

## Stężenie 8-izo-prostaglandyny $F_{2\alpha}$ oraz 4-hydroksynonenalu i dialdehydu malonowego u osób uzależnionych od alkoholu w trakcie kompleksowej terapii odwykowej

### The level of 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$ , 4-hydroxynonenal and malondialdehyde in alcohol dependent men during combined therapy

Ewa Kopczyńska<sup>1</sup>, Magdalena Lampka<sup>1</sup>, Lech Torliński<sup>1,2</sup>,  
Marcin Ziółkowski<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Z Katedry i Zakładu Patobiochemii i Chemii Klinicznej AM w Bydgoszczy

Kierownik: prof. dr hab. n. med. L. Torliński

<sup>2</sup> Z Katedry i Zakładu Biochemii Klinicznej AM w Poznaniu

Kierownik: prof. dr hab. n. med. L. Torliński

<sup>3</sup> Z Zakładu Pielęgniarstwa Psychiatrycznego AM w Bydgoszczy

W pracy przedstawiono ocenę zmian nasilenia peroksydacji lipidów u mężczyzn uzależnionych od alkoholu po trzech miesiącach stosowania naltreksonu lub tianeptyny oraz po dalszych trzech miesiącach katamnezy.

uzależnienie od alkoholu  
peroksydacja lipidów  
8-izo-prostaglandyna  $F_{2\alpha}$  (8-izoprostan)  
4-hydroksynonenal  
dialdehyd malonowy

The paper presents the estimation of intensity of lipid peroxidation in alcohol dependent male patients after three months of therapy with naltrexone or tianeptine and the next three months follow-up.

alcohol dependence  
lipid peroxidation  
8-iso-prostaglandin  $F_{2\alpha}$  (8-isoprostane)  
4-hydroxynonenal  
malondialdehyde

#### Wstęp

Nasilenie peroksydacji lipidów u osób nadużywających alkoholu jest spowodowane nadmiernym wytwarzaniem reaktywnych form tlenu i/lub spadkiem poziomu endogennych antyoksydantów. Toksyczne rodniki tlenowe powstają głównie na skutek indukcji enzymów mikrosomalnych przez alkohol. Natomiast zmniejszenie stężenia lub aktywności związków biorących udział w inaktywacji wolnych rodników najprawdopodobniej następuje na skutek zwiększonego ich zużycia. Wynikiem zaburzenia równowagi proantyoksydacyjnej jest tzw. stres oksydacyjny i w konsekwencji nasilona peroksydacja lipidów [1, 2, 3, 4, 5, 6].

Peroksydacja lipidów jest najczęściej badanym procesem związanym z zaburzeniem równowagi proantyoksydacyjnej, a wskaźniki utleniania lipidów znalazły szerokie zastosowanie jako markery stresu oksydacyjnego.

W prezentowanej pracy oceny procesu peroksydacji lipidów dokonano poprzez oznaczanie stężenia 8-izo-prostaglandyny  $F_{2\alpha}$  (8-izo-PGF<sub>2a</sub>), parametru będącego nowym wskaźnikiem tzw. stresu oksydacyjnego, oraz stężenia dialdehydu malonowego w kombinacji z 4-hydroksynonenalem [MDA+4-HNE].

8-izo-prostaglandyna  $F_{2\alpha}$  należy do rodziny  $F_2$ -izoprostanów. Są to izomery prostaglandyn  $F_2$ , które powstają z kwasu arachidonowego w reakcji zainicjowanej i katalizowanej przez wolne rodniki. Reaktywne formy tlenu „atakują” fosfolipidy błon komórkowych zawierające arachidoniany, z których następnie fosfolipaza  $A_2$  uwalnia  $F_2$ -izoprostan [7].

Dialdehyd malonowy (MDA) i 4-hydroksynonenal (4-HNE), końcowe produkty peroksydacji lipidów, powstają z cyklicznych nadtlenków wielonienasyconych kwasów tłuszczowych.

## Material i metody

### Osoby badane

Badaniami objęto 61 mężczyzn, w wieku 22 do 55 lat, z kliniczną diagnozą uzależnienia od alkoholu. Czas trwania uzależnienia od alkoholu wynosił średnio  $13\pm 6$  lat, wahając się od 2 do 25 lat. Początek uzależnienia od alkoholu stwierdzono w wieku średnio  $28\pm 7$  lat; najmłodszy pacjent, u którego rozpoznano zespół uzależnienia od alkoholu w chwili jego początku, miał 15 lat, a najstarszy 50 lat. Badani byli hospitalizowani na Oddziale Leczenia Uzależnień przy Katedrze i Klinice Psychiatrii Akademii Medycznej w Bydgoszczy.

Kryteria włączenia do grupy badanej: spełnienie kryteriów diagnostycznych uzależnienia od alkoholu wg ICD-10 [8], pisemna zgoda na uczestniczenie w badaniach, prawidłowe wartości AST, ALT, GGT, bilirubiny.

Kryteria wykluczenia z badania: występowanie u chorego zaburzeń psychiatrycznych lub otepiennych, zażywanie narkotyków opioidowych (z wywiadu), uzależnienie od innych prócz alkoholu i nikotyny substancji psychoaktywnych, poważna choroba somatyczna.

Oznaczenia produktów peroksydacji lipidów u pacjentów wykonywano trzykrotnie:

- 1) przed rozpoczęciem farmakoterapii, tj. po 28 dniach szpitalnej detoksykacji,
- 2) po 3 miesiącach stosowania farmakoterapii,
- 3) po 3 miesiącach katamnezy (okres od zaprzestania zażywania leków).

28 dni pobytu w szpitalu to okres, w którym doszło do wyrównania stanu fizycznego i psychicznego pacjenta; to czas potrzebny na minięcie zespołu abstynencyjnego, normalizację wyników badań laboratoryjnych oraz wyrażenie przez pacjentów zgody na leczenie farmakologiczne i psychoterapię.

Leki podawano w identycznych kapsułkach (zasada podwójnie ślepej próby) według schematu: naltrekson w jednorazowej dawce 50 mg/dobę oraz 2 x placebo; tianeptynę 3 x 12,5 mg/dobę.

Oprócz leczenia farmakologicznego u pacjentów zastosowano psychoterapię

edukacyjno-poznawczą, indywidualną i grupową – w trakcie pobytu na oddziale 6-godzinną terapię przed- i popołudniową, po wypisaniu ze szpitala zalecono 1 spotkanie 2-godzinne w tygodniu.

W czasie stosowania farmakoterapii abstynencję złamało 4 pacjentów: 1 pacjent w 4 tygodniu, 2 pacjentów w 8 tygodniu, 1 pacjent w 12 tygodniu farmakoterapii, w tym 1 osoba leczona naltreksonem i 3 osoby leczone tianeptyną.

Wystąpienie nawrotu picia stwierdzano na podstawie danych uzyskanych od chorych oraz informacji od ich bliskich. W trakcie leczenia farmakologicznego oceniano u pacjentów aktywność GGT, AST, ALT, stężenie bilirubiny. Wzrost powyżej normy co najmniej dwóch spośród tych biochemicznych parametrów, mimo braku innych informacji o nawrocie picia, traktowano jako dowód, że do nawrotu doszło. Chorzy po okazaniu im wyników badań laboratoryjnych, we wszystkich wypadkach, w których stwierdzono wzrost co najmniej dwóch spośród wyżej wymienionych parametrów biochemicznych, potwierdzili, że doszło u nich do nawrotu picia.

### Metody badań

Stężenia wszystkich badanych parametrów oznaczano w surowicy krwi.

Przed pobraniem krwi w godzinach rannych badani pozostawali na czczo przez około 14 godzin.

Krew żylną w ilości około 10 ml pobierano do plastikowych probówek zawierających separator surowicy. Materiał pozostawiano w temperaturze pokojowej do całkowitego wykrzepnięcia. W celu uzyskania surowicy krew wirowano przy 400 g przez 10 minut. Surowicę przechowywano w zamrażarce, w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ .

8-izo-prostaglandynę  $\text{F}_2\alpha$  surowicy oznaczano metodą immunoenzymatyczną (ELISA) stosując zestaw odczynnikowy firmy OXIS i czytnik mikroplitek Multiskan EX firmy Labsystems. Zakres wartości referencyjnych: 0,01–0,02 ng/ml.

Dialdehyd malonowy i 4-hydroksynonenal [MDA+4-HNE] oznaczano metodą kolorymetryczną BIOXYTECH LPO-586 używając zestawu odczynnikowego firmy OXIS i fotometru EPOLL 20.

Za pomocą testu LPO-586 można oznaczać zarówno MDA, jak i MDA w kombinacji z 4-HNE. Metoda oparta jest na reakcji chromogenu (N-metylo-2-fenylindol) z dialdehydem malonowym i 4-hydroksynonenalem w temperaturze  $45^{\circ}\text{C}$ , co prowadzi do utworzenia trwałego chromoforu z maksimum absorbancji przy długości fali 586 nm. Za wartości referencyjne przyjmuje się stężenie [MDA+4-HNE] niższe od 1  $\mu\text{mol/l}$  surowicy.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono za pomocą: 1) testu  $t$  – do sprawdzenia hipotezy zerowej o braku różnic między średnimi dwóch zależnych pomiarów; 2) współczynnika korelacji Pearsona – w celu oceny zależności pomiędzy wynikami parametrów stresu oksydacyjnego.

### Wyniki

Przed rozpoczęciem terapii odwykowej średnie stężenia obu badanych parametrów przekraczały zakresy wartości referencyjnych. Trzymiesięczny okres farmakoterapii spowodował istotny statystycznie spadek stężenia zarówno 8-izo-prostaglandyny  $\text{F}_2\alpha$ ,

jak i dialdehydu malonowego i 4-hydroksynonenalu. Dalszy korzystny dla pacjentów spadek stężenia produktów peroksydacji lipidów nastąpił po 12 tygodniach od zaprzestania zażywania leków (tabela).

W obu podgrupach wyodrębnionych ze względu na rodzaj stosowanego leku (nal-

Tabela

Stężenia parametrów stresu oksydacyjnego w surowicy krwi badanych pacjentów przed leczeniem farmakologicznym (N=61), po farmakoterapii (N=61) oraz po katamnezie (N=37)

PARAMETRY LABORATORYJNE (wartości referencyjne)	GRUPA BADAŃNA		
	przed farmakoterapią <sup>1</sup> $\bar{x} \pm SD$ (zakres wartości)	po farmakoterapii $\bar{x} \pm SD$ (zakres wartości)	po katamnezie $\bar{x} \pm SD$ (zakres wartości)
8-izo-PGF <sub>2α</sub> (0,01-0,02 ng/ml)	1,99 ± 0,94 (0,08 - 3,80)	1,65 ± 0,63 *** (0,04 - 2,60)	0,49 ± 0,41 +- (0,03 - 1,90) ***
MDA +4 HNEI (< 1 μmol/l)	1,26 ± 0,54 (0,38 - 2,70)	1,84 ± 0,40 *** (0,23 - 2,08)	0,67 ± 0,50 + (0,12 - 2,12) ***

x – wartość średnia

SD – odchylenie standardowe

\* – statystycznie istotna różnica w stosunku do wyników przed farmakoterapią

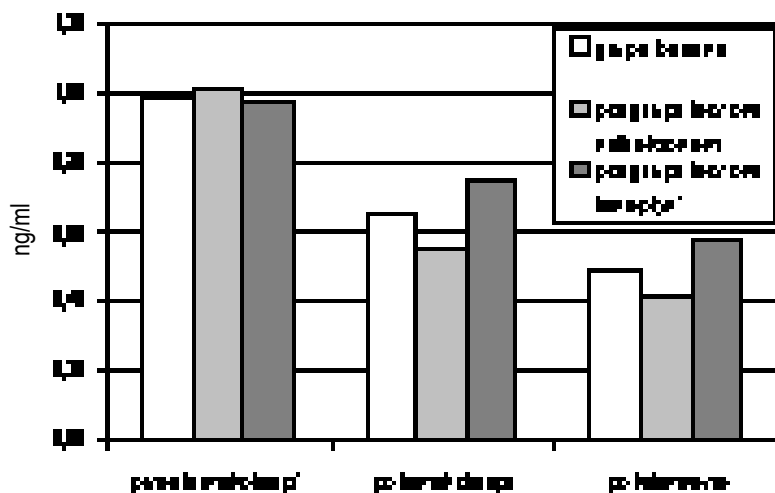
+ – statystycznie istotna różnica w stosunku do wyników po farmakoterapii

+ – p < 0,05

++ – p < 0,01

\*\*\* – p < 0,001

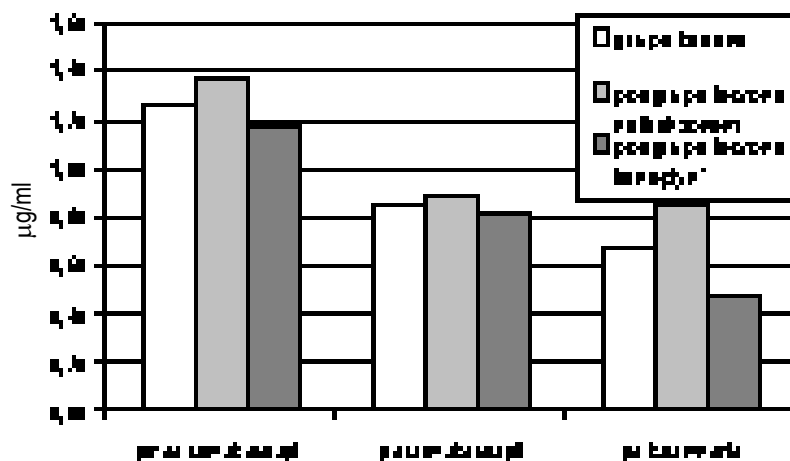
trekson, tianeptyna) po farmakoterapii nastąpiło istotne statystycznie (p<0,01; p<0,05) zmniejszenie stężenia 8-izo-prostaglandyny F<sub>2α</sub> (rys. 1). Natomiast po katamnezie tylko w grupie badanych, którym podawano naltrekson, stężenie 8-izo-PGF<sub>2α</sub> obniżyło się



Rys. 1 Stężenie 8-izo-PGF<sub>2α</sub> przed farmakoterapią, po farmakoterapii oraz po katamnezie

istotnie ( $p < 0,05$ ).

Stężenie drugiego z badanych parametrów dialdehydu malonowego i 4-hydroksynonenalu, obniżyło się istotnie po farmakoterapii zarówno w podgrupie pacjentów leczonych naltreksonem ( $p < 0,001$ ), jak i w podgrupie leczonej tianeptyną ( $p < 0,01$ ). Natomiast 3-miesięczny okres katamnezy nie przyniósł zmian w stężeniu [MDA+4-HNE] w podgrupie pacjentów leczonych naltreksonem, a w podgrupie pacjentów



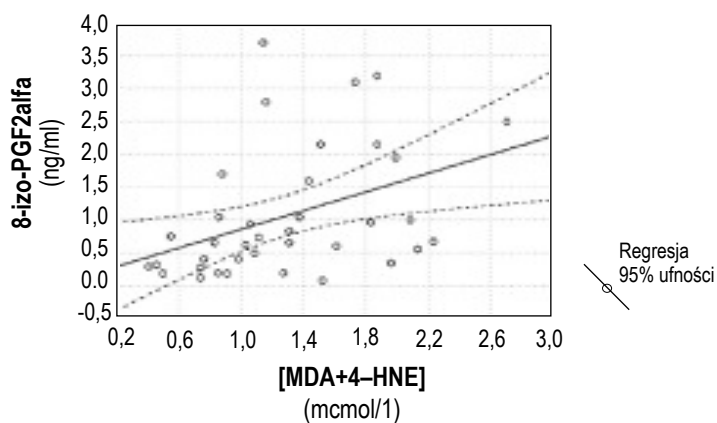
Rys. 2 Stężenie [MDA+4-HNE] przed farmakoterapią, po farmakoterapii oraz po katamne-

otrzymujących tianeptynę stężenie obniżyło się istotnie ( $p < 0,001$ ) (rys. 2).

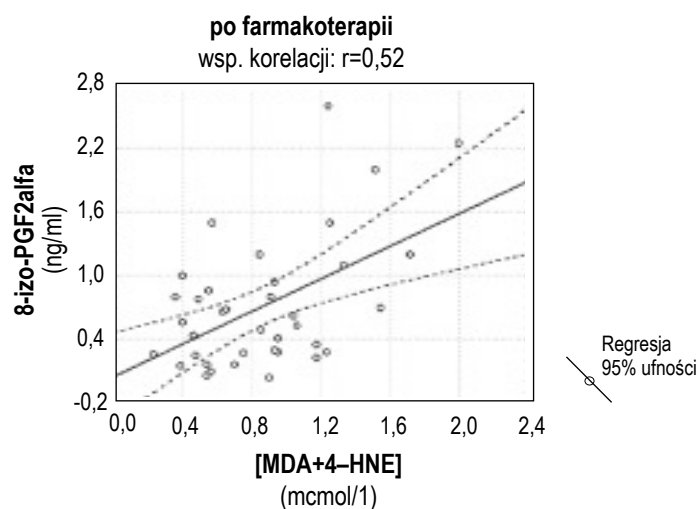
Podjęto także próbę oceny korelacji (rys. 3) badanych wskaźników stresu oksydacyjnego przed farmakoterapią, po jej zakończeniu oraz po katamnezie. Stwierdzono istotną korelację pomiędzy stężeniem 8-izo-PGF<sub>2</sub>α a [MDA+4-HNE] w surowicy krwi badanych pacjentów przed farmakoterapią ( $r = 0,41$ ;  $p < 0,05$ ) i po leczeniu farmakolo-

Rys. 3 Korelacja pomiędzy wynikami parametrów stresu oksydacyjnego przed farmakoterapią

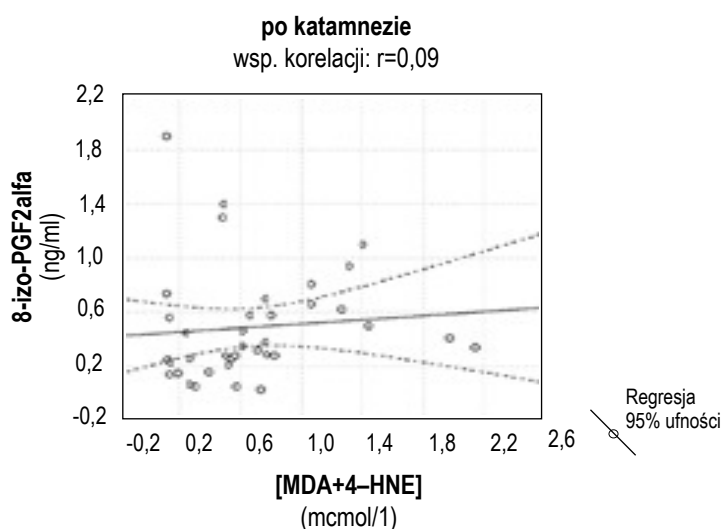
wsp. korelacji:  $r = 0,41$



Rys. 3 a



Rys. 3 b



gicznym ( $r=0,52$ ;  $p<0,05$ ).

### Dyskusja

Produkty peroksydacji lipidów, takie jak: nadtlenki lipidów, niskocząsteczkowe produkty rozkładu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych reagujące z kwasem tio-barbiturowym (TBARS), dialdehyd malonowy (MDA), 4-hydroksynonenal (4-HNE), 8-izo-prostaglandyna  $F_{2\alpha}$  używane są jako wskaźniki stresu oksydacyjnego [9, 10].

W prezentowanej pracy oceny procesu peroksydacji lipidów, jako jednej z możliwych dróg działania wolnych rodników, dokonano poprzez oznaczenie stężenia dialdehydu malonowego w kombinacji z 4-hydroksynonenalem oraz poprzez ozna-

czanie stężenia 8-izo-prostaglandyny  $F_{2\alpha}$ . W prowadzonych przez nas badaniach przed odwykowym leczeniem farmakologicznym zarówno średnie stężenie dialdehydu malonowego i 4-hydroksynonenalu, jak i 8-izo-prostaglandyny  $F_{2\alpha}$  w surowicy krwi osób uzależnionych od alkoholu było podwyższone, a obniżyło się po farmakoterapii oraz po katamnezie.

Nie stwierdzono istotnych różnic w nasileniu peroksydacji lipidów pomiędzy podgrupami osób leczonych naltreksonem (N=30) oraz tianeptyną (N=31) przed farmakoterapią i po leczeniu farmakologicznym, natomiast po katamnezie stężenie [MDA+4-HNE] było istotnie wyższe w podgrupie pacjentów, którym podawano naltrekson ( $p < 0,01$ ).

Nasiloną peroksydację lipidów indukowaną etanolem wykazali także Sergent i wsp. [11], poprzez pomiar stężenia dialdehydu malonowego oraz skoniugowanych dienów, Rodo i wsp. [12] mierząc poziom substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS), Rosnowska i wsp. [13] oznaczając nadtlutki lipidów (LPx). W badaniach tych autorów stwierdzono również, że abstynencja sprzyja normalizacji oznaczanych parametrów.

Ze względu na niezadowalającą czułość i swoistość parametrów laboratoryjnych stosowanych w ocenie nasilenia peroksydacji lipidów zaleca się równoczesne oznaczanie dwóch różnych wskaźników.

W prowadzonych przez nas badaniach, oprócz najbardziej popularnych wskaźników peroksydacji lipidów, jakimi są MDA i 4-HNE, oznaczano stężenie 8-izo-PGF $_{2\alpha}$ . 8-izo-prostaglandyna  $F_{2\alpha}$  stosunkowo niedawno znalazła zastosowanie jako wskaźnik peroksydacji lipidów, a do jej rozpowszechnienia przyczyniło się opracowanie immunochemicznej metody oznaczania tego parametru.

Dane z piśmiennictwa na temat poziomu 8-izo-prostaglandyny  $F_{2\alpha}$  u osób nadużywających etanolu są dość ubogie. Duża część badań została przeprowadzona na zwierzętach i dotyczy całej grupy  $F_2$ -izoprostanów, a nie tylko 8-izo-prostaglandyny  $F_{2\alpha}$ . Ponadto, żaden z autorów nie analizuje przypadków, gdy funkcja wątroby nie jest zaburzona. Różny jest także materiał i stosowanie metody. Jednak w badaniach przeprowadzonych przez Hill i Awad [14], Aleynik i wsp. [15], Nanji i wsp. [16] wykazano, że nadużywanie alkoholu powoduje zwiększenie stężenia 8-izoprostanów oraz że abstynencja sprzyja normalizacji tego parametru. Ponadto zwrócono uwagę na istnienie korelacji pomiędzy stężeniem 8-izoprostanu a nasileniem zmian morfologicznych w wątrobie.

W prezentowanej pracy do grupy badanej zakwalifikowano pacjentów, u których nie stwierdzono klinicznych cech uszkodzenia wątroby i którzy nie wykazywali odchyień od wartości referencyjnych biochemicznych wskaźników funkcji wątroby. Pozwala to przypuszczać, że podwyższone stężenia 8-izo-prostaglandyny  $F_{2\alpha}$  w surowicy krwi osób badanych wynikały głównie z nadużywania alkoholu.

Przydatność oznaczania 8-izo-prostaglandyny  $F_{2\alpha}$  jako nowego wskaźnika peroksydacji lipidów oceniano w prezentowanej pracy poprzez porównanie zmian stężenia tego parametru ze stężeniem dialdehydu malonowego i 4-hydroksynonenalu. Wykazano istotną korelację pomiędzy stężeniem 8-izo-PGF $_{2\alpha}$  a [MDA+4-HNE] w surowicy krwi badanych pacjentów przed farmakoterapią i po leczeniu farmakologicznym. Podobne



Çrâriclê d'raîñû âufêr îolîer ççêlîlicê ôâlêç=lic' d'ldîncârôçê êçd'câîâ ó êóc=çi, çrâcnêçûô ïñ rêçîâîê' d'îñêl ñd,ô êlîñ' ôlâ d'dçêlîlic' îrêñdîñîr ñçrd'îñçîr, î ñrêçl' d'îñêl ñd,ô d'îñêlâôçûçô êlîñ' ôlâ çmîrêlîññç=îñçêçô çññêlâîâricê. Çññêlâîâriiul' êç îôâr=îîî 61 êóc=çîó ñ çêçîç=îñçêçê ççrâîñçîê çrâcnêçîññç ïñ rêçîâîê' (ÇÖÄ-10). Çññêlâîâriiul' d'rdîrêlîñdû îd'dlâlê' êçñû â ñûâîdîñêl' çdîâç 8-ççî-d'dîññrâçîâçî F 2 $\alpha$  (8-ççî-PGF 2 $\alpha$ ) çêçôîñýîççêrîñç=îñçêçê êlîñîâîê (ELISA), î â çîêâçîfîçêçê ñ âçrêüâlâçâr êrêîîr ñ 4-âçdîçêñçâlîlîrêr (MDA+4HNE) çîêîdîêlîñdç=îñçêçê êlîñîâîê.

Ó êçô, çrâcnêçûô ïñ rêçîâîê' d'ldlâ îr=rêîê êl=lic' ôrdêrêçîâç=îñçêçêçê d'ld'rdîrîrêçê ñdîâîêl' çîîôlîñdîrôçêçê 8-ççî-PGF 2 $\alpha$ , î ñrêçl' (MDA+4HNE) d'dlâûrêçê âdîçîçôû d'dlâçrârlêüô d'îççrîñlêlê. Êrêçê d'îñêl' d'dçêlîlic' êlêrdîñâ, ñrêçê ç d'îñêl' ñd,ô êlîñ' ôlâ çrîñrêîlçr. Çññêlâîâriiul' d'rdîrêlîñdû çîr=çñlêüîñ ñîççêçêçñû.

Dîêô=îîîul' dîçôêüñrîñû ôerççûârîñ îr ôâlêç=lic' d'dîôlîñîâ d'ldîçêñçârôçêçê êçd'câîâ ó êçô çêîó-d'îñdîâçê' ïuçô rêçîâîêü, î ñrêçl' îr îñdêrêççêçdôçûlîl' âêç' îçl' râññçîlîçêçê ç êl=lic' îrêñdîñîîê çêçê ñçrîl'dîñçîîê îr ñâîâîâîul' d'râççêrêü îâêlîr êçd'câîâ.

### **Konzentration von 8-Iso-Prostaglandin F<sub>2μ</sub> und 4-Hydroxynonenal und Dialdehydmalonan bei den alkoholabhängigen Personen während der komplexen Abgewöhnungstherapie**

#### **Zusammenfassung**

Das Ziel der Arbeit war die Veränderung der Intensität von der Peroxydation der Lipide bei alkoholabhängigen Männern nach drei Monaten der Anwendung von Naltrexon oder Tianeptin und nach drei weiteren Katamnesemonaten zu beurteilen. An der Forschung nahmen 61 Männer mit der klinischen Diagnose der Alkoholabhängigkeit (ICD 10) teil. Die untersuchten Parameter bezeichnete man im Blutserum, 8-Iso-Prostaglandin F<sub>2μ</sub> (8-Iso-PGF<sub>2μ</sub>) mit Hilfe der immuno-ensymatischen Methode (ELISA), und Dialdehydmalonan in Verbindung mit 4-Hydroxynonenal (MDA+4-HNE) mit Hilfe der kolorimetrischen Methode.

Bei den alkoholabhängigen Personen überschritt vor dem Beginn der pharmakologischen Behandlung die durchschnittliche Konzentration von 8-Iso-PGF<sub>2μ</sub>, und auch (MDA+4-HNE) die Referenzwerte. Sowohl nach drei Monaten der Anwendung von Medikamenten als auch nach drei Monaten der Katamnese ist die Konzentration der untersuchten Parameter sehr gesunken. Die obigen Ergebnisse zeigen auf die Intensität der Prozesse der Lipidenperoxydation bei den Personen, die Alkohol missbrauchen, und auch sie zeigen auf einen normalisierenden Einfluss von Abstinenz und der Behandlung von Naltrexon oder Tianeptin auf die Lipidentransformation.

### **La concentration de 8-iso-prostaglandine F<sub>2α</sub>, de 4-hydroxynonenal et de malondialdehyde des alcooliques suivant la thérapie combinée**

#### **Résumé**

Ce travail vise à estimer le changement d'intensité de la préoxydation des lipides des hommes alcooliques après 3 mois de la thérapie de naltrexone ou de tianeptine et ensuite encore après trois mois. On examine les cas de 61 hommes alcooliques diagnostiqués selon ICD-10. Les paramètres examinés ont été déterminés dans le sérum, 8-iso-prostaglandine F<sub>2α</sub> en utilisant la méthode immunoenzymatique (ELISA) et le malondialdehyde combiné avec 4-hydroxynonenal en utilisant la méthode de colorimétrie. Chez les hommes dépendant de l'alcool avant la thérapie la concentration de 8-iso-prostaglandine F<sub>2α</sub> et de MDA+4HNE dépasse les valeurs de référence. Après la thérapie de 3 mois et encore trois mois cette concentration abaisse considérablement. Ces résultats démontrent l'augmentation des processus de la préoxydation des lipides des alcooliques et l'influence favorable de l'abstinence et de la thérapie de naltrexone ou de tianeptine sur les changements des radicaux libres des lipides.

### Piśmiennictwo

1. Higuchi H, Kurose I, Kato S, Miura S, Ishii H. *Ethanol-induced apoptosis and oxidative stress in hepatocytes*. Alcohol. Clin. Exp. Res. 1996; 29: 340–346.
2. Kurose I, Higuchi H, Kato S, Miura S, Ishii H. *Ethanol induced oxidative stress in the liver*. Alcohol. Clin. Exp. Res. 1996; 20: 77–85.
3. Lieber CS. *Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism*. Clin. Chim. Acta 1997; 257: 59–84.
4. Moller P, Wallin H, Knudsen LE. *Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors*. Chem. Biol. Interact. 1996; 102: 17–36.
5. Shaw S, Jayatilleke E, Lieber CS. *Lipid peroxidation as a mechanism of alcoholic liver injury: role of iron mobilization and microsomal induction*. Alcohol. 1988; 5: 135–140.
6. Szczepańska-Szewczyk M, Szukalski B. *Biochemiczne aspekty alkoholizmu. IV. Alkoholowa choroba wątroby*. Post. Hig. Med. Dośw. 1989; 43: 541–573.
7. Morrow JD, Roberts LJ. *The isoprostanes: Unique bioactive products of lipid peroxidation*. Prog. Lipid Res. 1997; 36: 1–21.
8. *Klasyfikacja zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania w ICD-10. Badawcze kryteria diagnostyczne*. Kraków–Warszawa: Uniwersyteckie Wydawnictwo Medyczne „Vesalius”. Instytut Psychiatrii i Neurologii; 1998, s. 55–68.
9. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. *Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors*. Clin. Chem. 1997; 43: 1209–1214.
10. Punchard NA, Senturk H, Teare JP, Thompson RP. *Resistance of erythrocytes to lipid peroxidation in alcoholic patients*. Gut 1994; 35: 1753–1756.
11. Sergent O, Morel I, Chevanne M, Cillard P, Cillard J. *Oxidative stress induced by ethanol in rat hepatocyte cultures*. Biochem. Mol. Biol. Int. 1995; 35: 575–583.
12. Rodo M, Bednarska-Makaruk M, Stajniak A, Wehr H. *Produkty peroksydacji lipidów i witamina E u uzależnionych od alkoholu*. Alkohol. Narkom. 1995; 18: 27–32.
13. Rosnowska M, Langer D, Cedrowski W. *Nadtilenki lipidów w surowicy osób uzależnionych od alkoholu*. Psychiatr. Pol. 1995; 29: 539–546.
14. Hill DB, Awad JA. *Increased urinary F<sub>2</sub>-isoprostane excretion in alcoholic liver disease*. Free Radic. Biol. Med. 1999; 26: 656–660.
15. Aleynik SI, Leo MA, Aleynik MK, Lieber CS. *Increased circulating products of lipid peroxidation in patients with alcoholic liver disease*. Alcohol. Clin. Exp. Res. 1998; 22: 192–196.
16. Nanji AA, Khwaja S, Tahan SR, Sadrzadeh SMH. *Plasma levels of a novel noncyclooxygenase-derived prostanoid (8-isoprostane) correlate with severity of liver injury in experimental alcoholic liver disease*. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1994; 269: 1280–1285.
17. Nanji AA, Khwaja S, Sadrzadeh SMH. *Eicosanoid production in experimental alcoholic liver disease is related to vitamin E levels and lipid peroxidation*. Mol. Cell. Biochem. 1994; 140: 85–89.
18. Pratico D, Iuliano L, Basili S, Ferro D, Camastra C, Cordova C, FitzGerald GA, Violi F. *Enhanced lipid peroxidation in hepatic cirrhosis*. J. Investigative Med. 1998; 46: 51–57.
19. Paradis V, Kollinger M, Fabre M, Holstege A, Poynard T, Bedossa P. *In situ detection of lipid peroxidation by-products in chronic liver diseases*. Hepatology 1997; 26: 135–142.

Otrzymano: 5.03.2001

Zrecenzowano: 9.10.2001

Przyjęto do druku: 14.11.2001

Adres: Katedra i Zakład Patobiochemii i Chemii Klinicznej  
Akademia Medyczna w Bydgoszczy  
85-094 Bydgoszcz, ul. M. Skłodowskiej-Curie 9