĆ	97
6.8 TOK POSTĘPOWANIA	98
6.8.1 MIKROEKSTRAKCJA DO FAZY STAŁEJ	98
6.8.2 WARUNKI PRACY CHROMATOGRAFU GAZOWEGO	99
6.9 OZNACZANIE NIKOTYNY, NORNİKOTYNY, N-TLENKU NİKOTYNY, KOTYNINY, TRANS-3'-HYDROKSYKOTYNINY, N-TLENKU KOTYNINY	100
6.9.1 ZASADA METODY	100
6.9.2 APARATURA I SPRZĘT	100
6.9.3 ODCZYNNIKI I ROZTWORY	100
6.10 WALIDACJA METODY	101
6.10.1. GRANICA WYKRYWALNOŚCI (LOD) I OZNACZALNOŚCI (LOQ)	101
6.10.2 LINIOWOŚĆ METODY	102
6.10.3 POWTARZALNOŚĆ METODY	105
6.11 TOK POSTĘPOWANIA	107

6.11.1 APARATURA I SPRZĘT	107
6.11.2 TOK EKSTRAKCJI	107
6.11.3 ANALIZA METODĄ HPLC	107
6.11.4 WARUNKI PRACY CHROMATOGRAFU HPLC	108
7. WYNIKI I ICH OMÓWIENIE	110
7.1 WYNIKI OZNACZEŃ - ALDEHYD OCTOWY, ACETON, ALKOHOL ETYLOWY, METANOL, N-PROPANOL, N-BUTANOL – SAMICE NIEUZALEŻNIONE OD ALKOHOLU ETYLOWEGO	110
7.2 WYNIKI OZNACZEŃ - ALDEHYD OCTOWY, ACETON, ALKOHOL ETYLOWY, METANOL, N-PROPANOL, N-BUTANOL – SAMCE NIEUZALEŻNIONE OD ALKOHOLU ETYLOWEGO	125
7.3 WYNIKI OZNACZEŃ - ALDEHYD OCTOWY, ACETON, ALKOHOL ETYLOWY, METANOL, N-PROPANOL, N-BUTANOL – SAMICE UZALEŻNIONE OD ALKOHOLU ETYLOWEGO	138
7.4 WYNIKI OZNACZEŃ - ALDEHYD OCTOWY, ACETON, ALKOHOL ETYLOWY, METANOL, N-PROPANOL, N-BUTANOL – SAMCE UZALEŻNIONE OD ALKOHOLU ETYLOWEGO	151
7.5 WYNIKI OZNACZEŃ - NIKOTYNY, NORNIKOTYNY, N-TLENKU NIKOTYNY, KOTYNYNY, TRANS-3'-HYDROKSYKOTYNYNY, N-TLENKU KOTYNYNY – SAMICE NIEUZALEŻNIONE OD ALKOHOLU ETYLOWEGO	164
7.6 WYNIKI OZNACZEŃ - NIKOTYNY, NORNIKOTYNY, N-TLENKU NIKOTYNY, KOTYNYNY, TRANS-3'-HYDROKSYKOTYNYNY, N-TLENKU KOTYNYNY – SAMCE NIEUZALEŻNIONE OD ALKOHOLU ETYLOWEGO	176
7.7 WYNIKI OZNACZEŃ - NIKOTYNY, NORNIKOTYNY, N-TLENKU NIKOTYNY, KOTYNYNY, TRANS-3'-HYDROKSYKOTYNYNY, N-TLENKU KOTYNYNY – SAMICE UZALEŻNIONE OD ALKOHOLU ETYLOWEGO	188
7.8 WYNIKI OZNACZEŃ - NIKOTYNY, NORNIKOTYNY, N-TLENKU NIKOTYNY, KOTYNYNY, TRANS-3'-HYDROKSYKOTYNYNY, N-TLENKU KOTYNYNY – SAMCE UZALEŻNIONE OD ALKOHOLU ETYLOWEGO	200
7.9 PARAMETRY FARMAKOKINETYCZNE DLA ALKOHOLU ETYLOWEGO I ALDEHYDU OCTOWEGO	213
7.10 PARAMETRY FARMAKOKINETYCZNE DLA ALKOHOLU METYLOWEGO	220
7.11 PARAMETRY FARMAKOKINETYCZNE DLA ACETONU	227
7.12 PARAMETRY FARMAKOKINETYCZNE DLA ALKOHOLU N-PROPYLOWEGO	230
7.13 PARAMETRY FARMAKOKINETYCZNE DLA ALKOHOLU N-BUTYLOWEGO	236
7.14 PARAMETRY FARMAKOKINETYCZNE DLA NIKOTYNY	242
7.15 PARAMETRY FARMAKOKINETYCZNE DLA NORNIKOTYNY	249

6.16 PARAMETRY FARMAKOKINETYCZNE DLA N-TLENKU NIKOTYNY	255
7.17 PARAMETRY FARMAKOKINETYCZNE DLA KOTYNINY	261
7.18 PARAMETRY FARMAKOKINETYCZNE DLA TRANS-3'-HYDROKSYKOTYNINY	267
7.19 PARAMETRY FARMAKOKINETYCZNE N-TLENKU KOTYNINY	273
8. DYSKUSJA	279
9. WNIOSKI	302
10. STRESZCZENIE	304
11. SUMMARY	306
12. PIŚMIENNICTWO	308

1. WSTĘP

Kiedy w piętnastym wieku tytoń został rozpowszechniony i odkryto jego działanie na organizm ludzki stał się bardzo popularną używką w większości kultur na świecie. W ubiegłym wieku nastąpił bardzo wyraźny wzrost ilości osób palących wyroby tytoniowe i lawinowo wzrastała też liczba uzależnionych od wszelkich postaci tytoniu. Pierwsze wzmianki na temat alkoholu etylowego zanotowano w piątym tysiącleciu przed naszą erą. Również od dawna znane są szkodliwe skutki jego nadmiernego spożywania, na co wskazują zapisy w Biblii. W czasach współczesnych spożycie alkoholu etylowego wzrasta, zarówno w Polsce, Europie jak i Stanach Zjednoczonych. Społeczne przyzwolenie na spożycie alkoholu i często szukanie pretekstu do picia napojów alkoholowych stanowi poważne zagrożenie społeczne i powoduje duże komplikacje w prowadzeniu edukacji antyalkoholowej oraz innych działań zapobiegających patologiom związanym z pićciem. Również w przypadku wyrobów tytoniowych istnieje duże przyzwolenie na używanie tego środka w wielu sytuacjach życia codziennego. Często palenie oraz picie rozpoczyna się w bardzo młodym wieku, co jest niekorzystnie wpływającym czynnikiem jeśli chodzi o zdrowie młodej osoby z poważnymi niekiedy konsekwencjami w życiu dorosłym. Zdomowienie w kulturze powoduje wiele utrudnień w zapobieganiu wystąpienia uzależnienia od tych substancji i edukacji młodych pokoleń.

Ciągły wzrost ilości spożywanych napojów alkoholowych i nadal bardzo duży odsetek osób używających wyrobów tytoniowych powoduje bardzo wiele wzajemnych interakcji tych substancji, a co za tym idzie ilości powikłań, jakie niesie ze sobą używanie produktów alkoholowych, nie tylko w aspekcie psychologiczno – społecznym.

Z farmakologicznego punktu widzenia tematyka alkoholu etylowego i jego interakcji ze składnikami dymu tytoniowego pozostaje ciągle rejonem, gdzie nauka stara się wyjaśnić wiele nie do końca poznanych mechanizmów działania tych ksenobiotyków. Biorąc pod uwagę fakt współwystępowania ze spożyciem alkoholu wyrobów tytoniowych podjęcie tej tematyki badawczej wydaje się uzasadnione nie tylko ze względu na chęć poznania nowych aspektów działania alkoholu etylowego i dymu tytoniowego, ale i z możliwych korzyści społecznych. Wpływ na układy enzymatyczne w organizmie oraz wiele występujących interakcji wynikających ze zmian aktywności układów detoksykacyjnych niesie ze sobą konieczne do uwzględnienia w klinice nowe aspekty w farmakoterapii.

Model zwierzęcy jest często wykorzystywany do badań wpływu uzależnienia od alkoholu etylowego w badaniach naukowych. Niewiele jest jednak badań wykorzystujących

zwierzęta uzależnione od etanolu w łącznym narażeniu na etanol i dym tytoniowy. Zagrożenie dla zdrowia jest o wiele większe w przypadku stosowania obu ksenobiotyków, co powoduje, że badania eksperymentalne mają zastosowanie w rozwiązywaniu zagadnień związanych ze zdrowiem człowieka.

2. DYM TYTONIOWY

2.1 Dane epidemiologiczne

Analizując liczbę wypalanych wyrobów tytoniowych na świecie istnieje tendencja spadkowa i zmniejszyła się o 1/5 w ciągu ostatnich dwudziestu lat. Tak jest w przypadku krajów wysokorozwiniętych. Kraje rozwijające się natomiast wykazują wzrost spożycia wyrobów tytoniowych w granicach 3,5% w ciągu roku. Na świecie jest około 1,1 miliarda osób używających wyrobów tytoniowych. Są to osoby powyżej 15 roku życia. Według przewidywań ich liczba będzie ciągle wzrastała i osiągnie około 1,64 miliarda w roku 2025 [Peto et al., 2006; Peto et al., 1992].

W Polsce 40% mężczyzn regularnie pali wyroby tytoniowe. W przypadku kobiet jest to 25% palących codziennie. Więcej osób palących jest wśród tych z niższym poziomem wykształcenia i o mniejszych dochodach. W Polsce 34% kobiet paliło tytoń w swoim życiu, obecnie pali od 20% do 29,9% w zależności od regionu Polski, średnio 25,6%. W badaniach prowadzonych na terenie Polski w populacji kobiet w wieku prokreacyjnym 22% paliło tytoń. Spośród 25% kobiet palących tylko 12% przestaje palić tytoń po zajściu w ciążę. Alarmujące dane dotyczą rozpowszechnienia nałogu palenia wśród dziewcząt. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia aż 57% dziewcząt w Polsce kiedykolwiek zapaliło papierosa z czego 11% pierwsze próby z wyrobami tytoniowymi przechodziło przed 10 rokiem życia [Florek i Piekoszewski, 2010; Florek i wsp., 2001a].

W Polsce w latach 1990, 1994, 1998 prowadzono badania, które wykazały bardzo duży wzrost ilości wypalanych papierosów przez dzieci w wieku szkolnym. Światowa Organizacja Zdrowia natomiast podaje, że aż 68% chłopców i 57% dziewcząt próbowało zapalić papierosa w swoim życiu z czego aż 11% zrobiło to przed siódmym rokiem życia [Piekoszewski i Florek, 2001].

W analizie Mazur i Wojnarowskiej wykazano, że w latach 1990 – 1998 liczba palących piętnastolatków wzrastała systematycznie i rosła szybciej wśród nastolatków płci żeńskiej w miastach. Wzrost ten uległ zahamowaniu w latach 1998 – 2002. Natomiast spożywanie alkoholu etylowego przez młodzież ulegało zwiększeniu w latach 1990 – 2002. W przypadku jednoczesnego palenia oraz picia, to u 7% piętnastolatków stwierdzono codzienne używanie wyrobów tytoniowych oraz częste sięganie po alkohol. Dodatkowo u dzieci, które palą oraz piją napoje alkoholowe wzrasta ryzyko wystąpienia kłopotów z

innego rodzaju substancjami psychoaktywnymi lub zachowaniami agresywnymi [Mazur i Wojnarowska, 2004].

Dokonano analizy artykułów znalezionych w komputerowych bazach danych pod kątem problemu zaprzestania palenia przez osoby nadużywające alkoholu etylowego. Osoby palące z aktualnym, bądź występującym w przeszłości problemem alkoholowym wykazywały większy stopień uzależnienia od nikotyny. Pomimo tego jednak osoby takie łatwiej pozbywały się nałogu [Hughes and Kalman, 2006].

Bardzo ważnym aspektem jest palenie wyrobów tytoniowych przez kobiety, co ma znaczący wpływ na płodność [Florek i wsp., 2001b; Florek i Marszałek, 2001c].

Także Światowa Organizacja Zdrowia zaleca, od 1992 roku w celu rozwiązywania problemów uzależnień, równoczesne rozpatrywanie u pacjenta zależności alkoholowej, tytoniowej i narkotykowej. Mimo zmiany nawyków, jeśli chodzi o rodzaj używanego alkoholu oraz grup wiekowych spożywających alkohol lub wyroby tytoniowe problem współuzależnienia ciągle stanowi poważne zagrożenie [Pierani and Tiezzi, 2007].

W krajach europejskich ilość konsumowanych wyrobów tytoniowych ma tendencję spadkową. W Wielkiej Brytanii w roku 1980 aż 40% osób paliło tytoń, aby w 1994 osiągnąć 26% palących, co jest znaczącym spadkiem. W Holandii natomiast wśród kobiet nastąpił spadek z 34% palących w 1980 roku do 32% w 1996 roku [Peto et al., 1992]. W Tabeli I przedstawiono odsetek kobiet i mężczyzn palących tytoń w różnych krajach.

Tab. I Odsetek kobiet i mężczyzn palących tytoń w różnych krajach

Kraj	Odsetek osób palących
	Mężczyźni
Jemen	77
Djibuti	75
Kambodża, Chiny	67
Kazachstan, Korea Południowa	65
Armenia	62
Albania, Federacja Rosyjska, Samoa	60
	Kobiety
Wyspy Cook'a	71
Nauru	59
Gwinea	47
Chile	37
Serbia i Czarnogóra	34
Liban, Tuwalu	31
Bośnia i Hercegowina	30

[Piekoszewski i Florek, 2006]

2.2 Charakterystyka fizyko-chemiczna dymu tytoniowego

W przemyśle tytoniowym podstawowym surowcem wykorzystywanym do produkcji wyrobów tytoniowych są rośliny z rodzaju *Nicotiana*, które należą do rodziny psiankowatych. Szczególnie ważnym dla przemysłu jest *Nicotiana Tabacum*.

Podczas spalania tytoniu na skutek wielu procesów fizykochemicznych m.in. pirolizy, piro syntezy, destylacji, sublimacji, kondensacji redukcji czy utleniania oraz dehydratacji powstaje wiele składników dymu tytoniowego, ponadto procesy te mają bardzo duży wpływ na jakościową zawartość powstającego dymu. Spalanie tytoniu zawartego w papierosach nie jest całkowite. Według danych literaturowych skład dymu tytoniowego jest niezwykle bogaty i zawiera ponad 4300 zidentyfikowanych związków chemicznych. Pozostałe kilkaset związków chemicznych są niezidentyfikowane. Dym tytoniowy składa się z dwóch faz, gazowej i cząsteczkowej, w których wyróżnić można odpowiednio 400-500 składników chemicznych w fazie gazowej oraz 3500 składników chemicznych w fazie cząsteczkowej [Piekoszewski i Florek, 2001].

Podczas spalania tytoniu wyróżnia się dwa strumienie dymu tytoniowego. Strumień główny (mainstream smoke, MS) powstający podczas palenia wyrobów tytoniowych w temperaturze 800-900°C. Strumień boczny (sidestream smoke, SS) powstający w

przerwach w zaciąganiu się papierosem i generowany w temperaturze około 600°C. Różnice w temperaturach powstawania obu strumieni dymu mają odzwierciedlenie w składzie chemicznym dymu tytoniowego [Piekoszewski i Florek, 2001]. Właściwości fizykochemiczne dymu tytoniowego – strumienia głównego (MS) oraz bocznego (SS) w przypadku papierosów bez filtra przedstawiono w Tabeli II.

Tab. II Właściwości fizykochemiczne dymu tytoniowego – strumienia głównego (MS) oraz bocznego (SS) – dane dotyczą papierosów bez filtra

Parametr	Strumień główny	Strumień boczny
Temp. stożka papierosa (°C)	860-900°C	500-650°C
Temp. wciągane dymu (°C)	20-50°C *	20-60°C **
pH	5,8-6,2***	6,8-7,5***
Ilość cząstek/cm ³	5x10 ⁹	10 ⁵ -10 ⁶
Średnica cząstek (µm)	0,2 (0,1-1,0)	0,5 (0,1-1,5)
Ilość polidispersyjnych cząstek stałych/cm ³	2-3x10 ¹⁰	n.o.
Masa całkowita (mg)	500	n.o.
Masa fazy cząstkowej dymu	20-30	25-40

* pierwsze zaciągnięcie 20°C, ostatnie zaciągnięcie 50°C

** 8 mm z wypalonego stożka

*** tytoń typu Virginia lub mieszanka tytoniu; tytoń papierosowy ciemny pH MS 6,6-7,1, pH SS 7,5-8,7

n.o. nie określono

[Florek i Piekoszewski, 2006]

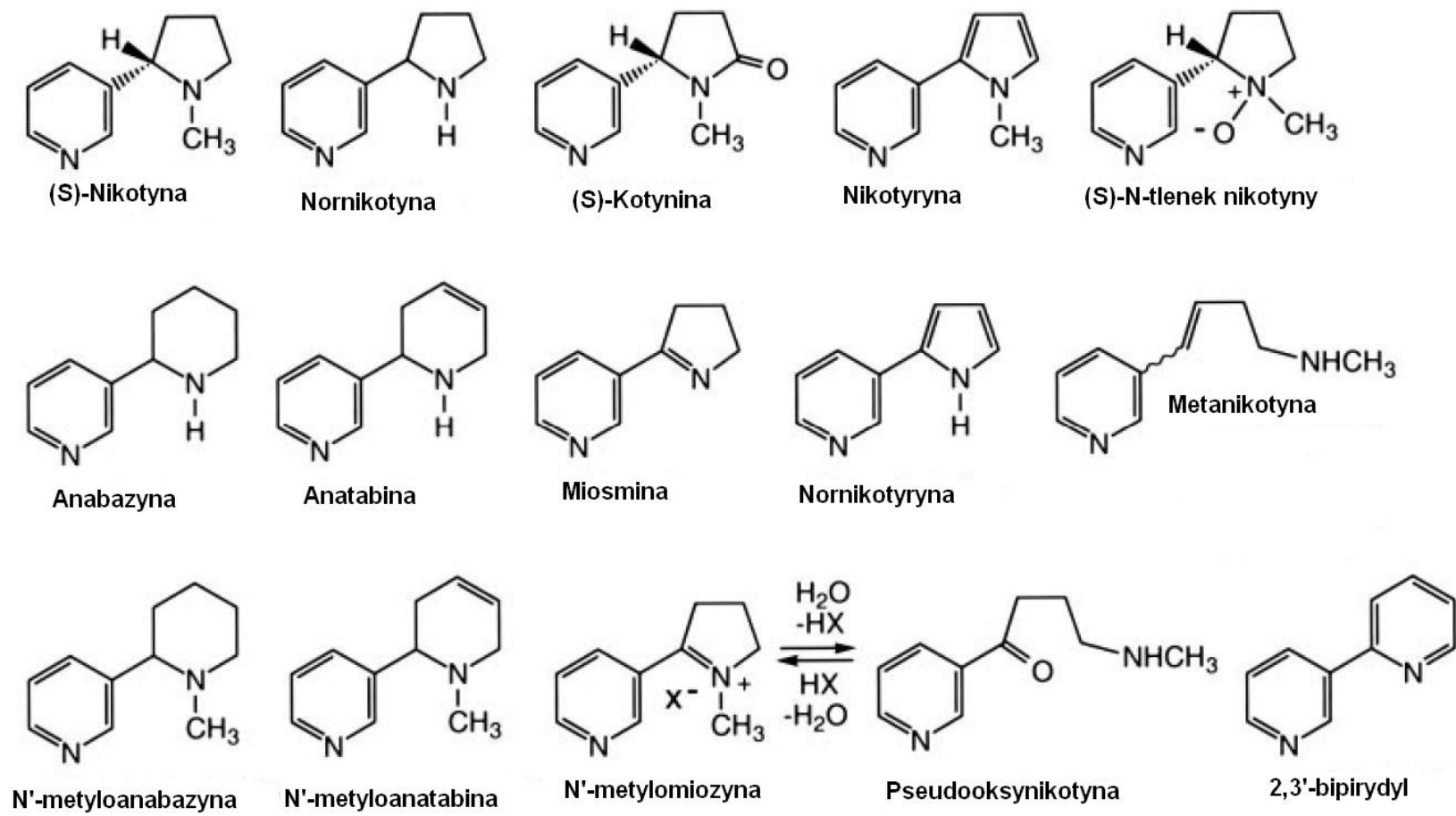
Dodatkowo, biorąc pod uwagę fazy dymu tytoniowego można mówić o zróżnicowanym składzie chemicznym. Głównymi składnikami fazy gazowej stanowiącymi jej 85-95% całkowitej masy są azot, amoniak tlenek węgla, cyjanowodór, formaldehyd, tlenki azotu, aldehyd octowy, pirydyna i N-nitrozoaminy specyficzne dla tytoniu [Hoffmann and Wynder, 1994; Piekoszewski i Florek, 2001]. Faza cząstkowa dymu charakteryzuje się budową z cząsteczek o średnicy 0,1-0,8 µm, jest więc ona aerozolem. W składzie fazy cząstkowej wyróżnia się wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (np. naftalen, fenantren, benzo(a)piren, benzo(a)antracen), alkohole, fenole, metale ciężkie, pierwiastki promieniotwórcze [Hoffmann and Hoffmann, 1997; Hoffmann and Wynder, 1994].

Alkaloidy pirydynowe zawarte w liściach tytoniu, znajdujące się w fazie cząstkowej obejmują m.in. nikotynę stanowiącą 85-95% jej masy [Piekoszewski i Florek, 2001].

Naturalny produkt, jakim są liście tytoniu wymaga szeregu procesów przygotowujących go do użycia w wyrobach przeznaczonych do palenia. Najważniejszym

składnikiem odpowiedzialnym za fizjologiczne działanie tytoniu jest alkaloid pirydynowy - nikotyna. Tytoń należy do rodziny psiankowatych (*Solanaceae*) stąd też nikotyna występuje również w małych ilościach w innych roślinach z tej rodziny np. bakłażany, pomidory, zielony pieprz lub ziemniaki. Poza tym nikotyna obecna jest również w zielonej herbacie. Nikotyna w liściach tytoniu występuje w granicach 4% w postaci soli jabłczanów i cytrynianów [Zaprutko i Wrzeciono, 2001].

W budowie cząsteczki chemicznej nikotyny wyróżnić można pierścień pirydynowy i piroolidynowy. Jest ona aminą trzeciorzędową. W naturalnych produktach występuje w postaci dwóch stereo izomerów S-nikotyny i R-nikotyny. S-nikotyna jest formą aktywną biologicznie, posiadającą właściwości działania na receptory cholinergiczne. Forma R-nikotyny występuje w niewielkich ilościach w dymie tytoniowym, gdzie powstaje na skutek procesów zachodzących podczas palenia tytoniu (racemizacja). Nikotyna należy do związków silnie toksycznych, a jej dawka śmiertelna zawiera się w granicach 40 – 60 mg per os [Hukkanen et al., 2005]. Najważniejsze alkaloidy wchodzące w skład liści tytoniu przedstawiono na Rycinie 1.



Ryc. 1 Najważniejsze alkaloidy wchodzące w skład liści tytoniu [Hukkanen et al., 2005].

Ilość dymu tytoniowego jaka jest wytwarzana podczas spalania papierosa o masie 1 g wynosi około 500 mg. Najważniejsze toksyczne składniki dymu tytoniowego przedstawiono w Tabeli III.

Tab. III Najważniejsze toksyczne składniki dymu tytoniowego

Składnik	Stężenie /papieros	Toksyczność
Tlenek węgla	10-23 mg	Łączy się z hemoglobina, hamuje oddychanie, powoduje miażdżycę
Amoniak	10-130 µg	Drażni drogi oddechowe
Tlenek azotu	100-600 µg	Powoduje zapalenie płuc
Cyjanowodór	400-500 µg	Bardzo toksyczny dla aparatu rzęskowego, hamuje oczyszczanie płuc
Siarkowodór	10-90 µg	Drażni drogi oddechowe
Akroleina	60-140 µg	Toksyczna dla aparatu rzęskowego, hamuje oczyszczanie płuc
Metanol	100-250 µg	Toksyczny inhalacyjnie i per os
Pirydyna	16-40 µg	Drażni drogi oddechowe
Nikotyna	1-3 mg	Odpowiedzialna za uzależnienie, działa na niektóre funkcje endokrynne
Fenol	80-160 µg	Promotor procesu nowotworowego u zwierząt
Katechol	200-400 µg	Kokancerogen u zwierząt
Anilina	360-655 µg	Wywołuje methemoglobinemię, zaburza procesy oddechowe
Hydrazyna	1,16 µg	Czynnik mutagenny

[Florek, Piekoszewski, 2007]

Środowiskowy dym tytoniowy (environmental tobacco smoke, ETS) jest sumą składników dymu bocznego strumienia oraz dymu wydychanego przez palacza. Boczny strumień dymu tytoniowego stanowi 80-96% składu ETS, natomiast dym wydychany przez palacza to około 4-20% [Piekoszewski i Florek 2001].

W dymie tytoniowym zawartych jest także wiele kancerogenów o udowodnionym działaniu rakotwórczym. Najważniejszymi z nich są wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne i N-nitrozoaminy specyficzne dla tytoniu, kwasy tłuszczowe, steroidy i naturalne polifenole [Piekoszewski i Florek 2001]. Ponadto w dymie tytoniowym wykazano obecność metali takich jak m.in. arsenu, chromu, kadmu, i ołowiu [Florek, Piekoszewski, 2000a; Piekoszewski i Florek 2001]. Substancje kancerogenne znajdujące się w dymie tytoniowym oraz liściach tytoniu przedstawiono w Tabeli IV.

Tab. IV Substancje kancerogenne znajdujące się w dymie tytoniowym oraz liściach tytoniu

Kancerogen	Stężenie /papieros	Właściwości kancerogenne
		Grupa
Benzo(a)antracen	20-70 ng	2A
Benzo(a)piren	20-40 ng	2A
Indeni(1,2,3-cd)piren	4-20 ng	2B
Dibenzo(a,j)akrydyna	3-10 ng	
Furan	18-37 ng	2B
N-Nitrozodimetyloamina	2-180 ng	2A
N-Nitrozodietiloamina	ND-2,8 ng	2A
N-Nitrozopirolidyna	3-110 ng	2B
4-(Metylonitrozoamino)-1-(3-pirydylo)-1-butanol	80-770 ng	2B
2-Naftyloamina	1-334 ng	1
4-Aminobifenyl	2-5,6 ng	1
2-amino-9H-pirydo(2,3-b)indol	25-260 ng	2B
2-amino-1-metylo-6-fenyloimidazo(4,5-b)pirydyna	11-23 ng	2A
Aldehyd mrówkowy	70-100 µg	2A
Aldehyd octowy	500-1400 µg	2B
1,3-Butadien	20-75 µg	2B
Benzen	20-70 µg	1
Akrylonitryl	3-15 µg	2A
Chlorek winylu	11-15 ng	1
Dichlorodifenylo-trichloroetan (DDT)	800-1200 µg	2B
Dichlorodifenylo-dichloroetylen (DDE)	200-370 µg	2B
Katechol	100-360 µg	2B
Tlenek etylenu	7 µg	1
Tlenek propylenu	12-100 µg	2B
Hydrazyna	24-43 ng	2B
Arsen	40-120 µg	1
Nikiel	ND-600 ng	1
Chrom (6 ⁺)	4-70 ng	1
Kadm	7-350 ng	1
Kobalt	0,13-0,2 ng	2B
Ołów	34-85 ng	2B
Polon-210	0,03-1,0 pCi	1

1 – kancerogen u ludzi; 2A – prawdopodobny kancerogen u ludzi; 2B – możliwy kancerogen u ludzi [Piekoszewski i Florek 2001].

Oprócz bardzo dużej ilości składników naturalnych występujących w liściach tytoniu producenci papierosów stosują szereg substancji w procesie produkcji papierosa w celu zwiększenia działania naturalnie występującej nikotyny. Nikotyna naturalnie w dymie tytoniowym występuje w fazie cząstkowej, gdzie przyjmuje postać jednoprotonową i tylko w niewielkim stopniu dwuprotonowej. Podczas procesu produkcji papierosów przez dodanie amoniaku zmienia się pH na wyższe i wówczas nikotyna w dymie tytoniowym przyjmuje postać wolnej zasady, dzięki czemu znacznie zwiększa się jej biodostępność. Ponadto w takich warunkach nikotyna występuje w fazie parowej dymu tytoniowego, co również powoduje większą biodostępność.

Producenci stosują dodatki powodujące polepszenie smaku i zapachu dymu oraz właściwości fizycznych. Jako substancje zmieniające smak i właściwości fizyczne stosuje się m.in.:

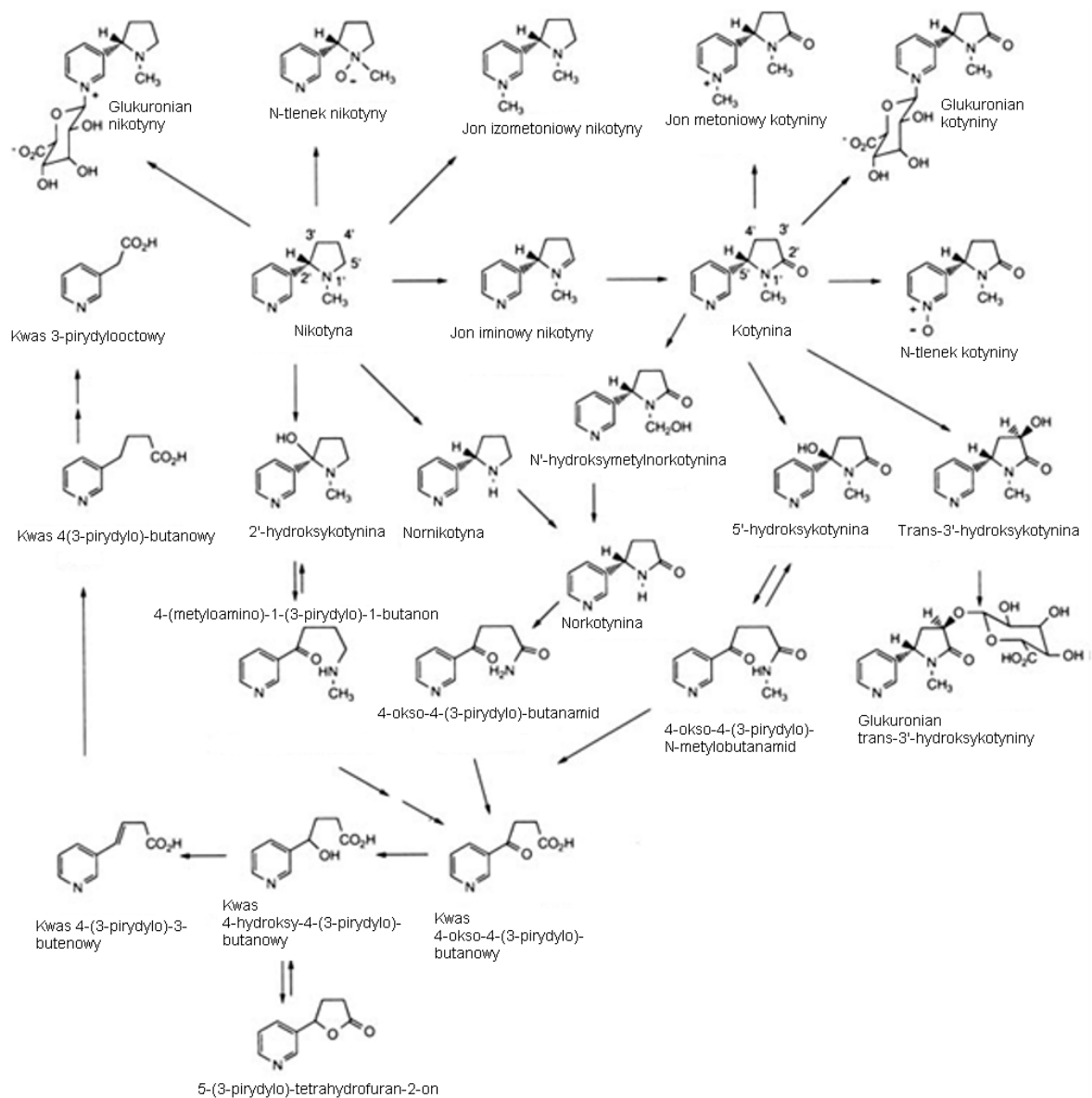
- Cukry i syropy
- Naturalne i sztuczne środki zapachowe
- Przyprawy, zioła
- Olejki
- Kakao, czekoladę, wanilię, imbir, gałkę muszkatołową [Florek, Piekoszewski, 2006]
- Spoiwa, barwniki, wypełniacze, konserwanty i modyfikatory spalania [Gaworski et al., 1998; Gaworski et al., 1999].

Wszystkie zabiegi stosowane na naturalnych liściach tytoniu, a także procesy stosowane przy produkcji bibulek i filtrów mają na celu zmianę i potęgowanie efektów działania dymu tytoniowego [Chepiga et al., 2000; Florek i Piekoszewski, 2006].

Od 1 stycznia 2004 r. w krajach Unii Europejskiej najwyższa dozwolona zawartość nikotyny w jednym papierosie wynosi 1 mg/papieros, tlenu węgla i substancji smolistych 10 mg/papieros [Florek i wsp., 1998].

2.3 Metabolizm dymu tytoniowego

Nikotyna zawarta w dymie tytoniowym jest metabolizowana w wątrobie, w około 70 – 80% do kotyniny [Hukkanen et al., 2005]. Schemat metabolizmu nikotyny przedstawiono na Rycinie 2.



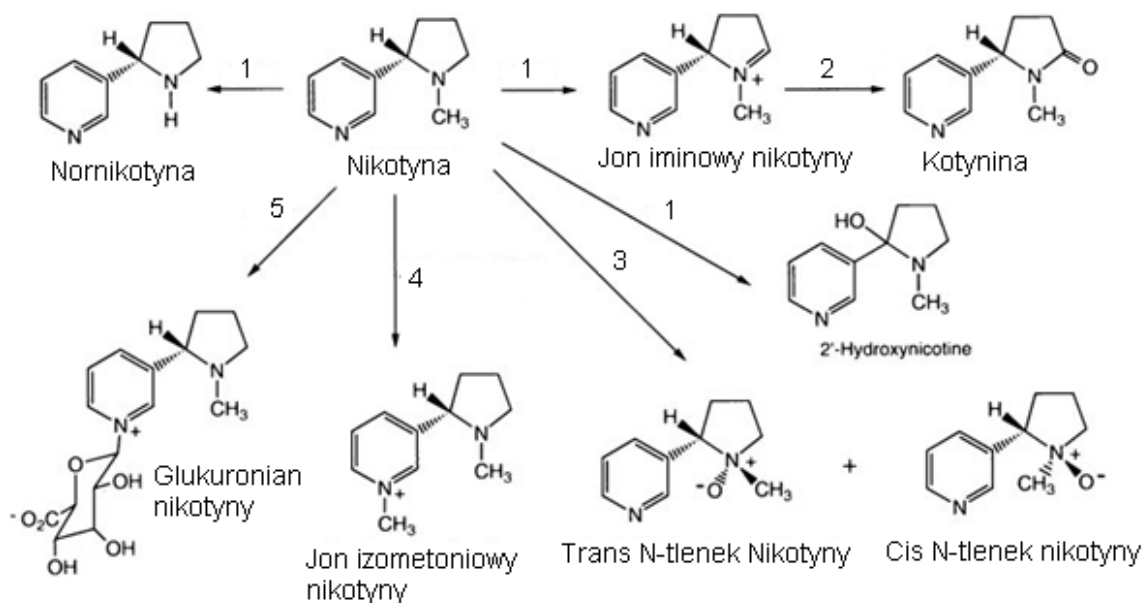
Ryc. 2 Schemat metabolizmu nikotyny [Hukkanen et al., 2005]

Metabolizm nikotyny do kotyniny przebiega w dwóch etapach. Pierwszy z nich to przemiana nikotyny do jonu iminowego przy udziale enzymów z grupy cytochromu P-450. Jon iminowy nikotyny pozostaje w równowadze z 5-hydroksynikotyną [Hukkanen et al., 2005]. Kolejnym etapem jest przekształcenie przez cytoplazmatyczną oksydazę aldehydową do kotyniny [Hukkanen et al., 2005]. Inną drogą metabolizmu nikotyny jest utlenienie do N-tlenku nikotyny, jednak tą drogą metabolizowane jest tylko 4-7% nikotyny [Benowitz and Jacob, 1994]. Konwersja nikotyny do N-tlenku nikotyny następuje przy udziale monooksygenaz flawinowych (FMO3). U ludzi przemiany metabolizowane przez ten enzym są selektywne dla izomerów trans, co wykazano przez podanie nikotyny dożylnie lub poprzez plastry, a w moczu wykryte zostały tylko formy trans N-tlenku nikotyny [Hukkanen et al., 2005]. N-tlenek nikotyny nie jest dalej metabolizowany, a może być redukowany z powrotem do nikotyny [Hukkanen et al., 2005]. Zmniejszenie stężenia N-tlenku nikotyny u ludzi prawdopodobnie odbywa się przy udziale bakterii bytujących w jelicie grubym. Potwierdzeniem tego faktu były badania, gdzie aplikowano N-tlenek nikotyny dożylnie i cała podana dawka została wydalona z moczem w postaci niezmienionej. Podanie N-tlenku nikotyny doodbytniczo powodowało natomiast pojawienie się kotyniny w moczu. N-tlenek nikotyny podany doustnie natomiast powodował obecność w moczu nikotyny i kotyniny [Hukkanen et al., 2005].

Oprócz przemian nikotyny związanych z utlenieniem pierścienia pirodymowego istnieją jeszcze dwie drogi metabolizmu nikotyny. Pierwszą z nich jest metylacja azotu pierścienia pirydymowego w wyniku czego powstaje jon izometoniowy nikotyny. Drugą drogą jest glukuronidacja. Badania na zwierzętach wykazały, że N-metylacja przebiega z wykorzystaniem S-adenozyl-L-metioniny jako źródła grupy metylowej podczas reakcji katalizowanej przez amino-N-metylotransferazy w wątrobie. Glukuronidacja nikotyny w ludzkiej wątrobie jest katalizowana przez difosforan glukuronyltransferazę urydyny [Seaton et al., 1993]. Około 3 – 5% nikotyny jest konwertowane do glukuronidu nikotyny, a następnie wydalane z moczem. Kolejną drogą metabolizmu jest oksydacyjna N-demetylacja. Przemiana metaboliczna do nornikotyny została udowodniona przez podanie znakowanej deuterem nikotyny, gdzie wykrywano w moczu znakowaną nornikotynę [Hukkanen et al., 2005]. Nornikotyna jest również składnikiem liści tytoniowych, jednak większość alkaloidu wydalanego przez palaczy pochodzi z metabolizmu nikotyny, co wykazano na podstawie porównania ilości nornikotyny u osób palących i przyjmujących nikotynę przezskórnie (0,65% i 0,41%, odpowiednio) [Benowitz et al., 1994; Hukkanen et al., 2005]. Tworzenie nornikotyny z nikotyny przebiega przy udziale cytochromu P450 co

zostało wykazane w badaniach na królikach. Jako półprodukt w procesie demetylacji nikotyny powstaje jon iminowy [Hukkanen et al., 2005]. Cytochrom P450 pośredniczy również w hydroksylacji 2'-hydroksynikotyny, która jest półproduktem w procesie powstania 4-metyloamino-1(3-pirydylo)-1,2-butanonu [Hecht et al., 2000]. Kolejnymi etapami tych przemian jest powstanie kwasu 4-okso-4-(3-pirydylo)butanowego oraz kwasu 4-hydroksy-4-(3-pirydylo)butanowego. Metabolity te wcześniej uważane były za powstające w wyniku przemian kotyniny. Ten szlak przemian może mieć znaczenie w możliwości przekształcenia 4-metyloamino-1(3-pirydylo)-1,2-butanonu do kancerogennych nitrozoamin. Taka produkcja endogennych nitrozoamin nie została jednak potwierdzona doświadczalnie [Hecht et al., 1999a]. Około 10-15% nikotyny jest wydalane w postaci kwasu 4-okso-4-(3-pirydylo)butanowego oraz kwasu 4-hydroksy-4-(3-pirydylo)butanowego z moczem [Hecht et al., 1999b].

Po podaniu kotyniny, mniej niż 0,5% podanej dawki wydala się w takiej postaci, stąd kolejny wniosek iż metabolity te pochodzą z przemian nikotyny [Hukkanen et al., 2005]. Kwas 4-hydroksy-4-(3-pirydylo)butanowy jest metabolizowany ostatecznie do kwasu 3-pirydylooctowego, co stanowi produkt końcowy [McKennis et al., 1964]. Schemat metabolizmu nikotyny z oznaczeniem enzymów w nim uczestniczących przedstawiono na Rycinie 3.

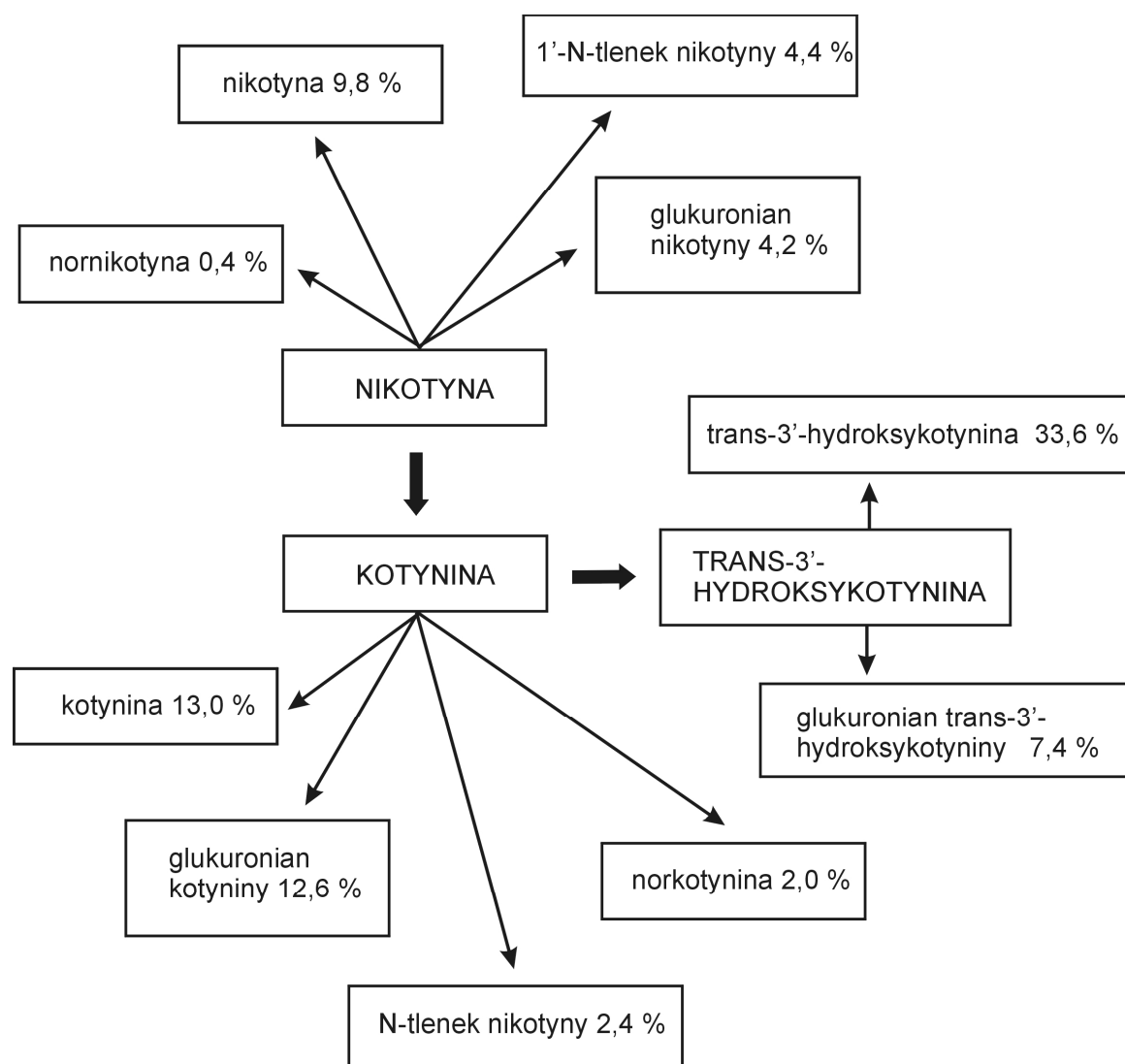


Ryc. 3 Schemat metabolizmu nikotyny z oznaczeniem enzymów w nim uczestniczących [Hukkanen et al., 2005]

Średnio 70-80% przyjętej dawki nikotyny jest metabolizowana do kotyniny. U człowieka można wyróżnić sześć podstawowych metabolitów kotyniny. Są nimi 3'-hydroksykotynina, 5'-hydroksykotynina pozostająca w równowadze tautomerycznej z 4-okso-4-(3-pirydylo)-N-metylobutanamidem, N-tlenek kotyniny, jon metoniowy kotyniny oraz glukuronid kotyniny i norkotynina [Benowitz et al., 1994; Hukkanen et al., 2005]. Trans-3'-hydroksykotynina jest głównym metabolitem kotyniny wykrywanym w moczu palaczy i może być wydalana również w postaci glukuronianu. W postaci trans-3'-hydroksykotyniny oraz jej glukuronianu wydalane jest ok. 40-60% przyjętej dawki nikotyny [Benowitz et al., 1994; Hecht et al., 1999b; Hukkanen et al., 2005]. Trans-3'-hydroksykotynina sprzęgana jest z kwasem glukuronowym w postaci O-glukuronidu, inaczej niż w przypadku nikotyny i kotyniny, gdzie sprzęganie następuje do postaci N-glukuronidu. Procesy N-glukuronidacji zostały wykryte w wątrobie ludzkiej, jednak nie oznaczono tego metabolitu w moczu, co wskazuje na bardzo małą stabilność lub zbyt niskie stężenie w moczu [Kuehl and Murphy, 2003]. W przypadku N-tlenku kotyniny badania na mikrosomach wątroby wieprzowej wykazały, że jest on tworzony przy udziale cytochromu P450 w odróżnieniu od N-tlenku nikotyny [Hukkanen et al., 2005]. N-tlenek nikotyny stanowi 2-5% metabolitów wydalanych z moczem przez osoby palące. Jon metoniowy kotyniny jest również wydalany z moczem u osób, którym podano kotyninę. Norkotynina występuje w moczu osób palących stanowiąc ok. 1% ogólnej ilości metabolitów [Hukkanen et al., 2005]. Może ona powstawać na skutek demetylacji kotyniny lub na skutek metabolizmu nornikotyny. Norkotynina jest metabolizowana w wątrobie do 4-okso-4-(3-pirydylo)-butanoamidu, który z kolei ulega przemianie do kwasu 4-okso-4-(3-pirydylo)-butanowego. 4-okso-4-(3-pirydylo)-butanoamid pozostaje w stanie równowagi z 5'-hydroksykotyniną. W powstawaniu norkotyniny i 5'-hydroksykotyniny uczestniczy izoenzym CYP2A6 z grupy cytochromu P450 [Hukkanen et al., 2005]. 5'-hydroksykotynina obecna jest w moczu palaczy w ilości 1,2-1,6% ogólnej liczby metabolitów kotyniny.

Jeśli chodzi o procentowy udział poszczególnych metabolitów w wydalaniu nikotyny około 90% przyjętej dawki alkaloidu jest wydalane z moczem [Benowitz et al., 1994]. Przemianie do kotyniny ulega 70-80% przyjętej nikotyny. Około 4-7% dawki wydalane jest w postaci N-tlenku nikotyny, kolejne 3-5% wydalają się w postaci glukuronidu [Benowitz et al., 1994; Hukkanen et al., 2005]. Kotynina z kolei w 10-15% przenika do moczu w postaci niezmienionej, natomiast pozostała jej część jest metabolizowana w 33-40% do trans-3'-hydroksykotyniny, kolejne 12-17% wydalają się w postaci glukuronidu oraz 7-9% w postaci glukuronidu trans-3'-hydroksykotyniny [Hukkanen et al., 2005]. Całkowity klirens nikotyny

wynosi przeciętnie około 1200 ml/min. Metabolizm kotyniny jest znacznie wolniejszy, a jej klirens wynosi około 45 ml/min. W przypadku trans-3'-hydroksykotyniny klirens wynosi 82ml/min [Benowitz et al., 2003; Dempsey et al., 2004]. Procentowy udział poszczególnych metabolitów nikotyny w wydalaniu przyjętej dawki przedstawiono na Rycinie 4.



Ryc. 4 Procentowy udział poszczególnych metabolitów nikotyny w wydalaniu przyjętej dawki [Hubert, 2006; Hukkanen et al., 2005]

2.4 Enzymy uczestniczące w biotransformacji nikotyny i składników dymu tytoniowego

Dym tytoniowy zawierający ponad 4300 związków chemicznych jest metabolizowany w organizmie przy udziale systemu oksydaz funkcji mieszanej czyli monooksygenaz. W mikrosomach zachodzą reakcje utleniania składników dymu tytoniowego przy udziale monooksygenaz z grupy cytochromu P450. Reakcje zachodzące w mikrosomach mogą powodować inaktywację szkodliwych składników dymu tytoniowego, a także może nastąpić aktywacja metaboliczna. Największa ilość enzymów metabolizujących składniki dymu znajduje się w wątrobie, jelicie cienkim i nerkach, a także w tkance płucnej. W tkance płucnej zachodzi metabolizm tetrachloru węgla, benzo(a)pirenu, czy pochodnych furanu [Florek, Piekoszewski, 2000]. Również w łożysku zachodzą procesy biotransformacji [Florek i Marszałek, 1999]. Stężenie jakie osiąga nikotyna po wypaleniu jednego papierosa zawiera się w granicach 5-30 ng/ml, natomiast w przypadku kotyniny wartości poziomów w surowicy są w przedziale 250-300 ng/ml [Jauniaux et al., 1999]. Porównując stężenia w surowicy z moczem otrzymuje się wartości około 5-6 razy wyższe w moczu niż w surowicy [Piekoszewski, Florek, 2001]. Głównym enzymem uczestniczącym w metabolizmie nikotyny jest izoenzym cytochromu P450 CYP2A6. Odpowiada on za utlenianie nikotyny i kotyniny. Jego aktywność jest największa w ludzkiej wątrobie w mikrosomach. Szybkość utleniania nikotyny i kotyniny jest ściśle skorelowana z immunochemicznie określonym poziomem CYP2A6 w komórkach wątroby (Berkman et al., 1995; Nakajima et al., 1996a]. Utlenianie nikotyny do kotyniny zostaje także zachamowane w obecności kumaryny, która jest konkurencyjnym inhibitorem CYP2A6 [Le Gal et al., 2003; Messina et al. 1997]. Również CYP2A6 jest aktywny w tworzeniu trans-3'-hydroksykotyniny oraz 5'-hydroksykotyniny oraz norkotyniny z kotyniny [Hecht et al., 2000]. Metoksalen będący inhibitorem CYP2A6 zmniejsza metabolizm nikotyny podanej doustnie oraz poziom trans-3'-hydroksykotyniny w moczu osób palących [Hukkanen et al., 2005]. Pewną rolę w metabolizmie nikotyny odgrywa również izoenzym CYP2B6, który uczestniczy w C- oksydacji nikotyny, co można wykazać w badaniach przy użyciu tkanek wątroby [Hukkanen et al., 2005]. Również inne badania wskazują na pewną aktywność izoenzymu CYP2D6 w metabolizmie nikotyny. Isoenzym CYP2E1 wykazuje niewielkie działanie w metabolizowaniu nikotyny *in vitro*, szczególnie w obecności wysokich stężeń nikotyny [Le Gal et al., 2003]. Dowiedziono, że CYP2A13 wykazuje aktywność w błonie

śluzowej dróg oddechowych, szczególnie jamy nosowej, jednak nie ma on znaczenia w przypadku wątroby [Hukkanen et al., 2005].

Kolejnym enzymem biorącym udział w biotransformacji nikotyny jest oksydaza aldehydowa występująca w cytozolu [Hukkanen et al., 2005]. Przy jej udziale następuje przemiana jonu iminowego nikotyny do kotyniny. Niekompetencyjny inhibitor oksydazy aldehydowej jakim jest raloksyfen powoduje zahamowanie powstawania kotyniny.

Monooksygenazy zawierające flawinę również biorą udział w tworzeniu N-tlenku nikotyny, aczkolwiek enzymy z grupy cytochromu P450 są nieaktywne [Cashman and Zhang, 2002]. Kolejnym enzymem uczestniczącym w przemianach nikotyny jest N-metylotransferaza aminowa aktywna szczególnie w tarczycy, nadnerczach i płucach. Glukuronylotransferazy z kolei uczestniczą w biotransformacji drugiej fazy nikotyny i kotyniny sprzęgając metabolity z kwasem glukuronowym [Nakajima i wsp., 2002; Hecht et al., 1999b].

3. ALKOHOL ETYLOWY

3.1 Dane epidemiologiczne

Spożycie alkoholu etylowego kształtuje się różnorodnie w wielu krajach. W krajach zjednoczonej Europy około 25% mieszkańców spożywa alkohol etylowy regularnie [Eurostat, 2003]. W Stanach Zjednoczonych połowa dorosłych mieszkańców spożywa alkohol etylowy, z czego 15–20 milionów ludzi to uzależnieni [Flier et al., 1995].

Analizując dane statystyczne dotyczące picia w Polsce badano spożycie alkoholu etylowego w litrach przypadające na jednego mieszkańca przeliczając napoje alkoholowe na 100% etanol. W Tabeli V przedstawiono spożycie 100% alkoholu etylowego na jednego mieszkańca w Polsce w ostatnich dwóch dekadach.

Tab. V Spożycie 100% alkoholu etylowego per capita w Polsce

Lata	Spożycie 100% alkoholu etylowego per capita w Polsce [l]
1993 - 1999	6,75
2000 - 2009	8,14

[PARPA, 2011].

Obliczenia dokonywane są w przeliczeniu na jednego pełnoletniego mieszkańca. Oprócz tego, że odnotowuje się zwiększenie ilości spożywanego alkoholu, zmienia się sposób jego picia. Z modelu szybkiego picia mocnych alkoholi przechodzi się raczej na wyroby o mniejszej zawartości alkoholu etylowego. Zmiany, jakie zachodziły w ilości wypijanych poszczególnych alkoholi w ostatnim piętnastoleciu w Polsce przedstawiono w Tabeli VI.

Tab. VI Zmiany zachodzące w ilości wypijanych poszczególnych alkoholi w ostatnich piętnastu latach w Polsce

Spożycie produktów alkoholowych w litrach w przeliczeniu na jednego mieszkańca			
Rok	<i>Alkohole wysokoprocentowe</i>	<i>Wina</i>	<i>Piwo</i>
1995	3,5	6,8	39
1996	2,9	10,3	42,8
1997	2,8	12,8	49,8
1998	2,4	13,7	54,1
1999	2,1	13,6	60,1
2000	2	12	66,9
2001	1,7	10,6	66,5
2002	1,7	11,2	70,7
2003	2,4	11,3	74,8
2004	2,5	10,6	82
2005	2,5	8,6	80,7
2006	2,7	9,1	90,8
2007	3	8,9	93,4
2008	3,4	8,2	94,4
2009	3,2	7	91,2

Na podstawie danych w tabeli widać wyraźnie wzrost ilości spożywanego piwa. Spożycie wina, natomiast utrzymuje się przez ostatnie piętnaście lat na mniej więcej równym poziomie [Habrat, 1996; PARPA, 2011; Węgrzynek i wsp., 2004].

Bardzo popularne jest również spożywanie alkoholu etylowego wśród młodzieży. Kiedykolwiek w swoim życiu alkohol piło aż 90% piętnastolatków oraz ponad 94% siedemnastolatków. Biorąc pod uwagę płeć nie ma znaczących różnic między ilością spożywanego alkoholu przez dziewczęta i chłopców. Najczęściej młodzież spożywa alkohol w domu lub u znajomych, a także w barach i dyskotekach. Odsetek pijącej młodzieży piętnasto i siedemnastoletniej w latach 1995 – 2007 w Polsce przedstawiono w Tabeli VII.

Tab. VII Odsetek pijącej młodzieży piętnasto i siedemnastoletniej w latach 1995 – 2007

Wiek	Kiedy piłem alkohol etylowy	Rok			
		1995	1999	2003	2007
15 lat	Przynajmniej raz w życiu	92,8	90,3	92,5	90,2
17 lat	Przynajmniej raz w życiu	96,5	96,6	96,7	94,8

[Sierosławski, 2007]

Liczba osób uzależnionych od alkoholu etylowego w Polsce jest duża i wynosi ona ok. 2 milionów osób. Problem uzależnienia dotyczy nie tylko samej osoby pijącej, ale również całe jej otoczenie. Uzależnienie od alkoholu etylowego jest chorobą wpływającą destrukcyjnie na wszystkie aspekty życia uzależnionych. Jeśli wziąć pod uwagę liczbę osób pijących w sposób szkodliwy lub nierozpoznane z różnych względów przypadki uzależnienia (czy to ze względu na akceptację społeczną picia lub niezgodę na jakiegokolwiek leczenie), ilość osób mających problem z kontrolą nad piciem napojów alkoholowych wzrasta wielokrotnie. Jest to niewątpliwie poważny problem stanowiący wyzwanie dla terapeutów i pracowników społecznych oraz samych rodzin osób uzależnionych [Habrát, 1996].

Pod wpływem alkoholu zwiększa się prawdopodobieństwo wystąpienia zatrucia lekami szczególnie z grupy benzodwiazepin czy barbituranów.

Oczywistym następstwem lekceważenia wpływu alkoholu etylowego na sprawność psychomotoryczną jest liczba wypadków drogowych spowodowanych przez osoby nietrzeźwe. [Chodorowski i wsp., 2000a; Chodorowski i wsp., 2000b; Habrát, 1996; Kołaciński i Rusiński, 2003; Wiergowski i wsp., 2002; Węgrzynek i Żulikowska, 2001, Węgrzynek i wsp., 2004; <http://www.policja.pl/dokumenty/zalaczniki/1-46733.pdf>, 2011].

3.2 Charakterystyka fizyko – chemiczna alkoholu etylowego

Właściwości fizykochemiczne alkoholu etylowego przedstawione zostały w Tabeli VIII.

Tab. VIII Właściwości fizykochemiczne alkoholu etylowego

Właściwości fizykochemiczne alkoholu etylowego	
Wzór chemiczny sumaryczny	C ₂ H ₅ OH
Wzór chemiczny strukturalny	CH ₃ -CH ₂ -OH
Numer CAS	64-17-5
Numer ONZ	1170
Numer EWG	603002005
Masa cząsteczkowa	46,06844
Barwa	Bezbarwna ciecz
Gęstość w temperaturze 20 °C	0,7904 g/cm ³
Lepkość w temp. 25 °C	1,083 cP
Zapach	Przyjemny, charakterystyczny
Smak	Ostry, piekący
Prężność pary nasyconej w zależności od temperatury:	lg(p) = A - B / (C+t) p[mmHg] t[°C] A: 8,04389 B:1552,601 C:222,419
Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	1,36143
Moment dipolowy	1,66 Debaye
Ciepło parowania w temperaturze 25 °C	- 219,50 cal/g
Ciepło właściwe w temp 25 °C	0,5828 cal/g
Ciepło topnienia	26,05 cal/g
Ciepło spalania	- 7091,1 cal/g
Parametry krytyczne:	
Temperatura	240,7°C
Ciśnienie	60,8 atm.
Objętość	167,0 cm ³ /mol
Granice wybuchowości:	
Dolna	3,1% obj.
Górna	20,0% obj.
Klasa wybuchowości	IIA
Temperatury:	
Zapłonu	12,77°C
Samozapłonu	422,78°C
Klasa niebezpieczeństwa pożarowego	1
Klasa temperaturowa	2

Entropia	159,9 kJ/mol
Napięcie powierzchniowe	22,1 N/m
Potencjał jonizacji	10,49 eV
Przewodnictwo cieplne	0,17 W/(m K)
Przewodnictwo elektr.	-1 1,7 E-7 S m ⁻¹
Rozszerzalność cieplna	0,00108
Stała autoprotolizy	2 - 6 3E-20 mol ² dm ⁻⁶
Prędkość dźwięku	1207 m/s
Próg wyczuwalności	2 mg/m ³
Gęstość par w odniesieniu do powietrza	1,59
NDS (mgła, aerozole, zawiesiny)	1900 mg/m ³
NDSCh (mgła, aerozole, zawiesiny)	3000 mg/m ³
Rozpuszczalność	Łatwo rozpuszcza się w eterze etylowym, benzenie, chloroformie. Z wodą miesza się w każdym stosunku, przy czym zachodzi zjawisko kontrakcji.
Temperatura topnienia	-114,1°C
Temperatura wrzenia	78,3°C
Gęstość	0,789 g / ml
Odczyn	Obojętny
Pod wpływem związków utleniających przechodzi w aldehyd octowy, a następnie kwas octowy:	C₂H₅OH → CH₃CHO → CH₃COOH
Ulega reakcji z metalicznym sodem:	2Na + 2C₂H₅OH → 2 C₂H₅ONa + H₂
Pod działaniem środków odwadniających alkohol etylowy tworzy etery.	C₂H₅OH + H₂SO₄ → C₂H₅OSO₃H + H₂O C₂H₅OSO₃H + C₂H₅OH → C₂H₅O C₂H₅O + H₂SO₄
Alkohol etylowy reaguje również z kwasami typu HX (HCl, HBr, HI) w wyniku czego tworzy halogenopochodne:	C₂H₅OH + HX → C₂H₅X + H₂O
Reakcja otrzymywania chloralu:	C₂H₅OH + 4Cl₂ → CCl₃CHO + 5HCl

Zastosowanie	<ul style="list-style-type: none">• Środek do dezynfekcji ran i miejsc wkluć• Rozpuszczalnik przemysłowy• Przemysł kosmetyczny• Przemysł perfumeryjny• Przemysł farbiarski• Produkcja syntetycznego kauczuku• Otrzymywanie kwasu octowego• Otrzymywanie octanu etylu• Otrzymywanie eteru etylowego• Otrzymywanie styrenu• Materiał pędny w silnikach• Preparatyka organiczna• Paliwo w kuchenkach turystycznych• Napoje alkoholowe – piwo, wino, wódki, rummy i araki, likiery, koniaki
--------------	--

[Górski, 1991; Jakliński i wsp., 1978; http://www2.cyf.gov.pl/manhaz/substancje_niebezpieczne, 2011].

3.3 Diagnostyka zatruc alkoholowym etylowym

Zatrucie alkoholem etylowym należy do najczęściej spotykanych intoksykacji w praktyce sądowo – lekarskiej. Diagnozowanie zatruc alkoholem etylowym nie stanowi trudności ze względu na charakterystyczne objawy i powszechną dostępność aparatury służącej do tego celu. Biorąc pod uwagę fakt powszechności spożywania alkoholu etylowego oraz zwiększone prawdopodobieństwo popełnienia wykroczenia lub przestępstwa pod jego wpływem, ustawodawca wprowadza regulacje dotyczące alkoholu etylowego.

Ustawa z dnia 26 października 1982 r. o wychowaniu w trzeźwości i przeciwdziałaniu alkoholizmowi późniejszymi zmianami definiuje stan po użyciu alkoholu i stan nietrzeźwości, jako:

„Stan po użyciu alkoholu zachodzi, gdy zawartość alkoholu w organizmie wynosi lub prowadzi do:

- Stężenia we krwi od 0,2‰ do 0,5‰ alkoholu albo
- Obecności w wydychanym powietrzu od 0,1 mg do 0,25 mg alkoholu w 1 dm³.

Stan nietrzeźwości zachodzi, gdy zawartość alkoholu w organizmie wynosi lub prowadzi do:

- Stężenia we krwi powyżej 0,5‰ alkoholu albo
- Obecności w wydychanym powietrzu powyżej 0,25 mg alkoholu w 1 dm³.”

Problem w analizie toksykologicznej alkoholu etylowego może stanowić retrospektywna diagnostyka zatrucia alkoholem etylowym w szczególności w odniesieniu do sytuacji, gdy dochodzi do głosu odpowiedzialność karna.

Najczęściej wykorzystywanym materiałem do badań na zawartość alkoholu etylowego są:

- Krew będąca podstawowym materiałem do badań na zawartość alkoholu etylowego, zarówno u osób żywych jak i materiału sekcyjnego [Jakliński i wsp., 1978]
- Mocz, który nie jest stosowany, jako jedyny materiał do badań na zawartość alkoholu etylowego, ze względu na brak możliwości odniesienia wyniku badania do zawartości alkoholu etylowego we krwi w określonym czasie. Mocz jest najczęściej stosowany, jako materiał uzupełniający [Jakliński i wsp., 1978]
- Ślina, która stanowi alternatywny materiał w badaniu na zawartość alkoholu etylowego we krwi. Dodatni wynik badania wymaga potwierdzenia za pomocą

badania przeprowadzonego we krwi lub analizę powietrza wydychanego na zawartość alkoholu etylowego. Najczęściej do wykazywania alkoholu etylowego w ślinie stosuje się paski diagnostyczne Alco – Screen, gdzie wynik uzyskuje się na podstawie porównania zabarwienia paska ze skalą wzorcową [Gubała, 1998; Jones, 1995].

Materiałami wykorzystywanymi podczas analizy materiału sekcyjnego na zawartość alkoholu etylowego poza krwią i moczem są:

- Ciało szkliste oka
- Przychłonka (perylimfa) z ucha środkowego
- Maź stawowa
- Krwiaki śródczaszkowe [Chowaniec i wsp., 2000; Gubała, 1997; Jabłoński i Sybirska, 2002; Łabędź i wsp., 1991; Trela, 2000].

Analiza materiału sekcyjnego jest bardzo utrudniona ze względu na występujące procesy rozkładu gnilnego. Podczas rozkładu gnilnego powstaje również alkohol etylowy, jak i wyższe alkohole. Pod wpływem działania drobnoustrojów dochodzi do wytworzenia się tzw. alkoholu etylowego endogennego. Zawartość alkoholu endogennego może wynieść około 0,5 ‰ w wyniku wytworzenia się go z fizjologicznej zawartości glukozy w organizmie, ale nie są zaskakujące wyniki ponad 1 ‰ na skutek rozkładu zwiększonej zawartości glukozy, której wzrost zawartości we krwi obserwuje się w niektórych przypadkach agonii. Wysoką zawartość alkoholu endogennego obserwuje się również u topielców, których zwłoki długo przebywały pod wodą. Aby zapobiec powstaniu alkoholu endogennego dodaje się do pobranych próbek środków hamujących fermentację alkoholową np. fluorku sodowego [Gubała, 1997; Jakliński, 1978; Łabędź i wsp., 1991; Trela, 2000].

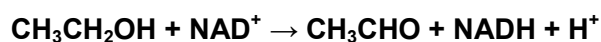
Biorąc pod uwagę występowanie endogennego alkoholu etylowego interpretacja wyników analizy materiału sekcyjnego wymaga skorelowania wyników uzyskanych z próbek krwi z wynikami badania moczu, ciała szklanego oka, perylimfie czy mazi stawowej. Porównując wynik oznaczeń alkoholu etylowego we krwi, np. z moczem czy ciałkiem szklanym, można określić z większym prawdopodobieństwem, na jakim etapie przemian znajduje się alkohol etylowy. W przypadku etapu wchłaniania, jego zawartość we krwi jest wyższa niż w ciałku szklanym oka lub perylimfie. Podczas, gdy zachodzi już eliminacja wchłoniętej dawki alkoholu etylowego mamy do czynienia z sytuacją odwrotną. Różnice takie wynikają z mniejszej szybkości dyfuzji do tych przestrzeni. Dodatkowo należy zwrócić uwagę, że ciało szkliste oka jest bardzo wartościowym materiałem do

badan̄ ze względu na jego izolację anatomiczną. Poziom alkoholu etylowego jest stabilny i możliwy do oznaczenia nawet w zwłokach w zaawansowanym rozkładzie gnilnym.

Podczas procesów zachodzących w krwi sekcyjnej może również dojść do zaniku alkoholu etylowego, na skutek działania drobnoustrojów – bakterii utleniających alkohol etylowy do kwasu octowego lub na skutek zmniejszania się zawartości wody we krwi żył obwodowych rozpoczynającym się około 30 godzin po zgonie. Zawartość alkoholu w takim przypadku może spaść o około 20% pierwotnej zawartości. Do badań dopuszcza się wyłącznie krew sekcyjną pobraną z naczyń obwodowych. Niewłaściwe jest pobranie krwi z jam ciała, ponieważ podczas rozkładu treści przewodu pokarmowego wytwarzają się bardzo duże ilości alkoholu etylowego, które dyfundując do krwi mogą dawać wynik rzędu kilkudziesięciu promille. Podobnie niedopuszczalne jest pobieranie krwi, która wydostała się na zewnątrz naczyń obwodowych, ponieważ alkohol etylowy z tak wynaczynionej krwi bardzo szybko się ulatnia, a także krew taka łatwo może ulec zanieczyszczeniu [Chowaniec i wsp., 2000; Gubała, 1997; Jabłoński i Sybirska, 2002; Jakliński, 1978; Łabędź i wsp., 1991; Trela, 2000].

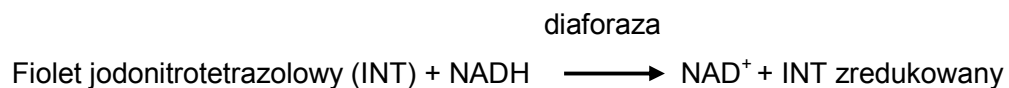
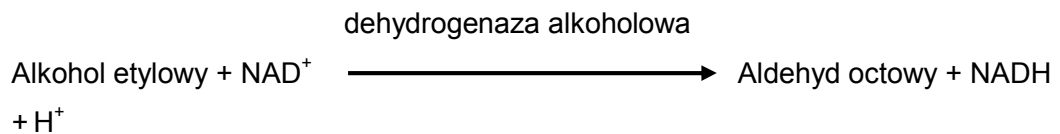
Wśród metod wykorzystywanych przy diagnozowaniu zatruc̄ alkoholem etylowym wymienić należy:

- Chromatografię gazową, która jest metodą bardzo często stosowaną w diagnostyce zatruc̄ alkoholem etylowym ze względu na jej bardzo dużą dokładność i precyzję. Oznaczenie prowadzone jest metodą "head space". Chromatografia gazowa jest jednocześnie metodą jakościową i ilościową. Pozwala na oddzielenie alkoholu etylowego od jego metabolitów, jak i oznaczenie innych związków lotnych m.in. acetonu, aldehydu octowego, 1-propanolu, 1-butanolu lub glikolu etylenowego. Dodatkowo alkohol etylowy może zostać oznaczony obok substancji towarzyszących na wielu różnych kolumnach, stąd często analizy wykonuje się na dwóch różnych rodzajach kolumn o różnych charakterystykach. Niewątpliwą zaletą chromatografii gazowej jest możliwość automatyzacji wykonywanych oznaczeń. Jeśli chodzi o detektory to najpopularniejszym jest detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID), ze względu na duży zakres liniowości i stabilność [Jakliński, 1978]
- Metodę enzymatyczną ADH, którą wykorzystuje zwykle dehydrogenazę alkoholową ADH (EC 1.1.1.1) otrzymywaną z drożdży piekarskich. Oznaczenie opiera się na reakcji:



Jest to klasyczna reakcja Warburga wykorzystująca zmiany stężenia NADH, które obserwowane są przy długości fali 340 nm. Bardzo ważne w oznaczeniu alkoholu etylowego metodą enzymatyczną jest odbiałczanie próbki [Jakliński, 1978]

- Pomiar zawartości alkoholu w wydychanym powietrzu – prowadzi się badania jakościowe, począwszy od najprostszych probierzy trzeźwości, używając zmysłu powonienia, różnego rodzaju testerów z półprzewodnikowymi detektorami alkoholu etylowego. Badania ilościowe, natomiast prowadzi się z wykorzystaniem analizatorów przenośnych i stacjonarnych. Analizatory przenośne wykorzystują zasadę utleniania elektrochemicznego alkoholu etylowego i są urządzeniami nie wykazującymi alkoholu zalegającego w związku, z czym na wynik pomiarów wpływają leki zawierające alkohol etylowy oraz dezodoranty do ust. W przypadku analizatorów przenośnych należy zwrócić szczególną uwagę na prawidłowe przeprowadzenie badania zawartości alkoholu w powietrzu wydychanym. Jako przykłady tego typu urządzeń wymienić należy: Alcotest 7410 firmy Dräger, Alco-Sensor IV firmy Intoximeters Inc., Alcoquant 3020 firmy Envitec. Analizatory stacjonarne, jako zasadę pomiaru wykorzystują pomiar absorpcji promieniowania podczerwonego przez pary alkoholu etylowego znajdujące się w powietrzu wydychanym. Aparatura tego rodzaju wykrywa i sygnalizuje obecność alkoholu zalegającego. Przykładami tego typu analizatorów są: Alcomat firmy Siemens, Alcotest 7110 firmy Dräger, Alkometr A2.0 firmy Awat. Na wynik pomiaru prowadzonego przy użyciu analizatorów powietrza wydychanego wpływa hiperwentylacja płuc oraz wspomniany wcześniej alkohol zalegający (rezydentny). Innymi przyczynami możliwych błędów podczas badania powietrza wydychanego na zawartość alkoholu etylowego mogą być wyczerpane akumulatory, gdzie następuje zniżenie wskazań a także nie przestrzeganie terminów legalizacji kontrolnej urządzenia [Gubała, 1997; Jakliński, 1978; Jones et al., 1996]
- Metodę immunologicznej fluorescencji w świetle spolaryzowanym REA (ang. Radiative Energy Attenuation). Zasada tej metody polega na hamowaniu energii promieniowania powstałego na skutek fluorescencji. W przebiegu reakcji pozwalającej na oznaczenie alkoholu etylowego zastosowane są dwa enzymy: dehydrogenaza alkoholowa i diaforaza. Reakcje jakie następują w procesie oznaczania alkoholu etylowego przedstawia poniższy schemat:



Powstający zredukowany fiolet jodonitrotetrazolowy ma kolor czerwony i wykazuje maksimum absorpcji przy długości fali 492 nm i w konsekwencji hamuje fluorescencję zawartej w mieszaninie reakcyjnej fluoresceiny. Zahamowanie to jest wprost proporcjonalne do stężenia alkoholu etylowego zawartego w próbce [Cary et al., 1984].

U osób zatrutych alkoholem etylowym należy również przeprowadzić oznaczenie glukozy we krwi, ponieważ może dojść do hipoglikemii. Nie należy również lekceważyć możliwości współwystępowania z zatruciem alkoholem etylowym innych znacznie poważniejszych stanów chorobowych, co stanowi dodatkowe trudności w postępowaniu z zatrutym podczas hospitalizacji [Kokot, 2003; Seńczuk, 2002].

Wszystkie wymienione wyżej metody i materiały do badań na zawartość alkoholu etylowego mają znaczenie głównie w zatruciach ostrych, badaniach materiału sekcyjnego lub gdy dochodzi do spraw karnych.

U osób przewlekle nadużywających alkoholu oznaczenie jego zawartości we krwi może mieć znaczenie, gdy wartości zawierają się w zakresie, około 3‰, co oznacza, że rozwinęła się znaczna tolerancja na alkohol etylowy, ponieważ osoby, które nie piją w sposób prowadzący do uzależnienia wykazują bardzo nieprzyjemne objawy zatrucia już przy znacznie niższych stężeniach alkoholu etylowego we krwi.

W diagnozowaniu uzależnienia od alkoholu etylowego najczęściej stosuje się metody oparte na kwestionariuszach zawierających szereg pytań na temat jego picia. Światowa Organizacja Zdrowia oraz Amerykańskie Towarzystwo Psychiatryczne opracowały kryteria pozwalające stwierdzić fakt uzależnienia od alkoholu etylowego. Kryteria te uwzględniają występowanie wielu objawów m.in. bardzo silnej potrzeby spożywania alkoholu etylowego, utrata kontroli nad rozpoczęciem picia, ilością spożywanych napojów oraz długością trwania ciągu picia. Ważnym kryterium jest wystąpienie tolerancji na alkohol etylowy jak i

zaniedbywanie obowiązków zawodowych lub konflikty w rodzinie z powodu picia alkoholu [Habrat, 1996].

Pomocne w diagnostyce przewlekłego spożywania alkoholu etylowego mogą być również badania biochemiczne z najważniejszych markerów biochemicznych wymienić należy:

- Desialowane formy transferyny (CDT – Carbohydrate Defficient Transferrin). Są bardzo specyficznym markerem długotrwałego spożywania alkoholu etylowego w dużych ilościach [Anttila et al., 2003, Anton et al., 2001; Arndt, 2001; Das and Vasudevan, 2004; Helander et al., 2005; Helander et al., 2003; Scouller et al., 2000]
- Estrы etylowe kwasów tłuszczowych [Laposata, 1997; Refaai et al., 2002]
- Gamma glutamylotransferaza czy aminotransferazy alaninowej i asparaginianowej
- Makrocytozę. Występuje często u osób uzależnionych
- 5 – hydrokсыtryptofol lub β – heksozoaminidaza. Oznacza się je w moczu i są markerami służącymi do kontroli zachowania abstynencji [Habrat, 1996].

3.4 Farmakokinetyka alkoholu etylowego

3.4.1 Wchłanianie

Alkohol etylowy wchłania się bardzo dobrze z przewodu pokarmowego ze względu na jego duże powinowactwo do przestrzeni wodnych. Wchłanianie rozpoczyna się w jamie ustnej (ok. 1% przyjętej dawki). Najwięcej przyjętej dawki alkoholu etylowego wchłania się z żołądka oraz w jelitach. W żołądku wchłonięte zostaje 25% przyjętego alkoholu etylowego, natomiast w jelitach ok. 75% przyjętej dawki, z czego większa część w początkowym odcinku jelita cienkiego, czyli w dwunastnicy, jelicie czczym i krętym. Ponad połowa alkoholu etylowego przyjętego doustnie wchłania się na zasadzie resorpcji w krótkim czasie po spożyciu i jest to związane z występowaniem dużej różnicy w przestrzeniach wodnych organizmu, gdzie na zasadzie prawa Ficka następuje przechodzenie alkoholu etylowego z obszarów o wyższym stężeniu do niższych w celu wytworzenia stanu równowagi. Okres półtrwania alkoholu etylowego wynosi ok. 74 minuty. Nie bez znaczenia na proces wchłaniania alkoholu etylowego ma wypełnienie żołądka. Podczas picia, gdy żołądek jest niewypełniony szybko są osiągane wysokie stężenia alkoholu etylowego we krwi, znacznie przewyższające te, które występują podczas picia, gdy żołądek wypełniony jest pokarmem. Bardzo ważnymi czynnikami wpływającymi na szybkość wchłaniania alkoholu etylowego są również zawartość alkoholu w napoju lub

zawartość ditlenku węgla. Wykazano, że najszybciej alkohol etylowy zostaje wchłonięty po spożyciu napoju o zawartości 20% alkoholu etylowego, przy jednocześnie słabym wypełnieniu przewodu pokarmowego [Gubała, 1997; Jakliński, 1978].

Na poziom alkoholu etylowego w krwi wpływa bardzo duża liczba czynników w związku z tym jedna osoba może wykazywać bardzo różne stężenia we krwi po przyjęciu tej samej dawki [Fraser, 1995; Gubała, 1997; Jakliński, 1978].

Stan tolerancji powoduje możliwość przyjęcia znacznie większych ilości alkoholu etylowego niż populacja ogólna. Szybkość eliminacji alkoholu na poziomie 0,4 ‰ na godzinę nie jest niczym zaskakującym. Również stan emocjonalny wpływa na poziom alkoholu etylowego we krwi i przebieg objawów zatrucia. W przypadku uszkodzenia wątroby alkohol etylowy może utrzymywać się w krwiobiegu przez długi czas. U ludzi dorosłych wchłanianie przez skórę nie ma istotnego znaczenia z punktu widzenia toksykologicznego, jednak u noworodków stosowanie zewnętrznie alkoholu etylowego może spowodować zatrucie [Kołaciński, 2003].

3.4.2 Dystrybucja

Alkohol etylowy jest łatwo rozpuszczalny w wodzie, stąd gromadzi się w przestrzeniach wodnych organizmu. Osoby o większej masie ciała, których organizm zawiera większe ilości wody wykazują większe rozcieńczenie wchłoniętej dawki alkoholu etylowego i co za tym idzie niższe stężenia tego ksenobiotyku. W przestrzeniach wypełnionych tkanką tłuszczową alkohol etylowy gromadzi się w bardzo niewielkich ilościach. Oczywistym następstwem tej sytuacji jest fakt występowania wyższych stężeń alkoholu etylowego u osób, których ciało zawiera większe ilości tkanki tłuszczowej w porównaniu do osoby o szczupłej budowie ciała, lecz o tej samej masie.

Największe stężenia alkoholu etylowego wykazuje się, zatem we krwi, moczu, płynie mózgowo – rdzeniowym czy ślinie. Nie bez znaczenia są przestrzenie wykorzystywane we wspomnianej wyżej diagnostyce materiału sekcyjnego jak żółć, krwiaki śródczaszkowe, a także ciało szkliste oka. Po spożyciu określonej ilości alkoholu etylowego można teoretycznie określić poziom jego stężenia we krwi korzystając z wzoru Widmarka określającego maksymalne stężenia alkoholu etylowego we krwi. Zależność Widmarka uwzględnia zawartość alkoholu w spożywanych napojach, masę ciała i współczynnik określający stosunek całkowitej masy ciała do masy przestrzeni, w której alkohol etylowy może się ulokować [Gubała, 1997; Jakliński, 1978].

Przy tego typu obliczeniach należy mieć na uwadze kilka założeń:

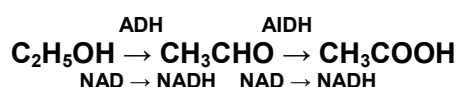
- Przyjęty alkohol etylowy uległ całkowitemu wchłonięciu
- Znana jest całkowita ilość wody w organizmie a alkohol etylowy który uległ wchłonięciu rozmieszcza się równomiernie w każdej z przestrzeni wodnej [Gubała, 1997; Jakliński, 1978].

3.4.3 Losy w organizmie

Okolo 90 – 95% przyjętej dawki alkoholu etylowego ulega biotransformacji w wątrobie. Enzymami, dzięki którym następuje detoksykacja po przyjęciu alkoholu etylowego są:

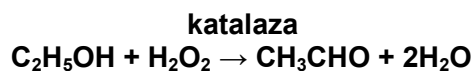
- Dehydrogenaza alkoholowa (ADH) – bierze udział w utlenianiu alkoholu etylowego do aldehydu octowego
- Oksydaza aldehydowa (AIDH), bierze udział w utlenianiu aldehydu octowego do kwasu octowego
- Katalaza
- Mikrosomalny układ utleniania alkoholu etylowego – MEOS (ang. Microsomal ethanol oxidizing system) [Gubała, 1997; Jakliński, 1978; Skrzydlewska i wsp., 2002].

W reakcji z udziałem dehydrogenazy alkoholowej i aldehydowej bierze udział dinukleotyd pirydynowy (NAD) ulegający redukcji do NADH.



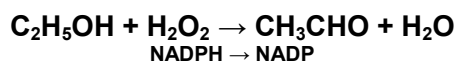
Powstający w wyniku tych przemian kwas octowy jest następnie metabolizowany w cyklu Krebsa. Utlenienie alkoholu etylowego do aldehydu octowego jest procesem o wolniejszym przebiegu niż etap utlenienia aldehydu octowego do kwasu octowego, stąd szybkość całego procesu zależy od szybkości etapu pierwszego, czyli wytworzenia aldehydu octowego. Dodatkowo, na skutek zmniejszenia się ilości NAD, stosunek NAD do NADH ulega zmianie, czego następstwem jest zmniejszenie szybkości procesu przemian alkoholu etylowego. Ponadto dehydrogenaza alkoholowa oraz dehydrogenaza aldehydowa generują w procesie przemian alkoholu etylowego reaktywne formy tlenu m. in. rodnika ponadtlenkowego i hydroksylowego [Gubała, 1997; Jakliński, 1978; Skrzydlewska i wsp., 2002].

Mniej znaczącą drogą utleniania jest utlenienie alkoholu etylowego za pośrednictwem katalazy. W reakcji tej bierze udział nadtlenek wodoru.



Inaczej niż w przypadku dehydrogenaz alkoholowej i aldehydowej, przemiany przy udziale katalazy nie prowadzą do wytworzenia reaktywnych form tlenu.

Ostatnią drogą przemian metabolicznych alkoholu etylowego jest metabolizm z udziałem mikrosomalnego układu utleniania alkoholu etylowego – MEOS. Podczas działania MEOS konieczna jest obecność zredukowanego fosforanu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADPH), cytochromu P450, reduktazy cytochromu P450, fosfolipidów, tlenu cząsteczkowego, a także jonów żelaza, które są niezbędne dla funkcjonowania reduktazy cytochromu P450.



Kolejną drogą eliminacji alkoholu etylowego jest wydalanie przez nerki oraz płuca. Ich udział w wydalaniu przyjętej dawki alkoholu etylowego wynosi od 2 do 10%. Powszechnie panuje opinia, że alkohol etylowy jest szybciej eliminowany podczas intensywnych ćwiczeń fizycznych, częstym oddawaniu moczu czy wydzielaniu dużych ilości potu. Jest to błędne przekonanie i nie znajduje ono potwierdzenia w praktyce ze względu na niewielką stosunkowo ilość moczu czy potu w odniesieniu do ogólnej ilości wody w organizmie.

Szybkość eliminacji alkoholu etylowego z organizmu to jest ona zależna przede wszystkim od szybkości procesów utleniania zachodzących w wątrobie. Średnia szybkość z jaką alkohol etylowy jest usuwany z organizmu człowieka wynosi 0,15‰ na godzinę, jednak wartość ta wykazuje dużą zmienność międzyosobniczą jak i osobniczą. Prowadzić to może do błędnego przekonania o całkowitej eliminacji alkoholu etylowego z krwiobiegu przez osobę pijącą bez uwzględnienia wielu czynników zmieniających szybkość eliminacji a co za tym idzie możliwość komplikacji związanych z odpowiedzialnością karną [Gubała, 1997; Jakliński, 1978; Skrzydlewska i wsp., 2002].

3.4.4 Działanie toksyczne u ludzi

Alkohol etylowy spożywany w sposób przewlekły, w szczególności u osób nadużywających tego ksenobiotyku w znacznym stopniu, powoduje wzrost aktywności dehydrogenazy alkoholowej i dehydrogenazy aldehydowej, jak i enzymów frakcji mikrosomalnej. Skutkiem zmian enzymatycznych w układzie detoksykacyjnym jest występowanie zjawiska tolerancji, a w późniejszym okresie uzależnienia fizycznego i psychicznego osoby nadużywającej alkoholu etylowego. Dodatkowo na skutek środowiskowych zależności wynikających z przebywania w otoczeniu osób pijących i powszechne przyzwolenie na picie alkoholu etylowego, znacznie przyspiesza proces powstawania uzależnień. Przypadki osób uzależnionych od alkoholu etylowego, podobnie jak inne uzależnienia od substancji psychoaktywnych, są skomplikowanymi zagadnieniami, które wymagają w celu podjęcia leczenia osoby uzależnionej współpracy wielu specjalistów, psychologów, terapeutów, a przede wszystkim samej uzależnionej osoby. Bez stwierdzenia faktu uzależnienia od alkoholu etylowego oraz chęci współpracy przez osobę wymagającą tego typu leczenia, wszelkie działania terapeutyczne są skazane na niepowodzenie. Powszechność alkoholu etylowego powoduje, że jest on jedną z najczęściej nadużywanych substancji. Jego działanie objawia się upośledzeniem kolejnych struktur mózgu poczynając od tych odpowiedzialnych za samokontrolę. W późniejszym okresie ośrodki odpowiedzialne za utrzymanie równowagi, czyli „robaka mózgu”, a ostatecznie zaburzeniu ulega czynność ośrodków znajdujących się w rdzeniu przedłużonym, co powoduje stany zagrożenia życia. W przewlekłym nadużywaniu alkoholu etylowego dochodzi również do zaburzeń w gospodarce lipidowej jak i powstania deficytu tlenowego [Gubała, 1997; Habrat, 1996; Jakliński, 1978; Skrzydlewska i wsp., 2002].

3.4.5 Zatrucie ostre

Stany ostre związane z intoksykacją alkoholem etylowym są spowodowane przede wszystkim dobrowolnym spożywaniem alkoholu etylowego w celu wywołania odurzenia, co często prowadzi do poważnych zatruc. W przebiegu zatrucia występują zaburzenia percepcji, zaburzenia czynności psychicznych, zaburzenia świadomości.

Biorąc pod uwagę zawartość alkoholu etylowego we krwi, można dokonać podziału objawów zatrucia, pamiętając, że jest to podział orientacyjny i mogą występować znaczne rozbieżności w zachowaniu pacjenta a zawartością alkoholu etylowego we krwi.

- 0,2‰ – 0,5‰ – mało charakterystyczne objawy, trudne do uchwycenia w badaniu

- 0,5‰ – 1,0‰ – znaczne polepszenie samopoczucia, zaburzona zdolność oceny własnego zachowania, osłabienie ostrości widzenia i trudności w adaptacji do zmian oświetlenia oraz zawężenie pola widzenia, ponadto znacznie zwiększa się ilość popełnianych błędów oraz zmniejsza się szybkość reakcji
- 1,0‰ – 1,5‰ – występuje zwiększenie pewności siebie na skutek zaburzenia czynności hamujących kory mózgowej. Znamienne dla tej zawartości alkoholu etylowego to zwiększenie zachowań agresywnych i brak panowania nad emocjami. Czas reakcji jest znacznie wydłużony, co predysponuje do powodowania wypadków komunikacyjnych, szczególnie w połączeniu z nadmierną pewnością siebie na tym etapie zatrucia
- 1,5‰ – 2,0‰ – czas reakcji bardzo mocno wydłużony, pojawiają się zaburzenia równowagi, bardzo mocno zaburzona zdolność oceny własnych poczynań, koordynacja ruchowa zaburzona
- 2,0‰ – 2,5‰ – działanie alkoholu etylowego bardzo mocno zaznaczone, zaburzenia równowagi znacznego stopnia
- 2,5‰ – 3,0‰ – pogłębiające się zaburzenia równowagi prowadzące do zamroczenia alkoholowego
- 3,5‰ – 4,0‰ – w tym stadium może już dojść do zaburzeń w funkcjonowaniu układu krążenia i oddechowego. Ze strony układu nerwowego możliwym objawem jest występowanie drgawek. Stopień zatrucia określa się, jako ciężki, najczęściej kończący się śpiączką
- > 4,0‰ – u osób zatrutych następuje całkowita utrata przytomności, zanik odruchów, brak reakcji źrenic na światło, czynność oddechowa ulega zwolnieniu a także występują zaburzenia pracy serca. W ciężkich przypadkach lub u osób, które nie spożywają alkoholu etylowego w nadmiernych ilościach dochodzi do porażenia ośrodka naczynioruchowego i oddechowego co skutkuje ustaniem czynności serca i oddechu. Zwykle stężenia alkoholu etylowego we krwi przekraczające 5‰ są stężeniami śmiertelnymi [Gubała, 1997; Habrat, 1996; Jakliński, 1978, Seńczuk, 2002].

3.4.6 Zatrucie przewlekłe i uzależnienie

Alkohol etylowy spożywany przez dłuższy okres czasu prowadzi do zjawiska tolerancji i uzależnienia. Zjawisko tolerancji może również wystąpić po krótkim okresie picia, co nazywane jest tolerancją ostrą. Zjawisko tolerancji powoduje, że należy przyjąć znacznie większe dawki alkoholu etylowego niż pierwotnie w celu wywołania takich samych efektów działania na organizm. Skutkiem takiego stanu jest występowanie znacznie wyższych stężeń alkoholu etylowego we krwi, co prowadzi do szybszej degeneracji narządów, np. wątroby, która ulega stłuszczeniu pod wpływem zmian w metabolizmie lipidów. Również żołądek będąc poddany działaniu wysokich stężeń alkoholu etylowego, który ma właściwości drażniące, ulega uszkodzeniu, co skutkuje możliwością wystąpienia krwawień. Zwiększone jest także ryzyko podrażnienia błony śluzowej jelit z następowym zaburzeniem wchłaniania składników pożywienia. Alkohol etylowy również niekorzystnie wpływa na trzustkę wywołując niekiedy ostre zapalenie trzustki lub, co lepiej rokuje, zapalenie przewlekłe [Habrat, 1996].

Nadużywanie alkoholu etylowego prowadzi często do rozwoju uzależnienia. Objawia się ono występowaniem głodu, czyli niemożliwej do opanowania chęci wypicia kolejnej dawki alkoholu etylowego. Dodatkowo w przypadku współwystępującego uzależnienia fizycznego dołączają się objawy takie jak drżenie mięśniowe, nadmierna potliwość czy objawy psychotyczne [Habrat, 1996].

Bardzo ważnym elementem wywołującym uzależnienie od alkoholu etylowego jest jego wpływ na mózg, a w szczególności na:

- Serotoninę – niższe poziomy serotoniny w mózgu obserwuje się podczas przewlekłego działania alkoholu etylowego w badaniach doświadczalnych. W badaniach polegających na jednorazowym podaniu alkoholu etylowego zarówno u zwierząt, jak i u ludzi stwierdzano wzrost poziomu serotoniny w mózgu [Vengeliene et al., 2008]
- Noradrenalinę – u osób uzależnionych od alkoholu etylowego, którzy zaprzestają picia wykazano zwiększone stężenia noradrenaliny. Zwiększony poziom noradrenaliny utrzymuje się przez okres występowania objawów odstawienia, jak i po jego zakończeniu
- Dopaminę – alkohol etylowy zwiększa aktywność neuronów dopaminergicznych w rejonie pola brzuszego nakrywki śródmózgowia, a tym samym powoduje zwiększenie stężenia dopaminy w obszarze jądra półleżącego. Doprowadza to do

powstania mechanizmu nagrody i w związku z tym istnieje zwiększone ryzyko wystąpienia uzależnienia [Vengeliene et al., 2008]

- Receptor GABA – alkohol etylowy powoduje zwiększenie napływu jonów chlorkowych do wnętrza komórki nerwowej poprzez zwiększenie aktywacji receptorów kwasu gamma – aminomasłowego przez ten kwas. U osób z rozwiniętą tolerancją na działanie uspokajające alkoholu etylowego dochodzi do przystosowania kanałów jonowych zależnych od receptorów GABA do prawidłowego funkcjonowania w obecności alkoholu etylowego [Vengeliene et al., 2008]
- Układ opiodowy – alkohol etylowy podany pojedynczo wpływa na zwiększenie poziomu beta endorfin i ich prekursorów w niektórych obszarach mózgu. W podaniu przewlekłym natomiast powoduje alkohol etylowy spadek poziomu beta endorfin w mózgu [Vengeliene et al., 2008]
- Układ kanabinoidowy – spożywanie alkoholu etylowego w sposób przewlekły powoduje obniżenie ilości oraz stopnia odpowiedzi receptorów kanabinoidowych CB1 na skutek wzrostu wytwarzania arachidonyloetanolaminy i 2-arachidonyloglicerolu. Ponadto w badaniach eksperymentalnych stwierdzono, że u zwierząt które wykazywały mniejszą ilość receptorów kanabinoidowych CB1 zanotowano mniejsze ilości spożywanego alkoholu etylowego [Vengeliene et al., 2008]
- Receptor glutaminianowy – pojedyncze spożycie alkoholu etylowego blokuje receptory glutaminianowe ale nie jest to działanie kompetetywne. Ponadto w badaniach, w których zahamowano aktywność receptorów glutaminianowych wykazano mniejsze spożycie alkoholu etylowego. Przewlekłe narażenie na alkohol etylowy powoduje również wzrost ilości oraz aktywności receptorów glutaminianowych w mózgu. [Vengeliene et al., 2008]
- Kanały wapniowe aktywowane napięciem elektrycznym – kanały wapniowe stają się przepuszczalne dla jonów wapniowych pod wpływem zmian elektrycznych błony komórek nerwowych. Przewlekłe spożywanie alkoholu etylowego prowadzi do zwiększenia liczby kanałów wapniowych co skutkuje zwiększonym pobudzeniem komórek nerwowych [Vengeliene et al., 2008]
- Neuropeptydy – wśród neuropeptydów na które wpływa alkohol etylowy wymienić należy leptynę, hormon kortykotropowy, neuropeptyd Y, wazopresyna argininowa. Wazopresyna argininowa jest odpowiedzialna za zatrzymywanie wody przez nerki i

jest syntetyzowana w mózgu. Pod wpływem alkoholu etylowego dochodzi do zmniejszenia ilości wazopresyny argininowej, która bierze udział w procesie uczenia się i pamięci a także wpływa na rozwój tolerancji od alkoholu.

Stężenia leptyny w surowicy wzrasta w okresach wstrzymywania się od spożycia alkoholu etylowego i podczas przewlekłego jego spożywania. Zwiększony poziom hormonu kortykotropowego powoduje zwiększenie spożycia alkoholu etylowego poprzez działanie na układ podwzgórze – przysadka mózgowa – nadnercza. Poziom neuropeptydu Y wpływa na ilość spożywanego alkoholu etylowego. Jego niższe poziomy w mózgu wywołują zwiększenie ilości spożywanego alkoholu [Vengeliene et al., 2008].

4. Wybrane aspekty wzajemnego wpływu alkoholu etylowego i dymu tytoniowego

Złożoność procesów, jakie zachodzą po jednoczesnym przyjmowaniu alkoholu etylowego i nikotyny powoduje wiele trudności w wyjaśnieniu zachodzących w organizmach zjawisk. Interakcje tych ksenobiotyków prawdopodobnie nie są na poziomie farmakokinetyki, ponieważ istnieje niewielki wzajemny wpływ na szybkość eliminacji etanolu czy nikotyny. Zwiększenie liczby receptorów nikotynowych w mózgu i wpływ na wydzielanie neuroprzekazników na skutek aktywacji podtypów receptora nikotynowego wskazuje na interakcje farmakodynamiczne [Rezvani and Levin, 2002].

Osoby nadużywające alkoholu etylowego w przeważającej większości palą tytoń. Około 80 – 95% osób nadużywających alkohol etylowy pali, co w porównaniu z 25 – 30% palaczy wśród nieuzależnionych od alkoholu stanowi bardzo dużą różnicę. Aż 70% osób palących wśród alkoholików to tzw. heavy smokers [Batel et al., 1995; Clark et al., 2004]. Zauważono również, że ilość wypalanych papierosów rośnie wraz ze zwiększeniem ilości wypijanego alkoholu [Batel et al., 1995]. Oprócz tego osoby uzależnione od etanolu mają rozwiniętą znaczną tolerancję na nikotynę i wykazują wyższą punktację w testach mierzących stopień uzależnienia od nikotyny. Przy próbie zaprzestania palenia występują u uzależnionych od alkoholu silniejsze objawy odstawienia papierosów niż u palących osób, którzy nie są uzależnieni od alkoholu [Hughes et al., 2000]. Ponadto osoby używające alkoholu etylowego wypalają proporcjonalnie więcej papierosów niż osoby niepijące. Ilość wypalanych wyrobów tytoniowych rośnie wraz z ilością spożywanego przez pijących alkoholu [Kouri et al., 2004].

Osoby palące są dziesięciokrotnie bardziej narażone na uzależnienie od alkoholu niż osoby niepalące [Batel et al., 1995]. U osób, które jednocześnie palą tytoń i piją alkohol występuje zwiększone ryzyko wystąpienia wielu nowotworów, zwłaszcza nowotworów jamy ustnej i gardła [Franceschi et al., 1990; Zheng et al., 1990]. Alkohol i wyroby tytoniowe są przyczyną około 80% przypadków nowotworów jamy ustnej i gardła u mężczyzn oraz 65% u kobiet [Altieri et al., 2005; Blot et al., 1988; Hayes et al., 1999]. Ryzyko wystąpienia tych nowotworów wzrasta w bardzo znacznym stopniu u osób, które jednocześnie spożywają alkohol etylowy i palą papierosy i jest ono znacznie wyższe niż u tych osób, które przyjmują te substancje pojedynczo [Negri et al., 1993]. Jednoczesne przyjmowanie alkoholu etylowego i palenie zwiększa również znacznie ryzyko wystąpienia rzadkiego nowotworu jakim jest rak przełyku [Howe et al., 2001].

Zły stan uzębienia oraz niezadowalająca higiena jamy ustnej są przypuszczalnymi czynnikami ryzyka wystąpienia raka jamy ustnej. Częstotliwość szczotkowania zębów, posiadanie protezy zębowej, zakażenia lub owrzodzenia jamy ustnej lub używanie płynów do płukania ust są czynnikami, które wpływają znacząco na stan zdrowia jamy ustnej. U osób niedbających o higienę w obrębie jamy ustnej, a także wystąpienie owrzodzeń i powtarzające się zakażenia zwiększają ryzyko występowania raka jamy ustnej. W przypadku używania płynu do płukania nie ma powodów, na podstawie badań epidemiologicznych, aby przypuszczać, że powoduje on zwiększenie prawdopodobieństwa wystąpienia nowotworu w obrębie jamy ustnej. Badania wskazują, że osoby o niskim poziomie higieny jamy ustnej są bardziej narażone na wystąpienie raka jamy ustnej, a jeśli dodatkowo spożywają alkohol etylowy i palą tytoń, wówczas ryzyko to wzrasta wielokrotnie, co związane jest z synergicznym działaniem tych czynników. W pracy przedstawionej przez Homann i współpracowników wykazano, że zły stan higieny jamy ustnej wpływa na wzrost poziomu aldehydu octowego w ślinie u osób pijących. Aldehyd octowy jest związkiem bardzo toksycznym, ma działanie mutagenne i rakotwórcze na skutek tworzenia trwałych adduktów z DNA. Aldehyd ten może być wytwarzany w jamie ustnej na skutek działania flory bakteryjnej. Poziom acetaldehydu w jamie ustnej jest znacząco zwiększony u alkoholików i osób palących jednocześnie. Poziom aldehydu octowego w jamie ustnej alkoholików niedbających o higienę jest dwukrotnie wyższy niż u alkoholików, którzy utrzymują jamę ustną w czystości. Badania wykazały, że kilka szczepów bakterii jest odpowiedzialnych za produkcję acetaldehydu w jamie ustnej. Są to między innymi *Streptococcus spp.* oraz *Corynebacterium spp.* Ponadto obserwowano zwiększoną kolonizację grzybami *Candida* u osób z niskim poziomem higieny jamy ustnej i u tych osób także obserwowano zwiększone ryzyko wystąpienia nowotworów jamy ustnej. Związek między występującymi drobnoustrojami w jamie ustnej a poziomem aldehydu octowego wymaga jednak dalszych badań enzymów bakteryjnych biorących udział w tym procesie [Homann et al., 2001].

W pracy Marcus i współpracowników z północnej Karoliny w USA przeprowadzono analizę 864 przypadków kobiet, u których wystąpił rak gruczołu sutkowego w porównaniu do 790 kobiet z grupy kontrolnej. Analizowano jak wpływa ekspozycja na dym tytoniowy oraz alkohol etylowy, w wieku do osiemnastu lat, na późniejsze wystąpienie raka gruczołu sutkowego. Wykazano niewielkie zwiększenie ryzyka raka gruczołu sutkowego u kobiet, które zaczynały palić w wieku 10 – 14 lat. Zależności takiej nie wykazano dla kobiet narażonych na środowiskowy dym tytoniowy przed osiemnastym rokiem życia, jak i

spożywającymi napoje alkoholowe między 10 a 15 rokiem życia. Wyniki Marcus i współpracowników sugerują, że ekspozycja na dym tytoniowy w młodym wieku przyczynia się do zwiększenia ryzyka wystąpienia nowotworu gruczołu sutkowego w życiu dorosłym [Marcus et al., 2000].

Alkohol etylowy zwiększa ryzyko wystąpienia różnych nowotworów, w tym również ryzyko raka gruczołu sutkowego. Jako przyczynę takiego stanu rzeczy uważa się inhibicyjne zahamowanie klirensu wątrobowego nitrozoamin, co ma szczególne znaczenie w przypadku łącznego użycia alkoholu etylowego i wyrobów tytoniowych, ze względu na zawartość w nich toksycznych nitrozoamin [Chhabra et al., 2000]. Alkohol etylowy podawany szczurom w dawce 1,6 g/kg m.c. na 10 minut przed podaniem N-nitrozodimetyloaminy (NDMA) oraz 4-(metylnitrozoamino)-1-(3-pirydylo)-1-butanonu (NNK), w dawkach odpowiednio 5 i 50 mg/kg m.c. zwiększał dziesięciokrotnie ilość adduktów O⁶-metyloguaninowych z DNA w przypadku N-nitrozodimetyloaminy w komórkach wątroby, krwi oraz gruczołów piersiowych u matek szczurów i w przypadku wątroby, płuc, nerek i krwi osesków. Podobny wpływ wywierało podanie 4-(metylnitrozoamino)-1-(3-pirydylo)-1-butanonu (NNK), choć efekty były mniej zaznaczone. Jednoczesne podanie alkoholu etylowego oraz N-nitrozodimetyloaminy (NDMA) i 4-(metylnitrozoamino)-1-(3-pirydylo)-1-butanonu (NDMA) ma duży wpływ na formowanie się adduktów tych związków z DNA, powodując łatwiejsze ich powstawanie niż w przypadku podania pojedynczego tych związków [Chhabra et al., 2000].

W analizie danych przeprowadzonych przez Pelucchi i współpracowników stwierdzono, że spożycie 25, 50 oraz 100 g czystego alkoholu etylowego dziennie zwiększa ryzyko wystąpienia raka jamy ustnej i gardła odpowiednio 1,75; 2,85 i 6,01 razy. Badania przeprowadzone w Szwajcarii u osób palących ponad 25 papierosów dziennie i niepijących, pokazały, że ryzyko wystąpienia nowotworu jamy ustnej i krtani jest siedem razy wyższe niż u osób niepalących [Pelucchi et al., 2006].

Nowotwory jamy ustnej są w dużej mierze związane z czynnikami środowiskowymi i są zależne od indywidualnego zachowania poszczególnych osób. Większość nowotworów jamy ustnej jest spowodowana spożywaniem alkoholu etylowego oraz paleniem tytoniu. Narażenie na te substancje jest takim samym czynnikiem ryzyka, jak higiena jamy ustnej czy zakażenie wirusem brodawczaka ludzkiego. Również u osób palących tytoń bezdymny występuje zwiększone ryzyko wystąpienia tych nowotworów, jednak wymaga to jeszcze dokładniejszych badań. Przypuszcza się, że duża część nowotworów przypisywanych tytoniowi bezdymnemu może być wywołana przez wirus brodawczaka. Młodszy wiek

zachorowania na nowotwór jamy ustnej w porównaniu z grupą kontrolną (nigdy niepalących i nigdy niepijących) wykazano u osób palących i pijących [Gillison, 2007].

Inne dane opublikowane przez International Agency for Research On Cancer mówią, że ryzyko wystąpienia nowotworu jamy ustnej i krtani jest wyższe u osób palących niż u byłych palaczy. Ponadto ryzyko to jest wyższe u osób, które zaczęły palić w młodym wieku. Osoby, które zaczynały palić przed 30 rokiem życia były bardziej narażone na nowotwory jamy ustnej niż te, które zaczynały po 40 roku życia [IARC, 2004; Pelucchi et al., 2006].

Pelucchi i współpracownicy analizują dane pochodzące z Włoch, które potwierdzają, że osoby palące mniej niż 15 papierosów dziennie są 5,3 razy bardziej zagrożone nowotworem jamy ustnej, natomiast osoby palące ponad 25 papierosów dziennie 14,3 razy bardziej niż osoby, które nigdy nie paliły [Franceschi et al., 1990; Pelucchi et al., 2006].

O wiele większym ryzykiem wystąpienia tego typu nowotworów są zagrożone osoby, które jednocześnie palą i spożywają alkohol etylowy. Boyle i współpracownicy opublikowali w 2004 roku dane pokazujące, iż osoby, które spożywają dużo alkoholu etylowego i jednocześnie palą są 300-krotnie bardziej zagrożone wystąpieniem nowotworu jamy ustnej niż osoby, które nie paliły [Boyle et al., 2004].

W badaniach prowadzonych przez Galindo-Moreno i współpracowników analizowano 185 pacjentów, którym wszczepiono implanty zębowe. Wśród pacjentów, 12% stanowiły osoby pijące ponad 10 g alkoholu etylowego dziennie przez 3 lata po wszczepieniu implantów. Zarejestrowano u tych osób marginalny ubytek tkanki kostnej o wielkości 1,66 mm w porównaniu do 1,25 mm u osób niepijących. Różnica była istotna statystycznie, jednak nie jest to wynik dający w stu procentach pewność, że jego przyczyną było spożycie alkoholu. Sugeruje się, że również inne czynniki mogą wpływać negatywnie na utratę masy kostnej wokół implantu np. brak wystarczającej higieny jamy ustnej, co spotyka się często u osób pijących. Spośród badanych pacjentów 34% zostało zakwalifikowanych jako palące. Zarejestrowano u tych osób marginalny ubytek tkanki kostnej o wielkości 1,36 mm w porównaniu do 1,25 mm u osób niepalących. Tytoń jest powszechnie znanym czynnikiem powodującym schorzenia jamy ustnej, jak i choroby przyzębia, co potwierdzają wyniki uzyskane przez Galindo-Moreno i współpracowników. Ponadto nawet u osób, które utrzymywały higienę jamy ustnej na zadowalającym poziomie, zarejestrowano większą resorpcję tkanki kostnej wokół implantów niż u osób niepalących. Dane te wskazują, że używanie wyrobów tytoniowych powoduje zwiększoną resorpcję kości wokół implantu i wpływa na to bezpośrednio poza znanymi czynnikami wywołującymi zapalenie tkanki

kostnej wokół implantu, np. obecność bakterii czy ilość płytki nazębnej [Galindo-Moreno et al., 2005].

Spożywanie jednocześnie alkoholu etylowego oraz palenie tytoniu powoduje znaczne zwiększenie ryzyka wystąpienia raka krtani [Altieri et al., 2005; IARC, 2004].

Również osoby, które nie palą, a tylko spożywają alkohol etylowy są w grupie zwiększonego ryzyka zachorowania na raka krtani, przy czym ryzyko to jest większe w przypadku osób spożywających więcej alkoholu etylowego [Altieri et al., 2005].

Osoby palące również mają większe prawdopodobieństwo zachorowania na nowotwór krtani i jest ono wyższe u osób, które palą aktywnie niż u tych, którzy zaprzestali palenia. Zaprzestanie palenia powoduje, że po 10 do 15 lat od zaprzestania, ryzyko wystąpienia raka krtani jest o 60% niższe [Bosetti et al., 2006]. Łączne działanie alkoholu etylowego i dymu tytoniowego uwidacznia się także wpływając na większą ilość nowotworów krtani u osób przyjmujących jednocześnie te dwie substancje [Altieri et al., 2005]. Dane epidemiologiczne opublikowane przez International Agency for Research On Cancer wskazują wpływ alkoholu etylowego i dymu tytoniowego na wystąpienie nowotworów w różnych rejonach krtani, gdzie ryzyko było wyższe w rejonach zlokalizowanych powyżej strun głosowych, w rejonach zamykających gardło, gdzie kontakt z alkoholem i dymem tytoniowym jest ciągły w chwili przyjmowania używek [Altieri et al., 2005; IARC, 2004].

Zjawisko wzajemnego wzmocnienia ryzyka wystąpienia nowotworu dróg oddechowych podczas jednoczesnego spożywania alkoholu etylowego i inhalowania dymu tytoniowego jest powszechnie znane, jednak zespół badawczy Izotti przeprowadził badania polegające na narażeniu szczurów na 5% roztwór alkoholu etylowego w postaci roztworu do picia przez 8 miesięcy, a także na dym tytoniowy przez 1 godzinę dziennie, pięć dni w tygodniu przez okres ośmiu miesięcy. Badano usieciowanie DNA z białkami oraz addukty kancerogenów z DNA w komórkach różnych narządów. W przypadku wątroby, płuc i serca nie stwierdzono znaczącego wzrostu usieciowanych produktów DNA z białkami. Stwierdzono ponadto, że podawanie alkoholu etylowego nie powodowało zwiększenia ilości adduktów kancerogenów z DNA w żadnym z badanych narządów, czyli w przełyku, wątrobie płucach i sercu. Działanie dymu tytoniowego, natomiast wywoływało powstawanie adduktów z DNA w płucach i sercu, natomiast w przełyku i wątrobie już nie obserwowano takich zmian. Łączne podanie obu ksenobiotyków, powodowało duży wzrost powstających ilości adduktów DNA w przełyku i w sercu, gdzie zmiany były bardzo mocno zaznaczone. Autorzy tłumaczą to zwiększeniem biodostępności DNA dla tworzenia połączeń z

komponentami dymu tytoniowego w górnej części przewodu pokarmowego oraz ułatwioną dystrybucją w organizmie. Mechanizmy zachodzące na poziomie DNA komórek narządów są prawdopodobnie odpowiedzialne za schorzenia związane z dysfunkcją układu oddechowego oraz uszkodzenia mięśnia sercowego [Izotti et al., 1998].

W populacjach spożywających większe ilości alkoholu etylowego, np. Francuzi czy Włosi, zanotowano większą ilość nowotworów przełyku i ryzyko to było większe u osób, które zaczynały pić w młodszym wieku [Pelucchi et al., 2006]. Również palenie tytoniu, ze względu na zawartość toksycznych N – nitrozoamin powoduje zwiększenie ilości nowotworów przełyku [Pelucchi et al., 2006].

Pelucchi i współpracownicy opisują badania przeprowadzone w trzech regionach USA, gdzie badano osoby intensywnie pijące i palące. Wykazano 35,4 razy większe ryzyko raka przełyku i 149,2 razy większe ryzyko raka przełyku odpowiednio dla mężczyzn białych i ciemnoskórych, w porównaniu do takich samych populacji mężczyzn niepalących i niepijących lub palących niewielkie ilości tytoniu [Pelucchi et al., 2006].

Spożywanie alkoholu etylowego oraz inhalowanie dymu tytoniowego jest odpowiedzialne za 80% przypadków raka przełyku w Europie i na Kontynencie Amerykańskim, gdzie ryzyko jest o 90% wyższe u mężczyzn i od 30 – 50 % wyższe u kobiet, a także wyższe u czarnoskórych mężczyzn niż u białych [Pelucchi et al., 2006].

Rak wątroby jest szóstym nowotworem, jeśli chodzi o przyczynę zgonów z powodu nowotworu. Przyczynami wystąpienia raka wątroby mogą być zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu B lub C. Również zwiększona jest ilość nowotworów wątroby u osób spożywających alkohol etylowy. W analizie 2294 przypadków raka wątroby zanotowano 1,17 razy większe ryzyko u osób pijących 25 g czystego alkoholu dziennie i 1,36 razy większe ryzyko u spożywających 50 g czystego alkoholu dziennie oraz 1,86 razy większe ryzyko dla osób spożywających 100 g czystego alkoholu dziennie [Fujita et al., 2006; Wang et al., 2003].

Badania prowadzone przez International Agency for Research On Cancer udowodniły, że istnieje również duże powiązanie między paleniem tytoniu a nowotworami wątroby [IARC, 2004]. U osób palących ryzyko wystąpienia tego typu nowotworu jest od 1,2 do 2,0 razy wyższe niż u osób, które nigdy nie paliły i jest ono wyższe u osób palących bardzo dużo. Dodatkowo osoby zakażone wirusami zapalenia wątroby typu B lub C i jednocześnie palące mają wyższe ryzyko wystąpienia nowotworu wątroby [Fujita et al., 2006; IARC, 2004; Pelucchi et al., 2006; Wang et al., 2003].

Ponadto u ludzi jednocześnie spożywających alkohol etylowy i palących tytoń ryzyko wystąpienia raka wątroby jest jeszcze wyższe. Wykazali to w swojej pracy Marrero i współpracownicy [Marrero et al., 2005].

W badaniach przeprowadzonych u ludzi przez Kouri i współpracowników oceniano subiektywne odczucia po spożyciu alkoholu etylowego podając wcześniej ochotnikom transdermalne plastry nikotynowe 21 mg lub placebo. Etanol przyjmowali oni w dawkach 0,4 i 0,7 g/kg m. c. Badano również niektóre parametry fizjologiczne np. liczbę uderzeń serca na minutę, ciśnienie krwi, temperaturę skóry czy poziom alkoholu etylowego w osoczu. Intensywność uczucia nietrzeźwości, działania alkoholu etylowego, euforii była większa u ochotników, którzy otrzymali wcześniej nikotynę w formie plastrów. Ponadto wykazywali oni większą chęć zapalenia papierosa w porównaniu z osobami otrzymującymi placebo. Szybkość uderzeń serca uległa zwiększeniu u ochotników przyjmujących nikotynę. Zwiększenie intensywności przyjemnych (czy też pożądaných z pewnych względów) odczuć po spożyciu alkoholu etylowego, przez nikotynę, może być powodem ich częstego łącznego stosowania [Kouri et al., 2004].

Osoby palące okazjonalnie wykazują o 16,2% wyższe ryzyko spożywania alkoholu w sposób szkodliwy w porównaniu do populacji ogólnej. Ryzyko to wzrasta do 58% dla pacjentów palących ponad 30 papierosów dziennie. Wykazano także liniową zależność między występowaniem picia ryzykownego i powikłań związanych z piciem a ilością wypalanych dziennie papierosów. Ponadto osoby palące w wieku 45 – 54 lat również znajdują się w grupie bardziej zagrożonej wystąpieniem niekorzystnych skutków picia alkoholu niż populacja ogólna [John et al., 2003].

Barret i współpracownicy prowadzili badania dotyczące wzajemnych zależności między spożywaniem alkoholu i paleniem tytoniu w grupie piętnastu mężczyzn, w wieku od 18 do 30 lat, niezależnionych od nikotyny, a jedynie palących okazjonalnie. Mężczyźni byli zdrowi psychicznie i nie mieli w przeszłości problemów również z uzależnieniami. Wszyscy w teście Fagerströma zdobyli liczbę punktów 0. Uczestnicy palący w czasie badania papierosy zawierające nikotynę wykazywali większe skłonności do spożywania alkoholu etylowego niż ochotnicy palący papierosy denikotyzowane (zawierające nie więcej niż 0,05 mg nikotyny/papieros).

Uzyskane wyniki wykazały zwiększenie ilości spożywanego alkoholu przez osoby palące, co potwierdziło wcześniejsze badania prowadzone przez Batel i współpracowników. Badania te nie wyjaśniły biochemicznych mechanizmów takiego

zjawiska, jednak uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że powodem takiego zjawiska mogą być zmiany na poziomie neurochemicznym [Barett et al., 2006; Batel et al., 1995].

Alkohol etylowy oraz wyroby tytoniowe są najczęściej używanymi substancjami wywołującymi wiele efektów szkodliwych, zarówno zdrowotnych, jak i poważnych konsekwencji społecznych. Występowanie uzależnienia od obu tych substancji jest bardzo częste. Pojawiają się również sugestie o genetycznych podstawach występowania tego uzależnienia [Larsson and Engel, 2004]. Większość osób uzależnionych od alkoholu etylowego pali (80 – 90%), co stanowi liczbę trzy razy wyższą niż w populacji ogólnej. Natomiast osoby palące piją dwukrotnie więcej alkoholu niż osoby niepalące. Alkohol etylowy wpływa na aktywność neuronów dopaminergicznych działając na kanały jonowe w receptorach. Oprócz wpływu na receptory, również inne czynniki biorą udział w wywoływaniu zmian na skutek działania alkoholu i dymu tytoniowego na organizm ludzki. Z najważniejszych wymienia się: dopaminę, noradrenalinę, opioidy, acetylocholiny, serotoninę, kwas γ -aminomasłowy. Łączenie alkoholu etylowego i dymu tytoniowego uwidacznia się także w większej trudności zaprzestania palenia przez osoby pijące lub pijące w przeszłości. Także zaprzestanie picia powoduje zmniejszenie liczby wypalanych papierosów, a zaprzestanie palenia powoduje zmniejszenie ilości wypijanego alkoholu etylowego.

Rozpoczęcie palenia w młodym wieku stwarza większe prawdopodobieństwo wystąpienia uzależnienia od alkoholu lub innych substancji w wieku późniejszym. Może to wskazywać na udział czynników genetycznych w powstaniu tego typu uzależnień, jak i wspólnego mechanizmu neurochemicznego, którego podstawową hipotezą jest wzajemny wpływ alkoholu etylowego i nikotyny na receptory acetylocholinowe. Pierwsze doniesienia o działaniu alkoholu na receptor acetylocholinowy pojawiły się w latach osiemdziesiątych ubiegłego wieku [Larsson and Engel, 2004].

Wzajemny wpływ alkoholu i nikotyny prawdopodobnie wykazuje działanie na śródmózgowe wydzielanie dopaminy na drodze podobnych mechanizmów. W badaniach eksperymentalnych nikotyna, jak i alkohol etylowy zwiększają wydzielanie śródmózgowej dopaminy na skutek stymulacji nikotynowego receptora acetylocholinowego (NACHR). Zablockowanie nikotynowego receptora acetylocholinowego (NACHR) powoduje zmniejszenie ilości spożywanego alkoholu u zwierząt, jak i u ludzi. Uważa się także, że nikotyna oraz alkohol etylowy powodują obniżenie progu pobudzenia neuronów zależnych od nikotynowego receptora acetylocholinowego. Oprócz tego, alkohol etylowy, jak i

nikotyna wpływają na poziom noradrenaliny u osób używających tych związków [Barett et al., 2006].

Nikotyna podawana zwierzętom przez pewien okres czasu zmienia ich preferencje, jeśli chodzi o dobrowolne spożywanie alkoholu etylowego mając jako alternatywę wodę. Ericson z zespołem wykonali badanie dotyczące udziału nikotynowych receptorów acetylocholinowych, zarówno centralnych, jak i obwodowych u zwierząt, którym podawano nikotynę na efekty działania etanolu związane z funkcjami neuroprzekaźnika, jakim jest dopamina. W badaniach brano pod uwagę zwierzęta, które spożywały poniżej 60% alkoholu etylowego w ogólnej ilości przyjmowanych płynów. Odnotowano zwiększenie aktywności szczurów przyjmujących jednocześnie nikotynę oraz alkohol, a także zwiększenie ilości spożywanego etanolu [Ericson et al., 2000].

Aktywność psychomotoryczna myszy, którym podawano alkohol etylowy nie wykazywała statystycznie istotnych zmian u osobników, które otrzymywały jednocześnie nikotynę w dawce 66 $\mu\text{g}/\text{kg}$ m.c. dwa razy dziennie. Jednak podanie mekamlaminy – antagonisty receptorów nikotynowych w dawce 2 mg/kg m.c. obniżało efekt stymulacyjny wywołany przez alkohol etylowy w dawce 3 g/kg m.c. Wykazano również, że myszy, które otrzymywały nikotynę spożywały więcej alkoholu etylowego niż myszy otrzymujące roztwór soli fizjologicznej. Wyniki takie sugerują, że receptory nikotynowe mają swój udział w wywołaniu efektów behawioralnych spowodowanych alkoholem etylowym [Fredriksson et al., 2000].

Nikotyna zwiększa wydzielanie dopaminy poprzez działanie na receptor acetylocholinowy zależny od nikotyny. Nikotynowe receptory acetylocholinowe zawierają kanały jonowe zależne od nikotyny (ligandu) i są one rozmieszczone w rejonach synaps w ośrodkowym układzie nerwowym. W mózgu ssaków można wyróżnić dwie podjednostki w budowie tego receptora. Są to podjednostki α oraz β , każda z nich natomiast zawiera kolejne podjednostki. W przypadku struktury α wyróżnić można sześć kolejnych podjednostek $\alpha_2 - \alpha_7$, natomiast struktura β zawiera trzy kolejne podjednostki $\beta_2 - \beta_4$. Wszystkie receptory występujące w ośrodkowym układzie nerwowym zbudowane są z pięciu takich podjednostek, co schematycznie przedstawiono na Rycinie 5.

wiązania neurotransmitera

ednostka Beta



toplazma

Ryc. 5 Schemat budowy receptora acetylocholinowego zależnego od nikotyny NChR [Ward et al., 2008]

Dane literaturowe wskazują, że nikotynowe receptory acetylocholinowe biorą udział w procesach związanych z pamięcią wsteczną, procesami uczenia czy procesami degeneracyjnymi w ośrodkowym układzie nerwowym [Picciotto et al., 2008; Ward et al., 2008].

Dokładna budowa nikotynowego receptora acetylocholinowego z poszczególnych podjednostek nie została precyzyjnie wyjaśniona. Dotychczasowe próby ustalenia jego budowy opierały się na pomiarach ekspresji mRNA odpowiedzialnego za kodowanie syntezy poszczególnych podjednostek. Podjednostka β nie uczestniczy w wiązaniu acetylocholiny, ale wpływa ona na wzajemne relacje ligandu z podjednostką α . Wśród rodzajów nikotynowego receptora acetylocholinowego, które są związane z wydzielaniem dopaminy należy wymienić: $\alpha 6\beta 2$, $\alpha 6\alpha 4\beta 2$, $\alpha 4\beta 2$ oraz $\alpha 4\alpha 5\beta 2$ [Salminen et al., 2004; Zoli et al., 2002]. W przypadku podjednostki $\alpha 7$ nikotynowego receptora acetylocholinowego wpływ na wydzielanie dopaminy następuje za pośrednictwem glutaminianu oraz kwasu γ -aminomasłowego (GABA) [Ward et al., 2008; Wonnacott et al., 2005]. Receptory nAChR

zawierające podjednostki $\alpha 7$ zlokalizowane w śródmózgowiu są umieszczone na neuronach glutaminergicznych, włóknach aferentnych i zakończeniach nerwowych [Pidoplichko et al., 2004].

Nikotyna może wpływać na wydzielanie kwasu γ -aminomasłowego w żywym organizmie poprzez aktywację nAChR umieszczonych na neuronach GABA-ergicznych. Efekt ten następuje przy udziale podjednostek $\alpha 7$ oraz $\alpha 4\beta 2$ [Ward et al., 2008].

Podjednostki $\beta 2$ obecne w receptorze acetylocholinowym biorą istotny udział w uwalnianiu dopaminy przy udziale tego receptora. Podjednostka $\alpha 7$, jeśli zostanie pobudzona, wpływa na zmianę w wydzielaniu dopaminy. Podczas przebiegu uzależnienia od nikotyny zawartej w dymie tytoniowym następuje aktywacja nikotynowych receptorów acetylocholinowych – podjednostek $\alpha 7$ oraz $\alpha 4\beta 2$, umieszczonych w dopaminergicznych zakończeniach nerwowych ciała prążkowanego [Belluardo et al., 2000; Ward et al., 2008]. Ważnym aspektem działania nikotyny na te podjednostki receptora jest fakt, że jest ona bardziej selektywna dla tych podjednostek niż acetylocholina. Nikotyna działa pobudzająco na podjednostki $\alpha 4\beta 2$ [Butt et al., 2004; Hamada et al., 2004; Ward et al., 2008] i $\alpha 7$ [Ward et al., 2008; Zuo et al., 2002] umieszczone w polu brzusznej nakrywki śródmózgowia. Inne podjednostki receptora acetylocholinowego np. $\alpha 3\beta 2$ nie wykazują żadnej reakcji pod wpływem działania nikotyny [Nguyen et al., 2003; Ward et al., 2008]. Nikotyna aktywując receptory wywołuje zmiany układu przestrzennego w budowie receptora z następującym w wyniku tego otwarciem kanałów jonowych czego skutkiem jest swobodny przepływ jonów. Po wywołaniu zmian w receptorach przez nikotynę, stają się one odporne na aktywację, ale nadal mogą wiązać agonistów receptora i to z większym powinowactwem niż przed wystąpieniem zmian [Ward et al., 2008]. W mózgach osób palących wykazano zwiększoną liczbę miejsc wiążących nikotynę w podjednostkach $\alpha 4\beta 2$ receptora acetylocholinowego. Badania te prowadzone były po zgonie osób palących [Ward et al., 2008].

Ehringer i współpracownicy badali dwa geny CHRNA4 oraz CHRNA2, które kodują odpowiednio podjednostki $\alpha 4$, a także $\beta 2$ nikotynowego receptora acetylocholinowego występującego w neuronach. Przebadano 1068 ochotników z różnych grup etnicznych. Autorzy podają, że istnieją słabe dowody na powiązania między genami kodującymi podjednostkę $\alpha 4$ a spożywaniem alkoholu etylowego w ciągu ostatnich 6 miesięcy, jedynie w grupie kaukaskiej powiązanie to było nieznacznie wyższe. Wyniki Autorzy komentują z dużą ostrożnością. Bardziej obiecujące wyniki otrzymane były w przypadku genu odpowiedzialnego za kodowanie podjednostki $\beta 2$ nikotynowego receptora acetylocholinowego. Z występowaniem podjednostki $\beta 2$ wiążą Autorzy występowanie

negatywnych odczuć w wyniku działania tytoniu, głównie u rasy białej i Hiszpanów. Podobnie w przypadku alkoholu etylowego podjednostka β_2 rozmieszczona w neuronach może brać udział w negatywnych efektach jego działania. Na podstawie tych badań można stwierdzić, że podjednostka β_2 bierze najprawdopodobniej udział w skomplikowanych wzajemnie się nakładających procesach neuronalnych w przebiegu zależności alkoholowo-tytoniowej [Ehringer et al., 2007].

Martin-Garcia oraz Pallares prowadzili badania dotyczące wpływu nikotyny oraz dwóch neurosteroidów – pregnenolonu oraz allopregnanolonu podawanych zwierzętom bezpośrednio do hipokampu na poziom lęku występującego u szczurów spożywających alkohol etylowy. Zwierzęta otrzymywały 10% roztwór etanolu do picia przez okres 100 dni. Autorzy dowiedli, że istnieje zależność między poziomem lęku u zwierząt a podaniem nikotyny i steroidów u przewlekle narażonych na alkohol. Stąd można wnioskować, że znaczący jest udział we wpływie na zachowanie zwierząt hipokampu, a przede wszystkim leżących w jego regionie receptorów kwasu γ -aminomasłowego - GABA_A [Martin-Garcia and Pallares, 2005].

Potwierdzenie udziału neuronalnych nikotynowych receptorów N-cholinergicznych, jak i receptorów dopaminergicznych w mechanizmach wzajemnych zależności od alkoholu etylowego i nikotyny wykazali Autorzy w wielu publikacjach [Desai et al., 2003; Kumar et al., 1987; Le Foll et al., 2005; Pratt et al., 1983; Shoaib et al., 2002; Stoleran et al., 1997].

Alkohol etylowy oraz nikotyna wykazują w pewnych zakresach działania przeciwstawne. Nikotyna wpływając na specyficzne receptory działa pobudzająco, zwiększa ryzyko wystąpienia napadu drgawkowego. Alkohol etylowy natomiast działa tłumiąco na ośrodkowy układ nerwowy i przeciwdrgawkowo. Obydwie substancje wywołują jednak stan tolerancji i uzależnienia. Jednak mimo tych różnic istnieje pewna, wzajemna korelacja, jeśli chodzi o zachowanie osób nadużywających. Wśród alkoholików jest bardzo wysoki stopień uzależnienia od wyrobów tytoniowych. Ilość wypalanych wyrobów tytoniowych jest skorelowana z ilością spożywanego alkoholu etylowego oraz stopniem uzależnienia. Używanie alkoholu etylowego w przeszłości wpływa na wzmocnienie efektów działania nikotyny w porównaniu z osobami, które nigdy nie były uzależnione [Dani and Harris, 2005].

Nikotyna i alkohol etylowy działają również uśmierzająco na ból, działając na kanały potasowe GIRK. Oprócz tego te dwie substancje wykazują tolerancję krzyżową. Wpływają także na aktywność ruchową i temperaturę ciała zwierząt w badaniach eksperymentalnych. Badania przy użyciu obrazowania ludzkiego mózgu wskazują, że adaptacja mózgu i

neurotoksyczność spowodowane przez przewlekłe nadużywanie alkoholu etylowego, może również powstawać na skutek nadużywania wyrobów tytoniowych [Dani and Harris, 2005].

U osób uzależnionych od alkoholu etylowego, które przestają pić wykazano zwiększoną ilość receptorów GABA_A, w wyniku czego objawy abstynencyjne u tych osób są bardziej nasilone. Palenie wyrobów tytoniowych zmniejsza ilość zależnych od receptorów GABA_A neuronów, stąd objawy odstawienia mogą być mniej nasilone u jednocześnie palących i pijących alkohol [Dani and Harris, 2005].

Wzajemne powiązanie między paleniem tytoniu a spożywaniem alkoholu etylowego szczególnie ważne jest u młodzieży, gdzie wczesne rozpoczęcie palenia powoduje, iż bardziej prawdopodobne staje się wystąpienie uzależnienia od alkoholu czy innych substancji psychoaktywnych w późniejszym wieku [Dani and Harris, 2005; John et al., 2003b].

Badania fińskie przeprowadzone w grupie 14-latków i 32-latków wykazały, że regularne palenie przez 14-latków jest znaczącym czynnikiem zwiększającym ilość przestępstw u 32-latków, szczególnie, jeśli chodzi o przestępstwa prowadzenia pojazdu po użyciu alkoholu [Riala et al., 2004].

Istnieje niewiele doniesień na temat łącznego działania alkoholu etylowego oraz nikotyny, czy tym bardziej dymu tytoniowego. Nikotyna zawarta w dymie tytoniowym powoduje uczucie pobudzenia i zwiększenia aktywności psychomotorycznej. Alkohol etylowy, natomiast odwrotnie niż nikotyna, powoduje spowolnienie i zaburzenie czynności psychoruchowych. Takie wzajemne przeciwstawne działanie może być prawdopodobnie przyczyną zwiększonego użycia wyrobów tytoniowych podczas picia alkoholu. Alkohol etylowy powodując obniżenie sprawności psychomotorycznej, co może być odbierane przez konsumenta tej substancji, jako uczucie zmęczenia, zwiększa chęć zapalenia papierosa, a co za tym idzie chęć zniesienia tego pozornego uczucia zmęczenia [Perkins, 1997].

Wzmocnienie chęci sięgnięcia po wyroby tytoniowe nie zależy od poziomu alkoholu we krwi, ale jest najsilniejsze podczas wzrostu lub obniżania poziomu alkoholu etylowego we krwi. Nikotyna i alkohol etylowy wywierają jednak sumujący się szkodliwy wpływ na inne układy np. układ krążenia. Łącznie te dwa ksenobiotyki wykazują działanie addytywne i silniej niż w podaniu pojedynczym zmniejszają wrażliwość na ból. W badaniach eksperymentalnych dowiedziono, że łączne ich podanie powoduje działanie przeciwlękowe [Perkins, 1997].

Le i współpracownicy prowadzili badania eksperymentalne na szczurach szczepu Wistar o masie ciała ok. 150 g hodowanych w kontrolowanych warunkach temperatury, otoczenia, oświetlenia, wilgotności. Zwierzęta miały swobodny dostęp do pokarmu i wody, a codziennie były przenoszone do klatek, gdzie spożywały alkohol etylowy. Alkohol otrzymywały w butelkach o pojemności 25 ml jako roztwór 3%, 6% oraz 12% w kolejnych 8, 10 i 12 dniach. Szczury, które spożywały więcej niż 0,4 g/kg m.c. alkoholu etylowego zostały użyte do eksperymentu i otrzymywały przez cały czas alkohol w postaci 12% roztworu [Le et al., 2000]. W badaniu zwierzęta umieszczono w klatkach, które posiadały dwie dźwignie. Jedna aktywowała pompę podającą zwierzętom alkohol po jej naciśnięciu. Kolejne naciśnięcia były zliczane, ale nie powodowały podania większej ilości alkoholu. Dodatkowo, zwierzęta otrzymywały podskórnie nikotynę, w dawce 0,8 mg/kg m.c. Zwierzęta otrzymujące nikotynę w dawce 0,8 mg/kg m.c. wykazywały statystycznie istotną większą skłonność do spożywania alkoholu etylowego niż zwierzęta, które nikotyny nie otrzymywały lub zwierzęta, które otrzymywały niższe dawki tego alkaloidu. W drugim etapie badań potwierdzono, że nikotyna w dawce 0,8 mg/kg m.c. powoduje wzrost ilości spożywanego alkoholu etylowego i jest on zależny od czasu trwania podawania nikotyny. Efekt zwiększenia się ilości spożywanego alkoholu przez zwierzęta widoczny był dopiero w 4 – 5 dniu podawania alkaloidu [Le et al., 2000].

Przewlekłe narażenie na nikotynę powoduje wzrost ekspresji receptorów acetylocholinowych zależnych od nikotyny. W celu potwierdzenia tego zjawiska Dohrman i Reiter przeprowadzili badania polegające na narażeniu linii komórkowych na różne stężenia nikotyny. Stężenia te zawierały się w przedziale od 0,1 do 10 mmol/l nikotyny, a czas narażenia wynosił 4 dni. Oprócz tego, w związku z tym, że alkohol etylowy powoduje zwiększenie ilości przyjmowanych wyrobów tytoniowych ci sami Autorzy przeprowadzili badanie czy etanol może zwiększać ekspresję receptorów acetylocholinowych zależnych od nikotyny pojedynczo lub łącznie z nikotyną. Uzyskane wyniki potwierdziły, że komórki, które poddane były działaniu roztworu nikotyny wykazały aktywację receptorów nikotynowych. Alkohol etylowy wykazywał działanie dwufazowe na linie komórkowe. W pierwszym etapie, w ciągu 48 godzin następował spadek ekspresji receptorów acetylocholinowych zależnych od nikotyny, aby w kolejnych 96 godzinach nastąpił wzrost ekspresji tego receptora w porównaniu z kontrolnymi liniami komórek. Ponadto łączne podanie nikotyny i alkoholu etylowego wpływało znacznie bardziej na receptory acetylocholinowe zależne od nikotyny niż podanie samej nikotyny [Dohrman and Reiter, 2003].

Podanie zwierzętom antagonisty receptora nikotynowego, mekamylaminy, powodowało spadek ilości spożywanego alkoholu oraz zmniejszenie aktywności psychoruchowej po spożyciu przez nie alkoholu. Podanie innego antagonisty receptora nikotynowego, dihydro- β -erytroidyny, nie spowodowało spadku ilości spożywanego alkoholu. Różne reakcje zwierząt na te dwa związki skłaniają do przeanalizowania przyczyn tego zjawiska. Mekamylamina jest niekompetencyjnym inhibitorem nikotynowego receptora acetylocholinowego (NACHR), który działa na zasadzie blokowania kanałów wapniowych w NACHR. Dihydro- β -erytroidyna z kolei działa na zasadzie konkurencji z nikotyną. Wynika stąd prosty wniosek, że spożycie alkoholu etylowego musi być powiązane z podjednostkami receptora NACHR innymi niż $\alpha 4\beta 2$, do których duże powinowactwo ma Dh β E. Obydwa związki, nikotyna i alkohol etylowy, poprzez działanie na receptor nikotynowy powodują zwiększenie wydzielania dopaminy. Wydzielenie dopaminy spowodowane alkoholem może zostać zablokowane mekamylaminą [Le et al., 2000].

Dostępne dane literaturowe sugerują, że zwiększenie ekspresji nikotynowego receptora acetylocholinowego jest odpowiedzialne za problemy pacjentów próbujących zaprzestać palenia [Dani and De Biasi, 2001; Dani and Heinemann, 1996].

Chcąc wyjaśnić to zjawisko Dohrman i Reiter przeprowadzili badania polegające na narażeniu linii komórkowych na roztwory nikotyny oraz alkoholu etylowego o różnych stężeniach. Autorzy przyjęli w swoich badaniach, że skoro problem taki występuje, ekspresja receptora NACHR musi być na zwiększonym poziomie również po ustaniu działania czynnika chemicznego. Eksperyment polegał na narażeniu hodowli komórkowych na nikotynę i alkohol etylowy, a następnie po 96 godzinach czynniki te zostały usunięte z medium odżywczego hodowli. Po 4 dniach narażenia komórki wykazywały one aktywację receptora NACHR. Aby obserwować czy i kiedy ekspresja receptora będzie wykazywać wartość wyjściową, badano poziom ekspresji receptora. Po usunięciu nikotyny i alkoholu etylowego ekspresja receptora ciągle malała, jednak cały czas była ona na wyższym poziomie niż w grupie kontrolnej. W komórkach narażonych na oba ksenobiotyki podwyższona ekspresja receptora występowała nawet 7 dni po usunięciu alkoholu i nikotyny. Wzrost ten utrzymywał się na poziomie ok. 25% wyższym niż w grupie kontrolnej, jednak występował w bardzo długim czasie. Wynik uzyskany przez Dohrman i Reiter sugeruje, że łączne przyjmowanie alkoholu etylowego i dymu tytoniowego może prowadzić do trwałych zmian w ekspresji receptora acetylocholinowego zależnego od nikotyny [Dohrman and Reiter, 2003].

Również w różnych rejonach mózgu szczurów stwierdzono zmiany w ilości miejsc wiążących nikotynę. Zauważono zmniejszenie ilości miejsc wiążących nikotynę w hipokampie, natomiast we wzgórzu i podwzgórzu zaobserwowano zwiększenie. Podobnie u myszy, również zaobserwowano wzrost ilości miejsc wiążących nikotynę we wzgórzu mózgu tych zwierząt [Larsson and Engel, 2004].

Kolejnym zjawiskiem mówiącym o działaniu nikotyny na receptory acetylocholinowe jest brak efektów leczenia osób chorych na chorobę Parkinsona i jednocześnie palących z uzależnienia od wyrobów tytoniowych za pomocą preparatów transdermalnych [Ward et al., 2008]. Przyczyną takiego zjawiska jest inaktywacja receptorów acetylocholinowych, które mają znaczenie w tego typu leczeniu, przez proces chorobowy [Ward et al., 2008].

Alkohol etylowy również działa stymulująco na wydzielanie dopaminy poprzez działanie na receptory acetylocholinowe. Największe działanie wykazuje wobec receptorów znajdujących się w polu brzusznej nakrywy śródmózgowia. Poza tym alkohol etylowy powoduje również zwiększenie powinowactwa acetylocholinu do receptora acetylocholinowego [Zuo et al., 2002]. To działanie jest jednak uzależnione od tego jakie podjednostki wchodzi w skład receptora [Ward et al., 2008]. Niskie stężenia alkoholu etylowego hamują aktywację podjednostki $\alpha 7$, natomiast alkohol etylowy zwiększa aktywność podjednostki $\alpha 4\beta 2$ receptora acetylocholinowego [Zuo et al., 2002]. W badaniach na myszach, które miały wybiórczo zwiększoną aktywność podjednostki $\alpha 7$ stwierdzono zwiększoną neurotoksyczność alkoholu etylowego [Ward et al., 2008].

Po zaprzestaniu picia alkoholu przez osoby uzależnione występuje zwiększona drażliwość, co tłumaczy się zwiększeniem stężenia zewnątrzkomórkowego glutaminianu. Mając na uwadze ten fakt można próbować wyjaśnić zwiększenie ilości wypalanych papierosów po zaprzestaniu picia alkoholu etylowego, jednak ten mechanizm nie został potwierdzony doświadczalnie [Ward et al., 2008].

W badaniach eksperymentalnych na szczurach wykazano, że równoczesne podanie nikotyny i alkoholu etylowego zmniejsza stężenie glutaminianu charakterystyczne podczas odstawienia alkoholu [Lallemand et al., 2006]. Wzajemne zależności w działaniu na receptory może być kolejnym mechanizmem interakcji alkoholu etylowego i dymu tytoniowego, szczególnie tych dotyczących tolerancji krzyżowej czy zwiększenia ilości wypalanych papierosów przez osoby pijące [Ward et al., 2008].

W przypadku młodzieży jednocześnie palącej i spożywającej alkohol etylowy jest niewiele danych na temat łącznego wpływu tych ksenobiotyków na procesy neurologiczne. W badaniach eksperymentalnych na myszach C57BL, które prowadził Ribeiro-Carvalho

wraz z zespołem, próbowano wykazać jak wpływa na centralny układ cholinergiczny łączna konsumpcja alkoholu i palenia tytoniu w okresie dojrzewania. Do eksperymentu zostały wybrane myszy, które tolerują gorzki smak podawanej nikotyny. Myszy tego szczepu wykazują również większą chęć do dobrowolnego spożywania alkoholu etylowego. W badaniu zwierzęta eksponowane były na oba związki pojedynczo oraz łącznie. Wykazano, że istnieje interakcja w centralnym systemie cholinergicznym między alkoholem etylowym i nikotyną. Autorzy sugerują, że modyfikacje w tym układzie powodują zmiany w zachowaniu, funkcji zapamiętywania, uczenia się u młodzieży na skutek ich wzajemnego wpływu na układ cholinergiczny. Wyjaśnienie mechanizmów wzajemnego wpływu tych ksenobiotyków może mieć korzystne następstwa w postaci planowania farmakoterapii uzależnień. Wykazano też obniżenie aktywności cholinoacetylotransferazy. Największy wzrost aktywności receptorów acetylocholinowych odnotowano w grupie myszy narażonych łącznie na oba ksenobiotyki. Stymulacja receptorów acetylocholinowych u ludzi może powodować, że są oni bardziej podatni na uzależnienia. Nikotyna wywołuje również stymulację receptorów acetylocholinowych w korze mózgowej szczurów dorosłych, ale już w śródmózgowiu wzrost miejsc wiążących [^3H] cytyzynę jest niewielki [Ribeiro-Carvalho et al., 2008].

Alkohol etylowy działa bezpośrednio na funkcjonowanie kanałów jonowych w tym również w receptorach acetylocholinowych zależnych od nikotyny [Ribeiro-Carvalho et al., 2008]. Etanol zwiększa wydzielanie dopaminy i zwiększa aktywność psychomotoryczną na skutek pobudzenia receptorów acetylocholinowych. Podanie mekamyloaminy, która jest antagonistą receptora acetylocholinowego zależnego od nikotyny, zmniejsza ilość wypijanego dobrowolnie alkoholu etylowego przez zwierzęta, natomiast podanie nikotyny powoduje, że ilość wypijanego alkoholu jest większa [Blomqvist et al., 1996; Ribeiro-Carvalho et al., 2008]. Badania prowadzone na oocytach, polegające na obserwacji indukcji różnych podtypów receptora acetylocholinowego zależnego od nikotyny wykazały, że etanol indukuje kilka podtypów receptora acetylocholinowego. Najważniejszy z nich, na który wpływ był największy to podtyp $\alpha 4\beta 2$, natomiast na pozostałe wpływ był już niewielki. Oprócz tego wykazano, że alkohol etylowy hamuje podtyp $\alpha 7$ nikotynowego receptora acetylocholinowego [Cardoso et al., 2008; Ribeiro-Carvalho et al., 2008]. Autorzy wykazali, że alkohol etylowy może w różny sposób wpływać na receptor acetylocholinowy w zależności od regionu mózgu lub linii komórkowej. Krótkotrwałe narażenie na niskie dawki alkoholu nie aktywują w znaczący sposób receptora acetylocholinowego, co wykazano w badaniach *in vivo* na myszach [Ribeiro-Carvalho et al., 2008]. Łączne podanie alkoholu

etylowego i nikotyny wywołuje bardzo mocną stymulację tego receptora w korze mózgowej, co wskazuje na sumowanie efektów działania pojedynczych związków. Sugeruje się, że etanol stabilizuje otwarcie kanałów jonowych w receptorze i zwiększa powinowactwo agonistów do tego receptora [Ribeiro-Carvalho et al., 2008].

Rekombinowane ludzkie receptory acetylocholinowe zależne od nikotyny wykazywały niewrażliwość na alkohol etylowy w obrębie podjednostek $\alpha 3$, $\beta 2$ lub $\beta 4$. Podjednostka $\alpha 7$ receptora acetylocholinowego jest zaangażowana w ochronne działanie przed uszkodzającym wpływem glutaminianu na komórki nerwowe. Podjednostki te występują w dużym zagęszczeniu w hipokampie, gdzie stwierdza się największe uszkodzenia spowodowane alkoholem etylowym. Etanol, ponadto blokuje podjednostki $\alpha 7$ w neuronach je zawierających. Agoniści podjednostki $\alpha 7$ hamują neurotoksyczność alkoholu [Penland et al., 2001].

Polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP) związanych z głównymi podjednostkami receptora nikotynowego, między innymi w podjednostce $\alpha 4$, zidentyfikowano w dwóch liniach myszy różniących się między sobą wrażliwością na alkohol etylowy. Linie myszy nazywają się Long-Sleep oraz Short-Sleep i różnią się one również wrażliwością na odmienne efekty działania nikotyny [Tritto et al., 2001].

Autorzy badań *in vivo* sugerują, że alkohol etylowy może nasilać elektrofizjologiczną odpowiedź organizmu na podanie nikotyny, w niektórych, ale nie wszystkich, obszarach mózgu. Spowodowane jest to najprawdopodobniej zmianami w rozkładzie podtypów receptora acetylocholinowego zależnego od nikotyny [Breese et al., 1993; Ribeiro-Carvalho et al., 2008]. Na podstawie tych danych można wnioskować, że alkohol etylowy jest współagonistą receptora acetylocholinowego w niektórych obszarach mózgu i jego wspólny z nikotyną, kontakt z tym receptorem powoduje znacznie większą podatność na stymulację przez te związki w działaniu łącznym. Jeśli działanie takie występuje w śródmózgowiu wówczas, mając na uwadze fakt udziału tej struktury w mechanizmach powstawania uzależnienia [Mansvelder and McGehee, 2002; Nestler, 2001], istnieje dużo większe prawdopodobieństwo powstania uzależnienia od obu tych substancji na skutek stymulacji receptora acetylocholinowego [Buisson and Bertrand, 2002; Dani and Biasi, 2001; Picciotto et al., 2008].

Jeśli efekt taki występuje u młodzieży, podobnie jak miało to miejsce w mózгах młodych myszy w badaniach prowadzonych przez Ribeiro-Carvalho i współpracowników, wówczas na skutek takiego synergistycznego działania może wystąpić znacznie szybszy

rozwój uzależnienia od tych substancji u młodych osób eksperymentujących z używkami [Ribeiro-Carvalho et al., 2008].

Efekty synergistyczne w działaniu nikotyny i alkoholu etylowego nie występują w korze mózgowej, co może być zaskakujące, biorąc pod uwagę fakt działania na te same receptory. Zastanawiając się nad przyczynami takiego zjawiska należy zauważyć, że nikotyna bierze również udział w regulacji wydzielania takich neuroprzekaźników jak dopamina, noradrenalina, serotonina czy glutaminian lub kwas γ -aminomasłowy (GABA). Alkohol etylowy, natomiast działa również w sposób wzmacniający funkcje receptorów kwasu γ -aminomasłowego oraz glicyny. Ponadto, jako współagonistą receptorów serotoninowych, a także, jako agonista funkcjonalny dla receptorów glutaminianowych [Larsson and Engel, 2004; Ribeiro-Carvalho et al., 2008].

Powyższe argumenty wskazują, że również inne mechanizmy wpływające na system neuroprzekaźników biorą udział w interakcjach alkoholu etylowego i nikotyny. Również te pozostałe subtelne zmiany w systemie neuroprzekaźników, zdają się tłumaczyć dlaczego istnieją różnice we wzajemnym działaniu etanolu i nikotyny na poszczególne struktury występujące w mózgu czy linie komórkowe. Wszystkie te zmiany w molekularnych mechanizmach działania poszczególnych neuroprzekaźników i ich roli w kształtowaniu się uzależnień wymagają jednak dalszych badań [Ribeiro-Carvalho et al., 2008].

Również wpływ nikotyny i alkoholu etylowego na aktywność acetylotransferazy cholinowej ChAT jest różny w zależności od regionu mózgu. Acetylotransferaza cholinowa jest biomarkerem związanym z synapsami cholinergicznymi. Spadek jej aktywności oznacza utratę unerwienia cholinergicznego lub spadek liczby neuronów. Niższa aktywność acetylotransferazy cholinowej u kobiet powoduje wyższą podatność na negatywne skutki działania nikotyny niż w przypadku mężczyzn. Nastoletnie dziewczęta palące wykazują szybciej objawy uzależnienia niż palący nastoletni chłopcy. W badaniach na zwierzętach wykazano, że samice były bardziej podatne na uszkodzenia komórek nerwowych spowodowanych przez nikotynę, co objawiało się spadkiem aktywności acetylotransferazy cholinowej [Abreu - Villaça et al., 2003b; Ribeiro-Carvalho et al., 2008; Trauth et al., 1999, Trauth et al., 2000a; Trauth et al., 2000b; Trauth et al., 2000c].

W inny sposób nikotyna wpływa na aktywność acetylotransferazy cholinowej u mężczyzn. Powoduje ona wzrost aktywności co może sugerować, że nikotyna wywołuje wzrost gęstości unerwienia cholinergicznego na skutek mechanizmów wyrównawczych na wywołane uszkodzenia [Abreu-Villaça et al., 2003a; Abreu-Villaça et al., 2004a; Ribeiro-Carvalho et al., 2008] lub jako skutek aktywacji nikotynowego receptora

acetylocholinowego [Coronas et al., 2000; Pugh and Margiotta, 2000; Ribeiro-Carvalho et al., 2008]. Nikotyna nie wywołuje zmian aktywności acetylotransferazy cholinowej w śródmózgowiu [Ribeiro-Carvalho et al., 2008]. Etanol natomiast powoduje znaczny wzrost gęstości unerwienia cholinergicznego w śródmózgowiu, a nie wywołuje zmian aktywności acetylotransferazy cholinowej w korze mózgowej. Długotrwałe narażenie na alkohol etylowy dawało natomiast efekt odmienny czyli znaczne zmniejszenie aktywności ChAT [Ribeiro-Carvalho et al., 2008]. Jednoczesne podanie obu ksenobiotyków nie wywołuje żadnych zmian w aktywności ChAT we wszystkich regionach mózgu. Brak zmian w aktywności ChAT sugeruje ochronne działanie alkoholu etylowego w tym zakresie. Zarówno u samic, jak i samców jednoczesne podanie alkoholu etylowego i nikotyny nie wywołuje zmian w aktywności ChAT, co może być zaskakujące biorąc pod uwagę fakt bardzo dużej aktywacji receptora acetylocholinowego zależnego od nikotyny przez łączne podanie tych ksenobiotyków. Znaczne pobudzenie nAChR zakłóca natomiast rozwój prawidłowej struktury komórek nerwowych w procesie neurogenezy [Ribeiro-Carvalho et al., 2008].

W okresie dojrzewania młodzież często sięga po napoje alkoholowe jednocześnie paląc tytoń. Mimo znaczącej liczby danych epidemiologicznych nie wiadomo dużo na temat wzajemnych powiązań tych substancji w niezmiernie ważnym dla rozwoju okresie życia, jakim jest dojrzewanie. Badania na myszach przeprowadzone przez Abreu-Villaca i współpracowników (zwierzęta będące w okresie dojrzewania, czyli 30 – 45 dzień po urodzeniu) polegały na podaniu alkoholu etylowego i nikotyny łącznie lub oddzielnie. Myszy, które otrzymywały nikotynę wykazywały polepszenie zdolności uczenia się w jeden miesiąc po ekspozycji na ten ksenobiotyk, natomiast u zwierząt przyjmujących oba ksenobiotyki nie wykazano zwiększonych zdolności uczenia się. Wyniki prezentowane przez Abreu-Villaca wskazują na szkodliwy i utrzymujący się efekt na zdolności poznawcze u młodzieży [Abreu-Villaca et al., 2007].

Również Watson i Little przeprowadzili badania na myszach poddając je długotrwałe diecie płynnej zawierającej alkohol etylowy. Obserwowano wpływ przewlekłego podawania etanolu na aktywność ruchową myszy po podaniu nikotyny. Alkaloid nie wywołał istotnych zmian w początkowym okresie, dopiero po 28 dniu podawania nikotyny stwierdzono znaczące pobudzenie aktywności ruchowej zwierząt otrzymujących alkohol w porównaniu do myszy kontrolnych. Wyniki takie wskazują na wpływ alkoholu etylowego na działanie nikotyny [Watson and Little, 1999].

W badaniach przeprowadzonych przez Ramsay i współpracowników u 26 noworodków, 15 dziewczynek i 11 chłopców oceniano poziom kortyzolu w zależności od tego czy dzieci były prenatalnie narażone na alkohol etylowy lub dym tytoniowy. Poziom kortyzolu oznaczano w odpowiedzi na sytuację stresową, jaką było szczepienie wykonane w drugim i szóstym miesiącu życia. W drugim miesiącu życia dzieci narażone prenatalnie na alkohol etylowy i dym tytoniowy wykazały niższy poziom kortyzolu o 31% niż dzieci nienarażone, w odpowiedzi na szczepienie, które wykazały 74% wzrost poziomu kortyzolu w porównaniu do wartości przed wystąpieniem sytuacji stresowej. W szóstym miesiącu życia wyższy poziom kortyzolu, po wykonaniu szczepienia zaobserwowano u dzieci narażonych prenatalnie na alkohol i dym niż u dzieci nienarażonych na oba ksenobiotyki. Wyniki wskazują, że prenatalne narażenie na wymienione ksenobiotyki wywołuje hiporeaktywność kory nadnerczy w dwa miesiące po urodzeniu, natomiast efekt ten zanika już w szóstym miesiącu życia. W związku z tym, że w badaniach Ramsay i współautorów, grupa badana była niewielka, nie było możliwe wysunięcie jednoznacznych wniosków na temat wpływu prenatalnej ekspozycji na dym tytoniowy i alkohol etylowy na funkcjonowanie kory nadnerczy w 2 i 6 miesiącu życia [Ramsay et al., 1996].

Zjawisko wzajemnego wpływu na procesy nauki i zapamiętywania można tłumaczyć wpływem na receptory nikotynowe i aktywność cholinoesterazy w odpowiednich strukturach mózgu. Dowodem na to jest zniesienie deficytów zapamiętywania i procesu przyswajania wiedzy przez podanie agonistów receptora nikotynowego lub inhibitorów cholinesterazy [Rezvani and Levin, 2002]. Niektóre z neuroprzekaźników, takich jak dopamina, serotonina czy kwas glutaminowy, biorą udział w procesach poznawczych, co wyjaśnia dlaczego funkcje te ulegają zaburzeniu w przypadku wzajemnych oddziaływań etanolu i nikotyny. Dodatkowo dopamina bierze także udział w termoregulacji organizmu, dlatego oba związki wywołują hipotermię u szczurów, w największym stopniu u zwierząt poddanych działaniu obu ksenobiotyków [Rezvani and Levin, 2002].

Wyniki z badań epidemiologicznych wykazały, że ryzyko wystąpienia choroby Parkinsona oraz choroby Alzheimer'a jest mniejsze u osób palących tytoń [Newhouse et al., 1997; Penland et al., 2001]. Takie dane epidemiologiczne mogą sugerować, że nikotyna może mieć właściwości neuroprotektcyjne w chorobach neurodegeneracyjnych. Badania *in vitro* wskazały na protekcyjne działanie nikotyny przed neurotoksycznym działaniem glutamianu i kwasu N-metylo-D-asparaginowego oraz kwasu arachidonowego w hodowlanych kulturach komórek neuronów [Garrido et al., 2000; Kaneko et al., 1997; Penland et al., 2001].

Wiele kobiet w ciąży pali tytoń i jednocześnie pije alkohol. Mało natomiast jest badań traktujących na temat łącznego wpływu tych ksenobiotyków na przebieg ciąży bądź na zachowanie matek po porodzie. W badaniach przeprowadzonych przez McMurray i współpracowników oceniano wpływ ciągłego narażenia na alkohol i nikotynę u ciężarnych szczurów na zachowania matek i poziom oksytocyny w określonych rejonach mózgu. Wykazano niewielki spadek zainteresowania potomstwem u matek prawdopodobnie spowodowany niższym poziomem oksytocyny w mózgu u zwierząt narażonych na nikotynę i alkohol etylowy [McMurray et al., 2008].

Rozwijające się komórki płodu ulegają działaniu glikokortykoidu, a dostęp tego związku do komórek umożliwia dehydrogenaza 11 β -hydroksysteroidu typu drugiego. Jest to mechanizm odpowiadający za rozwój wewnątrzmaciczny płodu. Benediktsson i współpracownicy oceniali wpływ alkoholu etylowego i nikotyny na aktywność dehydrogenazy 11 β -hydroksysteroidu typu drugiego powodując tym samym defekty rozwojowe. Badania prowadzono na zwierzęcych i ludzkich liniach komórkowych uzyskanych z łożysk. Nie zanotowano żadnych znaczących zmian w aktywności dehydrogenazy 11 β -hydroksysteroidu typu drugiego [Benediktsson et al., 1997].

Długotrwałe nadużywanie alkoholu etylowego jest znaną przyczyną uszkodzenia neuronów, w tym opuszki węchowej, co zostało wykazane w badaniach eksperymentalnych Penlanda i współpracowników. Również u alkoholików występuje zmniejszenie powonienia i zmniejszenie całkowitej masy mózgu, szczególnie w obszarach korowych. W tych samych badaniach stwierdzono, że sama nikotyna nie spowodowała znaczących zmian w mózgu, jednak wpływa na działanie neurotoksyczne alkoholu etylowego zmniejszając nieznacznie jego ilość konieczną do wywołania uszkodzenia niektórych struktur układu nerwowego [Penland et al., 2001].

W badaniach prowadzonych przez Tritto i współpracowników, sprawdzano wpływ alkoholu etylowego i nikotyny na aktywność myszy Long-Sleep i Short-Sleep podczas pomiarów prowadzonych w labiryncie. Zwierzętom podawano roztwór nikotyny w dawce 1mg/kg m.c. dootrzewnowo, natomiast alkohol etylowy był podawany w dawce 1,5 g/kg m.c. W przypadku myszy szczepu Long-Sleep podanie nikotyny powodowało obniżenie aktywności w labiryncie o 83%, natomiast u myszy Short-Sleep spadek ten wynosił 44%. Różnice te były istotne statystycznie. Ponadto u myszy szczepu skrzyżowanego linie Long-Sleep i Short-Sleep stwierdzono większy spadek aktywności u myszy, które wykazywały polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych taki, jak u myszy Long-Sleep (54%) w porównaniu z myszami posiadającymi polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych

podobny jak szczep Short-Sleep (41%). Alkohol etylowy natomiast powodował wzrost aktywności obu szczepów myszy w labiryncie. Ponadto u myszy szczepu skrzyżowanego linie Long-Sleep i Short-Sleep stwierdzono większy wzrost aktywności u myszy, które wykazywały polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych taki jak u myszy Long-Sleep w porównaniu z myszami posiadającymi RFLP podobny jak szczep Short-Sleep. Jeśli w przypadku nikotyny efekt obniżenia aktywności wykazywano w obu parametrach mierzonych przez zespół badawczy (częstotliwość zmian odgałęzień labiryntu i stawania na tylnych kończynach), to alkohol etylowy powodował wzrost aktywności mierzony, jako zmiany odgałęzień labiryntu, natomiast zmniejszał częstotliwość stawania na kończynach tylnych. W taki sam sposób, jak aktywność ruchowa rozkładały się zmiany objawiające się obniżeniem temperatury ciała myszy po podaniu nikotyny w poszczególnych grupach. Badania przeprowadzone wśród spokrewnionych osób, a także u bliźniąt sugerują, że czynniki genetyczne mogą mieć znaczący udział w rozwoju uzależnienia od alkoholu etylowego i wyrobów tytoniowych [Tritto et al., 2001].

Wyniki Tritto i współpracowników potwierdzają hipotezę udziału czynnika genetycznego w reakcjach zwierząt na oba ksenobiotyki. Jest to związane z genem odpowiedzialnym za podjednostkę $\alpha 4$ receptora nikotynowego. Znalazło to również potwierdzenie w zachowaniu myszy narodzonych ze skojarzenia poszczególnych szczepów, które, jeśli posiadały odpowiedni gen wykazywały inną reakcję na działanie zarówno nikotyny, jak i etanolu. Podobnie znaleziono korelację między wrażliwością na nikotynę a liczbą podjednostek $\alpha 4\beta 2$ receptora nikotynowego mierzoną jako liczba wiązań ^3H -nikotyny w mózgach myszy. Wiadomym jest fakt, że podjednostki $\alpha 4\beta 2$ receptora nikotynowego biorą udział w wydzielaniu kwasu γ -aminomasłowego (GABA), natomiast podjednostka $\alpha 4$ receptora nikotynowego zmienia wydzielanie dopaminy. Obydwa wymienione neurotransmitery wpływają znacząco na funkcję układu nerwowego dlatego wzajemna zależność między poziomem tych neuroprzekaźników a poziomem ekspresji genu kodującego poszczególne podjednostki receptora nikotynowego, w kształtowaniu zachowania wobec alkoholu etylowego i nikotyny z pewnością nie jest bez znaczenia [Sharples et al., 2000; Tritto et al., 2001].

Również w przypadku samego alkoholu etylowego uwidacznia się wpływ na receptor nikotynowy $\alpha 4$ w postaci różnej reakcji na ten związek, ponieważ zmienia on poziom dopaminy u zwierząt mających większą aktywność tego receptora [Tritto et al., 2001]. Ponadto spekuluje się na temat wpływu aktywności receptora nikotynowego na wielkość konsumpcji alkoholu etylowego. Wyniki nie są jednoznaczne, chociaż zwierzęta

wykazujące większą aktywność receptora prezentują większą chęć do spożywania etanolu. Podobnie w przypadku użycia nikotyny a występowaniem zwiększonej aktywności receptorów nikotynowych nie ma jednoznacznej odpowiedzi [Tritto et al., 2001].

Kolejnym potwierdzeniem udziału czynników genetycznych w zmiennej osobniczo wrażliwości na alkohol etylowy i dym tytoniowy są wyniki pracy Fiebre i Collinsa. Przeprowadzili oni doświadczenie używając również szczepów wsobnych myszy Long-Sleep i Short-Sleep, które różnią się w zakresie rozwoju tolerancji i uzależnienia od alkoholu etylowego i nikotyny. Myszy szczepu Long-Sleep są bardziej wrażliwe na działanie tych ksenobiotyków, natomiast myszy szczepu Short-Sleep wykazują dość dużą odporność na fizjologiczne efekty działania alkaloidu i etanolu. W badaniach przeprowadzono ocenę rozwoju tolerancji na alkohol etylowy podawany w formie płynnej oraz rozwój tolerancji krzyżowej na nikotynę. W wynikach potwierdzono rozwój cech tolerancji i oporności krzyżowej u myszy Long-Sleep i znacznie mniej nasilone procesy u myszy Short-Sleep. Takie rezultaty po raz kolejny potwierdzają udział czynnika genetycznego w rozwoju tolerancji i innych efektów klinicznych, co może być również związane z regulacją działania receptorów acetylocholinowych, jednak wyniki nie są w tej kwestii jednoznaczne [Fiebre and Collins, 1993].

Również w przypadku szczurów widoczny jest wpływ nikotyny na spożywanie alkoholu u zwierząt przewlekle narażonych na nikotynę, które wypijały znacząco więcej etanolu. Podanie nikotyny u szczurów pochodzących z linii bardziej lub mniej preferujących alkohol etylowy nie wywierało jednak wpływu na ilość spożywanego alkoholu, co sugeruje również wpływ czynników genetycznych [Blomqvist et al., 1996; Tritto et al., 2001].

W danych przedstawionych przez National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism wskazuje się wyraźnie na udział czynników genetycznych w występowaniu alkoholizmu u spokrewnionych ze sobą osób, co stanowi dodatkowe obciążenie oprócz czynników środowiskowych. Sugeruje się nawet wykorzystanie technik analizy materiału genetycznego w celu identyfikacji osób zagrożonych w metodach zapobiegania czy leczenia problemów alkoholowych. Aczkolwiek obecność genów predysponujących do wystąpienia alkoholizmu nie jest jednoznaczna z wystąpieniem takiego problemu. Musi zaistnieć wzajemny mechanizm genetyczno-środowiskowy. Faktem jest jednak zwiększenie prawdopodobieństwa wystąpienia takiej choroby u bliźniąt jednojajowych w porównaniu do bliźniąt dwujajowych. Również udział takich czynników genetycznych, jak geny kodujące enzymy biorące udział w przemianach metabolicznych alkoholu etylowego,

czyli dehydrogenazy alkoholowej i dehydrogenazy aldehydowej jest bezdyskusyjnym czynnikiem wpływającym na model spożywania napojów alkoholowych [NIAAA, 1998].

Ryzyko palenia oraz picia alkoholu jest uwarunkowane rodzinie, genetycznie i szczególnie uwidacznia się u osób młodych. Genetyczne czynniki ryzyka dla wystąpienia uzależnienia od alkoholu etylowego oraz tytoniu są wspólne. Wzajemnie pokrywający się wpływ czynników genetycznych powoduje, że u osób z rodzinie obciążonym wywiadem mają większe prawdopodobieństwo uzależnienia się od tych dwóch substancji łącznie. Genetyczne obciążenie wystąpieniem uzależnienia może stanowić argument w działaniach profilaktycznych wśród młodzieży, która zaczynając eksperymentowanie z używkami nie zdaje sobie sprawy z istnienia tego typu zjawisk. W badaniach przeprowadzonych przez True i współpracowników na 3356 bliźniętach urodzonych w latach 1939 – 1955 został określony wkład genetyczny predysponujący do uzależnienia od alkoholu etylowego i dymu tytoniowego u bliźnięt [True et al., 1999].

Autorzy wielu badań sugerują również wpływ czynników genetycznych na predyspozycje do uzależnienia od tych substancji, co potwierdzają prowadzone badania u bliźnięt [True et al., 1999]. Oprócz tego palacze wykazują mniejsze objawy zatrucia po spożyciu tej samej ilości alkoholu etylowego niż osoby niepalące, na wynik taki mają wpływ różnice w metabolizmie alkoholu w tych grupach. Takie zmniejszone efekty działania alkoholu są dodatkowo czynnikiem ryzyka rozwinięcia się uzależnienia od alkoholu etylowego, ponieważ trzeba użyć większych jego dawek dla osiągnięcia podobnych efektów [Dani and Harris, 2005].

Zależności między nikotyną i alkoholem etylowym występują również na poziomie molekularnym. Genetycznie wyselekcjonowane linie myszy i szczurów, wykazują odrębne zachowania na skutek działania alkoholu etylowego i nikotyny. Zwierzęta z linii bardziej wrażliwych na uspakajające działanie alkoholu etylowego wykazują zróżnicowaną odpowiedź na nikotynę, co wskazywałoby na udział czynników genetycznych w tych zachowaniach [Fiebre et al., 2002].

Również badania przeprowadzone przez Owens i współpracowników wskazują na wpływ czynników genetycznych we wzajemnym oddziaływaniu nikotyny i alkoholu etylowego [Owens et al., 2003].

W badaniach przeprowadzonych przy udziale ochotników uzależnionych od alkoholu wykonanych przez Manson i współpracowników kontrolowano poziom kwasu γ -aminomasłowego (GABA) u pacjentów palących i nie wykazano znaczących interakcji pomiędzy paleniem a poziomem GABA u alkoholików. Samo palenie natomiast

powodowało zwiększenie poziomu GABA w porównaniu do grupy kontrolnej [Mason et al., 2006].

Basta i zespół przeprowadzili eksperyment polegający na badaniu wpływu prenatalnej ekspozycji na nikotynę i alkohol etylowy w podaniu pojedynczym lub łącznym na funkcję układu immunologicznego u potomstwa. Ponieważ prenatalne narażenie na nikotynę może powodować zaburzenia rozwojowe narządów podawano zwierzętom ciężarnym nikotynę podskórną, w dawce 6 mg/kg m.c./dzień od 4 do 20 dnia ciąży. Alkohol zwierzęta otrzymywały do picia w postaci 15% roztworu między 10 a 20 dniem ciąży. W 9, 15, 22, 29, 64 i 86 dniu po urodzeniu badano proliferację limfocytów T oraz B w odpowiedzi na czynniki stymulujące: konkawalinę A i lipopolisacharydy. Ponadto mierzono wiązanie β_2 adrenoceptora splenocytów. W przypadku podania nikotyny lub łącznie nikotyny i alkoholu etylowego obserwowano zmniejszenie odpowiedzi splenocytów na pobudzenie konkawaliną A oraz lipopolisacharydem. Zanotowano podobne efekty po podaniu jedynie alkoholu etylowego w tym samym badaniu. Zmniejszenie odpowiedzi i wydzielania limfocytów utrzymywało się w dalszym okresie życia. Ponadto podanie łączne ksenobiotyków powodowało obniżenie wiązania przez receptor adrenolityczny β_2 komórek śledziony dihydroalprenololu. Wyniki tych badań wskazują, że prenatalna ekspozycja na alkohol etylowy i nikotynę powoduje obniżenie odporności immunologicznej potomstwa w późniejszym okresie jego życia. Nikotyna, podobnie jak alkohol etylowy powoduje immunosupresję u potomstwa, natomiast łączne podanie tych ksenobiotyków wywołuje nasilenie tego zjawiska [Basta et al., 2000].

Kolejny aspekt łącznego działania alkoholu etylowego i dymu tytoniowego porusza w swojej pracy Chow i zespół. Przedmiotem badań była ocena aktywacji syntazy tlenu azotu, agregacji neutrofilii, aktywacji chemoatraktantu i leukotrienów B_4 w odniesieniu do indukowanej alkoholem etylowym uszkodzeniem błony śluzowej żołądka. Zjawiska te badano w aspekcie wzmocnienia efektów wywołanych etanolem przez dym tytoniowy. W przypadku zwierząt narażonych na dym zanotowano znaczące zwiększenie zmian w błonie śluzowej żołądka po podaniu alkoholu. W błonie śluzowej występowało znaczne podwyższenie stężenia leukotrienów B_4 , mieloperoksydazy oraz syntazy tlenu azotu. Wzrost tych parametrów powoduje znaczne zwiększenie szkodliwych skutków wywołanych przez alkohol etylowy. U osób palących stwierdza się zwiększoną liczbę neutrofilii w dolnych drogach oddechowych oraz płynie pochodzącym z płukania dróg oddechowych. Również palenie może powodować nacieki neutrofilów do błony śluzowej żołądka. Po narażeniu na dym tytoniowy występuje krótkotrwały wzrost leukotrienów, który nie działa na

błonę śluzową żołądka, jeśli nie jest ona poddana jednocześnie wpływowi alkoholu. Leukotreiny B₄ mogą wywołać penetrację neutrofilów między komórki nabłonka sięgając do naczyń włosowatych, nie powodując jednak degranulacji neutrofilów ani uszkodzeń śródbłonka. Inaczej sytuacja przedstawia się w obecności czynnika, jakim jest alkohol etylowy gdzie dochodzi na skutek działania tych dwóch czynników do owrzedzenia błony śluzowej żołądka [Chow et al., 1998a].

Podobnie w innej pracy Chow i współautorów analizowany jest wpływ dymu tytoniowego w łącznym działaniu z alkoholem etylowym na błonę śluzową żołądka. Próbowano wykazać wpływ reaktywnych form tlenu oraz histaminy na zmianę procesu chorobowego. Zwierzęta – szczury szczepu Sprague-Dawley eksponowane były na dym tytoniowy i alkohol etylowy o stężeniu 70%. Sama ekspozycja na dym powodowała spadek przepływu krwi przez błonę śluzową żołądka oraz wzrost aktywność oksydazy ksantynowej w wydzielinie żołądkowej, natomiast nie wywierała wpływu na aktywność dysmutazy ponadtlenkowej. Łączne podanie alkoholu etylowego i ekspozycja na dym tytoniowy wywołało zwiększenie uszkodzeń ochronnej warstwy śluzu w żołądku, a także wzrost przepływu krwi przez błonę śluzową żołądka. Ponadto następował wzrost przepuszczalności naczyń włosowatych oraz wzrost aktywności mieloperoksydazy. Aktywacja oksydazy ksantynowej łącznie ze stymulacją receptorów histaminowych H₁ i H₂ powoduje agregację neutrofilii, a także uszkodzenia naczyń krwionośnych. Wyniki te stanowią potwierdzenie, że dym tytoniowy zwiększa ryzyko wystąpienia chorób degeneracyjnych w obrębie błony śluzowej żołądka [Chow et al., 1998b].

Rezvani i Levin w swoich badaniach oceniali jak wpływa nikotyna i etanol w podaniu łącznym lub oddzielnym na zachowania zwierząt w specjalnie do tego celu przeznaczonych labiryntach. W eksperymencie tym nikotyna była podawana w dawkach od 0 do 1,2 mg/kg m.c. na 20 minut przed rozpoczęciem badania, alkohol etylowy, natomiast w dawkach 0 i 1,5 g/kg m.c. na 30 minut przed rozpoczęciem badania. Stwierdzono, że podanie samego etanolu lub samej nikotyny nie powoduje zaburzeń w wyborze prawidłowej drogi w labiryncie, jednak podanie obu związków dawało znaczące zaburzenia w dokładności wyboru prawidłowej drogi [Rezvani and Levin, 2002].

Eke oraz współpracownicy przeprowadzili badania wpływu dymu tytoniowego oraz alkoholu etylowego na aktywność enzymów biorących udział w metabolizmie ksenobiotyków w płucach oraz wątrobie. Badania polegały na podawaniu zwierzętom 10% alkoholu etylowego w roztworze do picia przez 21 dni. Zaobserwowano wzrost peroksydacji lipidów, glutationu zredukowanego oraz nie wykazano zmian aktywności S-

transferazy glutationu w wątrobie zwierząt. W płucach natomiast nastąpił wzrost aktywności S-transferazy glutationu oraz peroksydacji lipidów. W przypadku zwierząt narażonych na dym tytoniowy przez 3 kolejne dni 5 razy dziennie w odstępach godzinnych zanotowano spadek aktywności S-transferazy glutationu oraz glutationu zredukowanego i peroksydacji lipidów w płucach. W przypadku zwierząt narażonych na łączne działanie alkoholu etylowego i dymu tytoniowego wykazano zwiększenie peroksydacji lipidów oraz zawartości zredukowanego glutationu w komórkach wątroby, natomiast spadek aktywności S-transferazy glutationu. W przypadku płuc nastąpił wzrost peroksydacji lipidów [Eke et al., 1996].

W badaniach prowadzonych przez Husain i współpracowników badano wpływ podania pojedynczego i łącznego alkoholu etylowego i nikotyny. Zwierzęta podzielono na cztery grupy, gdzie podawano sól fizjologiczną, alkohol etylowy w dawce 2g/kg m.c., nikotynę w dawce 0,1 mg/kg m.c. oraz alkohol etylowy i nikotynę łącznie. Następnie badano parametry stresu oksydacyjnego w homogenatach narządów. W łącznym podaniu nikotyny i alkoholu etylowego stwierdzono spadek zawartości formy zredukowanej glutationu (GSH), wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej w wątrobie, a obniżenie jej aktywności w nerkach. Podobnie nastąpił spadek aktywności katalazy w wątrobie, a wzrost w nerkach po łącznym podaniu nikotyny i alkoholu etylowego. Zanotowano również wzrost aktywności peroksydazy glutationu w wątrobie, a spadek w nerkach przy łącznym podaniu i znaczący wzrost peroksydacji lipidów w tych narządach [Husain et al.2001].

5. Cel pracy

Ponad 4300 składników dymu tytoniowego, związków z różnych grup chemicznych wpływa na aktywność układów enzymatycznych uczestniczących w biotransformacji ksenobiotyków. Wśród najważniejszych enzymów, na które wpływa dym tytoniowy wymienia się izoenzymy CYP1A1 i CYP1A2 oraz CYP2A6. Alkohol etylowy, również posiada zdolność aktywacji cytochromu P450. Izoenzymem zwiększającym aktywność pod wpływem alkoholu etylowego jest CYP2E1, który bierze udział w metabolizmie alkoholu etylowego oraz związków rakotwórczych, w szczególności kancerogennych N-nitrozoamin występujących w dymie tytoniowym, co ma duże znaczenie podczas jednoczesnego, przewlekłego przyjmowania obu ksenobiotyków.

Celem badań była ocena wpływu nikotyny oraz innych zawartych w dymie tytoniowym ksenobiotyków (np. wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych) na farmakokinetykę alkoholu etylowego oraz na poziom jego metabolitu – aldehydu octowego oraz acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego.

W pracy oceniono również wpływ alkoholu etylowego na biotransformację nikotyny do jej mniej uzależniających metabolitów: nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny.

Badania zależności farmakokinetycznych ksenobiotyków mają dać odpowiedź dotyczącą wzajemnego wpływu na układy enzymatyczne biorące udział w metabolizmie obu substancji.

Aby wykazać zależności metaboliczne porównywano ze sobą grupy zwierząt uzależnionych, jak i nieuzależnionych od alkoholu etylowego, samce i samice. Ze względu na to, że pomiar stężenia badanych związków w każdym punkcie czasowym pochodził od innego zwierzęcia, do obliczeń farmakokinetycznych zastosowano farmakokinetykę populacyjną. Parametrami jakie służyły do wykazania metabolicznych zależności dymu tytoniowego i alkoholu etylowego były: pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas, (AUC – Area Under the Curve), średni czas przebywania ksenobiotyku w ustroju (MRT – Mean Residence Time), stała szybkości eliminacji k i biologiczny okres półtrwania, $t_{0,5}$.

6. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Na przeprowadzenie eksperymentu otrzymano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Poznaniu - uchwała nr 02/2008 z dnia 18 stycznia 2008 r.

6.1 Zwierzęta doświadczalne

Do badań użyto dojrzałe, białe szczury szczepu Wistar, samice i samce w wieku 3 miesięcy, o średniej masie ciała 189 g w przypadku samic i 361 g w przypadku samców. Zwierzęta zakupiono z hodowli Katedry i Zakładu Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Szczury przetrzymywano w pomieszczeniach zwierzętarni Katedry i Zakładu Toksykologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, w standaryzowanych warunkach temperatury (20-22°C), wilgotności (50-60%) i oświetlenia (12/12 godz. dzień/noc). Zwierzęta umieszczono w klatkach hodowlanych o wymiarach 30 x 50 cm, ze ściółką z trocin sosnowych autoklawowanych. Wodę do picia zwierzęta otrzymywały w nieograniczonych ilościach. Woda przed podaniem zwierzętom była sterylizowana.

Zwierzęta otrzymywały paszę Labofeed – mieszankę paszową pełnowartościową dla zwierząt laboratoryjnych (myszy i szczurów). W skład materiałów paszowych wchodziły: śruty zbożowe, otręby zbożowe, produkty mleczne, śruty poekstrakcyjne, białko ziemniaczane, siemię lniane, drożdże paszowe, mieszanki mineralne i witaminowe. Pasza nie zawierała dodatków farmakologicznych. Zawartość składników pokarmowych w paszy Labofeed, deklarowaną przez producenta, przedstawiono w Tabeli IX.

Tab. IX Zawartość składników pokarmowych w paszy Labofeed

Zawartość składników pokarmowych w paszy Labofeed	
Energia metaboliczna	13,0 MJ/kg
Białko ogólne	22,0%
Lizyna	1,5%
Włókno surowe	5,0%
Popiół surowy	6,5%
Tłuszcz surowy	4,0%

6.2 Przebieg badania

6.2.1 Dobór zwierząt laboratoryjnych

Zwierzęta w liczbie 294, podzielono na sześć grup badawczych:

- Grupa A – samce niezależne od alkoholu etylowego – 63 sztuki
- Grupa B – samce uzależnione od alkoholu etylowego – 63 sztuki
- Grupa C – samice niezależne od alkoholu etylowego – 63 sztuki
- Grupa D – samice uzależnione od alkoholu etylowego – 63 sztuki
- Grupa E – samce kontrolne – 21 sztuk
- Grupa F – samice kontrolne – 21 sztuk.

W grupach – A, B, C, D wyodrębnione zostały trzy podgrupy I, II, III, liczące po 21 zwierząt:

- AI, BI, CI, DI – zwierzęta (po 21 sztuk) poddane ekspozycji na działanie dymu tytoniowego w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ powietrza przez 5 dni, po 6 godzin dziennie
- AII, BII, CII, DII – zwierzęta (po 21 sztuk), którym jednorazowo, sondą dożołądkowo podano roztwór 10% alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c.
- AIII, BIII, CIII, DIII – zwierzęta (po 21 sztuk), poddane ekspozycji na działanie dymu tytoniowego w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ powietrza przez 5 dni, po 6 godzin dziennie, po zakończeniu ekspozycji zwierzętom podano jednorazowo, sondą dożołądkowo 10% roztwór alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c.

Schemat podziału zwierząt na poszczególne grupy badawcze przedstawiono w Tabeli X.

Tab. X Schemat podziału zwierząt na poszczególne grupy badawcze

Zwierzęta	Płeć	Grupa	Podgrupa	
Szczury (n = 294)	Samce (n = 137)	Samce niezależnione od alkoholu etylowego (n = 63)	AI – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu 1500 mg CO/m ³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie (n = 21)	
			AII – zwierzęta, którym jednorazowo podano etanol w dawce 2 g/kg m.c. (n = 21)	
			AIII – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu 1500 mg CO/m ³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie, po czym podano jednorazowo etanol w dawce 2 g/kg m.c. (n = 21)	
		Samce uzależnione od alkoholu etylowego (n = 63)	BI – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu 1500 mg CO/m ³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie (n = 21)	
			BII – zwierzęta, którym jednorazowo podano etanol w dawce 2 g/kg m.c. (n = 21)	
			BIII – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu 1500 mg CO/m ³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie, po czym podano jednorazowo etanol w dawce 2 g/kg m.c. (n = 21)	
		E – Samce grupy kontrolnej (n=21)		
		Samice (n = 137)	Samice niezależnione od alkoholu etylowego (n = 63)	CI – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu 1500 mg CO/m ³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie (n = 21)
				CII – zwierzęta, którym jednorazowo podano etanol w dawce 2 g/kg m.c. (n = 21)
	CIII – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu 1500 mg CO/m ³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie, po czym podano jednorazowo etanol w dawce 2 g/kg m.c. (n = 21)			
	Samice uzależnione od alkoholu etylowego (n = 63)		DI – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu 1500 mg CO/m ³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie (n = 21)	
			DII – zwierzęta, którym jednorazowo podano etanol w dawce 2 g/kg m.c. (n = 21)	
			DIII – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu 1500 mg CO/m ³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie, po czym podano jednorazowo etanol w dawce 2 g/kg m.c. (n = 21)	
	F – Samice grupy kontrolnej (n=21)			

6.2.2 Schemat uzależnienia zwierząt od alkoholu etylowego

Proces uzależnienia zwierząt od alkoholu etylowego trwał 9 tygodni. Do eksperymentu uzależnienia zostało użytych 200 samic i 200 samców w wieku 4 tygodni, z których następnie wybrano niezbędną liczbę (63 samce – grupa B i 63 samice – grupa D) zwierząt uzależnionych od alkoholu etylowego [Mikołajczak i wsp., 2001, Mikołajczak i wsp., 2002, Mikołajczak i wsp., 2003; Okulicz-Kozaryn i wsp., 2004].

Proces uzależnienia zwierząt od alkoholu etylowego:

- Tydzień I – zwierzęta otrzymywały do picia alkohol etylowy – 10% roztwór w butelkach
- Tydzień II – zwierzęta otrzymywały do picia do wyboru wodę i alkohol etylowy
- Tydzień III – zwierzęta otrzymywały do picia do wyboru wodę i alkohol etylowy
- Tydzień IV – zwierzęta umieszczono w klatkach pojedynczo, otrzymały do wyboru wodę i alkohol etylowy. Codziennie prowadzono pomiar ilości wypijanych płynów
- Tydzień V – zwierzęta otrzymywały do picia samą wodę
- Tydzień VI – zwierzęta otrzymywały do picia samą wodę
- Tydzień VII – zwierzęta otrzymywały do picia do wyboru wodę i alkohol etylowy
- Tydzień VIII – zwierzęta otrzymywały do picia do wyboru wodę i alkohol etylowy
- Tydzień IX – zwierzęta umieszczone w klatkach pojedynczo otrzymywały do wyboru wodę i alkohol etylowy. Codziennie prowadzono pomiar ilości wypijanych płynów. Na podstawie pomiaru ilości wypijanych płynów dokonano podziału zwierząt na uzależnione od alkoholu etylowego i nieuzależnione.

Zwierzęta zostały zakwalifikowane, jako uzależnione, gdy ilość wypijanego przez nie alkoholu etylowego stanowiła:

- Samce 10 – 37% ogólnej ilości wypijanych płynów
- Samice 7 – 20% ogólnej ilości wypijanych płynów.

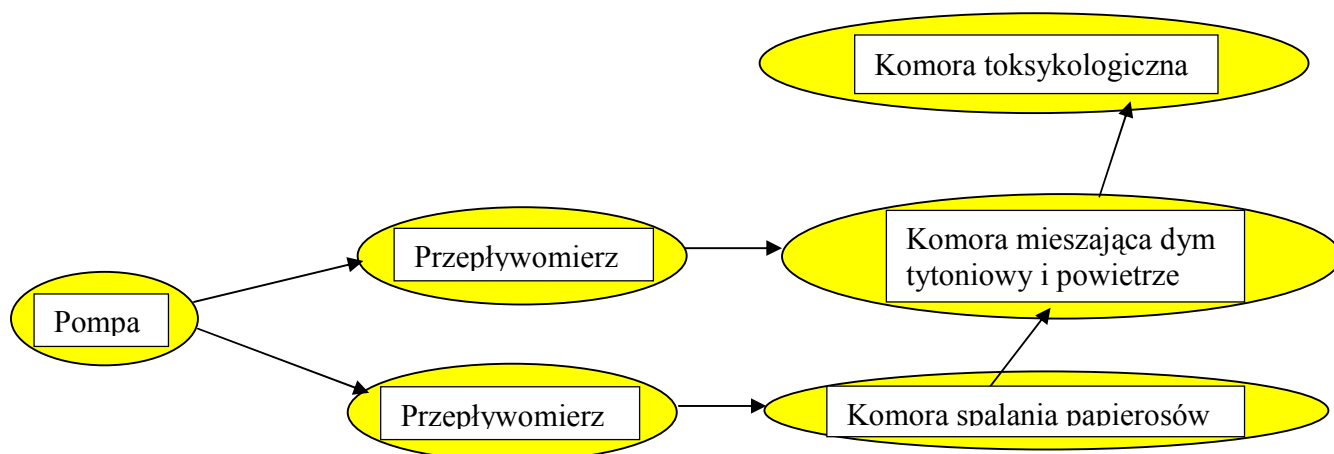
6.3 Ekspozycja zwierząt na dym tytoniowy

6.3.1 Sprzęt i materiały

- Komora toksykologiczna o pojemności 320 dm³ [Florek and Marszalek, 1999]
- Płuczka 500 cm³
- Węże łączące
- Pompa tłocząca powietrze do komory toksykologicznej
- Przepływomierze
- Aparat mierzący poziom tlenu węgla w powietrzu.

6.3.2 Komora toksykologiczna

W celu narażenia zwierząt na dym tytoniowy wykorzystano komorę toksykologiczną o pojemności 320 dm³. Schemat układu generującego dym tytoniowy przedstawiono na Rycinie 6.



Ryc. 6 Schemat układu generującego dym tytoniowy

6.3.3 Papierosy

Wyrobem, użytym do narażenia zwierząt na dym tytoniowy były papierosy „Poznańskie” bez filtra, 20 sztuk w opakowaniu, których producentem jest Imperial Tobacco Polska S.A. Zawartość wybranych składników dymu tytoniowego papierosów „Poznańskie” przedstawiono w Tabeli XI.

Tab. XI Zawartość wybranych składników dymu tytoniowego papierosów „Poznańskie”

Zawartość składników dymu tytoniowego papierosów Poznańskie bez filtra (deklarowana przez producenta) [mg]	
Substancje smoliste	10
Nikotyna	0,9
Tlenek węgla	8

6.3.4 Tok postępowania

Zwierzęta umieszczono w komorze toksykologicznej w specjalnych klatkach. Wyroby tytoniowe umieszczano w płuczce do spalania jednocześnie kontrolując zawartość tlenu węgla (CO) w powietrzu komory. Ekspozycję prowadzono przez 5 dni, 6 godzin dziennie.

6.4 Jednorazowe podanie alkoholu etylowego

6.4.1 Sprzęt i odczynniki

- Alkohol etylowy – roztwór 10% v/v przygotowany poprzez rozcieńczenie spiritusu rektyfikowanego o stężeniu 95% (105,3 ml alkoholu etylowego 95% dopełniono wodą destylowaną do objętości 1000 cm³
- Sonda.

6.4.2 Tok postępowania

Zwierzętom, po zważeniu i chwilowym unieruchomieniu, podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. sondą dożołądkowo.

6.5 Szczegółowy opis eksperymentu

6.5.1 Grupa AI, BI, CI, DI

Zwierzęta z grup AI, BI, CI, DI (po 21 szt. w każdej grupie) poddano ekspozycji na działanie dymu tytoniowego, w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ powietrza. Ekspozycja trwała przez 5 dni, po 6 godzin dziennie.

Po zakończeniu ekspozycji, w ostatnim dniu zwierzęta, po trzy sztuki (łącznie 21 szczurów), zostały poddane sekcji po 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 5, 24 godzinach od zakończenia ekspozycji. Szczury znieczulano poprzez podanie domięśniowe ketaminy z ksylazyną w dawce 200 mg ketaminy/kg m.c. + 10 mg ksylazyny/kg m.c.

W trakcie sekcji – po 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 5, 24 godzinach od zwierząt pobrano:

- Krew na skrzep, w celu oznaczenia nikotyny i jej metabolitów: kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, N-tlenku kotyniny, nikotyny
- Krew (do probówek heparynowanych), do oznaczeń alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego [Krinke, 2000].

6.5.2 Grupa AII, BII, CII, DII

Zwierzętom z grup AII, BII, CII, DII (po 21 szt. w każdej grupie) podano jednorazowo 10% roztwór alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m. c. sondą dożołądkowo. Po podaniu alkoholu etylowego zwierzęta (21 szczurów) po trzy sztuki zostały poddane sekcji po upływie 0,25;

0,5; 1; 2; 3; 5; 24 godzin od podania alkoholu etylowego. Szczury znieczulano poprzez podanie domięśniowe ketaminy z ksylazyną w dawce 200 mg ketaminy/kg m.c. + 10 mg ksylazyny/kg m.c.

W trakcie sekcji – po 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 5, 24 godzinach od zwierząt pobrano:

- Krew na skrzep, w celu oznaczenia nikotyny i jej metabolitów: kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, normikotyny, N-tlenku nikotyny, N-tlenku kotyniny, nikotyny
- Krew (do próbek heparynowanych), do oznaczeń alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego [Krinke, 2000].

6.5.3. Grupa AIII, BIII, CIII, DIII

Zwierzęta z grup AIII, BIII, CIII, DIII (po 21 szt. w każdej grupie) poddano ekspozycji na dym tytoniowy, w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ powietrza. Ekspozycja trwała przez 5 dni, po 6 godzin dziennie.

Po zakończeniu ekspozycji, w ostatnim dniu zwierzętom podano jednorazowo 10% roztwór alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m. c. sondą dożołądkowo. Po podaniu alkoholu etylowego zwierzęta (21 szczurów) po trzy sztuki zostały poddane sekcji po upływie 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 5; 24 godzin od podania. Szczury znieczulano poprzez podanie domięśniowe ketaminy z ksylazyną w dawce 200 mg ketaminy/kg m.c. + 10 mg ksylazyny/kg m.c.

W trakcie sekcji – po 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 5, 24 godzinach od zwierząt pobrano:

- Krew na skrzep, w celu oznaczenia nikotyny i jej metabolitów: kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, normikotyny, N-tlenku nikotyny, N-tlenku kotyniny, nikotyny
- Krew (do próbek heparynowanych), do oznaczeń alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego [Krinke, 2000].

6.5.4 Grupa E

Grupę E stanowiły zwierzęta kontrolne – samce – 21 sztuk.

Szczury znieczulano poprzez podanie domięśniowe ketaminy z ksylazyną w dawce 200 mg ketaminy/kg m.c. + 10 mg ksylazyny/kg m.c.

W trakcie sekcji – po 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 5, 24 godzinach od zwierząt pobrano:

- Krew na skrzep, w celu oznaczenia nikotyny i jej metabolitów: kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, normikotyny, N-tlenku nikotyny, N-tlenku kotyniny, nikotyny

- Krew (do próbek heparynowanych), do oznaczeń alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego [Krinke, 2000].

6.5.5 Grupa F

Grupę F stanowiły zwierzęta kontrolne – samice – 21 sztuk

Szczury znieczulano poprzez podanie domięśniowe ketaminy z ksylazyną w dawce 200 mg ketaminy/kg m.c. + 10 mg ksylazyny/kg m.c.

W trakcie sekcji – po 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 5, 24 godzinach od zwierząt pobrano:

- Krew na skrzep, w celu oznaczenia nikotyny i jej metabolitów: kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, N-tlenku kotyniny, nikotyny
- Krew (do próbek heparynowanych), do oznaczeń alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego [Krinke, 2000].

6.6 Oznaczanie alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego, alkoholu n-butyłowego

6.6.1 Zasada metody

Alkohol etylowy, aldehyd octowy, aceton, alkohol metylowy, alkohol n-propylowy, alkohol n-butyłowy ekstrahowano metodą mikroekstrakcji do fazy stałej. W kolejnym etapie dokonano oznaczeń badanych związków za pomocą chromatografii gazowej. Rodział analitów przeprowadzono na kolumnie kapilarnej a do detekcji użyto detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID). Zastosowano także wzorzec wewnętrzny, którym był I – rzędowy alkohol izobutyłowy.

6.6.2 Aparatura i sprzęt

- Włókna do mikroekstrakcji do fazy stałej z pokryciem – Carbowax/Diwinylobenzen (CW/DVB) o grubości warstwy pokrywającej 65 nm
- Uchwyt włókien do mikroekstrakcji – firmy SUPELCO
- Naczynia do ekstrakcji – firmy SUPELCO
- Chromatograf gazowy 610 Series firmy ATI Unicam oraz oprogramowanie do obróbki danych chromatograficznych 4880 firmy ATI Unicam. Aparat sprzężony był z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID).

6.6.3 Odczynniki i roztwory

- Alkohol etylowy – Merck KGaA
- Aldehyd octowy (CRM – certyfikowane materiały odniesienia) – Merck KGaA
- Methanol – Merck KGaA
- N-propanol – Merck KGaA
- N-butanol – Fisher Scientific Int. Company
- Aceton, Fisher Scientific Int. Company
- 2-butanol – RoH Chrom-GC – związek stosowany jako wzorzec wewnętrzny
- Woda dejonizowana.

6.7 Walidacja metody

6.7.1 Kalibracja

W oznaczeniach zastosowano metodę serii wzorców do których dodano wzorca wewnętrznego (I rzędowy alkohol izobutyłowy). Roztwór podstawowy używany do oznaczeń przygotowano rozcieńczając roztwory wyjściowe dla uzyskania odpowiednich stężeń substancji, które wymieniono poniżej:

- Alkohol etylowy – 10 g/l
- Aldehyd octowy – 1 g/l
- Aceton – 1 g/l
- Alkohol metylowy – 10 g/l
- Alkohol n-propylowy – 1 g/l
- Alkohol n-butyłowy – 1 g/l.

Wzorzec wewnętrzny przygotowano przez rozcieńczenie I rzędowego izobutanolu wodą dejonizowaną do uzyskania stężenia 0,2 g/l. Wodne roztwory kalibracyjne sporządzono przez rozcieńczenie roztworu podstawowego. Wartości stężeń roztworów kalibracyjnych dla poszczególnych substancji mieściły się w zakresach:

- Alkohol etylowy 0-500 mg/l
- Aldehyd octowy 0-40 mg/l
- Aceton 0-40 mg/l
- Alkohol metylowy 0-500 mg/l
- Alkohol n-propylowy 0-40 mg/l
- Alkohol n-butyłowy 0-40 mg/l.

6.7.2 Granice wykrywalności (LOD) i oznaczalności (LOQ)

Za granicę wykrywalności (LOD) uznano wartość stosunku sygnału do szumu $S/N = 3$. Zakres liniowości metody oraz wartości LOD i LOQ dla poszczególnych substancji oraz przykładowy chromatogram dla alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego, alkoholu n-butyłowego przedstawiono w Tabeli XII.

Tab. XII Zakres liniowości oraz granice wykrywalności i oznaczalności oraz przykładowy chromatogram dla aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego oznaczanych metodą chromatografii gazowej

Parametr	Alkohol etylowy	Aldehyd octowy	Aceton	Alkohol metylowy	Alkohol n-propylowy	Alkohol n-butyłowy
Liniowość [mg/l]	0 do 500	0 do 40	0 do 40	0 do 500	0-40	0,40
Granica oznaczalności (LOQ) [mg/l]	5	1	1	5	1	1
Granica wykrywalności (LOD) [mg/l]	2	0,5	0,5	2	0,5	0,5
Przykładowy chromatogram dla alkoholu etylowego (4), aldehydu octowego (1), acetonu (2), alkoholu metylowego (3), alkoholu n-propylowego (5), alkoholu n-butyłowego (7)						

Wykreślono krzywe kalibracyjne w postaci stosunku pola powierzchni piku chromatograficznego analitu do pola powierzchni piku chromatograficznego wzorca wewnętrznego. Równania krzywych kalibracyjnych opisane były równaniami $y = ax + b$. Współczynniki korelacji dla wszystkich krzywych kalibracyjnych wynosiły powyżej 0,999.

6.7.3 Powtarzalność

Powtarzalność walidowanej metody zbadano dla dla dwóch stężeń:

- Alkoholu etylowego
- Aldehydu octowego
- Acetonu
- Alkoholu metylowego
- Alkoholu n-propylowego
- Alkoholu n-butyłowego.

Substancje analizowano kolejno w dziesięcioelementowych seriach. Badano próbki krwi z dodatkiem wzorców w kolejnych dniach.

Stężenia, zadane, oznaczone i współczynniki zmienności dla alkoholu etylowego aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego oznaczanych metodą chromatografii gazowej zestawiono w Tabeli XIII.

Tab. XIII Stężenia, zadane, oznaczone i współczynniki zmienności dla aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego oznaczanych metodą chromatografii gazowej

Badana substancja	Stężenie zadane [mg/l]	Średnie stężenie oznaczone [mg/l]	CV [%]
Alkohol etylowy	50	51,24	5,18
	200	209,11	4,34
Aldehyd octowy	5	4,94	11,64
	20	23,70	11,68
Aceton	5	5,39	9,72
	20	21,52	10,70
Alkohol metylowy	50	52,33	8,21
	200	211,28	7,46
Alkohol n-propylowy	5	48,82	5,74
	20	215,04	6,05
Alkohol n-butyłowy	5	4,81	11,73
	20	5,47	10,6

6.7.4 Dokładność

Dokładność badanej metody wyznaczono używając próbki materiału zawierającego:

- Alkohol etylowy
- Aldehyd octowy
- Aceton
- Alkohol metylowy
- Alkohol n-propylowy
- Alkohol n-butyłowy.

Każdy z roztworów wykorzystanych do określenia dokładności metody przygotowany został w dwóch stężeniach. Z wszystkich roztworów przygotowano 5 próbek. Wartości stężeń zadanych, oznaczonych, współczynniki zmienności i odzysk dla aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego oznaczanych metodą chromatografii gazowej przedstawiono w Tabeli XIV.

Tab. XIV Wartości stężeń zadanych, oznaczonych, współczynniki zmienności i odzysk dla aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego oznaczanych metodą chromatografii gazowej

	Stężenie zadane [mg/l]	Średnie stężenie oznaczone [mg/l]	CV [%]	Odzysk [%]
Alkohol etylowy	25	22,28	4,95	92,90
	100	104,48	4,01	99,83
Aldehyd octowy	2,5	2,33	11,52	93,28
	10	9,86	10,72	98,64
Aceton	2,5	2,55	12,01	102,00
	10	10,48	9,82	104,86
Alkohol metylowy	25	23,39	5,18	93,57
	100	105,57	4,03	105,57
Alkohol n-propylowy	5	4,67	8,87	93,40
	20	19,81	7,34	99,05
Alkohol n-butyłowy	5	4,81	---	---
	100	101,35	9,91	101,35

6.8 Tok postępowania

6.8.1 Mikroekstrakcja do fazy stałej

Proces mikroekstrakcji do fazy stałej prowadzono na włóknach firmy SUPELCO pokrytych karbowaksem i diwinylobenzenem. Włókna przyłączone były do pręcika ze stali nierdzewnej, a całość chowana była w stalowej igle. Do wysuwania włókna z igły oraz jego chowania służył plastikowy korpus z tłoczkiem. Próbkę przed ekstrakcją ogrzewano przez 5 minut w temperaturze 60°C. Proces ekstrakcji prowadzony był w naczyniach o pojemności 4,0 ml, do których wprowadzano próbkę. Naczynia zamykane były zakrętką z silikonową septą pokrytą teflonem. Następnie igłą stalową przekuwano silikonowe zamknięcie i do

wnętrza naczynia wysuwano włókno, które pozostawało nad badaną próbką przez 20 minut. Po tym czasie włókno wsuwano do igły, igłę wyciągano z naczynka i wprowadzano do dozownika chromatografu w temperaturze 200 °C i wysuwano z niej włókno (desorpcja).

6.8.2 Warunki pracy chromatografu gazowego

Do rozdziału substancji zastosowano kolumnę do chromatografii gazowej DB-WAX 30 m, ID 0,25 mm, film 5 nm firmy J&W Scientific.

W czasie pracy temperatury termostatów wynosiły odpowiednio:

- Temperatura kolumny: 35°C
- Temperatura dozownika: 200°C
- Temperatura detektora: 250°C.

Rozdział chromatograficzny prowadzono w programie temperaturowym:

- Temperatura pieca kolumny: 35°C utrzymywana była przez 3 minuty. Po tym czasie następował jej wzrost do 70°C z prędkością 5°C/min, po czym następował wzrost do 150°C z prędkością 15°C/min. Temperatura 150°C utrzymywana była przez 1 min.

W trakcie pracy chromatografu stosowano następujące ciśnienia gazów:

- Gaz nośny (hel) - 2 bary
- Powietrze - 10 psi
- Wodór - 10 psi.

6.9 Oznaczanie nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny

6.9.1 Zasada metody

Nikotynę, nornikotynę, N-tlenek nikotyny, kotyninę, trans-3'-hydroksykotyninę, N-tlenek kotyniny w surowicy oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas z użyciem deuterowanej formy kotyniny jako wzorca wewnętrznego, po uprzedniej ekstrakcji z wykorzystaniem techniki ciecz-ciecz.

6.9.2 Aparatura i sprzęt

- Wysokosprawny chromatograf cieczowy Agilent 1200
- Detektor masowy Agilent 6410 Tripple Quad.

6.9.3 Odczynniki i roztwory

- Octan amonu cz.d.a. – POCh Gliwice
- Metanol do HPLC – Sigma Aldrich
- Woda do HPLC – Sigma Aldrich
- Dichlorometan do HPLC – Sigma Aldrich
- N-propanol do HPLC – Sigma Aldrich
- Wodortlenek sodowy cz.d.a. – Sigma Aldrich
- Kwas chlorowodorowy cz.d.a. – Sigma Aldrich
- D₃-kotynina – Sigma Aldrich
- Nikotyina – Toronto Research Chemicals
- Nornikotyina – Toronto Research Chemicals
- N-tlenek nikotyny – Toronto Research Chemicals
- Kotynina – Toronto Research Chemicals
- Trans-3'-hydroksykotynina – Toronto Research Chemicals
- N-tlenek kotyniny – Toronto Research Chemicals.

6.10 Walidacja metody

Przed rozpoczęciem badań dokonano walidacji metody wyznaczając granice wykrywalności, granicę oznaczalności, liniowość i powtarzalność w ciągu dnia i pomiędzy dniami.

6.10.1. Granica wykrywalności (LOD) i oznaczalności (LOQ)

Granice wykrywalności i oznaczalności wyznaczono dla różnych stężeń kotyniny w surowicy. Za granicę wykrywalności (LOD) przyjęto wartość stosunku sygnału do szumu $S/N = 3$.

Dla nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny wartości LOD i LOQ przedstawiono w Tabeli XV.

Tab. XV Granica wykrywalności i oznaczalności nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny.

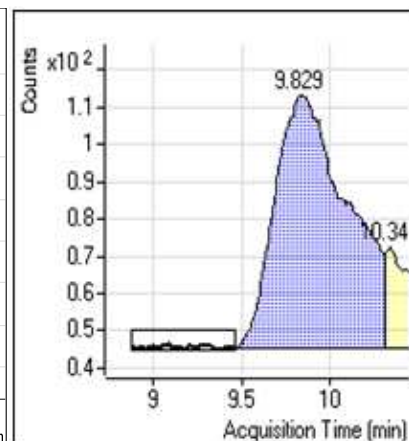
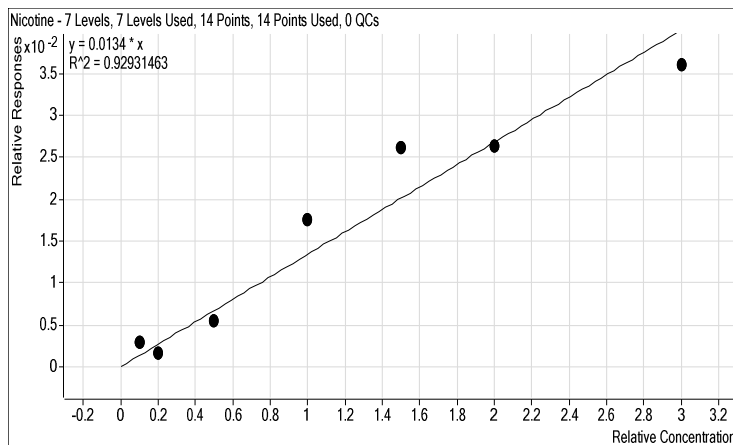
	Nikotyna	Nornikoty na	N-tlenek nikotyny	Kotynina	Trans-3'- hydroksyk otynina	N-tlenek kotyniny
Granica wykrywalności (LOD) [ng/ml]	2,29	0,93	1,35	0,76	1,24	0,08
Granica oznaczalności (LOQ) [ng/ml]	6,86	3,48	4,06	2,29	3,72	0,25

6.10.2 Liniowość metody

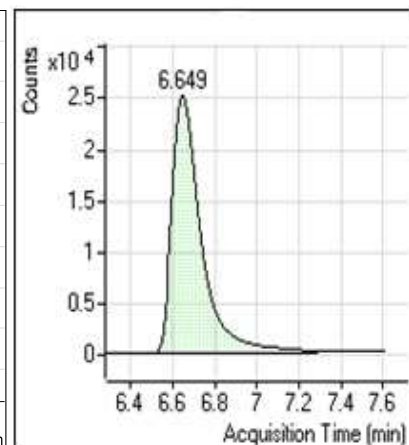
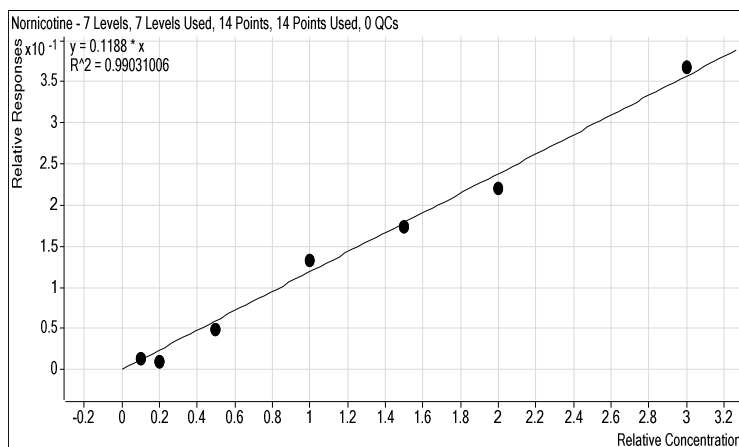
Zakres liniowości metody oznaczono z zastosowaniem serii wzorców z dodatkiem wzorca wewnętrznego (D₃-kotyliny). Wzorzec wewnętrzny przygotowano przez rozcieńczenie D₃-kotyliny metanolem do uzyskania stężenia 2 µg/ml. Roztwory kalibracyjne sporządzono przez dodanie do surowicy odpowiedniej ilości substancji wzorcowych. Wartości stężeń roztworów kalibracyjnych wynosiły: 5 ng/ml, 10 ng/ml, 20 ng/ml, 50 ng/ml, 100 ng/ml, 200 ng/ml, 300 ng/ml.

Krzywą kalibracyjną, przedstawiającą zależność stosunku pola powierzchni piku chromatograficznego analitu do pola powierzchni wzorca wewnętrznego od stężenia nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyliny, N-tlenku kotyniny, opisano równaniem liniowym $y = ax$.

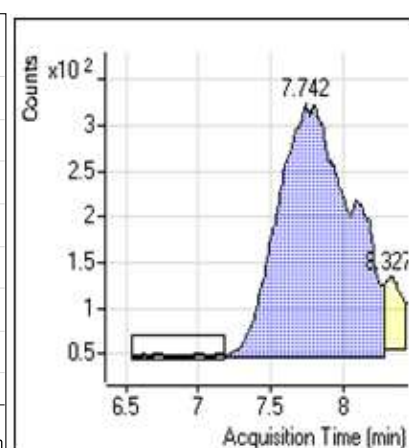
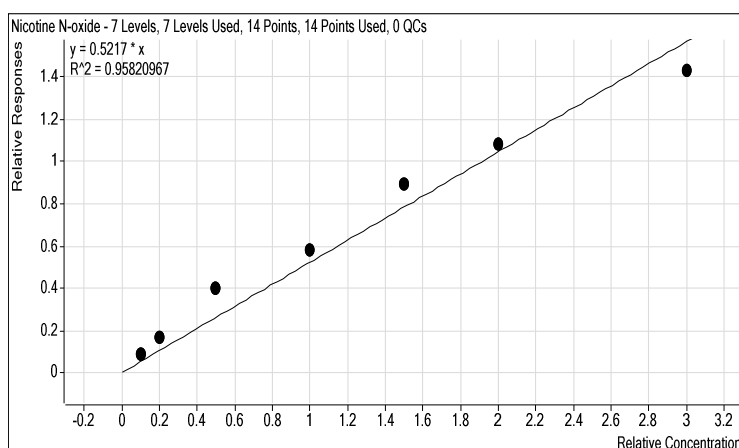
Krzywe kalibracyjne oraz przykładowe chromatogramy dla nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyliny, N-tlenku kotyniny przedstawiono na Rycinach 7-12.



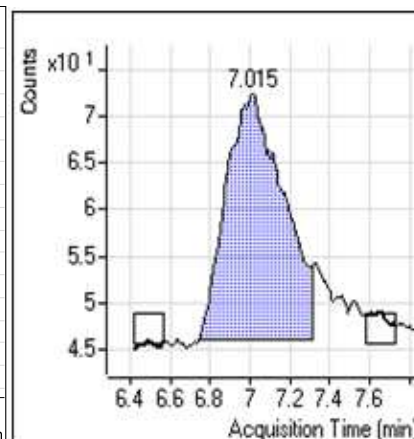
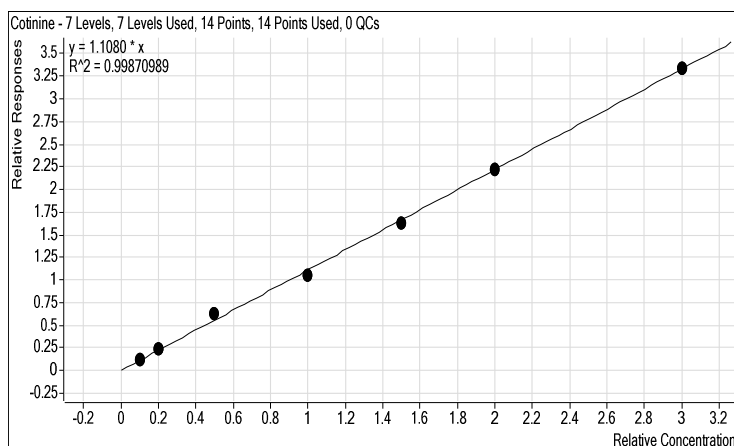
Ryc. 7 Krzywa kalibracyjna oraz przykładowy chromatogram dla nikotyny



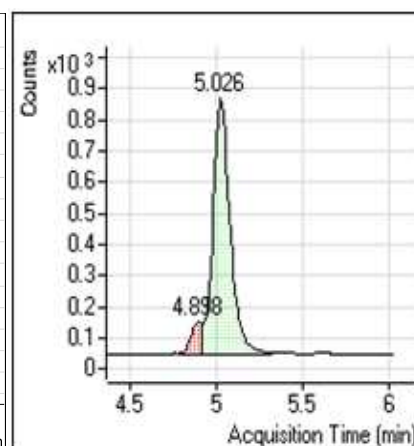
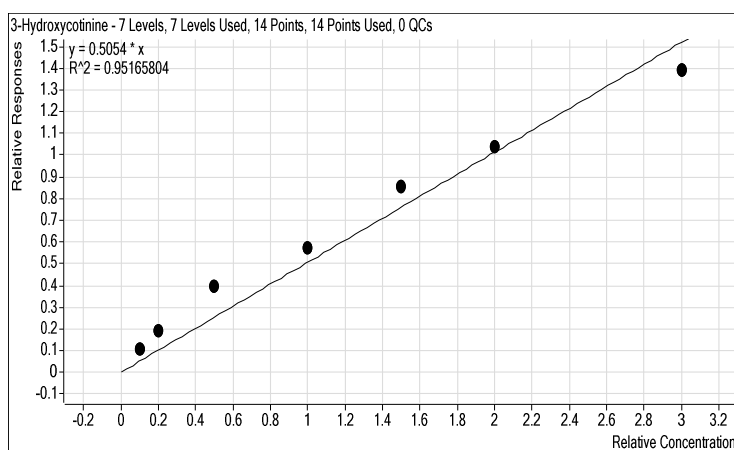
Ryc. 8 Krzywa kalibracyjna oraz przykładowy chromatogram dla normikotyny



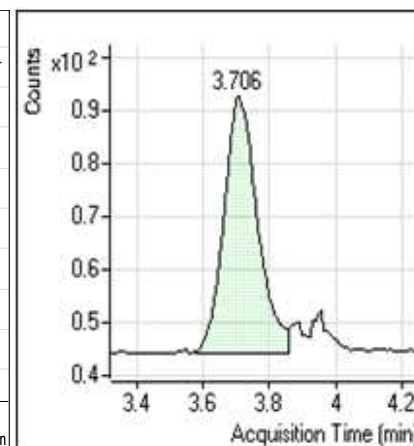
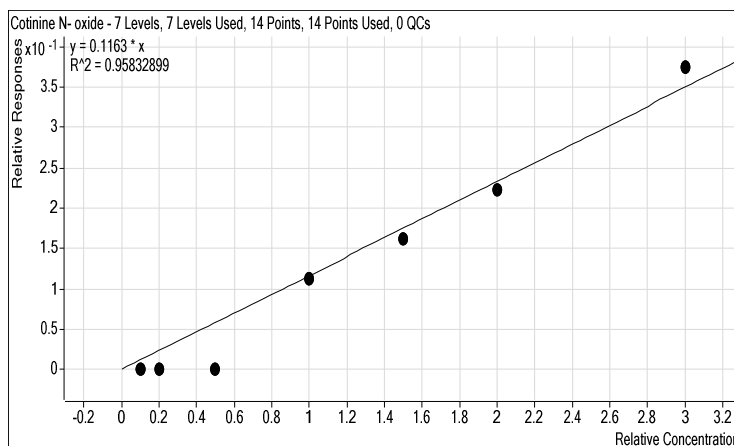
Ryc. 9 Krzywa kalibracyjna oraz przykładowy chromatogram dla N-tlenku nikotyny



Ryc. 10 Krzywa kalibracyjna oraz przykładowy chromatogram dla kotynyiny



Ryc. 11 Krzywa kalibracyjna oraz przykładowy chromatogram dla trans-3'-hydroksykotynyiny



Ryc. 12 Krzywa kalibracyjna oraz przykładowy chromatogram dla N-tlenku kotynyiny

6.10.3 Powtarzalność metody

Powtarzalność metody badano dla dwóch stężeń nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny analizując każdą substancję w dziesięcio elementowej serii. Badano próby surowicy z dodatkiem wzorca w danym dniu i w różnych dniach.

Uzyskane wyniki zestawiono w Tabelach XVI i XVII.

Tab. XVI Powtarzalność oznaczania kotyniny w surowicy w danym dniu

Parametr	Stężenie zadane [ng/ml]	Średnie stężenie oznaczone [ng/ml]	CV [%]
Nikotyna	10	14,53	6,39
	300	365,12	12,50
Nornikotyna	10	14,39	9,73
	300	238,52	11,04
N-tlenek nikotyny	10	15,26	8,87
	300	261,30	5,00
Kotynina	10	10,24	7,44
	300	285,86	0,32
Trans-3'- hydroksykotynina	10	13,13	4,78
	300	179,01	2,72
N-tlenek kotyniny	10	0,16	53,44
	300	496,87	3,53

Tab. XVII Powtarzalność oznaczania kotyniny w surowicy pomiędzy dniami

Parametr	Stężenie zadane [ng/ml]	Średnie stężenie oznaczone [ng/ml]	CV [%]
Nikotyna	10	8,61	18,66
	300	215,30	23,99
Nornikotyna	10	18,72	14,97
	300	352,61	20,35
N-tlenek nikotyny	10	13,15	6,07
	300	209,91	8,48
Kotynina	10	8,01	4,87
	300	214,95	3,73
Trans-3'- hydroksykotynina	10	19,55	5,79
	300	361,44	3,55
N-tlenek kotyniny	10	0,16	49,96
	300	603,79	12,52

6.11 Tok postępowania

Przygotowanie próbki – ekstrakcja nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny z surowicy techniką ciecz – ciecz.

6.11.1 Aparatura i sprzęt

Do przygotowania próbek surowicy użyto następującej aparatury i sprzętu:

- Blok grzewczy TB-951U JWElectronic
- Wirówka MPW 220 (Mechanika Precyzyjna)
- Wytrząsarka Vortex TH-3S (Techno Certel).

6.11.2 Tok ekstrakcji

Ekstrakcję prowadzono w 15 ml probówkach typu Falcon:

- 1 ml surowicy doprowadzono do pH=8 przy użyciu 0,1 mol/l roztworu wodorotlenku sodowego
- Dodano 100 µl roztworu D₃-kotyniny
- Dodano 5 ml mieszaniny dichlorometan-n-propanol w stosunku 9:1
- Probówkę wytrząsano przez 15 minut
- Próby wirowano przez 15 minut przy 5000 obr/min.
- Pobrano 4 ml warstwy dichlorometan:n-propanol i przeniesiono do szklanych fiolek o pojemności 7 ml
- Ekstrakt odparowano w strumieniu sprężonego powietrza w temperaturze 40°C
- Suchą pozostałość rozpuszczona została w 150 µl fazy ruchomej.

6.11.3 Analiza metodą HPLC

- Chromatograf ciekłowy HPLC Agilent 1200 RR
- Detektor masowy Agilen 6410 Triple Quad
- Kolumna do HPLC RP-Select B, 105 mm x 4,6 mm, 5 µm (Merck)
- Faza ruchoma:
 - Roztwór A – 10 mmol/l octan amonu – pH=5,5
 - Roztwór B – metanol.

6.11.4 Warunki pracy chromatografu HPLC

- Do rozdziału substancji zastosowano kolumnę i prekolumnę do HPLC RP-Select B, 105 mm x 4,6 mm, 5 µm firmy Merck
- W czasie pracy chromatografu przepływ fazy ruchomej był stały i wynosił 1 ml/min.
- Rozdział chromatograficzny prowadzono w warunkach gradientowych.

Przebieg gradientu przedstawiono w Tabeli XVIII.

Tab. XVIII Przebieg gradientu fazy ruchomej podczas analizy nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny

Czas [min.]	% roztworu B
0	5
14	100
17	5
20	5

- Objętość nastrzyku wynosiła 25 µl, przed każdym nastrzykiem igła była przemywana fazą ruchomą, szybkość pobierania próbki i nastrzyku wynosiła 200 µl/min.
- W trakcie pracy ustawione były następujące parametry detektora:
 - Typ skanowania – dynamic MRM
 - Typ jonizacji – elektrorozpylanie
 - Temperaturę gazu – 350°C
 - Przepływ gazu – 12 l/min
 - Ciśnienie nebulizera – 50 psi
 - Napięcie kapilary – 4kV.

Jony oraz jony potomne dla poszczególnych substancji przedstawiono w Tabeli XIX.

Tab. XIX Jony oraz jony potomne dla nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny

Nazwa analizowanej substancji	Jon monitorowany	Jon potomny	Napięcie fragmentacji [V]	CE [V]	Polaryzacja
Nikotyna	163,1	130,1	95	21	+
Nikotyna	163,1	80,1	95	25	+
Nornikotyna	149,1	132,1	80	9	+
Nornikotyna	149,1	80	80	25	+
N-tlenek nikotyny	179,1	96	80	21	+
N-tlenek nikotyny	179,1	84,1	80	17	+
Kotynina	177,1	98	110	21	+
Kotynina	177,1	80	110	25	+
Trans-3'-hydroksykotynina	193,1	134	110	17	+
Trans-3'-hydroksykotynina	193,1	80,1	110	33	+
N-tlenek kotyniny	193,1	98,1	125	25	+
N-tlenek kotyniny	193,1	96	125	21	+
N-tlenek kotyniny	193,1	79	125	41	+
D3- kotynina	180,1	101,1	110	21	+
D3- kotynina	180,1	80	110	29	+

Na chromatografii uzyskano następujące czasy retencji oznaczanych substancji:

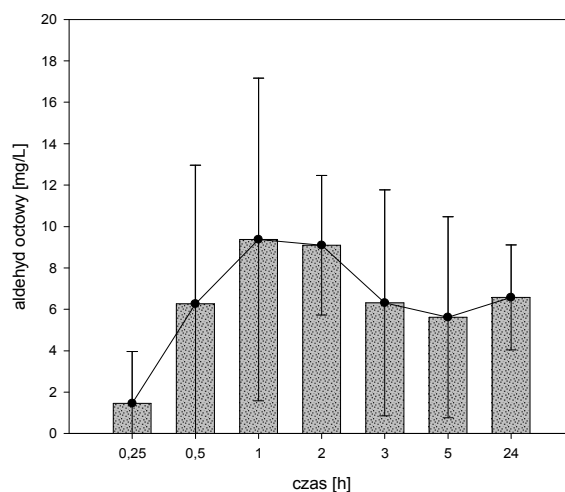
- Nikotyna – 9,8 min.
- Nornikotyna – 6,6 min.
- N-tlenek nikotyny – 7,7 min.
- Kotynina – 7,0 min.
- Trans-3'-hydroksykotynina – 5,0 min.
- N-tlenek kotyniny – 3,7 min.
- D₃-kotynina – 7,0 min.

7. WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Od wszystkich zwierząt poszczególnych grup badawczych, grupy A – F – samce niezależnione i uzależnione od alkoholu, samice niezależnione i uzależnione alkoholu, samce i samice z grupy kontrolnej, pobierano krew do próbek z dodatkiem heparyny w ilości 2 ml do oznaczeń alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, n-propylowego i n-butyłowego. Alkohol etylowy, aldehyd octowy, aceton, alkohol metylowy, n-propylowy, n-butyłowy oznaczono metodą chromatografii gazowej po uprzednim przeprowadzeniu procesu mikroekstrakcji do fazy stałej (MSPE). Rozdział badanych substancji przeprowadzono na kolumnie kapilarnej (Carbowax/DVB), a do detekcji wykorzystano detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID). Wzorcem wewnętrznym był I – rzędowy alkohol izobutyłowy.

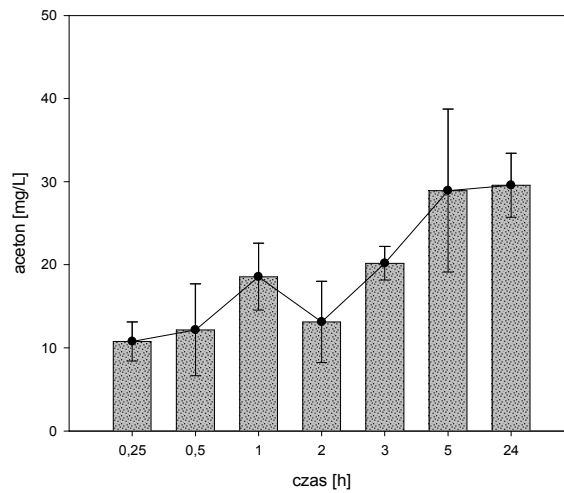
7.1 Wyniki oznaczeń - aldehyd octowy, aceton, alkohol etylowy, metanol, n-propanol, n-butanol – samice niezależnione od alkoholu etylowego

Stężenia alkoholu etylowego we krwi samic niezależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³, przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło 0 g/l w każdym przedziale czasowym, podobnie jak metanolu, n-propanolu oraz n-butanolu. Stężenie aldehydu octowego wahało się w zakresie 1,45 – 9,37 mg/l. Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu we krwi samic niezależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³, przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 13.



Ryc. 13 Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu – samice niezależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku acetonu, wykazano maksymalne stężenie po 24 godzinach od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 29,57 mg/l. Stężenie acetonu w zależności od czasu we krwi samic niezależnione od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 14.



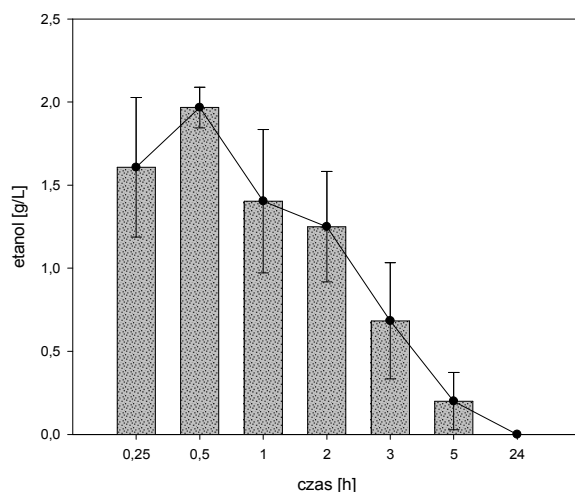
Ryc. 14 Stężenie acetonu w zależności od czasu – samice niezależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenia aldehydu octowego i acetonu we krwi samic niezależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XX.

Tab. XX Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, metanolu, n-propanolu, n-butanolu we krwi – samice niezależne od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

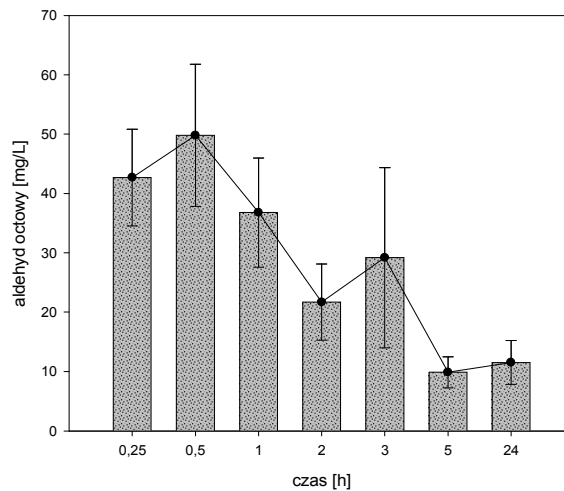
Czas [h]		Stężenie aldehydu octowego [mg/l]	Stężenie acetonu [mg/l]
0,25	Średnia	1,45	10,77
	±SD	2,51	2,37
0,5	Średnia	6,26	12,16
	±SD	6,70	5,52
1	Średnia	9,37	18,55
	±SD	7,80	4,03
2	Średnia	9,09	13,12
	±SD	3,37	4,89
3	Średnia	6,31	20,18
	±SD	5,46	2,03
5	Średnia	5,61	28,93
	±SD	4,86	9,80
24	Średnia	6,57	29,57
	±SD	2,54	3,85

Stężenia alkoholu etylowego we krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. wynosiło maksymalnie 1,97 g/l w 30 minucie od podania. Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu we krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 15.



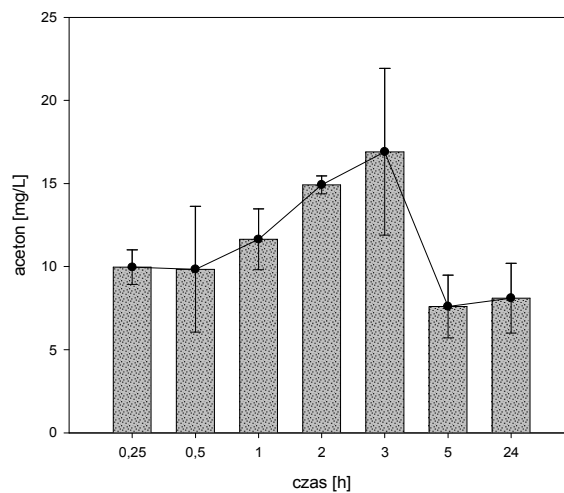
Ryc. 15 Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Stężenia aldehydu octowego wynosiło maksymalnie 42,70 mg/l w grupie poddanej sekcji po 15 minutach od podania alkoholu etylowego. Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu we krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 16.



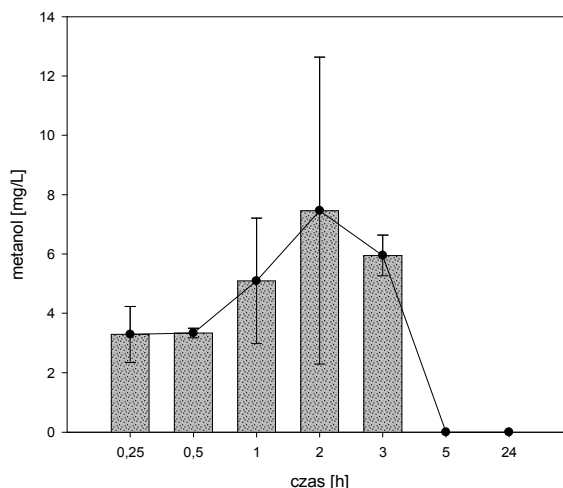
Ryc. 16 Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu – samice niezależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Stężenie acetonu natomiast wykazywało maksymalne wartości w trzeciej godzinie od podania alkoholu etylowego i wynosiło 16,91 mg/l. Stężenie acetonu w zależności od czasu we krwi samic niezależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 17.



Ryc. 17 Stężenie acetonu w zależności od czasu – samice niezależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

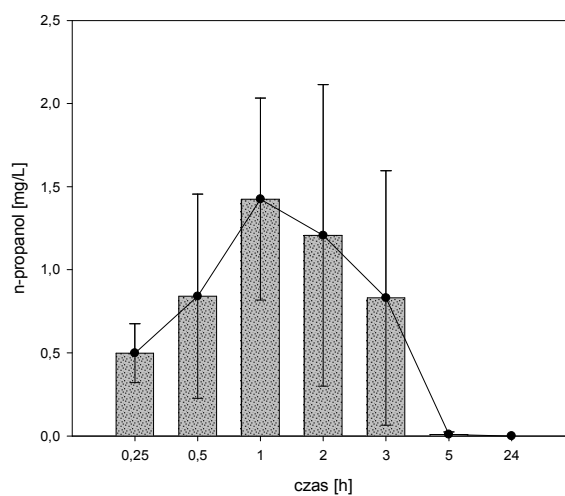
Również w przypadku metanolu stężenie maksymalne wynoszące 5,95 mg/l występowało w trzeciej godzinie od podania alkoholu etylowego. Stężenie metanolu w zależności od czasu we krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 18.



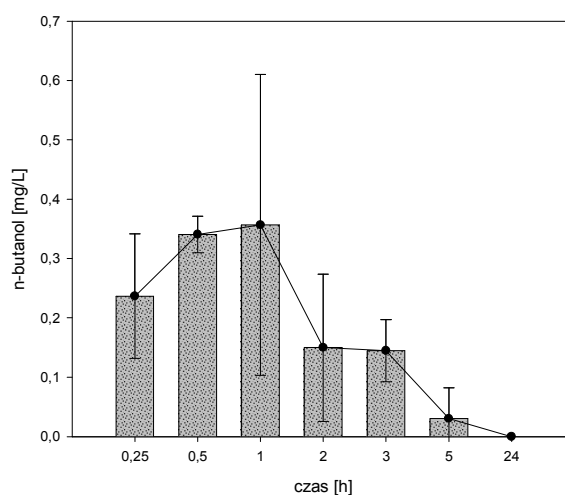
Ryc. 18 Stężenie metanolu w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Alkohol n-propylowy i alkohol n-butyłowy wykazywały maksymalne stężenia wynoszące 1,42 mg/l dla n-propanolu i 0,36 mg/l dla n-butanolu w grupie zwierząt poddanych sekcji po jednej godzinie od podania alkoholu etylowego.

Stężenia alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego w zależności od czasu, we krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinach 19-20.



Ryc. 19 Stężenie n-propanolu w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.



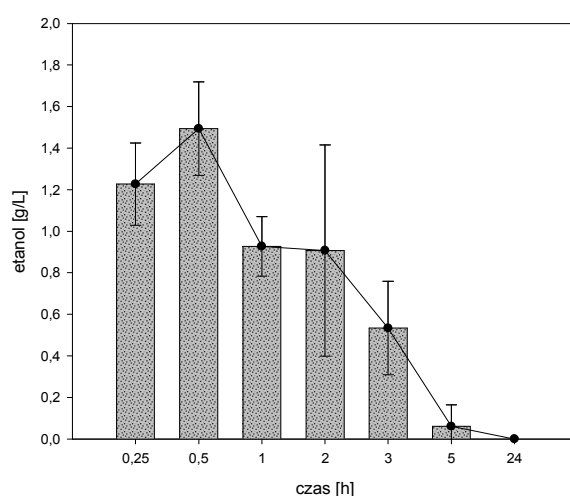
Ryc. 20 Stężenie n-butanolu w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego we krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono w Tabeli XXI.

Tab. XXI Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, metanolu, n-propanolu, n-butanolu we krwi – samice niezależnie od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

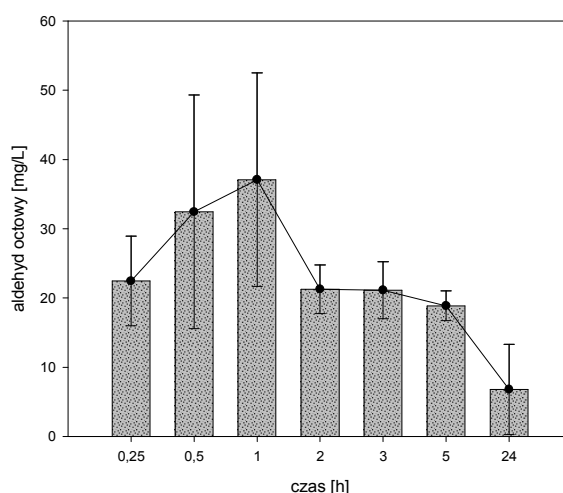
Czas [h]		Stężenie alkoholu etylowego [g/l]	Stężenie aldehydu octowego [mg/l]	Stężenie acetonu [mg/l]	Stężenie metanolu [mg/l]	Stężenie n-propanolu [mg/l]	Stężenie n-butanolu [mg/l]
0,25	Średnia	1,61	42,70	9,96	3,29	0,50	0,24
	±SD	0,42	8,14	1,03	0,94	0,18	0,10
0,5	Średnia	1,97	49,78	9,83	3,34	0,84	0,34
	±SD	0,12	11,98	3,78	0,17	0,61	0,03
1	Średnia	1,40	36,79	11,64	5,09	1,42	0,36
	±SD	0,43	9,19	1,82	2,11	0,61	0,25
2	Średnia	1,25	21,71	14,92	7,46	1,21	0,15
	±SD	0,33	6,40	0,53	5,17	0,91	0,12
3	Średnia	0,68	29,18	16,91	5,95	0,83	0,14
	±SD	0,35	15,18	5,02	0,69	0,77	0,05
5	Średnia	0,20	9,87	7,60	0,00	0,01	0,03
	±SD	0,17	2,59	1,88	0,00	0,02	0,05
24	Średnia	0,00	11,53	8,10	0,00	0,00	0,00
	±SD	0,00	3,72	2,10	0,00	0,00	0,00

Stężenia alkoholu etylowego we krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło maksymalnie 1,49 g/l w czasie 30 minut od podania alkoholu etylowego. Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu we krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 21.



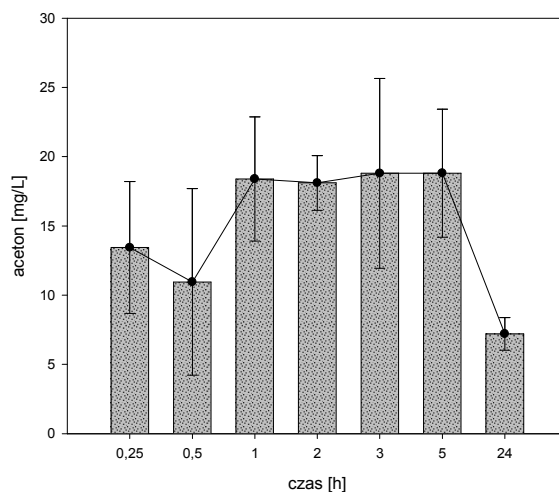
Ryc. 21 Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Maksymalna wartość stężenia aldehydu octowego wynosiła 37,08 mg/l występowała w pierwszej godzinie po podaniu alkoholu etylowego i zakończeniu ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu we krwi samic nieuzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 22.



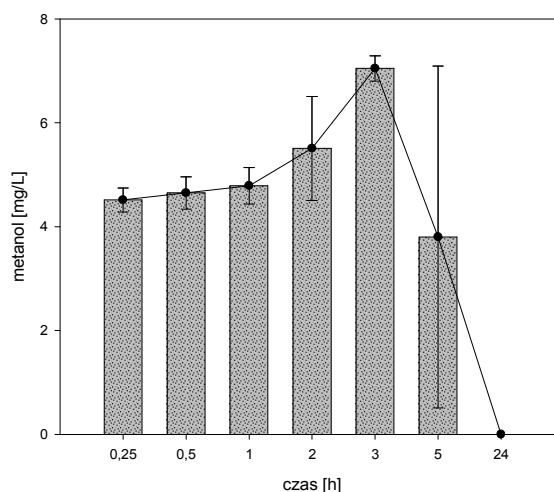
Ryc. 22 Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu – samice nieuzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie acetonu wykazywało maksymalne wartości w przedziale od pierwszej do piątej godziny od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy wynoszące odpowiednio 18,39; 18,09; 18,79; 18,80 mg/l. Stężenie acetonu w zależności od czasu we krwi samic nieuzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 23.



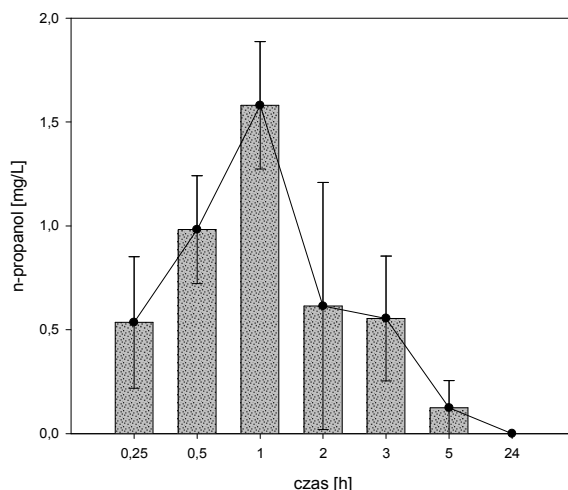
Ryc. 23 Stężenie acetonu w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Dla metanolu stężenie maksymalne wynoszące 7,04 mg/l występowało w trzeciej godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie metanolu w zależności od czasu we krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 24.

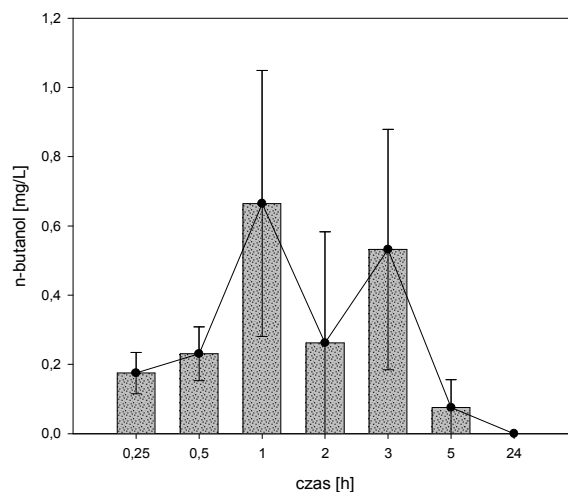


Ryc. 24 Stężenie metanolu w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Alkohol n-propylowy i n-butyłowy występowały w stężeniach maksymalnych odpowiednio 1,58 mg/l oraz 0,66 mg/l w pierwszej godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Maksymalne stężenia występowały w pierwszej godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wynosiły odpowiednio 1,58 mg/l dla n-propanolu i 0,66 mg/l dla n-butanolu. Stężenia alkoholu n-propylowego i n-butyłowego w zależności od czasu, we krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinach 25-26.



Ryc. 25 Stężenie n-propanolu w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie



Ryc. 26 Stężenie n-butanolu w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

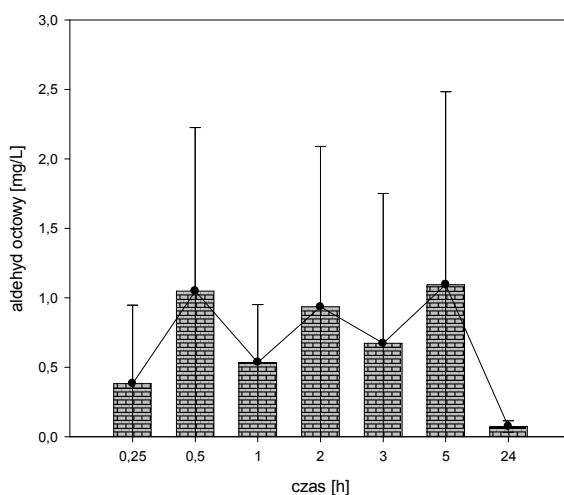
Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, n-propylowego i n-butylowego we krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXII.

Tab. XXII Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, metanolu, n-propanolu, n-butanolu we krwi – samice niezależnie od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Czas [h]		Stężenie alkoholu etylowego [g/l]	Stężenie aldehydu octowego [mg/l]	Stężenie acetonu [mg/l]	Stężenie metanolu [mg/l]	Stężenie n-propanolu [mg/l]	Stężenie n-butanolu [mg/l]
0,25	Średnia	1,23	22,46	13,43	4,51	0,53	0,17
	±SD	0,20	6,46	4,76	0,23	0,32	0,06
0,5	Średnia	1,49	32,42	10,94	4,65	0,98	0,23
	±SD	0,23	16,85	6,74	0,31	0,26	0,08
1	Średnia	0,93	37,08	18,39	4,79	1,58	0,66
	±SD	0,14	15,39	4,48	0,35	0,31	0,38
2	Średnia	0,91	21,27	18,09	5,50	0,61	0,26
	±SD	0,51	3,50	1,98	1,00	0,59	0,32
3	Średnia	0,53	21,12	18,79	7,04	0,55	0,53
	±SD	0,23	4,10	6,85	0,24	0,30	0,35
5	Średnia	0,06	18,87	18,80	3,80	0,12	0,07
	±SD	0,10	2,16	4,63	3,29	0,13	0,08
24	Średnia	0,00	6,81	7,20	0,00	0,00	0,00
	±SD	0,00	6,52	1,18	0,00	0,00	0,00

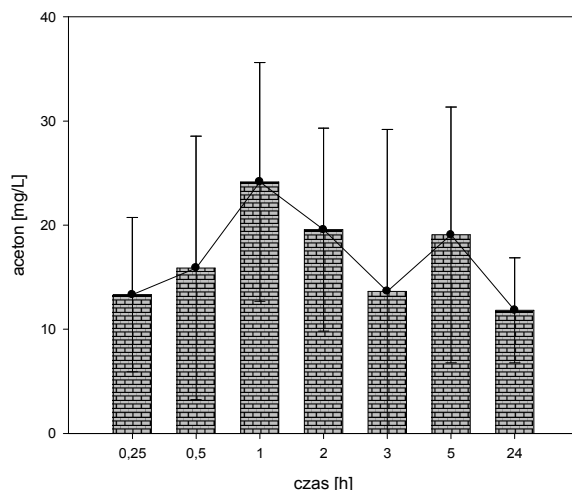
7.2 Wyniki oznaczeń - aldehyd octowy, aceton, alkohol etylowy, metanol, n-propanol, n-butanol – samce niezależnione od alkoholu etylowego

Stężenia alkoholu etylowego we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło 0 g/l w każdym przedziale czasowym, podobnie jak w przypadku metanolu, n-propanolu oraz n-butanolu. Stężenia aldehydu octowego wykazywały wahało się w zakresie 0,07 – 1,09 mg/l. Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 27.



Ryc. 27 Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu – samce niezależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku acetonu, natomiast wykazano we krwi zwierząt maksymalne stężenie po jednej godzinie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 24,15 mg/l, w późniejszych okresach czasu stężenie acetonu we krwi zwierząt ulegało obniżeniu. Stężenie acetonu w zależności od czasu we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 28.



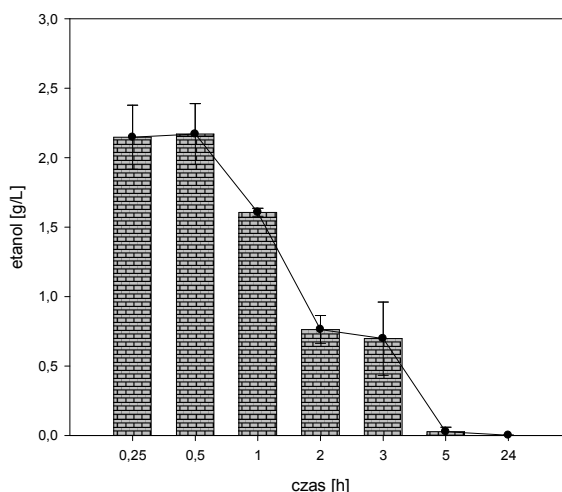
Ryc. 28 Stężenie acetonu w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenia aldehydu octowego i acetonu we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXIII.

Tab. XXIII Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, metanolu, n-propanolu, n-butanolu we krwi – samce niezależne od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

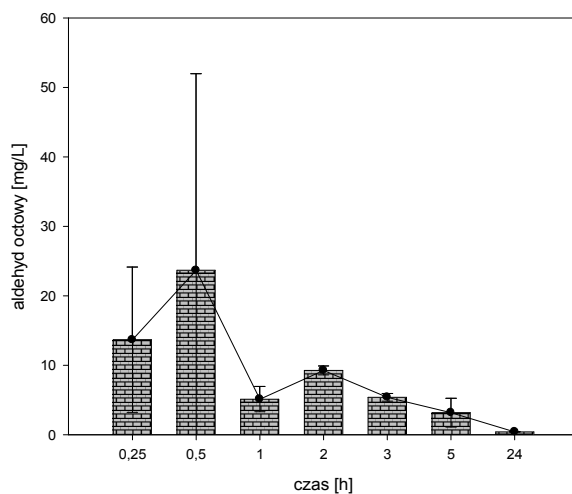
Czas [h]		Stężenie aldehydu octowego [mg/l]	Stężenie acetonu [mg/l]
0,25	Średnia	0,38	13,33
	±SD	0,56	7,41
0,5	Średnia	1,05	15,89
	±SD	1,18	12,65
1	Średnia	0,54	24,15
	±SD	0,42	11,46
2	Średnia	0,94	19,56
	±SD	1,16	9,75
3	Średnia	0,67	13,64
	±SD	1,08	15,53
5	Średnia	1,09	19,06
	±SD	1,39	12,26
24	Średnia	0,07	11,83
	±SD	0,04	5,05

Stężenia alkoholu etylowego we krwi samców niezależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. wynosiło od 2,17 g/l w czasie 30 minut od podania, była to jednocześnie wartość maksymalna stężenia alkoholu etylowego we krwi zwierząt. Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu we krwi samców niezależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 29.



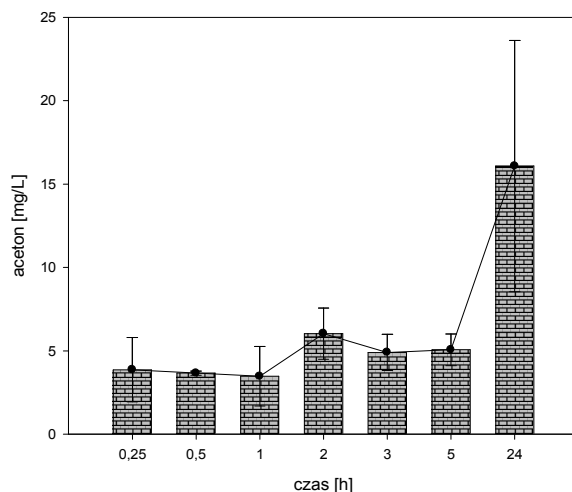
Ryc. 29 Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu – samce niezależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Stężenia aldehydu octowego wynosiło maksymalnie 23,66 mg/l w grupie poddanej sekcji po 30 minutach od podania alkoholu. Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu we krwi samców niezależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 30.



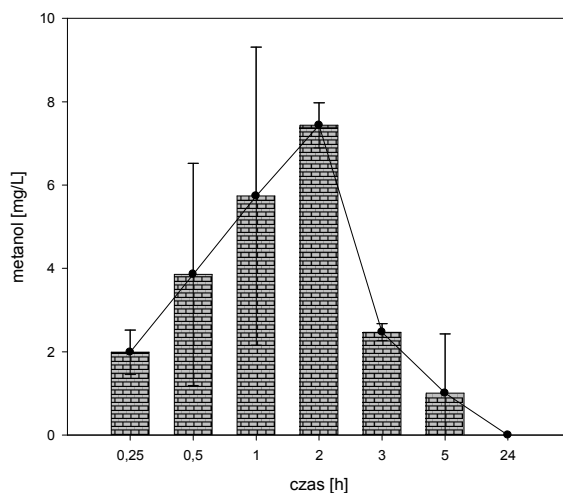
Ryc. 30 Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu – samce niezależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Stężenie acetonu wykazywało maksymalne wartości w 24 godzinie od podania alkoholu etylowego wynoszące 16,08 mg/l. We wcześniejszych przedziałach czasowych stężenie acetonu we krwi zwierząt wahało się w zakresie 3,47 – 6,03 mg/l. Stężenie acetonu w zależności od czasu we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 31.



Ryc. 31 Stężenie acetonu w zależności od czasu – samce niezależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

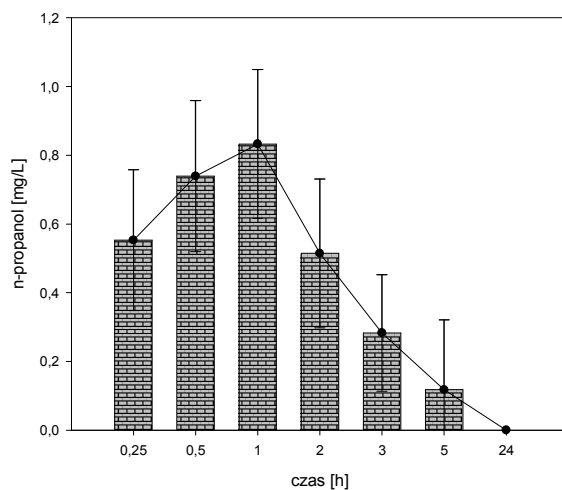
W przypadku metanolu stężenie maksymalne wynoszące 7,43 mg/l występowało w 2 godzinie od podania alkoholu etylowego. Stężenie metanolu w zależności od czasu we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 32.



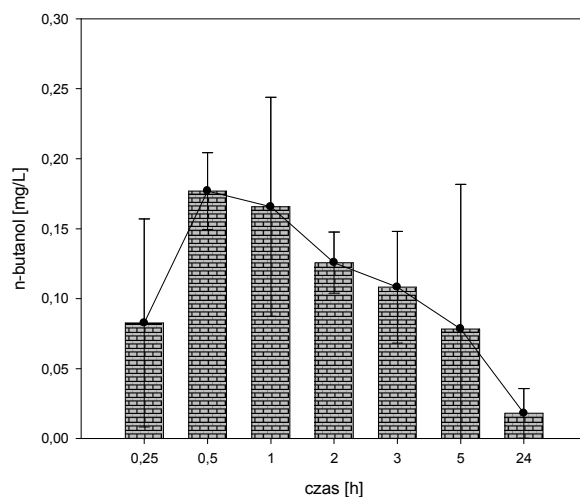
Ryc. 32 Stężenie metanolu w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Alkohol n-propylowy i alkohol n-butyłowy wykazywały maksymalne stężenia, 0,83 oraz 0,18 mg/l odpowiednio w 1 godzinie dla alkoholu n-propylowego oraz w 30 minucie dla alkoholu n-butyłowego od podania alkoholu etylowego.

Stężenia alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego w zależności od czasu, we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinach 33-34.



Ryc. 33 Stężenie n-propanolu w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.



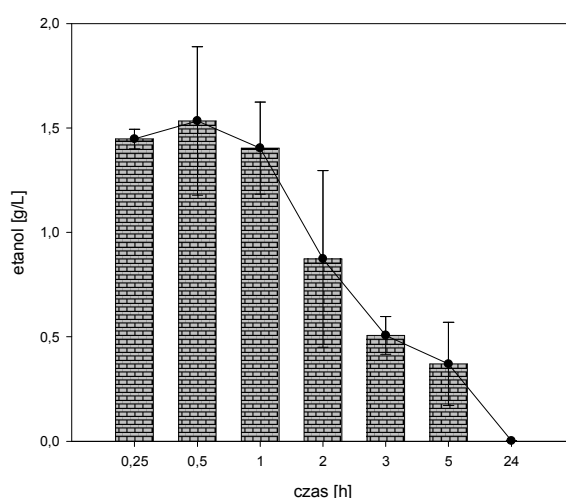
Ryc. 34 Stężenie n-butanolu w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, n-propylowego i n-butylowego we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono w Tabeli XXIV.

Tab. XXIV Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, metanolu, n-propanolu, n-butanolu we krwi – samce niezależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

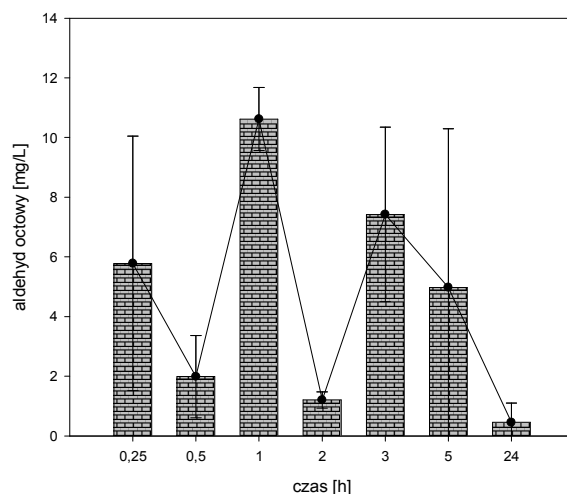
Czas [h]		Stężenie alkoholu etylowego [g/l]	Stężenie aldehydu octowego [mg/l]	Stężenie acetonu [mg/l]	Stężenie metanolu [mg/l]	Stężenie n-propanolu [mg/l]	Stężenie n-butanolu [mg/l]
0,25	Średnia	2,15	13,68	3,86	1,99	0,55	0,08
	±SD	0,23	10,48	1,92	0,53	0,20	0,07
0,5	Średnia	2,17	23,66	3,65	3,86	0,74	0,18
	±SD	0,22	28,31	0,13	2,67	0,22	0,03
1	Średnia	1,61	5,12	3,47	5,74	0,83	0,17
	±SD	0,03	1,81	1,79	3,58	0,22	0,08
2	Średnia	0,76	9,27	6,03	7,43	0,51	0,13
	±SD	0,10	0,66	1,54	0,54	0,22	0,02
3	Średnia	0,70	5,40	4,90	2,47	0,28	0,11
	±SD	0,26	0,56	1,08	0,20	0,17	0,04
5	Średnia	0,03	3,18	5,06	1,00	0,12	0,08
	±SD	0,03	2,09	0,95	1,42	0,20	0,10
24	Średnia	0,00	0,41	16,08	0,00	0,00	0,02
	±SD	0,00	0,03	7,54	0,00	0,00	0,02

Stężenia alkoholu etylowego we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło 1,53 g/l w czasie 30 minut od podania alkoholu etylowego i była to wartość maksymalna. Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 35.



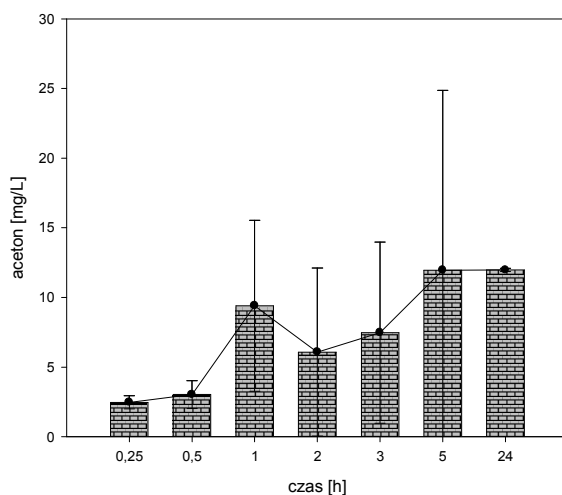
Ryc. 35 Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Maksymalna wartość stężenia aldehydu octowego, 10,62 mg/l występowała w pierwszej godzinie po podaniu alkoholu etylowego i zakończeniu ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 36.



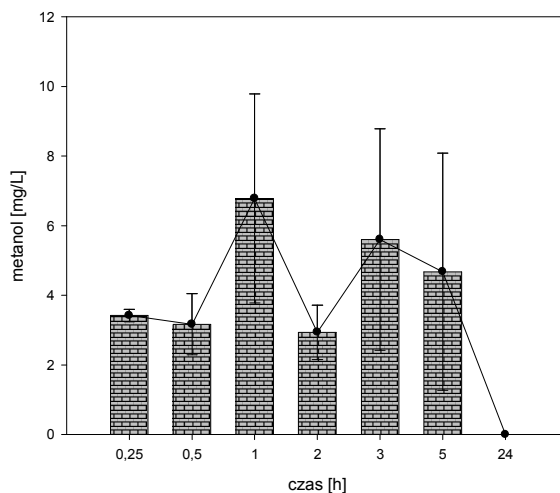
Ryc. 36 Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie acetonu wykazywało maksymalne wartości w 24 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy wynoszące 11,97 mg/l. Stężenie acetonu w zależności od czasu we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 37.



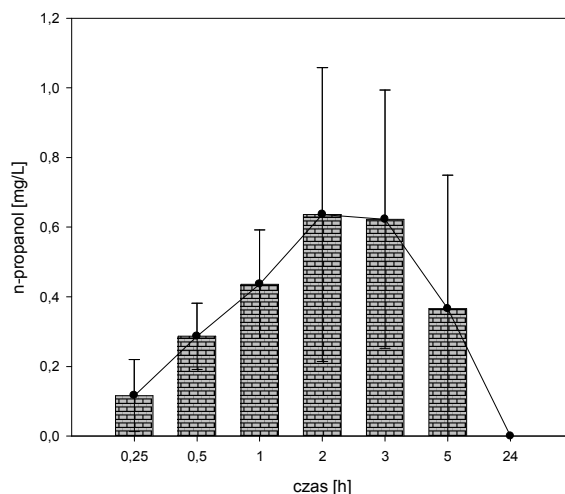
Ryc. 37 Stężenie acetonu w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku metanolu stężenie maksymalne wynoszące 6,78 mg/l występowało w 1 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie metanolu w zależności od czasu we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 38.

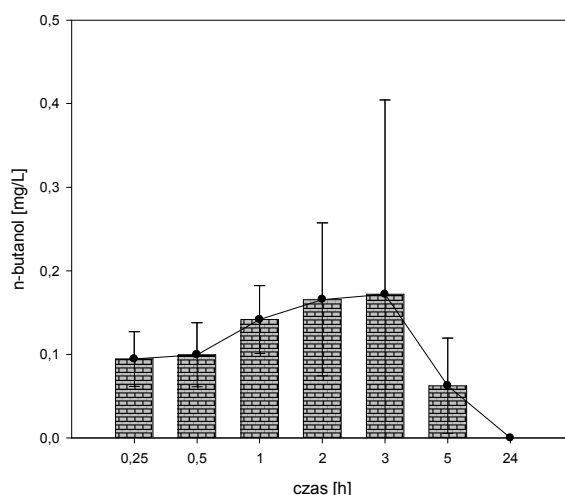


Ryc. 38 Stężenie metanolu w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Alkohol n-propylowy i n-butyłowy maksymalne stężenia wykazywały w drugiej i trzeciej godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wynosiły odpowiednio 0,62 mg/l i 0,17 mg/l. Stężenia alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego w zależności od czasu, we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinach 39-40.



Ryc. 39 Stężenie n-propanolu w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie



Ryc. 40 Stężenie n-butanolu w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, n-propylowego i n-butyłowego we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXV.

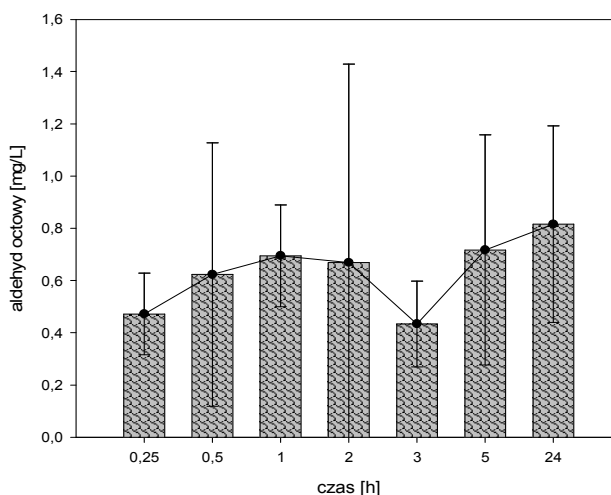
Tab. XXV Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, metanolu, n-propanolu, n-butanolu we krwi – samce niezależnie od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Czas [h]		Stężenie alkoholu etylowego [g/l]	Stężenie aldehydu octowego [mg/l]	Stężenie acetonu [mg/l]	Stężenie metanolu [mg/l]	Stężenie n-propanolu [mg/l]	Stężenie n-butanolu [mg/l]
0,25	Średnia	1,45	5,78	2,47	3,42	0,12	0,09
	±SD	0,05	4,26	0,46	0,18	0,10	0,03
0,5	Średnia	1,53	1,99	3,03	3,17	0,29	0,10
	±SD	0,36	1,38	0,99	0,88	0,09	0,04
1	Średnia	1,40	10,62	9,40	6,78	0,44	0,14
	±SD	0,22	1,06	6,14	3,00	0,16	0,04
2	Średnia	0,87	1,21	6,08	2,94	0,64	0,17
	±SD	0,42	0,28	6,03	0,78	0,42	0,09
3	Średnia	0,51	7,42	7,47	5,60	0,62	0,17
	±SD	0,09	2,92	6,50	3,18	0,37	0,23
5	Średnia	0,37	4,98	11,94	4,68	0,37	0,06
	±SD	0,20	5,32	12,92	3,41	0,38	0,06
24	Średnia	0,00	0,45	11,97	0,00	0,00	0,00
	±SD	0,00	0,65	0,11	0,00	0,00	0,00

7.3 Wyniki oznaczeń - aldehyd octowy, aceton, alkohol etylowy, metanol, n-propanol, n-butanol – samice uzależnione od alkoholu etylowego

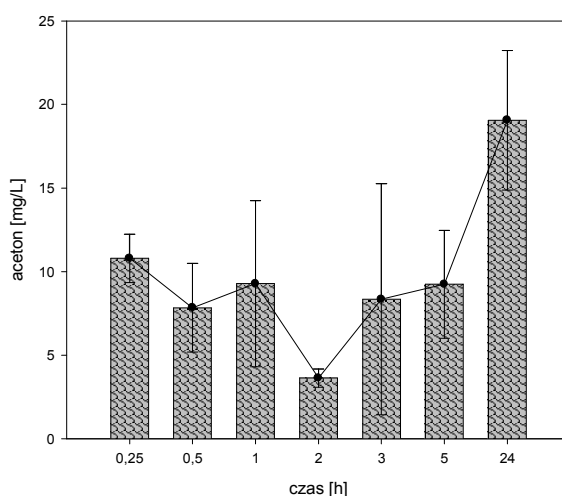
Stężenia alkoholu etylowego we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło 0 g/l w każdym przedziale czasowym, podobnie jak w przypadku metanolu, n-propanolu oraz n-butanolu.

Stężenia aldehydu octowego wykazywało wartości maksymalne w 24 godzinie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy wynoszące 0,82 mg/l. Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 41.



Ryc. 41 Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku acetonu, wykazano we krwi zwierząt maksymalne stężenie po 24 godzinach od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 19,06 mg/l. W pozostałych przedziałach czasowych stężenie acetonu we krwi zwierząt wahało się w granicach 3,63 – 10,79 mg/l. Stężenie acetonu w zależności od czasu we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 42.



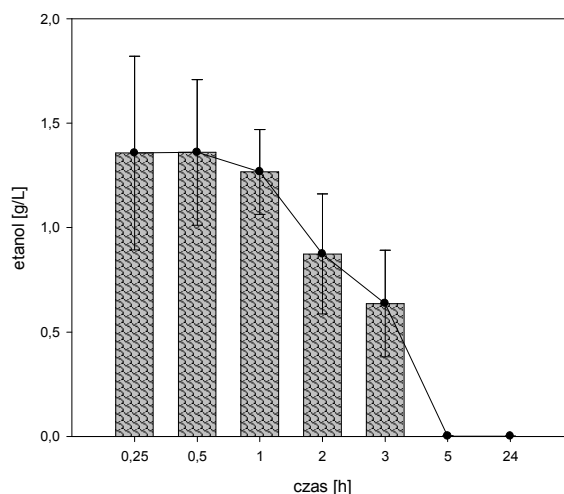
Ryc. 42 Stężenie acetonu w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenia aldehydu octowego i acetonu we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXVI.

Tab. XXVI Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, metanolu, n-propanolu, n-butanolu we krwi – samice uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

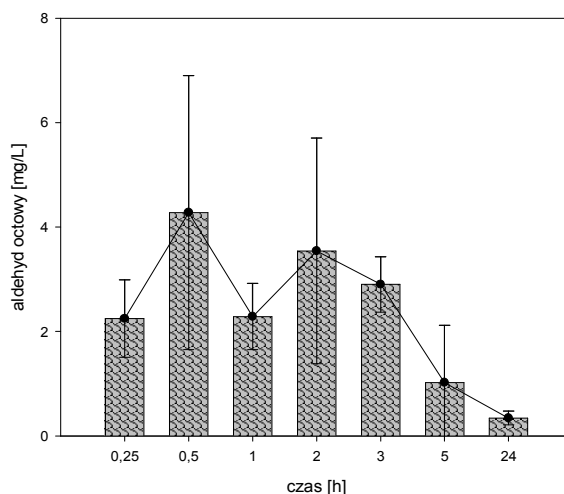
Czas [h]		Stężenie aldehydu octowego [mg/l]	Stężenie acetonu [mg/l]
0,25	Średnia	0,47	10,79
	±SD	0,16	1,45
0,5	Średnia	0,62	7,84
	±SD	0,50	2,65
1	Średnia	0,69	9,28
	±SD	0,19	4,98
2	Średnia	0,67	3,63
	±SD	0,76	0,55
3	Średnia	0,43	8,35
	±SD	0,16	6,91
5	Średnia	0,72	9,24
	±SD	0,44	3,22
24	Średnia	0,82	19,06
	±SD	0,38	4,17

Stężenia alkoholu etylowego we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. wynosiło maksymalnie 1,36 g/l w czasie 15 i 30 minut od podania. Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 43.



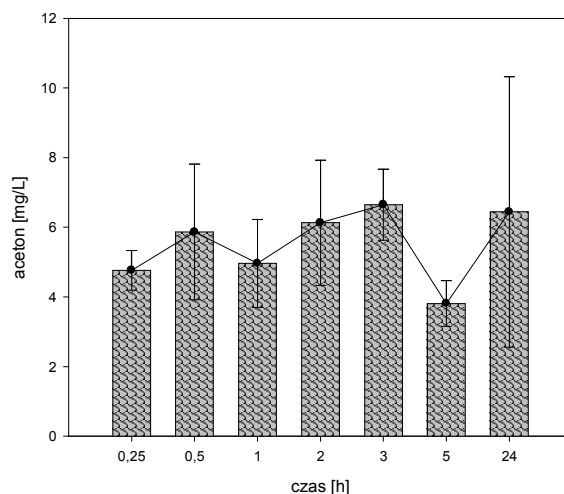
Ryc. 43 Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Stężenie aldehydu octowego wynosiło 4,28 mg/l w grupie poddanej sekcji po 30 minutach od podania alkoholu etylowego we krwi zwierząt, była to jednocześnie wartość maksymalna. Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 44.



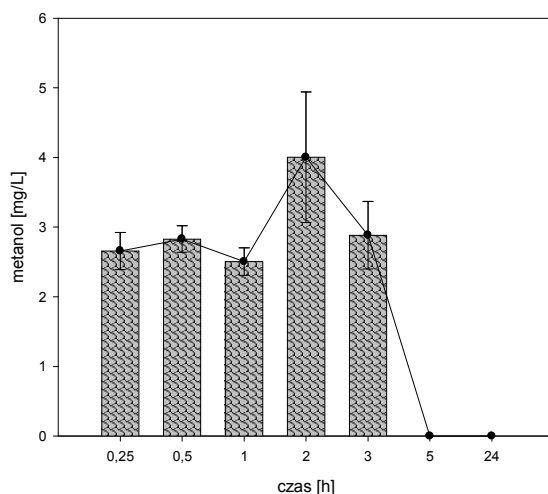
Ryc. 44 Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Stężenie acetonu wahało się w zakresie 6,65 – 3,81 mg/l. Stężenie acetonu w zależności od czasu we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 45.



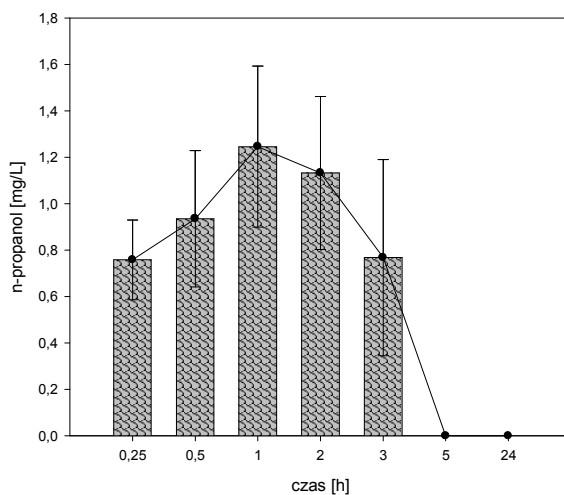
Ryc. 45 Stężenie acetonu w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Dla metanolu stężenie maksymalne wynoszące 4,00 mg/l występowało w 2 godzinie od podania alkoholu etylowego. Stężenie metanolu w zależności od czasu we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 46.

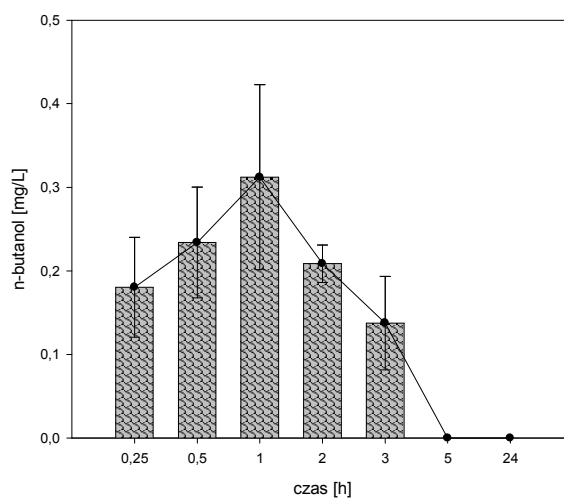


Ryc. 46 Stężenie metanolu w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Alkohol n-propylowy i alkohol n-butyłowy występowały w stężeniach maksymalnych odpowiednio 1,25 mg/l oraz 0,31 mg/l w pierwszej godzinie od podania alkoholu etylowego. Stężenia alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego w zależności od czasu, we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinach 47-48.



Ryc. 47 Stężenie n-propanolu w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.



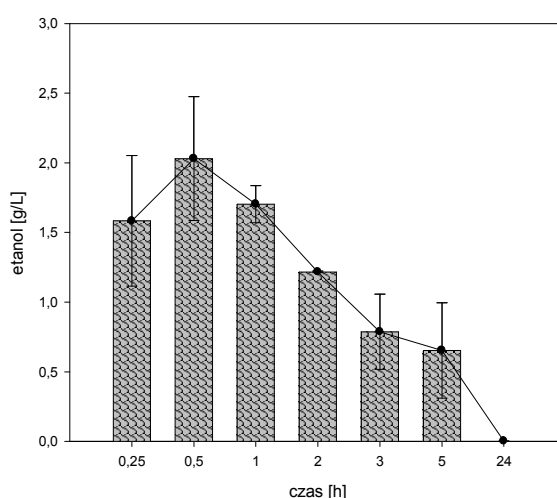
Ryc. 48 Stężenie n-butanolu w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, n-propylowego i n-butyłowego we krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono w Tabeli XXVII.

Tab. XXVII Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, metanolu, n-propanolu, n-butanolu we krwi – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

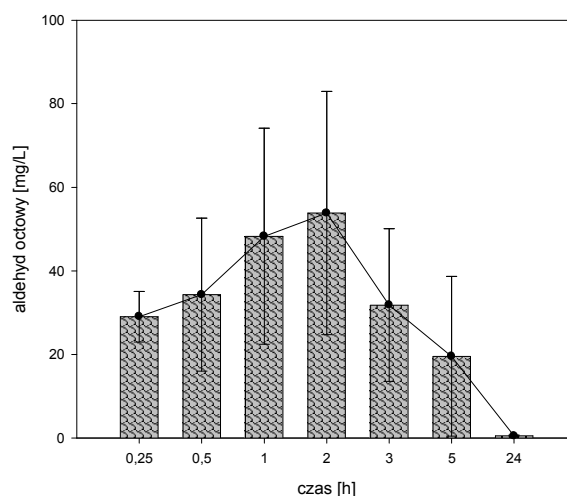
Czas [h]		Stężenie alkoholu etylowego [g/l]	Stężenie aldehydu octowego [mg/l]	Stężenie acetonu [mg/l]	Stężenie metanolu [mg/l]	Stężenie n-propanolu [mg/l]	Stężenie n-butanolu [mg/l]
0,25	Średnia	1,36	2,25	4,76	2,66	0,76	0,18
	±SD	0,46	0,74	0,57	0,27	0,17	0,06
0,5	Średnia	1,36	4,28	5,86	2,83	0,93	0,23
	±SD	0,35	2,62	1,95	0,19	0,29	0,07
1	Średnia	1,27	2,29	4,96	2,51	1,25	0,31
	±SD	0,20	0,64	1,26	0,20	0,35	0,11
2	Średnia	0,87	3,54	6,13	4,00	1,13	0,21
	±SD	0,29	2,16	1,80	0,94	0,33	0,02
3	Średnia	0,64	2,90	6,65	2,88	0,77	0,14
	±SD	0,25	0,53	1,02	0,49	0,42	0,06
5	Średnia	0,00	1,02	3,81	0,00	0,00	0,00
	±SD	0,00	1,09	0,66	0,00	0,00	0,00
24	Średnia	0,00	0,34	6,44	0,00	0,00	0,00
	±SD	0,00	0,13	3,88	0,00	0,00	0,00

Stężenia alkoholu etylowego we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło maksymalnie 2,03 g/l w 30 minucie od podania alkoholu etylowego. Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 49.



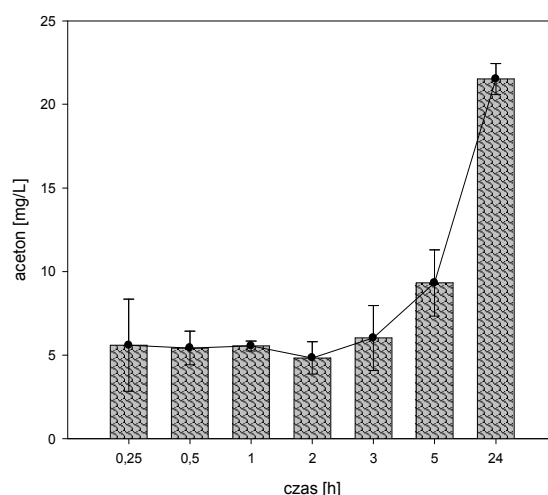
Ryc. 49 Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenia aldehydu octowego wynosiło maksymalnie 53,84 mg/l w 2 godziny od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla. 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 50.



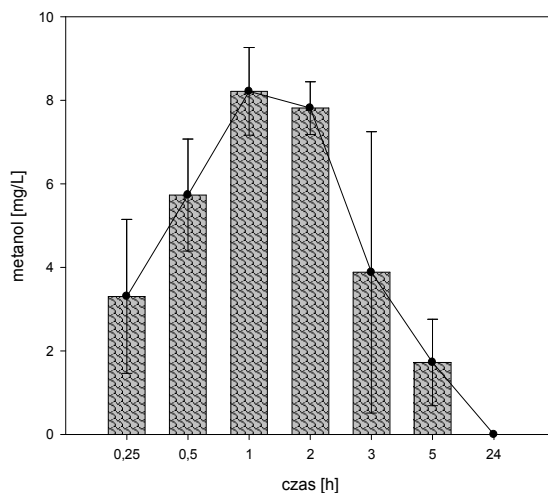
Ryc. 50 Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie acetonu wykazywało maksymalne stężenie w 24 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy wynoszące 21,51 mg/l. Stężenie acetonu w zależności od czasu we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 51.



Ryc. 51 Stężenie acetonu w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

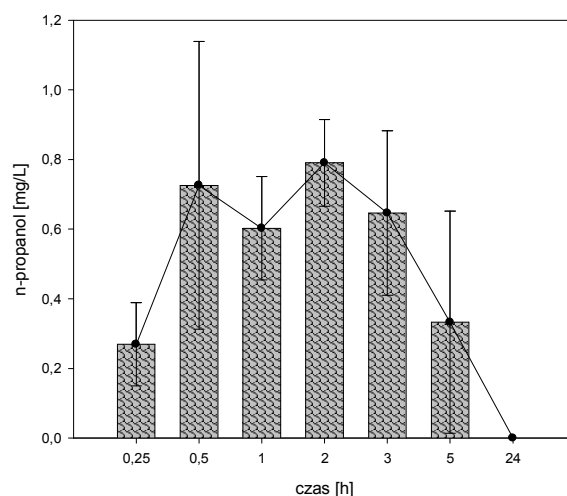
W przypadku metanolu stężenie maksymalne wynoszące 8,22 mg/l występowało w 1 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie metanolu w zależności od czasu we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 52.



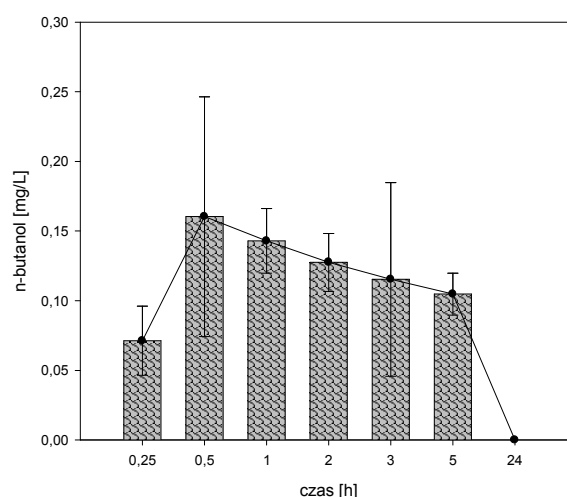
Ryc. 52 Stężenie metanolu w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Alkohol n-propylowy i alkohol n-butyłowy występowały w stężeniach maksymalnych w 2 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy dla n-propanolu i w 30 minucie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy dla n-butanolu, które wynosiły odpowiednio 0,79 mg/l dla n-propanolu i 0,16 mg/l dla n-butanolu.

Stężenia alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego w zależności od czasu, we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinach 53-54.



Ryc. 53 Stężenie n-propanolu w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie



Ryc. 54 Stężenie n-butanolu w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, n-propylowego i n-butyłowego we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXVIII.

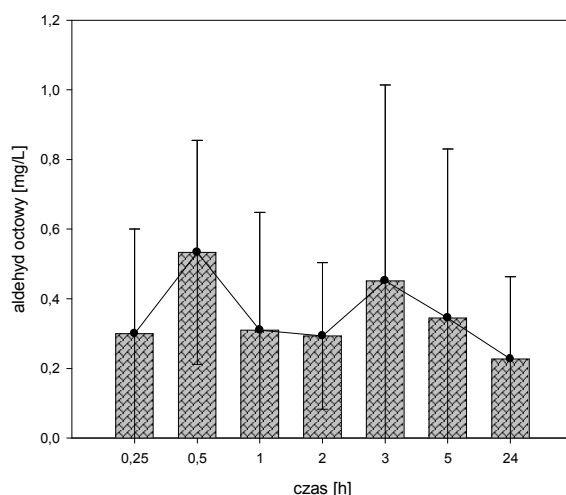
Tab. XXVIII Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, metanolu, n-propanolu, n-butanolu we krwi – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Czas [h]		Stężenie alkoholu etylowego [g/l]	Stężenie aldehydu octowego [mg/l]	Stężenie acetonu [mg/l]	Stężenie metanolu [mg/l]	Stężenie n-propanolu [mg/l]	Stężenie n-butanolu [mg/l]
0,25	Średnia	1,58	29,05	5,58	3,31	0,27	0,07
	±SD	0,47	6,03	2,76	1,85	0,12	0,02
0,5	Średnia	2,03	34,32	5,43	5,74	0,73	0,16
	±SD	0,44	18,28	1,01	1,34	0,41	0,09
1	Średnia	1,70	48,28	5,55	8,22	0,60	0,14
	±SD	0,13	25,86	0,30	1,05	0,15	0,02
2	Średnia	1,22	53,84	4,83	7,82	0,79	0,13
	±SD	0,01	29,14	0,96	0,64	0,12	0,02
3	Średnia	0,79	31,82	6,03	3,88	0,65	0,12
	±SD	0,27	18,23	1,94	3,37	0,24	0,07
5	Średnia	0,65	19,55	9,32	1,73	0,33	0,10
	±SD	0,34	19,11	1,97	1,03	0,32	0,02
24	Średnia	0,00	0,52	21,51	0,00	0,00	0,00
	±SD	0,00	0,18	0,92	0,00	0,00	0,00

7.4 Wyniki oznaczeń - aldehyd octowy, aceton, alkohol etylowy, metanol, n-propanol, n-butanol – samce uzależnione od alkoholu etylowego

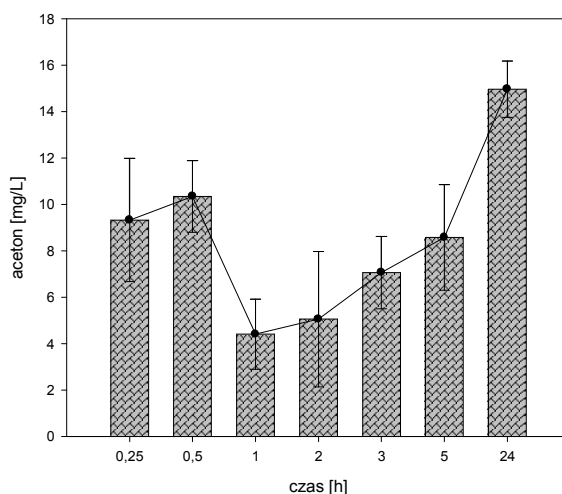
Stężenia alkoholu etylowego we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło 0 g/l w każdym przedziale czasowym, podobnie jak w przypadku metanolu, n-propanolu oraz n-butanolu.

Stężenia aldehydu octowego wahały się w zakresie 0,23 – 0,53 mg/l. Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 55.



Ryc. 55 Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku acetonu wykazano we krwi zwierząt maksymalne stężenie po 24 godzinach od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 14,96 mg/l. Stężenie acetonu w zależności od czasu we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 56.



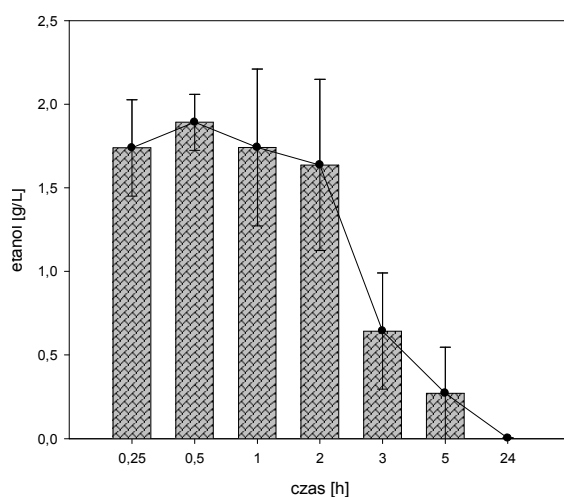
Ryc. 56 Stężenie acetonu w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenia aldehydu octowego i acetonu we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXIX.

Tab. XXIX Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, metanolu, n-propanolu, n-butanolu we krwi – samce uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

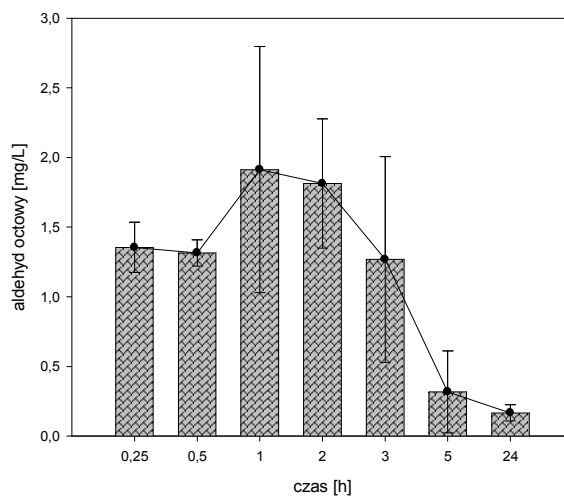
Czas [h]		Stężenie aldehydu octowego [mg/l]	Stężenie acetonu [mg/l]
0,25	Średnia	0,30	9,32
	±SD	0,30	2,65
0,5	Średnia	0,53	10,35
	±SD	0,32	1,54
1	Średnia	0,31	4,41
	±SD	0,34	1,51
2	Średnia	0,29	5,06
	±SD	0,21	2,91
3	Średnia	0,45	7,07
	±SD	0,56	1,56
5	Średnia	0,34	8,57
	±SD	0,49	2,28
24	Średnia	0,23	14,96
	±SD	0,24	1,22

Stężenia alkoholu etylowego we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. wynosiło od 1,89 g/l w czasie 30 minut od podania i była to wartość maksymalna. Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 57.



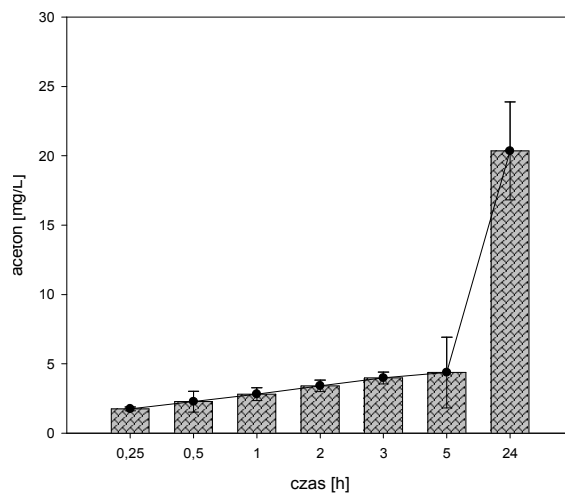
Ryc. 57 Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Maksymalne stężenie aldehydu octowego we krwi zwierząt wynosiło 1,91 mg/l i wykazano je w czasie 1 godziny od podania alkoholu etylowego. Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 58.



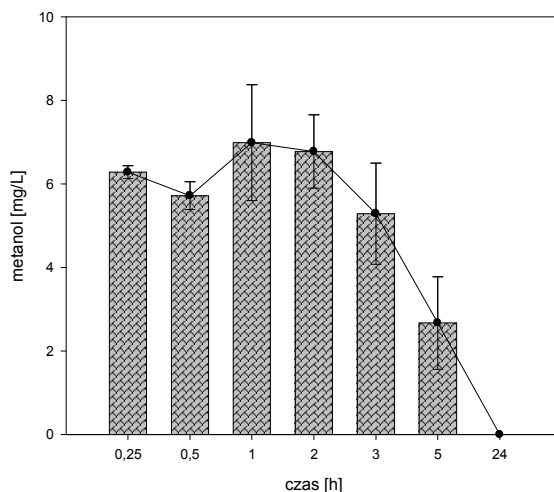
Ryc. 58 Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Stężenie acetonu wykazywało maksymalne wartości w 24 godzinie od podania alkoholu etylowego wynoszące 20,34 mg/l. Stężenie acetonu w zależności od czasu we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 59.



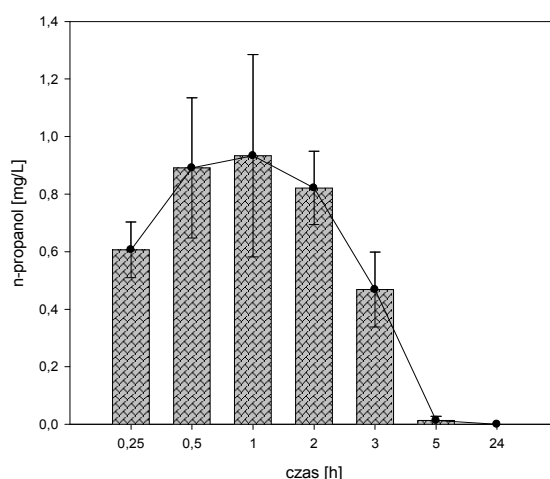
Ryc. 59 Stężenie acetonu w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Dla metanolu stężenie maksymalne wynoszące 6,98 mg/l występowało w 1 godzinie od podania alkoholu etylowego. Stężenie metanolu w zależności od czasu we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 60.

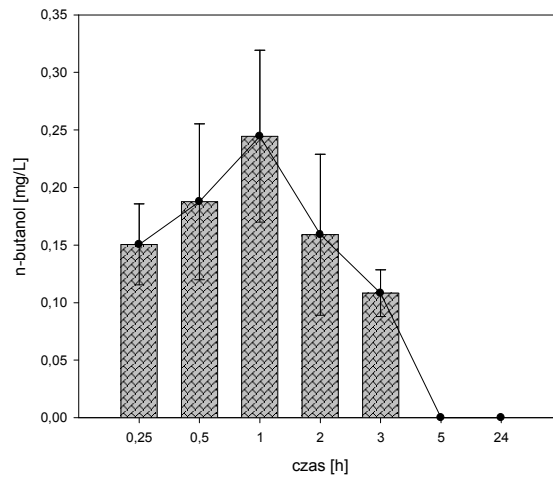


Ryc. 60 Stężenie metanolu w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Alkohol n-propylowy i alkohol n-butyłowy występowały w stężeniach najwyższych odpowiednio 0,93 mg/l oraz 0,24 mg/l w pierwszej godzinie od podania alkoholu etylowego. Stężenia alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego w zależności od czasu, we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinach 61-62.



Ryc. 61 Stężenie n-propanolu w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.



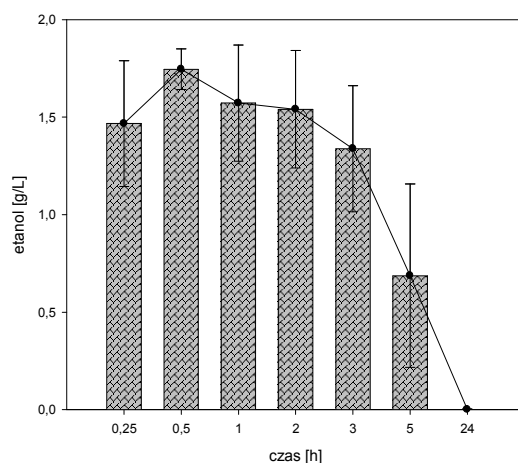
Ryc. 62 Stężenie n-butanolu w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, n-propylowego i n-butyłowego we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono w Tabeli XXX.

Tab. XXX Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, metanolu, n-propanolu, n-butanolu we krwi – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

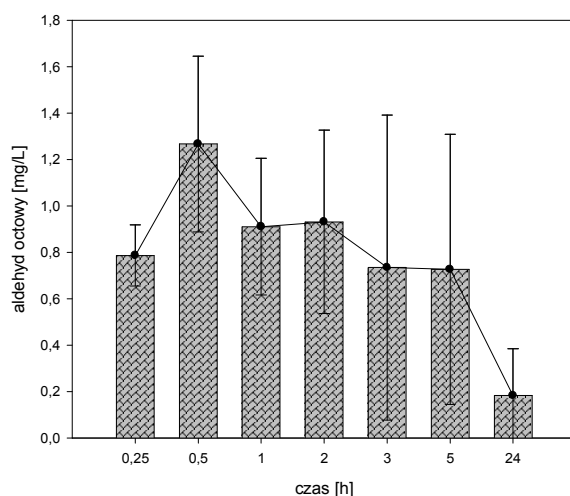
Czas [h]		Stężenie alkoholu etylowego [g/l]	Stężenie aldehydu octowego [mg/l]	Stężenie acetonu [mg/l]	Stężenie metanolu [mg/l]	Stężenie n-propanolu [mg/l]	Stężenie n-butanolu [mg/l]
0,25	Średnia	1,74	1,35	1,74	6,28	0,61	0,15
	±SD	0,29	0,18	0,14	0,15	0,10	0,04
0,5	Średnia	1,89	1,31	2,27	5,72	0,89	0,19
	±SD	0,17	0,09	0,75	0,33	0,24	0,07
1	Średnia	1,74	1,91	2,81	6,98	0,93	0,24
	±SD	0,47	0,88	0,46	1,39	0,35	0,07
2	Średnia	1,64	1,81	3,41	6,77	0,82	0,16
	±SD	0,51	0,46	0,41	0,88	0,13	0,07
3	Średnia	0,64	1,27	3,98	5,29	0,47	0,11
	±SD	0,35	0,74	0,42	1,21	0,13	0,02
5	Średnia	0,27	0,32	4,37	2,67	0,01	0,00
	±SD	0,28	0,29	2,55	1,11	0,02	0,00
24	Średnia	0,00	0,17	20,34	0,00	0,00	0,00
	±SD	0,00	0,06	3,53	0,00	0,00	0,00

Stężenia alkoholu etylowego we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło maksymalnie 1,75 g/l w czasie 30 minut od podania alkoholu etylowego. Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 63.



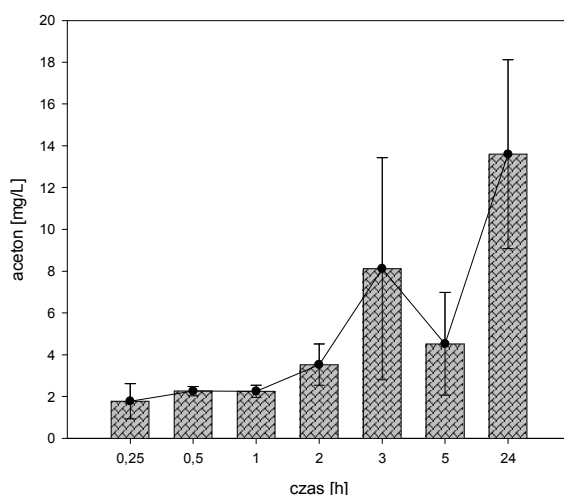
Ryc. 63 Stężenie alkoholu etylowego w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Maksymalna wartość 1,27 mg/l aldehydu octowego występowała w 30 minucie po podaniu alkoholu etylowego i zakończeniu ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 64.



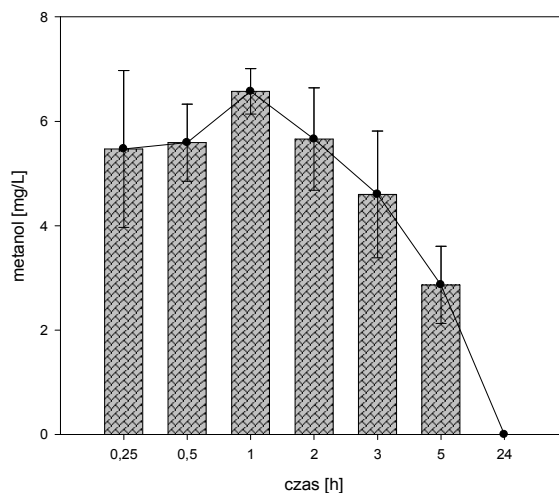
Ryc. 64 Stężenie aldehydu octowego w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie acetonu wykazywało maksymalne wartości w 24 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy wynoszące 13,60 mg/l. Stężenie acetonu w zależności od czasu we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 65.



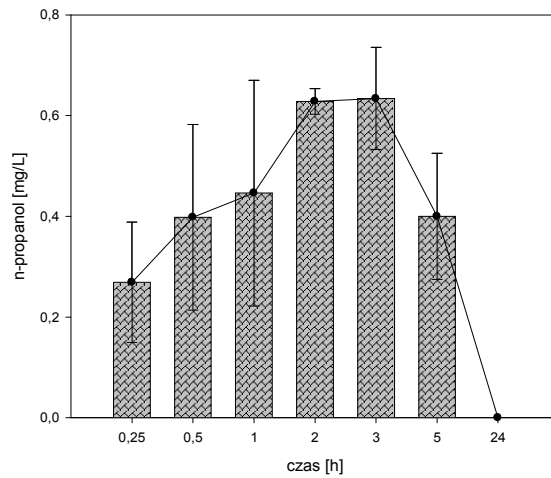
Ryc. 65 Stężenie acetonu w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Dla metanolu stężenie maksymalne wynoszące 6,57 mg/l występowało w 1 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie metanolu w zależności od czasu we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 66.

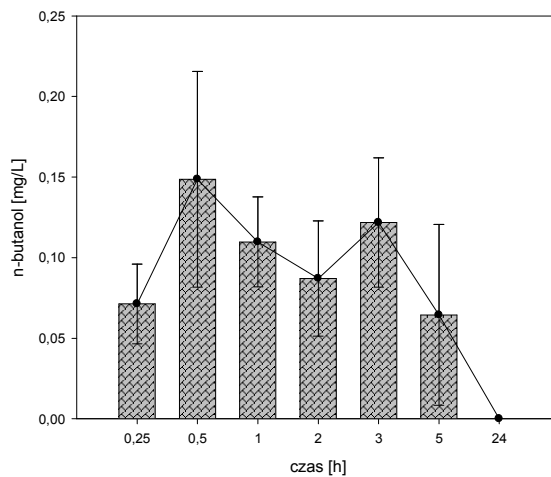


Ryc. 66 Stężenie metanolu w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Maksymalne stężenia n-propanol wykazywał w 2 i 3 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wynosiło 0,63 mg/l. Stężenia alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego w zależności od czasu, we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinach 67-68.



Ryc. 67 Stężenie n-propanolu w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie



Ryc. 68 Stężenie n-butanolu w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

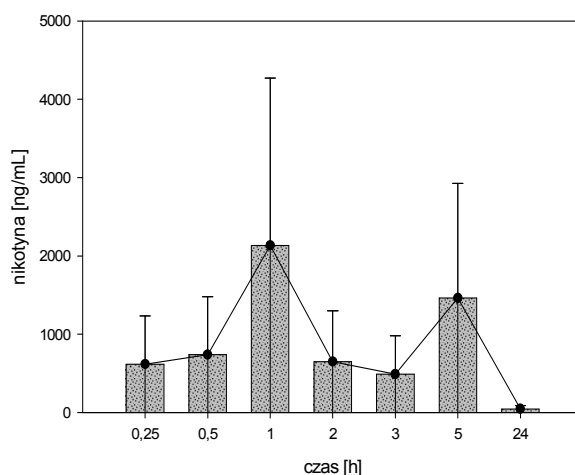
Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, alkoholu metylowego, n-propylowego i n-butylowego we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXXI.

Tab XXXI Stężenia alkoholu etylowego, aldehydu octowego, acetonu, metanolu, n-propanolu, n-butanolu we krwi – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Czas [h]		Stężenie alkoholu etylowego [g/l]	Stężenie aldehydu octowego [mg/l]	Stężenie acetonu [mg/l]	Stężenie metanolu [mg/l]	Stężenie n-propanolu [mg/l]	Stężenie n-butanolu [mg/l]
0,25	Średnia	1,47	0,79	1,77	5,47	0,27	0,07
	±SD	0,32	0,13	0,84	1,50	0,12	0,02
0,5	Średnia	1,75	1,27	2,26	5,59	0,40	0,15
	±SD	0,10	0,38	0,22	0,74	0,18	0,07
1	Średnia	1,57	0,91	2,25	6,57	0,45	0,11
	±SD	0,30	0,29	0,29	0,43	0,22	0,03
2	Średnia	1,54	0,93	3,52	5,66	0,63	0,09
	±SD	0,30	0,39	0,99	0,98	0,03	0,04
3	Średnia	1,34	0,73	8,12	4,60	0,63	0,12
	±SD	0,32	0,66	5,31	1,21	0,10	0,04
5	Średnia	0,69	0,73	4,52	2,87	0,40	0,06
	±SD	0,47	0,58	2,46	0,74	0,13	0,06
24	Średnia	0,00	0,18	13,60	0,00	0,00	0,00
	±SD	0,00	0,20	4,52	0,00	0,00	0,00

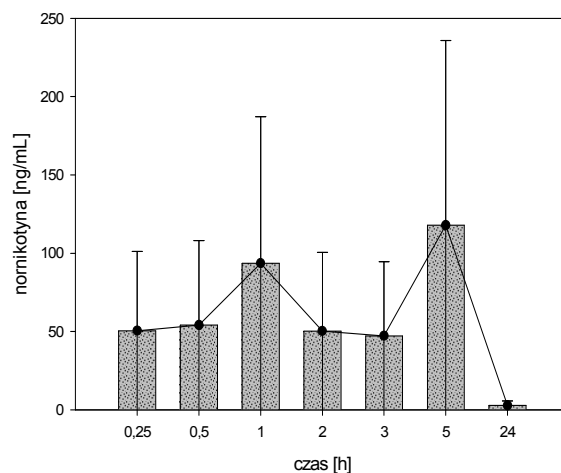
7.5 Wyniki oznaczeń - nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny – samice niezależnione od alkoholu etylowego

Stężenie nikotyny we krwi samic niezależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło maksymalnie 2134 ng/ml w pierwszej godzinie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samic niezależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 69.



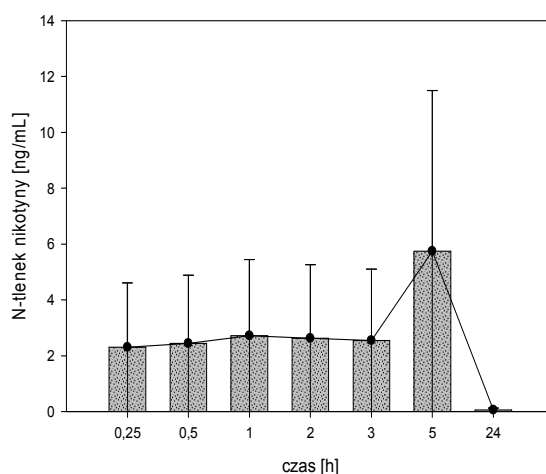
Ryc. 69 Stężenie nikotyny w zależności od czasu – samice niezależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenia nornikotyny wahały się w zakresie 2,80 – 93,57 ng/m. Maksymalne stężenie w surowicy krwi zwierząt wykazano w 5 godzinie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie nornikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samic niezależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 70.



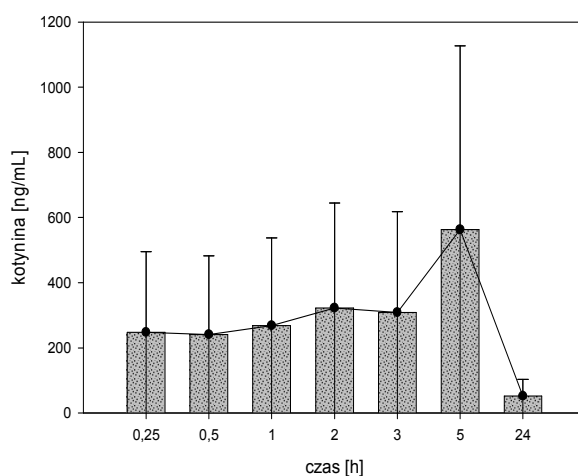
Ryc. 70 Stężenie normikotyny w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku N-tlenku nikotyny wykazano we krwi zwierząt maksymalne stężenie po 5 godzinach od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 5,75 ng/ml. Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 71.



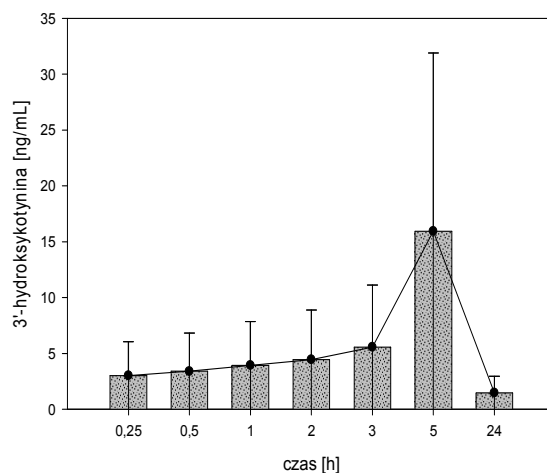
Ryc. 71 Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie kotyniny we krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło maksymalnie 563,55 ng/ml w piątej godzinie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 72.



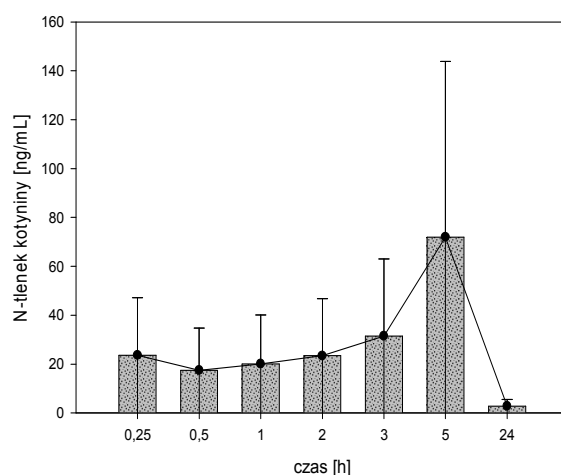
Ryc. 72 Stężenie kotyniny w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenia trans-3'-hydroksykotyniny wykazywały maksimum w piątej godzinie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy wynoszącego 15,94 ng/ml. Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 73.



Ryc. 73 Stężenie trans-3¹-hydroksykotyniny w zależności od czasu – samice nieuzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku N-tlenku kotyniny wykazano we krwi zwierząt maksymalne stężenie po 5 godzinach od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 71,96 ng/ml. Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samic nieuzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 74.



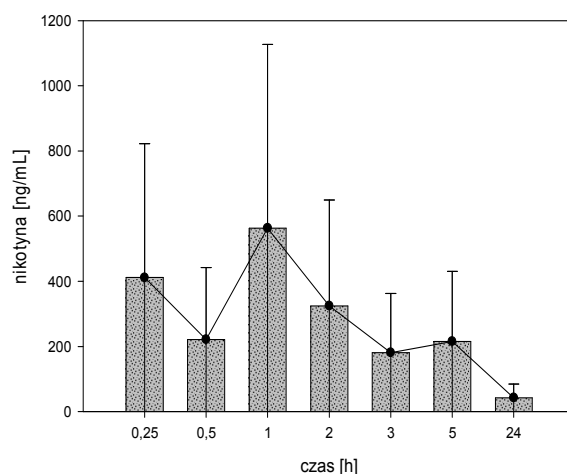
Ryc. 74 Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu – samice nieuzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenia nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny w surowicy krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXXII.

Tab. XXXII Stężenia w surowicy krwi – samice niezależne od alkoholu etylowego, które poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

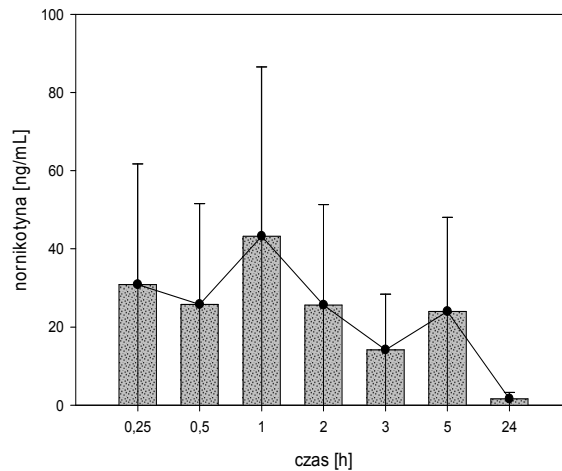
Czas [h]		Stężenie nikotyny [ng/ml]	Stężenie nornikotyny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku nikotyny [ng/ml]	Stężenie kotyniny [ng/ml]	Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku kotyniny [ng/ml]
0,25	Średnia	617,41	50,55	2,30	247,70	3,03	23,62
	±SD	309,99	47,53	1,38	88,69	1,63	22,58
0,5	Średnia	738,85	54,06	2,44	241,13	3,40	17,39
	±SD	340,03	27,93	1,08	64,57	0,79	8,31
1	Średnia	2134,71	93,57	2,72	268,69	3,93	20,06
	±SD	1218,39	18,18	0,31	32,25	1,78	11,79
2	Średnia	650,52	50,28	2,63	322,11	4,44	23,43
	±SD	343,78	40,79	0,60	40,23	1,80	14,83
3	Średnia	489,28	47,26	2,55	309,14	5,57	31,52
	±SD	166,05	14,45	2,05	184,24	4,22	33,68
5	Średnia	1462,95	117,90	5,75	563,55	15,94	71,96
	±SD	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
24	Średnia	45,71	2,80	0,07	51,90	1,48	2,78
	±SD	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Stężenie nikotyny w surowicy krwi samic nieuzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło maksymalnie 563,45 ng/ml w 60 minucie po podaniu alkoholu etylowego i zakończeniu ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samic nieuzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 75.



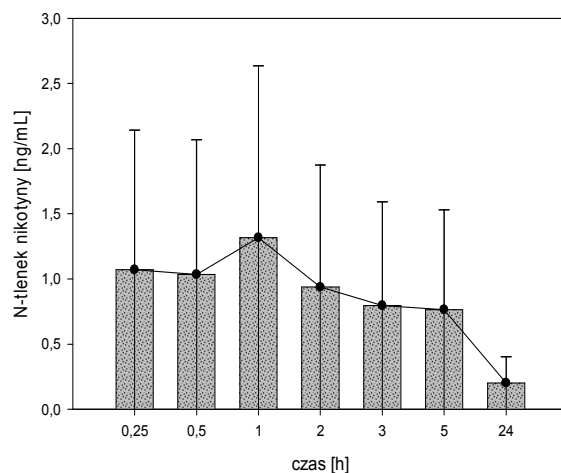
Ryc. 75 Stężenie nikotyny w zależności od czasu – samice nieuzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Najwyższe stężenie nornikotyny wynosiło 43,27 ng/ml występowała w pierwszej godzinie po podaniu alkoholu etylowego i zakończeniu ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie nornikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samic nieuzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 76.



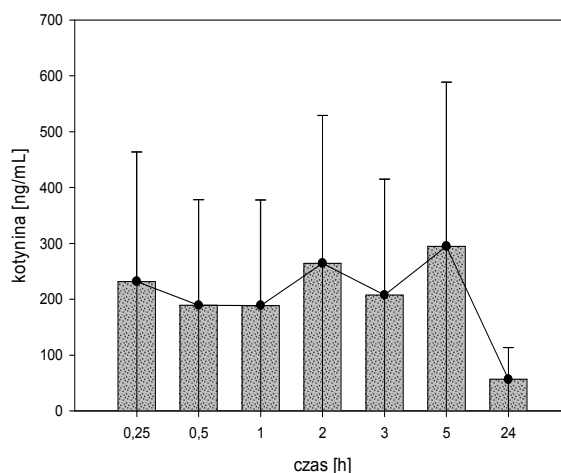
Ryc. 76 Stężenie nornikotyny w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie N-tlenku nikotyny wykazywało maksymalne wartości w 1 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy wynoszące 1,32 ng/ml. Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 77.



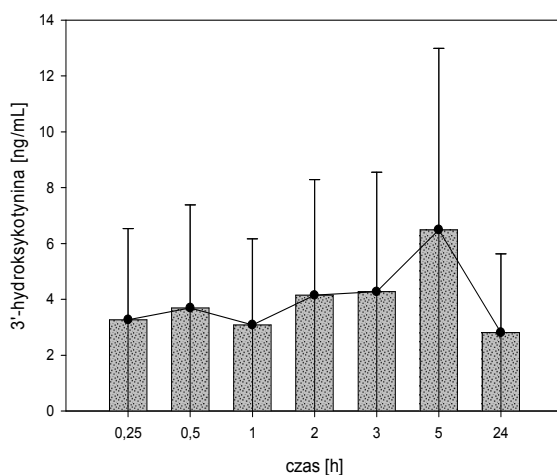
Ryc. 77 Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Dla kotyniny stężenie maksymalne wynoszące 294,45 ng/ml występowało w 5 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 78.



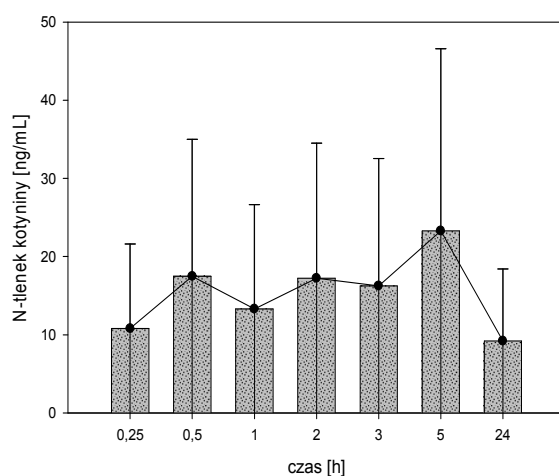
Ryc. 78 Stężenie kotyniny w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Trans-3'-hydroksykotynina maksymalne stężenie wykazywała w piątej godzinie, które wynosiło 6,50 ng/ml. Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny w zależności od czasu, w surowicy krwi samic nieuzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 79.



Ryc. 79 Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny w zależności od czasu – samice nieuzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku N-tlenku kotyniny kotyniny stężenie maksymalne wynoszące 23,29 ng/ml występowało w 5 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 80.



Ryc. 80 Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu – samice niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

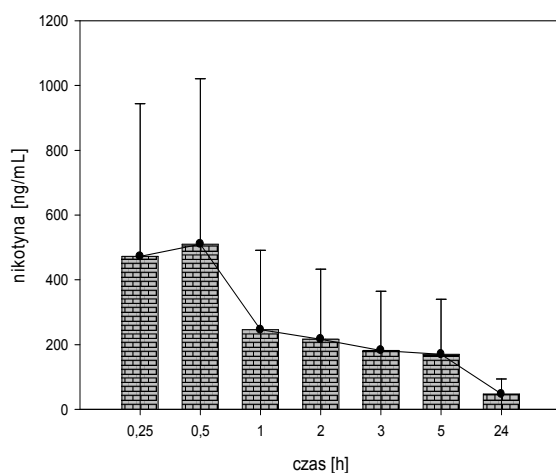
Stężenia nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny w surowicy krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXXIII.

Tab. XXXIII Stężenia w surowicy krwi – samice niezależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Czas [h]		Stężenie nikotyny [ng/ml]	Stężenie nornikotyny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku nikotyny [ng/ml]	Stężenie kotyniny [ng/ml]	Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku kotyniny [ng/ml]
0,25	Średnia	411,26	30,89	1,07	231,93	3,26	10,80
	±SD	170,68	21,44	0,66	42,41	1,22	2,24
0,5	Średnia	221,28	25,79	1,03	189,03	3,69	17,50
	±SD	49,74	15,06	0,48	29,94	2,04	10,98
1	Średnia	563,45	43,27	1,32	188,78	3,08	13,32
	±SD	271,40	4,54	0,81	106,46	2,81	14,42
2	Średnia	324,60	25,67	0,94	264,47	4,15	17,26
	±SD	139,64	11,99	0,47	71,68	2,28	15,03
3	Średnia	181,53	14,22	0,80	207,38	4,27	16,27
	±SD	105,89	9,88	0,65	118,58	2,89	13,21
5	Średnia	215,09	24,03	0,76	294,45	6,50	23,29
	±SD	38,00	20,35	0,58	67,06	1,82	2,71
24	Średnia	42,43	1,66	0,20	56,63	2,81	9,21
	±SD	26,78	0,00	0,21	12,27	0,95	5,64

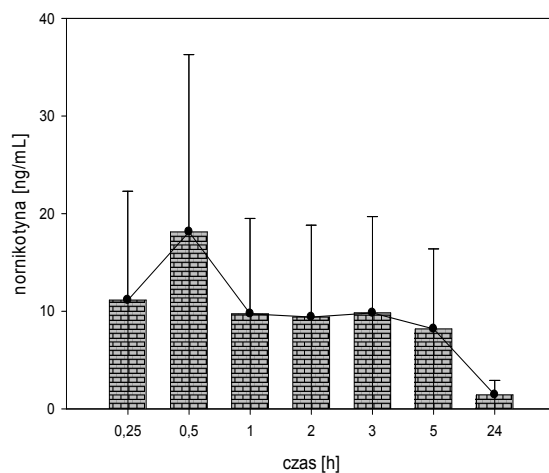
7.6 Wyniki oznaczeń - nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny – samce niezależnione od alkoholu etylowego

Stężenie nikotyny we krwi samców niezależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło maksymalnie 510,18 ng/ml w 30 minucie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samców niezależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 81.



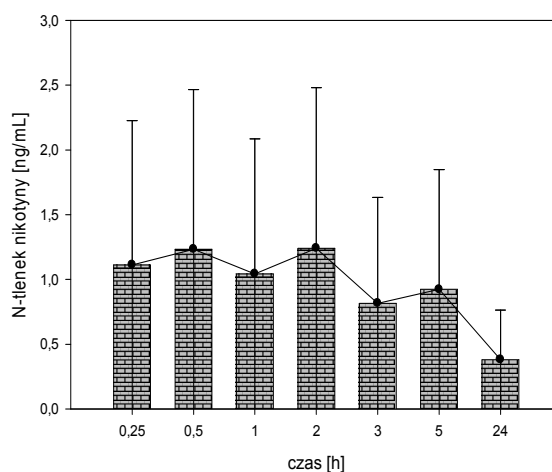
Ryc. 81 Stężenie nikotyny w zależności od czasu – samce niezależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku nornikotyny maksymalne stężenie w surowicy krwi zwierząt wykazano w 30 minucie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie nornikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samców niezależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 82.



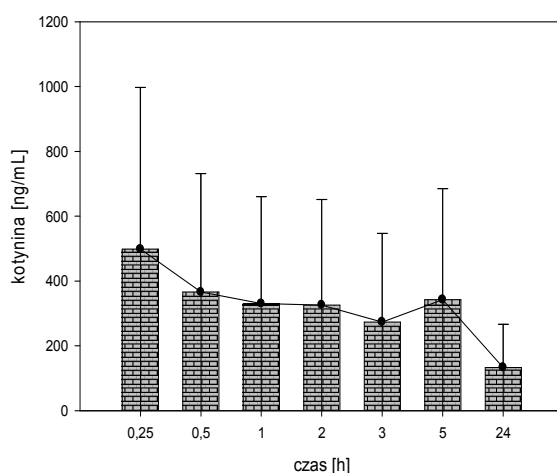
Ryc. 82 Stężenie normikotyny w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku N-tlenku nikotyny wykazano we krwi zwierząt maksymalne stężenie po 2 godzinach od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 1,24 ng/ml. Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 83



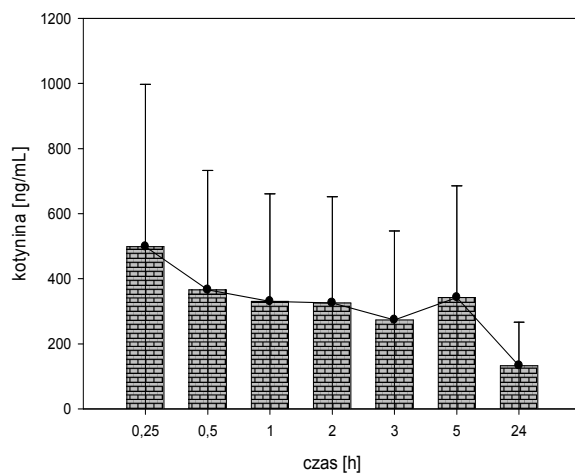
Ryc. 83 Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie kotyniny we krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło maksymalnie 498,45 ng/ml w 15 minucie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 84.



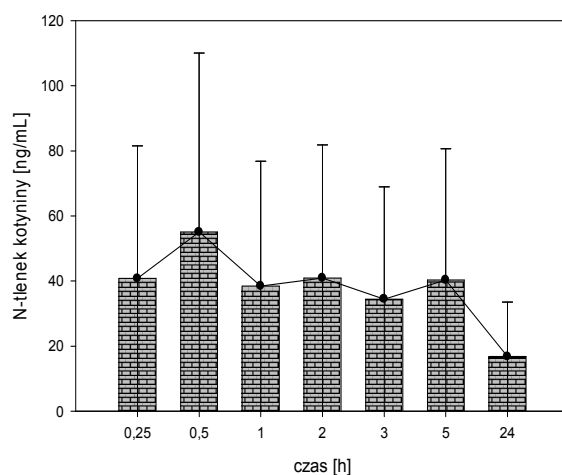
Ryc. 84 Stężenie kotyniny w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny wynosiło maksymalnie 13,54 ng/ml w 15 minucie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 85.



Ryc. 85 Stężenie trans-3'-hydroxycotyniny w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Dla N-tlenku kotyniny wykazano w surowicy krwi zwierząt maksymalne stężenie po 30 minutach od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 55,01 ng/ml. Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 86.



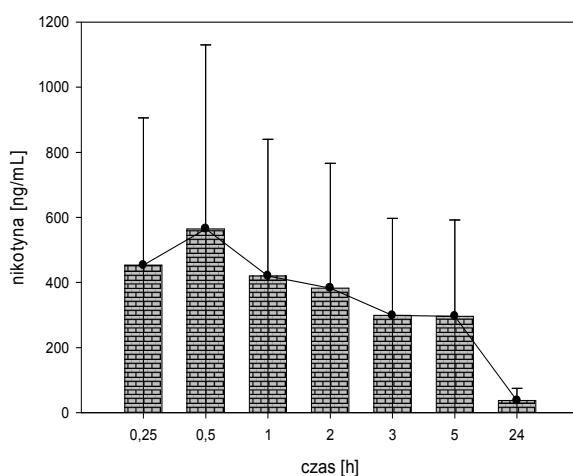
Ryc. 86 Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenia nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny w surowicy krwi samic niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXXIV.

Tab. XXXIV Stężenia w surowicy krwi – samce niezależne od alkoholu etylowego, które poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

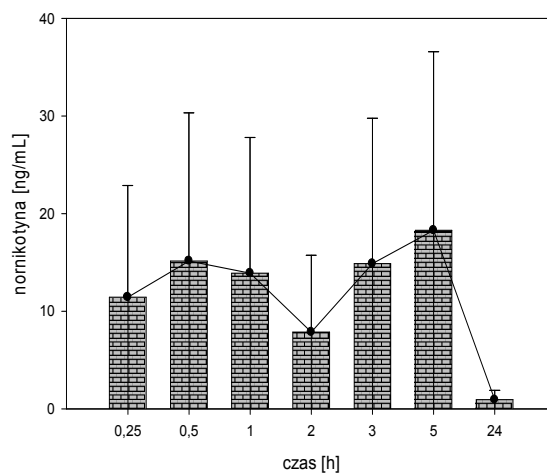
Czas [h]		Stężenie nikotyny [ng/ml]	Stężenie nornikotyny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku nikotyny [ng/ml]	Stężenie kotyniny [ng/ml]	Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku kotyniny [ng/ml]
0,25	Średnia	472,03	11,15	1,11	498,45	13,54	40,77
	±SD	339,97	7,00	0,67	389,74	12,33	24,38
0,5	Średnia	510,18	18,13	1,23	366,05	11,81	55,01
	±SD	615,37	20,76	0,75	169,67	4,29	24,09
1	Średnia	245,89	9,75	1,04	330,49	9,62	38,41
	±SD	95,56	0,94	0,31	60,81	0,68	6,46
2	Średnia	216,59	9,41	1,24	325,94	9,69	40,91
	±SD	7,61	4,77	0,31	69,58	2,26	22,59
3	Średnia	182,12	9,84	0,82	273,52	8,24	34,46
	±SD	61,91	2,93	0,17	54,25	0,28	8,04
5	Średnia	169,86	8,19	0,92	342,53	11,03	40,30
	±SD	28,05	3,64	0,11	52,61	3,98	22,44
24	Średnia	47,19	1,45	0,38	133,33	5,70	16,78
	±SD	15,98	0,19	0,10	27,27	1,03	5,76

Stężenia nikotyny w surowicy krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego wynosiło maksymalnie 564,62 ng/ml w czasie 30 minut po podaniu alkoholu etylowego i zakończeniu ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 87.



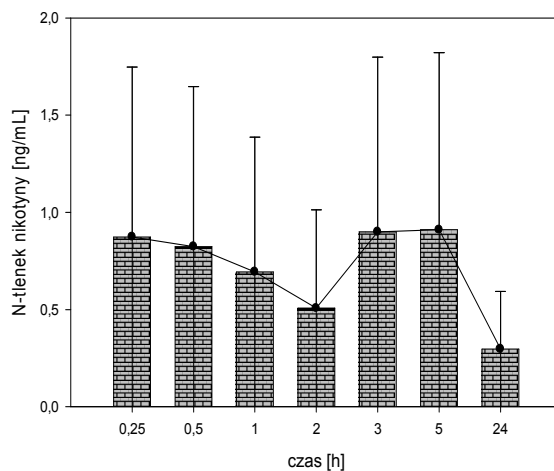
Ryc. 87 Stężenie nikotyny w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Maksymalna wartość stężenia nornikotyny wynosząca 18,29 ng/ml występowała w piątej godzinie po podaniu alkoholu etylowego i zakończeniu ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie nornikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 88.



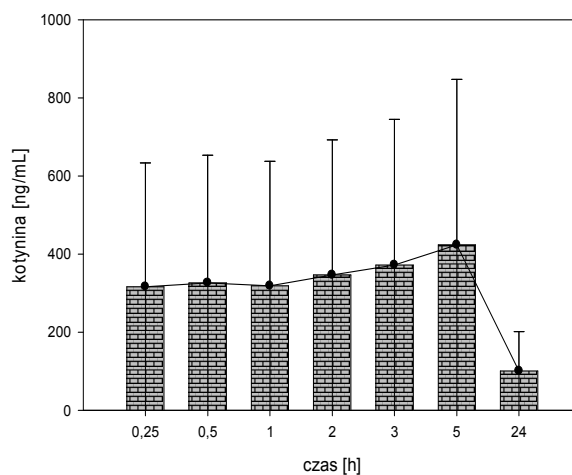
Ryc. 88 Stężenie normikotyny w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie N-tlenku nikotyny wykazywało maksymalne wartości w 3 i 5 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy wynoszące odpowiednio 0,90 i 0,91 ng/ml. Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 89.



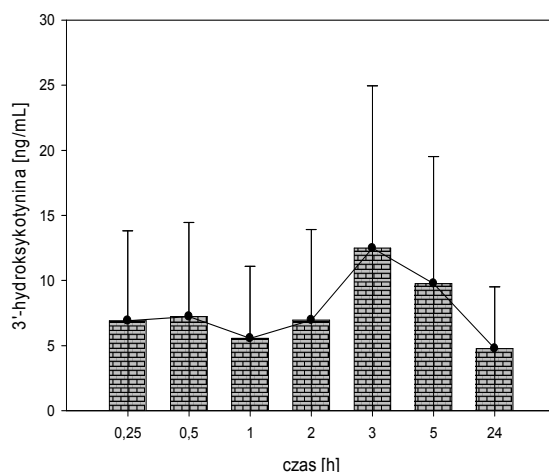
Ryc. 89 Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku kotyniny stężenie maksymalne wynoszące 423,50 ng/ml występowało w 5 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 90.



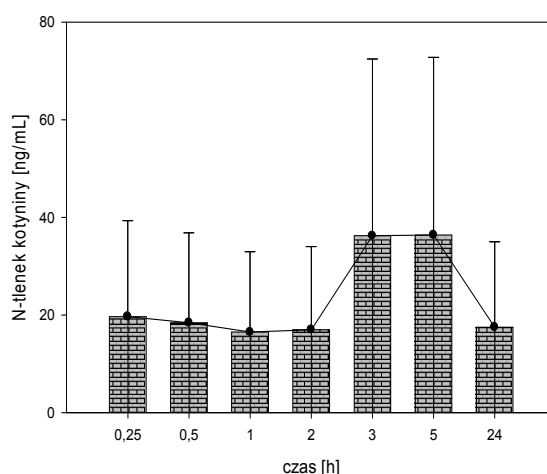
Ryc. 90 Stężenie kotyniny w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Maksymalne stężenie trans-3'-hydroksykotynina wykazywała w trzeciej godzinie od podania alkoholu etylowego, które wynosiło 12,48 ng/ml. Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny w zależności od czasu, w surowicy krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 91.



Ryc. 91 Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku N-tlenku kotyniny, wykazano w surowicy krwi zwierząt maksymalne stężenie po 5 godzinach od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 36,39 ng/ml. Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 92.



Ryc. 92 Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu – samce niezależne od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

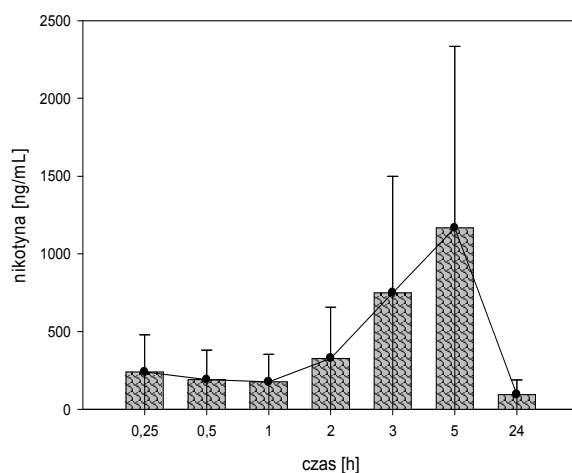
Stężenia nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny w surowicy krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXXV.

Tab XXXV Stężenia w surowicy krwi – samce niezależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Czas [h]		Stężenie nikotyny [ng/ml]	Stężenie nornikotyny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku nikotyny [ng/ml]	Stężenie kotyniny [ng/ml]	Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku kotyniny [ng/ml]
0,25	Średnia	452,94	11,44	0,87	316,58	6,90	19,65
	±SD	295,58	8,46	0,44	153,27	2,19	9,04
0,5	Średnia	564,62	15,15	0,82	326,35	7,22	18,42
	±SD	575,76	15,88	0,39	92,85	2,23	5,24
1	Średnia	419,65	13,90	0,69	318,69	5,55	16,49
	±SD	52,48	2,94	0,21	46,83	2,10	11,28
2	Średnia	383,06	7,86	0,51	346,42	6,96	17,00
	±SD	167,43	1,94	0,07	72,56	3,30	8,33
3	Średnia	298,55	14,88	0,90	372,15	12,48	36,22
	±SD	136,50	8,29	0,28	139,62	6,75	22,06
5	Średnia	296,15	18,29	0,91	423,50	9,76	36,39
	±SD	157,05	15,33	0,20	23,45	1,56	11,38
24	Średnia	37,24	0,95	0,30	100,92	4,76	17,51
	±SD	5,59	0,35	0,11	25,31	0,54	3,91

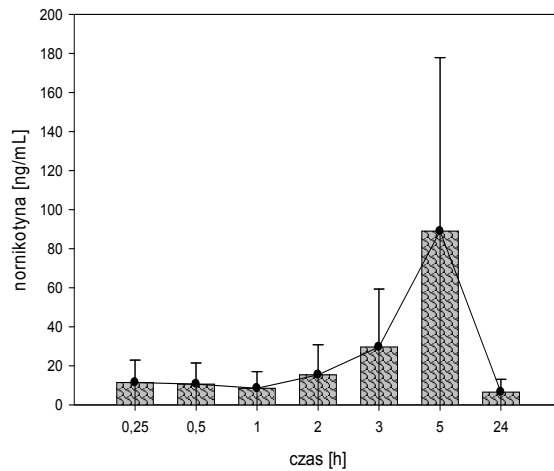
7.7 Wyniki oznaczeń - nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny – samice uzależnione od alkoholu etylowego

Stężenie nikotyny we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło maksymalnie 1166,87 ng/ml w 5 godzin od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 93.



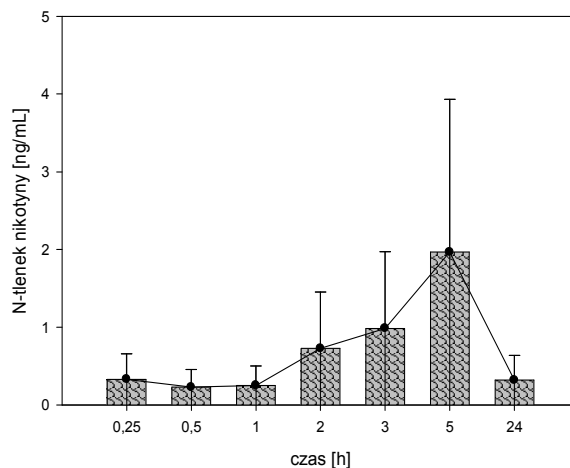
Ryc. 93 Stężenie nikotyny w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku nornikotyny maksymalne stężenie w surowicy krwi zwierząt wykazano również w 5 godzinie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy i wynosiło 88,93 ng/ml. Stężenie nornikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 94.



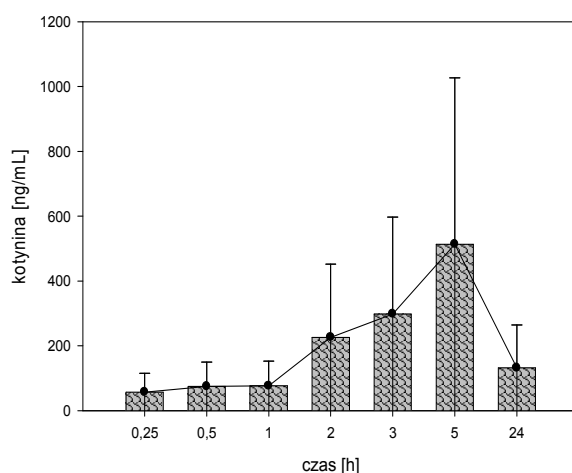
Ryc. 94 Stężenie normikotyny w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku N-tlenku nikotyny wykazano we krwi zwierząt maksymalne stężenie po 5 godzinach od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 1,97 ng/ml. Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 95.



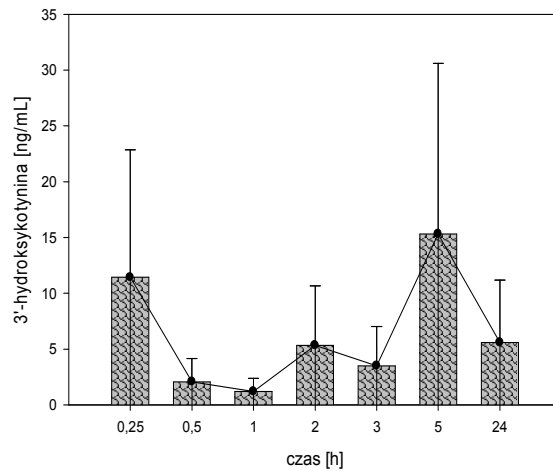
Ryc. 95 Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie kotyniny we krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło maksymalnie 513,51 ng/ml w 5 godzinie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 96.



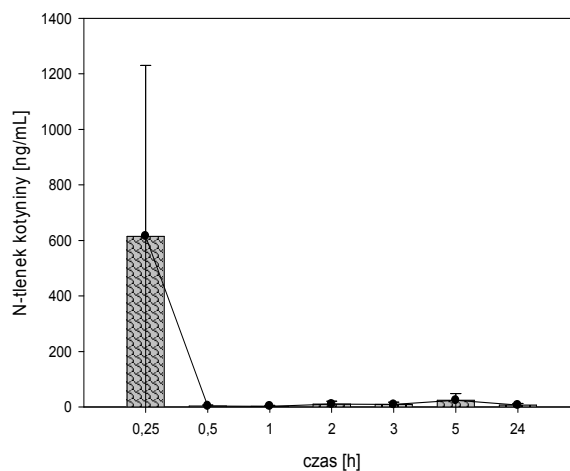
Ryc. 96 Stężenie kotyniny w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny wynosiło maksymalnie 15,31 ng/ml w 5 godzinie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 97.



Ryc. 97 Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Dla N-tlenku kotyniny, wykazano w surowicy krwi zwierząt maksymalne stężenie po 15 minutach od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 615 ng/ml. Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 98.



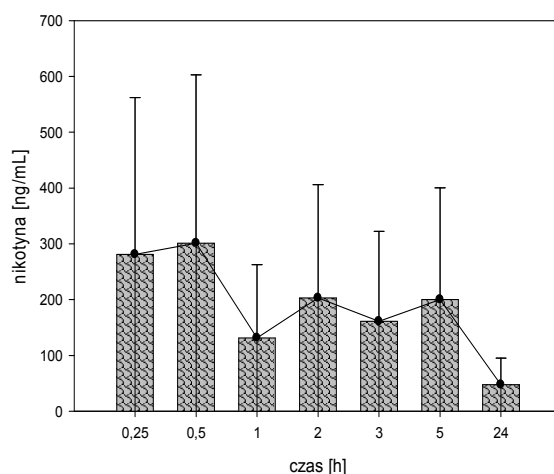
Ryc. 98 Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenia nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXXVI.

Tab. XXXVI Stężenia w surowicy krwi – samice uzależnione od alkoholu etylowego, które poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

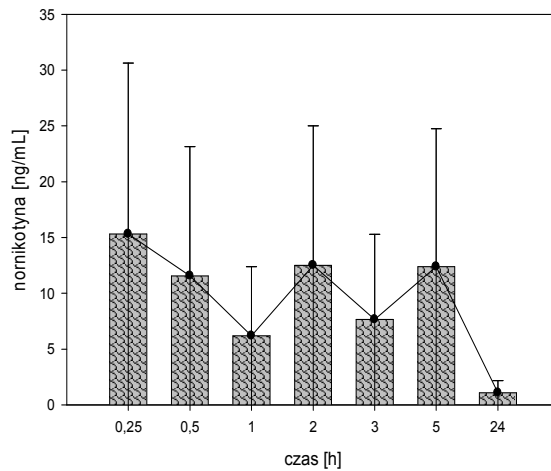
Czas [h]		Stężenie nikotyny [ng/ml]	Stężenie nornikotyny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku nikotyny [ng/ml]	Stężenie kotyniny [ng/ml]	Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku kotyniny [ng/ml]
0,25	Średnia	240,42	11,51	0,33	57,74	11,43	615,23
	±SD	269,15	9,51	0,11	49,97	17,04	1057,47
0,5	Średnia	190,83	10,72	0,23	75,12	2,08	3,51
	±SD	77,46	0,69	0,04	15,12	0,87	0,95
1	Średnia	177,02	8,55	0,25	76,70	1,20	2,99
	±SD	78,01	8,08	0,04	12,91	0,11	1,37
2	Średnia	328,51	15,43	0,73	226,30	5,33	10,19
	±SD	146,21	2,77	0,07	14,41	0,10	0,59
3	Średnia	749,85	29,65	0,99	298,44	3,51	8,72
	±SD	270,75	14,86	0,24	47,82	0,25	2,77
5	Średnia	1166,87	88,93	1,97	513,51	15,31	23,91
	±SD	615,55	21,80	0,78	98,33	12,07	12,06
24	Średnia	94,91	6,58	0,32	132,43	5,60	6,61
	±SD	35,87	4,28	0,03	30,03	5,44	4,48

Stężenia nikotyny w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło maksymalnie 301,35 ng/ml w czasie 30 minut po podaniu alkoholu i zakończeniu ekspozycji na dym. Stężenie nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 99.



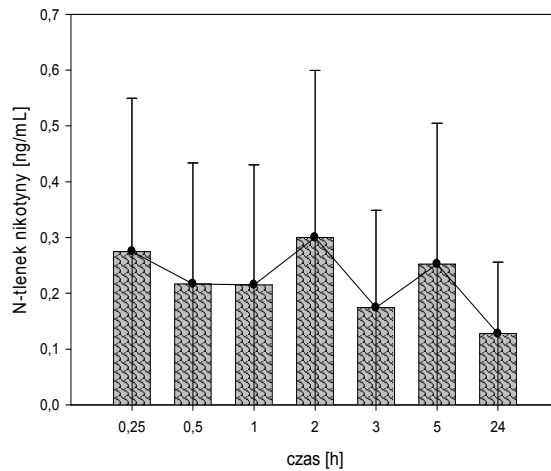
Ryc. 99 Stężenie nikotyny w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie nornikotyny wynosiło od 15,31 ng/ml w czasie 15 minut od padania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy bza to wartość maksymalna zanotowana w badanych przedziałach czasowych. Stężenie nornikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 100.



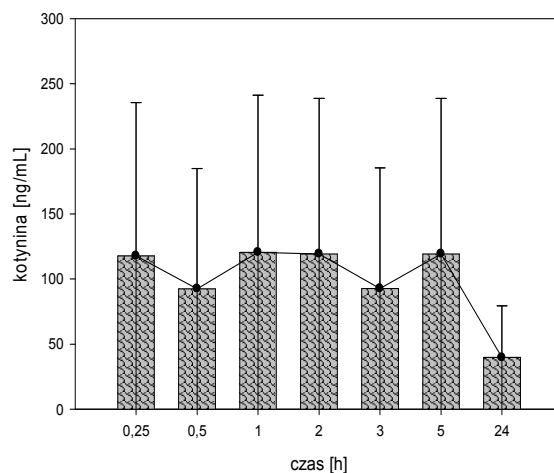
Ryc. 100 Stężenie normikotyny w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie N-tlenku nikotyny wykazywało maksymalne wartości w 2 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy wynoszące 0,30 ng/ml. Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 101.



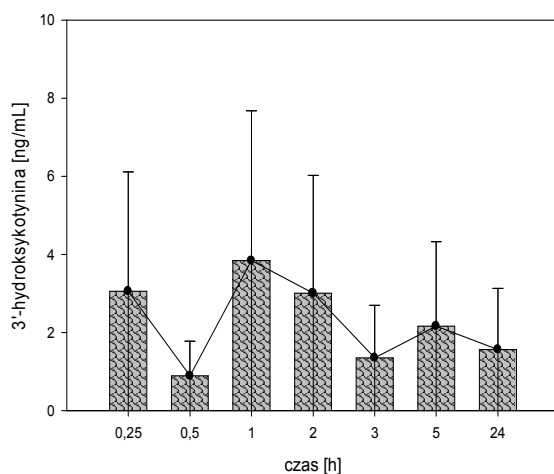
Ryc. 101 Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku kotyniny stężenie maksymalne wynoszące 120,53 ng/ml występowało w 1 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym. Stężenie kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 102.



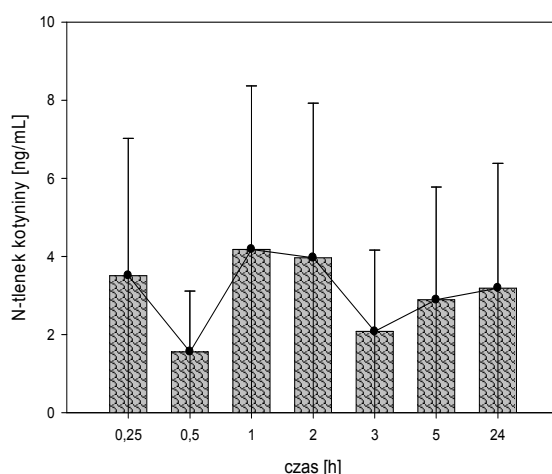
Ryc. 102 Stężenie kotyniny w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Trans-3'-hydroksykotynina maksymalne stężenie wykazywała w pierwszej godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wynosiło 3,84 ng/ml. Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny w zależności od czasu, w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 103.



Ryc. 103 Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku N-tlenku kotyniny, wykazano w surowicy krwi zwierząt maksymalne stężenie po 1 godzinie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 4,18 ng/ml. Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 104.



Ryc. 104 Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

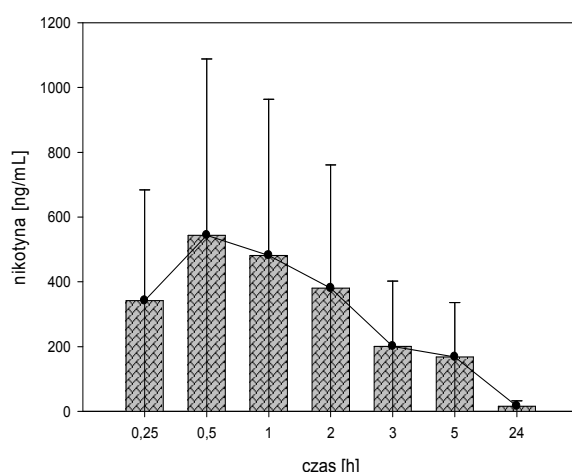
Stężenia nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny w surowicy krwi samic uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXXVII.

Tab. XXXVII Stężenia w surowicy krwi – samice uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Czas [h]		Stężenie nikotyny [ng/ml]	Stężenie nornikotyny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku nikotyny [ng/ml]	Stężenie kotyniny [ng/ml]	Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku kotyniny [ng/ml]
0,25	Średnia	280,99	15,31	0,27	117,77	3,06	3,51
	±SD	79,14	8,42	0,08	23,08	1,29	1,08
0,5	Średnia	301,35	11,58	0,22	92,47	0,89	1,56
	±SD	47,40	2,26	0,05	16,41	0,23	0,23
1	Średnia	131,46	6,19	0,21	120,53	3,84	4,18
	±SD	37,53	1,14	0,05	30,20	3,63	2,10
2	Średnia	202,98	12,51	0,30	119,32	3,01	3,96
	±SD	49,56	0,91	0,11	15,40	1,50	2,93
3	Średnia	161,20	7,65	0,17	92,71	1,35	2,08
	±SD	84,75	4,80	0,04	8,30	0,23	0,89
5	Średnia	200,05	12,38	0,25	119,31	2,16	2,89
	±SD	69,10	2,85	0,16	24,89	0,82	1,05
24	Średnia	47,73	1,10	0,13	39,75	1,56	3,19
	±SD	18,94	0,87	0,05	19,16	0,79	2,57

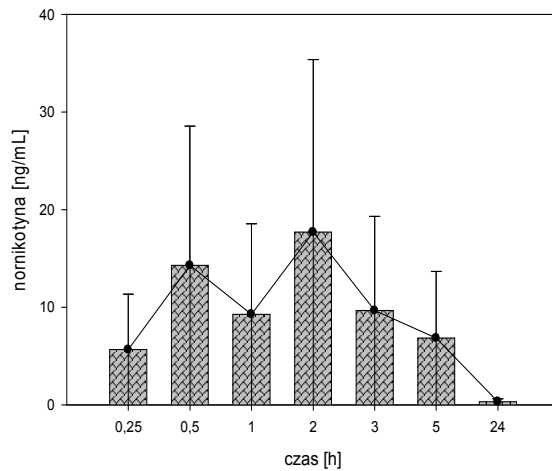
7.8 Wyniki oznaczeń - nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny – samce uzależnione od alkoholu etylowego

Stężenie nikotyny we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło maksymalnie 543,91 ng/ml w 30 minucie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 105.



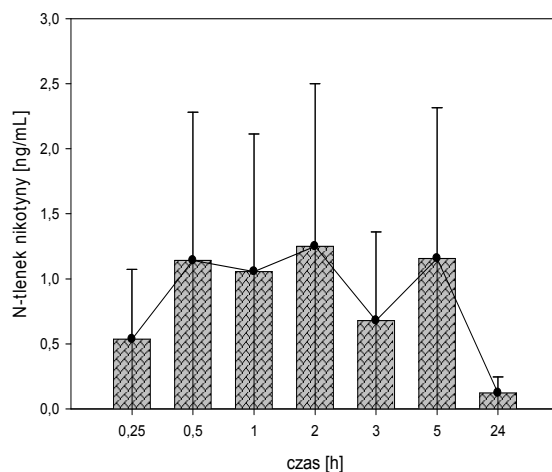
Ryc. 105 Stężenie nikotyny w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku nornikotyny maksymalne stężenie w surowicy krwi zwierząt wykazano w 2 godzinie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy i wynosiło ono 17,68 ng/ml. Stężenie nornikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 106.



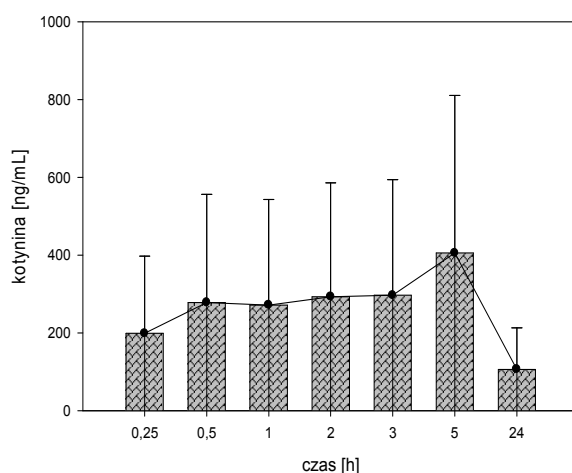
Ryc. 106 Stężenie normikotyny w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku N-tlenku nikotyny wykazano we krwi zwierząt maksymalne stężenie po 2 godzinach od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 1,25 ng/ml. Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 107.



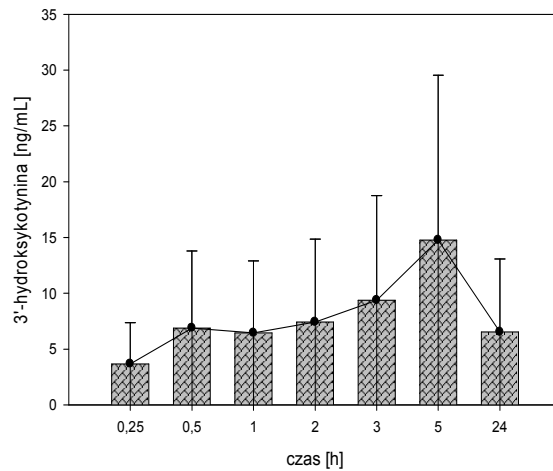
Ryc. 107 Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie kotyniny we krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło maksymalnie 405,38 ng/ml w 5 godzinie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 108.



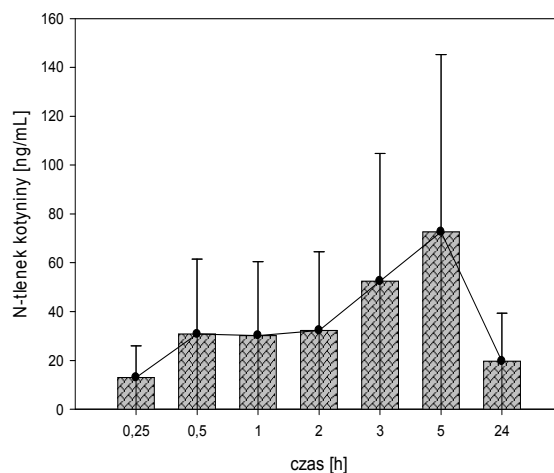
Ryc. 108 Stężenie kotyniny w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny wynosiło maksymalnie 14,77 ng/ml w 5 godzinie od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 109.



Ryc. 109 Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku N-tlenku kotyniny, wykazano w surowicy krwi zwierząt maksymalne stężenie po 5 godzinach od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 72,60 ng/ml. Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 110.



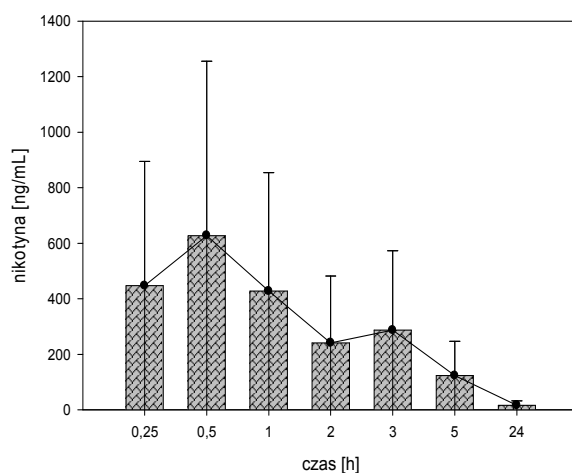
Ryc. 110 Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenia nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny w surowicy krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXXVIII.

Tab. XXXVIII Stężenia w surowicy krwi – samce uzależnione od alkoholu etylowego, które poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

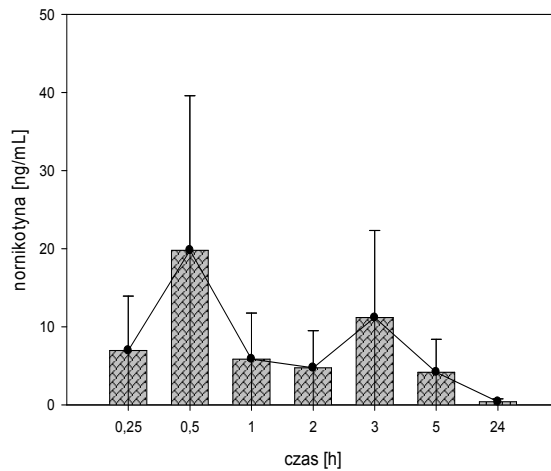
Czas [h]		Stężenie nikotyny [ng/ml]	Stężenie nornikotyny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku nikotyny [ng/ml]	Stężenie kotyniny [ng/ml]	Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku kotyniny [ng/ml]
0,25	Średnia	341,85	5,66	0,54	198,73	3,68	12,98
	±SD	249,56	4,97	0,08	21,71	0,61	8,92
0,5	Średnia	543,91	14,28	1,14	278,03	6,89	30,76
	±SD	313,89	10,61	0,30	39,40	1,32	12,81
1	Średnia	481,72	9,28	1,06	271,58	6,46	30,20
	±SD	385,13	6,00	0,16	30,71	0,63	3,19
2	Średnia	380,54	17,68	1,25	293,02	7,42	32,24
	±SD	107,06	11,29	0,53	54,98	3,19	20,00
3	Średnia	201,06	9,66	0,68	296,82	9,38	52,39
	±SD	76,61	6,89	0,16	18,39	3,23	19,66
5	Średnia	168,24	6,83	1,16	405,38	14,77	72,60
	±SD	32,50	1,66	0,10	41,84	6,63	35,41
24	Średnia	16,40	0,32	0,12	106,56	6,54	19,69
	±SD	0,13	0,16	0,07	57,12	2,05	14,16

Stężenia nikotyny w surowicy krwi samców niezależnych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie wynosiło maksymalnie 627,67 ng/ml w 30 minucie po podaniu alkoholu etylowego i zakończeniu ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie nikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 111.



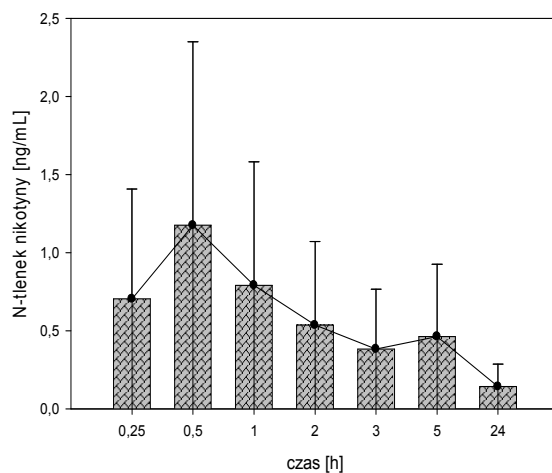
Ryc. 111 Stężenie nikotyny w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie nornikotyny wynosiło maksymalnie 19,78 ng/ml w 30 minucie po podaniu alkoholu etylowego i zakończeniu ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie nornikotyny w zależności od czasu w surowicy krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 112.



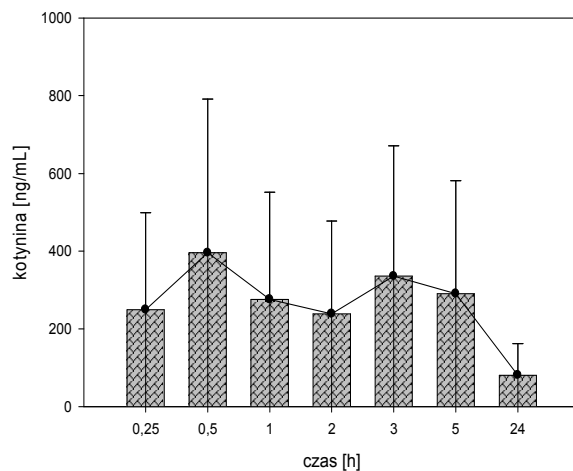
Ryc. 112 Stężenie nornikotyiny w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenie N-tlenku nikotyiny wykazywało najwyższe wartości w 30 minucie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy wynoszące 1,18 ng/ml. Stężenie N-tlenku nikotyiny w zależności od czasu w surowicy krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 113.



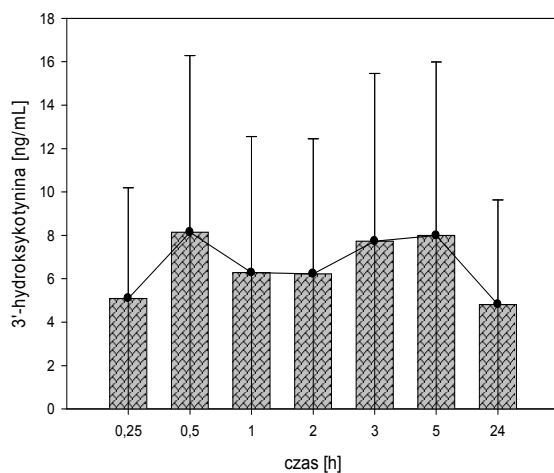
Ryc. 113 Stężenie N-tlenku nikotyny w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku kotyniny stężenie maksymalne wynoszące 395,82 ng/ml występowało w 30 minucie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy. Stężenie kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 114.



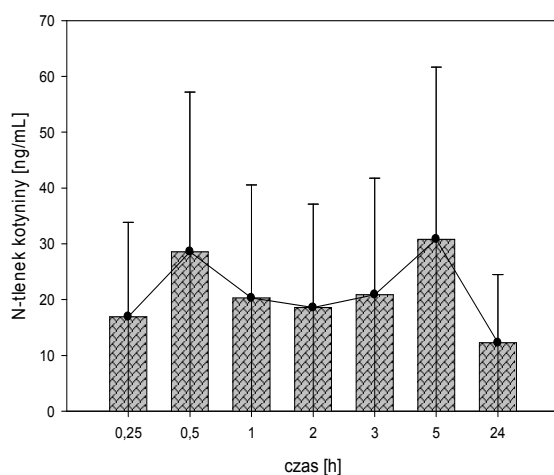
Ryc. 114 Stężenie kotyniny w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Trans-3'-hydroksykotynina najwyższe stężenie wykazywała w 30 minucie od podania alkoholu etylowego i zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wynosiło 8,14 ng/ml. Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny w zależności od czasu, w surowicy krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono na Rycinie 115.



Ryc. 115 Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

W przypadku N-tlenku kotyniny, wykazano w surowicy krwi zwierząt najwyższe stężenie po 5 godzinach od zakończenia ekspozycji na dym tytoniowy, które wyniosło 30,82 ng/ml. Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu w surowicy krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, poddanych ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. przedstawiono na Rycinie 116.



Ryc. 116 Stężenie N-tlenku kotyniny w zależności od czasu – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Stężenia nikotyny, nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny w surowicy krwi samców uzależnionych od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie przedstawiono w Tabeli XXXIX.

Tab. XXXIX Stężenia w surowicy krwi – samce uzależnione od alkoholu etylowego, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

Czas [h]		Stężenie nikotyny [ng/ml]	Stężenie nornikotyny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku nikotyny [ng/ml]	Stężenie kotyniny [ng/ml]	Stężenie trans-3'-hydroksykotyniny [ng/ml]	Stężenie N-tlenku kotyniny [ng/ml]
0,25	Średnia	447,15	6,97	0,70	249,51	5,09	16,92
	±SD	208,75	3,13	0,20	63,69	1,01	2,07
0,5	Średnia	627,67	19,78	1,18	395,82	8,14	28,58
	±SD	170,71	13,39	0,48	149,48	3,99	18,46
1	Średnia	427,16	5,88	0,79	275,92	6,28	20,29
	±SD	137,07	5,16	0,31	54,59	1,64	6,30
2	Średnia	240,76	4,74	0,54	238,84	6,22	18,56
	±SD	150,71	4,15	0,09	81,19	2,13	7,19
3	Średnia	286,79	11,17	0,38	335,73	7,73	20,87
	±SD	80,26	6,65	0,05	89,88	3,36	10,57
5	Średnia	123,23	4,20	0,46	290,62	7,99	30,82
	±SD	11,54	2,17	0,13	103,02	2,39	10,38
24	Średnia	16,34	0,40	0,14	81,15	4,82	12,25
	±SD	4,77	0,19	0,06	6,45	0,91	1,92

7.9 Parametry farmakokinetyczne dla alkoholu etylowego i aldehydu octowego

Dla alkoholu etylowego zastosowano jednokompartментowy model farmakokinetyczny z wchłanianiem pierwszego rzędu. Przyjęto, że eliminacja praktycznie sprowadza się do metabolizmu etanolu do aldehydu octowego, zaniedbując nieistotne ilościowo inne drogi eliminacji, w tym wydalanie postaci niezmienionej przez płuca czy nerki.

Dla procesów eliminacji alkoholu etylowego i aldehydu octowego przyjęto, że są procesami I rzędu.

W związku z tym model farmakokinetyczny określony jest przez cztery parametry:

$k_a[h^{-1}]$ - stała szybkości wchłaniania etanolu

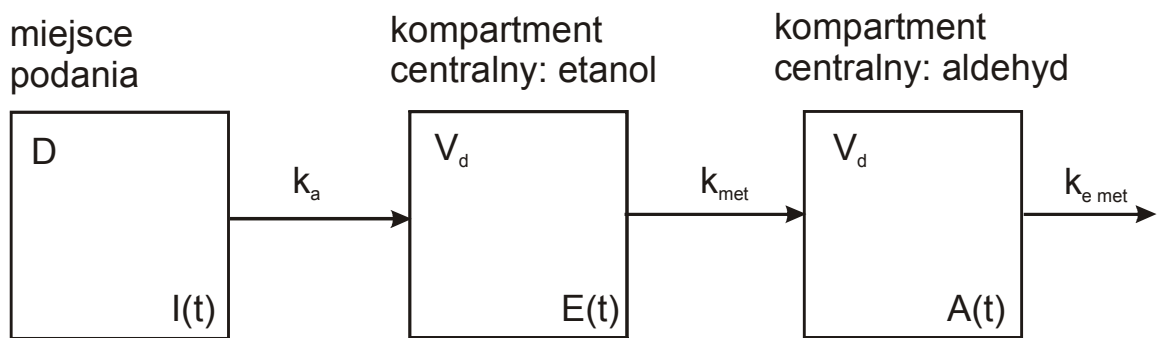
$k_{met}[h^{-1}]$ - stała szybkości metabolizmu etanolu

$k_{emet}[h^{-1}]$ - stała szybkości eliminacji etanolu

$V_d[L/kg]$ - objętość dystrybucji (wspólna dla obu substancji).

Podana dawka alkoholu etylowego wynosiła 2 g/kg masy ciała.

Schemat zastosowanego modelu farmakokinetycznego przedstawiono na Rycinie 117.



Ryc. 117 Schemat zastosowanego modelu farmakokinetycznego. $I(t)$ – ilość alkoholu etylowego w miejscu podania, $E(t)$ – ilość alkoholu etylowego w kompartmentcie centralnym, $A(t)$ – ilość aldehydu octowego w kompartmentcie centralnym

Układ równań różniczkowych opisujących model:

$$\frac{dI}{dt} = -k_a I$$

$$\frac{dE}{dt} = k_a I - k_{met} E$$

$$\frac{dA}{dt} = k_{met} E - k_{e\ met} A$$

z warunkiem początkowym:

$$I(0) = D, E(0) = 0, A(0) = 0.$$

Układ ten ma rozwiązanie analityczne na $E(t)$ i $A(t)$.

$$E(t) = \frac{k_a D}{k_a - k_{met}} (e^{-k_{met} t} - e^{-k_a t})$$

$$A(t) = \frac{k_a k_{met} D}{(k_a - k_{e\ met})(k_a - k_{met})(k_{e\ met} - k_{met})}$$

$$\left((k_a - k_{e\ met}) e^{-k_{met} t} + (k_{met} - k_a) e^{-k_{e\ met} t} + (k_{e\ met} - k_{met}) e^{-k_a t} \right)$$

Stężenia obu substancji obliczono dzieląc ilości przez objętość dystrybucji V_d .

W celu wyznaczenia wpływu badanych czynników, tj. płci, dymu tytoniowego i uzależnienia na parametry farmakokinetyczne skonstruowano dla nich następujący model populacyjny:

$$\log k_a = \beta_{ka0} + SEX \cdot \beta_{kaSEX} + SMOKE \cdot \beta_{kaSMOKE} + ADDICT \cdot \beta_{kaADDICT}$$

$$\log k_{met} = \beta_{kmet0} + SEX \cdot \beta_{kmetSEX} + SMOKE \cdot \beta_{kmetSMOKE} + ADDICT \cdot \beta_{kmetADDICT}$$

$$\log k_{emet} = \beta_{kemet0} + SEX \cdot \beta_{kemetSEX} + SMOKE \cdot \beta_{kemetSMOKE} + ADDICT \cdot \beta_{kemetADDICT}$$

$$\log V_d = \beta_{Vd0} + SEX \cdot \beta_{VdSEX} + SMOKE \cdot \beta_{VdSMOKE} + ADDICT \cdot \beta_{VdADDICT}$$

Model ten zakłada logarytmiczno-normalny rozkład wszystkich parametrów farmakokinetycznych.

Przyjęto następujące kodowanie:

SEX: ♂ - 0, ♀ - 1

SMOKE: zwierzęta nieeksponowane na dym tytoniowy – 0, eksponowane na dym – 1

ADDICT: szczury niezależne – 0, uzależnione – 1.

Parametry β tego modelu populacyjnego wyznaczono przy użyciu programu Monolix 3.1 release 2 [Lavielle and Mentré, 2007; The Monolix Group, 2010]. Pierwotnie próbowano zastosować program NONMEM 7 [Bauer, 2009], jednak w przypadku danych rzadkich (jeden podmiot dostarcza tylko jednej pary oznaczeń alkohol etylowy – aldehyd octowy) prowadzi to do znacznych trudności numerycznych. Autorzy programu Monolix zastosowali zupełnie inne podejście, unikając zastosowanych w programie NONMEM przybliżeń, dzięki czemu lepiej radzi on sobie z tego typu danymi.

Uzyskano następujące wyniki:

* Eth_ald_lin5.mat

* December 19, 2010 at 19:30:01

Estimation of the population parameters

	Parameter	s.e. (lin)	r.s.e.(%)	p-value
K_a	0.65	0.077	12	
$\text{beta}_{k_a}(\text{SEX}_1)$	-0.364	0.13	35	0.0041
$\text{beta}_{k_a}(\text{SMOKE}_1)$	-0.49	0.13	27	0.00021
$\text{beta}_{k_a}(\text{ADDICT}_1)$	-0.0455	0.12	271	0.71
k_{met}	4.22	1.2	29	
$\text{beta}_{k_{met}}(\text{SEX}_1)$	1.14	0.49	43	0.02
$\text{beta}_{k_{met}}(\text{SMOKE}_1)$	-0.0902	0.27	305	0.74
$\text{beta}_{k_{met}}(\text{ADDICT}_1)$	-0.548	0.29	53	0.058
k_{emet}	968	3.3e+02	34	
$\text{beta}_{k_{emet}}(\text{SEX}_1)$	-0.889	0.52	58	0.085
$\text{beta}_{k_{emet}}(\text{SMOKE}_1)$	-0.442	0.32	72	0.16
$\text{beta}_{k_{emet}}(\text{ADDICT}_1)$	1.03	0.33	32	0.0018
V_d	0.107	0.031	29	
$\text{beta}_{V_d}(\text{SEX}_1)$	-1.05	0.5	47	0.034
$\text{beta}_{V_d}(\text{SMOKE}_1)$	-0.163	0.28	174	0.57
$\text{beta}_{V_d}(\text{ADDICT}_1)$	0.275	0.29	106	0.35

Model populacyjny przybiera zatem postać:

$$\log k_a = \log 0,650 - 0,364 \cdot \text{SEX} - 0,490 \cdot \text{SMOKE} - 0,046 \cdot \text{ADDICT}$$

$$\log k_{met} = \log 4,22 + 1,14 \cdot \text{SEX} - 0,09 \cdot \text{SMOKE} - 0,548 \cdot \text{ADDICT}$$

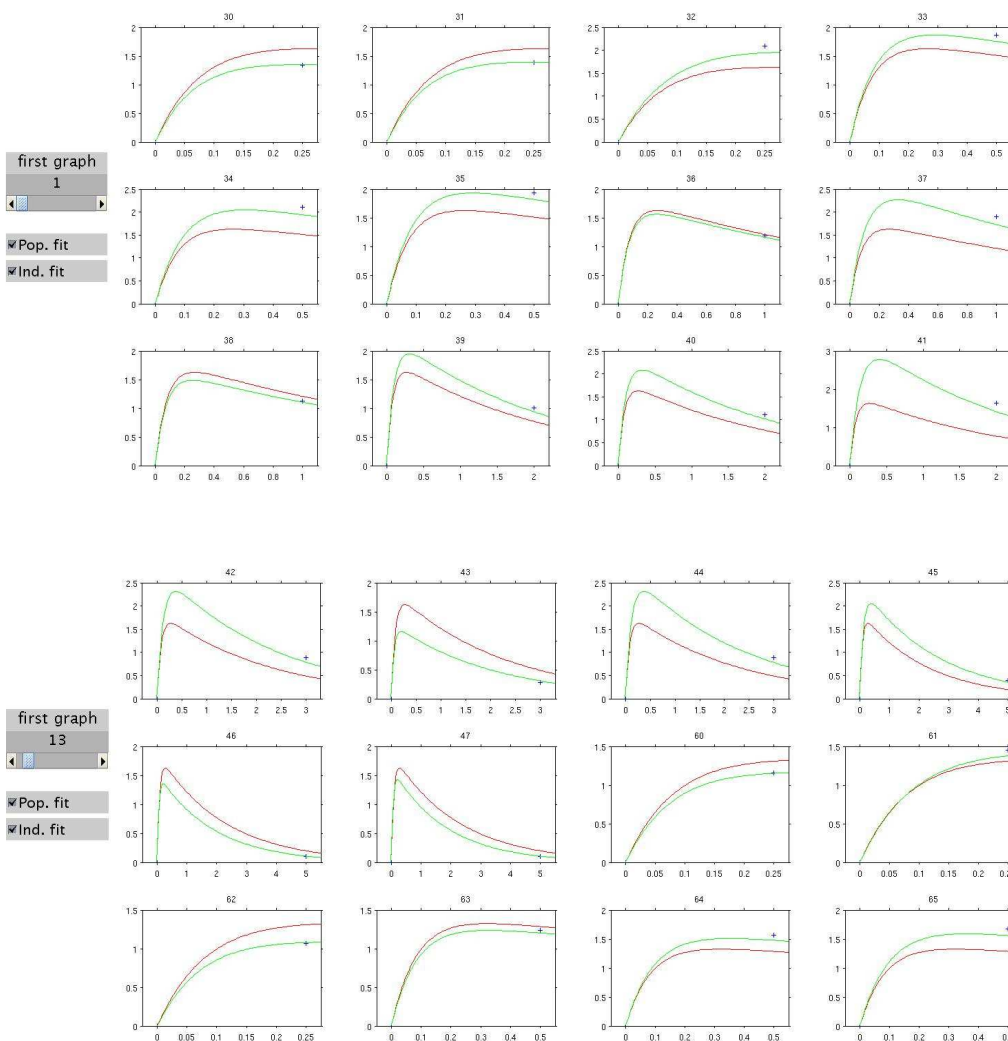
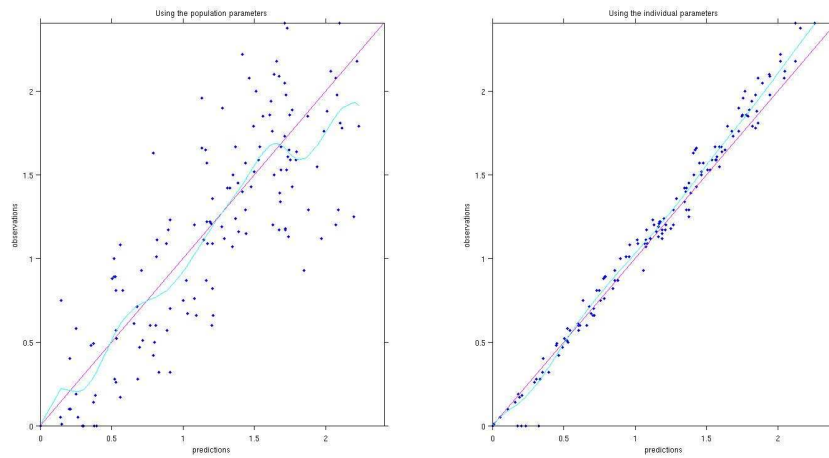
$$\log k_{emet} = \log 968 - 0,89 \cdot \text{SEX} - 0,44 \cdot \text{SMOKE} + 1,03 \cdot \text{ADDICT}$$

$$\log V_d = \log 0,107 - 1,05 \cdot \text{SEX} - 0,163 \cdot \text{SMOKE} + 0,275 \cdot \text{ADDICT}$$

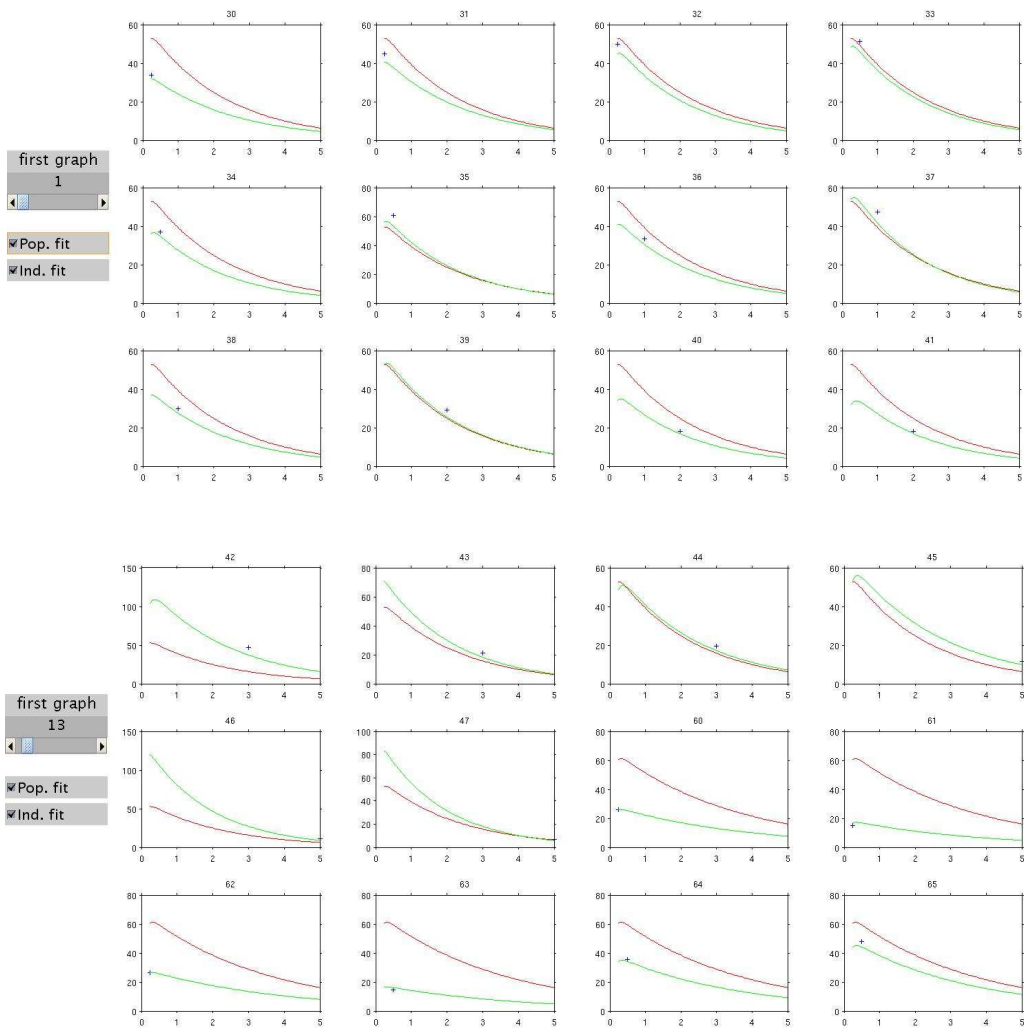
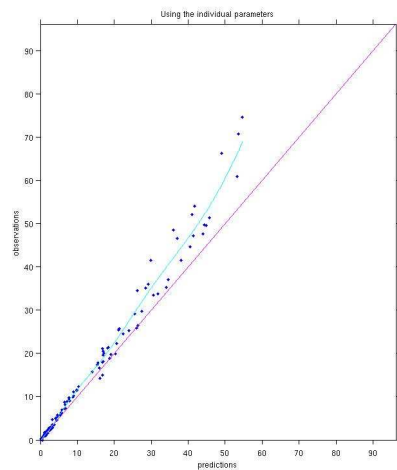
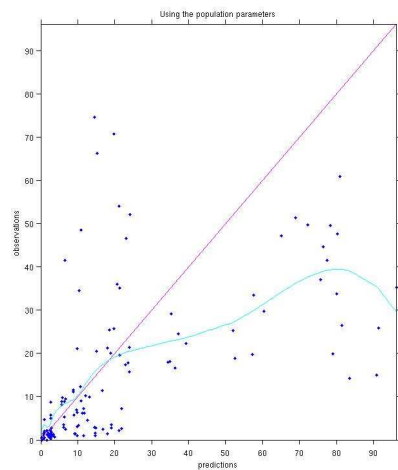
Wykazano, że istotne statystycznie są następujące zależności:

- Stała szybkości wchłaniania alkoholu etylowego jest istotnie mniejsza u samic
- Stała szybkości wchłaniania alkoholu etylowego jest istotnie mniejsza u osobników poddanych działaniu dymu tytoniowego
- Stała szybkości metabolizmu alkoholu etylowego jest istotnie większa u samic
- Stała szybkości eliminacji aldehydu octowego jest istotnie większa u zwierząt uzależnionych
- Objętość dystrybucji jest istotnie mniejsza u samic.

Zdolność modelu do przewidywania stężeń alkoholu etylowego i aldehydu octowego przedstawiono na Rycinach 118-119.



Ryc. 118 Zdolność modelu do przewidywania stężeń alkoholu etylowego



Ryc. 119 Zdolność modelu do przewidywania stężeń aldehydu octowego

7.10 Parametry farmakokinetyczne dla alkoholu metylowego

Parametrami, które wykorzystane zostały dla porównania poszczególnych grup zwierząt były:

- Pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas, (AUC – *Area Under the Curve*) – parametr ten określa, jakie jest narażenie organizmu na analizowaną substancję. Określa on ilość ksenobiotyku, jaka znajduje się w organizmie. Na podstawie pola powierzchni pod krzywą stężenie-czas możliwe jest obliczenie innych parametrów farmakokinetycznych
- Średni czas przebywania ksenobiotyku w ustroju (MRT – Mean Residence Time) – parametr ten określa średni czas jaki przebywa ksenobiotyk w organizmie. Wartość średniego czasu przebywania w organizmie wskazuje na przebieg procesów kinetycznych zachodzących w organizmie (wchłanianiu, dystrybucji, wydalaniu)
- Stała szybkości eliminacji, k – parametr ten określa jak przebiegają procesy wydalania. Na stałą szybkości eliminacji składa się wiele czynników takich jak klirens, objętość dystrybucji
- Biologiczny okres półtrwania, $t_{1/2}$ – parametr ten określa czas, po którym stężenie ksenobiotyku w krwi/osoczu zmniejsza się o połowę. Na podstawie biologicznego czasu półtrwania ksenobiotyki dzielą się na długo, średnio i krótko działające.

Dla metanolu parametrami, które wykorzystane zostały dla porównania poszczególnych grup zwierząt były:

- Pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas
- Średni czas przebywania ksenobiotyku w ustroju
- Stała szybkości eliminacji
- Biologiczny okres półtrwania.

Porównywano poszczególne grupy w opisany poniżej sposób:

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego:

- a – samice grupy I/samce grupy I
- b – samice grupy III/samce grupy III
- e – samice grupy I/samice grupy III
- f – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- c – samice grupy I/samce grupy I
- d – samice grupy III/samce grupy III
- g – samice grupy I/samice grupy III
- h – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- i – samice grupy I
- j – samice grupy III
- k – samce grupy I
- l – samce grupy III.

Na podstawie porównania wartości pola pod krzywą stężenie-czas, średniego czasu przebywania w organizmie, stałej eliminacji oraz biologicznego okresu półtrwania otrzymano następujące wyniki:

- Brak różnic statystycznie znamiennej we wszystkich parametrach farmakokinetycznych dla metanolu.

Parametry farmakokinetyczne dla metanolu przedstawiono szczegółowo w Tabeli XL oraz na Rycinach 120-127.

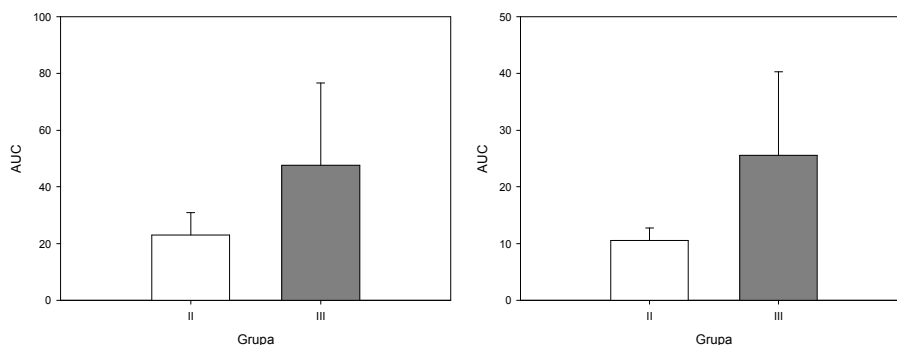
Tab. XL Parametry farmakokinetyczne dla metanolu

Parametr	Grupa	Samice niezależne		Samice uzależnione		Samce niezależne		Samce uzależnione	
		II	III	II	III	II	III	II	III
AUC		23,29	44,31	9,87	23,34	20,54	87,72	34,89	36,51
		15,13	20,51	8,7	12,068	14,33	16,64	21,03	27,05
		30,75	78,19	12,99	41,27	30,69	47,74	40,25	32,78
	Średnia	23,06	47,67	10,52	25,56	21,85	50,70	32,06	32,11
	±SD	7,813	28,986	2,218	14,727	8,259	35,632	9,918	4,765
MRT		2,21	5,58	2,13	2,39	2,1	14,02	3,7	4,22
		2,82	2,38	1,73	1,78	1,97	3,2	2,51	4,07
		2,33	9,6	2,08	3,07	2,86	6,69	3,78	3,12
	Średnia	2,453	5,853	1,98	2,41	2,31	7,97	3,33	3,80
	±SD	0,323	3,618	0,218	0,645	0,481	5,522	0,711	0,597
k		1,52	0,2026	0,330	0,393	0,638	0,074	0,3147	0,2272
		0,4158	0,6429	0,350	0,578	0,919	0,385	0,4483	0,2659
		0,8598	0,1088	0,310	0,419	0,369	0,164	0,3133	0,3961
	Średnia	0,932	0,318	0,330	0,463	0,642	0,208	0,359	0,30
	±SD	0,556	0,285	0,020	0,100	0,275	0,160	0,078	0,088
t_{0.5}		0,46	3,42	2,1	1,76	1,09	9,41	2,2	3,04
		1,67	1,01	1,76	1,99	0,75	1,8	1,54	2,61
		0,86	6,37	2,18	1,66	1,88	4,22	2,21	1,75
	Średnia	0,997	3,600	2,01	1,80	1,24	5,14	1,98	2,47
	±SD	0,616	2,685	0,22	0,17	0,58	3,89	0,384	0,657

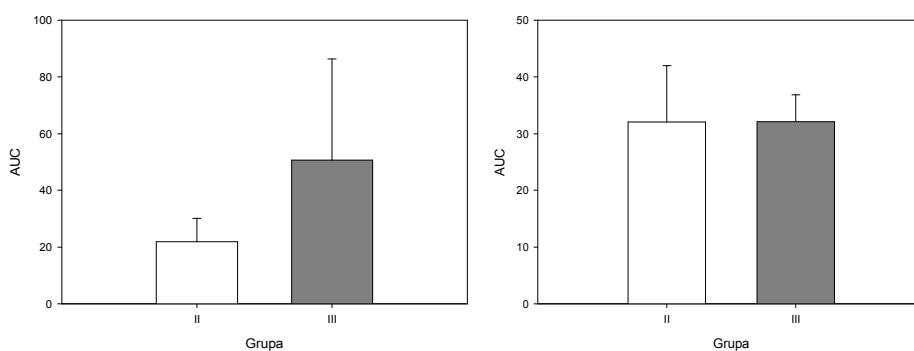
I – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

II – zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

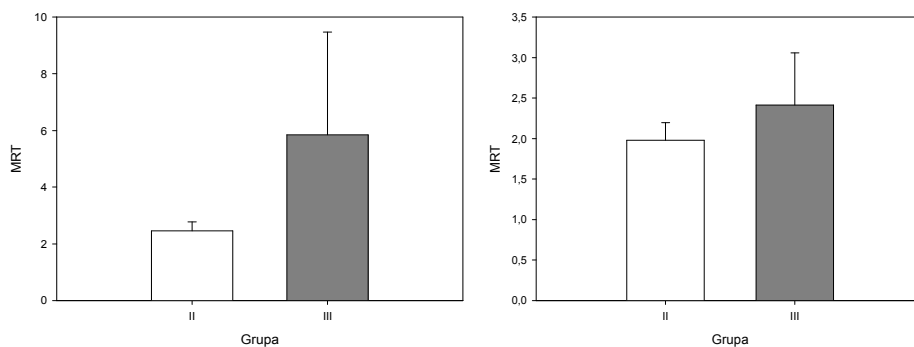
III - zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie



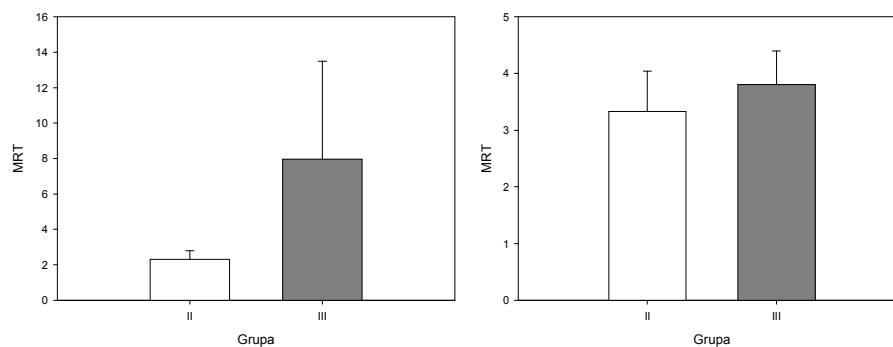
Ryc. 120 Pole pod krzywą stężenie-czas dla metanolu – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



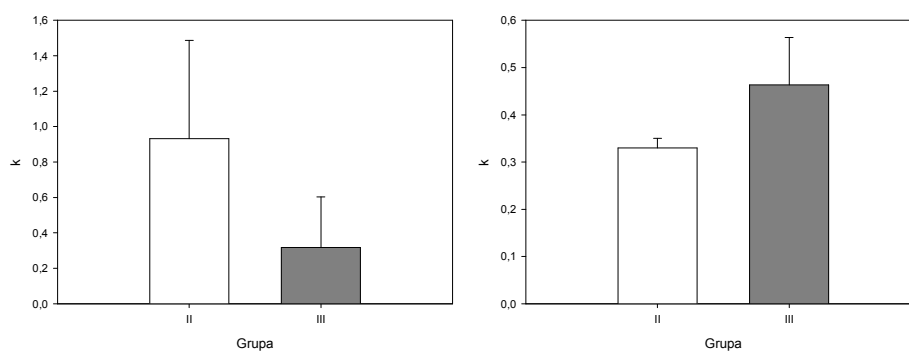
Ryc. 121 Pole pod krzywą stężenie-czas dla metanolu – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



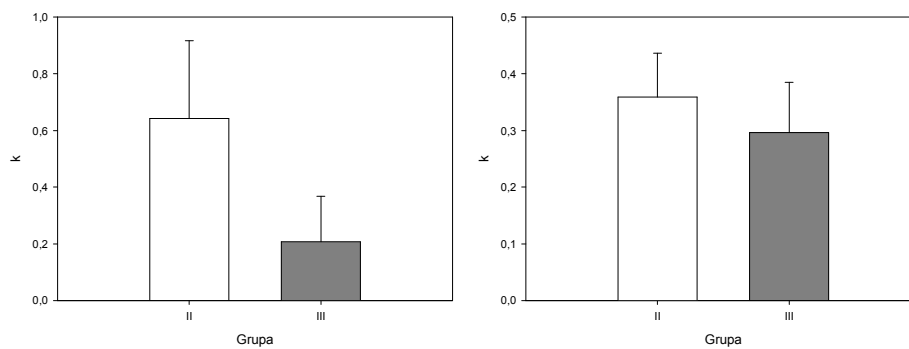
Ryc. 122 Średni czas przebywania w organizmie dla metanolu – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



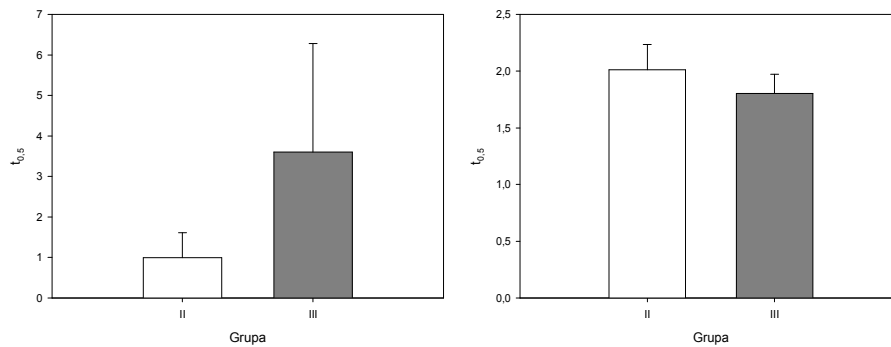
Ryc. 123 Średni czas przebywania w organizmie dla metanolu – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



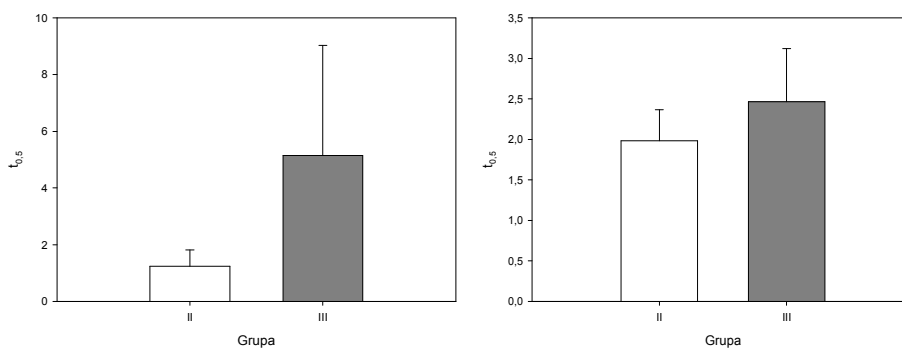
Ryc. 124 Stała eliminacji dla metanolu – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 125 Stała eliminacji dla metanolu – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 126 Biologiczny okres półtrwania dla metanolu – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 127 Biologiczny okres półtrwania dla metanolu – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych

7.11 Parametry farmakokinetyczne dla acetonu

Dla acetonu parametrami, które wykorzystane zostały dla porównania poszczególnych grup zwierząt były:

- Pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas.

Porównywano poszczególne grupy w opisany poniżej sposób:

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego:

- a – samice grupy I/samce grupy I
- b – samice grupy III/samce grupy III
- e – samice grupy I/samice grupy III
- f – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- c – samice grupy I/samce grupy I
- d – samice grupy III/samce grupy III
- g – samice grupy I/samice grupy III
- h – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- i – samice grupy I
- j – samice grupy III
- k – samce grupy I
- l – samce grupy III.

Na podstawie porównania wartości pola pod krzywą stężenie-czas, średniego czasu przebywania w organizmie, stałej eliminacji oraz biologicznego okresu półtrwania otrzymano następujące wyniki:

- Brak różnic statystycznie znamiennej we wszystkich parametrach farmakokinetycznych dla acetonu.

Parametry farmakokinetyczne dla acetonu przedstawiono szczegółowo w Tabeli XLI oraz na Rycinach 128-129.

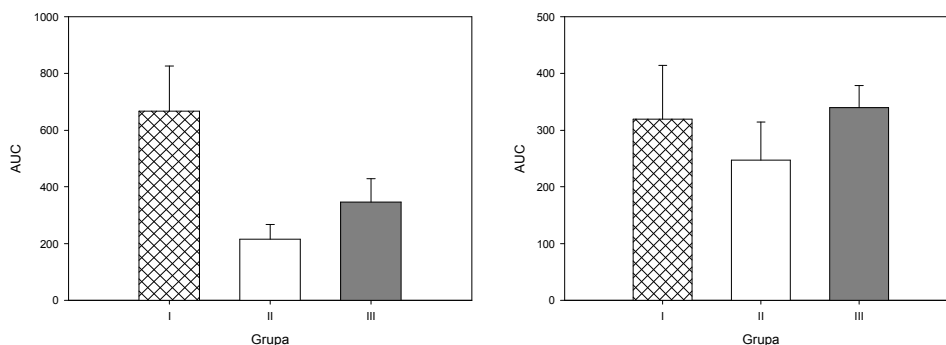
Tab. XLI Parametry farmakokinetyczne dla acetonu

Parametr	Grupa	Samice niezależnione			Samice uzależnione			Samce niezależnione			Samce uzależnione		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
AUC		661,6	215,7	366,7	323,1	320,6	338,32	384,2	257,6	280,5	264,8	195,4	244,8
		511,4	164,8	255,3	223,1	189,2	301,65	177,5	141	146,9	121,8	215,6	129,2
		829,6	266,9	417,1	412,6	231,7	379,73	601,5	320,2	427,1	266,6	340,6	363,2
	Średni a	667,5	215,8	346,4	319,6	247,17	339,9	387,7	239,6	284,8	217,73	250,53	245,73
	±SD	159,2	51,1	82,8	94,80	67,05	39,06	212,0	90,9	140,2	83,09	78,65	117,00

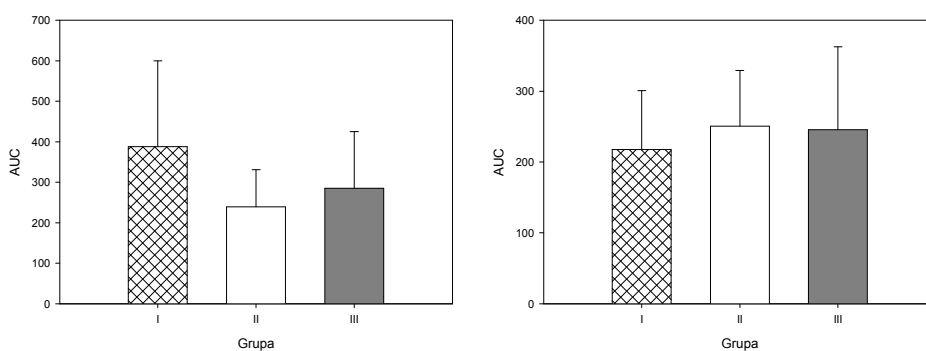
I – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

II – zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

III - zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie



Ryc. 128 Pole pod krzywą stężenie-czas dla acetonu – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 129 Pole pod krzywą stężenie-czas dla acetonu – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych

7.12 Parametry farmakokinetyczne dla alkoholu n-propylowego

Dla n-propanolu parametrami, które wykorzystane zostały dla porównania poszczególnych grup zwierząt były:

- Pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas
- Średni czas przebywania ksenobiotyku w ustroju
- Stała szybkości eliminacji
- Biologiczny okres półtrwania.

Porównywano poszczególne grupy w opisany poniżej sposób:

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego:

- a – samice grupy I/samce grupy I
- b – samice grupy III/samce grupy III
- e – samice grupy I/samice grupy III
- f – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- c – samice grupy I/samce grupy I
- d – samice grupy III/samce grupy III
- g – samice grupy I/samice grupy III
- h – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- i – samice grupy I
- j – samice grupy III
- k – samce grupy I
- l – samce grupy III.

Na podstawie porównania wartości pola pod krzywą stężenie-czas, średniego czasu przebywania w organizmie, stałej eliminacji oraz biologicznego okresu półtrwania otrzymano następujące wyniki:

- Brak różnic statystycznie znamiennej we wszystkich parametrach farmakokinetycznych dla n-propanolu.

Parametry farmakokinetyczne oraz dla n-propanolu przedstawiono szczegółowo w Tabeli XLII oraz na Rycinach 130-137.

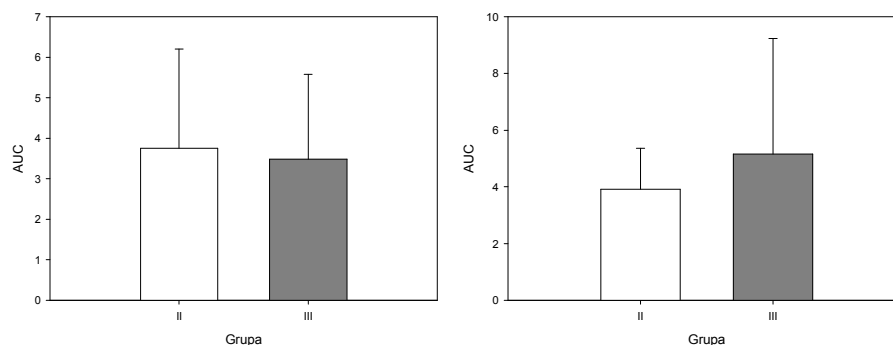
Tab. XLII Parametry farmakokinetyczne dla n-propanolu

Parametr	Grupa	Samice niezależnione		Samice uzależnione		Samce niezależnione		Samce uzależnione	
		II	III	II	III	II	III	II	III
AUC		4,024	3,5	3,89	4,014	2,333	4,429	2,022	4,38
		1,175	1,3727	2,48	1,77	1,23	4,668	3,5169	2,9462
		6,058	5,572	5,38	9,69	4,03	10,33	2,712	7,835
	Średnia	3,75	3,48	3,92	5,16	2,53	6,48	2,75	5,05
	±SD	2,45	2,10	1,45	4,08	1,41	3,34	0,75	2,51
MRT		2,02	2,24	1,93	4,107	2,35	6,01	1,7	5,01
		1,43	---	1,66	2,16	1,47	2,08	1,87	5,39
		1,86	2,45	2,02	8,83	3,55	9,35	1,84	9,32
	Średnia	1,77	2,35	1,87	5,03	2,46	5,81	1,80	6,57
	±SD	0,31	0,15	0,19	3,43	1,04	3,64	0,09	2,39
k		1,276	0,5733	0,56	0,297	0,474	0,193	1,455	0,241
		1,1217	0,9849	0,59	1,46	1,048	0,681	0,9613	0,1132
		1,614	0,4947	0,53	0,1178	0,299	0,119	1,1742	0,2292
	Średnia	1,337	0,684	0,560	0,625	0,607	0,331	1,20	0,19
	±SD	0,252	0,263	0,030	0,729	0,392	0,305	0,25	0,07
t_{0.5}		0,543	1,21	1,25	2,322	1,46	3,58	0,48	2,87
		0,62	0,7	1,18	0,472	0,66	1,02	0,72	6,12
		0,429	1,4	1,3	5,88	2,32	5,84	0,59	3,02
	Średnia	0,53	1,10	1,24	2,89	1,48	3,48	0,60	4,00
	±SD	0,10	0,36	0,06	2,75	0,83	2,41	0,12	1,83

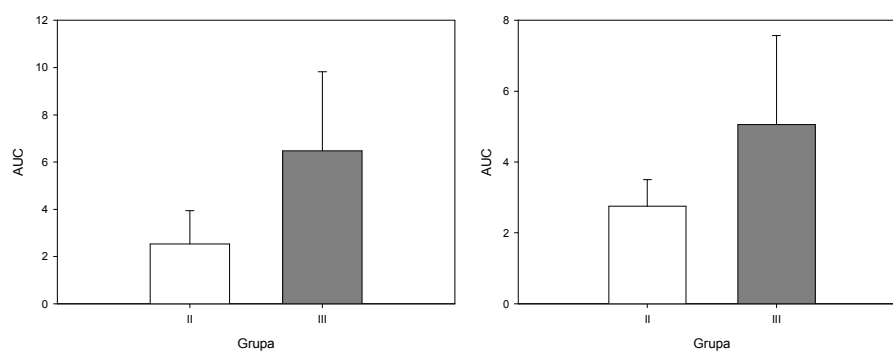
I – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

II – zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

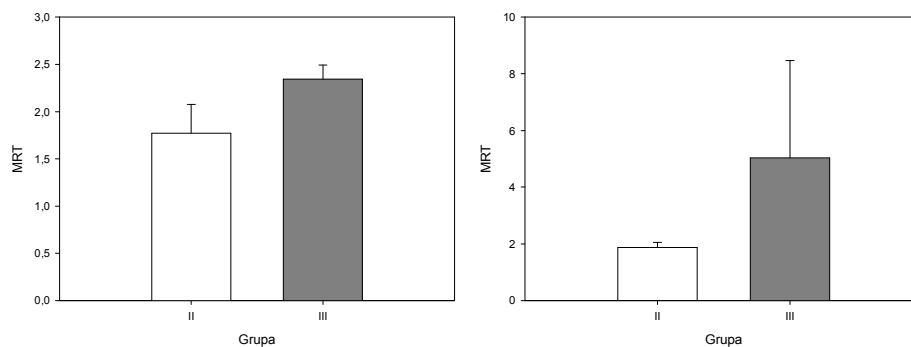
III - zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie



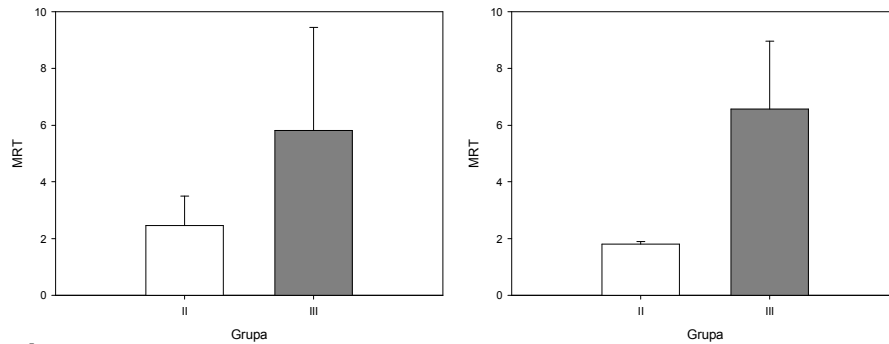
Ryc. 130 Pole pod krzywą stężenie-czas dla n-propanolu – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



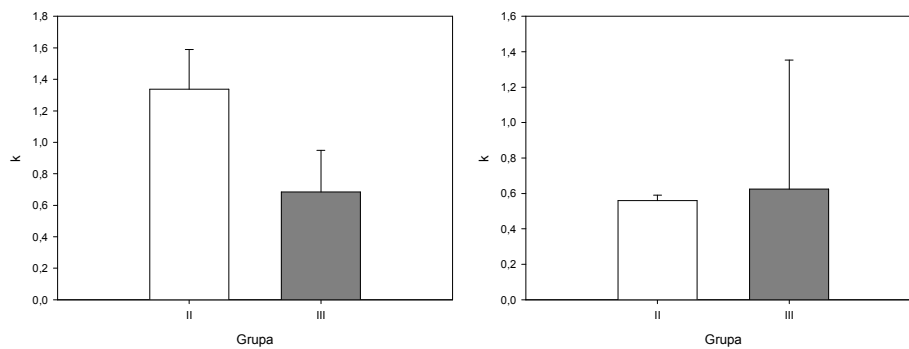
Ryc. 131 Pole pod krzywą stężenie-czas dla n-propanolu – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



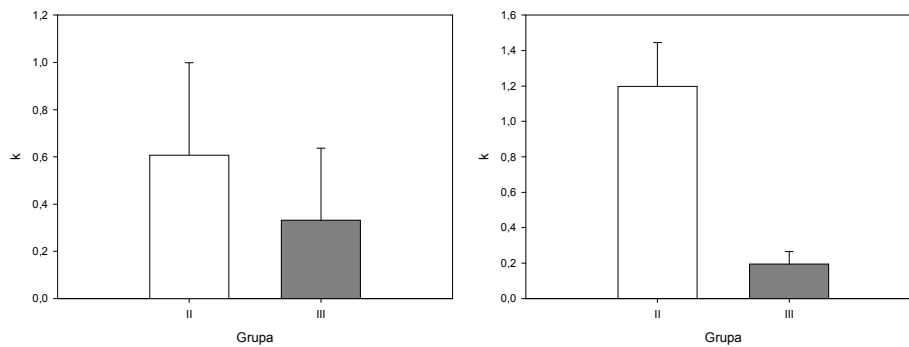
Ryc. 132 Średni czas przebywania w organizmie dla n-propanolu – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



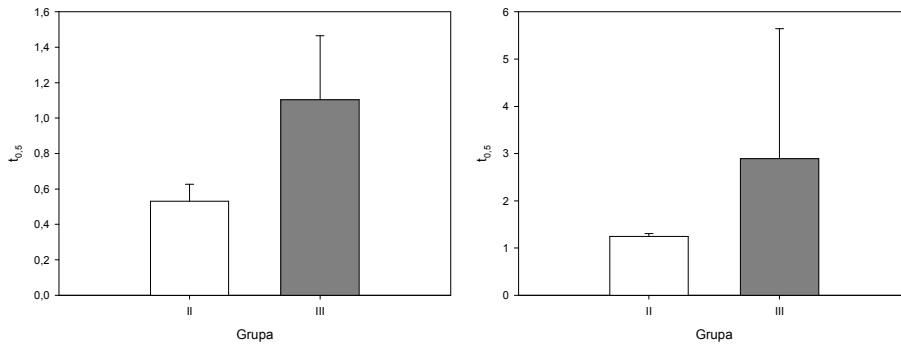
Ryc. 133 Średni czas przebywania w organizmie dla n-propanolu – od lewej: samce niezależnione, samce uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



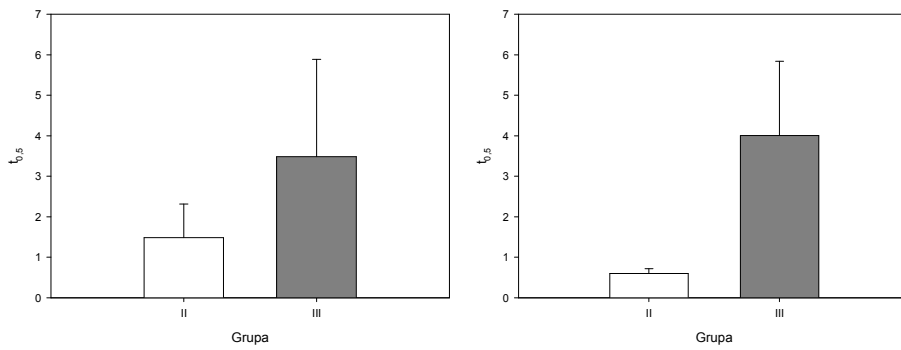
Ryc. 134 Stała eliminacji dla n-propanolu – od lewej: samce niezależnione, samce uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 135 Stała eliminacji dla n-propanolu – od lewej: samce niezależnione, samce uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 136 Biologiczny okres półtrwania dla n-propanolu – od lewej: samice niezależnione, samice uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 137 Biologiczny okres półtrwania dla n-propanolu – od lewej: samce niezależnione, samce uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych

7.13 Parametry farmakokinetyczne dla alkoholu n-butyłowego

Dla n-butanolu parametrami, które wykorzystane zostały dla porównania poszczególnych grup zwierząt były:

- Pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas
- Średni czas przebywania ksenobiotyku w ustroju
- Stała szybkości eliminacji
- Biologiczny okres półtrwania.

Porównywano poszczególne grupy w opisany poniżej sposób:

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego:

- a – samice grupy I/samce grupy I
- b – samice grupy III/samce grupy III
- e – samice grupy I/samice grupy III
- f – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- c – samice grupy I/samce grupy I
- d – samice grupy III/samce grupy III
- g – samice grupy I/samice grupy III
- h – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- i – samice grupy I
- j – samice grupy III
- k – samce grupy I
- l – samce grupy III.

Na podstawie porównania wartości pola pod krzywą stężenie-czas, średniego czasu przebywania w organizmie, stałej eliminacji oraz biologicznego okresu półtrwania otrzymano następujące wyniki:

- Brak różnic statystycznie znamiennej we wszystkich parametrach farmakokinetycznych dla n-butanolu.

Parametry farmakokinetyczne dla n-butanolu przedstawiono szczegółowo w Tabeli XLIII oraz na Rycinach 138-145.

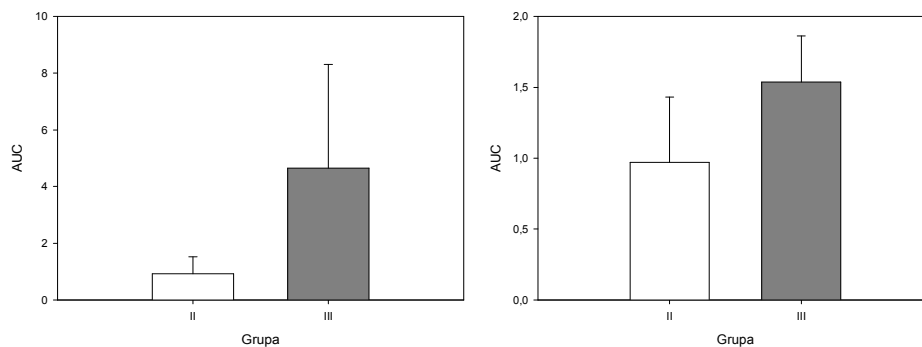
Tab. XLIII Parametry farmakokinetyczne dla butanolu

Parametr	Grupa	Samice niezależnione		Samice uzależnione		Samce niezależnione		Samce uzależnione	
		II	III	II	III	II	III	II	III
AUC		0,917	1,929	0,836	1,612	1,082	0,879	0,7882	0,282
		0,3364	8,82	0,592	1,183	0,352	0,285	0,4569	1,3476
		1,532	3,183	1,484	1,819	0,978	1,346	0,9825	0,7882
	Średnia	0,928	4,644	0,971	1,538	0,804	0,837	0,743	0,806
	±SD	0,598	3,670	0,461	0,324	0,395	0,532	0,266	0,533
MRT		2,1	3,01	1,89	8,28	6,36	2,94	2,91	2,46
		1,5	2,27	1,8	11,29	2,18	2,09	2,2	5,93
		2,61	2,72	1,96	8,34	3,96	4,68	2,61	2,91
	Średnia	2,070	2,667	1,883	9,303	4,167	3,237	2,573	3,767
	±SD	0,556	0,373	0,080	1,721	2,098	1,320	0,356	1,887
k		0,591	0,5034	0,79	0,1181	0,162	0,504	0,3901	0,4906
		0,5273	0,8331	0,88	0,0915	0,8	0,593	0,6922	0,1932
		0,413	0,5022	0,74	0,1216	0,265	0,458	0,4504	0,3901
	Średnia	0,510	0,613	0,803	0,110	0,409	0,518	0,511	0,358
	±SD	0,090	0,191	0,071	0,016	0,343	0,069	0,160	0,151
t_{0.5}		1,17	1,38	0,87	5,87	4,29	1,38	1,78	1,41
		1,31	0,83	0,79	7,57	0,87	1,17	1	3,58
		1,67	1,38	0,932	5,69	2,62	2,82	1,54	1,78
	Średnia	1,383	1,197	0,864	6,377	2,593	1,790	1,440	2,257
	±SD	0,258	0,318	0,071	1,037	1,710	0,898	0,399	1,161

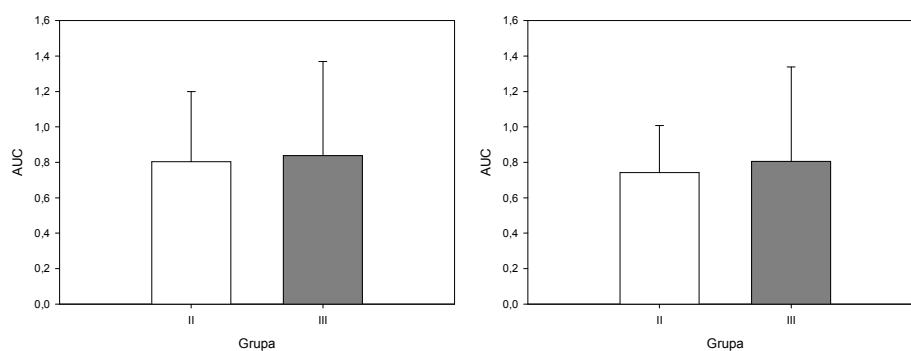
I – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

II – zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

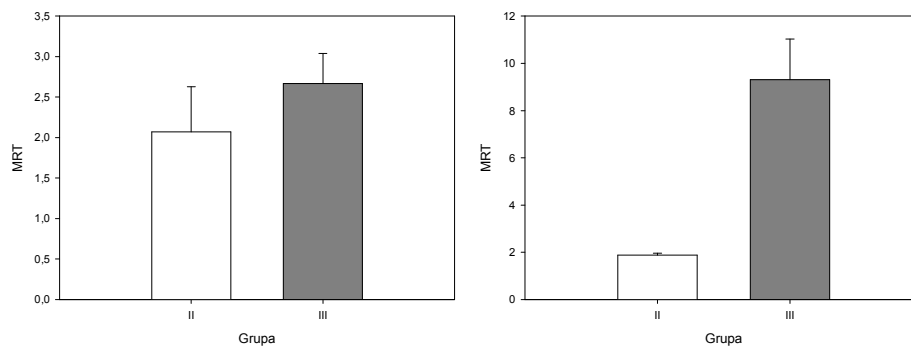
III - zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie



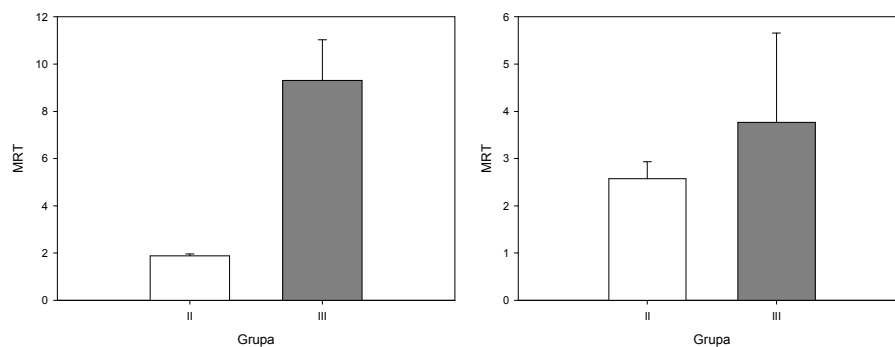
Ryc. 138 Pole pod krzywą stężenie-czas dla n-butanolu – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



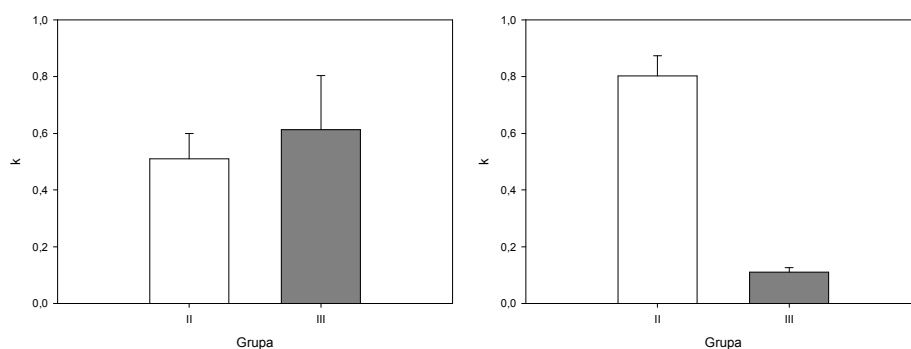
Ryc. 139 Pole pod krzywą stężenie-czas dla n-butanolu – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



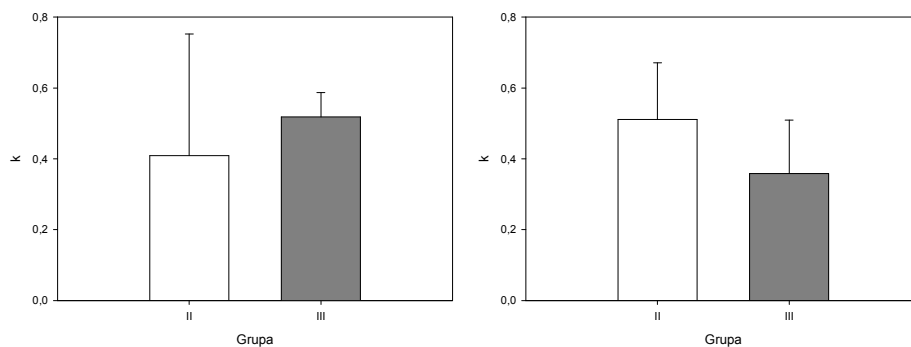
Ryc. 140 Średni czas przebywania w organizmie dla n-butanolu – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



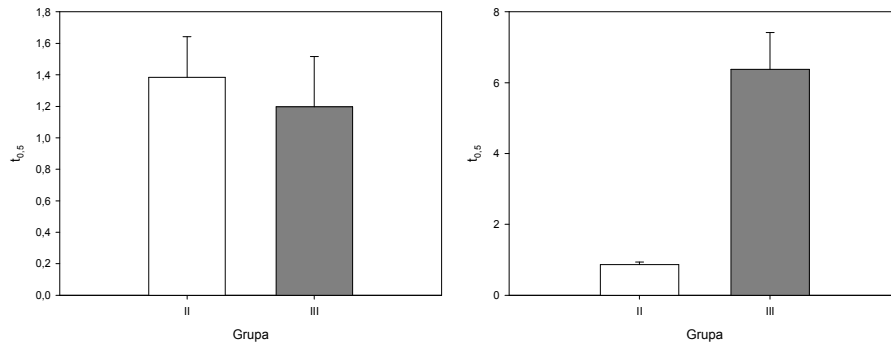
Ryc. 141 Średni czas przebywania w organizmie dla n-butanolu – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



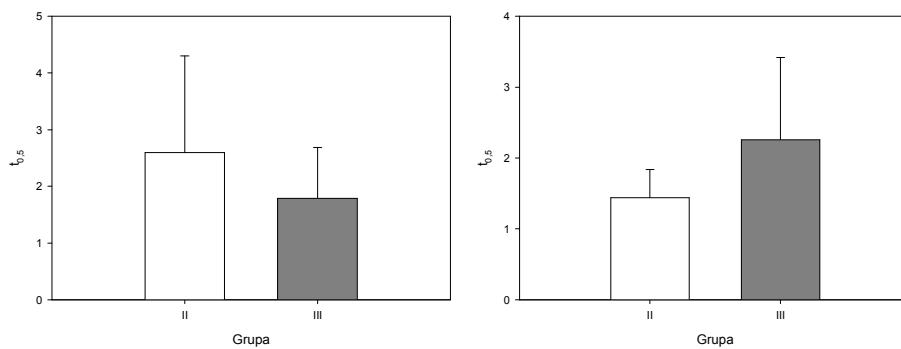
Ryc. 142 Stała eliminacji dla n-butanolu – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 143 Stała eliminacji dla n-butanolu – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 144 Biologiczny okres półtrwania dla n-butanolu – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 145 Biologiczny okres półtrwania dla n-butanolu – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych

7.14 Parametry farmakokinetyczne dla nikotyny

Dla nikotyny parametrami, które wykorzystane zostały dla porównania poszczególnych grup zwierząt były:

- Pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas
- Średni czas przebywania ksenobiotyku w ustroju
- Stała szybkości eliminacji
- Biologiczny okres półtrwania.

Porównywano poszczególne grupy w opisany poniżej sposób (analogiczne oznaczenia zastosowano w Tabeli XLIV, gdzie oznaczono różnice statystycznie istotne w porównywanych grupach):

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego:

- a – samice grupy I/samce grupy I
- b – samice grupy III/samce grupy III
- e – samice grupy I/samice grupy III
- f – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- c – samice grupy I/samce grupy I
- d – samice grupy III/samce grupy III
- g – samice grupy I/samice grupy III
- h – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- i – samice grupy I
- j – samice grupy III
- k – samce grupy I
- l – samce grupy III.

Na podstawie porównania wartości średniego czasu przebywania w organizmie, stałej eliminacji oraz biologicznego okresu półtrwania otrzymano następujące wyniki:

- Samice uzależnione i nieuzależnione od alkoholu wolniej eliminują nikotynę od samców uzależnionych i nieuzależnionych
- Samce i samice uzależnione i nieuzależnione z grupy III wolniej eliminują nikotynę niż uzależnione i nieuzależnione z grupy I
- Samce i samice uzależnione z grupy I i III wolniej eliminują nikotynę niż samce z grupy nieuzależnionej.

Parametry farmakokinetyczne oraz różnice statystycznie istotne, dla nikotyny przedstawiono szczegółowo w Tabeli XLIV oraz na Rycinach 146-153.

Tab. XLIV Parametry farmakokinetyczne dla nikotyny

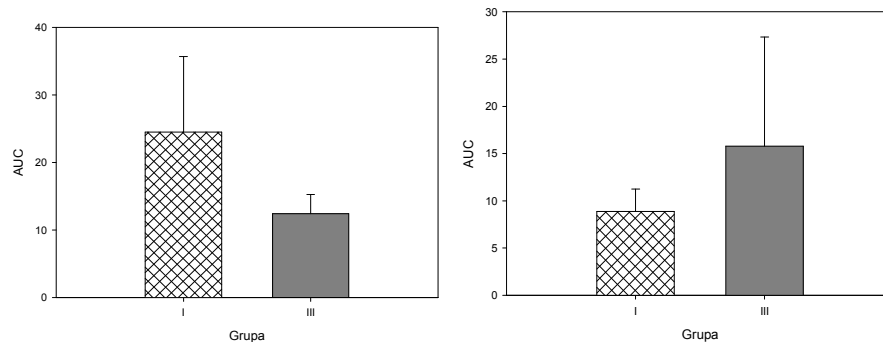
Parametr	Grupa	Samice niezależne		Samice uzależnione		Samce niezależne		Samce uzależnione	
		I	III	I	III	I	III	I	III
AUC		1162	763	1091,8	2199	709,8	1048,6	1109	1377
		923	618,4	758,2	848,6	621,2	780,1	806,9	926,5
		1370	913,6	1434,5	3704	790	1118,1	1413	1652,6
	Średnia	1151,7	765,0	1094,83	2250,533	707,0	982,3	1109,63	1318,70
	±SD	223,7	147,6	338,16	1428,40	84,4	178,5	303,05	366,54
MRT		2,4	2,43	2,55	9,82	1,76	2,07	2,02	2,63
		2	2,46	2,27	4,43	1,83	2,03	1,96	3,13
		2,42	2,38	2,71	12,74	1,72	2,1	2,07	2,67
	Średnia	2,273	2,423	2,51	9,00^{e,j}	1,77	2,07^{d,h}	2,02^{a,c,k}	2,81^{f,l}
	±SD	0,237	0,040	0,223	4,216	0,056	0,035	0,055	0,278
k		0,4773	0,4297	0,418	0,102	0,6094	0,4899	0,4997	0,3959
		0,6154	0,4438	0,445	0,222	0,5993	0,5207	0,5052	0,3388
		0,4343	0,427	0,398	0,080	0,6167	0,4729	0,4931	0,4078
	Średnia	0,509	0,434	0,420	0,134^{e,j}	0,608	0,495^{d,h}	0,499^{a,c,k}	0,38^{f,l}
	±SD	0,095	0,009	0,024	0,076	0,009	0,024	0,006	0,037
t_{0,5}		1,45	1,62	1,66	6,76	1,14	1,42	1,39	1,75
		1,13	1,6	1,56	3,13	1,16	1,33	1,37	2,05
		1,6	1,62	1,74	8,72	1,12	1,47	1,41	1,7
	Średnia	1,393	1,613	1,65	6,20^{e,j}	1,14	1,41^{d,h}	1,39^{a,c,k}	1,83^{f,l}
	±SD	0,240	0,012	0,09	2,84	0,02	0,07	0,020	0,189

I – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

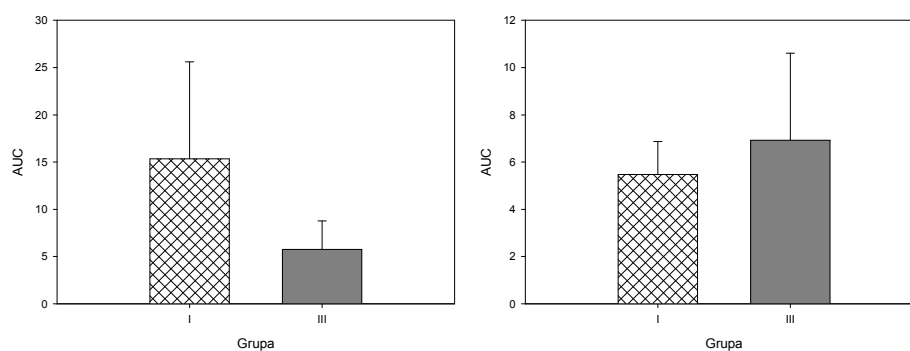
II – zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

III - zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

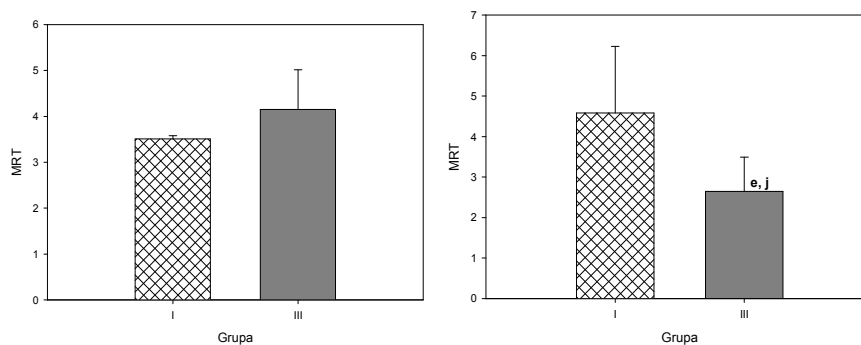
Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, b – samice grupy III/samce grupy III, e – samice grupy I/samice grupy III, f – samce grupy I/samce grupy III
Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: c – samice grupy I/samce grupy I, d – samice grupy III/samce grupy III, g – samice grupy I/samice grupy III, h – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: i – samice grupy I, j – samice grupy III, k – samce grupy I, l – samce grupy III



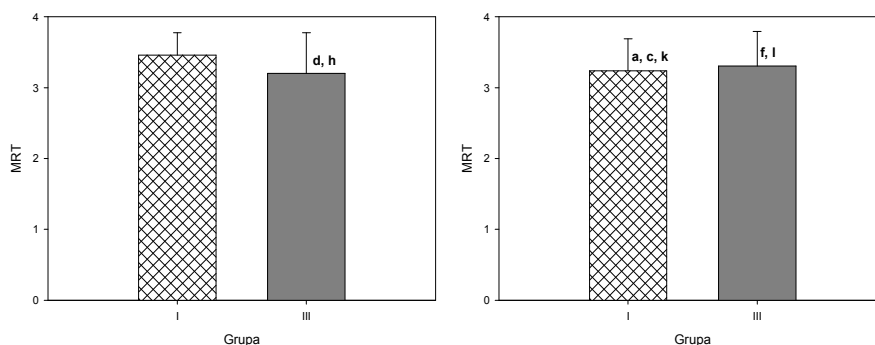
Ryc. 146 Pole pod krzywą stężenie-czas dla nikotyny – od lewej: samice niezależnione, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



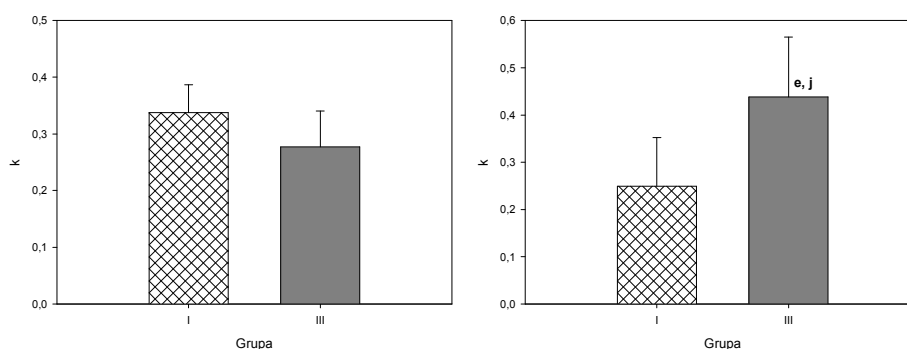
Ryc. 147 Pole pod krzywą stężenie-czas dla nikotyny – od lewej: samce niezależnione, samce uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



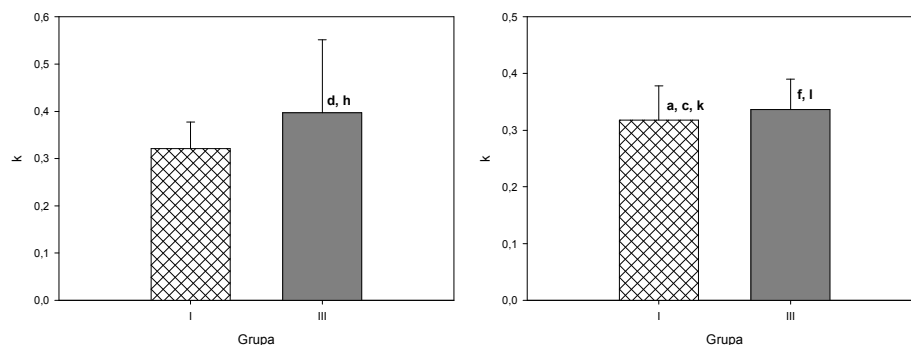
Ryc. 148 Średni czas przebywania w organizmie dla nikotyny – od lewej: samice niezależnione, samice uzależnione [h]. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: e – samice grupy I/samice grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależnione od alkoholu etylowego: j – samice grupy III



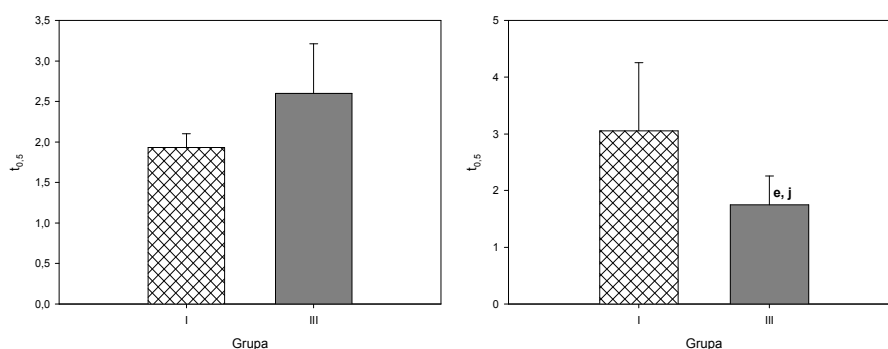
Ryc. 149 Średni czas przebywania w organizmie dla nikotyny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione [h]. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, f – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: c – samice grupy I/samce grupy I, d – samice grupy III/samce grupy III, h – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: k – samce grupy I, l – samce grupy III



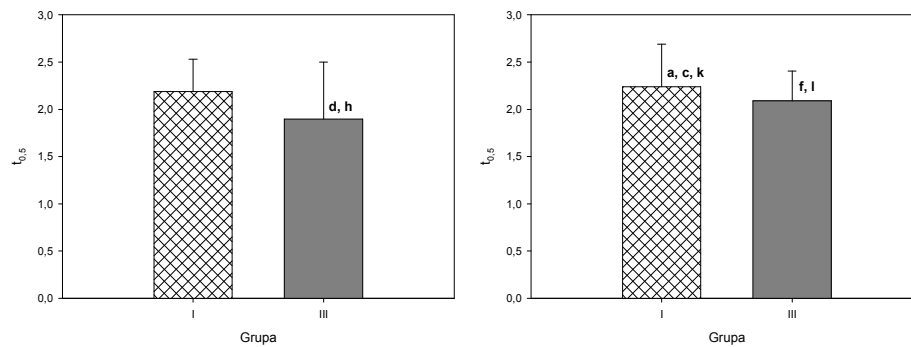
Ryc. 150 Stała eliminacji dla nikotyny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: e – samice grupy I/samice grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: j – samice grupy III



Ryc. 151 Stała eliminacji dla nikotyny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, f – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: c – samice grupy I/samce grupy I, d – samice grupy III/samce grupy III, h – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: k – samce grupy I, l – samce grupy III



Ryc. 152 Biologiczny okres półtrwania dla nikotyny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h]. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: e – samice grupy I/samice grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: j – samice grupy III



Ryc. 153 Biologiczny okres półtrwania dla nikotyny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione [h]. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, f – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: c – samice grupy I/samce grupy I, d – samice grupy III/samce grupy III, h – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: k – samce grupy I, l – samce grupy III

7.15 Parametry farmakokinetyczne dla nornikotyiny

Dla nornikotyiny parametrami, które wykorzystane zostały dla porównania poszczególnych grup zwierząt były:

- Pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas
- Średni czas przebywania ksenobiotyku w ustroju
- Stała szybkości eliminacji
- Biologiczny okres półtrwania.

Porównywano poszczególne grupy w opisany poniżej sposób (analogiczne oznaczenia zastosowano w Tabeli XLV, gdzie oznaczono różnice statystycznie istotne w porównywanych grupach):

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego:

- a – samice grupy I/samce grupy I
- b – samice grupy III/samce grupy III
- e – samice grupy I/samice grupy III
- f – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- c – samice grupy I/samce grupy I
- d – samice grupy III/samce grupy III
- g – samice grupy I/samice grupy III
- h – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- i – samice grupy I
- j – samice grupy III
- k – samce grupy I
- l – samce grupy III.

Na podstawie porównania wartości pola pod krzywą stężenie-czas, średniego czasu przebywania w organizmie, stałej eliminacji oraz biologicznego okresu półtrwania otrzymano następujące wyniki:

- W grupie pierwszej (I) samce i samice niezależne eliminują nornikotynę szybciej niż uzależnione
- Uzależnione samce eliminują nornikotynę szybciej niż uzależnione samice w grupie I
- Samice niezależne w grupie III eliminują nornikotynę szybciej niż z grupy I.

Parametry farmakokinetyczne oraz różnice statystycznie istotne dla nornikotyny przedstawiono szczegółowo w Tabeli XLV oraz na Rycinach 154-161.

Tab. XLV Parametry farmakokinetyczne dla nornikotyny

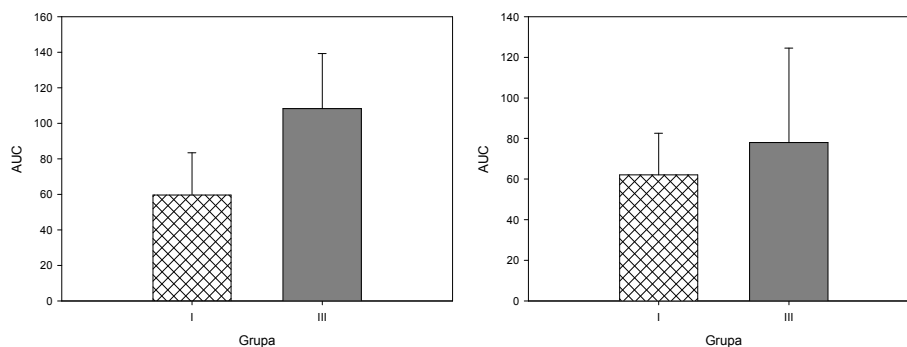
Parametr	Grupa	Samice niezależnione		Samice uzależnione		Samce niezależnione		Samce uzależnione	
		I	III	I	III	I	III	I	III
AUC		59,49	109,38	60,74	75,98	53,71	33,47	48,1	34,05
		35,78	76,54	42,26	32,4	39,5	23,44	40,15	25,92
		83,32	138,6	83,14	125,54	60,35	54,05	58,6	43,56
	Średnia	59,5	108,2	62,05	77,97333	51,2	37,0	48,95	34,51
	±SD	23,8	31,0	20,47	46,60	10,7	15,6	9,25	8,83
MRT		2,36	2,2	2,19	6,2	2,09	3,07	4	2,42
		2,66	2,11	1,91	2,5	1,74	1,7	4,79	2,89
		2,2	2,38	2,28	9,36	2,05	2,35	3,55	2,4
	Średnia	2,407	2,230	2,13	6,02	1,96	2,37^c	4,11	2,57^{a,f,k}
	±SD	0,234	0,137	0,193	3,434	0,192	0,685	0,628	0,277
k		0,4539	0,5581	0,651	0,163	0,5599	0,4078	0,2667	0,4444
		0,4338	0,6316	0,751	0,443	0,8659	0,6221	0,22	0,3352
		0,4719	0,5056	0,638	0,107	0,5867	0,4545	0,2938	0,448
	Średnia	0,453	0,565^g	0,680	0,238^{ij}	0,671^e	0,495	0,260^a	0,41^{f,k}
	±SD	0,019	0,063	0,062	0,180	0,169	0,113	0,037	0,064
t_{0.5}		1,53	1,24	1,06	4,27	1,24	1,7	2,59	1,56
		1,6	1,1	0,92	1,56	0,803	1,11	2,15	2,07
		1,47	1,37	1,09	6,25	1,18	1,53	2,36	1,75
	Średnia	1,533	1,237^g	1,02	4,03ⁱ	1,07	1,45^c	2,37^a	1,55^{f,k}
	±SD	0,065	0,135	0,09	2,35	0,24	0,30	0,220	0,258

I – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

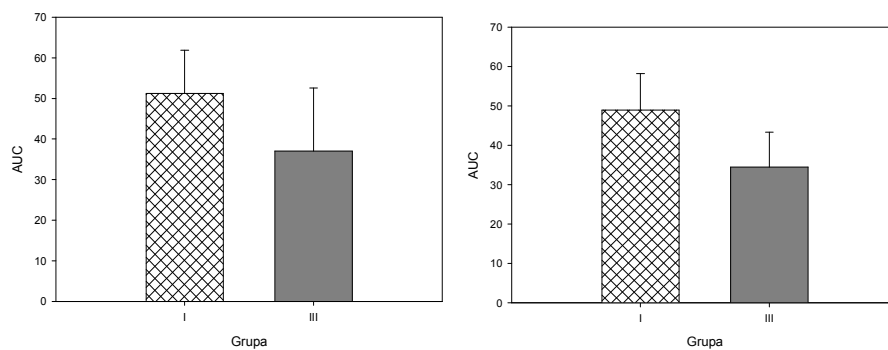
II – zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

III - zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

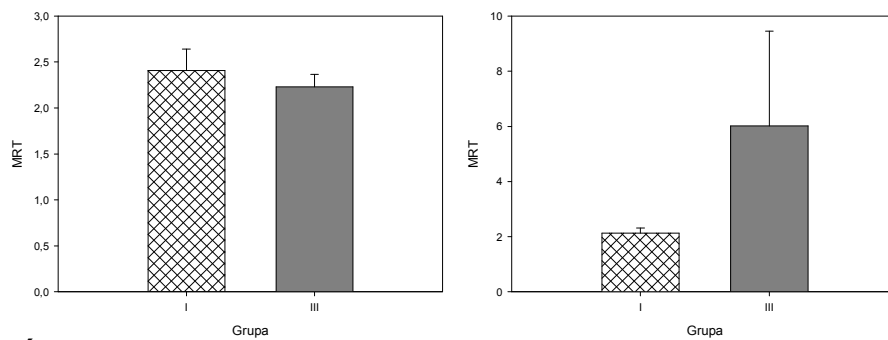
Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, b – samice grupy III/samce grupy III, e – samice grupy I/samice grupy III, f – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta niezależnione od alkoholu etylowego: c – samice grupy I/samce grupy I, d – samice grupy III/samce grupy III, g – samice grupy I/samice grupy III, h – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależnione od alkoholu etylowego: i – samice grupy I, j – samice grupy III, k – samce grupy I, l – samce grupy III



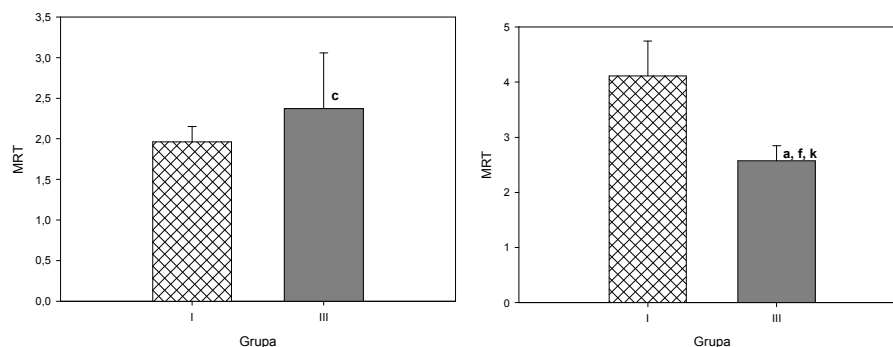
Ryc. 154 Pole pod krzywą stężenie-czas dla nornikotyny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



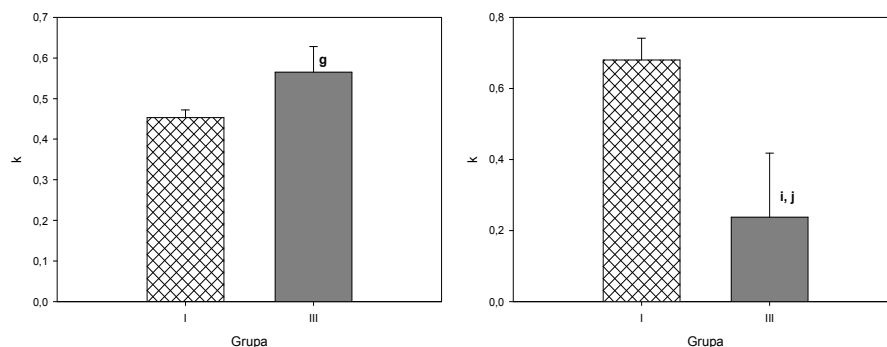
Ryc. 155 Pole pod krzywą stężenie-czas dla nornikotyny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



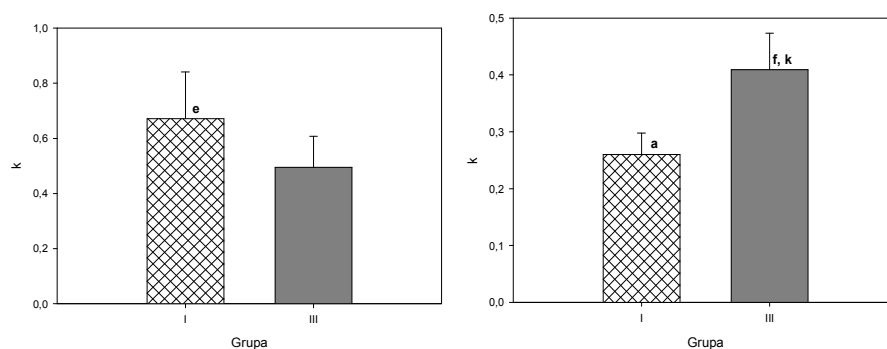
Ryc. 156 Średni czas przebywania w organizmie dla nornikotyny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



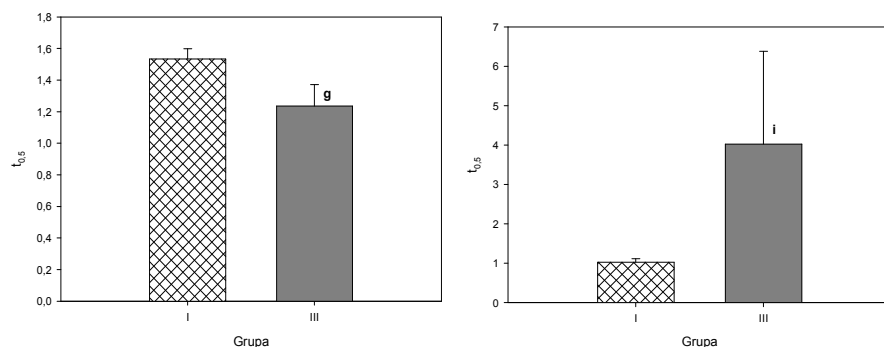
Ryc. 157 Średni czas przebywania w organizmie dla nornikotyny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione [h]. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, f – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: c – samice grupy I/samce grupy I, III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: k – samce grupy I



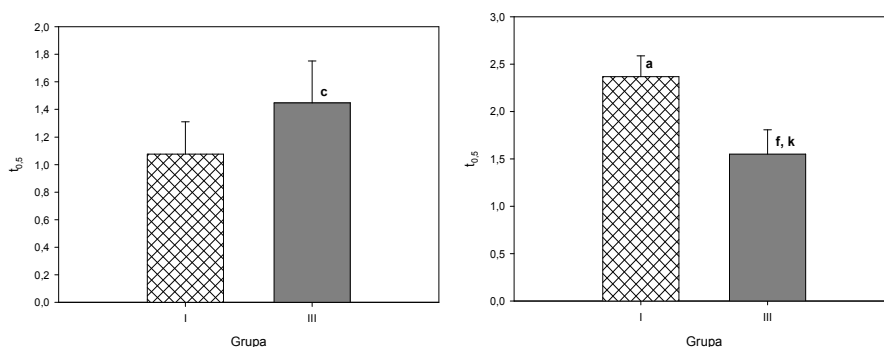
Ryc. 158 Stała eliminacji dla nornikotyny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione. Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: g – samice grupy I/samice grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: i – samice grupy I, j – samice grupy III



Ryc. 159 Stała eliminacji dla nornikotyny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, e – samice grupy I/samice grupy III, f – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: k – samce grupy I



Ryc. 160 Biologiczny okres półtrwania dla nornikotyny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h]. Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: g – samice grupy I/samice grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: i – samice grupy I



Ryc. 161 Biologiczny okres półtrwania dla nornikotyny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione [h]. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samce grupy I/samce grupy I, f – samce grupy I/samce grupy III, Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: c – samce grupy I/samce grupy I; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: k – samce grupy I

7.16 Parametry farmakokinetyczne dla N-tlenku nikotyny

Dla N-tlenku nikotyny parametrami, które wykorzystane zostały dla porównania poszczególnych grup zwierząt były:

- Pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas
- Średni czas przebywania ksenobiotyku w ustroju
- Stała szybkości eliminacji
- Biologiczny okres półtrwania.

Porównywano poszczególne grupy w opisany poniżej sposób (analogiczne oznaczenia zastosowano w Tabeli XLVI, gdzie oznaczono różnice statystycznie istotne w porównywanych grupach):

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego:

- a – samice grupy I/samce grupy I
- b – samice grupy III/samce grupy III
- e – samice grupy I/samice grupy III
- f – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- c – samice grupy I/samce grupy I
- d – samice grupy III/samce grupy III
- g – samice grupy I/samice grupy III
- h – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- i – samice grupy I
- j – samice grupy III
- k – samce grupy I
- l – samce grupy III.

Na podstawie porównania wartości pola pod krzywą stężenie-czas, średniego czasu przebywania w organizmie, stałej eliminacji oraz biologicznego okresu półtrwania otrzymano następujące wyniki:

- Brak różnic statystycznie znamiennej w wszystkich parametrach farmakokinetycznych dla N-tlenku nikotyny.

Parametry farmakokinetyczne oraz różnice statystycznie istotne, dla N-tlenku nikotyny przedstawiono szczegółowo w Tabeli XLVI oraz na Rycinach 162-169.

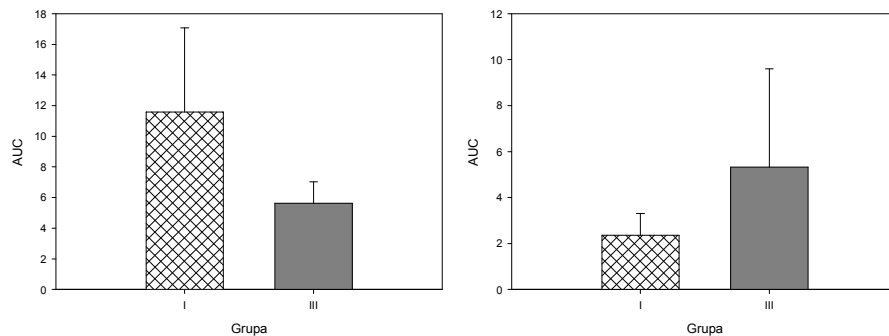
Tab. XLVI Parametry farmakokinetyczne dla N-tlenku nikotyny

Parametr	Grupa	Samice niezależnione		Samice uzależnione		Samce niezależnione		Samce uzależnione	
		I	III	I	III	I	III	I	III
AUC		11,732	5,667	2,282	5,27	6,747	2,674	5,86	3,34
		6,016	4,208	1,436	1,073	5,106	2,234	4,97	2,24
		16,99	7,01	3,34	9,629	8,319	7,015	6,96	4,35
	Średnia	11,58	5,628	2,353	5,32	6,72	3,97	5,93^a	3,31^f
	±SD	5,489	1,401	0,954	4,278	1,607	2,642	0,997	1,055
MRT		4,47	3,82	3,1	11,67	3,3	3,93	4,04	4,53
		3,41	3,99	2,16	4,57	3,45	2,52	5,3	3,07
		4,76	3,53	4,05	23,47	3,3	5,58	3,54	3,27
	Średnia	4,213	3,780	3,103	13,24	3,35	4,01	4,29	3,62
	±SD	0,711	0,233	0,945	9,547	0,087	1,532	0,907	0,792
k		0,2297	0,2856	0,379	0,025	0,3349	0,2743	0,2767	0,2202
		0,293	0,2879	0,630	0,240	0,345	0,4907	0,1987	0,347
		0,2168	0,3053	0,275	0,045	0,3287	0,1822	0,3288	0,314
	Średnia	0,247	0,293	0,428	0,103	0,336	0,316^c	0,268	0,29
	±SD	0,041	0,011	0,183	0,119	0,008	0,158	0,065	0,066
t_{0,5}		3,02	2,42	1,83	28,34	2,07	2,53	2,51	3,15
		2,37	2,41	1,05	2,89	2,01	1,41	3,49	1,99
		3,2	2,7	2,53	15,59	2,11	3,8	2,11	2,21
	Średnia	2,863	2,510	1,80	15,61	2,06	2,58^c	2,70	2,45
	±SD	0,437	0,165	0,74	12,73	0,05	1,20	0,710	0,616

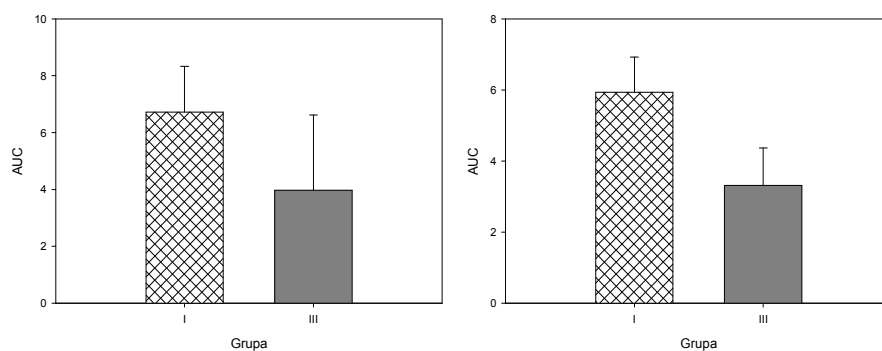
I – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

II – zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

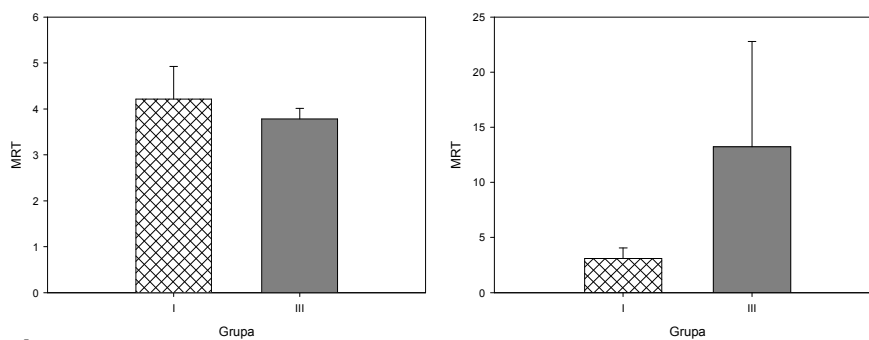
III - zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie



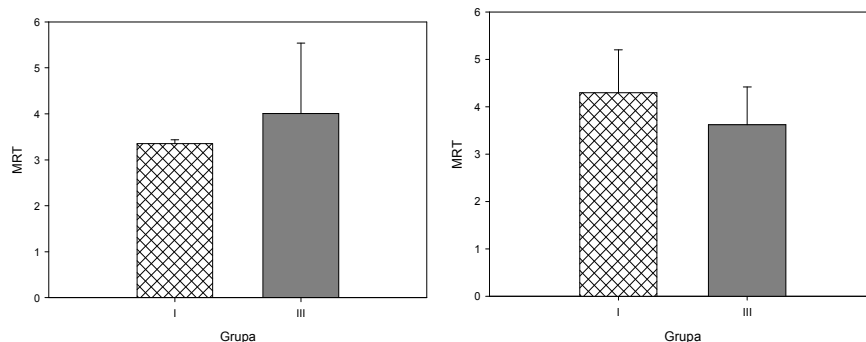
Ryc. 162 Pole pod krzywą stężenie-czas dla N-tlenku nikotyny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



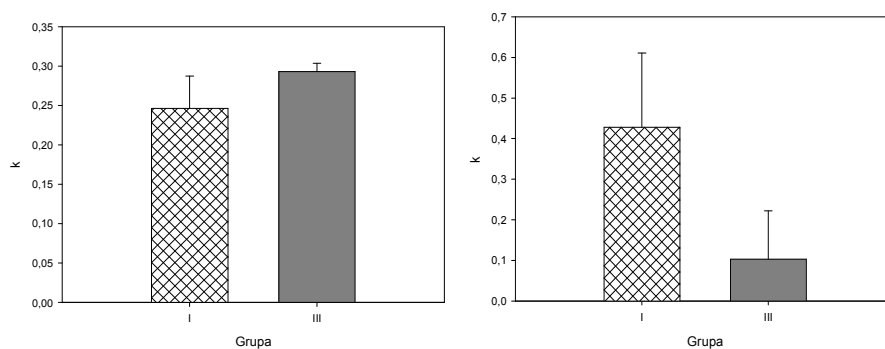
Ryc. 163 Pole pod krzywą stężenie-czas dla N-tlenku nikotyny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



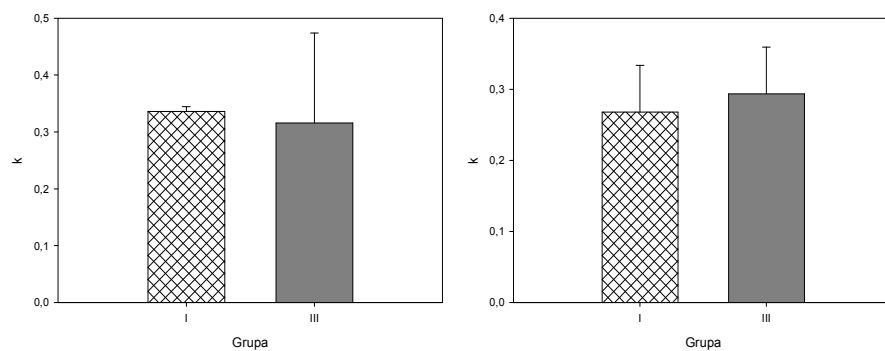
Ryc. 164 Średni czas przebywania w organizmie dla N-tlenku nikotyny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



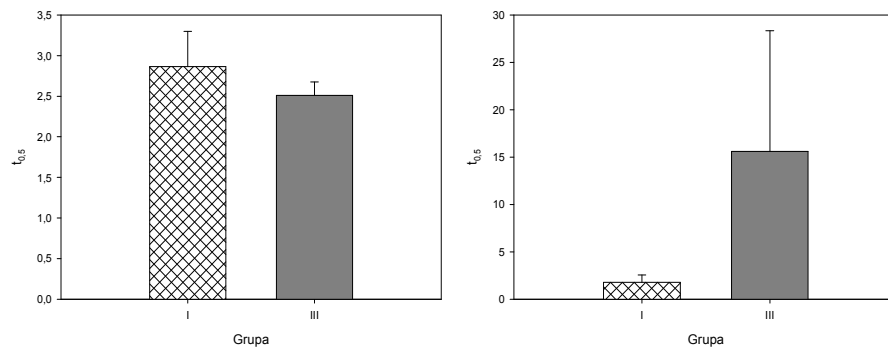
Ryc. 165 Średni czas przebywania w organizmie dla N-tlenku nikotyny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



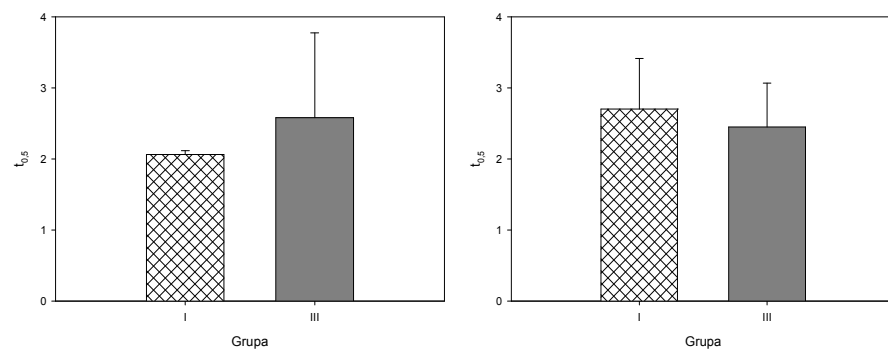
Ryc. 166 Stała eliminacji dla N-tlenku nikotyny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 167 Stała eliminacji dla N-tlenku nikotyny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 168 Biologiczny okres półtrwania dla N-tlenku nikotyny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 169 Biologiczny okres półtrwania dla N-tlenku nikotyny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych

7.17 Parametry farmakokinetyczne dla kotyniny

Dla kotyniny parametrami, które wykorzystane zostały dla porównania poszczególnych grup zwierząt były:

- Pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas
- Średni czas przebywania ksenobiotyku w ustroju
- Stała szybkości eliminacji
- Biologiczny okres półtrwania.

Porównywano poszczególne grupy w opisany poniżej sposób (analogiczne oznaczenia zastosowano w Tabeli XLVII, gdzie oznaczono różnice statystycznie istotne w porównywanych grupach):

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego:

- a – samice grupy I/samce grupy I
- b – samice grupy III/samce grupy III
- e – samice grupy I/samice grupy III
- f – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- c – samice grupy I/samce grupy I
- d – samice grupy III/samce grupy III
- g – samice grupy I/samice grupy III
- h – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- i – samice grupy I
- j – samice grupy III
- k – samce grupy I
- l – samce grupy III.

Na podstawie porównania wartości pola pod krzywą stężenie-czas, średniego czasu przebywania w organizmie, stałej eliminacji oraz biologicznego okresu półtrwania otrzymano następujące wyniki:

- Samice uzależnione od alkoholu etylowego w grupie I i III szybciej eliminują kotyninę niż uzależnione samce z grupy I i III
- Samce nieuzależnione od alkoholu etylowego z grup I i III szybciej eliminują kotyninę niż samce uzależnione z grup I i III
- Samice uzależnione od alkoholu etylowego z grupy I szybciej eliminują kotyninę niż samce uzależnione z grupy I.

Parametry farmakokinetyczne oraz różnice statystycznie istotne, dla kotyniny przedstawiono szczegółowo w Tabeli XLVII oraz na Rycinach 170-177.

Tab. XLVII Parametry farmakokinetyczne dla kotyniny

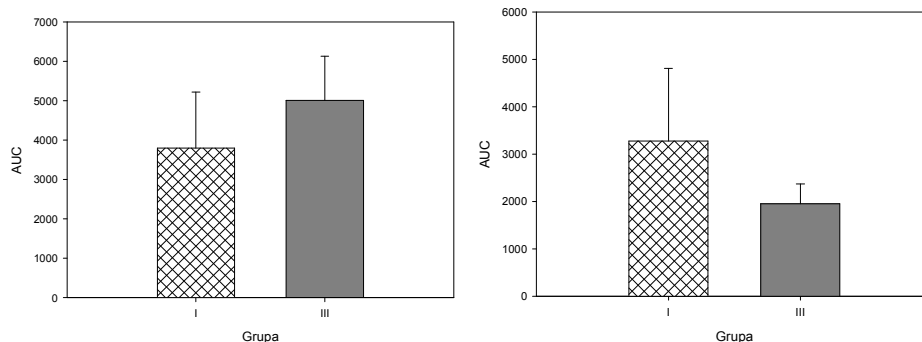
Parametr	Grupa	Samice niezależnione		Samice uzależnione		Samce niezależnione		Samce uzależnione	
		I	III	I	III	I	III	I	III
AUC		3775	5032	3255	1933	2575	2761	4531	5473
		2380	3885	1749	1536	1843	2462	3756	4995
		5229	6119	4820	2380	4,03	10,33	5666	6368
	Średnia	3794,67	5012,00	3274,67	1949,67	1474,01	1744,44	4651,00^{a,k}	5612,00^{b,c}
	±SD	1424,60	1117,13	1535,59	422,25	1324,61	1509,21	960,64	696,97
MRT		8,43	14,47	4,32	7,93	5,8	7,43	15,74	14,72
		3,37	11,8	3,62	5,84	3,62	7,6	15,8	19,4
		11,36	15,95	8,47	9,2	7,22	7,51	18,09	12,79
	Średnia	7,72	14,07	5,47	7,66^j	5,55	7,51^d	16,54^{a,k}	15,64^{b,l}
	±SD	4,04	2,10	2,62	1,70	1,81	0,09	1,34	3,40
k		0,086	0,0656	0,101	0,1357	0,1162	0,1352	0,0654	0,064
		0,1077	0,0761	0,0996	0,1515	0,1441	0,1616	0,059	0,0503
		0,076	0,0622	0,0875	0,1249	0,1032	0,1216	0,0565	0,0707
	Średnia	0,090	0,068	0,096	0,137^{c,j}	0,121	0,139^d	0,06^{a,k}	0,06^{b,j,l}
	±SD	0,016	0,007	0,007	0,013	0,021	0,020	0,00	0,01
t_{0,5}		8,06	10,56	6,86	5,11	5,97	2,42	10,59	10,82
		6,45	9,1	6,96	4,57	4,81	4,29	11,75	13,78
		9,18	11,15	7,82	5,56	6,72	5,7	12,26	9,8
	Średnia	7,90	10,27	7,21	5,08^{c,j}	5,83	4,14^d	11,53^{a,k}	11,47^{b,j,l}
	±SD	1,37	1,06	0,53	0,50	0,96	1,65	0,86	2,07

I – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

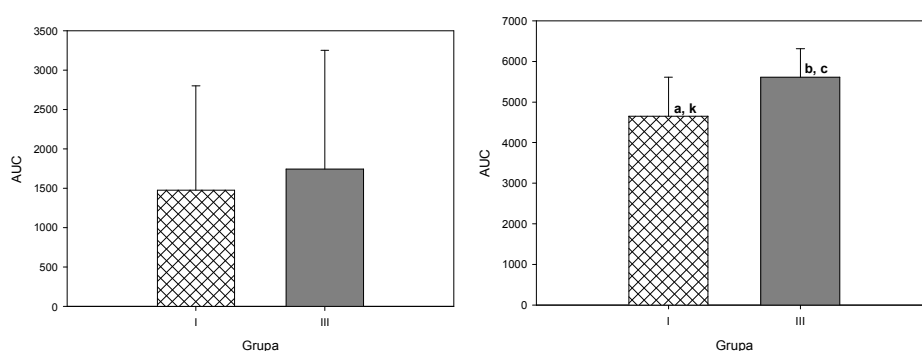
II – zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

III - zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

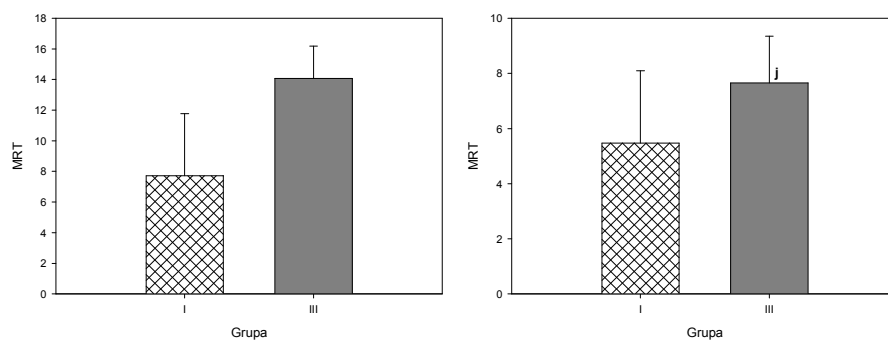
Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, b – samice grupy III/samce grupy III, e – samice grupy I/samice grupy III, f – samce grupy I/samce grupy III Zwierzęta niezależnione od alkoholu etylowego: c – samice grupy I/samce grupy I, d – samice grupy III/samce grupy III, g – samice grupy I/samice grupy III, h – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależnione od alkoholu etylowego: i – samice grupy I, j – samice grupy III, k – samce grupy I, l – samce grupy III



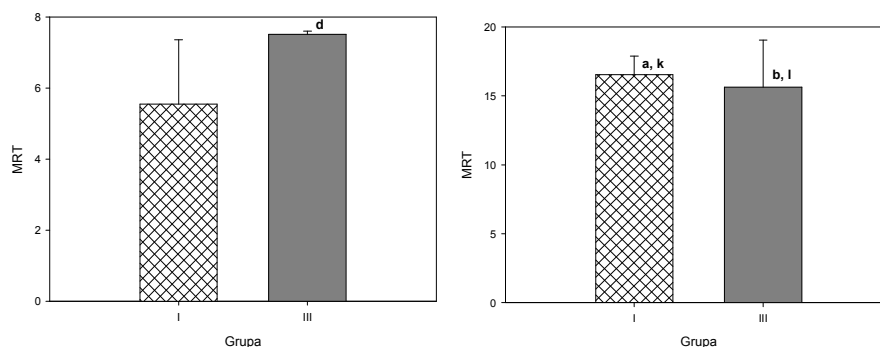
Ryc. 170 Pole pod krzywą stężenie-czas dla kotyniny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



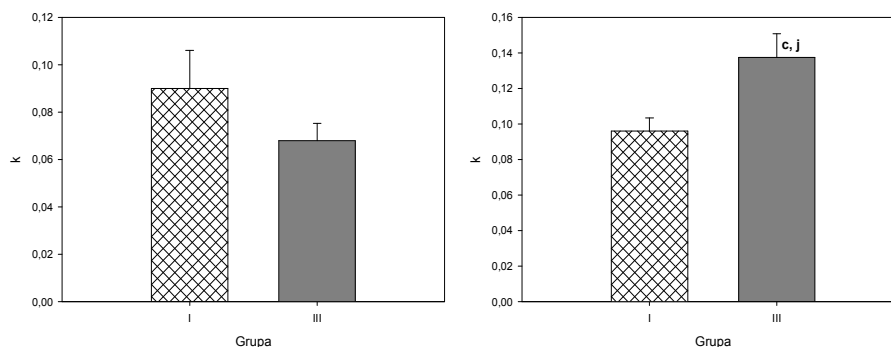
Ryc. 171 Pole pod krzywą stężenie-czas dla kotyniny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, b – samice grupy III/samce grupy III; Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: c – samice grupy I/samce grupy I; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: k – samce grupy I



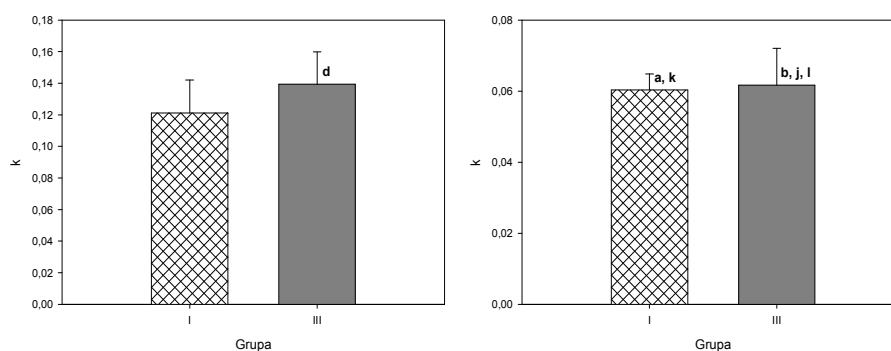
Ryc. 172 Średni czas przebywania w organizmie dla kotyniny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h]. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: j – samice grupy III



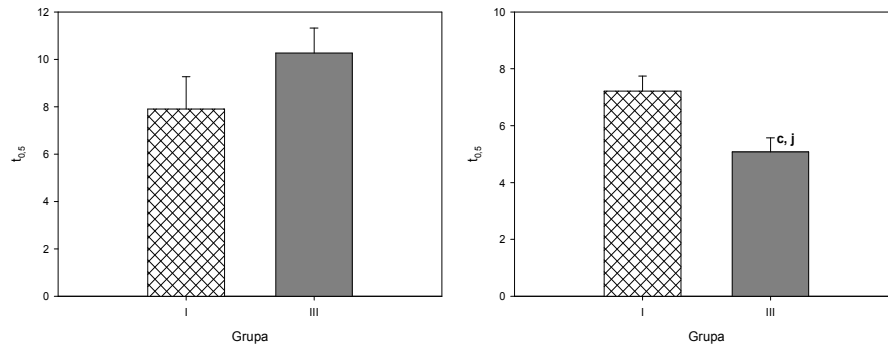
Ryc. 173 Średni czas przebywania w organizmie dla kotyniny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione [h]. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, b – samice grupy III/samce grupy III; Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: d – samice grupy III/samce grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: k – samce grupy I, l – samce grupy III



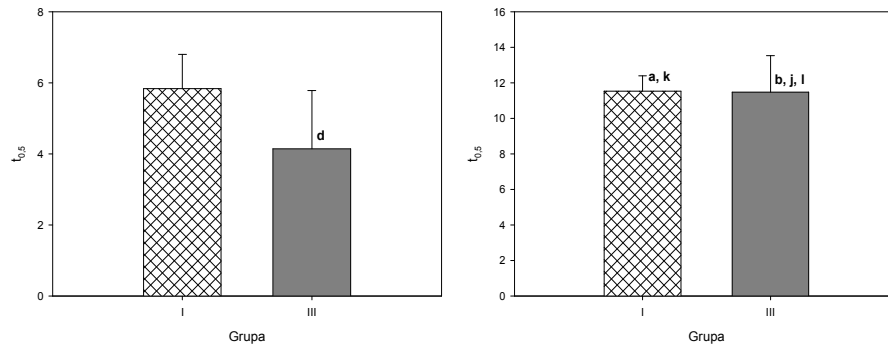
Ryc. 174 Stała eliminacji dla kotyniny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione. Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: c – samice grupy I/samce grupy I; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: j – samice grupy III



Ryc. 175 Stała eliminacji dla kotyniny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, b – samice grupy III/samce grupy III; Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: d – samice grupy III/samce grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: j – samice grupy III, k – samce grupy I, l – samce grupy III



Ryc. 176 Biologiczny okres półtrwania dla kotyniny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h]. Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: c – samice grupy I/samce grupy I; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: j – samice grupy III



Ryc. 177 Biologiczny okres półtrwania dla kotyniny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione [h]. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, b – samice grupy III/samce grupy III; Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: d – samice grupy III/samce grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: j – samice grupy III, k – samce grupy I, l – samce grupy III

7.18 Parametry farmakokinetyczne dla trans-3'-hydroksykotyniny

Dla trans-3'-hydroksykotyniny parametrami, które wykorzystane zostały dla porównania poszczególnych grup zwierząt były:

- Pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas
- Średni czas przebywania ksenobiotyku w ustroju
- Stała szybkości eliminacji
- Biologiczny okres półtrwania.

Porównywano poszczególne grupy w opisany poniżej sposób (analogiczne oznaczenia zastosowano w Tabeli XLVIII, gdzie oznaczono różnice statystycznie istotne w porównywanych grupach):

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego:

- a – samice grupy I/samce grupy I
- b – samice grupy III/samce grupy III
- e – samice grupy I/samice grupy III
- f – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- c – samice grupy I/samce grupy I
- d – samice grupy III/samce grupy III
- g – samice grupy I/samice grupy III
- h – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- i – samice grupy I
- j – samice grupy III
- k – samce grupy I
- l – samce grupy III.

Na podstawie porównania wartości pola pod krzywą stężenie-czas, średniego czasu przebywania w organizmie, stałej eliminacji oraz biologicznego okresu półtrwania otrzymano następujące wnioski:

- Samice uzależnione od alkoholu etylowego z grupy I szybciej eliminują trans-3'-hydroksykotyninę niż samce uzależnione z grupy I
- Samice uzależnione od alkoholu etylowego z grupy III wolniej eliminują trans-3'-hydroksykotyninę niż samce uzależnione z grupy II, a u nieuzależnionych jest, odwrotnie samice z grupy III eliminują szybciej niż samce z grupy III
- Samice z grupy I uzależnione i nieuzależnione od alkoholu etylowego szybciej eliminują trans-3'-hydroksykotyninę niż samice z grupy III uzależnione i nieuzależnione, a u samców jest odwrotnie samce z grupy I uzależnione i nieuzależnione wolniej eliminują trans-3'-hydroksykotyninę niż z samce uzależnione i nieuzależnione z grupy III
- Uzależnione od alkoholu etylowego samce z grupy III szybciej eliminują trans-3'-hydroksykotyninę niż nieuzależnione samce z grupy III.

Parametry farmakokinetyczne oraz różnice statystycznie istotne, dla trans-3'-hydroksykotyniny przedstawiono szczegółowo w Tabeli XLVIII oraz na Rycinach 178-185.

Tab. XLVIII Parametry farmakokinetyczne dla trans-3'-hydroksykotyny

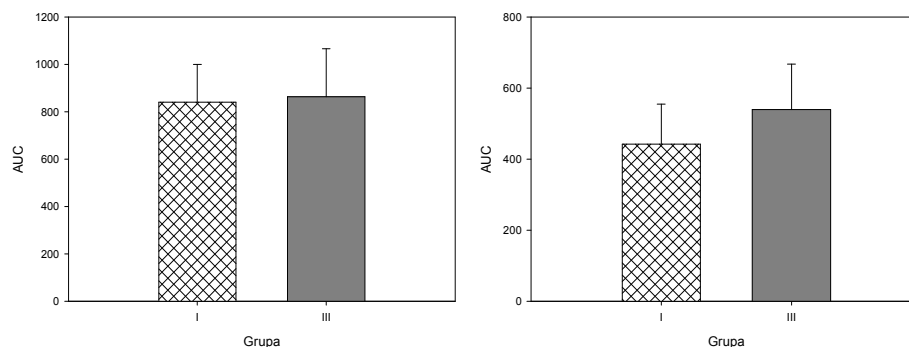
Parametr	Grupa	Samice niezależnione		Samice uzależnione		Samce niezależnione		Samce uzależnione	
		I	III	I	III	I	III	I	III
AUC		812	845,8	447,4	533,7	573	860,3	412,66	581
		696,8	672,2	327,4	414	423,6	613,6	257,9	429,9
		1012	1074	552	670,3	726,1	1009,7	538,6	743,3
	Średnia	840,267	864,000	442,267	539,333	574,233	827,867	403,053	584,733
	±SD	159,490	201,517	112,388	128,243	151,254	200,032	140,596	156,733
MRT		11,81	14,27	8,78	11,95	10,9	19,7	15,1	8,87
		10,6	13,33	10,46	8,66	10,9	19,62	10,21	9,57
		12,45	14,25	7,66	14,84	11,44	18,94	14,16	8,41
	Średnia	11,620	13,950^g	8,967	11,817	11,080	19,420^{d,h}	13,157	8,950^l
	±SD	0,940	0,537	1,409	3,092	0,312	0,418	2,595	0,584
k		0,0789	0,0721	0,0921	0,0775	0,0766	0,0525	0,0612	0,1061
		0,0845	0,0768	0,0937	0,0744	0,077	0,0481	0,0757	0,102
		0,758	0,069	0,0943	0,0771	0,076	0,0547	0,0762	0,1084
	Średnia	0,307	0,073	0,093	0,076^{c,e}	0,077	0,052^{d,h}	0,071^a	0,106^{b,f,l}
	±SD	0,390	0,004	0,001	0,002	0,001	0,003	0,009	0,003
t_{0.5}		8,78	9,61	7,52	8,94	9,04	13,2	11,33	6,53
		8,2	9,03	7,4	9,32	9	14,41	9,15	6,79
		9,14	10,05	7,92	9,75	9,12	12,67	9,09	6,39
	Średnia	8,707	9,563	7,613	9,337^e	9,053	13,427^{d,h}	9,857^a	6,570^{b,f,l}
	±SD	0,474	0,512	0,272	0,405	0,061	0,892	1,276	0,203

I – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

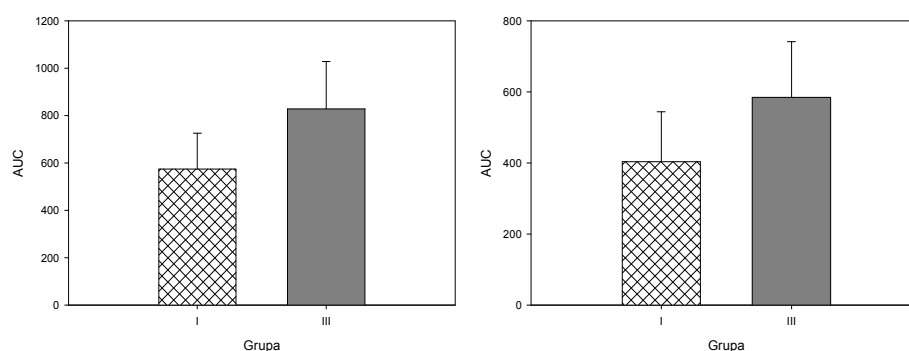
II – zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

III - zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

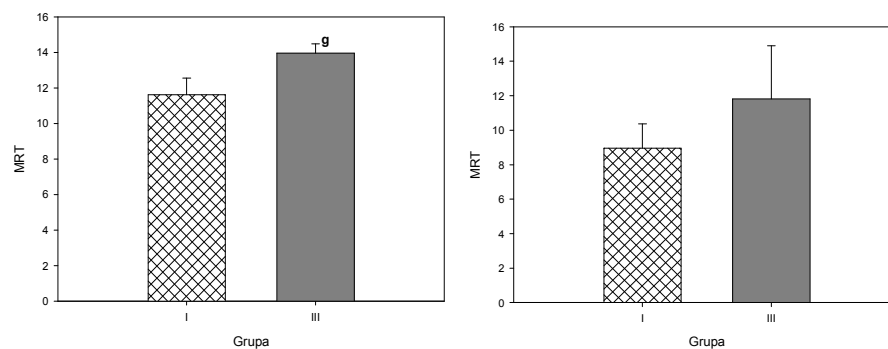
Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, b – samice grupy III/samce grupy III, e – samice grupy I/samice grupy III, f – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta niezależnione od alkoholu etylowego: c – samice grupy I/samce grupy I, d – samice grupy III/samce grupy III, g – samice grupy I/samice grupy III, h – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależnione od alkoholu etylowego: i – samice grupy I, j – samice grupy III, k – samce grupy I, l – samce grupy III



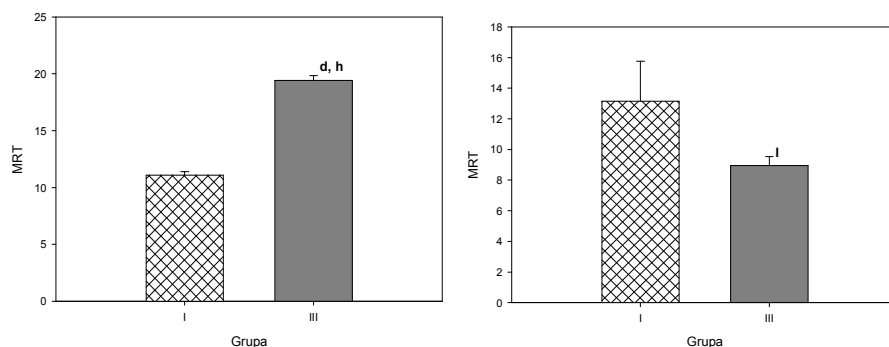
Ryc. 178 Pole pod krzywą stężenie-czas dla trans-3'-hydroksykotyniny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



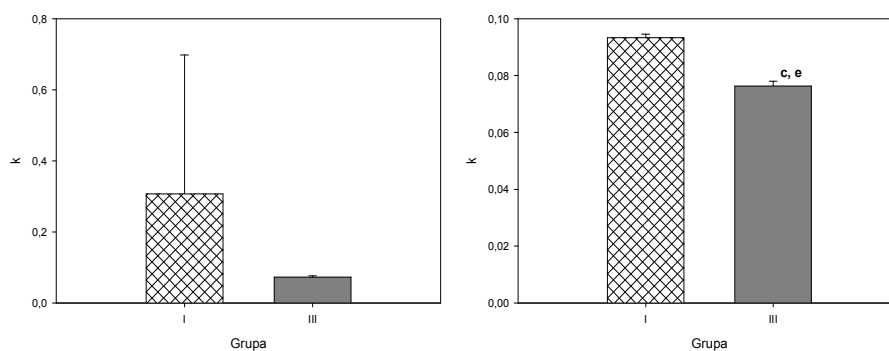
Ryc. 179 Pole pod krzywą stężenie-czas dla trans-3'-hydroksykotyniny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



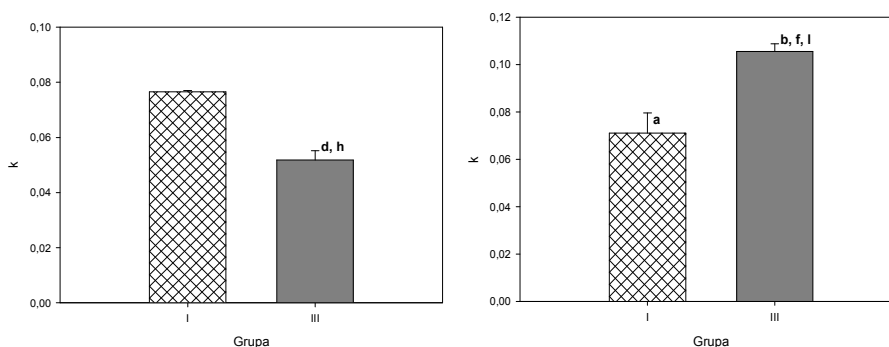
Ryc. 180 Średni czas przebywania w organizmie dla trans-3'-hydroksykotyniny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h]. Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: g – samice grupy I/samice grupy III



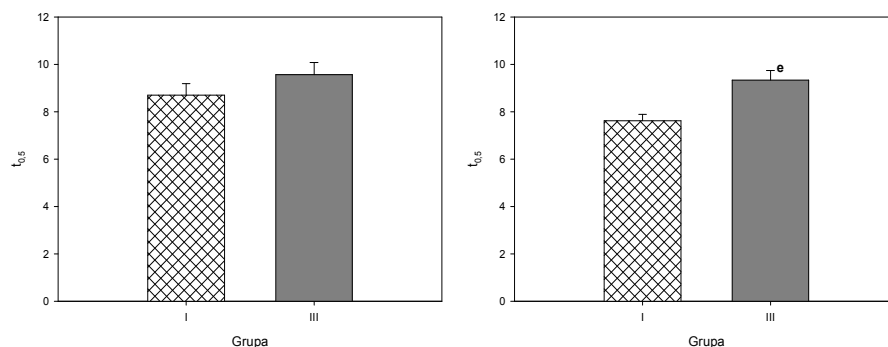
Ryc. 181 Średni czas przebywania w organizmie dla trans-3'-hydroksykotyniny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione [h]. Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: d – samice grupy III/samce grupy III, h – samce grupy I/samce grupy III



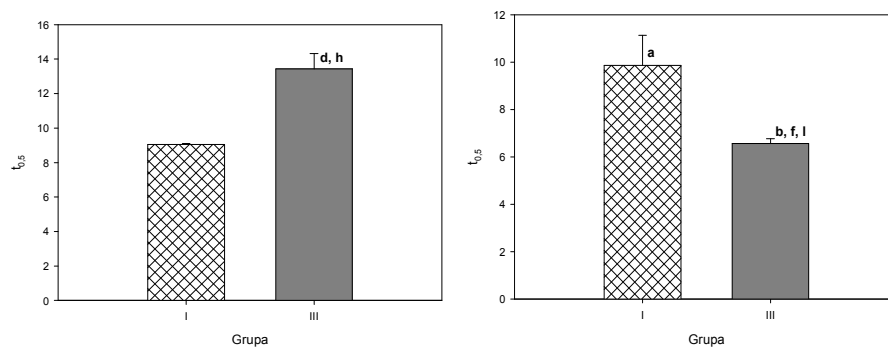
Ryc. 182 Stała eliminacji dla 3'-hydroksykotyniny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: e – samice grupy I/samice grupy III; Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: c – samice grupy I/samce grupy I



Ryc. 183 Stała eliminacji dla trans-3'-hydroksykotyniny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, b – samice grupy III/samce grupy III, f – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: d – samice grupy III/samce grupy III, h – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego: l – samce grupy III



Ryc. 184 Biologiczny okres półtrwania dla trans-3'-hydroksykotyniny – od lewej: samice niezależnione, samice uzależnione [h]. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: e – samice grupy I/samice grupy III



Ryc. 185 Biologiczny okres półtrwania dla trans-3'-hydroksykotyniny – od lewej: samce niezależnione, samce uzależnione [h]. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego: a – samice grupy I/samce grupy I, b – samice grupy III/samce grupy III, f – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta niezależnione od alkoholu etylowego: d – samice grupy III/samce grupy III, h – samce grupy I/samce grupy III; Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależnione od alkoholu etylowego: l – samce grupy III

7.19 Parametry farmakokinetyczne N-tlenku kotyniny

Dla N-tlenku kotyniny parametrami, które wykorzystane zostały dla porównania poszczególnych grup zwierząt były:

- Pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas
- Średni czas przebywania ksenobiotyku w ustroju
- Stała szybkości eliminacji
- Biologiczny okres półtrwania.

Porównywano poszczególne grupy w opisany poniżej sposób (analogiczne oznaczenia zastosowano w Tabeli XLIX, gdzie oznaczono różnice statystycznie istotne w porównywanych grupach):

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego:

- a – samice grupy I/samce grupy I
- b – samice grupy III/samce grupy III
- e – samice grupy I/samice grupy III
- f – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- c – samice grupy I/samce grupy I
- d – samice grupy III/samce grupy III
- g – samice grupy I/samice grupy III
- h – samce grupy I/samce grupy III.

Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego/zwierzęta niezależne od alkoholu etylowego:

- i – samice grupy I
- j – samice grupy III
- k – samce grupy I
- l – samce grupy III.

Na podstawie porównania wartości pola pod krzywą stężenie-czas, średniego czasu przebywania w organizmie, stałej eliminacji oraz biologicznego okresu półtrwania otrzymano następujące wyniki:

- Brak różnic statystycznie znamiennej we wszystkich parametrach.

Parametry farmakokinetyczne dla N-tlenku kotyniny przedstawiono szczegółowo w Tabeli XLIX oraz na Rycinach 186-193.

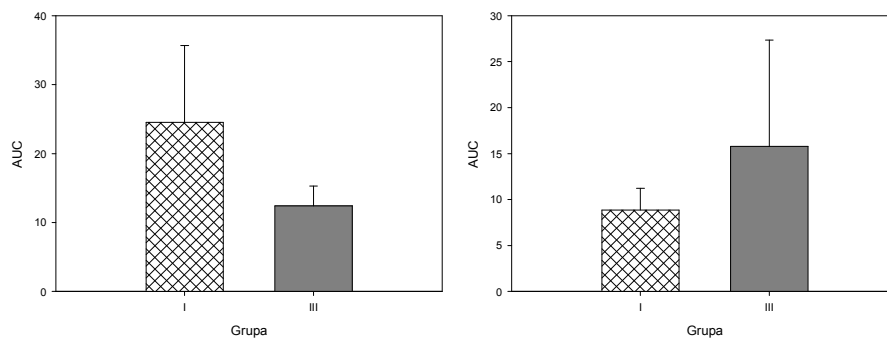
Tab. XLIX Parametry farmakokinetyczne dla N-tlenku kotyniny

Parametr	Grupa	Samice niezależnione		Samice uzależnione		Samce niezależnione		Samce uzależnione	
		I	III	I	III	I	III	I	III
AUC		22,826	12,676	6,45	12,61	5,859	5,866	5,97	6,89
		14,267	9,442	4,121	6,102	13,82	2,668	3,87	3,25
		36,44	15,149	8,857	28,6	26,29	8,713	6,55	10,63
	Średnia	24,511	12,422	8,857	15,771	15,323	5,749	5,463	6,923
	±SD	11,182	2,862	2,368	11,577	10,298	3,024	1,410	3,690
MRT		3,56	3,94	4,28	2,83	3,61	3,41	3,58	3,43
		3,54	5,1	6,36	1,72	3,1	2,55	3,41	2,77
		3,43	3,4	3,1	3,38	3,67	3,64	2,73	3,72
	Średnia	3,510	4,147	4,580	2,643	3,460	3,200	3,240	3,307
	±SD	0,070	0,869	1,651	0,846	0,313	0,575	0,450	0,487
k		0,3181	0,2752	0,2241	0,373	0,2935	0,3221	0,254	0,3209
		0,301	0,2148	0,161	0,5841	0,3858	0,5745	0,3244	0,3961
		0,3936	0,341	0,3624	0,358	0,283	0,2937	0,3743	0,2927
	Średnia	0,338	0,277	0,249	0,438	0,321	0,397	0,318	0,337
	±SD	0,049	0,063	0,103	0,126	0,057	0,155	0,060	0,053
t_{0.5}		2,1	2,52	2,96	1,86	2,31	2,15	2,73	2,15
		1,94	3,25	4,3	1,19	1,8	1,21	2,14	1,75
		1,76	2,03	1,91	2,19	2,45	2,33	1,85	2,37
	Średnia	1,933	2,600	3,057	1,747	2,187	1,897	2,240	2,090
	±SD	0,170	0,614	1,198	0,510	0,342	0,601	0,448	0,314

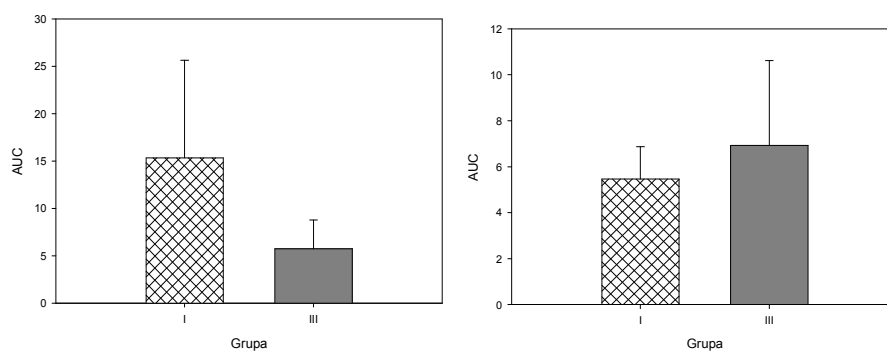
I – zwierzęta poddane ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie

II – zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c.

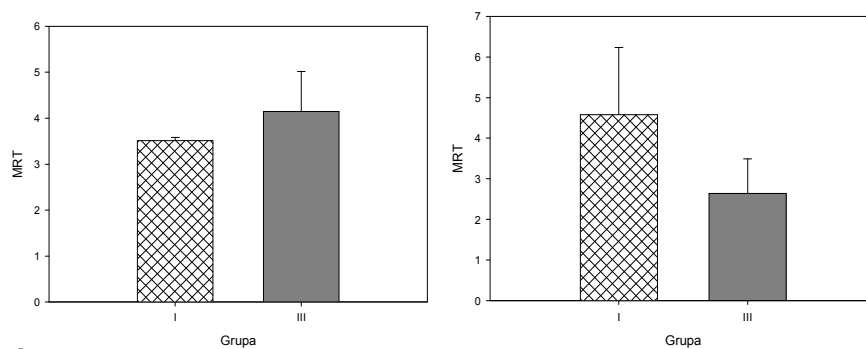
III - zwierzęta, którym jednorazowo podano alkohol etylowy w dawce 2 g/kg m.c. oraz poddano ekspozycji na dym tytoniowy w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ przez 5 dni, po 6 godzin dziennie



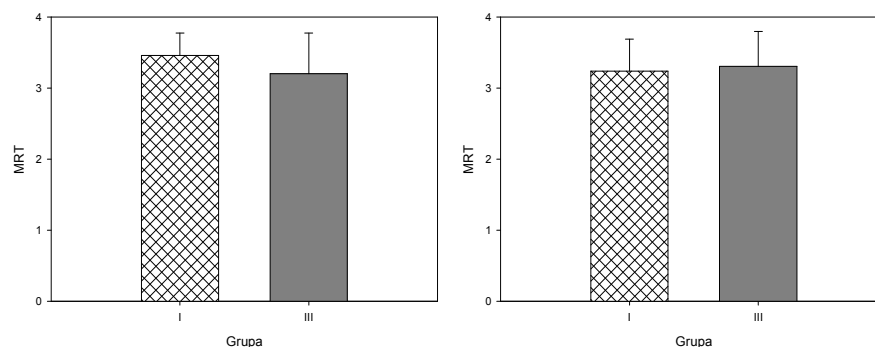
Ryc. 186 Pole pod krzywą stężenie-czas dla N-tlenku kotyniny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



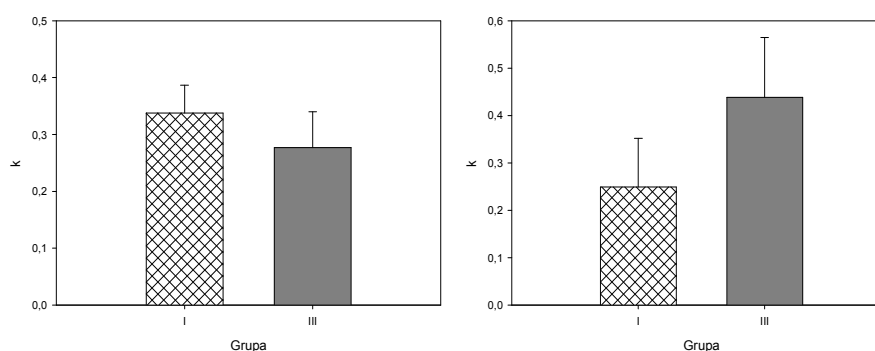
Ryc. 187 Pole pod krzywą stężenie-czas dla N-tlenku kotyniny – od lewej: samce niezależne, samce uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



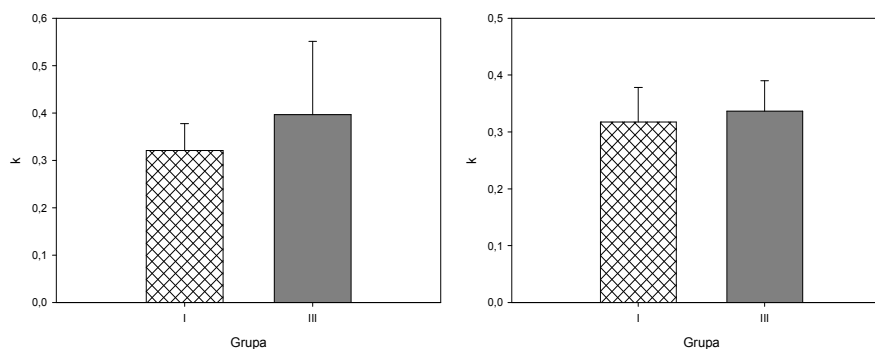
Ryc. 188 Średni czas przebywania w organizmie dla N-tlenku kotyniny – od lewej: samice niezależne, samice uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



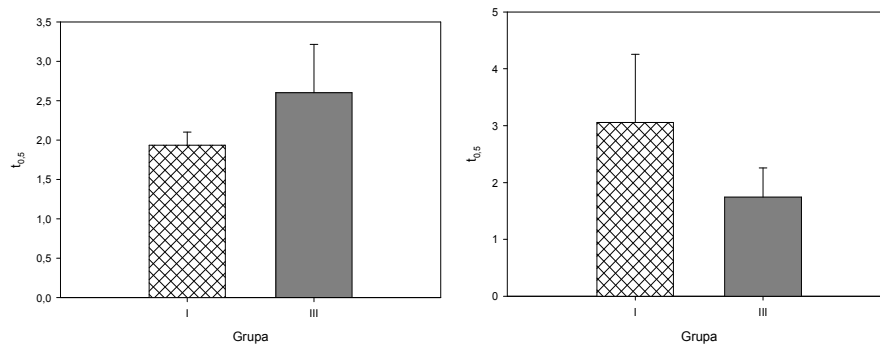
Ryc. 189 Średni czas przebywania w organizmie dla N-tlenku kotyniny – od lewej: samce niezależnione, samce uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



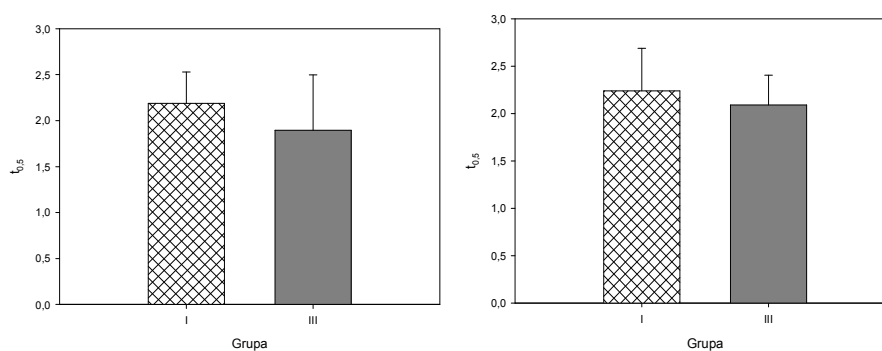
Ryc. 190 Stała eliminacji dla N-tlenku kotyniny – od lewej: samce niezależnione, samce uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 191 Stała eliminacji dla N-tlenku kotyniny – od lewej: samice niezależnione, samice uzależnione – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 192 Biologiczny okres półtrwania dla N-tlenku kotyniny – od lewej: samice niezależnione, samice uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych



Ryc. 193 Biologiczny okres półtrwania dla N-tlenku kotyniny – od lewej: samce niezależnione, samce uzależnione [h] – brak różnic statystycznie istotnych

8. Dyskusja

Od wielu lat przedmiotem zainteresowania naukowców i lekarzy praktyków jest wzajemna relacja palenia wyrobów tytoniowych i spożywania alkoholu etylowego. Wśród osób uzależnionych od etanolu palenie tytoniu jest bardzo rozpowszechnione i sięga 85%. Dodatkowo wypalana przez nich liczba papierosów jest znacznie wyższa niż osób niepijących. Około 90% palaczy wśród osób nadużywających alkoholu stanowią palący ponad 25 papierosów dziennie. Jest to poważny problem z punktu widzenia zdrowia publicznego ze względu na znaczne zwiększenie ryzyka występowania chorób nowotworowych, szczególnie w obrębie głowy i szyi [True et al., 1999]. Również palenie tytoniu powoduje zwiększenie ryzyka nawrotu czynnej postaci alkoholizmu lub większa problemy z innymi substancjami uzależniającymi [True et al., 1999]. Współwystępowanie uzależnienia od alkoholu etylowego i nikotyny znane jest od wielu lat, jednak, jak do tej pory nieznane są do końca mechanizmy wzajemnego wpływu tych dwóch ksenobiotyków [True et al., 1999]. Prowadzone badania na zwierzętach wykazują, że myszy bardziej wrażliwe na działanie alkoholu etylowego są bardziej podatne na działanie nikotyny [True et al., 1999]. Kolejnym bardzo ważnym elementem jest wpływ na enzymy metabolizujące ksenobiotyki, zarówno dymu tytoniowego i alkoholu etylowego. Palenie tytoniu przyspiesza metabolizm wielu ksenobiotyków. Najważniejszym czynnikiem wpływającym na zmianę szybkości eliminacji ksenobiotyków przez dym tytoniowy i etanol jest wpływ na enzymy z grupy cytochromu P450. Dym tytoniowy wpływa na aktywność izoenzymów CYP1A1 i CYP1A2 cytochromu P450. Wpływa on również na procesy glukuronidacji ksenobiotyków. Ponadto palenie powoduje zmniejszenie szybkości metabolizmu nikotyny na skutek zmian aktywności izoenzymu CYP2A6. Kolejnym izoenzymem cytochromu P450 jest CYP2E1 uczestniczący w biotransformacji alkoholu etylowego, paracetamolu oraz czynników rakotwórczych w tym, co bardzo ważne, kancerogennych nitrozoamin występujących w dymie tytoniowym. CYP2A6 nazywany wcześniej hydroksylazą kumaryny jest enzymem, który metabolizuje stosunkowo niewiele ksenobiotyków, jednak jest głównym enzymem biorącym udział w przemianach metabolicznych nikotyny. Nikotyna jest metabolizowana przy udziale CYP2A6 w wątrobie do kotyniny. Kotynina jest najczęściej używanym markerem narażenia na dym tytoniowy. Podobnie, jak nikotyna również kotynina jest metabolizowana do trans-3'-hydroksykotyniny przy udziale tego samego enzymu. Glukuronidacja nikotyny i kotyniny jest kolejnym etapem metabolizmu jednak u osób z

bardzo niską aktywnością CYP2A6 związaną z predyspozycjami genetycznymi, główną drogą metabolizmu staje się glukuronidacja [Benowitz, 2009a; Benowitz, 2009b].

W przypadku izoenzymu CYP2A1 występują znaczne różnice w aktywności międzypersonicznej, jak i pomiędzy rasami. Uważa się również, że CYP2A1 może pełnić rolę w rozwijaniu się uzależnienia od nikotyny [Bibi, 2008]. W przypadku CYP2E1 zwanego dawniej N-demetylazą dimetylnitrozoaminy odpowiada on za metabolizm prostych związków organicznych np. etanolu, czterochlorku węgla, halotanu, eteru dietylowego [Bibi, 2008]. Odpowiada za metabolizm takich substancji rakotwórczych, jak benzen, styren, aceton, chlorek winylu, N-nitrozoaminy, które występują również w dymie tytoniowym. Substancje o działaniu kancerogennym często są aktywowane przez izoenzym CYP2E1, co w połączeniu z jego zwiększoną aktywnością u osób nadużywających alkoholu etylowego stanowi zwiększone zagrożenie. Również czynniki takie, jak płeć, otyłość lub niedożywienie mają wpływ na aktywność CYP2E1 [Bibi, 2008]. Przypuszcza się również, że CYP2E1 może pełnić znaczącą rolę w patogenezie alkoholowego uszkodzenia wątroby. Zarówno alkohol etylowy, jak i nikotyna są w stanie indukować aktywność CYP2E1, co objawia się większą szybkością eliminacji alkoholu etylowego u osób palących [Bibi, 2008].

Alkohol etylowy jest znanym induktorem tego izoenzymu podobnie, jak dym tytoniowy. Zwiększenie aktywności CYP2E1 powoduje zwiększenie ryzyka uszkodzenia wątroby przez paracetamol, a także występuje wzrost hepatotoksyczności alkoholu etylowego. Dym tytoniowy powoduje wzrost aktywności CYP2E1 w komórkach wątroby, płuc i nerek myszy. Ponadto wykazano, że dobrym wskaźnikiem aktywności CYP2E1 jest szybkość metabolizmu chlorzoksazonu, który jest metabolizowany przy udziale tego izoenzymu. Indukcja CYP2E1 potwierdzona została w wątrobie szczura jednak badania wśród ludzi palących i niepalących przy użyciu chlorzoksazonu nie potwierdziły wpływu składników dymu tytoniowego na CYP2E1. Również występujący w dymie tytoniowym tlenek węgla jest czynnikiem hamującym enzymy z grupy cytochromu P450 *in vitro*. Wykazano także hamowanie przez tlenek węgla metabolizmu niektórych leków w badaniach na zwierzętach. Biorąc pod uwagę wysoki poziom hemoglobiny tlenkowej we krwi palaczy należy uwzględnić również ten czynnik w zmianach enzymatycznych zachodzących w organizmie osób palących. W badaniach Benowitz i Jacob oceniano wpływ tlenu węgla i palenia tytoniu na kinetykę i metabolizm chlorzoksazonu jako wyznacznik działalności CYP2E1 oraz kofeiny jako wyznacznik aktywności CYP1A2 oraz oksydazy ksantynowej [Benowitz and Jacob, 2003]. W badaniach tych wykazano, że palenie tytoniu przyspieszyło metabolizm chlorzoksazonu, prawdopodobnie na skutek

indukcji CYP2E1. W badaniach stwierdzono, że wzrasta klirens chlorzoksazonu jednak nie zmienia się jego okres półtrwania, co sugeruje zwiększenie efektu pierwszego przejścia. Ponadto Benowitz i Jacob wykazali przyspieszenie metabolizmu kofeiny, co związane jest z indukcją CYP1A2. Zespół badawczy wykazał również brak wpływu dymu tytoniowego na aktywność oksydazy ksantynowej. W przypadku tlenku węgla natomiast nie zanotowano wpływu na CYP2E1, CYP1A2 i oksydazę ksantynową [Benowitz and Jacob, 2003].

Wpływ dymu tytoniowego oraz alkoholu etylowego na procesy zachodzące podczas biotransformacji ksenobiotyków jest znaczący i może mieć poważne konsekwencje w przypadku farmakoterapii, gdzie dużą rolę pełni właściwe utrzymanie leku we krwi na stałym poziomie. Szczególnie, kiedy podczas terapii pacjent zaczyna lub przestaje palić tytoń lub pić alkohol etylowy następuje zmiana metabolizmu mogąca w skrajnym przypadku doprowadzić do zbyt niskiego poziomu leku we krwi lub jego zwiększonego poziomu.

Celem badań była ocena wpływu nikotyny oraz innych zawartych w dymie tytoniowym ksenobiotyków (np. wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych) na farmakokinetykę alkoholu etylowego oraz na poziom jego metabolitów. Oceniony został również wpływ alkoholu etylowego na eliminację nikotyny do jej mniej uzależniających metabolitów: nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny.

Porównywano ze sobą grupy zwierząt uzależnionych, jak i nieuzależnionych od alkoholu etylowego, samce i samice. Eksperyment wykonano na dojrzałych płciowo, białych szczurach szczepu Wistar. Zwierzęta w liczbie 294, podzielono na sześć grup badawczych: samce nieuzależnione (grupa A) i uzależnione (grupa B) od alkoholu etylowego, samice nieuzależnione (grupa C) i uzależnione (grupa D) od alkoholu etylowego oraz samce (grupa E) i samice (grupa F) kontrolne.

Proces uzależnienia zwierząt od alkoholu etylowego trwał 9 tygodni. Do eksperymentu zostało użytych 200 samic i 200 samców w wieku 4 tygodni, z których następnie wybrano niezbędną liczbę (63 samce – grupa B i 63 samice – grupa D) zwierząt uzależnionych od alkoholu etylowego. Zwierzęta zostały zakwalifikowane, jako uzależnione, gdy ilość wypijanego przez nie alkoholu etylowego stanowiła: 10 – 37% ogólnej ilości wypijanych płynów dla samców i 7 – 20% dla samic. W pracach Mikołajczaka i współpracowników prowadzono proces uzależnienia podając zwierzętom przez okres 2 miesięcy do picia wyłącznie 12% alkohol etylowy, a następnie pozostawiano zwierzętom wolny wybór między wodą a alkoholem etylowym. W pracy Mikołajczaka i

współpracowników zwierzęta zaliczane były jako preferujące alkohol etylowy, jeżeli ilość wypijanego przez nie alkoholu była większa niż 50% w stosunku do ogólnej ilości wypijanych płynów. Podobny proces uzależniania zwierząt od alkoholu etylowego zastosowała w swoich badaniach Okulicz-Kozaryn z zespołem. Proces uzależnienia oparty na wolnym wyborze między alkoholem etylowym i wodą jest modelem, który jest odpowiednikiem pewnych kryteriów stosowanych u ludzi [Koob, 2000; Mikołajczak i wsp., 2001, Mikołajczak i wsp., 2002, Mikołajczak i wsp., 2003; Okulicz-Kozaryn i wsp., 2004].

W doświadczeniach Dyr i współpracowników zastosowano również podobny model uzależnienia. Zaproponowano schemat z przymuszaniem w pierwszym etapie zwierząt do picia tylko alkoholu etylowego, aby w późniejszym okresie pozostawić zwierzętom wolny wybór między etanolem a wodą. Możliwość wyboru wody lub alkoholu nazywany jest dwubutelkowym testem preferencji [Dyr i wsp., 2009]. W badaniach Mikołajczaka i współpracowników oraz badaniach Okulicz-Kozaryn z zespołem, a także Dyr i współpracowników zastosowano szczepy szczurów WHP (Warsaw High-Preferring) oraz WLP (Warsaw Low-Preferring), stąd w niniejszej pracy mniejsze ilości wypijanego alkoholu etylowego wynikały z różnic w preferencji szczurów szczepu Wistar alkoholu etylowego w odniesieniu do szczepu WHP (Warsaw High-Preferring) [Dyr i wsp., 2009; Mikołajczak i wsp., 2001, Mikołajczak i wsp., 2002, Mikołajczak i wsp., 2003; Okulicz-Kozaryn i wsp., 2004].

W grupach – A, B, C, D wyodrębnione zostały trzy podgrupy liczące po 21 zwierząt: I – zwierzęta poddane ekspozycji na działanie dymu tytoniowego w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ powietrza przez 5 dni, po 6 godzin dziennie; II – szczury, którym jednorazowo, sondą dożołądkowo podano roztwór 10% alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c.; III – zwierzęta, poddane ekspozycji na działanie dymu tytoniowego w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ powietrza przez 5 dni, po 6 godzin dziennie, po zakończeniu ekspozycji zwierzętom podano jednorazowo, sondą dożołądkowo 10% roztwór alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c.

Schemat ekspozycji zwierząt na dym tytoniowy oparty został na wcześniejszych badaniach publikowanych w wielu pracach Florek i współpracowników. Model komory toksykologicznej, w której prowadzono ekspozycję zwierząt na dym tytoniowy opisany został w pracy Florek i Marszałka. Komora stanowi aparat do prowadzenia biernej ekspozycji na dym tytoniowy. Dym tytoniowy jest uzyskiwany z papierosów i mieszany z powietrzem tak, aby osiągnąć stężenie tlenu węgla w atmosferze komory 1500 mg/m³ tlenu węgla. Stężenie tlenu węgla w komorze było monitorowane przy użyciu analizatora

spalin. W badaniach przeprowadzonych przez Florek i Marszałka prowadzono narażenie zwierząt na trzy stężenia dymu tytoniowego. W przeliczeniu na tlenek węgla wynosiły one 500, 1000, 1500 mg/m³ powietrza. Ekspozycję prowadzono przez 5 dni w tygodniu, po 6 godzin dziennie, analogicznie, jak w niniejszej pracy. Stężenie tlenku węgla w powietrzu na poziomie 500, 1000, 1500 mg/m³ odpowiadało 15, 25, 35 sztukom spalanych papierosów w ciągu godziny. W badaniach Florek i Marszałka stosowano oznaczenie hemoglobiny tlenkowej jako biomarkera narażenia na dym tytoniowy. W poszczególnych grupach stężenia karboksyhemoglobiny wynosiły odpowiednio 16; 25,34; 33,08% i stanowiło to odzwierciedlenie dawki dymu tytoniowego użytej do eksperymentu [Florek and Marszałek 1999b].

Standaryzacja dawki dymu tytoniowego w odniesieniu do tlenku węgla stosowana była także w eksperymencie Izotti i współpracowników, gdzie stosowano dawkę 350 ppm tlenku węgla a ekspozycja trwała 28 dni. Jako biomarkery narażenia stosowano addukty składników dymu tytoniowego z DNA w różnych narządach [Izotti et al., 2001].

W innym eksperymencie Florek i współpracowników, gdzie badano wpływ dymu tytoniowego na przepuszczalność naczyń włosowatych, prowadzono ekspozycję na dym tytoniowy w dynamicznej komorze toksykologicznej na jednym poziomie dawkowania 1500±15% mg CO/m³ powietrza. Zawartość tlenu w komorze toksykologicznej wynosiła 20±0,5% obj., a temperatura była równa 23°C±1°C. Ekspozycję prowadzono analogicznie, jak w niniejszej pracy przez 6 godzin dziennie, 5 dni w tygodniu. Biomarkerem narażenia na dym tytoniowy w badaniach Florek i współpracowników była kotynina oznaczana w moczu badanych zwierząt [Florek i wsp., 2006].

Przydatność modelu ekspozycji stosowanego w badaniach potwierdza również praca Florek z zespołem, której celem była ocena toksykologiczna wpływu różnych stężeń dymu tytoniowego i diety o niskiej zawartości białka na płodność, reprodukcję i przeżywalność potomstwa samic szczurów Wistar [Florek i wsp., 2002].

W pracy wykorzystano oznaczenie nikotyny i jej mniej uzależniających metabolitów nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny jako biomarkery narażenia zwierząt na dym tytoniowy. Nikotyna może być stosowana z powodzeniem jako biomarker narażenia na dym tytoniowy. Jej zastosowanie odnosi się do wielu materiałów biologicznych. Do najczęściej stosowanych należy surowica lub osocze, mocz, a także ślina. Nikotyna jest markerem dosyć specyficznym, a jej zawartość w produktach spożywanych z dietą jest niewielka i nie ma praktycznego znaczenia.

Wśród metod wykorzystywanych do oznaczeń nikotyny i jej metabolitów najczęściej wykorzystuje się chromatografię gazową, wysokosprawną chromatografię cieczową z detekcją diodową lub spektrometrią masową oraz metody immunologiczne. Poziomy nikotyny we krwi dobrze korelują z ilością wypalanych papierosów zwłaszcza, jeśli próba zostanie pobrana wieczorem, gdzie pacjent palił tytoń w ciągu dnia. Również poziomy nikotyny w moczu są dobrym odzwierciedleniem ilości wypalanych papierosów. Nikotyna nie jest jednak przydatna jako biomarker narażenia na dym tytoniowy, jeśli narażenie wystąpiło od 8 do 12 godzin przed badaniem. Powodem nieprzydatności nikotyny w takim przypadku jest jej krótki okres półtrwania wynoszący około 2 godzin. W związku z tym bardziej odpowiedni jest pomiar zawartości metabolitów nikotyny w osoczu lub surowicy bądź moczu i ślinie [Benowitz et al., 2002].

Specyficzność oznaczeń metabolitów nikotyny jest bardzo duża. Należy jednak uwzględnić czy pacjent nie przyjmuje nikotynowej terapii zastępczej, co mogłoby dać fałszywy obraz w ocenie narażenia na dym tytoniowy. Jednym z najczęściej stosowanych markerów narażenia na dym tytoniowy jest kotynina. Spośród metod oznaczania kotyniny w materiale biologicznym najczęściej wymienia się, podobnie, jak w przypadku nikotyny chromatografię gazową, wysokosprawną chromatografię cieczową oraz metody immunologiczne. Metody immunologiczne mogą jednak dawać fałszywe wyniki ze względu na reakcje krzyżowe z innymi metabolitami nikotyny. Korelacja między poziomem kotyniny a ilością wypalanych papierosów jest dobra, a jej długi okres półtrwania wynoszący około 17 godzin powoduje, że może być oznaczana nawet kilka dni po zakończeniu palenia. Istnieją również testy immunologiczne w formie pasków służących do orientacyjnego określania występowania kotyniny w moczu. Należy jednak zwrócić uwagę na możliwość występowania wyników fałszywie dodatnich w obecności niektórych leków zawierających pierścień pirydynowy. Z tych względów metodami najpewniejszymi są metody chromatograficzne [Benowitz et al., 2002].

Z innych markerów narażenia na dym tytoniowy wymienić należy pomiar zawartości tlenu węgla w wydychanym powietrzu oraz oznaczanie karboksyhemoglobiny we krwi. Biomarkery te są przydatne w ocenie narażenia na duże dawki dymu tytoniowego i ze względu na wiele innych możliwych źródeł tlenu węgla w środowisku jego specyficzność nie jest duża. Kolejnym markerem narażenia na dym tytoniowy mogą być tiocyjaniany oznaczane we krwi lub moczu czy ślinie. Specyficzność oznaczeń tiocyjanianów w odniesieniu do palenia nie jest duża ponieważ istnieją inne źródła narażenia na te związki

szczególnie w diecie zawierającej pomidory, ziemniaki kalafiora lub kalarepę [Benowitz et al., 2002].

Wśród markerów narażenia na dym tytoniowy wymienia się również anabazynę i anatabinę, alkaloidy obecne w liściach tytoniu. Stężenia w jakich występują te alkaloidy w materiale biologicznym są niewielkie, co wiąże się z wysokim kosztem oznaczenia. Dzięki oznaczeniu anabazyny i anatabiny możliwe jest rozróżnienie czy pacjent przyjmuje nikotynową terapię zastępczą czy pali tytoń. Okres półtrwania dla anabazyny wynosi około 16 godzin, w przypadku anatabiny jest to około 10 godzin [Benowitz et al., 2002].

Również 1-hydroksypiren, N-nitrozoaminy specyficzne dla tytoniu, addukty 4-aminobifenylu z hemoglobina, addukty wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych z albuminą lub addukty benzo(a)pirenu z DNA są używane jako biomarkery narażenia na dym tytoniowy [Piekoszewski i Florek, 2001].

W przeprowadzonych w niniejszej pracy badaniach do oceny narażenia zwierząt na dym tytoniowy wykorzystano metabolity nikotyny oznaczając je techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią masową, jako bardzo czułą technikę stosowaną w tego typu badaniach. Metabolity nikotyny są często wykorzystywane w oznaczeniach w materiale biologicznym w celu oceny narażenia na dym tytoniowy, a technika wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemowym detektorem masowym stała się standardem w tego typu badaniach.

W badaniach Meger i współpracowników również zastosowano metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemowym detektorem masowym do oznaczeń nikotyny i jej metabolitów w moczu osób palących. W badanym moczu zespół oznaczał nikotynę, kotyninę, trans-3'-hydroksykotyninę i ich koniugaty z glukuronianami oraz N-tlenek kotyniny, norkotyninę, jak i N-tlenek nikotyny. Wzorcami wewnętrznymi w opracowanej przez Megera z zespołem metodzie były metylowa pochodna d₃-kotyniny, metylowa pochodna d₃-nikotyny oraz metylowa pochodna d₃-trans-3'-hydroksykotyniny. Precyzja opisanej metody wynosiła poniżej 10% dla wszystkich analitów, a odzysk mieścił się w granicach 87-113%. Liniowość metody zawierała się w przedziale 10-5000 ng/ml. Współczynniki korelacji dla wszystkich analitów były wyższe niż 0,93. Wyniki uzyskane przez Meger i współpracowników w pełni potwierdzają przydatność metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas do oznaczenia nikotyny i jej metabolitów [Meger et al., 2002].

Także Moyer z zespołem zastosował z powodzeniem metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią masową do oceny

metabolizmu nikotyny w surowicy lub moczu pacjentów. Moyer proponuje wykonywanie oznaczeń nikotyny i jej metabolitów jako integralną część leczenia szpitalnego, pomoc w dobraniu dawki nikotynowej terapii zastępczej, a także jako kontrola abstynencji u osób leczonych z uzależnienia od tytoniu. Opisywana metoda analityczna zastosowana została do oznaczenia nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, anabazyny i nornikotyny w ludzkiej surowicy oraz moczu. Wyniki badań Moyer i współpracowników również potwierdzają przydatność i uzasadniają użycie metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią masową w celu oceny narażenia na dym tytoniowy [Moyer et al., 2002].

Również Xu i współpracownicy zastosowali w celu oceny narażenia na dym tytoniowy oznaczenie nikotyny i jej metabolitów, czyli kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny, N-tlenku nikotyny oraz nornikotyny. Zespół badawczy zastosował metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową detekcją masową. Zaproponowano wykorzystanie tej metody w oznaczaniu metabolitów nikotyny u osób palących i przyjmujących nikotynową terapię zastępczą, jak i biernie narażonych na dym tytoniowy. Zespół Xu również w pełni potwierdza przydatność metody do tego typu oznaczeń, ze względu na jej dużą czułość i specyficzność [Xu et al., 2004].

Przydatność kotyniny do oceny narażenia na dym tytoniowy i powiązanych z nim schorzeniami jest wykorzystywana i potwierdzana przez wielu badaczy [Benowitz et al, 2009a; Benowitz et al, 2009b; Benowitz, 1999; Wall et al., 1988; Yamazaki et al., 2010].

W celu porównania poszczególnych grup zwierząt dokonano obliczeń parametrów farmakokinetycznych alkoholu etylowego i jego metabolitów: aldehydu octowego, metanolu, acetonu, n-propanolu i n-butanolu, a także nikotyny i jej mniej uzależniających metabolitów: nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny i N-tlenku kotyniny. W przypadku wszystkich grup badawczych obliczono 4 parametry farmakokinetyczne, które następnie porównywano w poszczególnych grupach. Parametrami farmakokinetycznymi służącymi do porównania poszczególnych grup były: pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas, (*AUC – Area Under the Curve*) – parametr ten określa, jakie jest narażenie organizmu na analizowaną substancję, czyli wyznacza ilość ksenobiotyku, jaka znajduje się w organizmie. Na podstawie pola powierzchni pod krzywą stężenie-czas możliwe jest obliczenie innych parametrów farmakokinetycznych. Kolejnym parametrem farmakokinetycznym służącym porównaniu grup był średni czas przebywania ksenobiotyku w ustroju (*MRT – Mean Residence Time*). Jego wartość wskazuje na przebieg procesów kinetycznych – wchłaniania, dystrybucji, wydalania. Kolejnymi

obliczeniami było wyznaczenie stałej szybkości eliminacji, k – parametr ten określa, jak przebiegają procesy wydalania. Na stałą szybkości eliminacji składa się wiele czynników takich, jak klirens czy objętość dystrybucji. Ostatnim parametrem był biologiczny okres półtrwania, $t_{0,5}$. Parametr ten określa czas, po którym stężenie ksenobiotyku w krwi/osoczu zmniejsza się o połowę.

W obliczeniach farmakokinetycznych dotyczących alkoholu etylowego i aldehydu octowego zastosowany został jednokompartментowy model z wchłanianiem pierwszego rzędu i przy założeniu eliminacji alkoholu etylowego i aldehydu octowego wyłącznie drogą metabolizmu pomijając wydalanie przez płuca i nerki.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że istotnie statystycznie jest zmniejszenie stałej szybkości wchłaniania alkoholu etylowego u samic w porównaniu z samcami, a także zmniejszona jest szybkość wchłaniania alkoholu etylowego u osobników poddanych działaniu dymu tytoniowego w porównaniu ze zwierzętami niepoddanymi ekspozycji na dym tytoniowy. Ponadto stała szybkości metabolizmu alkoholu etylowego była istotnie większa u samic w porównaniu z samcami zarówno w grupach zwierząt narażonych na dym tytoniowy, jak i nienarażonych, uzależnionych i niezależnych.

Natomiast stała szybkości eliminacji aldehydu octowego była istotnie większa u zwierząt uzależnionych zarówno u samic, jak i samców. W badaniach wykazano, iż objętość dystrybucji była istotnie mniejsza u samic w porównaniu z samcami zarówno w grupach zwierząt uzależnionych, jak i niezależnych od alkoholu etylowego a także narażonych i nienarażonych na działanie dymu tytoniowego.

W przeprowadzonych badaniach poziom alkoholu etylowego w surowicy krwi był niższy u zwierząt narażonych na dym tytoniowy niż u szczurów otrzymujących ten ksenobiotyk bez uprzedniej ekspozycji na dym.

Zjawisko to tłumaczy się tym, że podanie nikotyny powoduje opóźnienie w opróżnianiu żołądka, co w konsekwencji zwiększa metabolizm alkoholu etylowego przez żołądkową dehydrogenazę alkoholową [Abreu-Villaca et al., 2007; Oneta et al., 1998].

Innym wyjaśnieniem otrzymanych wyników jest wzrost objętości dystrybucji spowodowany efektem pierwszego przejścia, co wywołuje niewielkie zmiany eliminacji alkoholu etylowego na skutek działania nikotyny. Podobnie w badaniach zespołu Abreu-Villaca wskazywano, że u zwierząt po podaniu doustnym etanolu i równocześnie otrzymujących nikotynę, poziom alkoholu we krwi był niższy niż u zwierząt, które nie otrzymywały alkaloidu [Abreu-Villaca et al., 2007].

Enzymy z grupy cytochromu P450 są oksydazami o funkcji mieszanej, aktywnymi przede wszystkim w wątrobie, biorącymi udział w przemianach ksenobiotyków, związków chemicznych zawartych w diecie, a także związków endogennych oraz substancji szkodliwych pochodzących ze środowiska.

Alkohol etylowy jest metabolizowany głównie przy udziale dehydrogenazy alkoholowej (ADH) [Howard et al., 2001], przy zawartości alkoholu we krwi poniżej 0,46 ‰ CYP2E1 metabolizuje ok. 20% dawki. Przy wysokich stężeniach alkoholu etylowego we krwi następuje indukcja CYP2E1 i jego udział w metabolizmie etanolu może znacznie wzrastać. Znacząco zwiększona aktywność CYP2E1 może mieć poważne następstwa kliniczne, dlatego że enzym ten odgrywa również bardzo ważną rolę w przemianach wielu leków. Wymienić tutaj należy paracetamol, halotan, izoniazyd czy tamoksyfen [Schoedel and Tyndale, 2003]. U osób nadużywających alkoholu dochodzi do wzrostu poziomu mRNA kodującego CYP2E1, a ponadto do stabilizacji enzymu i zapobiegnięcia rozpadowi enzymu, w czym udział ma etanol. Dehydrogenaza alkoholowa, z kolei, nie jest indukowana przez alkohol etylowy, stąd przyjmuje się, że za zwiększony metabolizm alkoholu etylowego u osób go nadużywających jest odpowiedzialna izoforma CYP2E1 cytochromu P450. Dodatkowo CYP2E1 może być indukowana przez związki endogenne, takie, jak aceton, co ma znaczenie np. w cukrzycy. W chorobach cywilizacyjnych, jak otyłość czy hipertriglicydemia również może dojść do zwiększenia aktywności CYP2E1, co w połączeniu z dymem tytoniowym, który wpływa indukująco na niektóre enzymy z grupy cytochromu P450, daje efekty kliniczne. Niewątpliwie nie mogą one zostać pominięte w planowaniu lub wyjaśnianiu zaistniałych problemów terapeutycznych [Howard et al., 2001].

W eksperymencie przeprowadzonym przez Howard i współpracowników szczurom podawano alkohol etylowy lub winian nikotyny przez siedem dni, w dawkach odpowiednio od 0,3 do 3,0 g/kg m.c. dla alkoholu etylowego i od 0,1 do 1,0 mg/kg m.c. dla nikotyny. Podanie alkoholu lub nikotyny spowodowało wzrost poziomu CYP2E1 w obrębie zrazików wątroby, co wykazano przy użyciu techniki Western blot. Ponadto wykazano podwyższone wartości V_{max} hydroksylacji chlorzoksazonu u zwierząt otrzymujących nikotynę lub alkohol etylowy w porównaniu ze zwierzętami, którym podawano sól fizjologiczną. Obie zmierzone przez zespół Howard wartości były ze sobą zgodne i wzrost ilości białka w komórkach był wprost proporcjonalny do aktywności enzymatycznej [Howard et al., 2001].

Jednym z ważniejszych skutków palenia jest zwiększenie szybkości metabolizmu ksenobiotyków na skutek indukcji enzymów wątrobowych. Zawarte w dymie tytoniowym

związki m.in. wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne są induktorami tych enzymów. Efektem działania tych czynników jest zmiana skutków farmakologicznych lub klinicznych [Kawajiri et al., 1990; Kawajiri and Fujii-Kuriyama, 1991; Nakachi et al., 1991]. W badaniach eksperymentalnych indukcja izoenzymu cytochromu P-450 CYP2E1 odpowiedzialnego za metabolizm etanolu i składników dymu tytoniowego oraz leków spowodowała szybszy metabolizm chlorzoksazonu u małp, poddanych wcześniej działaniu nikotyny [Lee et al., 2006]. U szczurów przewlekłe podawanie nikotyny powodowało zwiększenie ilości spożywanego alkoholu etylowego [Blomqvist et al., 1996; Clark et al., 2001], natomiast u myszy przewlekłe narażonych na nikotynę występowało zwiększenie tolerancji na alkohol etylowy [Collins et al., 1996]. Nikotyna zawarta w dymie tytoniowym może podwyższać aktywność wątrobowego i mózgowego CYP2E1 u szczurów, gdzie efekt może być różny w zależności od czasu narażenia [Howard et al., 2003; Joshi and Tyndale, 2006].

Badania na zwierzętach narażonych na działanie alkoholu etylowego wykazały wzmożony metabolizm wątrobowy nikotyny przy udziale cytochromu P450 – izoenzymu CYP2B1. Z kolei zwierzęta eksponowane na nikotynę wykazywały zwiększony metabolizm alkoholu etylowego przy udziale izoenzymu CYP2E1. Zmiany w aktywności CYP2B1, pod wpływem alkoholu etylowego, objawiały się zarówno we wzroście aktywności enzymu, jak i zwiększonej ilości tego białka i mRNA kodującego ten enzym. W przypadku izoenzymu CYP2E1 zmiany wywołane przez nikotynę obejmowały zwiększenie poziomu enzymu, jak i jego aktywności, nie zanotowano natomiast zmian w mRNA odpowiedzialnym za syntezę CYP2E1. Badania te prowadzone przez Schoedel and Tyndale wykazały, że interakcja między alkoholem etylowym a nikotyną rzeczywiście zachodzi, a oba te związki mogą nawzajem przyspieszać swój metabolizm. Ci sami autorzy twierdzą jednak, że zmiana farmakologii i toksykologii leków metabolizowanych przez w/w enzymy, z powodu przyjęcia alkoholu i nikotyny są nadal dyskutowane [Schoedel and Tyndale, 2003]. Wpływ na poziom aktywności CYP2E1 zarówno przez dym tytoniowy, jak i etanol powoduje, że łączne działanie tych substancji może wywołać różne efekty kliniczne [Gentry-Nielsen, 2004].

U osób uzależnionych od alkoholu etylowego obserwuje się zwiększony poziom mRNA kodującego CYP2E1. W powiązaniu z bardzo dużą indukcją CYP2E1 u alkoholików stwierdza się znacznie zwiększoną hydroksylację chlorzoksazonu stanowiącą próbę na aktywność CYP2E1 [Lieber, 1999]. Podobnie zwiększoną hydroksylację chlorzoksazonu obserwuje się u osób intensywnie palących. Jest to dowodem, że również nikotyna oraz szereg substancji zawartych w dymie tytoniowym są induktorami CYP2E1. W badaniach

eksperymentalnych podanie nikotyny lub inhalacja dymu tytoniowego powodują zwiększenie aktywności izoenzymu CYP2E1. Udział CYP2E1 w przemianach paracetamolu i leków powoduje skutki ważne ze względów klinicznych. Nie bez znaczenia jest też fakt zaburzeń przemian endogennych substancji przez ten izoenzym. Przykładem jest aceton [Schoedel and Tyndale, 2003].

Palenie tytoniu przez ludzi powoduje znaczne zwiększenie aktywności izoenzymu CYP2E1, którą mierzy się doświadczalnie poprzez obserwacje szybkości metabolizmu chlorzoksazonu. Ponadto wzrost aktywności CYP2E1 prowadzi do zwiększenia ilości powstających toksycznych metabolitów dymu tytoniowego, zwłaszcza kancerogenów. Podobnie, jak etanol, również nikotyna zwiększa aktywność CYP2E1 [Howard et al., 2001]. Specyficzne dla tytoniu nitrozoaminy, takie, jak 4-(metylonitrozoamino)-1-(3-pirydylo)-1-butanon (NNK) oraz 4-(metylonitrozoamino)-1-(3-pirydylo)-1-butanol (NNAL), zawarte w dymie są jednym z ponad 4300 składników inhalowanych przez palaczy. Enzymy mikrosomalne znajdujące się w płucach, przewodzie pokarmowym i wątrobie powodują przekształcenie nitrozoamin do związków rakotwórczych. Ryzyko wystąpienia nowotworów jest znacznie zwiększone w porównaniu do populacji ogólnej, a jeśli dołączyć do tego spożywanie alkoholu, który ma działanie indukujące enzymy mikrosomalne, wówczas następuje dalszy wzrost ryzyka [NIAAA, 1998; NIAAA, 2007].

Badania na zwierzętach potwierdzają, że palenie tytoniu indukuje aktywność CYP2E1 w płucach i nerkach myszy. Również w wątrobie szczura stwierdzono zwiększoną aktywność CYP2E1 w mikrosomach u zwierząt poddanych działaniu nikotyny przez 7 dni. W badaniach prowadzonych przez zespół Benowitz i Jacob wykazano, że ekspozycja na dym tytoniowy ma umiarkowany wpływ na aktywność CYP2E1 u osób poddanych działaniu dymu tytoniowego. Autorzy sugerują, że za zwiększoną szybkość metabolizmu chlorzoksazonu poza CYP2E1 mogą odpowiadać także izoenzymy takie, jak CYP1A1 i CYP1A2. Zwiększenie aktywności CYP1A2 znajduje odzwierciedlenie w przyspieszeniu biotransformacji kofeiny, metabolizowanej głównie przez ten izoenzym [Benowitz and Jacob, 2003].

Badania biochemiczne dotyczące markerów spożywania alkoholu etylowego dostarczyły informacji, że u osób nadużywających alkoholu etylowego występuje nie tylko zwiększone stężenie alkoholu etylowego we krwi ale także metanol, n-propanol i n-butanol występują na podwyższonych poziomach w porównaniu do osób pijących okazjonalnie. W przypadku metanolu, jego metabolizm jest wydłużony u pacjentów, u których występuje we krwi wysokie stężenie alkoholu etylowego. Utrzymuje się on na stałym poziomie do czasu

kiedy spadnie poziom alkoholu etylowego we krwi. Eliminacja metanolu następuje bardzo szybko kiedy poziom alkoholu etylowego we krwi spadnie poniżej 0,2 g/L u osób pijących w sposób okazjonalny. Aceton z kolei nie może być używany jako biomarker narażenia na alkohol etylowy ze względu na występujące w przebiegu intoksykacji alkoholem etylowym zaburzenia metaboliczne. Jednak dużą wadą oznaczenia acetonu jest współwystępowanie z zatruciem cukrzycy lub zaburzeń wodno – elektrolitowych, które również zaburza obraz oznaczenia acetonu we krwi i powoduje kłopoty w interpretacji takiego oznaczenia. Jeśli chodzi o 2-propanol jego poziomy we krwi osób spożywających alkohol etylowy są zbliżone do wartości metanolu we krwi jednak jego wchłanianie jest wolniejsze niż w przypadku metanolu. Dodatkowo eliminacja 2-propanolu przebiega szybko i jest niezależna od eliminacji alkoholu etylowego [Jeszszky et al., 2000].

Stężenie metanolu we krwi osób nadużywających regularnie alkoholu etylowego jest znacznie wyższe w porównaniu z poziomami u osób pijących okazjonalnie. Ujednolicając wyniki oznaczania metanolu we krwi poprzez podzielenie zawartości metanolu przez zawartość alkoholu etylowego we krwi również uzyskuje się znacznie wyższe wartości tego wskaźnika u osób nadużywających alkoholu etylowego. Metanol może być markerem uzależnienia od alkoholu etylowego i za wartość progową uznaje się stężenie we krwi wynoszące 10 mg/L. Potwierdzają to badania Zuby i współpracowników, gdzie około 80% pacjentów Kliniki Toksykologii przyjętych z powodu zatrucia alkoholem etylowym wykazywało we krwi wartość powyżej 10 mg/L metanolu. Wysokie stężenie metanolu we krwi pacjentów utrzymywało się kilkanaście godzin od przyjęcia do szpitala. Takie kilkunastogodzinne podwyższenie zawartości metanolu we krwi może być markerem narażenia na alkohol etylowy biorąc pod uwagę fakt, iż w polskich wyrobach spirytusowych metanol stanowi nieodłączny składnik z powodu powstawania podczas fermentacji alkoholowej [Zuba et al., 2002].

Pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas (AUC) w przypadku acetonu dla samic niezależnych od alkoholu etylowego wynosiło odpowiednio 667,5; 215,8; 346,4 kolejno dla grup: I (zwierzęta poddane ekspozycji na działanie dymu tytoniowego w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ powietrza przez 5 dni, po 6 godzin dziennie), II (szczury, którym jednorazowo, sondą dożołądkowo podano roztwór 10% alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c.), III (zwierzęta, poddane ekspozycji na działanie dymu tytoniowego w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ powietrza przez 5 dni, po 6 godzin dziennie, po zakończeniu ekspozycji zwierzętom podano jednorazowo, sondą dożołądkowo 10% roztwór alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c.). Samice

uzależnione od alkoholu etylowego wykazywały niższą wartość pola powierzchni pod krzywą stężenie-czas (319,6) tylko w grupie I w porównaniu do samic nieuzależnionych. Nie były to jednak różnice statystycznie istotne. W grupach II i III wartości AUC były zbliżone do analogicznych grup samic nieuzależnionych. Samce nieuzależnione natomiast w obrębie grupy I wykazywały wyższe wartości AUC w porównaniu do grupy I samców uzależnionych (387,7 vs 217,7). W grupach II i III wartości AUC były do siebie zbliżone.

Wyższa wartość AUC w przypadku zwierząt nieuzależnionych narażonych na dym tytoniowy może być spowodowana wywołanymi niedotlenieniem zaburzeniami równowagi kwasowo-zasadowej i zmniejszeniem zdolności eliminacji acetonu. U zwierząt uzależnionych od alkoholu etylowego mogło natomiast dojść do mechanizmów adaptacyjnych na skutek przewlekłego narażenia na alkohol etylowy i ciągłych związanych z tym zaburzeń metabolicznych i szybszej eliminacji oraz występowania mniejszych stężeń acetonu w organizmach zwierząt. Nie wykryto jednak żadnych różnic statystycznie istotnych, jeśli chodzi o parametry farmakokinetyczne dotyczące acetonu u badanych zwierząt [Kokot, 2003].

Dla metanolu pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas, średni czas przebywania w organizmie, stała eliminacji oraz biologiczny okres półtrwania wykazywały wyższe wartości w przypadku zwierząt poddanych ekspozycji na działanie dymu tytoniowego w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ powietrza przez 5 dni, po 6 godzin dziennie, którym po zakończeniu ekspozycji podano jednorazowo, sondą dożołądkowo 10% roztwór alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c. (grupa III) w porównaniu ze szczurami którym jednorazowo, sondą dożołądkowo podano roztwór 10% alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c. (grupa II). Wyższe wartości badanych parametrów farmakokinetycznych w grupie III w porównaniu do grupy II występowały zarówno w przypadku samic nieuzależnionych i uzależnionych od alkoholu etylowego, a także w grupach nieuzależnionych i uzależnionych samców. Dodatkowo wszystkie obliczane parametry farmakokinetyczne zarówno w grupie II, jak i III były niższe u samic uzależnionych od alkoholu etylowego w porównaniu do samic nieuzależnionych. Samce uzależnione od alkoholu etylowego wykazywały niższe wartości parametrów farmakokinetycznych w porównaniu z samcami nieuzależnionymi jednak różnice między grupą II a III były niewielkie. Zwierzęta nieuzależnione samce i samice wykazywały dłuższy czas przebywania w organizmie metanolu, co wiąże się zapewne z nierozwiniętymi jeszcze innymi drogami metabolizmu alkoholu etylowego i metylowego. Ponadto metanol utrzymywał się w organizmach zwierząt przez długi okres czasu, co związane jest z

współwystępowaniem alkoholu etylowego i blokowaniem przez niego metabolizmu metanolu. W przypadku zwierząt uzależnionych zarówno samic, jak i samców spadek zawartości metanolu we krwi następował szybciej. Wyniki takie sugerują, że uzależnienie od alkoholu etylowego powoduje skrócenie eliminacji metanolu, natomiast dym tytoniowy odwrotnie, powoduje wydłużenie procesów eliminacji metanolu i wyższe jego poziomu w materiale biologicznym. Nie wykazano jednak żadnej różnicy statystycznie istotnej w porównaniu badanych parametrów farmakokinetycznych w poszczególnych grupach. Wyniki te są zgodne z wynikami prezentowanymi przez Zubę i współpracowników dotyczących oznaczeń metanolu [Zuba et al., 2002]. Metanol łącznie z etanolem jest dystrybuowany we wszystkich tkankach organizmu, ze względu na dobrą rozpuszczalność w wodzie. Z powodu wyższego powinowactwa alkoholu etylowego niż metylowego do dehydrogenazy alkoholowej metabolizm tego drugiego jest na tyle wolny, iż w przypadku przewlekłej konsumpcji następuje kumulacja metanolu w organizmie. U osób uzależnionych od alkoholu etylowego dochodzi jeszcze do innej sytuacji, do uruchomienia innych szlaków detoksykacyjnych. Metabolizm metanolu przebiega niezależnie od metabolizmu alkoholu etylowego przy udziale między innymi mikrosomalnego układu utleniania enzymatycznego lub katalazy, który u uzależnionych jest znacznie bardziej aktywny niż u osób zdrowych. Taki metabolizm alkoholu metylowego jest możliwy ze względu na o wiele mniejszą specyficzność mikrosomalnego układu utleniania enzymatycznego niż dehydrogenazy alkoholowej. Indukcja innych szlaków metabolicznych alkoholu etylowego uwidacznia się także w bardzo wysokiej stałej eliminacji alkoholu etylowego u osób uzależnionych, która w badaniach Zuby i współpracowników wśród pacjentów Kliniki Toksykologii wynosiła średnio 0,258 g/L/h [Zuba et al., 2002].

Ze względu na to, że n-propanol oraz n-butanol występują w wyrobach spirytusowych jako zanieczyszczenia powstające w procesie produkcji alkoholu etylowego zastosowano również oznaczenie poziomu tych dwóch alkoholi we krwi zwierząt a także dokonano obliczenia parametrów farmakokinetycznych pola powierzchni pod krzywą stężenie-czas, średniego czasu przebywania w organizmie, stałej eliminacji oraz biologicznego okresu półtrwania dla tych alkoholi. N-propanol oraz n-butanol znajdują zastosowanie w ocenie narażenia na alkohol etylowy jednak są one mniej znaczącymi markerami ze względu na ich odmienny metabolizm i wydalanie niezależnie od przemian alkoholu etylowego i metanolu [Chłobowska et al., 2000; Jeszenszky et al., 2000].

W przeprowadzonych badaniach zarówno n-propanol, jak i n-butanol wykazywały wyższe wartości wszystkich parametrów farmakokinetycznych w grupach zwierząt

poddanych ekspozycji na działanie dymu tytoniowego w stężeniu, w przeliczeniu na tlenek węgla, 1500 mg CO/m³ powietrza przez 5 dni, po 6 godzin dziennie, którym po zakończeniu ekspozycji podano jednorazowo, sondą dożołądkowo 10% roztwór alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c. (grupa III) w porównaniu ze szczurami, którym jednorazowo, sondą dożołądkowo podano roztwór 10% alkoholu etylowego w dawce 2 g/kg m.c. (grupa II). Tendencja taka widoczna była zarówno u samic i samców niezależnych od alkoholu etylowego, jak i u samic i samców uzależnionych od alkoholu etylowego. Ponadto u zwierząt uzależnionych od etanolu samic, jak i samców wykazano wyższe wartości parametrów farmakokinetycznych w porównaniu ze zwierzętami niezależnymi. Wyniki wskazują tendencję, że dym tytoniowy i uzależnienie od alkoholu etylowego powoduje wydłużenie eliminacji n-propanolu i n-butanolu i występowanie tych alkoholi na wyższych poziomach we krwi badanych zwierząt, jednak obliczenia statystyczne nie wykazały istotnych pod względem statystycznym różnic w porównaniu parametrów farmakokinetycznych n-propanolu i n-butanolu pomiędzy grupami.

Biorąc pod uwagę parametry farmakokinetyczne obliczone dla nikotyny w przeprowadzonych badaniach wykazano, że samice uzależnione i niezależne eliminują nikotynę wolniej niż samce z grup uzależnionych. Dodatkowo zwierzęta obu płci z grup narażonych na dym tytoniowy i alkohol etylowy eliminują nikotynę wolniej niż zwierzęta eksponowane tylko na dym. Również samce i samice uzależnione od alkoholu etylowego z grup inhalowanych dymem tytoniowym i grup narażonych na dym i alkohol wolniej eliminują nikotynę niż samce z grupy niezależnej. Różnice w przypadku parametrów farmakokinetycznych dla nikotyny były istotne statystycznie.

W przypadku nornikotyny zwierzęta narażone na dym tytoniowy, zarówno samce i samice niezależne eliminują ją szybciej niż zwierzęta uzależnione. W obrębie zwierząt uzależnionych obu płci z grup narażonych na dym tytoniowy samce eliminują nornikotynę szybciej. Ponadto samice niezależne z grupy inhalującej dym i przyjmującej alkohol etylowy szybciej eliminują nornikotynę niż samice uzależnione z grupy poddanej działaniu wyłącznie dymu tytoniowego.

Istnieje znaczna zmienność osobnicza w szybkości eliminacji nikotyny i kotyniny u ludzi. Wśród czynników jakie wpływają na szybkość eliminacji nikotyny wymienia się czynniki fizjologiczne, takie, jak dieta i wysiłek fizyczny powodując zmiany w przepływie wątrobowym krwi zmieniają szybkość eliminacji nikotyny. Również związki chemiczne, np. mentol zmieniają szybkość wydalania tego alkaloidu. Wywołuje on zwolnienie eliminacji nikotyny [Benowitz et al., 2004]. Metabolizm nikotyny również zmniejsza się wraz z

wiekem i całkowity klirens nikotyny jest niższy o 23% w wieku podeszłym w porównaniu z osobami młodymi. Także aktywność CYP2A6 obniża się w wieku podeszłym. Wykazano, że objętość dystrybucji maleje w starszym wieku.

Noworodki natomiast wykazują 3 do 4 razy wolniejszy metabolizm nikotyny w porównaniu z dorosłymi [Hukkanen et al., 2005].

Istnieją różnice między kobietami a mężczyznami w metabolizowaniu nikotyny. Kobiety wykazują krótszy okres biologicznego półtrwania dla kotyniny, natomiast dla nikotyny nie ma takich różnic. W innych badaniach wykazano przy użyciu plastrów zawierających nikotynę, że kobiety szybciej metabolizują nikotynę niż mężczyźni. Często również doustne środki antykoncepcyjne przyspieszają metabolizm nikotyny [Benowitz et al., 2004]. Również w badaniu stosunku nikotyny do kotyniny i trans-3'-hydroksykotyniny wykazano znacznie niższe wartości u kobiet, co wskazuje na szybszy metabolizm nikotyny [Hukkanen et al., 2005].

Szybszy metabolizm nikotyny u kobiet wykazano także w badaniach polegających na pomiarze hydroksylacji kumaryny lub konwersji metabolitu kofeiny do kwasu dimetylourowego jako wykładnika działalności CYP2A6 [Hukkanen et al., 2005].

U pacjentów z chorobą alkoholową zanotowano wolniejszą biotransformację kumaryny w próbkach wątroby pobranych podczas biopsji. Zmiany takie są spowodowane zmniejszeniem aktywności CYP2A6 [Hukkanen et al., 2005].

Również palenie tytoniu wpływa na szybkość metabolizmu nikotyny. Powstrzymanie się od palenia na okres 4 dni powoduje wzrost klirensu o 14%, natomiast niepalenie przez 7 dni wywołuje wzrost o 36% [Denton et al., 2004; Hukkanen et al., 2005].

Oksydaza aldehydowa jest enzymem występującym w cytozolu biorącym udział w przekształceniu nikotynowego- $\Delta^{1(5)}$ -jonu iminowego do kotyniny [Hukkanen et al., 2005]. W badaniach *in vitro* przeprowadzonych w mikrosomach wątroby królika następowała kumulacja nikotynowego- $\Delta^{1(5)}$ -jonu iminowego w przypadku nieobecności oksydazy aldehydowej [Hukkanen et al., 2005]. Niekompetencyjny inhibitor oksydazy aldehydowej, jakim jest raloksifen, powoduje zahamowanie powstawania kotyniny. Badania prowadzone przez Obach polegały na inkubacji cytozolu komórek ludzkiej wątroby w buforze fosforanowym o pH=7,4 z dodatkiem raloksifenu i bez dodatku tego związku [Obach et al., 2004]. W cytozolu komórek wątroby szczurów oksydaza aldehydowa powodowała konwersję N-tlenku nikotyny z powrotem do nikotyny [Hukkanen et al., 2005], jednak nie ma dowodu na takie działanie oksydazy aldehydowej u ludzi, ponieważ podanie N-tlenku

nikotyny dożylnie powoduje wydalenie tego związku z moczem w postaci niezmienionej [Hukkanen et al., 2005].

Oksydaza aldehydowa jest enzymem biorącym udział w przemianach metabolicznych leków posiadających grupę aldehydową [Beedham, 2002]. Jest enzymem zawierającym cząsteczkę molibdenu jako kofaktor, podobnie, jak oksydaza ksantynowa. Zawiera grupę prostetyczną, w której w białkową część wbudowany jest atom molibdenu. Działanie oksydazy aldehydowej opiera się na konwersji aldehydów do kwasów karboksylowych. W reakcjach tych tlen cząsteczkowy jest akceptorem elektronów. Również niektóre leki mogą być akceptorami elektronów zamiast tlenu i ulegają redukcji w reakcjach katalizowanych przez oksydazę aldehydową np ziprazidon [Beedham et al., 2003]. Mimo, iż oksydaza aldehydowa nie jest najważniejszym enzymem biorącym udział w metabolizmie ksenobiotyków to nie można pominąć jej udziału w przemianach produktów pośrednich metabolizmu leków, którymi często są aldehydy [Obach et al., 2004]. Znacznie większą rolę w przemianach ksenobiotyków mają enzymy z grupy cytochromu P-450 i związki wpływające na aktywność tych enzymów mają o wiele większe znaczenie terapeutyczne [Obach et al., 2004].

Dla N-tlenku nikotyny natomiast nie wykazano żadnych różnic statystycznie znamiennych w porównaniu parametrów farmakokinetycznych poszczególnych grup.

W przypadku wolniejszej eliminacji nikotyny przez zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego zjawisko to można tłumaczyć udziałem w przemianie nikotyny do kotyniny przy udziale oksydazy aldehydowej.

Nikotyna jest metabolizowana do kotyniny i dalej metabolizowana do trans-3'-hydroksykotyniny przez izoenzym cytochromu P450 CYP2A6 [Yakanama, 2005]. Izoenzym CYP2A6 uczestniczy także w przemianach metabolicznych niektórych leków, takich, jak halotan czy kwas walproinowy. Ponadto istnieją duże różnice osobnicze w metabolizmie nikotyny, co związane jest z polimorfizmem genetycznym genu CYP2A6 [Nakajima et al., 2002].

W badaniach prowadzonych przez Baker i współpracowników na dwudziestu ośmiu pacjentach w wieku od 3 do 89 lat, analizowano dziewięć form enzymu P450 za pomocą technik biologii molekularnej. Wykazano zwiększenie poziomu CYP2C9, co autorzy wiążą z akumulacją kadmu w wątrobie [Baker et al., 2001].

W pracy Hukkanen i współpracowników badano wpływ soku grejpfrutowego na izoenzym CYP2A6. W tym celu badano parametry farmakokinetyczne nikotyny. Sok grejpfrutowy jest inhibitorem cytochromu P450 CYP3A4 i enzymów transportu, takich, jak

glikoproteiny P i polipeptydy transportu anionów organicznych, co prowadzi do istotnych klinicznie interakcji. Ochotnikom podano 2 mg deuterowanej nikotyny doustnie wraz z podaniem soku grejpfrutowego. Stężenie metabolitów nikotyny monitorowano przez 8 godzin w osoczu i moczu. Wykazano, że inhibicja izoenzymu CYP2A6 zwalnia szybkość tworzenia kotyniny, a także zwiększony został czas do osiągnięcia maksymalnego stężenia kotyniny. Maksymalne jej stężenie było niższe w porównaniu z ochotnikami pijącymi wodę zamiast soku grejpfrutowego. Sok grejpfrutowy zwiększa także klirens nikotyny oraz kotyniny [Hukkanen et al., 2006]

W badaniach prowadzonych na ochotnikach wykazano silne powiązanie stosunku stężenia trans-3'-hydroksykotyniny do kotyniny. Wzajemna zależność tych metabolitów jest ściśle związana z klirensem nikotyny i kotyniny. Ponadto jest on miarą aktywności izoenzymu CYP2A6, ponieważ u osób, u których aktywność tego izoenzymu jest bardzo niska trans-3'-hydroksykotynina nie występuje w znaczących ilościach. Wskaźnik ten może być pomocny w ocenie tempa metabolizmu nikotyny, jak i aktywności izoenzymu CYP2A6 [Dempsey et al., 2004].

Izoenzym CYP2D6 nie ma istotnego znaczenia w metabolizmie nikotyny, ponieważ chinidyna (inhibitor CYP2D6) ma niewielki wpływ na przemiany nikotyny. Podanie kumaryny powoduje zahamowanie powstawania kotyniny, co jest następstwem wpływu na izoenzym CYP2A6 [Messina et al., 1997].

Biorąc pod uwagę kotyninę w przeprowadzonych badaniach wykazano, że samice uzależnione od alkoholu etylowego poddane działaniu dymu tytoniowego oraz działaniu dymu tytoniowego i alkoholu etylowego eliminują kotyninę szybciej niż samce z grup uzależnionych poddanych działaniu dymu tytoniowego i alkoholu etylowego osobno oraz łącznie. Dodatkowo samce nieuzależnione od alkoholu etylowego z grup narażonych na dym tytoniowy i alkohol etylowy osobno oraz łącznie eliminują kotyninę szybciej niż samce z analogicznych grup uzależnionych od alkoholu etylowego. Również samice uzależnione od alkoholu z grup inhalowanych dymem szybciej eliminują kotyninę niż samce z grupy uzależnionej od alkoholu etylowego.

W przypadku trans-3'-hydroksykotyniny uzależnione samice z grupy narażonej na dym tytoniowy szybciej ją eliminują niż samce uzależnione z grup eksponowanych na dym. Ponadto w badaniach własnych samice szczurów uzależnionych, eksponowanych na dym i alkohol wolniej eliminowały trans-3'-hydroksykotyninę niż samce uzależnione z grupy narażonej na dym tytoniowy i alkohol etylowy a u nieuzależnionych zwierząt odwrotnie

samice z grupy narażonej na dym tytoniowy i alkohol etylowy eliminują szybciej trans-3'-hydroksykotyninę niż samce z grupy narażonej na dym tytoniowy i alkohol etylowy.

Aktywność metaboliczna enzymów biorących udział w przemianach składników dymu tytoniowego może mieć wpływ na rozwój procesu uzależnienia od tytoniu. Zmiana aktywności enzymatycznej widoczna jest w przystosowaniu liczby wypalanych papierosów w zależności od poziomu nikotyny we krwi. Metabolizm nikotyny jest wolniejszy u aktywnych palaczy niż u osób niepalących, co jest stwierdzeniem pozornie przeciwnym do tego, że dym tytoniowy powoduje przyspieszenie metabolizmu wielu leków [Florek i Piekoszewski, 2006; Benowitz and Jacob, 2000]. Metabolizm nikotyny przebiega głównie na drodze tlenowej w reakcjach katalizowanych przez izoenzym CYP2A6, do najważniejszego metabolitu jakim jest kotynina. Dalsza biotransformacja kotyniny do trans-3'-hydroksykotyniny następuje również w reakcjach katalizowanych przez izoenzym CYP2A6. W badaniach prowadzonych przez zespół Benowitz i Jacob próbowano określić, jak palenie tytoniu wpływa na farmakokinetykę nikotyny i kotyniny, a także wykazanie, jak narażenie na dym tytoniowy wpływa na drogi metabolizmu nikotyny i kotyniny oraz sprawdzenie czy tlenek węgla zawarty w dymie tytoniowym ma właściwości hamujące szybkość metabolizmu nikotyny. Wyniki zespołu Benowitz i Jacob potwierdzają obserwacje, że dym tytoniowy istotnie zmniejsza klirens nikotyny oraz indukuje O-glukuronidację trans-3'-hydroksykotyniny jednak nie ma wpływu na N-glukuronidację nikotyny i kotyniny. Tlenek węgla według wyników Benowitz i Jacob nie ma istotnego wpływu na metabolizm nikotyny [Benowitz and Jacob, 2000].

W przeprowadzonym eksperymencie nie wykazano żadnych różnic statystycznie znamienych dla N-tlenku kotyniny w porównaniu parametrów farmakokinetycznych poszczególnych grup.

Enzymy z grupy cytochromu P-450 są głównymi enzymami biorącymi udział w przemianach ksenobiotyków zachodzących w wątrobie. Są to reakcje I fazy, którym poddawane są bardzo liczne grupy związków chemicznych. Także nikotyna ulega przemianom pod wpływem enzymów grupy cytochromu P-450. Główny jej metabolit, kotynina, powstaje na skutek działania wątrobowego izoenzymu CYP2A6 [Messina et al., 1997; Schoedel and Tyndale, 2003] oraz (choć w mniejszym stopniu) na skutek niskiego, bądź zmiennego poziomu w ludzkiej wątrobie CYP2B6 [Yang et al., 1998]. Izoenzymy z grupy CYP2B biorą także udział w przemianach metabolicznych niektórych substancji w zastosowaniach klinicznych z tak ważnych grup, jak trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne, fizjologicznie występujących hormonów lub na przykład pestycydów.

Ponadto izoenzymy CYP2B mogą być indukowane przez szereg związków chemicznych spotykanych dość powszechnie, takich, jak aceton czy barbiturany [Schoedel and Tyndale, 2003].

Nieco inaczej przebiega metabolizm u szczurów. Biotransformacja nikotyny u tych zwierząt zachodzi głównie przy udziale izoenzymu CYP2B1 oraz CYP2B2. Izoenzymy z grupy CYP2A nie biorą natomiast udziału w przemianach nikotyny u szczura [Schoedel et al., 2001; Schoedel and Tyndale, 2003].

Enzymy z grupy cytochromu P450, które biorą udział w metabolizmie nikotyny w wątrobie przy udziale cytochromu CYP2B1, występują również w innych narządach, m.in. w mózgu i płucach [Miksys et al., 2000]. Nikotyna nie powoduje autoindukcji swojego metabolizmu w wątrobie, jednak Miksys i współpracownicy stawiają hipotezę o autoindukcji metabolizmu przez nikotynę w mózgu w wyniku zwiększenia aktywności izoenzymu CYP2B1. Próbuując zweryfikować takie założenia grupa badawcza przeprowadziła eksperyment polegający na podaniu szczurom, samcom nikotyny podskórnie w dawkach od 0 – 1,0 mg/kg m.c./dobę przez siedem dni. Następnie zostały oznaczone CYP2B1 jako ilość tego białka oraz poziom mRNA kodującego ten izoenzym. Oznaczeń dokonano w mózgu i wątrobie.

W przypadku komórek wątroby badanych zwierząt nie wykazano wzrostu aktywności izoenzymu CYP2B1, ani wzrostu poziomu mRNA kodującego ten enzym. Natomiast w komórkach mózgu szczurów, zarówno ilość CYP2B1, jak i poziom mRNA wykazały zwiększone wartości w zależności od dawki nikotyny i regionu mózgu. Po podaniu najwyższej dawki alkaloidu zaobserwowano wysoki wzrost ilości CYP2B1 w pniu mózgu i również w tej samej strukturze nastąpił wzrost ilości mRNA. Podobne wyniki uzyskano w części czołowej kory mózgu oraz strukturach odpowiedzialnych za zmysł węchu. Za pomocą badań immunocytochemicznych Autorzy określili, że wszystkie zanotowane przez nich zmiany w układzie nerwowym w zakresie układu cytochromu P450 zachodzą w neuronach. Analizując uzyskane wyniki należy stwierdzić, że takie mechanizmy mogą zmieniać wrażliwość ośrodkowego układu nerwowego na działanie nikotyny powodując w ten sposób modyfikacje przebiegu procesu uzależnienia, również poprzez zmianę stężeń nikotyny w tkance mózgowej i przez to innym oddziaływaniem z nikotynowymi receptorami acetylocholinowymi. Także w przypadku toksycznych metabolitów nitrozoamin specyficznych dla tytoniu aktywacja enzymatyczna może powodować ich większe stężenia w mózgu czyniąc go w ten sposób bardziej narażonym na niebezpieczne zmiany w

materiale genetycznym. Analogiczne działanie, jak w przypadku szczurzego izoenzymu CYP2B1, u człowieka ma izoenzym CYP2B6 [Miksys et al., 2000].

W badaniach polegających na podaniu szczurom raz dziennie etanolu w dawce 0,3; 1,0; 3,0 g/kg m.c. co odpowiada 1 – 2, 3 – 6, 12 – 14 drinkom na dzień spożywanych przez ludzi, Schoedel i współpracownicy wykazali, wykorzystując technikę immunoblottingu, że nie następuje zwiększenie poziomu CYP2B1 i CYP2B2 w sześciu regionach mózgu, między innymi w hipokampie. Stwierdzono jednak zależną od dawki indukcję CYP2B1 i CYP2B2 w wątrobie szczurów. Aktywność tych izoenzymów była odpowiednio 2,3 i 2,7 razy większa dla kolejnych dawek, w porównaniu z grupą zwierząt otrzymujących sól fizjologiczną. Schoedel i współpracownicy zanotowali też zwiększenie ilości kodującego CYP2B1 mRNA odpowiednio o 14,38% i 43% dla rosnących dawek alkoholu etylowego. Ponadto następował wzrost C-oksydacji nikotyny w mikrosomach komórek wątroby w zakresie od 1,3 do 4,5 raza w porównaniu do grupy kontrolnej. Również w badaniach tych Schoedel wykazała, podając C8-ksantat lub 8-metoksypsoralen, które są inaktywatorami CYP2B1 i CYP2B2, około 70% udział tych enzymów w C-oksydacji nikotyny. Podanie deaktywatorów spowodowało bardzo duży spadek wydajności C-oksydacji nikotyny w wątrobach szczurów, którym podawano etanol. Zmian takich nie obserwowano w mózgach zwierząt [Schoedel et al., 2001].

Alkohol etylowy, aldehyd octowy, aceton, alkohol metylowy, alkohol n-propylowy, alkohol n-butylowy w niniejszej pracy oznaczano za pomocą chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym. W procesie chromatograficznym wykorzystano kolumnę kapilarną. Zastosowano także wzorzec wewnętrzny, którym był I – rzędowy alkohol izobutylowy. Analizę poprzedzała ekstrakcja badanych substancji z materiału biologicznego przy użyciu mikroekstrakcji do fazy stałej. Zastosowana metoda charakteryzowała się dobrymi parametrami walidacyjnymi tylko w przypadku aldehydu octowego i n-butanolu współczynniki zmienności były nieznacznie wyższe niż 10%. Zastosowana metoda analityczna może być z powodzeniem stosowana do tego typu oznaczeń. Jej wadą w porównaniu do rutynowej analizy „head space” jest większa czasochłonność i konieczność przeprowadzenia analiz bez automatyzacji, co w przypadku „head space” jest normą.

Nikotynę, nornikotynę, N-tlenek nikotyny, kotyninę, trans-3'-hydroksykotyninę, N-tlenek kotyniny w surowicy oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią masową z użyciem deuterowanej formy kotyniny jako wzorca wewnętrznego, po uprzedniej ekstrakcji z wykorzystaniem techniki ciec-ciecz.

Parametry walidacyjne zastosowanej metody były zadowalające i współczynniki zmienności mieściły się w przedziale do 10%. Metoda oznaczenia metabolitów nikotyny opracowana w niniejszej pracy nadaje się w pełni do seryjnych oznaczeń metabolitów nikotyny. Ekstrakcja ciecz-ciecz poprzedzająca analizę chromatograficzną prowadzona w kontrolowanym pH przy użyciu mieszaniny dichlorometan-izopropanol charakteryzuje się małymi kosztami przy zachowaniu dobrych parametrów walidacyjnych. Część analizy dotycząca chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową detekcją masową jest metodą bardzo czułą i specyficzną, co potwierdzają również prace Moyer i współpracowników, Meger i współpracowników a także Xu i współpracowników [Meger et al., 2002; Moyer et al., 2002; Xu et al., 2004].

Osoby spożywające duże ilości alkoholu palą dziennie znacznie więcej tytoniu oraz zaczynają palić wcześniej w ciągu dnia niż osoby nieuzależnione. Wysoki odsetek palących wśród alkoholików i znacznie większa liczba uzależnionych od alkoholu wśród palących w porównaniu z populacją ogólną wskazuje na związek między tymi ksenobiotykami w wywoływaniu nałogu oraz zmian w aktywności niektórych enzymów. Model eksperymentalny zastosowany w niniejszej pracy potwierdził istnienie interakcji pomiędzy uzależnieniem od alkoholu a paleniem tytoniu.

9. Wnioski

1. Zastosowane w pracy metody analityczne oznaczania alkoholu etylowego i innych związków lotnych (GC) oraz nikotyny i jej metabolitów (LC-MS/MS) charakteryzują się wysoką czułością oraz specyficznością i nadają się do oceny poziomu ww. związków w materiale biologicznym.
2. Nikotyna zawarta w dymie tytoniowym wpływa na poziom alkoholu etylowego we krwi zwierząt na skutek opóźnienia opróżniania żołądka, a także rozkładu alkoholu etylowego w żołądku pod wpływem dehydrogenazy alkoholowej.
3. Nikotyna powoduje wzrost objętości dystrybucji alkoholu etylowego na skutek efektu pierwszego przejścia będącego zwiększeniem metabolizmu do aldehydu octowego u zwierząt uzależnionych.
4. Ekspozycja na dym tytoniowy wywołuje zwiększony poziom acetonu we krwi zwierząt niezależnych, prawdopodobnie na skutek zaburzeń związanych z niedotlenieniem organizmu. Natomiast adaptacja organizmu szczurów do zaburzeń metabolicznych w przebiegu uzależnienia od alkoholu powoduje zmniejszenie zawartości acetonu we krwi.
5. Uzależnienie od alkoholu etylowego powoduje wydłużenie eliminacji n-propanolu i n-butanolu i występowanie tych alkoholi na wyższych poziomach we krwi badanych zwierząt prawdopodobnie z powodu kumulacji n-propanolu i n-butanolu. Podobne zjawisko występuje w przypadku narażenia na dym tytoniowy prawdopodobnie spowodowane zmianami w aktywności enzymów metabolizujących ksenobiotyki.
6. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego wolniej eliminują nikotynę na skutek udziału w przemianie tego alkaloidu do kotyniny oksydazy aldehydowej lub konwersji produktu przejściowego między nikotyną a kotyniną z powrotem do nikotyny.
7. Samice uzależnione od alkoholu poddane działaniu dymu oraz działaniu dymu tytoniowego i alkoholu etylowego eliminują kotyninę szybciej niż samce z grup uzależnionych eksponowanych na dym tytoniowy i alkohol etylowy osobno oraz łącznie.
8. Samice niezależne od alkoholu etylowego z grup narażonych na dym tytoniowy i alkohol etylowy osobno oraz łącznie, eliminują kotyninę szybciej niż samce z analogicznych grup uzależnionych od alkoholu etylowego na skutek

różnic w szybkości metabolizmu wynikających z płci zwierząt lub zmniejszenia aktywności enzymów detoksykacyjnych spowodowanej działaniem alkoholu etylowego.

9. Samice uzależnione od alkoholu z grup inhalowanych dymem szybciej eliminują kotyninę i trans-3'-hydroksykotyninę niż uzależnione samce, prawdopodobnie na skutek różnic w szybkości metabolizmu wynikających z płci zwierząt.
10. Przeprowadzone badania eksperymentalne wykazały istnienie interakcji pomiędzy uzależnieniem od alkoholu a paleniem tytoniu.

10. Streszczenie

Osoby nadużywające alkoholu etylowego w około 80 – 95% palą tytoń. Jest to znacznie wyższy odsetek niż w populacji nieuzależnionej od alkoholu, w której palący stanowią 25-30%. Znaczna liczba osób uzależnionych od alkoholu jest określana jako „heavy smokers” czyli palący ponad 25 papierosów dziennie. Dodatkowo liczba wypalanych papierosów rośnie wraz z ilością spożywanych napojów alkoholowych. U osób pijących znacznie wzrasta tolerancja na nikotynę przez co są od niej bardziej uzależnione niż osoby niepijące, co znajduje odzwierciedlenie w wynikach testów mierzących stopień uzależnienia od nikotyny. W przypadku palących istnieje także zwiększone ryzyko nadużywania alkoholu. Procesy zachodzące podczas jednoczesnego przyjmowania alkoholu etylowego i dymu tytoniowego są bardzo skomplikowane i istnieje duża trudność w wyjaśnieniu mechanizmu zachodzących zjawisk, szczególnie z uwagi na bardzo bogaty skład dymu tytoniowego. Powszechnie znany jest fakt przyspieszania metabolizmu wielu ksenobiotyków przez składniki dymu. Alkohol etylowy również indukuje metabolizm niektórych leków, a także swój. Najważniejszym czynnikiem wpływającym na zmianę szybkości eliminacji ksenobiotyków przez dym tytoniowy i etanol jest wpływ na enzymy z grupy cytochromu P450. Dym tytoniowy wpływa na aktywność izoenzymów CYP1A1 i CYP1A2 oraz CYP2A6. Alkohol etylowy, natomiast aktywuje izoenzym CYP2E1, który bierze udział w metabolizmie związków rakotwórczych, w szczególności kancerogennych N-nitrozoamin występujących w dymie tytoniowym, co ma duże znaczenie podczas jednoczesnego, przewlekłego przyjmowania obu ksenobiotyków.

Celem badań była ocena wpływu nikotyny oraz innych zawartych w dymie tytoniowym ksenobiotyków (np. wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych) na farmakokinetykę alkoholu etylowego oraz na poziom jego metabolitu – aldehydu octowego oraz acetonu, alkoholu metylowego, alkoholu n-propylowego i alkoholu n-butyłowego.

W pracy oceniono także wpływ alkoholu etylowego na biotransformację nikotyny do jej mniej uzależniających metabolitów: nornikotyny, N-tlenku nikotyny, kotyniny, trans-3'-hydroksykotyniny, N-tlenku kotyniny.

Alkohol etylowy, aldehyd octowy, aceton, alkohol metylowy, n-propylowy, n-butyłowy oznaczono metodą chromatografii gazowej po uprzednim przeprowadzeniu procesu mikroekstrakcji do fazy stałej (MSPE). Rozdział badanych substancji przeprowadzono na kolumnie kapilarnej (Carbowax/DVB), a do detekcji wykorzystano detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID). Wzorcem wewnętrznym był I – rzędowy alkohol izobutyłowy.

Nikotynę, nornikotynę, N-tlenek nikotyny, kotyninę, trans-3'-hydroksykotyninę, N-tlenek kotyniny w surowicy oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas z użyciem deuterowanej formy kotyniny jako wzorca wewnętrznego, po uprzedniej ekstrakcji z wykorzystaniem techniki ciecz-ciecz.

Porównano ze sobą grupy zwierząt uzależnionych i nieuzależnionych od alkoholu etylowego, samce i samice. Eksperyment wykonano na dojrzałych płciowo, białych szczurach szczepu Wistar.

Proces uzależnienia zwierząt od alkoholu etylowego trwał 9 tygodni. Do eksperymentu zostało użytych 200 samic i 200 samców w wieku 4 tygodni, z których następnie wybrano 63 samce i 63 samice uzależnionych od alkoholu.

W przeprowadzonych badaniach zastosowano farmakokinetykę populacyjną i porównano następujące parametry farmakokinetyczne: pole powierzchni pod krzywą stężenie-czas, (AUC – *Area Under the Curve*) – określający, jakie jest narażenie organizmu na analizowaną substancję; średni czas przebywania ksenobiotyku w ustroju (MRT – *Mean Residence Time*) – wskazuje na przebieg procesów kinetycznych – wchłaniania, dystrybucji, wydalania. Kolejne obliczenia polegały na wyznaczeniu stałej szybkości eliminacji k – parametr ten określa jak przebiegają procesy wydalania. Ostatnim parametrem był biologiczny okres półtrwania, $t_{0,5}$ – parametr ten określa czas, po którym stężenie ksenobiotyku w krwi/osoczu zmniejsza się o połowę.

Ekspozycja na dym tytoniowy wywołuje zwiększony poziom acetonu we krwi zwierząt nieuzależnionych, natomiast uzależnienie od alkoholu powoduje zmniejszenie zawartości acetonu we krwi. Uzależnienie od alkoholu etylowego powoduje wydłużenie eliminacji n-propanolu i n-butanolu i występowanie tych alkoholi na wyższych poziomach we krwi badanych zwierząt. Zwierzęta uzależnione od alkoholu etylowego wolniej eliminują nikotynę a samice uzależnione poddane działaniu dymu oraz dymu i alkoholu etylowego eliminują kotyninę szybciej niż samce z grup uzależnionych. Samice nieuzależnione od alkoholu etylowego narażone na dym tytoniowy i alkohol etylowy osobno oraz łącznie, eliminują kotyninę szybciej niż samce z analogicznych grup uzależnionych od alkoholu. Ponadto samice uzależnione od alkoholu z grup inhalowanych dymem szybciej eliminują kotyninę i trans-3'-hydroksykotyninę niż uzależnione samce. Przeprowadzone badania eksperymentalne wykazały istnienie interakcji pomiędzy uzależnieniem od alkoholu a paleniem tytoniu.

11. Summary

Metabolic interactions between tobacco smoke and ethyl alcohol

Key words: tobacco smoke, ethyl alcohol, pharmacokinetics interactions, animals

About 80-95% of ethyl alcohol abusing people smoke tobacco. This percentage is significantly higher than in population of alcohol non-addicted people, which amounts to 25-30% of smokers. A vast number of alcohol addicted people are defined as “heavy smokers” which means smoking more than 25 cigarettes per day. Additionally the number of smoked cigarettes increases with the amount of consumed alcoholic drinks. Among alcohol drinking people tolerance to nicotine rises, thus deepening their dependence in comparison to non-drinking people. This fact is reflected by results of test measuring nicotine addiction level. Moreover in case of smokers there is a much higher risk of alcohol addiction. Processes occurring during simultaneous use of ethyl alcohol and tobacco are very complicated and their mechanisms are extremely difficult to explain, especially due to abundant composition of tobacco smoke. It is commonly known, that metabolism of many xenobiotics is accelerated by tobacco smoke constituents. Also ethyl alcohol induces drug metabolism and furthermore – its own. The most important factor which alters xenobiotic elimination rate is the influence of tobacco smoke and ethanol on cytochrome P450 enzymes. Tobacco smoke affects CYP1A1, CYP1A2 and CYP2A6 isoenzymes activity. Ethyl alcohol on the other hand, activates CYP2E1 isoenzyme which participates in ethyl alcohol and carcinogenic compounds metabolism (especially tobacco smoke N-nitrosoamines) what is important during concomitant, chronic use of both xenobiotics.

The aim of the studies was evaluation of nicotine's and other tobacco smoke xenobiotics (e.g. polycyclic aromatic hydrocarbons) influence on ethyl alcohol pharmacokinetics and level of its metabolites – acetaldehyde, acetone, methyl alcohol, n-propyl alcohol and n-butyl alcohol. In the research the effect of ethyl alcohol on nicotine biotransformation to less addictive metabolites, such as nor nicotine, nicotine N-oxide, cotinine, trans-3'-hydroxycotinine and cotinine N-oxide, were also assessed. Prior to micro solid phase extraction (MSPE) ethyl alcohol, acetaldehyde, acetone, methyl alcohol, n-propyl alcohol and n-butyl alcohol were determined by means of gas chromatography. The separation of investigated substances has performed on capillary column (Carbowax/DVB) and flame ionization detector (FID) was used for the detection. Primary isobutyl was used as internal standard. Nicotine, nor nicotine, nicotine N-oxide, cotinine, trans-3'-hydroxycotinine and cotinine N-oxide in serum were determined by means of high

performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry with deuterated cotinine as internal standard after liquid-liquid extraction. Groups of ethyl alcohol dependant and non-dependant animals, both males and females were compared. The experiment was performed on sexually matured, white Wistar rats. Process of ethanol addiction lasted 9 weeks. 200 females and 200 males, age 4 weeks were enrolled in experiment. From which 63 males and 63 females addicted to alcohol were subsequently chosen. In the conducted studies population pharmacokinetics was applied and following pharmacokinetics parameters: Area Under the Curve (AUC) – determining the exposure of organism to analysed substance; Mean Residence Time (MRT) – indicating the progress of kinetic processes – absorption, distribution and elimination. In the next step k -elimination rate constant which describes was calculated. The last parameter was biological half-life $t_{0,5}$ defining the time after which concentration of xenobiotic in blood/plasma is half decreased.

Tobacco smoke exposure increases acetone blood level in non-dependant animals. On the other hand alcohol addiction decreases amount of acetone in blood. Ethyl alcohol addiction results in prolongation of *n*-propanol and *n*-butanol elimination and their higher concentration in blood of examined animals. Ethyl alcohol dependant animals eliminated nicotine in a slower manner. Addicted females subjected to tobacco smoke and both smoke and alcohol, eliminate cotinine faster than males from addicted animal groups.

Ethyl alcohol non-dependant females exposed to tobacco smoke and ethyl alcohol together and separately eliminate cotinine faster than males in corresponding alcohol addicted groups. What is more, alcohol dependant females from smoke inhaling groups eliminate cotinine and trans-3'-hydroxycotinine faster than addicted males.

The undertaken experimental research proved the existence of interaction between alcohol dependence and tobacco smoking.

12. Piśmiennictwo

1. Abreu-Villaça, Y., Seidler, F.J., Qiao, D., Tate, C.A., Cousins, M.M., Thillai, I., Slotkin, T.A.: Short-term adolescent nicotine exposure has immediate and persistent effects on cholinergic systems: critical periods, patterns of exposure, dose thresholds. *Neuropsychopharmacology*, 2003a, 28, 1935–1949.
2. Abreu-Villaça, Y., Seidler, F.J., Tate, C.A., Slotkin, T.A.: Nicotine is a neurotoxin in the adolescent brain: critical periods, patterns of exposure, regional selectivity, and dose thresholds for macromolecular alterations. *Brain Res.*, 2003b, 979, 114–128.
3. Abreu-Villaça, Y., Seidler, F.J., Tate, C.A., Cousins, M.M., Slotkin, T.A.: Prenatal nicotine exposure alters the response to nicotine administration in adolescence: effects on cholinergic systems during exposure and withdrawal. *Neuropsychopharmacology*, 2004, 29, 879–890.
4. Abreu-Villaça Y., Medeiros A.H., Lima C.S., Faria F.P., Filgueiras C.C., Manh A.C.: Research report combined exposure to nicotine and ethanol in adolescent mice differentially affects memory and learning during exposure and withdrawal. *Behav. Brain Res.*, 2007, 181, 136–146.
5. Altieri A.; Garavello W.; Bosetti, C., Gallus S., Vecchia C.: Alcohol consumption and risk of laryngeal cancer. *Oral Oncol.*, 2005, 41, 956–965.
6. Anton R.F., Dominick C., Bigelow M., Westby C.: Comparison of Bio-Rad %CDT TIA and CDTelect as laboratory markers of heavy alcohol use and their relationships with γ -glutamyltransferase in collaboration with the CDTelect™ research group. *Clin. Chem.*, 2001, 47, 1769–1775.
7. Anttila P., Järvi K., Latvala J., Blake J.E., Niemelä O.: Diagnostic characteristics of different carbohydrate-deficient transferrin methods in the detection of problem drinking: effects of liver disease and alcohol consumption. *Alcohol Alcohol.*, 2003, 38, 415–420.
8. Ariwodola O.J., Weiner J.L.: Ethanol potentiation of GABAergic synaptic transmission may be self-limiting: Role of presynaptic GABA_B receptors. *J. Neurosci.*, 2004, 24, 10679-10686.
9. Arndt T.: Carbohydrate-deficient transferrin as a marker of chronic alcohol abuse: A critical review of preanalysis, analysis, and Interpretation. *Clin. Chem.*, 2001, 47, 13–27.

10. Barrett S.P., Tichauer M., Leyton M., Pihl R.O.: Nicotine increases alcohol self-administration in non-dependent male smokers. *Drug Alcohol Depend.*, 2006, 81, 197–204.
11. Basta P.V., Basham K.B., Ross W.P., Brust M.E., Navarro H.A.: Gestational nicotine exposure alone or in combination with ethanol down-modulates offspring immune function. *International J. Immunopharmacol.*, 2000, 22, 159-169.
12. Batel P., Pessione F., Maitre C., Rueff B.: Relationship between alcohol and tobacco dependencies among alcoholics who smoke. *Addiction*, 1995, 90, 977-980.
13. Bauer R.J.: *Nonmem Users Guide. Introduction to NONMEM 7.* Icon Development Solutions, Ellicott City, MD, 2009.
14. Beedham C., Miceli J.J., Obach R.S.: Ziprasidone metabolism, aldehyde oxidase, and clinical implications. *J. Clin. Psychopharmacol.*, 2003, 23.
15. Belluardo N., Mudo G., Blum M., Amato G.: Neurotrophic effects of central nicotinic receptor activation. *J. Neural Transm. Suppl.*, 2000, 60, 227–245.
16. Benowitz N.L.: Pharmacology of nicotine: Addiction, smoking-induced disease, and therapeutics. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2009a, 49, 57–71.
17. Benowitz N.L., Schultz K.E., Haller C.A., Wu A.H.B., Dains K.M., Jacob III P.: Prevalence of smoking assessed biochemically in an urban public hospital: A rationale for routine cotinine screening. *Am. J. Epidemiol.*, 2009, 170, 885–891.
18. Benowitz N.L., Hukkanen J., Jacob III P.: Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers. *Hand. Exp. Pharmacol.*, 2009, 192, 29–60.
19. Benowitz N.L., Dains K.M., Dempsey D., Herrera B., Yu L., Jacob III P.: Urine nicotine metabolite concentrations in relation to plasma cotinine during low-level nicotine exposure. *Nic. Tob. Res.*, 2009, 11, 954–960.
20. Benowitz N.L., Peng M., Jacob III P.: Effects of cigarette smoking and carbon monoxide on chlorzoxazone and caffeine metabolism. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2000, 74, 468-474.
21. Benowitz N.L., Pomerleau O.F., Pomerleau C.S., Jacob III P.: Nicotine metabolite ratio as a predictor of cigarette consumption. *Nic. Tob. Res.*, 2003, 5, 621– 624.
22. Benowitz N.L., Jacob III P., Ahijevych K., Jarvis M.J., Hall S., LeHouezec J., Hansson A., Lichtenstein E., Henningfield J., Hopkins J., Tsoh J., Hurt R.D., Velicer W.: Biochemical verification of tobacco use and cessation. *Nic. Tob. Res.*, 2002, 4, 149–159.

23. Benowitz N.L., Jacob P.: Effects of cigarette smoking and carbon monoxide on nicotine and cotinine metabolism. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2000, 67, 653-659.
24. Benowitz N.L.: Biomarkers of environmental tobacco smoke exposure. *Environ. Health Perspect. Suppl.*, 1999, 107, 2, 349-355.
25. Benowitz N.L., Jacob III P., Fong I., Gupta S.: Nicotine metabolic profile in man: comparison of cigarette smoking and transdermal nicotine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1994, 268, 296-303.
26. Berkman C.E., Park S.B., Wrighton S.A., Cashman J.R.: *In vitro-in vivo* correlations of human (S)-nicotine metabolism. *Biochem. Pharmacol.*, 1995, 50, 565-570.
27. Bibi Z.: Role of cytochrome P450 in drug interactions. *Nutr. Metabol.*, 2008, 5, 27.
28. Blomqvist O., Ericson M., Johnson D.H., Engel J.A., Soderpalm B.: Voluntary ethanol intake in the rat: effects of nicotinic acetylcholine receptor blockade or subchronic nicotine treatment. *Eur. J. Pharmacol.*, 1996, 314, 257-267.
29. Blot W.J., McLaughlin J.K., Winn D.M., Austin D.F, Greenberg R.S., Preston-Martin S., Bernstein L., Schoenberg J.B., Stemhagen A., Fraumeni J.F.: Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res.*, 1988, 48, 3282-3287.
30. Boyle P., Gray N., Henningfield J., Seffrin J., Zatonski W.: Tobacco and Public Health: Science and Policy. Oxford University Press, 2004.
31. Breese, G.R., Morrow, A.L., Simson, P.E., Criswell, H.E., McCown, T.J., Duncan, G.E., Keir, W.J.: The neuroanatomical specificity of ethanol action on ligand-gated ion channels: a hypothesis. *Alcohol Alcohol. Suppl.*, 1993, 2, 309-313.
32. Buisson, B., Bertrand, D.: Nicotine addiction: the possible role of functional upregulation. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2002, 23, 130-136.
33. Butt C.M., King N.M., Stitzel J.A., Collins A.C.: Interaction of the nicotinic cholinergic system with ethanol withdrawal. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2004, 308, 591-599.
34. Cardoso R.A., Brzozowski S.J., Chavez-Noriega L.E., Harpold M., Valenzuela C.F., Harris R.A.: Effects of ethanol on recombinant human neuronal nicotinic acetylcholine receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1999, 289, 774-780.

35. Cary P.L., Whitter P.D., Johnson Ch.A.: Abbott radiative energy attenuation method for quantifying ethanol evaluated and compared with gas-liquid chromatography and the du pont aca. Clin. Chem., 1984, 30, 1867-1870.
36. Cashman J.R., Zhang J.: Interindividual differences of human flavincontaining monooxygenase 3: genetic polymorphisms and functional variation. Drug Metab. Dispos., 2002, 30, 1043–1052.
37. Chepiga T.A., Mormon M.J., Murphy A.,P., Avalos J.T., Bombik B.R., Doolittle D.J., Borgerding M.F., Swauger J.E.: A comparison of the mainstream smoke chemistry and mutagenicity of representative samples of U.S. cigarette market with two Kentucky reference cigarettes (K1R4F and K1R5F). Food Chem. Toxicol., 2000, 38, 949-962.
38. Chhabra S.K., Anderson L.M., Christine Perella C., Desai D., Amin S., Kyrtopoulos S.A., Souliotis V.L.: Coexposure to ethanol with N-Nitrosodimethylamine or 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone during lactation of rats: Marked increase in O⁶-Methylguanine–DNA adducts in maternal mammary gland and in suckling lung and kidney. Toxicol. Appl. Pharmacol., 2000, 169, 191–200.
39. Chłobowska Z., Chudzikiewicz E., Świegoda Cz.: Analysis of alcoholic products at the institute of forensic research. Z Zagadnień Nauk Sądowych, 2000, 41, 52–61.
40. Chodorowski Z., Hauser R. , Dąbkowska A., Sein Anand J.: Śmiertelne zatrucie etanolem osób uzależnionych od alkoholu etylowego. Przegl. Lek., 2000a, 57, 561–562.
41. Chodorowski Z., Sein Anand J., Ciechanowicz R., Szarmach A., Wnuk K.: Ostre zatrucia etanolem i lekami u osób uzależnionych od alkoholu. Przegl. Lek., 2000b, 57, 10, 558 – 560.
42. Chow j.Y.C., Ma L., Cho C.H.: Effect of cigarette smoke on ethanol-induced gastric mucosal lesions: The role of nitric oxide and neutrophils. Eur. J. Pharmacol., 1998a, 342, 253–260.
43. Chow j.Y.C., Ma L., Cho C.H.: Involvement of free radicals and histamine in the potentiating action of cigarette smoke exposure on ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. Free Radic. Biol. Med., 1998b, 24, 1285–1293.
44. Chowaniec M., Olszowy Z., Maliński M: Przydatność badania stężenia alkoholu etylowego w krwiakach śródczaszkowych w ocenie sądowo-lekarskiej nietrzeźwości. Arch. Med. Sąd. Krym., 2000, 50, 305–317.

45. Clark A., Lindgren S., Brooks S.P., Watson W.P., Little H.J.: Chronic infusion of nicotine can increase operant self-administration of alcohol. *Neuropharmacology*, 2001, 41, 108–117.
46. Clark A., Little H.J.: Interactions between low concentrations of ethanol and nicotine on firing rate of ventral tegmental dopamine neurones. *Drug. Alcohol Depend.*, 2004, 75, 199–206.
47. Collins A.C., Wilkins L.H., Slobe B.S., Cao J.Z., Bullock A.E.: Long-term ethanol and nicotine treatment elicit tolerance to ethanol. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 1996, 20, 990–999.
48. Coronas, V., Durand, M., Chabot, J.G., Jourdan, F., Quirion, R.: Acetylcholine induces neuritic outgrowth in rat primary olfactory bulb cultures. *Neurosci.*, 2000, 98, 213–219.
49. Dani J.A., Heinemann S.: Molecular and cellular aspects of nicotine abuse. *Neuron.*, 1996, 16, 905–908.
50. Dani J.A., De Biasi M.: Cellular mechanisms of nicotine addiction. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2001, 70, 439–446.
51. Dani J.A., Harris R.A.: Nicotine addiction and comorbidity with alcohol abuse and mental illness. *Nature Neurosci.*, 2005, 11, 1465 – 1470.
52. Das K.S., Vasudevan D.M.: Should we use carbohydrate deficient transferrin as a marker for alcohol abusers? *Indian J. Clin. Biochem.*, 2004, 19, 36-44.
53. Dempsey D., Tutka P., Jacob III P., Allen F., Schoedel K., Tyndale R.F., Benowitz N.L.: Nicotine metabolite ratio as an index of cytochrome P450 2A6 metabolic activity. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2004, 76, 64-72.
54. Denton T.T., Zhang X., Cashman J.R.: Nicotine-related alkaloids and metabolites as inhibitors of human cytochrome P-450 2A6. *Biochem. Pharmacol.*, 2004, 67, 751–756.
55. Desai, R.I., Barber, D.J., Terry, P.: Dopaminergic and cholinergic involvement in the discriminative stimulus effects of nicotine and cocaine in rats. *Psychopharmacol.*, 2003, 167, 335– 343.
56. Dohrman D.P., Reiter C.K.: Ethanol modulates nicotine-induced upregulation of nAChRs. *Brain Res.*, 2003, 975, 90–98.
57. Dyr W., Ćwiek M., Kostowski W.: Znaczenie wyselekcjonowanych linii szczurów WHP i WLP w badaniach mechanizmu działania alkoholu. *Alkoholizm i Narkomania*, 2009, 22, 177-187.

58. Ehringer M.A., Clegg H.V, Collins A.C., Corley R.P., Crowley T., Hewitt J.K., Hopfer C.J., Krauter K., Lessem J., Rhee S.H., Schlaepfer I., Smolen A., Stallings M.C., Young S.E., Zeiger J.S.: Association of the neuronal nicotinic receptor $\beta 2$ subunit gene (CHRNA2) with subjective responses to alcohol and nicotine. *Am. J. Med. Gen. Part B (Neuropsychiatr. Genet.)*, 2007, 144B, 596–604.
59. Eke B.C., Vural N., Iscan M.: Combined effects of ethanol and cigarette smoke on hepatic and pulmonary xenobiotic metabolizing enzymes in rat. *Chem. Biol. Interact.*, 1996, 102, 155-167.
60. Ericson M., Engel J.A., SoÈderpalm B.: Peripheral involvement in nicotine-induced enhancement of ethanol intake. *Alcohol*, 2000, 21, 37-47.
61. Fiebre C.M., Collins A.C.: A comparison of the development of tolerance to ethanol and cross- tolerance to nicotine after chronic ethanol treatment in long- and short-sleep mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1993, 266, 1398-1406.
62. Fiebre N.E.C., Dawson R., Fiebre C.M.: The selectively bred high alcohol sensitivity (has) and low alcohol sensitivity (las) rats differ insensitivity to nicotine. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2002, 26, 765–772.
63. Flier J. S., Underhill L. H., Saul Lieber Ch.: Medical disorders of alcoholism. *The New Engl. J. Med.*, 1995, www.nejm.org.
64. Florek E., Piekoszewski W.: Palenie tytoniu a ciąża. W: G.H. Bręborowicz (Red.) *Ciąża wysokiego ryzyka, Ośrodek Wydawnictw Naukowych, Poznań 2010.*
65. Florek E., Piekoszewski W., Kulza M., Szindzikaszwili T., Gomółka E., Chuchracki M., Sędziak A.: Interaction between tobacco smoke and alcohol in animal models. *Pharmacol. Rep.*, 2008, 60, 985–990.
66. Florek E., Piekoszewski W.: Interakcje leków z dymem tytoniowym. *Katedra i Zakład Toksykologii. Akademia Medyczna, Poznań, 2006.*
67. Florek E., Ignatowicz E., Piekoszewski W., Wachowiak A., Wrzosek J.: Wpływ dymu tytoniowego na przepuszczalność naczyń włosowatych ciężarnych i nieciężarnych szczurów. *Przegl. Lek.*, 2006, 63, 887-891.
68. Florek E., Szymanowski K., Wrzosek J., Piekoszewski W., Biczysko W., Marszałek A.: The influence of simultaneous whole body exposure to cigarette smoke and low-protein diet feeding on fertility, reproduction, and progeny of rats. *Hum. Exp. Toxicol.*, 2002, 21, 615-621.

69. Florek E., Adamek R., Adamek A.M., Anholcer A., Bręborowicz G. H.: Czynna i bierna ekspozycja kobiet ciężarnych na tym tytoniowy a stan zdrowia noworodka – świadomość zagrożeń. *Now. Lek.*, 2001a, 70, 133-143.
70. Florek E., Marszałek A., Piekoszewski W. i wsp.: Występowanie narażenia na dym tytoniowy wśród kobiet w wieku prokreacyjnym. *Gin. Prakt.*, 2001b, 60, 16-21.
71. Florek E., Marszałek A.: Zdrowotne następstwa narażenia kobiet na środowisko dymu tytoniowego. *Gin. Prakt.*, 2001c, 9, 28-30
72. Florek E.: Zdrowotne skutki narażenia kobiet na dym tytoniowy w środowisku. Katedra i Zakład Toksykologii, Akademia Medyczna, Poznań, 2000a.
73. Florek E., Marszałek A., Biczysko W., Szymanowski K.: The experimental investigations of the toxic influence of tobacco smoke affecting progeny during pregnancy. *Hum. Exp. Toxicol.*, 1999, 18, 245-251.
74. Florek E., Marszałek A.: An experimental study of the influences of tobacco smoke on fertility and reproduction. *Hum. Exp. Toxicol.*, 1999, 18, 272-278.
75. Florek E., Przewoźniak K., Kowalski M., Zatoński W.: Substancje toksyczne i kancerogenne w wybranych markach papierosów sprzedawanych w Polsce w latach 1983-1995. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1998, 31, 303-316.
76. Frajola W.J.: Blood Alcohol Testing in the Clinical Laboratory: Problems and Suggested Remedies. *Clin. Chem.* 1993, 39, 377-379.
77. Franceschi S., Talamini R., Barra S., Baron A.E., Negri E., Bidoli E., Serraino D., Vecchia C.: Smoking and drinking in relation to cancers of the oral cavity, pharynx, larynx, and esophagus in Northern Italy. *Cancer Res.*, 1990, 50, 6502-6507.
78. Fraser A.G., Rosalki S.B., Gamble G.D., Pounder R.E.: Interindividual and intra-individual variability of ethanol concentration-time profiles: comparison of ethanol ingestion before or after an evening meal. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1995, 40, 387-392.
79. Fredriksson A., Eriksson P., Ankarberg E., Palomo T., Archer T.: Neonatal nicotine administration influences ethanol-induced behaviors. *Alcohol*, 2001, 21, 107 – 115.
80. Fujita Y., Shibata A., Ogimoto I., Kurozawa Y., Nose T., Yoshimura T., Suzuki H., Iwai N., Sakata R., Ichikawa S., Tamakoshi A.: The effect of interaction between hepatitis C virus and cigarettesmoking on the risk of hepatocellular carcinoma. *Brit. J. Cancer.*, 2006, 94, 737 – 739.

81. Galindo-Moreno P., Fauri M., Avila-Ortiz G., Fernandez - Barbero J.E., Cabrera-Leon A., Sanchez-Fernandez E.: Influence of alcohol and tobacco habits on perimplant marginal bone loss: a prospective study. *Clin. Oral Impl. Res.*, 2005, 16, 579–586.
82. Garrido R., Malecki A., Hennig B., Toborek M.: Nicotine attenuates arachidonic acid-induced neurotoxicity in cultured spinal cord neurons. *Brain Res.*, 2000, 861, 59-68.
83. Gaworski L.C., Dozie.M., Heck J.D., Gerhard J.M., Rajendran N., David R.M., Brenneckje L.H.: Toxicological evaluation of flavour ingredients added to cigarette tobacco inhalation. *Toxicology*, 1998, 10, 357-381.
84. Gaworski L.C., Heck J.D., Bennett M.B., Wenk M.L.: Toxicological evaluation of flavour ingredients added to cigarette tobacco: Skin painting bioassay of cigarette smoke condensate in SENCAR mice. *Toxicology*, 1999, 139, 1-17.
85. Gentry-Nielsen M.J., Vander Top E., Snitily M.U., Casey C.A., Preheim L.C.: A Rat Model to Determine the Biomedical Consequences of Concurrent Ethanol Ingestion and Cigarette Smoke Exposure. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 2004, 28, 1120–1128.
86. Gillison M.L.: Current topics in the epidemiology of oral cavity and oropharyngeal cancers. *Epidemiol. Oral Oropharyng. Canc.*, 2007, 10, 779 – 792.
87. Gubała W.: Toksykologia Alkoholu. Wybrane zagadnienia. Wydawnictwo Instytutu Ekspertyz Sądowych, Kraków, 1997.
88. Gubała W.: Badanie śliny, jako czynnik oceny stanu trzeźwości. *Paragraf na Drodze*, 1998, 8, 10-13.
89. Górski R.: Alkohol etylowy. *Kurier chemiczny*, 1991, 3, www.chemfan.pl.
90. Habrat B.: Szkody zdrowotne spowodowane alkoholem - przewodnik lekarza praktyka. Springer PWN, Warszawa, 1996.
91. Hamada M., Higashi H., Nairn A.C., Greengard P., Nishi A.: Differential regulation of dopamine D1 and D2 signaling by nicotine in neostriatal neurons. *J. Neurochem.*, 2004, 90, 1094–1103.
92. Hayes R.B., Bravo-Otero E., Kleinman D.V., Brown L.M., Joseph F. Fraumeni J.F., Lea C. Harty L.C., Winn D.M.: Tobacco and alcohol use and oral cancer in Puerto Rico. *Cancer Causes Control*, 1999, 10, 27–33.

93. Health statistics, key data on health 2002, Eurostat, 2003.
http://epp.eurostat.ec.europa.eu/cache/ITY_OFFPUB/KS-08-02-002/EN/KS-08-02-002-EN.PDF - dostęp 20.02.2011 r.
94. Hecht S.S., Carmella S.G., Chen M., Dor Koch J.F., Miller A.T., Murphy S.E., Jensen J.A., Zimmerman C.L., Hatsukami D.K.: Quantitation of urinary metabolites of a tobacco-specific lung carcinogen after smoking cessation. *Cancer Res.*, 1999a, 59, 590–596.
95. Hecht S.S., Carmella S.G., Murphy S.E.: Effects of watercress consumption on urinary metabolites of nicotine in smokers. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 1999b, 8, 907–913.
96. Hecht S.S., Hochalter J.B., Villalta P.W., Murphy S.E.: 2'-Hydroxylation of nicotine by cytochrome P450 2A6 and human liver microsomes: formation of a lung carcinogen precursor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2000, 97, 12493–12497.
97. Helander A., Husa A., Jeppsson J.O.: Improved HPLC method for carbohydrate-deficient transferrin in serum. *Clin. Chem.*, 2003, 49, 1881–1890.
98. Hoffmann D., Hoffmann I.: The changing cigarette, 1950-1995. *J. Toxicol. Environ. Health.*, 1997, 50, 307-364.
99. Hoffmann D., Wynder E.L.: Aktives und passives Rauchen. W: Lehrbuch der Toxikologie. H. Marquardt und S.G. Schafer. Mannheim, Leipzig, Wien, Zurich, BJ-Wiss.-Verl., 1994, 589-605.
100. Homann N., Tillonen J., Rintamaki H., Salaspuro M., Lindqvist C., Meurman J.H.: Poor dental status increases acetaldehyde production from ethanol in saliva: a possible link to increased oral cancer risk among heavy drinkers. *Oral Oncol.*, 2001, 37, 153-158.
101. Howard L.A., Micu A.L., Sellers E.M., Tyndale R.F.: Low doses of nicotine and ethanol induce CYP2E1 and chlorzoxazone metabolism in rat liver. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001, 299, 542-550.
102. Howe, H.L.; Wingo, P.A.; Thun, M.J., Ries L.A.G., Rosenberg H.M., Feigal E.G., Edwards B.K.: Annual report to the nation on the status of cancer (1973 through 1998), featuring cancers with recent increasing trends. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2001, 93, 824–842.
103. http://www2.cyf.gov.pl/manhaz/substancje_niebezpieczne - dostęp 14.01.2011 r.
104. <http://www.policja.pl/dokumenty/zalaczniki/1-46733.pdf> - dostęp 19.01.2011 r.

105. Hubert A.: Kotynina jako biomarker narażenia płodu na dym tytoniowy. Rozprawa doktorska. Akademia Medyczna, Poznań, 2006.
106. Husain K., Scott B.R., Reddy S.K., Somani S.M.: Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defense system. *Alcohol*, 2001, 25, 89–97.
107. Hughes J.R., Rose G.L., Callas P.W.: Nicotine is more reinforcing in smokers with a past history of alcoholism than in smokers without this history. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 2000, 24, 1633-1638.
108. Hughes J.R., Kalman D.: Do smokers with alcohol problems have more difficulty quitting? *Drug Alcohol Depend.*, 2006, 82, 91–102.
109. Hukkanen J., Jacob III P., Benowitz N.L.: Metabolism and Disposition Kinetics of Nicotine. *Pharmacol. Rev.*, 2005, 57, 79–115.
110. Hukkanen J., Jacob III P., Benowitz N.L.: Effect of grapefruit juice on cytochrome P450 2A6 and nicotine renal clearance. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2006, 80, 522-530.
111. Izzotti A., Balansky R.M., D'Agostini F.: Modulation of biomarkers by chemopreventive agents in smoke-exposed rats. *Cancer Res.*, 2001, 61, 2472-2479.
112. International Agency for Research on Cancer – IARC, Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Tobacco smoke and involuntary smoking. Vol. 83, Lyon. 2004.
113. Izzotti A., Balansky R. M., Blagoeva P. M., Mircheva Z. I., Tulimiero L., Cartiglia C., De Flora S.: DNA alterations in rat organs after chronic exposure to cigarette smoke and/or ethanol ingestion. *The FASEB Journal*, 1998, 12, 753-758.
114. Jabłoński Ch., Sybirska H.: Przydatność płynu gałki ocznej do sądowo - lekarskiej diagnostyki śmiertelnych zatruc wybranymi substancjami psychoaktywnymi. *Arch. Med. Sąd. Krym.*, 2002, 52, <http://www.forensic-medicine.pl/amsik> - dostęp 24.01.2011 r.
115. Jakliński A, Nasiłowski W., Markiewicz J.: Zarys sądowo – lekarskiej toksykologii alkoholu etylowego, PZWL, Warszawa 1978.
116. Jauniaux E., Gulbis B., Acharya G., Thiry P., Rodeck Ch.: Maternal tobacco exposure and cotinine levels in fetal fluid in the first half of pregnancy. *Obstet. Gynecol.*, 1999, 93, 25-29.

117. Jeszenszky E., Varga T., Freudenstein P., Bonte W., Tari R.: Investigation of biochemical markers of chronic alcoholism. *Problems of Forensic Sciences*, 2000, 43, 118–125.
118. John U., Hill A., Rumpf H.J., Hapke U., Meyer C.: Alcohol high risk drinking, abuse and dependence among Tobacco smoking medical care patients and the general population. *Drug. Alcohol Depend.*, 2003a, 69, 189 – 195.
119. John U., Meyer C., Rumpf H.J., Hapke U.: Addiction Probabilities of alcohol high-risk drinking, abuse or dependence estimated on grounds of tobacco smoking and nicotine dependence. *Addiction*, 2003b, 98, 805–814.
120. Jones A.W.: Measuring ethanol in saliva with the QED Enzymatic Test Device: Comparison of results with blood and breath alcohol concentrations. *J. Anal. Toxicol.*, 1995, 19, 169-174.
121. Jones A.W., Andersson L.: Variability of the blood/breath alcohol ratio in drinking drivers. *J. Forensic Sci.*, 1996, 41, 916-921.
122. Joshi M., Tyndale R. F.: Induction and Recovery Time Course of Rat Brain CYP2E1 After Nicotine Treatment. *Drug. Metab. Dispos.*, 2006, 34, 647-65.
123. Kaneko S., Maeda T., Kume T., Kochiyama H., Akaike A., Shimohama S., Kimura J.: Nicotine protects cultured cortical neurons against glutamate-induced cytotoxicity via $\alpha 7$ -neuronal receptors and neuronal CNS receptors. *Brain Res.*, 1997, 765, 135-140.
124. Kawajiri K., Nakachi K., Imali K., Hyashi S., Watanabe J.: Individual differences in lung cancer susceptibility in relation to polymorphisms of P-4501a1 gene and cigarette dose. *Princess Takamatsu Int. Symp. Ser.*, 1990, 21, 55-61.
125. Kawajiri K. & Fujii-Kuriyama Y.: P450 and human cancer. *Jpn. J. Cancer Res.*, 1991, 82, 1325-1335.
126. Kokot F.: *Choroby wewnętrzne*. PZWL, wyd. VII, Warszawa 2003.
127. Kołaciński Z., Rusiński P.: Działanie biologiczne i toksyczne etanolu, diagnostyka i leczenie zatruc, *Przegl. Lek.*, 2003, 60, 204–209.
128. Kopczyńska E., Lampka M., Torliński L., Ziółkowski M.: Czy nadużywanie alkoholu prowadzi do zaburzeń metabolizmu homocysteiny? *Alkoholizm i Narkomania*, 2001, 14, 489–497.
129. Konopka T., Woźniak K.: Mechanizmy śmierci w majaczeniu alkoholowym. *Arch. Med. Sąd. Krym.*, 2000, 50, <http://www.forensic-medicine.pl/amsik> - dostęp 28.01.2011 r.

130. Koob, G. F.: Animal models of craving for ethanol. *Addiction*, 2000, 95, 73–81.
131. Kouri E.M., McCarthy E.M., Faust A.H., Lukas S.E.: Pretreatment with transdermal nicotine enhances some of ethanol's acute effects in men. *Drug Alcohol Depend.*, 2004, 75, 55–65.
132. Krinke G.J.: *The Laboratory Rat*. Academic Press 2000.
133. Kuehl GE and Murphy SE (2003b) N-Glucuronidation of trans-3'-hydroxycotinine by human liver microsomes. *Chem. Res. Toxicol.*, 16, 1502–1506.
134. Kumar, R., Reavill, C., Stolerman, I.P.: Nicotine cue in rats: effects of central administration of ganglion-blocking drugs. *Br. J. Pharmacol.*, 1987, 90, 239–246.
135. Lallemand F., Ward R.J., Dravolina O., De Witte P.: Nicotine-induced changes of glutamate and arginine in naive and chronically alcoholized rats: an *in vivo* microdialysis study. *Brain Res.*, 2006, 1111, 48–60.
136. Laposata M.: Fatty acid ethyl esters: short-term and long-term serum markers of ethanol intake. *Clin. Chem.*, 1997, 43, 1527–1534.
137. Larsson A., Engel J.A.: Neurochemical and behavioral studies on ethanol and nicotine interactions. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2004, 27, 713–720.
138. Lavielle M., Mentré F.: Estimation of pharmacokinetic parameters of saquinavir in HIV patients with the MONOLIX software. *J. Pharmacokin. Pharmacodyn.*, 2007, 34, 229-249.
139. Lee A. M., Yue J., Tyndale R.F.: *In vivo* and *in vitro* characterization of chlorzoxazone metabolism and hepatic CYP2E1 levels in african green monkeys: induction by chronic nicotine treatment, *DMD.*, 2006, 34, 1508–1515.
140. Le Foll B., Goldberg S.R.: Ethanol does not affect discriminative-stimulus effects of nicotine in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 2005, 519, 96–102.
141. Le Gal A., Dreano Y., Lucas D., Berthou F.: Diversity of selective environment al substrates for human cytochrome P450 2A6: alkoxyethers, nicotine, coumarin, N-nitrosodiethylamine and N-nitrosobenzylmethylamine. *Toxicol. Lett.*, 2003, 144, 77–91.
142. Lieber C.S.: Microsomal Ethanol-Oxidizing System (MEOS): The First 30 Years (1968-1998)-a review. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 1999, 23, 991–1007.
143. Łabędź J., Gubała W., Calińska H.: Stężenie alkoholu w niektórych płynach ustrojowych jako wskaźnik określający fazę jego przemian w chwili zgonu. *Arch. Med. Sąd. Krym.*, 1991, 41, 172-177.

144. Mackay J.: The global tobacco epidemic: The next 25 years. *Public Health Rep.*, 1998, 113, 14-21.
145. Mansvelder, H.D., McGehee, D.S.: Cellular and synaptic mechanisms of nicotine addiction. *J. Neurobiol.*, 2002, 53, 606–617.
146. Marcus P.M., Newman B., Millikan R.C., Moorman P.G., Day Baird D., Qaqish B.: The associations of adolescent cigarette smoking, alcoholic beverage consumption, environmental tobacco smoke, and ionizing radiation with subsequent breast cancer risk (United States). *Cancer Causes Control*, 2000, 11, 271–278.
147. Marrero J.A., Fontana R.J., Fu, S., Conjeevaram H.S., Su G.L., Lok A.S.: Alcohol, tobacco and obesity are synergistic risk factors for hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol.*, 2005, 42, 218–224.
148. Marszałek A., Biczysko W.: Skutki zdrowotne narażenia na dym tytoniowy występujące u kobiet i ich potomstwa. W: Florek E.: Zdrowotne skutki narażenia na dym tytoniowy w środowisku. Katedra i Zakład Toksykologii, Akademia Medyczna, Poznań, 2000.
149. Martin-Garcia E., Pallares M.: Intrahippocampal nicotine and neurosteroids effects on the anxiety-like behaviour in voluntary and chronic alcohol-drinking rats. *Behav. Brain Res.*, 2005, 164, 117–127.
150. Mason.F., Petrakis I.L., de Graaf R.A., Gueorguieva R., Guidone E., Coric V., Epperson C.N., Rothman D.L., Krystal J.H.: Cortical Gamma-Aminobutyric Acid Levels and the Recovery from Ethanol Dependence: Preliminary Evidence of Modification by Cigarette Smoking. *Biol. Psychiatry*, 2006, 59, 85–93.
151. Mazur J., Woynarowska B.: Współwystępowanie palenia tytoniu i picia alkoholu w zespole zachowań ryzykownych u młodzieży szkolnej tendencje zmian w latach 1990-2002. *Alkoholizm i Narkomania*, 2004, 17, 29-43.
152. McMurray M.S., Williams S.K., Jarrett T.M., Cox E.T., Fay E.E., Overstreet D.H., Walker C.H., Johns J.M.: Gestational ethanol and nicotine exposure: Effects on maternal behavior, oxytocin, and offspring ethanol intake in the rat. *Neurotoxicol. Teratol.*, 2008, 30, 475–486.
153. Meger M., Meger-Kossien I., Schuler-Metz A., Janket D., Scherer G.: Simultaneous determination of nicotine and eight nicotine metabolites in urine of smokers using liquid chromatography – tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, 2002, 778, 251–261.

154. Messina E.S., Tyndale R.F., Sellers E.M.: A major role for CYP2A6 in nicotine C-oxidation by human liver microsomes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1997, 283, 1608-1614.
155. Mikołajczak P., Okulicz-Kozaryn I., Kamińska E., Szulc M., Dyr W., Kostowski W.: Lack of ifenprodil anxiolytic activity after its multiple treatment In chronically ethanol-treated rats. *Alcohol Alcohol.*, 2003, 38, 310-315.
156. Mikołajczak P., Okulicz-Kozaryn I., Kamińska E., Wiktorowicz K., Leśniewska K., Dyr W., Kostowski W.: Effects of subchronic ethanol treatment on plasma and cerebrospinal fluid leptin levels In rats selectively bred for high and low alcohol preference. *Pol. J. Pharmacol.*, 2002, 54, 127-132.
157. Mikołajczak P., Okulicz-Kozaryn I., Nowaczyk M., Kamińska E.: Ethanol facilitation of short-term memory In adult rats with a disturbed circadian cycle. *Alcohol Alcohol.*, 2001, 36, 4, 292-297.
158. Miksys S., Hoffmann E., Tyndale R.F.: Regional and Cellular Induction of Nicotine-Metabolizing CYP2B1 in Rat Brain by Chronic Nicotine Treatment. *Biochem. Pharmacol.*, 2000, 59, 1501–1511.
159. Moyer T.P., Charlson J.R., Enger R.J., Dale L.C., Ebbert J.O., Schroeder D.R., Hurt R.D.: Simultaneous analysis of nicotine, nicotine metabolites, and tobacco alkaloids in serum or urine by tandem mass spectrometry, with clinically relevant metabolic profiles. *Clin. Chem.*, 2002, 48, 1460–1471.
160. Nakachi K., Imali K., Hayashi S., Watanabe J., Kawajiri K.: Genetic susceptibility to squamous cell carcinoma of the lung in relation to cigarette smoking dose. *Cancer Res.*, 1991, 51, 5177-5180.
161. Nakajima M., Yamamoto T., Nunoya K., Yokoi T., Nagashima K., Inoue K., Funae Y., Shimada N., Kamataki T., Kuroiwa Y.: Characterization of CYP2A6 involved in 3'-hydroxylation of cotinine in human liver microsomes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277, 1010–1015.
162. Nakajima M., Kuroiwa Y., Yokoi T.: Interindividual differences in nicotine metabolism and genetic polymorphisms of human CYP2A6. *Drug Metabol. Rev.*, 2002, 34, 865–877.
163. Negri, E.; La Vecchia, C.; Franceschi, S., Tavani A.: Attributable risk for oral cancer in Northern Italy. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 1993, 2, 189–193.

164. Newhouse P.A., Potter A., Levin E.D.: Nicotinic system involvement in Alzheimer's and Parkinson's diseases. Implication for therapeutics. *Drugs Aging*, 1997, 11, 206-228.
165. Nestler, E.J.: Psychogenomics: opportunities for understanding addiction. *J. Neurosci.*, 2001, 21, 8324–8327.
166. Nguyen H.N., Rasmussen B.A., Perry D.C.: Subtype-selective upregulation by chronic nicotine of high-affinity nicotinic receptors in rat brain demonstrated by receptor autoradiography. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 2003, 307, 1090–1097.
167. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. *Alcohol and Tobacco*. 1998, 39, <http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/aa39.htm> - dostęp 20.11.2010 r.
168. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. *Alcohol and Tobacco*. 2003, 60, <http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/aa60.htm> - dostęp 30.11.2010 r.
169. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. *Alcohol and Tobacco*. 2003, 60, <http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/AA71/AA71.htm> - dostęp 30.11.2010 r.
170. Obach S.: Potent inhibition of human liver aldehyde oxidase by raloxifene. *Drug Metabol. Dispos.*, 2004, 32, 89–97.
171. Okulicz-Kozaryn I., Mikołajczak P., Kamińska E., Kamińska I., Szulc M., Bobkiewicz-Kozłowska T.: Effect of naltrexone administration on short-term memory in chronically ethanol-treated outbred rats. *Alcohol Alcohol.*, 2004, 39, 14-19.
172. Oneta C. M., Simanowski U. A., Martinez M., Allali-Hassani A., Pars X., Homann N.: First pass metabolism of ethanol is strikingly influenced by the speed of gastric emptying. *Gut*, 1998, 43, 612–619.
173. Owens J.C., Balogh S.A., McClure-Begley T.D., Butt C.M., Labarca C., Lester H.A., Picciotto M.R., Wehner J.M., and Allan C. Collins A.C.: $\alpha 4\beta 2$ Nicotinic Acetylcholine Receptors Modulate the Effects of Ethanol and Nicotine on the Acoustic Startle Response. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 2003, 27, 1867–1875.
174. Państwowa Agencja Rozwiązywania Problemów Alkoholowych, www.parpa.pl, 2011 – dostęp 30.01.2011 r.
175. Pelucchi C., Gallus S., Garavello W., Bosetti C., Vecchia C.: Cancer risk associated with alcohol and tobacco use: focus on upper aerodigestive tract and liver. *Alcohol Res. Health*, 2006, 29, 193-198.
176. Penland S., Hoplight B., Oberniera J., Fulton T. Crews F.T.: Effects of nicotine on ethanol dependence and brain damage. *Alcohol*, 2001, 24, 45 – 54.

177. Perkins, K. A.: Combined effects of nicotine and alcohol on subjective, behavioral and physiological responses in human. *Addiction Biology*, 1997, 2.
178. Peto R., Lopez A.D., Boreham J., Thun M.: Mortality from smoking in developed countries 1950-2000: indirect estimates from national vital statistics. Oxford University Press, 2006.
179. Peto R., Lopez A.D., Boreham J., Hun M., Health C.Jr.: Mortality from tobacco in developed countries. Indirect estimates from national vital statistics. *Lancet*, 1992, 339, 1268-1278.
180. Picciotto M.R., Zoli M., Rimondini R., Lena C.: Acetylcholine receptors containing the beta 2 subunit are involved in the reinforcing properties of nicotine. *Nature*, 1998, 8, 173–177.
181. Picciotto, M.R., Addy, N.A., Mineur, Y.S., Brunzell, D.H.: It is not qeithor/orq: activation and desensitization of nicotinic acetylcholine receptors both contribute to behaviors related to nicotine addiction and mood. *Prog. Neurobiol.*, 2008, 84, 329–342.
182. Piekoszewski W., Florek E.: Tytoń w liczbach na początku nowego stulecia. *Przegl. Lek.* 2006, 63, 823-826.
183. Piekoszewski W., Florek E.: Markery narażenia na dym tytoniowy. Katedra i Zakład Toksykologii Akademia Medyczna, Poznań, 2001.
184. Pierani P., Tiezzi S.: *Addiction and Interaction between Alcohol and Tobacco Consumption*, University of Siena, 2007.
185. Politi L., Leone F., Morini L., Poletini A.: Bioanalytical procedures for determination of conjugates or fatty acid esters of ethanol as markers of ethanol consumption: A review. *Anal. Biochem.*, 2007, 368, 1–16.
186. Pratt, J.A., Stoleran, I.P., Garcha, H.S., Giardini, V., Feyerabend, C.: Discriminative stimulus properties of nicotine: further evidence for mediation at a cholinergic receptor. *Psychopharmacology*, 1983, 81, 54– 60.
187. Pugh, P.C., Margiotta, J.F.: Nicotinic acetylcholine receptor agonists promote survival and reduce apoptosis of chick ciliary ganglion neurons. *Mol. Cell. Neurosci.*, 2000, 15, 113–122.
188. Ramsay D.S., Bendersky M.I., Lewis M.: Effect of prenatal alcohol and cigarette exposure on two and six month-old infants adrenocortical reactivity to stress. *J Pediatr. Psychol.*, 1996, 21, 833–840.

189. Refaai M.A., Nguyen P.N., Steffensen T.S., Evans R.J., Cluette-Brown J.E., Laposata M.: Liver and adipose tissue fatty acid ethyl esters obtained at autopsy are postmortem markers for premortem ethanol intake. *Clin. Chem.*, 2002, 48, 77–83.
190. Rezvani A.H., Levin E.D.: Nicotine – alcohol interactions and cognitive function in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2002, 72, 865–872.
191. Pidoplichko V.I., Noguchi J., Areola O.O., Liang Y., Peterson J., Zhang T., Dani J.A.: Nicotinic cholinergic synaptic mechanisms in the ventral tegmental area contribute to nicotine addiction. *Learn. Mem.*, 2004, 11, 60–69.
192. Riala K., Hakko H., Isohanni M., Ja Rvelin M.R., Ra Sa Nen P.: Teenage smoking and substance use as predictors of severe alcohol problems in late adolescence and in young adulthood. *J. Adolesc. Health*, 2004, 35, 245–254.
193. Ribeiro-Carvalho A., Lima C.S., Filgueiras C.C., Manha A.C., Abreu-Villaça Y.: Nicotine and ethanol interact during adolescence: Effects on the central cholinergic systems. *Brain Res.*, 2008, 1232, 48 – 60.
194. Salminen O., Murphy K.L., McIntosh J.M., Drago J., Marks M.J., Collins A.C., Gray S.R.: Subunit composition and pharmacology of two classes of striatal presynaptic nicotinic acetylcholine receptors mediating dopamine release in mice. *Mol. Pharmacol.*, 2004, 65, 1526–1535.
195. Schoedel K.A., Sellers E.M., Tyndale R.F.: Induction of CYP2B1/2 and nicotine metabolism by ethanol in rat liver but not rat brain. *Biochem. Pharmacol.*, 2001, 62, 1025–1036.
196. Schoedel K. A., Tyndale R. F.: Induction of nicotine-metabolizing CYP2B1 by ethanol and ethanol-metabolizing CYP2E1 by nicotine: summary and implications. *Biochim. Biophys. Acta*, 2003, 1619, 283–290.
197. Seaton M.J., Vesell E.S.: Variables affecting nicotine metabolism. *Pharmacol Ther.*, 1993; 60, 461–500.
198. Seńczuk W.: Toksykologia podręcznik dla studentów, lekarzy i farmaceutów. PZWL, wyd. IV, Warszawa, 2002.

199. Scouller K., Conigrave K.M., Macaskill P., Irwig L., Whitfield J.B.: Should we use carbohydrate-deficient transferrin instead of g-glutamyltransferase for detecting problem drinkers? A systematic review and metaanalysis. *Clin. Chem.*, 2000, 46, 1894–1902.
200. Sharples C. G., Kaiser S., Soliakov L., Marks M. J., Collins A. C., Washburn M., Wright E., Spencer J. A., Gallagher T., Whiteaker P., Wonnacott S.: UB-165: a novel nicotinic agonist with subtype selectivity implicates the $\alpha 4\beta 2$ subtype in the modulation of dopamine release from rat striatal synaptosomes. *J. Neurosci.*, 2000, 20, 2783 – 2791.
201. Shoaib, M., Gommans, J., Morley, A., Stolerman, I.P., Grailhe, R., Changeux, J.P.: The role of nicotinic receptor beta-2 subunits in nicotine discrimination and conditioned taste aversion. *Neuropharmacology*, 2002, 42, 530– 539.
202. Sierosławski J.: Używanie alkoholu i narkotyków przez młodzież szkolną – raport z ogólnopolskich badań ankietowych zrealizowanych w 2007 r. Instytut Psychiatrii i Neurologii, 2007.
203. Simpson G.: Incorrect overestimates of blood alcohol concentration from breath test results. *J. Anal. Toxicol.*, 1990, 14, 263-264.
204. Skrzydlewska E., Roszkowska A., Kożuszek B.: Wpływ alkoholu etylowego na powstawanie stresu oksydacyjnego w wątrobie. *Przegl. Lek.*, 2002, 59, 848-853.
205. Stolerman, I.P., Chandler, C.J., Garcha, H.S., Newton, J.M.: Selective antagonism of behavioural effects of nicotine by dihydro-beta-erythroidine in rats. *Psychopharmacology*, 1997, 129, 390– 397.
206. The Monolix Group: The Monolix Software, <http://www.monolix.org> - dostęp 15.12.2010.
207. Trauth, J.A., Seidler, F.J., McCook, E.C., Slotkin, T.A.: Adolescent nicotine exposure causes persistent upregulation of nicotinic cholinergic receptors in rat brain regions. *Brain Res.*, 1999, 851, 9–19.
208. Trauth, J.A., McCook, E.C., Seidler, F.J., Slotkin, T.A.: Modeling adolescent nicotine exposure: effects on cholinergic systems in rat brain regions. *Brain Res.*, 2000a, 873, 18–25.
209. Trauth, J.A., Seidler, F.J., Slotkin, T.A.: An animal model of adolescent nicotine exposure: effects on gene expression and macromolecular constituents in rat brain regions. *Brain Res.*, 2000b 867, 29–39.

210. Trauth, J.A., Seidler, F.J., Slotkin, T.A.: Persistent and delayed behavioral changes after nicotine treatment in adolescent rats. *Brain Res.*, 2000c, 880, 167–172.
211. Trela F.M.: Badania porównawcze stężeń alkoholu w żółci, w ciałku szklanym i we krwi pobranych ze zwłok. *Arch. Med. Sąd. Krym.*, 2000, 50, 227–233.
212. Tritto T., Marley R.J., Bastidas D., Stitzel J.A., Collins A.C.: Potential regulation of nicotine and ethanol actions by α 4-containing nicotinic receptors. *Alcohol*, 2001, 24, 69–78
213. True W.R., Xian H., Scherrer J.F., Madden P.A.F., Bucholz K.K., Heath A.C., Eisen P.S.A., Lyons M.J., Goldberg J., Tsuang M.: Common Genetic Vulnerability for Nicotine and Alcohol Dependence in Men. *Arch. Gen. Psychiatry*, 1999, 56, 655–661.
214. Vengeliene V., Bilbao A., Molander A., Spa R.: Neuropharmacology of alcohol addiction. *Br. J. Pharmacol.*, 2008, 154, 299–315.
215. Wall M.A., Johnson J., Jacob III P., Benowitz N.L.: Cotinine in the serum, saliva, and urine of nonsmokers, passive smokers, and active smokers. *Am. J. Publ. Health*, 1988, 78, 699-701.
216. Wang L.Y., You S.L., Lu S.N., Ho H.C., Wu M.H., Sun C.A., Yang H.I., Chen C.J.: Risk of hepatocellular carcinoma and habits of alcohol drinking, betel quid chewing and cigarette smoking: a cohort of 2416 HbsAG – seropositive and 9421 HbsAg – seronegative male residents in Taiwan. *Cancer Causes Control*, 2003, 14, 241–250.
217. Watson W.P., Little H.J.: Prolonged effects of chronic ethanol treatment on responses to repeated nicotine administration: interactions with environmental cues. *Neuropharmacology*, 1999, 38, 587–595.
218. Ward R.J., Lallemand F., Witte P, Dexter D.T.: Neurochemical pathways involved in the protective effects of nicotine and ethanol in preventing the development of Parkinson's disease: Potential targets for the development of new therapeutic agents. *Progr. Neurobiol.*, 2008, 85, 135–147.
219. Węgrzynek I., Żulikowska E., Pach D., Szczepański W.: Stan czynnościowy i morfologiczny wątroby u osób ostro zatrutych alkoholem i przewlekle od niego uzależnionych. *Przegl. Lek.*, 2004, 6, 229–234.

220. Węgrzynek I., Żulikowska E.: Przydatność badań enzymatycznych, biochemicznych i ultrasonograficznych dla oceny hepatotoksycznego działania alkoholu etylowego. *Przegl. Lek.*, 2001, 301–305.
221. Wiergowski M., Szpiech B., Galer K., Reguła K.: Próba oszacowania korelacji w strukturze płci, wieku, przyczynach zejścia śmiertelnego denatów oraz porze roku na podstawie dodatnich wyników oznaczania alkoholu we krwi i moczu oznaczonych w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej Akademii Medycznej w Gdańsku w latach 1989 - 1990 oraz 1999 - 2000, Katedra i Zakład Medycyny Sądowej Akademii Medycznej w Gdańsku, http://www.ipin.edu.pl/ain/2002/4/t15n4_6.pdf - dostęp 1.01.2011 r.
222. Wisborg K., Kesmodel U., Henriksen T.B., Olsen S.F., Secher N.J.: A prospective study of smoking during pregnancy and SIDS. *Arch. Dis. Child.*, 2000, 83, 203-206.
223. Helander A., Wielders J.P.M., Stroet R., Bergstro J.P.: Comparison of HPLC and capillary electrophoresis for confirmatory testing of the alcohol misuse marker carbohydrate-deficient transferrin. *Clin. Chem.*, 2005, 51.
224. Wonnacott S., Sidhpura N., Balfour D.J.: Nicotine: from molecular mechanisms to behaviour. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2005, 5, 53–59.
225. Xu X., Iba M.M., Weisel C.P.: Simultaneous and Sensitive Measurement of Anabasine, Nicotine, and Nicotine Metabolites in Human Urine by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Clin. Chem.*, 2004, 50, 2323–2330.
226. Yamanaka H., Nakajima M., Katoh M., Kanoh A., Tamura O., Ishibashi H., Yokoi T.: Trans-3'-hydroxycotinine O- and N-glucuronidations in human liver microsomes. *Drug Metabol. Dispos.*, 2005, 33, 23–30.
227. Yamazaki H., Horiuchi K., Takano R., Nagano T., Shimizu M., Kitajima M., Murayama N., Shono F.: Human blood concentrations of cotinine, a biomonitoring marker for tobacco smoke, extrapolated from nicotine metabolism in rats and humans and physiologically based pharmacokinetic modeling. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2010, 7, 3406-3421.
228. Yang T.J., Krausz K.W., Shou M., Yang S.K., Buters J.T.M., Gonzalez F.J., Gelboin H.V.: Inhibitory Monoclonal Antibody to Human Cytochrome P4502B6. *Biochem. Pharmacol.*, 1998, 55, 1633–1640.

229. Zaprutko L., Wrzeciono U.: *Chemia związków naturalnych*. Akademia Medyczna im. K. Marcinkowskiego, Poznań, 2001.
230. Zheng T., Boyle P., Hu H., Duan J., Jiang P., Ma D., Shui L., Niu S., MacMahon B.: Tobacco smoking, alcohol consumption, and risk of oral cancer: A case-control study in Beijing, People's Republic of China. *Cancer Causes Control*, 1990, 1, 173–179.
231. Zenzes M.T., Puy L.A., Bielecki R., Reed T.E.: Detection of benzo(a)pyrene diol epoxide-DNA adducts in embryos from smoking couples: evidence for transmission by spermatozoa. *Mol. Hum. Reprod.*, 1999, 5, 125-131.
232. Zoli M., Moretti M., Zanardi A., McIntosh J.M., Clementi F., Gotti, C.: Identification of the nicotinic receptor subtypes expressed on dopaminergic terminals in the rat striatum. *J. Neurosci.*, 2002, 22, 8785–8789.
233. Zuba D., Gubała W., Piekoszewski W., Pach J., Parczewski A.: Methanol as a marker of alcohol addiction. *Z Zagadnień Nauk Sądowych*, 2002, 49, 59–73.
234. Zuo Y., Kuryatov A., Lindstrom J.M., Yeh J.Z., Narahashi T.: Alcohol modulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors is alpha subunit dependent. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 2002, 26, 779–784.

OŚWIADCZENIE

Wyrażam zgodę na udostępnienie mojej rozprawy doktorskiej w Czytelni Naukowej Biblioteki Głównej Uniwersytetu Medycznego im. K.Marcinkowskiego w Poznaniu oraz w formie elektronicznej w Wielkopolskiej Bibliotece Cyfrowej (www.wbc.poznan.pl).

Poznań, dnia.....

.....

(podpis)

OŚWIADCZENIE

Niniejszym oświadczam, iż jestem autorem pracy **doktorskiej** p.t.:

„Interakcje metaboliczne pomiędzy dymem tytoniowym a alkoholem etylowym ”

Praca ta została przeze mnie napisana samodzielnie (bez jakiegokolwiek udziału osób trzecich), przy wykorzystaniu wykazanej w pracy literatury przedmiotu i materiałów źródłowych, stanowi ona pracę oryginalną, nie narusza praw autorskich oraz dóbr osobistych osób trzecich i jest wolna od jakichkolwiek zapożyczeń.

Oświadczam również, że wymieniona praca nie zawiera danych i informacji, które zostały uzyskane w sposób niedozwolony prawem oraz nie była dotychczas przedmiotem żadnej urzędowej procedury związanej z uzyskaniem stopnia **naukowego: doktor nauk farmaceutycznych**, a złożona przeze mnie dyskietka/płyta CD zawiera elektroniczny zapis przedstawionej przeze mnie pracy.

Jednocześnie oświadczam, że nieodpłatnie udzielam Uniwersytetowi Medycznemu im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu licencji do korzystania z wyżej wymienionej pracy bez ograniczeń czasowych i terytorialnych w zakresie obrotu nośnikami, na których pracę utrwalono przez: wprowadzanie do obrotu, użyczenie lub najem egzemplarzy w postaci elektronicznej a nadto upoważniam Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu do przechowywania i archiwizowania pracy w zakresie wprowadzania jej do pamięci komputera oraz do jej zwielokrotniania i udostępniania w formie elektronicznej oraz drukowanej.

Imię i nazwisko

Maksymilian Kulza

Data,

podpis

.....