

ОБЗОР

УДК 612.015.39

РОЛЬ НАДФН (НИКОТИНАМИДАДЕНИНДИНУКЛЕОТИДФОСФАТ ВОССТАНОВЛЕННЫЙ)-ОКСИДАЗ В ФОРМИРОВАНИИ АЛКОГОЛЬ-ИНДУЦИРОВАННОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА**Ефременко Е.С.***ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет»**Министерства здравоохранения Российской Федерации, Омск, e-mail: bx-osma@mail.ru*

Высокая заболеваемость алкоголизмом является важной медико-социальной проблемой в Российской Федерации. Значимость усиленной генерации свободных радикалов при алкогольной интоксикации и алкогольной зависимости подчеркивается широким использованием термина «алкоголь-индуцированный окислительный стресс». Существует большое количество молекулярных механизмов, обеспечивающих формирование дисбаланса между продукцией и устранением свободнорадикальных веществ. Наиболее важной группой свободных радикалов считаются активные формы кислорода. Данные субстанции отвечают за формирование состояния окислительного стресса, при котором продукция свободных радикалов превалирует над возможностью компонентов антиоксидантной системы по их нейтрализации. Окислительный стресс рассматривается не только как простой дисбаланс в соотношении генерации и устранения АФК, но и как проявление нарушения функционирования ферментов, вовлеченных в образование свободных радикалов. Одним из важнейших ферментативных направлений может считаться работа супероксидпродуцирующих энзимов, главными из которых является семейство НАДФН-оксидаз. НАДФН-оксидазы представляют собой сложные ферментные комплексы, основная функция которых связана с генерацией активных форм кислорода. Общая функция НАДФН-оксидаз, расположенных на плазматической мембране, заключается в переносе электронов от цитозольного НАДФН₂ через кофермент ФАД и гем к кислороду с формированием супероксидного анион-радикала и пероксида водорода. Предложенная информация содержит данные об участии НАДФН-оксидаз в нарушении обмена веществ при алкоголизме.

Ключевые слова: алкоголь, алкоголизм, окислительный стресс, свободные радикалы, антиоксиданты, ферменты, клетки, патогенез

THE ROLE OF NADPH OXIDASES IN THE FORMATION OF ALCOHOL-INDUCED OXIDATIVE STRESS**Efremenko E.S.***Federal State Funded Educational Institution for Higher Education Omsk State Medical University
Ministry of Public Health Russian Federation, Omsk, e-mail: bx-osma@mail.ru*

The high incidence of alcoholism is an important medical and social problem in the Russian Federation. The importance of enhanced free radical generation in alcohol intoxication and alcohol dependence is emphasized by the widespread use of the term «alcohol-induced oxidative stress». There are a large number of molecular mechanisms that ensure the formation of an imbalance between the production and elimination of free radical substances. The most important group of free radicals is considered reactive oxygen species. These substances are responsible for the formation of a state of oxidative stress, in which the production of free radicals prevails over the ability of the components of the antioxidant system to neutralize them. Oxidative stress is considered not only as a simple imbalance in the ratio of generation and elimination of ROS, but also as a manifestation of a violation of the functioning of enzymes involved in the formation of free radicals. One of the most important enzymatic directions can be considered the work of superoxide-producing enzymes, the main of which is the family of NADPH oxidases. NADPH oxidases are enzyme complexes whose main function is related to the generation of reactive oxygen species. The general function of NADPH oxidases located on the plasma membrane is to transfer electrons from cytosolic NADPH₂ through the coenzyme FAD and heme to oxygen with the formation of a superoxide anion radical and hydrogen peroxide. The proposed information contains data on the participation of NADPH oxidases in metabolic disorders in alcoholism.

Keywords: alcohol, alcoholism, oxidative stress, free radicals, antioxidants, enzymes, cells, pathogenesis

Активные формы кислорода (АФК) выступают в качестве основных свободнорадикальных веществ, играющих ключевую роль в этиологии и патогенезе различных нозологических форм, в том числе патологии, связанной с употреблением алкоголя. Данные субстанции отвечают за формирование состояния окислительного стресса, при котором продукция свободных радикалов превалирует над возможностью

компонентов антиоксидантной системы по их нейтрализации.

Окислительный стресс рассматривается не только как простой дисбаланс в соотношении генерации и устранения АФК, но и как проявление нарушения функционирования ферментов, вовлеченных в образование свободных радикалов. Одним из важнейших ферментативных направлений может считаться работа супероксидпроду-

цирующих энзимов, главными из которых является семейство НАДФН-оксидаз [1; 2].

Цель исследования: анализ данных литературы в аспекте значимости НАДФН-оксидаз в патогенезе алкоголизма.

НАДФН-оксидазы (КФ 1.6.99.6) или ферменты «дыхательного взрыва» представляют собой сложные ферментные комплексы, основная функция которых связана с генерацией активных форм кислорода [3]. Другие ферменты (циклооксигеназы, ферменты дыхательной цепи, семейство цитохромов) продуцируют активные кислородные метаболиты только в качестве побочных продуктов при выполнении основной функции и расцениваются как вторичные пути образования АФК.

Общая функция НАДФН-оксидаз, расположенных на плазматической мембране, заключается в переносе электронов от цитозольного НАДФН₂ (никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный) через кофермент ФАД (флавинадениндинуклеотид) и гем к кислороду с формированием супероксидного анион-радикала и пероксида водорода [4].

Экспрессия НАДФН-оксидаз наблюдается в клетках фагоцитарного ряда (нейтрофильные лейкоциты, макрофаги) для обеспечения устранения чужеродных веществ белковой и иной природы. В умеренных, нецитотоксических количествах ферменты синтезируются в нефагоцитирующих типах клеток для выполнения регуляторных функций [5].

Выделяют семь изоформ НАДФН-оксидаз, среди которых пять вариантов представляют ферментные комплексы типа NOXs (NADPH oxidases): NOX-1, 2, 3, 4, 5. Две формы относят к DUOX (dual oxidases): DUOX-1, 2 [6; 7].

Структурно ферменты семейства NOXs представлены белковыми компонентами, объединенными в комплекс. Мультимерный ферментный комплекс NOX1, открытый 20 лет назад, осуществляет свое функционирование посредством активности каталитической субъединицы NOX1 [8; 9].

Каталитическая субъединица NOX1 имеет общие структурные характеристики с другими представителями семейства NOXs. В связи с тем что все описываемые ферментные комплексы являются трансмембранными НАДФН-оксидазами, в данном участке имеется НАДФН-связывающий участок в области С-конца белковой цепи, участок связывания кофермента ФАД и шесть высококонсервативных доменов [10].

Активация NOX1 сопряжена с взаимодействием с белком p22^{phox}, который

вызывает стабилизацию каталитической субъединицы. Дальнейшее формирование активности NOX1 связано с необходимостью присоединения предварительно фосфорилированного цитоплазматического белка p47^{phox} к уже образованному комплексу NOX1/p22^{phox}.

Белок p47^{phox}, известный также как нейтрофильный цитозольный фактор-1 (NCF-1, neutrophil cytosolic factor 1), выполняет функцию сопровождения (шаперон) другого цитоплазматического белка p67^{phox} к образуемому комплексу NOX1.

Данный белок (p67^{phox}) предназначен для запуска конформационных изменений в доменах каталитической субъединицы, что способствует переносу электронов от НАДФН₂ к кислороду [11].

Дополняет комплекс ГТФ-аза Rac1 (Ras-related G3 botulinum substrate 1), способствуя соединению p67^{phox} с мембраной и каталитической субъединицей NOX1 [12].

В фагоцитирующих клетках основной изоформой НАДФН-оксидаз является NOX2, открытая в 1986 г. [13]. Для функционирования NOX2, как и для NOX1, регуляторные субъединицы мультимерного ферментного комплекса включают: мембраносвязанный протеин p22^{phox}, белок p47^{phox}, Rac1. Дополнительный белок комплекса NOX2 представлен протеином p40^{phox} (нейтрофильный цитозольный фактор-4, neutrophil cytosolic factor 4, NCF-4). Данный протеин вовлечен в механизмы базальной продукции АФК [14].

Изоформа NOX3 структурно и функционально родственна NOX1 и NOX2. Необходимо отметить, что экспрессия данного вида НАДФН-оксидаз в 50 раз выше в клетках вестибулярного и кохлеарного отделов внутреннего уха по сравнению с другими клетками организма человека [15].

Особой изоформой ферментов семейства NOXs, которая синтезируется в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов, считается NOX4. В отличие от других вариантов НАДФН-оксидаз, данный фермент является пероксид-генерирующим. Возможно, указанный момент связан с отличительными чертами его строения. Так, NOX4 для функционирования использует только один регуляторный белок p22^{phox}. Также установлено, что для активности NOX4 требуется белок, взаимодействующий с полимерами [16].

Изоформа NOX5 имеет существенные особенности строения и работы по сравнению с другими представителями семейства NOXs. Это единственная форма фермента, осуществляющая генерацию супероксида без использования регуляторных субъ-

единиц типа «rhoX» и «Rac». Кроме того, в структуре присутствует N-концевой кальмодулиноподобный домен, содержащий четыре участка связывания для катионов кальция, что может свидетельствовать о возможности регуляции каталитической активности путем изменения интрацеллюлярного уровня катионов кальция [17].

Ферменты DUOX1, DUOX 2 функционируют в комплексе с активирующими белками A1 и A2 (DUOXA1, DUOXA2), которые образуют ковалентные связи с каталитическими протомерами. Сформированный комплекс обеспечивает продукцию пероксида водорода [18].

Основываясь на данных о высоком уровне экспрессии в клетках щитовидной железы, указанные ферменты идентифицируются как тиреоидные оксидазы, но их наличие определяется и в нетиреоидных тканях [19]. Синтезируемый в ходе реакции пероксид водорода необходим для осуществления функциональной активности тиреопероксидазы в рамках образования гормонов щитовидной железы [18].

Одним из важных механизмов повреждения клеточных структур при таком распространенном заболевании, как алкоголизм, считается усиление продукции свободных радикалов. Существуют различные способы, с помощью которых происходит активация формирования АФК при алкогольной патологии. В целом широко применяется понятие «алкоголь-индуцированный окислительный стресс» [20].

В аспекте значимости НАДФН-опосредованной продукции АФК при алкогольной патологии выявлено, что моделирование влияния этилового алкоголя на активность НАДФН-оксидазы вызывает активацию фермента путем индуцирования транслокации белка p47^{phox} по редокс-зависимому механизму.

Показательно, что аскорбиновая кислота предупреждала этанол-индуцированную генерацию супероксида [21]. Также в экспериментах с оценкой воздействия интраперитонеального введения 25%-ного раствора этанола мышам линии C57D/6J показано, что основные изменения экспрессии NOX1 происходят в нервной ткани: увеличен уровень мРНК NOX1, DUOX2 [22].

В другом экспериментальном исследовании токсического влияния этилового алкоголя на активность каталитических субъединиц и уровень мРНК регуляторных субъединиц ферментов семейства NOX отмечено увеличение активности DUOX2 и уровня мРНК для белков p22^{phox} и p67^{phox}. Использование ингибитора НАДФН-оксидазы – дифениленидона –

предотвращало алкоголь-зависимое увеличение активности НАДФН-оксидаз в тканях алкоголизированных мышей [23].

Важную роль в механизмах формирования компонентов нервной системы Miozzo F. et al. (2018) отводят ферментам ДНК-метилтрансферазам, регуляция активности которых зависит от посттранскрипционных механизмов.

Данные механизмы опосредованы НАДФН-зависимой продукцией активных кислородных метаболитов. Авторами продемонстрировано влияние этилового алкоголя на механизмы регуляции активности различных изоформ ДНК-метилтрансфераз. С использованием нейронной клеточной линии-предшественника и первичных эмбриональных фибробластов мышцы показано, что этанол увеличивает уровень мРНК ДНК-метилтрансфераз в результате влияния активных форм кислорода, образованных НАДФН-оксидазами.

Применение другого ингибитора НАДФН-оксидазы – апоцинина – при анализе эффектов алкоголя устраняло повышение активности NOX2 и увеличение генерации супероксида в крови крыс линии Wistar [24]. Аналогичным образом апоцинин воздействует на экспрессию NOX2 в ткани аорты алкоголизированных крыс указанной линии [25].

Применение ингибиторов фермента создает предпосылки для оценки эффективности превентивной терапии с использованием лекарственных веществ, обладающих антиоксидантным потенциалом. Так, в альвеолярных макрофагах, где НАДФН-оксидазный путь генерации АФК является основным, отмечено увеличение экспрессии NOX1, 2 *in vivo* и *in vitro* при анализе влияния алкоголя на организм человека и животных соответственно. Пероральное введение экзогенного глутатиона восстанавливало его внутриклеточный пул в альвеолярных макрофагах мышей и устраняло негативное влияние этилового спирта в отношении экспрессии NOX1, 2 [26; 27].

Кроме классических антиоксидантных веществ оценивалось действие иных классов лекарственных средств, для которых антиоксидантный эффект не отмечается в качестве основного. В этом аспекте кардиоселективный бета-блокатор III поколения – невиллол – предупреждал этанол-зависимую, НАДФН-опосредованную продукцию АФК по механизму уменьшения экспрессии каталитической субъединицы NOX2 и экспрессии ГТФ-азы Rac-1 в ткани почек алкоголизированных крыс линии Wistar [28].

Помимо нейронов, ткани аорты, альвеолярных макрофагов, ткани почек, ана-

лизировалось состояние клеток костной ткани при воздействии этилового алкоголя в отношении системы ферментов НАДФН-оксидаз. Считается, что в норме НАДФН-зависимая продукция супероксидного анион-радикала в остеокластах – это фактор, обеспечивающий их дифференцировку. При моделировании хронического действия этанола *in vitro* Chen J. et al. (2011) отмечали активацию NOX 1,2,4 в остеобластах. Предположительно данное обстоятельство может быть механизмом, который лежит в основе модификации остеобразовательных процессов и стимуляции резорбтивных явлений (активация дифференцировки остеокластов) при хроническом злоупотреблении алкоголя *in vivo*. Это подтверждается эффектом дифениленйодония, вызывающего уменьшение процессов резорбции костной ткани [29].

Алкоголизация мышей, «нокаутированных» по белку p47^{phox}, показала, что в данном случае потеря функциональной активности NOX2 является положительным фактором, поскольку не происходит активации остеокластов [30]. Также отсутствие действия NOX4 у мышей в условиях алкогольной зависимости продемонстрировало протективное влияние данного вида модификации активности фермента в отношении остеобластогенеза [31].

Особое внимание отводится НАДФН-зависимым механизмам свободнорадикального повреждения гепатоцитов при алкогольной патологии. Исследование протективных эффектов индол-3-карбинола, проявляющего антиоксидантные и противовоспалительные свойства, на экспериментальной модели алкоголь-индуцированного повреждения ткани печени у мышей выявило существенное уменьшение проявлений окислительного стресса в печеночной ткани, которое, в частности, выражалось в увеличенной активности NOX4. Применение данного вещества также устраняло высокую интенсивность перекисного окисления липидов мембран гепатоцитов и уровень главного тиолового антиоксиданта – восстановленного глутатиона [32].

Гепатопротективный эффект лекарственных средств при хроническом воздействии алкоголя изучался в работе, посвященной применению метилферуловой кислоты в условиях влияния этанола на клетки. Использование указанного соединения, помимо устранения гиперферментемии (аланиновая аминотрансфераза, АЛТ; аспарагиновая аминотрансфераза, АСТ), оказывало благоприятное влияние на ферментативную составляющую антиоксидантной системы (супероксиддисмутаза,

каталаза, глутатионпероксидаза). Выявленные изменения активности ферментов антиоксидантной защиты отрицательно коррелировали с уровнем экспрессии NOX4. Механизмом развития данных эффектов феруловой кислоты авторы считают ингибирование сигнального пути, сопряженного с участием NOX4, АФК и митоген-активируемых протеинкиназ [33].

Кроме феруловой кислоты, другие соединения фенольной природы растительного происхождения также тестировались относительно эффективности использования при алкогольной болезни печени. В частности, флавоноид фисетин оценивался в качестве средства, способного оказать положительный эффект на интенсивность свободнорадикального окисления в печени при экспериментальном моделировании токсического влияния этанола. Длительный эксперимент по алкоголизации мышей на фоне введения фисетина выявил его потенциал в следующих направлениях:

1) уменьшение активности в крови ферментов – АЛТ, АСТ;

2) снижение уровня экспрессии в печени NOX4 и одновременное падение уровня супероксидного анион-радикала и 4-гидроксинафтола в печеночной ткани;

3) предупреждение алкоголь-индуцированного апоптоза гепатоцитов [34].

Научный поиск фармакологических агентов, способных нормализовать морфологические параметры и функциональное состояние печени при алкоголизме, также связан с изучением возможности воздействия на деятельность митохондрий. Так, оценка экспрессии NOX4 в ткани печени и митохондриальной фракции гепатоцитов при влиянии этилового алкоголя, проведенная Sun Q. et al. (2017), показала индукцию экспрессии данной изоформы NOX. Это сопровождалось повышением уровня активных форм кислорода в митохондриях. «Нокаутирование» по NOX4 восстанавливало электрохимический потенциал митохондрий, снижало митохондриальный уровень супероксида с одновременным повышением уровня аденозинтрифосфата и соотношения окисленных и восстановленных форм никотинамидадениндинуклеотида [35].

Кроме печени, отмечается также НАДФН-опосредованное повреждение клеток половой системы при алкогольной патологии. Считается, что половые клетки одни из наиболее чувствительных к длительному злоупотреблению алкоголем. Это связано с индукцией ферментов микросомальной этанолаксилирующей системы клеток и сопровождается угнетением биологических и метаболических эффектов гормонов груп-

пы тестостерона. Снижение эффективности действия гормонов объясняется ускорением их биотрансформации с образованием неактивных форм.

Проведенные исследования по оценке уровня активности НАДФН-оксидаз в клетках придатка яичка показали увеличение скорости образования свободнорадикальных форм кислорода в результате действия данных ферментов при экспонировании клеток этанолом. Исследователи считают, что обнаруженные изменения определяют одновременное повышение содержания маркера окислительной деструкции ДНК – модифицированного дезоксигуанозина – в указанных клетках. С тем же изменением активности ферментов «дыхательного взрыва» предположительно связаны выраженные фибротические изменения в ткани органа.

Заключение

Таким образом, данные литературы свидетельствуют о том, что:

а) продукция АФК, осуществляемая НАДФН-оксидазами, интенсифицируется при воздействии этилового алкоголя на клеточные структуры;

б) указанные изменения имеют печеночную и внепеченочную локализацию;

в) ингибиторы НАДФН-оксидаз и вещества с антиоксидантной активностью устраняют негативные проявления и последствия влияния алкоголя в отношении экспрессии различных изоформ NOXs.

Список литературы

- Salisbury D., Bronas U. Reactive oxygen and nitrogen species: impact on endothelial dysfunction. *Nurs. Res.* 2015. vol. 64. no. 1. P. 53–66.
- Schramm A., Matusik P., Osmenda G., Guzik T. Targeting NADPH oxidases in vascular pharmacology. *Vascul. Pharmacol.* 2012. vol. 56. no. 5–6. P. 216–231.
- Lassègue B., San Martín A., Griendling K. Biochemistry, physiology, and pathophysiology of NADPH oxidases in the cardiovascular system. *Circ. Res.* 2012. vol. 110. P. 1364–1390.
- Глянько А.К., Ищенко А.А. Структурные и функциональные особенности НАДФН-оксидазы растений (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2010. Т. 46. № 5. С. 509–518.
- de Oliveira-Junior E., Bustamante P., Newburger A. The human NADPH oxidase: primary and secondary defects impairing the respiratory burst function and the microbicidal ability of phagocytes. *Scand. J. Immunol.* 2011. vol. 73. P. 420–427.
- Wingler K., Hermans J., Schiffrers P., Moens A., Paul M., Schmidt H. NOX1, 2, 4, 5: counting out oxidative stress. *Br. J. Pharmacol.* 2011. vol. 164. P. 866–883.
- Takac I., Schröder K., Brande R. The Nox family of NADPH oxidases: friend or foe of the vascular system? *Curr. Hypertens. Rep.* 2012. vol. 14. P. 70–78.
- Suh Y., Arnold R., Lassègue B., Shi J., Xu X., Sorescu D., Chung A., Griendling K., Lambeth J. Cell transformation by the superoxide-generating oxidase Mox1. *Nature.* 1999. vol. 401. P. 79–82.
- Banfi B., Maturana A., Jaconi S., Arnaudeau S., Laforge T., Sinha B., Ligeti E., Demareux N., Krause K. A mammalian H⁺ channel generated through alternative splicing of the NADPH oxidase homolog NOH-1. *Science.* 2000. vol. 287. P. 138–142.
- Bedard K., Krause K. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol. Rev.* 2007. vol. 87. P. 245–313.
- Drummond G., Sobey C. Endothelial NADPH oxidases: which NOX to target in vascular disease? *Trends Endocrinol. Metab.* 2014. vol. 25. no. 9. P. 452–463.
- Opitz N., Drummond G., Selemidis S., Meurer S., Schmidt H. The ‘A’s and ‘O’s of NADPH oxidase regulation: a commentary on ‘Subcellular localization and function of alternatively spliced Nox1 isoforms’. *Free Radic. Biol. Med.* 2007. vol. 42. P. 175–179.
- Royer-Pokora B., Kunkel L., Monaco A., Goff S., Newburger P., Baehner R., Cole F., Curnutte J., Orkin S. Cloning the gene for an inherited human disorder-chronic granulomatous disease-on the basis of its chromosomal location. *Nature.* 1986. vol. 322. P. 32–38.
- Fan L. Knockout of p47 phox uncovers a critical role of p40 phox in reactive oxygen species production in microvascular endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2009. vol. 29. P. 1651–1656.
- Roussel F., Carnesecci S., Senn P., Krause K. NOX3-targeted therapies for inner ear pathologies. *Curr. Pharm. Des.* 2015. vol. 21. no. 41. P. 5977–5987.
- Sutliff R. Polymerase delta interacting protein 2 sustains vascular structure and function. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2013. vol. 33. P. 2154–2161.
- Banfi B. Mechanism of Ca²⁺ activation of the NADPH oxidase 5 (NOX5). *J. Biol. Chem.* 2004. vol. 279. P. 18583–18591.
- De Deken X., Miot F. DUOX defects and their roles in congenital hypothyroidism. *Methods Mol. Biol.* 2019. vol. 1982. P. 667–693.
- Korzeniowska A., Donkó Á., Morand S., Leto T. Functional characterization of DUOX enzymes in reconstituted cell models. *Methods Mol. Biol.* 2019. vol. 1982. P. 173–190.
- Reddy V., Padmavathi P., Bulle S., Hebbani A., Marthadu S., Venugopalacharyulu N., Maturu P., Varadacharyulu N. Association between alcohol-induced oxidative stress and membrane properties in synaptosomes: a protective role of vitamin E. *Neurotoxicol. Teratol.* 2017. vol. 63. P. 60–65.
- Simplicio J., Hipólito U., Vale G., Callera G., Pereira C., Touyz R., Tostes R., Tirapelli C. Acute ethanol intake induces NAD(P)H oxidase activation and rhoA translocation in resistance arteries. *Arq. Bras. Cardiol.* 2016. vol. 107. no. 5. P. 427–436.
- Hill A., Drever N., Yin H., Tamayo E., Saade G., Bytautiene E. The role of NADPH oxidase in a mouse model of fetal alcohol syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2014. vol. 210. no. 5. P. 466.e1-5.
- Dong J., Sulik K., Chen S. The role of NOX enzymes in ethanol-induced oxidative stress and apoptosis in mouse embryos. *Toxicol. Lett.* 2010. vol. 193. no. 1. P. 94–100.
- Simplicio J., do Vale G., Gonzaga N., Leite L., Hipólito U., Pereira C., Tostes R., Tirapelli C. Reactive oxygen species derived from NAD(P)H oxidase play a role on ethanol-induced hypertension and endothelial dysfunction in rat resistance arteries. *J. Physiol. Biochem.* 2017. vol. 73. no. 1. P. 5–16.
- Marchi K., Ceron C., Muniz J., De Martinis B., Tanus-Santos J., Tirapelli C. NADPH oxidase plays a role on ethanol-induced hypertension and reactive oxygen species generation in the vasculature. *Alcohol Alcohol.* 2016. vol. 51. no. 5. P. 522–534.
- Yeligar S., Harris F., Hart C., Brown L. Ethanol induces oxidative stress in alveolar macrophages via upregulation of NADPH oxidases. *J. Immunol.* 2012. vol. 188. no. 8. P. 3648–3657.
- Yeligar S., Harris F., Hart C., Brown L. Glutathione attenuates ethanol-induced alveolar macrophage oxidative

- stress and dysfunction by downregulating NADPH oxidases. *Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol.* 2014. vol. 306. no. 5. P. L429–L441.
28. do Vale G., Gonzaga N., Simplicio J., Tirapelli C. Nebivolol prevents ethanol-induced reactive oxygen species generation and lipoperoxidation in the rat kidney by regulating NADPH oxidase activation and expression. *Eur. J. Pharmacol.* 2017. vol. 799. P. 33–40.
29. Chen J., Lazarenko O., Shankar K., Blackburn M., Lumpkin C., Badger T., Ronis M. Inhibition of NADPH oxidases prevents chronic ethanol-induced bone loss in female rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2011. vol. 336. no. 3. P. 734–742.
30. Mercer K., Sims C., Yang C., Wynne R., Moutos C., Hogue W., Lumpkin C., Suva L., Chen J., Badger T., Ronis M. Loss of functional NADPH oxidase 2 protects against alcohol-induced bone resorption in female $p47^{phox-/-}$ mice. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2014. vol. 38. no. 3. P. 672–682.
31. Watt J., Alund A., Pulliam C., Mercer K., Suva L., Chen J., Ronis M. NOX4 deletion in male mice exacerbates the effect of ethanol on trabecular bone and osteoblastogenesis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2018. vol. 366. no. 1. P. 46–57.
32. Choi Y., Abdelmegeed M., Song B. Preventive effects of indole-3-carbinol against alcohol-induced liver injury in mice via antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic mechanisms: Role of gut-liver-adipose tissue axis. *J. Nutr. Biochem.* 2018. vol. 55. P. 12–25.
33. Li C., Li L., Yang C., Zhong Y., Wu D., Shi L., Chen L., Li Y. Hepatoprotective effects of Methyl ferulic acid on alcohol-induced liver oxidative injury in mice by inhibiting the NOX4/ROS-MAPK pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017. vol. 493. no. 1. P. 277–285.
34. Sun Q., Zhang W., Zhong W., Sun X., Zhou Z. Dietary fisetin supplementation protects against alcohol-induced liver injury in mice. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2016. vol. 40. no. 10. P. 2076–2084.
35. Sun Q., Zhang W., Zhong W., Sun X., Zhou Z. Pharmacological inhibition of NOX4 ameliorates alcohol-induced liver injury in mice through improving oxidative stress and mitochondrial function. *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* 2017. vol. 1861. P. 2912–2921.
36. Sadeghzadeh M., Shirpoor A., Naderi R., Kheradmand F., Gharalari F., Samadi M., Khalaji N., Gharaaghaji R. Long-term ethanol consumption promotes changes in β -defensin isoform gene expression and induces structural changes and oxidative DNA damage to the epididymis of rats. *Mol. Reprod. Dev.* 2019. vol. 86. no. 6. P. 624–631.