

## ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ АЛКОГОЛЬНОМ АБСТИНЕНТНОМ СИНДРОМЕ

Ефременко Е.С.<sup>1</sup>, Титов Д.С.<sup>2</sup>, Никонов Д.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> - федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

<sup>2</sup> - БУЗОО «Наркологический диспансер»

### Автор, ответственный за переписку:

Ефременко Евгений Сергеевич, доцент, к.м.н., заведующий кафедрой биохимии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, 644050, Россия, г. Омск, пр. Мира, 9, 8-95-33-97-2462, 8-913-609-46-76.

### Резюме

Активация перекисного окисления липидов, сопровождающаяся накоплением в тканях продуктов липопероксидации, является универсальным механизмом развития многих заболеваний. Одной из наиболее значимых в медико-социальном плане нозологических форм, сопряженных с изменением оксидативного статуса клеток, считается алкоголизм. Ключевое событие при алкоголизме – становление алкогольного абстинентного синдрома.

С целью выяснения динамики изменений процессов липопероксидации при алкогольной абстиненции нами было проведено определение показателей перекисного окисления в плазме крови больных алкоголизмом. В образцах крови определены основные параметры перекисного окисления липидов (содержание первичных, вторичных и конечных молекулярных продуктов в гептан-изопропанольных экстрактах). В число обследуемых вошли пациенты с диагнозом «Психические и поведенческие расстройства в результате употребления алкоголя, средняя стадия. Синдром активной зависимости. Состояние отмены, неосложненное, средней степени тяжести». Содержание продуктов перекисного окисления липидов оценивали спектрофотометрически и выражали в единицах индекса окисления. Определение интенсивности аскорбат-индуцированного перекисного окисления липидов выражали в процентах от исходного (базального) уровня перекисного окисления липидов. В качестве основных характеристик описательной статистики применяли медиану, нижний 25-й (L) и верхний 75-

й (Н) квантили. Оценку статистической значимости различий проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни (U) для двух независимых выборок.

Выявлено снижение уровня гептан-растворимых диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов, увеличение содержания изопропанол-растворимых кетодиенов и сопряженных триенов, уменьшение количества изопропанол-растворимых оснований Шиффа в плазме крови в различные сроки исследования. В результате проведенных исследований отмечается статистически значимое уменьшение содержания вторичных продуктов перекисного окисления липидов в крови при индукции смесью железо/аскорбат на пятые и седьмые сутки развития алкогольного абстинентного синдрома. Полученные данные свидетельствуют, о том, что манифестация усиления перекисного окисления липидов и снижения емкости липофильных компонентов антиоксидантной защиты регистрируется только на пятые сутки развития алкогольного абстинентного синдрома, а также отмечается ограничение свободнорадикальной «атаки» на ненасыщенные кислотные остатки неполярных липидов при формировании алкогольной абстиненции. Проанализированы возможные причины данных изменений.

**Ключевые слова:** перекисное окисление липидов, свободные радикалы, алкоголь, алкоголизм, алкогольный абстинентный синдром.

## **Введение**

Активация свободнорадикальных процессов окисления различных веществ, перекисного окисления липидов, сопровождающаяся накоплением в тканях продуктов липопероксидации, является универсальным механизмом развития многих заболеваний [3, 10, 18]. Одной из наиболее значимых в медико-социальном плане нозологических форм, сопряженных с изменением оксидативного статуса клеток, считается алкоголизм [4, 37]. Ключевое событие при алкоголизме – становление алкогольного абстинентного синдрома, имеющего совершенно определенную стадийность изменения клинических симптомов [2] и биохимических показателей [5, 16, 29].

В условиях формирования абстиненции прекращение действия причинного фактора развития заболевания, многочисленные метаболические нарушения оказывают существенное влияние на процессы липопероксидации. Данные различных авторов об изменениях процесса перекисного окисления липидов существенно разнятся. Во многом это связано с тем, что исследования показателей проводятся только в один, конкретный срок формирования алкогольной абстиненции. В связи с этим видится необходимость оценки показателей перекисного окисления липидов в динамике развития алкогольного абстинентного синдрома.

С целью выяснения динамики изменений процессов липопероксидации при алкогольной абстиненции нами было проведено определение показателей перекисного окисления в плазме крови больных алкоголизмом.

## **Материал и методы**

В число обследуемых вошли пациенты наркологического диспансера с диагнозом «Психические и поведенческие расстройства в результате употребления алкоголя, средняя стадия. Синдром активной зависимости. Состояние отмены, неосложненное, средней степени тяже-

сти» (F.10.242, F.10.302) выборка которых была сформирована в соответствии с критериями включения и исключения.

### **Критерии включения:**

- возраст 35- 50 лет;
- состояние алкогольной абстиненции при поступлении в стационар;
- информированное согласие пациента (или его родственников) на проведение исследования.

### **Критерии исключения:**

- наличие аллергических, эндокринных или других заболеваний, способных оказать влияние на течение основного заболевания и результат исследования;
- прием других наркотических и психотропных средств;
- отказ от участия в исследовании (по результатам беседы с пациентом или его родственниками).

С использованием этих критериев были сформированы группы больных, у которых взяты пробы крови для исследования проводилось в 1 (группа ААС1, n=9), 3 (группа ААС3, n=14), 5 (группа ААС5, n=14), 7 (группа ААС7, n=12) и 10 (группа ААС10, n=9) сутки после поступления в стационар (n-количество обследованных больных). Группу контроля (группа К) составили 10 условно здоровых лиц аналогичной возрастной категории. Материалом для определения показателей перекисного окисления липидов служила плазма крови. Купирование абстинентных расстройств проводилось обычными медикаментозными средствами (дезинтоксикация, седативная терапия, витаминотерапия).

Содержание продуктов перекисного окисления липидов оценивали спектрофотометрически [1] и выражали в единицах индекса окисления (е.и.о.). Определение интенсивности аскорбат-индуцированного перекисного окисления липидов производили с использованием рекомендаций Львовской Е.И. с соавт. [6] и

выражали в процентах от исходного (базального) уровня перекисного окисления липидов.

В качестве основных характеристик описательной статистики применяли медиану, нижний 25-й (L) и верхний 75-й (H) квантили. Оценку статистической значимости различий проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни (U) для двух независимых выборок [8].

### Результаты исследования

Полученные данные свидетельствуют о снижении содержания гептан-растворимых диеновых конъюгатов в крови на 7

сутки развития (группа ААС7) алкогольной абстиненции по сравнению с контрольной группой ( $pU=0,009$ ). В другие сроки исследования статистически значимых изменений в содержании гептан-растворимых диеновых конъюгатов в крови не наблюдалось.

Модификация уровня в крови кетодиенов и сопряженных триенов в нашем исследовании проявляется статистически значимым снижением гептан-растворимых вторичных продуктов ПОЛ на 7 (группа ААС7,  $pU=0,019$ ) и 10 (группа ААС10,  $pU=0,003$ ) сутки пребывания больных в стационаре (табл. 1).

Таблица 1 Содержание гептан-растворимых продуктов перекисного окисления липидов в крови больных алкоголизмом

Показатели	Статистические параметры	Группы					
		К (n=10)	ААС 1 (n=9)	ААС 3 (n=14)	ААС 5 (n=14)	ААС 7 (n=12)	ААС 10 (n=9)
Диеновые конъюгаты (гептановая фаза), е.и.о.	Me	0,889	0,870	0,886	0,876	0,855	0,852
	L	0,872	0,861	0,868	0,861	0,852	0,835
	H	0,967	0,901	0,945	0,890	0,876	0,892
	pU		0,270	0,950	0,176	0,009	0,068
Кетодиены и сопряженные триены (гептановая фаза), е.и.о.	Me	0,209	0,205	0,206	0,206	0,198	0,200
	L	0,208	0,202	0,199	0,202	0,197	0,200
	H	0,230	0,225	0,225	0,209	0,211	0,205
	pU		0,251	0,284	0,059	0,019	0,003
Шиффовы основания (гептановая фаза), е.и.о.	Me	0,010	0,010	0,011	0,011	0,010	0,010
	L	0,009	0,009	0,010	0,008	0,008	0,009
	H	0,013	0,011	0,015	0,013	0,013	0,013
	pU		0,453	0,313	0,900	0,522	0,900

При исследовании содержания продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе выявлено статистически значимое повышение количества кетодиенов и сопряженных триенов на 3 (группа ААС3,  $pU=0,012$ ) и 5 сутки (группа ААС5,  $pU=0,038$ ) алкогольного абстинентного

синдрома. Уровень конечных продуктов перекисного окисления липидов значимо снижен в крови пациентов в первые (группа ААС1,  $pU=0,003$ ), пятые (группа ААС5,  $pU=0,048$ ) и десятые сутки (группа ААС10,  $pU=0,005$ ) пребывания в стационаре.

В результате проведенных исследований отмечается статистически значимое уменьшение содержания вторичных продуктов перекисного окисления липидов в крови при индукции смесью железо/аскорбат на 11% ( $pU=0,010$ ) в группе ААС 5 и 12,4% ( $pU=0,030$ ) в группе ААС7 по сравнению с данными группы контроля.

### Обсуждение результатов

Известно, что при хронической алкогольной интоксикации происходит увеличение содержания диеновых конъюгатов в тканях [12, 15, 33, 35]. Структурные повреждения, функциональные изменения в данных условиях отмечаются со стороны различных органов и тканей. Так, при оценке влияния этанола на уровень диеновых конъюгатов в биопсийном материале печени больных алкоголизмом было выявлено увеличение первичных продуктов перекисного окисления липидов [34]. Определено повышенное содержание диеновых конъюгатов в ткани левого желудочка сердца после шестинедельной алкоголизации крыс. Повышение сопряжено со сниженным уровнем восстановленного глутатиона. Введение антиоксидантов: витамина Е или цианидонола-3 вызывало снижение диеновых конъюгатов в ткани сердца [15]. Параметры перекисного окисления липидов увеличены в тканях почек [24], эритроцитах при исследовании эффектов этанола у животных [22]. Наблюдаемые морфологические изменения в тканях репродуктивной системы связывали с активизацией липопероксидации при моделировании алкогольной интоксикации [36].

Прекращение употребления этанола с развитием состояния физической зависимости существенно меняет окислительно-восстановительный статус в клетках организма. Выявляемые исследователями изменения интенсивности перекисного окисления липидов разнонаправлены. Имеются сведения о снижении содержания первичных продуктов перекисного окисления липидов в крови

при алкогольном абстинентном синдроме [7]. Другие авторы указывают на противоположную направленность изменений параметров липопероксидации в эритроцитах у пациентов с зависимостью от алкоголя [9]. Оцененная по уровню малонового диальдегида в сыворотке крови, интенсивность перекисного окисления липидов в период алкогольной абстиненции была увеличена в течение первой недели после последнего приема алкоголя. Нормализация уровня малонового диальдегида произошла на второй неделе пребывания пациентов стационаре и коррелировала с тяжестью клинических симптомов [19, 20, 40] и длительностью абстиненции [31]. Имеются данные о возможной обусловленности данных явлений, связанных с образованием аддуктов глутатиона при отмене этанола [13, 25] и снижением содержания данного трипептида в печени [38]. Данные обстоятельства позволяют предположить возможность определённой динамики интенсивности перекисного окисления липидов при алкогольной абстиненции. Сохранение значений показателей растворимых в гептане диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов в течение недели пребывания в стационаре могут указывать на достаточное количество субстратов для переокисления – полиненасыщенных жирных кислот, которые в данном случае экстрагируются из неполярных липидов: триацилглицеролов, эфиров холестерина. Отсутствие изменений данных показателей в крови, можно связать с определенным вкладом различных антиоксидантных систем клеток. Выявленные изменения показателей гептан-растворимой фракции, которые можно рассматривать в плоскости отдаленных последствий отмены алкоголя, вероятно, связаны с изменением количества субстратов, необходимых для процесса липопероксидации. Результаты могут быть объяснены низким уровнем основных субстратов для перекисного окисления липидов - длинноцепочечных полиеновых (эссенциальных) жирных



кислот - в крови при алкогольном абстинентном синдроме, отмеченным в исследовании Pawlosky R. et al. [30]. В качестве первичных причин этого можно предполагать алиментарный недостаток полиеновых жирных кислот. Кроме того, снижение содержания первичных продуктов перекисного окисления липидов, возможно, связано с нарушением всасывания высших жирных кислот в кишечнике, что подтверждено экспериментальными данными, отражающими нарушение абсорбции липидов при алкогольной интоксикации и обусловленными перестройкой липидного компонента мембран энтероцитов [27]. В-третьих, имеется информация о том, что алкоголь-индуцированная свободнорадикальная «атака» не затрагивает липидные компоненты при формировании алкогольной абстиненции, а направлена преимущественно на белковые компоненты [7]. В-четвертых, субстрат-обусловленный характер изменений объяснен исследованиями, в которых показано, что введение в рацион питания и предварительная обработка гепатоцитов эйкозапентаеновой кислотой – субстратом для перекисного окисления липидов – вызывает более значительные модификации показателей, характеризующих этанол-индуцированный окислительный стресс, чем введение только этанола лабораторным животным [11, 28].

Длительная алкоголизация существенно влияет на обмен высших жирных кислот и приводит к структурным изменениям и изменениям физико-химических свойств мембран. Однотипные изменения при моделировании хронической алкогольной интоксикации отмечены в митохондриальных [14], микросомальных [39], цитоплазматических [26] мембранных образованиях, заключающиеся в: а) снижении жидкостности (скрытии эффекта текучести); б) увеличении доли насыщенных и моноеновых жирных кислот; в) снижении содержания полиненасыщенных жирных кислот в мембранных липидах.

Общность трансформаций состава различных мембран, можно полагать, указывает на общие механизмы их развития. Учитывая однотипность изменений, вполне вероятно, что свободнорадикальному окислению могут быть подвержены иные липидные компоненты мембран или других липидсодержащих соединений в крови, экстрагируемые в изопропанольной фазе, к которым относятся фосфолипиды. Свободнорадикальная окислительная модификация входящих в их состав веществ обуславливает изменения показателей перекисного окисления липидов – повышение количества вторичных продуктов липопероксидации, экстрагируемых изопропанолом, на 3 (группа ААС3) и 5 (группа ААС 5) сутки алкогольного абстинентного синдрома, что свидетельствует об активной вовлеченности в процесс ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав фосфолипидов. Данные изменения отражают активацию перекисного окисления липидов в крови при алкогольной абстиненции и отчасти соотносятся по времени возникновения (группа ААС 5) с выявленным дефицитом антиоксидантного ответа, опосредованного липидными составляющими антиокислительной системы. Увеличение уровня вторичных изопропанол-растворимых продуктов липопероксидации на 3 сутки пребывания пациентов в стационаре может быть объяснено недостаточной активностью других антиоксидантных систем. В частности, ранее нами выявлено снижение уровня церулоплазмينا на 30% в сыворотке крови больных алкоголизмом на 3 сутки развития алкогольной абстиненции по сравнению с группой условно здоровых лиц.

Известно, что вторичные продукты перекисного окисления липидов могут взаимодействовать с аминокислотными компонентами с образованием шиффовых оснований, являющихся конечными продуктами липопероксидации [21]. Значимо сниженный уровень изопропанол-растворимых конечных продуктов пере-

кислого окисления липидов в крови пациентов в первые (группа ААС1), пятые (группа ААС5) и десятые сутки (группа ААС10) пребывания в стационаре предположительно связан с тем, что экстрагированные изопропанолом, кетодиены и сопряженные триены могут взаимодействовать с аминогруппами фосфатидилэтаноламинов. Взаимодействие может быть нарушено вследствие того, что показана способность этанола стимулировать гидролиз фосфатидилэтаноламина фосфолипазой D. Эта способность у спиртов повышается при увеличении длины углеводородной цепи [23]. При моделировании хронической алкогольной интоксикации увеличивается активность фосфатидилэтанол-*N*-метилтрансферазы, что также может обуславливать нарушение взаимодействия вторичных изопропанол-растворимых продуктов липопероксидации с аминогруппами фосфатидилэтанол-*N*-метилтрансферазы [17]. Кроме того, имеются сведения об увеличенном уровне фосфатидилэтанол-*N*-метилтрансферазы в плазме крови больных алкоголизмом только после окончания проведения дезинтоксикационной терапии [32].

Уровень Fe<sup>2+</sup>/аскорбат-индуцированного перекисного окисления липидов отражает способность липидов к окислению. Данная способность зависит от содержания непредельных кислот, являющихся основным субстратом для перекисного окисления. Это обстоятельство, в целом, отражает уровень антиоксидантной защиты клеток. Поэтому отмеченное снижение продуктов перекисного окисления липидов при индукции свидетельствует о неэффективности действия липофильных (гидрофобных) антиоксидантов. Сделанный вывод согласуется с результатами исследования базального уровня перекисного окисления липидов.

Таким образом, можно сделать заключение о том, что манифестация усиления перекисного окисления липидов и снижения емкости липофильных компонентов антиоксидантной защиты регистрируется только на пятые сутки развития алкогольного абстинентного синдрома, а также отмечается ограничение свободно-радикальной «атаки» на ненасыщенные кислотные остатки неполярных липидов при формировании алкогольной абстиненции.

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови. Вопросы медицинской химии 1989; 35(1): 127-131.
2. Гофман А.Г. Клиника алкогольного абстинентного синдрома. Вопросы наркологии 2012; 6: 82-90.
3. Иродова Н.Л., Ланкин В.З., Коновалова Г.К., Кочетов А.Г., Чазова И.Е. Окислительный стресс у пациентов с первичной легочной гипертензией. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2002; 133(6): 580-582. doi:10.1023/A:1020238026534.
4. Кошкина Е.А., Павловская Н.И., Ягудина Р.И., Куликов А.Ю., Усенко К.Ю., Земскова Н.А. Медико-социальные и экономические последствия злоупотребления алкоголем в России. Наркология 2010; 8(11): 24-31.
5. Лелевич С.В., Барковский Е.В. Состояние нейромедиаторных систем головного мозга и метаболизма глюкозы в печени и скелетной мускулатуре крыс при алкогольной абстиненции. Вопросы наркологии 2013; 4: 19-28.
6. Львовская Е.И., Волчегорский И.А., Шемяков С.Е., Лифшиц Р.И. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов. Вопросы медицинской химии 1991; 37(4): 92-93.
7. Паначев И.В., Виноградов Д.Б., Бабин К.А., Синицкий А.И. Особенности свободнорадикального окисления в эритроцитах и плазме крови при алкогольном делирии с преобладанием психотического компонента. Фундаментальные исследования 2012; 4-2: 352-355.
8. Платонов А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы. М.: Издательство РАМН; 2008.
9. Сибирева О.Ф., Хитринская Е.Ю., Калюжина Е.В., Зибницкая Л.И., Ткалич Л.М., Бухарова Е.О., Калюжин В.В. Состояние антиоксидантного потенциала крови и свободнорадикальное окисление липидов у больных алкоголизмом,

ассоциированным с поражением почек. *Нефрология* 2009; 13(1): 78-81.

10. Федоров В.Н., Кочетов А.Г., Лянг О.В., Скворцова В.И. Клинико-лабораторная оценка показателей оксидантного статуса в цереброспинальной жидкости у больных ишемическим инсультом. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова* 2011; 111(8-2): 31-34.

11. Aliche-Djoudi F., Podechard N., Collin A., Chevanne M., Provost E., Poul M., Le Hegarat L., Catheline D., Legrand P., Dimanche-Boitrel M., Lagadic-Gossmann D., Sergent O. A role for lipid rafts in the protection afforded by docosahexaenoic acid against ethanol toxicity in primary rat hepatocytes. *Food Chem. Toxicol* 2013; 60: 286-296. doi: 10.1016/j.fct.2013.07.061.

12. Artun Z., Küskü-Kiraz M., Gulluoglu N., Koçak-Toker M. The effect of carnosine pretreatment on oxidative stress and hepatotoxicity in binge ethanol administered rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 2010; 29(8): 659-665. doi: 10.1177/0960327109359460.

13. Blair I. Endogenous glutathione adducts. *Curr. Drug Metab.* 2006; 7(8): 853-72. doi: 10.2174/138920006779010601.

14. Castro J., Cortes J., Guzman M. Properties of the mitochondrial membrane and carnitine palmitoyltransferase in the periportal and the perivenous zone of the liver. Effects of chronic ethanol feeding. *Biochem. Pharmacol.* 1991; 41(12): 1987-1995. doi: 10.1016/0006-2952(91)90140-Z.

15. Edes I., Toszegi A., Csanady M., Bozoky B. Myocardial lipid peroxidation in rats after chronic alcohol ingestion and the effects of different antioxidants. *Cardiovasc. Res.* 1986; 20(7): 542-542. doi: 10.1093/cvr/20.7.542.

16. Esel E., Sofuoglu S., Aslan S., Kula M., Yabanoglu I., Turan M. Plasma levels of beta-endorphin, adrenocorticotrophic hormone and cortisol during early and late alcohol withdrawal. *Alcohol and Alcoholism* 2001; 36(6): 572-576. doi: 10.1093/alcalc/36.6.572.

17. Furtado V., Takiya C., Braulio V. Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase activity is increased in rat intestinal brush-border membrane by chronic ethanol ingestion. *Alcohol Alcohol.* 2002; 37(6): 561-565. doi:10.1093/alcalc/37.6.561.

18. Halliwell B., Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am. J. Clin. Nutr.* 1993; 57(5 Suppl): 715S-724S.

19. Huang M., Chen C., Peng F., Tang S., Chen C. Alterations in oxidative stress status during early alcohol withdrawal in alcoholic patients. *J. Formos. Med. Assoc.* 2009; 108(7): 560-569. doi: 10.1016/S0929-6646(09)60374-0.

20. Huang M., Chen C., Peng F., Tang S., Chen C. The correlation between early alcohol withdrawal severity and oxidative stress in patients with alcohol dependence. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2009; 33(1): 66-69. doi: 10.1016/j.pnpbp.2008.10.009.

21. Kagan V., Tiurin V., Kitanova S., Serbinova E., Quinn P. The action of a homologous series of ubiquinol on lipid peroxidation in brain mitochondrial and synaptosomal membranes. *Biull. Eksp. Biol. Med.* 1989; 107(4): 420-422. doi: 10.1007/bf00842378.

22. Kalra A., Gupta S., Turan A., Mahmood S., Mahmood A. Ethanol-induced changes in lipid peroxidation of enterocytes across the crypt-villus axis in rats. *Indian J. Gastroenterol.* 2010; 29(1): 17-21. doi: 10.1007/s12664-010-0003-6.

23. Kiss Z., Anderson W. Alcohols selectively stimulate phospholipase D-mediated hydrolysis of phosphatidylethanolamine in NIH 3T3 cells. *FEBS Lett.* 1989; 257(1): 45-48. doi: 10.1016/0014-5793(89)81782-x.

24. Latchoumycandane C., Nagy L., McIntyre T. Chronic ethanol ingestion induces oxidative kidney injury through taurine-inhibitable inflammation. *Free Radic. Biol. Med.* 2014; 69: 403-416. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.01.00.

25. Long E., Rosenberger T., Picklo M. Ethanol withdrawal increases glutathione adducts of 4-hydroxy-2-hexenal but not 4-hydroxyl-2-nonenal in the rat cerebral cortex. *Free Radic. Biol. Med.* 2010; 48(3): 384-90. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.10.048.

26. Lyon R., Goldstein D. Changes in synaptic membrane order associated with chronic ethanol treatment in mice. *Mol. Pharmacol.* 1983; 23(1): 86-91.

27. Mansbach C. Effect of ethanol on intestinal lipid absorption in the rat. *The Journal of Lipid Research* 1983; 24: 1310-1320.

28. Milne G., Morrow J., Picklo M. Elevated oxidation of docosahexaenoic acid, 22:6 (n-3), in brain regions of rats undergoing ethanol withdrawal. *Neurosci. Lett.* 2006; 405(3): 172-174. doi: 10.1016/j.neulet.2006.06.058.

29. Patkar A., Gopalakrishnan R., Naik P., Murray H., Jergare M., Marsden C. Changes in plasma noradrenaline and serotonin levels and craving during alcohol withdrawal. *Alcohol and Alcoholism* 2003; 38(3): 224-231. doi: 10.1093/alcalc/agg055.

30. Pawlosky R., Hibbeln J., Herion D., Kleiner D., Salem N. Jr. Compartmental analysis of plasma and liver n-3 essential fatty acids in alcohol-dependent men during withdrawal. *The Journal of Lipid Research* 2009; 50: 154-161. doi: 10.1194/jlr.M800322-JLR200.

31. Peng F., Tang S., Huang M., Chen C., Kuo T., Yin S. Oxidative status in patients with alcohol dependence: a clinical study in Taiwan. *J. Toxicol. Environ. Health.* 2005; 68(17-18): 1497-1509. doi:10.1080/15287390590967432.

32. Reichel M., Honig S., Liebisch G., Luth A., Kleuser B., Gulbins E., Schmitz G., Kornhuber J. Alterations of plasma glycerophospholipid and sphingolipid species in male alcohol-dependent patients. *Biochim. Biophys. Acta* 2015; 1851(11): 1501-10. doi: 10.1016/j.bbali.2015.08.005.



33. Rosenblum E., Gavalier J., Van Thiel D. Lipid peroxidation: a mechanism for ethanol-associated testicular injury in rats *Endocrinology* 1985; 116:3 11-318. <http://dx.doi.org/10.1210/endo-116-1-311>.
34. Siervo G., Vieira H., Ogo F., Fernandez C., Gonçalves G., Mesquita S., Anselmo-Franci J., Cecchini R., Guarnier F., Fernandes G. Spermatic and testicular damages in rats exposed to ethanol: influence of lipid peroxidation but not testosterone. *Toxicology* 2015; 330: 1-8. doi: 10.1016/j.tox.2015.01.016.
35. Singh M., Gupta S., Singhal U., Pandey R., Aggarwal S. Evaluation of the oxidative stress in chronic alcoholics. *J. Clin. Diagn. Res.* 2013; 7(8): 1568-1571. doi: 10.7860/JCDR/2013/5596.3210.
36. Shaw S., Rubin K., Lieber C. Depressed hepatic glutathione and increased diene conjugates in alcoholic liver disease. Evidence of lipid peroxidation. *Dig Dis Sci.* 1983; 28(7): 585-589. doi 10.1007/BF01299917.
37. Shaw S., Jayatileke E., Ross W., Gordon E., Lieber C. Ethanol-induced lipid peroxidation: potentiation by long-term alcohol feeding and attenuation by methionine. *J. Lab. Clin. Med.* 1981; 98(3): 417-424.
38. Speisky H., Bunout D., Orrego H., Giles H., Gunasekara A., Israel Y. Lack of changes in diene conjugate levels following ethanol induced glutathione depletion or hepatic necrosis. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 1985; 48(1): 77-90.
39. Taraschi T., Ellingson J., Janes N., Rubin E. The role of anionic phospholipids in membrane adaptation to ethanol. *Alcohol. Alcohol. Suppl.* 1991; 1: 241-245.
40. Yuksel N., Uzbay I., Karakiliç H., Aki O., Etik C., Erbaş D. Increased serum nitrite/nitrate (NOx) and malondialdehyde (MDA) levels during alcohol withdrawal in alcoholic patients. *Pharmacopsychiatry* 2005; 38(2): 95-96. doi: 10.1055/s-2005-837809.