

Uniwersytet Medyczny  
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu  
Wydział Farmaceutyczny

mgr analityki medycznej Karina Sommerfeld

**Udział stresu oksydacyjnego w ostrym zatruciu glikolem  
etylenowym**

ROZPRAWA DOKTORSKA

Pracę wykonano  
w Katedrze i Zakładzie Toksykologii  
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego  
w Poznaniu

Promotor: prof. dr hab. Barbara Zielińska-Psuja

Poznań 2014

Słowa kluczowe: glikol etylenowy, ostre zatrucie, stres oksydacyjny, markery.

Składam serdeczne podziękowania  
Pani Promotor prof. dr hab. Barbarze Zielińskiej-Psuj  
za  
życzliwą pomoc i opiekę naukową  
oraz cenne wskazówki merytoryczne  
przy wykonywaniu pracy.

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

Dziękuję  
Pani dr Magdalenie Łukasik-Głębockiej  
za współpracę i pomoc w zakresie toksykologii klinicznej.

Dziękuję  
Pani mgr Alicji Szymkowiak  
za nieocenione porady i pomoc w zakresie diagnostyki  
laboratoryjnej.

Serdecznie dziękuję  
Koleżankom i Kolegom z Katedry i Zakładu Toksykologii  
za życzliwą atmosferę jaka towarzyszyła  
w czasie wykonywania pracy.

Serdecznie dziękuję  
Pracownikom Zakładu Diagnostyki Medycznej  
w Szpitalu im. F. Raszei w Poznaniu  
za pomoc i wsparcie.

Serdecznie dziękuję  
Pracownikom Oddziału Toksykologii  
w Szpitalu im. F. Raszei w Poznaniu  
za udzielone wsparcie  
w czasie wykonywania pracy.

Pracę dedykuję Mamie oraz  
Mojemu Jakubowi

Dla Taty

## Spis zastosowanych skrótów:

<b>4MP</b>	4- metylopirazol
<b>8-OH-G</b>	8-hydroksyguanina
<b>-SH</b>	grupa tiolowa
<b>AAPCC</b>	amerykańskie ośrodki ostrych zatruc (ang. <i>American Association of Poison Control Centers</i> )
<b>ABC</b>	transportery błonowe (ang. <i>ATP-Binding Cassette Transporters</i> )
<b>ABGs</b>	gazometria (ang. <i>arteria blood gases</i> )
<b>ABTS</b>	2,2'-azobis-3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian
<b>ADH</b>	dehydrogenaza alkoholowa
<b>ADHD</b>	nadpobudliwość ruchowa (ang. <i>Attention Deficit Hyperactivity Disorder</i> )
<b>AGEs</b>	produkty glikacji (ang. <i>advanced glycation end products</i> )
<b>ALDH</b>	dehydrogenaza aldehydowa
<b>ALP</b>	fosfataza alkaliczna
<b>ALT</b>	aminotransferaza alaninowa
<b>ARDS</b>	zespół ostrej niewydolności oddechowej (ang. <i>acute respiratory distress syndrome</i> )
<b>AST</b>	aminotransferaza asparaginianowa
<b>BE</b>	nadmiar lub niedobór zasad
<b>BSA</b>	albumina izolowana z surowicy bydłej (ang. <i>Bovine Serum Albumin</i> )
<b>BUN</b>	azot mocznika (ang. <i>blood urea nitrogen</i> )
<b>CAS</b>	ang. <i>Chemical Abstracts Service</i>
<b>CAT</b>	katalaza
<b>CK</b>	kinaza fosfokreatynowa
<b>CLP</b>	ang. <i>Classification, Labelling and Packaging</i>
<b>CRA</b>	test oznaczania zdolności redukowania jonów miedzi (ang. <i>copper reduction assay</i> )
<b>CRE</b>	stężenie zredukowanej miedzi proporcjonalne do całkowitej zdolności antyoksydacyjnej
<b>DG</b>	dehydrogenaza glutaminianowa
<b>DMPD</b>	dichlorowodorek dimetylo-p-fenylendiaminy
<b>DNA</b>	kwasy deoksyrybonukleinowe

<b>DPPH</b>	2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl
<b>EA</b>	alkohol etylowy
<b>ECCLS</b>	ang. <i>European Committee on Clinical Laboratory Standards</i>
<b>EG</b>	glikol etylenowy
<b>ELISA</b>	immunoenzymatyczny test fazy stałej (ang. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i> )
<b>EPR</b>	spektroskopia elektronowego rezonansu paramagnetycznego
<b>EWG</b>	Europejska Wspólnota Gospodarcza (ang. <i>European Economic Community, EEC</i> )
<b>FADH<sub>2</sub></b>	dinukleotyd flawinoadeninowy w zredukowanej formie
<b>FID</b>	detektor płomieniowo-jonizacyjny (ang. <i>flame ionization detector</i> )
<b>FRAP</b>	test oznaczania zdolności redukcji jonów żelaza (ang. <i>ferric reducing ability of plasma</i> )
<b>GGTP</b>	γ-glutamylotranspeptydaza
<b>GPx</b>	peroksydaza glutationowa
<b>GR</b>	reduktaza glutationowa
<b>GSH</b>	glutation zredukowany
<b>GSH/GSSG</b>	glutation całkowity
<b>GSSG</b>	glutation utleniony
<b>GST</b>	S - transferaza glutationowa
<b>GTF</b>	ogólny czynnik transkrypcyjny (ang. <i>general transcription factor</i> )
<b>HAT</b>	mechanizm przenoszenia pojedynczego atomu wodoru (ang. <i>hydrogen atom transfer</i> )
<b>HNE</b>	hydroksynonenal
<b>HPLC</b>	wysokosprawna chromatografia cieczowa (ang. <i>high performance liquid chromatography</i> )
<b>HPV</b>	związki chemiczne produkowane w dużych ilościach (ang. <i>High Production Volume</i> )
<b>HRP</b>	peroksydaza chrzanowa (ang. <i>horse radish peroxidase</i> )
<b>IFCC</b>	Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej (ang. <i>International Federation of Clinical Chemistry</i> )
<b>IHD</b>	hemodializa przerywana
<b>LA</b>	luka anionowa



<b>LD<sub>50</sub></b>	medialna dawka śmiertelna (ang. <i>median lethal dose</i> )
<b>LDH</b>	dehydrogenaza mleczanowa
<b>LPO</b>	peroksydacja lipidów
<b>MA</b>	alkohol metylowy
<b>MDA</b>	aldehyd dimalonowy
<b>MDH</b>	dehydrogenaza jabłczanowa
<b>MPO</b>	mieloperoksydaza
<b>MS</b>	spektrometria mas (ang. <i>mass spectrometry</i> )
<b>NAD<sup>+</sup></b>	dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy w utlenionej formie
<b>NADH</b>	dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy w zredukowanej formie
<b>NADP<sup>+</sup></b>	fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego w utlenionej formie
<b>NADPH</b>	fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego w zredukowanej formie
<b>NCBI</b>	ang. <i>National Center for Biotechnology Information</i>
<b>NDS</b>	najwyższe dopuszczalne stężenie
<b>NDSCh</b>	najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe
<b>NFZ</b>	Narodowy Fundusz Zdrowia
<b>NIH</b>	ang. <i>National Institutes of Health</i>
<b>NIST</b>	ang. <i>National Institute of Standards and Technology</i>
<b>NLM</b>	ang. <i>National Library of Medicine</i>
<b>ONN</b>	ostra niezapalna niewydolność nerek
<b>ONZ</b>	Organizacja Narodów Zjednoczonych (ang. <i>United Nations, UN</i> )
<b>ORAC</b>	test oznaczania zdolności absorpcji rodników tlenowych (ang. <i>oxygen radical absorbance capacity</i> )
<b>PETE</b>	ester tereftalanu polietylenu (ang. <i>polyethylene terephthalic ester</i> )
<b>POChP</b>	przewlekła obturacyjna choroba płuc
<b>Q25</b>	kwartyl dolny
<b>Q75</b>	kwartyl górny
<b>RF</b>	reaktywne formy
<b>RFA</b>	reaktywne formy azotu
<b>RFT</b>	reaktywne formy tlenu
<b>RNA</b>	kwasy rybonukleinowe
<b>RZS</b>	reumatoidalne zapalenie stawów
<b>SET</b>	mechanizm przenoszenia pojedynczego elektronu (ang. <i>single electron</i> )

	<i>transfer</i> )
<b>STF</b>	specyficzny czynnik transkrypcyjny (ang. <i>specific transcription factor</i> )
<b>SOD</b>	dysmutaza ponadtlenkowa
<b>T</b>	czas podania pierwszej dawki
<b>T<sub>1/2</sub></b>	biologiczny okres półtrwania
<b>TAC</b>	całkowita pojemność antyoksydacyjna (ang. <i>total antioxidant capacity</i> )
<b>TBA</b>	kwas tiobarbiturowy
<b>TBARS</b>	produkty peroksydacji lipidów reagujące z kwasem tiobarbiturowym (ang. <i>thiobarbituric acid reactive substances</i> )
<b>TOSC</b>	test oznaczania zdolności wychwytywania rodników tlenowych (ang. <i>total oxidant scavenging capacity</i> )
<b>TRAP</b>	test oznaczania zdolności wychwytywania wolnych rodników (ang. <i>total radical – trapping antioxidant potential</i> )
<b>Trx</b>	tioredoksyna
<b>UAE</b>	stężenie kwasu moczowego równoważne CRE
<b>UE</b>	Unia Europejska
<b>USA</b>	Stany Zjednoczone Ameryki (ang. <i>United States of America</i> )
<b>UV</b>	ultrafiolet, promieniowanie ultrafioletowe
<b>WE</b>	Wspólnota Europejska
<b>WR</b>	wolne rodniki
<b>V<sub>a</sub></b>	objętość dystrybucji
<b>ZZA</b>	zespół zależności alkoholowej

WSTĘP.....	13
CZEŚĆ TEORETYCZNA .....	17
1. Glikol etylenowy .....	18
1.1. Właściwości fizykochemiczne i zastosowanie .....	18
1.2. Epidemiologia zatruc glikolem etylenowym.....	21
1.3. Farmakokinetyka glikolu etylenowego .....	23
1.3.1. Wchłanianie i dystrybucja.....	23
1.3.2. Biotransformacja przy udziale enzymów układu ADH/ALDH.....	24
1.3.3. Biotransformacja przy udziale cytochromu P450.....	25
1.3.4. Wydalanie .....	26
1.4. Objawy kliniczne zatrucia .....	27
1.5. Diagnostyka zatruc glikolem etylenowym .....	29
1.5.1. Znaczenie badań laboratoryjnych w działalności ośrodków toksykologii klinicznej w Polsce.....	30
1.5.2. Badania laboratoryjne potwierdzające zatrucie glikolem etylenowym .....	31
1.5.3. Dodatkowe badania laboratoryjne uzupełniające diagnozę zatrucia glikolem etylenowym.....	34
1.6. Leczenie zatruc glikolem etylenowym .....	37
1.6.1. Ograniczenie biotransformacji glikolu etylenowego za pomocą inhibitorów dehydrogenazy alkoholowej i kofaktorów .....	37
1.6.2. Leczenie nerkozastępcze u zatrutych glikolem etylenowym.....	40
2. Stres oksydacyjny .....	42
2.1. Reaktywne formy i wolne rodniki .....	42
2.1.1. Źródła reaktywnych form tlenu i wolnych rodników .....	45
2.1.2. Efekty działania stresu oksydacyjnego .....	46
2.1.3. Ochronna bariera antyoksydacyjna przed stresem oksydacyjnym .....	49
2.2. Stres oksydacyjny w zatruciach.....	49
2.3. Markery stresu oksydacyjnego .....	51
2.3.1. Bezpośrednia ocena stężenia przeciwutleniaczy i przegląd dostępnych metod ....	53
3. Cel pracy.....	55
CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA .....	58
4. Część doświadczalna .....	59
4.1. Grupa pacjentów.....	59

4.1.1. Dobór pacjentów i materiału do badań .....	59
4.1.2. Metodyka badań biochemicznych i toksykologicznych.....	67
4.1.3. Materiał biologiczny do badań biochemicznych i toksykologicznych .....	67
4.1.4. Aparatura i sprzęt do badań biochemicznych i toksykologicznych .....	67
4.1.5. Metodyka do badań stresu oksydacyjnego.....	72
4.1.6. Materiał biologiczny do badań stresu oksydacyjnego.....	72
4.1.7. Aparatura i sprzęt do badań stresu oksydacyjnego .....	72
4.2. Analiza statystyczna.....	73
5. Wyniki badań .....	74
5.1. Charakterystyka pacjentów zakwalifikowanych do badań – grupa A .....	74
5.2. Charakterystyka pacjentów zakwalifikowanych do grupy A1 i grupy kontrolnej.....	80
5.2.1. Ocena wyników gazometrii i biochemicznych u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1) w porównaniu do grupy kontrolnej .....	83
5.2.2. Ocena markerów stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1) w porównaniu do grupy kontrolnej .....	89
5.2.3. Wpływ płci i wieku na markery stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1) i w grupie kontrolnej.....	94
5.2.4. Wpływ wieku, stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i alkoholu metylowego na równowagę kwasowo-zasadową, wyniki biochemiczne oraz markery stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1).....	98
5.2.5. Wpływ zaburzeń biochemicznych i równowagi kwasowo-zasadowej na markery stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1).....	105
5.2.6. Wpływ czasu diagnozy i śmiertelności u pacjentów zatrutych (grupa A1) na stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i metylowego oraz markery stresu oksydacyjnego.....	110
5.3. Charakterystyka pacjentów monitorowanych w trakcie hospitalizacji (grupa A1a)...	122
5.3.1. Ocena wyników badań toksykologicznych, biochemicznych i gazometrii w czasie u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1a) monitorowanych w trakcie hospitalizacji.....	124
5.3.2. Ocena markerów stresu oksydacyjnego w czasie u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1a) monitorowanych w trakcie hospitalizacji .....	143
5.3.3. Wpływ czasu diagnozy na wyniki badań toksykologicznych, biochemicznych i gazometrii oraz markery stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych (grupa A1a) monitorowanych w trakcie hospitalizacji.....	160

5.3.4. Wpływ wieku, płci, stężenia alkoholu etylowego oraz zaburzeń biochemicznych i równowagi kwasowo-zasadowej na markery stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1a) monitorowanych w trakcie hospitalizacji.....	169
5.3.5. Ocena wpływu stężenia glikolu etylenowego i alkoholu etylowego oraz zaburzeń biochemicznych i równowagi kwasowo-zasadowej na markery stresu oksydacyjnego u pacjentów monitorowanych w trakcie hospitalizacji (grupa A1a) w porównaniu do grupy kontrolnej.....	182
6. Dyskusja .....	205
7. Wnioski.....	231
8. Streszczenie .....	233
9. Summary.....	236
10. Piśmiennictwo .....	239
11. Spis tabel .....	259
12. Spis rycin .....	262
13. Załączniki .....	268
13.1. Załącznik nr 1 .....	268
13.2. Załącznik nr 2 .....	270
13.3. Załącznik nr 3 .....	272
13.4. Załącznik nr 4 .....	273

**WSTEP**

Ocena działania ksenobiotyków na systemy biologiczne jest podstawą nauk toksykologicznych i dotyczy przede wszystkim badania mechanizmów szkodliwego ich wpływu, analizy ryzyka narażenia oraz kontroli i zapobiegania niekorzystnym efektom, których następstwem mogą być zatrucia zarówno ostre jak i przewlekłe. Właściwa diagnostyka i leczenie ostrych zatruc należy w szczególności do zadań toksykologii klinicznej. Ważną rolę, oprócz gruntownej obserwacji klinicznej, odgrywają badania biochemiczne i toksykologiczne. O postępach w toksykologii klinicznej decyduje również dostęp do informacji i danych, określających strukturę zatruc (liczba, przyczyny i rodzaje trucizn), nowe metody leczenia wraz z technikami ułatwiającymi ocenę uszkodzeń narządowych powstających w wyniku działania znanych i nieznanymi substancji chemicznych.

Glikol etylenowy będący obiektem dociekań niniejszej pracy doktorskiej należy do grupy alkoholi dwuwodorotlenowych i jest powszechnie stosowany w przemyśle chemicznym i motoryzacyjnym m.in. jako składnik płynów niezamarzających do chłodziw i płynów hamulcowych oraz w wymiennikach ciepła czy rozpuszczalnikach farb i lakierów [32, 81]. W Polsce do zatruc glikolem etylenowym dochodzi wskutek przypadkowego lub celowego jego spożycia jako zamiennika alkoholu etylowego, najczęściej przez osoby nadużywające alkohol. Zatrucia glikolem etylenowym należą do jednych z częściej opisywanych przypadków leczonych w oddziałach toksykologicznych i charakteryzują się stosunkowo wysoką śmiertelnością. Rzadko obserwuje się przypadki użycia tego alkoholu w celach samobójczych [43, 82, 118, 180, 196].

Ze względu na szeroką dostępność środków zawierających glikol etylenowy oraz ich potencjalną toksyczność, w przypadku podejrzenia zatrucia tym alkoholem istotną rolę w diagnostyce odgrywają wywiad oraz objawy kliniczne wskazujące na ciężką kwasicę metaboliczną oraz niewydolność nerek. Za toksyczność glikolu etylenowego odpowiedzialne są jego metabolity powstające na drodze oksydacyjnych przemian z udziałem dehydrogenaz: alkoholowej i aldehydowej. Ich kumulacja powoduje ciężką kwasicę metaboliczną oraz zaburzenia narządowe. Najcięższym powikłaniem jest uszkodzenie ośrodkowego układu nerwowego oraz niewydolność nerek [7, 22].

Glikol etylenowy oprócz znanego działania nefrotoksycznego i narkotycznego, powoduje znaczne zaburzenia równowagi oksydoredukcyjnej, które spowodowane są przez wolne rodniki tworzone podczas jego biotransformacji. W wyniku przemian, z udziałem cytochromu P450, uwalniany jest nadtlenek wodoru a rozpad tlenu cząsteczkowego prowadzi

do produkcji anionu nadadtlenkowego. Nadprodukcja reaktywnych form tlenu, przy równocześnie niedostatecznej detoksykacji ze strony zaatakowanej komórki, prowadzą do szkodliwego działania, które może być przyczyną uszkodzenia ważnych makrocząsteczek komórkowych (białka, lipidy, kwasy nukleinowe oraz związki zawierające siarkę) [77, 91, 123].

Zatrucie glikolem etylenowym przebiega w trzech fazach. Objawy dotyczą kolejno: ośrodkowego układu nerwowego, układu krążenia oraz nerek. Często poza nefrotoksycznym ujawnia się również działanie hepatotoksyczne [22, 78].

Głównym celem postępowania leczniczego w zatruciu glikolem etylenowym jest ustabilizowanie parametrów życiowych, wyrównanie kwasicy metabolicznej, eliminacja trucizny z organizmu oraz zahamowanie przemian prowadzących do powstawania toksycznych metabolitów. W zatruciach tych standardowo podaje się odtrutki, które są inhibitorami dehydrogenazy alkoholowej: alkohol etylowy oraz 4-metylopirazol. Działanie tych odtrutek polega na konkurencyjnym wiązaniu enzymu i ograniczeniu w ten sposób przemian glikolu etylenowego do silnie toksycznych metabolitów. W Polsce powszechnie w zatruciu glikolem etylenowym podaje się alkohol etylowy, natomiast 4-metylopirazol z powodzeniem stosowany jest w Stanach Zjednoczonych oraz w Europie Zachodniej. Pomimo dobrej skuteczności, alkohol etylowy wykazuje liczne działania niepożądane, ponadto rozpiętość między dawką terapeutyczną a szkodliwą jest niewielka. Alternatywna odtrutka jaką jest 4-metylopirazol, daje możliwość stosowania inhibitora bezpieczniejszego, jednakże generującego znacznie większe koszty leczenia. W ciężkich zatruciach niezbędne jest przeprowadzenie zabiegu hemodializy [7, 13, 32, 84, 90, 95, 220].

W ostatnich latach problematyka związana ze stresem oksydacyjnym stała się jednym z wiodących zagadnień badawczych. Stresowi oksydacyjnemu zaczęto przypisywać ważną rolę w etiologii wielu chorób cywilizacyjnych, takich jak: miażdżyca, choroba Alzheimera czy nowotwory [63, 124, 134, 138, 219]. Również w zatruciach, zaburzenia równowagi oksydoredukcyjnej mogą odgrywać istotną rolę w patomechanizmie toksycznego działania wielu ksenobiotyków, w tym alkoholi [4, 51, 66, 86, 107]. Nasilony stres oksydacyjny, szkodliwy dla komórki, wywołuje zaburzenia jej metabolizmu i naruszenie równowagi pomiędzy ilością wytwarzanych reaktywnych form tlenu, a zdolnością organizmu do obrony antyoksydacyjnej. Miarą stresu oksydacyjnego są efekty jego szkodliwego działania, które można ocenić przy pomocy określonych markerów, do których należą m.in.: produkty peroksydacji lipidów, enzymy antyoksydacyjne czy glutation. O poziomie wolnorodnikowych uszkodzeń np. lipidów świadczą końcowe produkty peroksydacji lipidów m.in. dialdehyd



malonowy i hydroksynonenal, które podobnie jak podwyższone stężenie związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym TBARS (z ang. *thiobarbituric acid reactive substances*) odzwierciedlają zwiększoną peroksydację lipidów i są markerami wykorzystywanymi do oceny tych uszkodzeń. O nasilonym stresie oksydacyjnym świadczą również niedobory drobnocząsteczkowych przeciwutleniaczy np. glutationu lub dezaktywacja enzymów o działaniu antyoksydacyjnym [74, 91, 131, 138, 150]. Stres oksydacyjny może być przyczyną poważnych uszkodzeń komórek, a nawet prowadzić do ich śmierci.

Udział stresu oksydacyjnego w zatruciach rzadko jest przedmiotem badań i w światowej literaturze niewiele jest doniesień naukowych dotyczących tego zagadnienia. W hipotezach badawczych niniejszej pracy założono, że zatrucia glikolem etylenowym prowadzą do zaburzeń równowagi oksydoredukcyjnej ustroju a wybrane markery stresu oksydacyjnego w podobnym stopniu odzwierciedlają procesy oksydacyjne towarzyszące temu zatruciu. Założono również, że wybrane markery stresu oksydacyjnego korelują z przebiegiem klinicznym zatrucia i mogą być wykorzystane jako czynnik prognostyczny w ocenie jego ciężkości. Wyniki prezentowane w niniejszej pracy stanowią próbę odpowiedzi na pytania dotyczące udziału stresu oksydacyjnego w ostrym zatruciu glikolem etylenowym jako jednego z ważniejszych mechanizmów toksycznego działania tego ksenobiotyku.

## **CZĘŚĆ TEORETYCZNA**

# 1. Glikol etylenowy

## 1.1. Właściwości fizykochemiczne i zastosowanie

Właściwości fizykochemiczne glikolu etylenowego (EG) zostały przedstawione w Tabeli 1 [81, 111, 200, 221].

**Tabela 1.** Właściwości fizykochemiczne glikolu etylenowego [81, 111, 200, 221].

Właściwości fizykochemiczne glikolu etylenowego	
Wzór chemiczny sumaryczny	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>
Wzór chemiczny strukturalny	OH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OH
Numer CAS	107-21-1
Numer ONZ	nie dotyczy <sup>1</sup>
Numer EWG	603027001
Masa cząsteczkowa	62,07 [Da]
Stan skupienia	ciecz
Gęstość w temp. 20 °C	1,1100 g/cm <sup>3</sup>
Lepkość w temp. 30 °C	13,759 cP <sup>2</sup>
Zapach	bez zapachu
Smak	słodki
Prężność pary nasyconej w zależności od temperatury:	$\lg(p) = A - B / (C+t)$ p[mmHg] t[°C] A: 7,71504 B: 1818,591 C: 178,651
Współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C	1,43180
Moment dipolowy	2,31 Debaye
Ciepło parowania w temp. 25 °C	- 261,29 cal/g
Ciepło właściwe w temp. 25 °C	0,5182 cal/g
Ciepło topnienia	38,34 cal/g
Ciepło spalania	- 4581,2 cal/g
Parametry krytyczne: Temperatura Ciśnienie Objętość	516,8°C 75,0 atm 183,6 cm <sup>3</sup> /mol
Granice wybuchowości: Dolna Górna	3,2% obj. 53,0% obj.
Klasa wybuchowości	IIB

<sup>1</sup> Nie jest przedmiotem przepisów transportowych

<sup>2</sup> 1cP=1 mPa × s

Temperatury: Zapłonu Samozapłonu	111°C 410 °C
Klasa niebezpieczeństwa	0
Klasa temperaturowa	2
NDS (mgła, aerozole, zawiesiny)	15 mg/m <sup>3</sup>
NDSCh (mgła, aerozole, zawiesiny)	50 mg/m <sup>3</sup>
Rozpuszczalność	Łatwo rozpuszcza się w wodzie i niższych alkoholach alifatycznych, aldehydach i ketonach, słabo w eterze, nierozpuszczalny w benzenie i ropie naftowej
Temperatura topnienia	-12,60 °C
Temperatura wrzenia	197,54 °C
pH	6 do 7,5 [Stęż. (%w/w): 10%]
<p style="text-align: center;">Działa szkodliwie po połknięciu (H302/R22)<sup>3</sup>  Może powodować uszkodzenie narządów poprzez długotrwałe lub powtarzane narażenie (H373)<sup>3</sup>  Toksyczność ostra glikolu etylenowego: doustnie – kategoria 4  Działanie toksyczne na narządy docelowe poprzez powtarzane narażenie – kategoria 2</p>	

Glikol etylenowy charakteryzuje się wysoką gęstością par i gromadzi się w dolnych partiach pomieszczeń lub terenu (gęstość par EG względem powietrza wynosi 2,14). Ze względu na małą lotność, stwarza zagrożenie przy wysokich temperaturach. Jest trudnopalną cieczą, a jego pary tworzą z powietrzem mieszaniny wybuchowe. Próg wyczuwalności zapachu mieści się w zakresie od 12 do 25 mg/m<sup>3</sup> [111, 221, 223].

Glikol etylenowy należy do grupy związków chemicznych HPV (*High Production Volume*) produkowanych na świecie w dużych ilościach [81, 223]. Jest łatwo dostępną substancją i wchodzi w skład wielu preparatów codziennego użytku takich jak: płyny chłodzące i niezamarzające stosowane w motoryzacji, płyny hamulcowe i hydrauliczne, środki czystości oraz jako składnik farb i lakierów. Jest również wykorzystywany do produkcji tworzyw sztucznych, włókien syntetycznych, jako rozpuszczalnik emulsji i celulozy oraz w przemyśle kosmetycznym. Stanowi składnik atramentów i tuszy oraz używany jest do

<sup>3</sup> Zwrot R zgodny z Dyrektywą UE 2001/59/WE zastąpiony przez zwrot H w 2009 roku zgodnie z Rozporządzeniem CLP (z ang. *Classification, Labelling and Packaging*) wdrażającym Globalnie Zharmonizowany System Klasyfikacji i Oznakowania Chemikaliów.

produkcji materiałów wybuchowych. Duże ilości EG są wykorzystywane w produkcji polimerów z grupy poliestrów i tereftalanów polietylenu (PETE). Glikol etylenowy najczęściej dostaje się do organizmu w wyniku przypadkowego spożycia płynów do chłodziw samochodowych czy hamulcowych, środków do odmrażania i mycia szyb (Tab. 2 i 3). Znane są również przypadki celowego użycia EG jako zamiennika alkoholu etylowego [22, 32, 77, 81, 200].

**Tabela 2.** Płyny chłodziwice zawierające glikol etylenowy dostępne na rynku krajowym [225].

Preparat zawierający EG	Skład chemiczny	Zastosowanie, właściwości
Płyn „Borygo”	mieszanina glikolu etylenowego 49% i wody 50%, składniki przeciwutleniające, przeciwkorozyjne i stabilizujące rezerwę alkaliczną (fosforan dwusodowy, dekstryna)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• barwa czerwona</li> <li>• płyn chłodziwiczny do stosowania do temp. -35°C</li> <li>• silne działanie korodujące</li> </ul>
Płyn „Borygo S”	mieszanina glikolu etylenowego 49% i wody 50%, dodatki przeciwutleniające, przeciwkorozyjne i stabilizujące rezerwę alkaliczną (fosforan dwusodowy, dekstryna)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• barwa niebieska</li> <li>• płyn chłodziwiczny do stosowania do temp. -35°C</li> <li>• znacznie słabsze działanie korodujące</li> </ul>
Płyn „Petrygo”	skład, właściwości i zastosowanie zbliżone do płynu Borygo (często mieszany z Borygo w dowolnych proporcjach)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• bezbarwny z żółtym odcieniem lub niebieskim</li> <li>• płyn chłodziwiczny do stosowania do temp. -35°C</li> <li>• nie działa korodująco na elementy układu chłodziwicy i nie powoduje niszczenia uszczelnień</li> </ul>
Płyn „Enwogol”	mieszanina poliglikoli etylenowych, glikolu etylenowego, propylenowego, wody zdemineralizowanej oraz środków przeciwkorozyjnych	<ul style="list-style-type: none"> <li>• barwa zielona</li> <li>• nie działa na uszczelnienia i opakowania z tworzyw sztucznych (sygnalizuje miejsca wycieków z układu chłodziwicy tworząc biały nalot)</li> <li>• płyn chłodziwiczny do stosowania do temp. poniżej -30°C</li> </ul>
Płyn „Incodiol”	wodny roztwór glikolu etylenowego wraz z dodatkami przeciwkorozyjnymi, przeciwutleniającymi i stabilizującymi rezerwę alkaliczną	<ul style="list-style-type: none"> <li>• barwa różowa (przechodząca w żółtą)</li> <li>• płyn chłodziwiczny do stosowania do temp. -35°C</li> </ul>

Dostępne na rynku płyny glikolowe są wodnymi roztworami glikolu etylenowego. Z uwagi na ich właściwości korozyjne, zawierają również dodatki inhibitorów przeciwkorozyjnych (fosforan dwusodowy i dekstryna), zabezpieczające metal głównie przed korodującym działaniem glikolu. Płyny chłodziwice produkowane na bazie EG są bardzo

ekonomiczne ze względu na małą lotność głównego składnika. Prężność par glikolu w zakresie temperatur 0 - 100°C jest 100 razy mniejsza niż prężność par alkoholu etylowego. Mała lepkość płynu zawierającego EG w porównaniu do płynów glicerynowych, zapewnia dobrą płynność w niskich temperaturach. Płyny glikolowe charakteryzuje również lepsze odprowadzanie ciepła, dzięki większemu ciepłu właściwemu i większemu współczynnikowi przewodnictwa ciepła [111, 221].

**Tabela 3.** Płyny hamulcowe zawierające glikol etylenowy dostępne na rynku krajowym [225].

Preparat zawierający EG	Skład chemiczny	Zastosowanie, właściwości
Płyn DOT - 3	mieszanina poliglikoli z monomerami poliglikoli	<ul style="list-style-type: none"> <li>• płyn hamulcowy o maksymalnej temp. wrzenia do 205°C</li> <li>• higroskopijny</li> </ul>
Płyn DOT - 4	monomery poliglikolowe oraz estry boranowe	<ul style="list-style-type: none"> <li>• płyn hamulcowy o maksymalnej temp. wrzenia do 230°C</li> <li>• bardziej higroskopijny niż DOT -3</li> <li>• estry boranowe hydrolyzują i wiążą swobodną wodę</li> </ul>
Płyn DOT - 5	zmodyfikowane silikony	<ul style="list-style-type: none"> <li>• płyn hamulcowy o maksymalnej temp. wrzenia do 260°C</li> </ul>

## 1.2. Epidemiologia zatruc glikolem etylenowym

W ostatnich latach alkohole należą do coraz częstszej przyczyny ostrych zatruc w Polsce [196]. Zatrucia te są nie tylko spowodowane nadmiernym spożyciem alkoholu etylowego, ale także jego zamienników, w tym alkoholu metylowego i izopropylowego oraz glikolu etylenowego.

Pierwsze informacje dotyczące liczby zatruc glikolem etylenowym w Polsce pochodzą z prawie dwudziestoletniej obserwacji prowadzonej przez warszawski ośrodek ostrych zatruc. W latach od 1969 do 1987 hospitalizowano tam 205 osób zatrutych EG, w tym 170 po spożyciu wysokoprocentowego preparatu glikolu. W pozostałych 35 przypadkach przyczyną zatrucia był 5% roztwór EG w etanolu (Autovidol<sup>4</sup>). Odsetek osób zmarłych wyniósł około 40% [170].

Z informacji pochodzących z dziesięciu regionalnych ośrodków toksykologicznych w Polsce zgromadzonych przez Krajowe Centrum Informacji Toksykologicznej w Łodzi

<sup>4</sup> Popularny w latach 80 XX wieku płyn do mycia szyb zawierający etanol skażony acetonem

wynika, że alkohol był drugą co do częstości przyczyną zatruc w latach 1997 – 1999, przy czym każdego roku glikol etylenowy stanowił źródło zatrucia w około 1% przypadków. W grupie wszystkich pacjentów leczonych na oddziałach toksykologii (ponad 60 tysięcy osób), liczba przyjętych z powodu spożycia glikoli (w tym etylenowego) wynosiła 557 (1997 – 196 przypadków; 1998 – 189; 1999 – 172), a śmiertelność nie przekroczyła 35% (22% w 1997 r.; 29% w 1998 r. i 34% w 1999 r.) [118].

Zatrucia glikolem etylenowym były ponownie monitorowane przez kolejnych dziesięć lat w Instytucie Medycyny Pracy im. Nofera w Łodzi. Z zebranych danych wynika, że w latach 2000-2009, hospitalizowano 102 pacjentów z powodu zatrucia EG, co stanowiło około 0,4% wszystkich zgłoszeń. W 14 przypadkach zatrucie zakończyło się zgonem pacjenta [43].

W 2009 roku potwierdzono ponad 400 przypadków ostrych zatruc alkoholem niespożywczymi, które stanowiły poniżej 1% wszystkich zgłoszonych przypadków w całej Polsce. Prawie połowa była spowodowana spożyciem EG a 20% tych przypadków zakończyło się zgonem [180].

Podobna analiza przeprowadzona w 2010 roku wykazała, że spośród ponad 80 tysięcy ostrych zatruc odnotowanych w Polsce, 503 przypadki stanowiły zatrucia glikolem etylenowym i alkoholem metylowym. Analiza śmiertelności w latach 2009 i 2010 wykazała, że liczba zgonów była większa wśród pacjentów leczonych poza oddziałami toksykologicznymi (bez dostępu do specjalistycznego leczenia) (ok. 50%) niż na oddziałach ostrych zatruc, gdzie umierał co piąty pacjent (ok. 21%) [196].

Analizując dane z poznańskiego ośrodka toksykologicznego wynika, że w latach 2008–2012, spośród wszystkich przypadków śmiertelnych, liczba zgonów będących następstwem spożycia alkoholi niespożywczych (metanolu i glikolu etylenowego) stanowiła około 40% i była drugą co do częstości przyczyną zgonów w wyniku ostrych zatruc w tym ośrodku [135].

Informacje uzyskane na podstawie analizy liczby przeprowadzonych badań toksykologicznych w Krakowie i Sosnowcu w latach 2010-2012 potwierdziły 380 przypadków zatruc EG i 152 intoksykacje alkoholem metylowym [82].

W Polsce od 2012 roku w ewidencji działalności prowadzonej przez Krajowego Konsultanta w dziedzinie Toksykologii uczestniczy 12 ośrodków leczenia ostrych zatruc oraz 9 całodobowych laboratoriów toksykologicznych. Z uzyskanych danych wynika, że w 2012 roku glikol etylenowy był oznaczany 3480 razy (krew i mocz), z czego jego obecność w materiale biologicznym potwierdzono w 422 przypadkach [28].

W Polsce nadal niepokojący jest fakt dużej śmiertelności pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (od 21 do 40% przypadków). Bardziej optymistycznie przedstawiają się dane pochodzące z ośrodków leczenia ostrych zatruc w innych krajach. W 2004 roku w Niemczech zarejestrowano 38 przypadków zatruc EG u dzieci i dorosłych, z czego tylko jeden pacjent zmarł, co stanowiło śmiertelność na poziomie poniżej 3% [179]. Czeska analiza w latach 2000-2002 wykazała 188 zgłoszeń zatruc glikolem etylenowym, wśród których tylko w 33 przypadkach stwierdzono spożycie toksycznej lub śmiertelnej dawki EG. Śmiertelność w analizowanej grupie wynosiła 9% [120].

Analizując dane z amerykańskich baz informacyjnych w 2004 roku stwierdzono około 6 tysięcy przypadków narażenia na EG, przy czym ponad 600 stanowiły zatrucia u dzieci. W tak dużej grupie tylko 22 przypadki zakończyły się zgonem [179, 208]. Również w 2008 roku, mimo wzrostu liczby zatruc alkoholami niespożywczyymi (o 25%), liczba zgonów nie przekroczyła 30 przypadków [25]. Dane te potwierdziły, że odsetek przypadków śmiertelnych w USA jest znacznie niższy niż w Polsce a przyczynami tych różnic mogą być m.in.: stopień ciężkości zatrucia, dostęp do specjalistycznej opieki czy skuteczność leczenia terapeutycznego.

### **1.3. Farmakokinetyka glikolu etylenowego**

#### **1.3.1. Wchłanianie i dystrybucja**

Najczęściej do zatruc glikolem etylenowym dochodzi po spożyciu, drogą doustną. Mała masa cząsteczkowa sprawia, że EG swobodnie przenika przez błony biologiczne, co skutkuje szybką i praktycznie całkowitą absorpcją. Słabo wchłaniany jest w postaci par i aerozoli przez układ oddechowy oraz przez skórę, która stanowi skuteczną barierę, utrudniającą wchłanianie EG z jej powierzchni. Zatrucia inhalacyjne są możliwe wyłącznie w warunkach podwyższonej temperatury, w której EG mimo niewielkiej lotności, będzie występował w postaci par lub aerozolu. Glikol po wchłonięciu nie wiąże się z białkami, tylko równomiernie ulega dystrybucji we wszystkich płynach i tkankach ustrojowych. Objętość dystrybucji EG wynosi 0,5-0,8 l/kg, co oznacza, że ulega on dystrybucji jedynie w łożysku naczyniowym, czyli w płynie wewnątrzkomórkowym. Maksymalne stężenie w krwi osiągame jest między 1 a 4 godziną od spożycia [7, 22, 32, 57, 64, 77, 81, 142, 176, 200].

Średnie doustne dawki śmiertelne EG (LD<sub>50</sub>) wynoszą dla: szczura 4000-10020 mg/kg m.c., świnki morskiej 6610 mg/kg m.c., myszy 5500-8350 mg/kg m.c. i człowieka 1500 mg/kg m.c. Publikowane dane wskazują, że najniższe doustne dawki śmiertelne dla człowieka



mieszczą się w zakresie od 0,4 g/kg m.c. do 1,3 g/kg m.c. (dla szczura 3,8 g/kg m.c.) [7, 68, 81, 93]. Mimo podobieństw w przemianach biotransformacyjnych różna jest toksyczność EG dla zwierząt i ludzi [33, 34, 69, 81, 94, 178, 187, 200].

### **1.3.2. Biotransformacja przy udziale enzymów układu ADH/ALDH**

Glikol etylenowy po wchłonięciu z przewodu pokarmowego ulega biotransformacji, głównie w wątrobie z wytworzeniem metabolitów: aldehydu glikolowego i kwasów: glikolowego, glioksalowego oraz szczawowego, które wykazują znacznie większą toksyczność niż związek macierzysty [22, 77]. Biotransformacja EG została przedstawiona na rycinie 1.

Przemiany biochemiczne rozpoczynają się od utlenienia glikolu etylenowego przy udziale dehydrogenazy alkoholowej (ADH) do aldehydu glikolowego, który dynamicznie w obecności dehydrogenazy aldehydowej (ALDH) zostaje przekształcony do kwasu glikolowego. Podczas oksydacji aldehydu glikolowego może dochodzić również do powstawania glioksalu, nietrwałego związku, który ulega szybkiemu przekształceniu w kwas glikolowy i glioksalowy. Funkcjonowanie układu ADH/ALDH w procesach biotransformacyjnych EG w wątrobie jest uzależnione od udziału koenzymów takich jak: dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy w utlenionej i zredukowanej jego formie ( $\text{NAD}^+$  i  $\text{NADH}$ ) [7, 33, 77].

Największą toksyczność wśród powstających metabolitów wykazuje kwas glikolowy, którego biologiczny okres półtrwania wynosi 7 godzin, który dalej jest utleniany do glioksalanów w obecności oksydazy kwasu glikolowego lub dehydrogenazy mleczanowej. Poszczególne procesy biotransformacji związku macierzystego do metabolitów zachodzą z różną szybkością. Przykładowo dłużej trwają przemiany kwasu glikolowego do glioksalanów i szczawianów niż jego powstawanie z aldehydu glikolowego [22, 33].

Kolejny etap, podczas którego kwas glioksalowy jest utleniany do dwuwodorotlenowego kwasu szczawowego, katalizowany jest przez kilka enzymów. Główną rolę w tej reakcji odgrywa oksydaza aldehydowa. Kwas szczawowy łatwo łączy się z jonami wapnia tworząc w ten sposób szczawiany wapnia tzw. kamienie szczawianowe, które mogą się odkładać w nerkach, wątrobie, mózgu lub mięśni sercowym (Ryc. 2) [22, 77, 141].

Wraz z przemianą kwasu glioksalowego do kwasu szczawowego, mogą powstawać: glicyna, kwas hydroksybursztynowy oraz  $\alpha$ -hydroksy- $\beta$ -ketoadypinowy. Przemiana

glioksalanu do glicyny zachodzi w obecności aminotransferazy zależnej od fosforanu pirydoksalu (aminotransferaza glioksalanowa), która należy do enzymów katalizujących procesy transformacji aminokwasów. Glicyna może być usuwana z ustroju w postaci hipuranu oraz dwutlenku węgla, w zależności od dostępności witaminy B<sub>6</sub> (pirydoksyna). Natomiast kwas hydroksybursztynowy, który powstaje z połączenia kwasu octowego i kwasu glioksalowego, może być przekształcony w cyklu Krebsa do dwutlenku węgla i koenzymów redukujących: nikotynoamidoadeninowego i flawinoadeninowego (NADH i FADH<sub>2</sub>), co jest uwarunkowane obecnością witaminy B<sub>1</sub> (tiamina). Podczas wszystkich procesów oksydacyjnych dochodzi do zwiększenia m.in. zawartości zredukowanych nukleotydów nikotynoamidoadeninowych, co prowadzi do zaburzenia szlaku glikolitycznego i wzrostu stężenia mleczanów w stosunku do pirogronianów odpowiedzialnych za występowanie kwasicy metabolicznej [33, 77, 93].

### **1.3.3. Biotransformacja przy udziale cytochromu P450**

Glikol etylenowy jest również utleniany do aldehydu mrówkowego (formaldehydu) przy udziale cytochromu P450 a zwłaszcza izoformy CYP2E1. Uwalniany w ten sposób nadtlenek wodoru, zredukowany w obecności jonów Fe<sup>2+</sup>, spełnia kluczową rolę w powstawaniu formaldehydu (Ryc. 1) [77, 123]. Na istotność tych przemian zwracają uwagę badania Kukielki i wsp., których wyniki (zahamowana aktywność katalazy i peroksydazy glutationowej oraz obniżone stężenie glutationu) świadczą o generowaniu nadtlenu wodoru podczas oksydacji glikolu etylenowego i zaburzeniu równowagi oksydoredukcyjnej organizmu [123]. Również badania Sommerfeld i wsp. wykazują istotne zmiany w aktywnościach enzymów antyoksydacyjnych w wątrobie szczurów po podaniu glikolu etylenowego [191]. Dane te potwierdzają udział stresu oksydacyjnego jako jednego z mechanizmów toksycznego działania glikolu etylenowego i produktów jego utlenienia [107].

Oprócz CYP2E1 w przemianie EG biorą udział również inne izoenzymy takie jak: CYP1A2 oraz CYP2B1/2. Dane literaturowe dowodzą, że glikol etylenowy hamuje aktywność cytochromu P450 i prowadzi do zwiększenia poziomów CYP2E1 i CYP2B1/2. Izoenzymy cytochromu P450 są kluczowymi enzymami, biorącymi udział w reakcjach pierwszej fazy biotransformacji ksenobiotyków i mają zdolność do metabolizowania szerokiego spektrum związków w obecności cząsteczkowego tlenu oraz zredukowanego dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego, spełniającego funkcję koenzymu. Indukcja

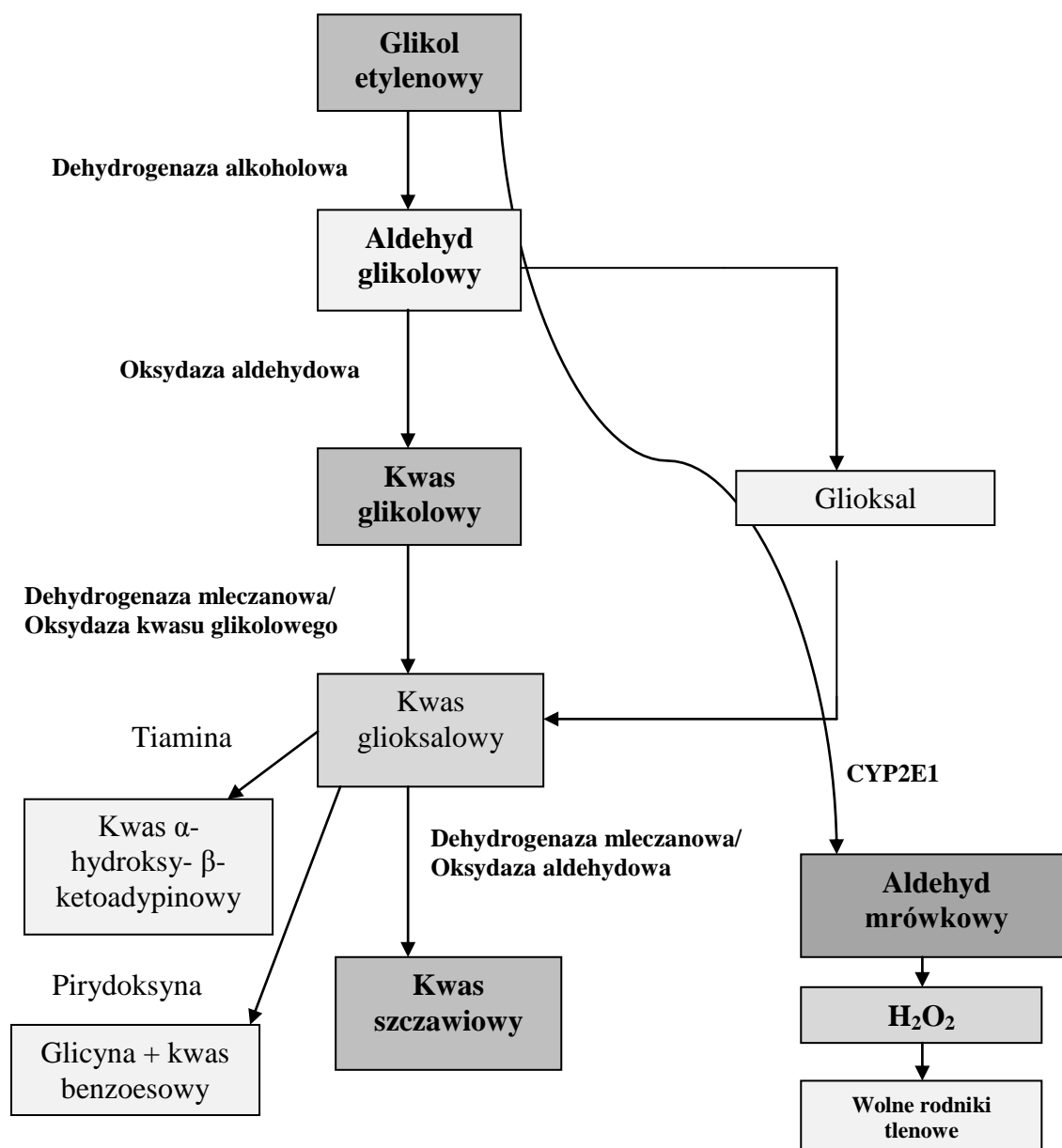
CYP2E1 przez glikol etylenowy prowadzi do produkcji większej ilości enzymu a w konsekwencji do szybszego jego utlenienia (na zasadzie autoindukcji) [77, 98, 108].

Badania Plewki i wsp., dotyczące wpływu glikolu etylenowego na wątrobowy i nerkowy układ monoooksygenaz zależnych od cytochromu P450 potwierdziły, że indukcja CYP2E1 przez glikol odgrywa szczególną rolę w procesach oksydacyjnych, prowadząc do generowania nadtlenu wodoru i anionów ponadtlenkowych [164]. Uczestnictwo mikrosomalnych struktur cytochromu P450 w oksydacji EG może wskazywać na udział nadtlenu wodoru jako silnego utleniacza i prekursora w tworzeniu wolnych rodników tlenowych m. in. w reakcjach Habera-Weissa i Fentona [73, 91, 98, 107, 123].

#### **1.3.4. Wydalanie**

Blisko 60% wchłoniętego glikolu etylenowego wydalane jest w ciągu 72 godzin przez płuca w postaci dwutlenku węgla, a około 20% przez nerki w postaci niezmienionej. W około 2% wydalany z moczem jest kwas szczawiowy. Eliminacja glikolu etylenowego przebiega zgodnie z kinetyką I rzędu w zakresie stężeń od 0,03 do 2,11 g/l. Biologiczny okres półtrwania EG wynosi od 3 do 4,5 godzin. Po jednoczesnym podaniu alkoholu etylowego jako odtrutki może on ulec wydłużeniu nawet do 17 godzin [84]. Czas, w jakim EG zostanie wydalony z organizmu zależy również od stanu czynnościowego nerek i ulega wydłużeniu do kilkudziesięciu godzin u pacjentów, u których średnie stężenie kreatyniny wynosi  $2,24 \pm 0,21$  mg/dl [32, 202].

**Rycina 1.** Biotransformacja glikolu etylenowego w modyfikacji własnej [22].



#### 1.4. Objawy kliniczne zatrucia

Toksyczność glikolu etylenowego wiąże się w dużej mierze z powstającymi metabolitami: kwasem glikolowym, odpowiedzialnym za głęboką kwasicę metaboliczną i kwasem szczawowym, który upośledza funkcję nerek. Aldehyd glikolowy wykazuje również silne działanie cytotoksyczne i hamuje metabolizm komórkowy, zaburzając szereg biologicznie ważnych procesów w komórce [22, 32, 81, 141].

W przebiegu zatrucia glikolem etylenowym wyróżnia się trzy fazy kliniczne, początkowo przypominające zatrucie alkoholem etylowym. Niekiedy autorzy wydzielają

czwartą fazę zatrucia, w zależności od pojawienia się późnych objawów uszkodzenia obwodowego układu nerwowego (tab. 4) [7, 22, 77].

Po około 4 do 12 godzinach dochodzi do stopniowej kumulacji metabolitów i pogłębiającej się kwasicy metabolicznej. W tym etapie występują zaburzenia świadomości, hiperwentylacja, podwyższone ciśnienie tętnicze krwi i tachykardia. Zaburzenia świadomości mogą pojawić się już po kilkunastu minutach w zależności od ilości spożytego EG. Po 12 godzinach od zatrucia pogłębia się działanie depresyjne metabolitów na ośrodkowy układ nerwowy, objawiające się śpiączką, obrzękiem mózgu, czasem drgawkami. Towarzysząca niewydolność oddechowa skutkuje zaburzeniami krążenia. W tej fazie obserwuje się poliurię, która wynika z hamowania przez glikol etylenowy mechanizmu uwalniającego hormon antydiuretyczny [33, 49, 143, 170, 202]. Niektóre źródła podają możliwość wystąpienia wstrząsu kardiogenego, prowadzącego do śmierci już po 12 godzinach od zatrucia [139].

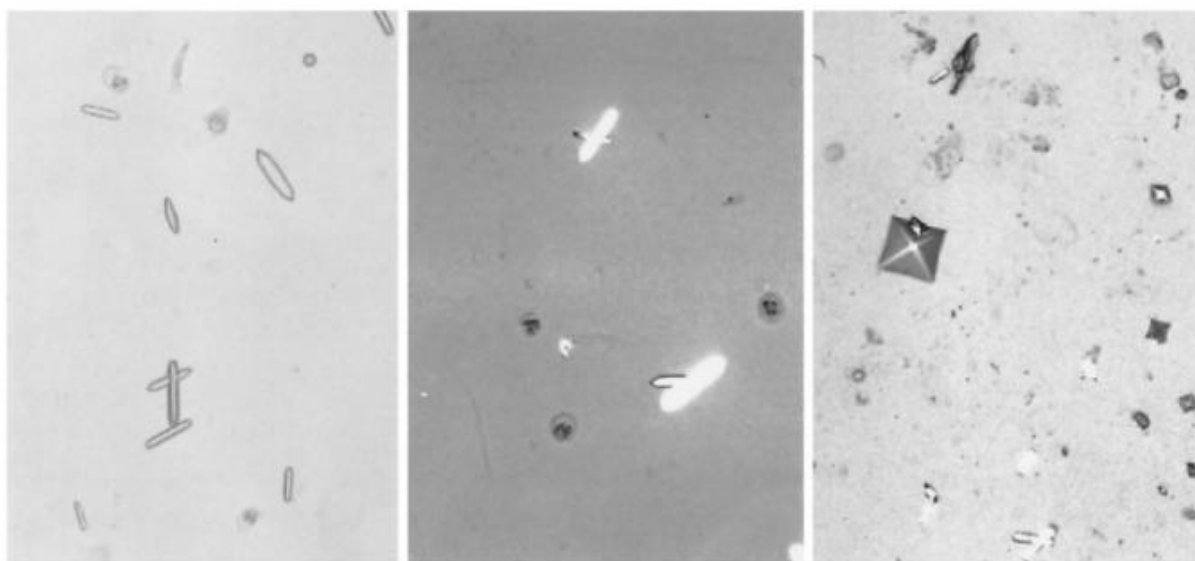
Po 48 godzinach (czasem już w pierwszej dobie) dochodzi do ostrej niezapalnej niewydolności nerek, która nieleczona może doprowadzić do zgonu. Objawami charakterystycznymi w tej fazie są skąpomocz lub bezmocz. Obecność EG w moczu pierwotnym prowadzi do wystąpienia diurezy osmotycznej. Cytotoksyczne działanie kwasu glikolowego i kwasu gliksalowego na komórki kanalików proksymalnych skutkuje hematurią, proteinurią a w rezultacie uszkodzeniem nabłonka kanalikowego. Pojawiająca się w przebiegu zatrucia hipokalcemia objawia się tężyczką [33, 49, 57, 110].

Po kilkunastu dniach od zatrucia, mimo wdrożonego leczenia, może dojść do upośledzenia obwodowego układu nerwowego, m.in. porażenia nerwu VII, IX i X. Efekty późne związane są z niedoborem witaminy B<sub>6</sub> lub nadmiarem szczawianów wapnia w mózgu [22, 77, 170].

**Tabela 4.** Podział na fazy zatrucia względem objawów klinicznych, czasu ich wystąpienia i metabolitów [22, 142].

ETAP	CZAS WYSTĄPIENIA	OBJAWY	METABOLITY
I	30 minut - 12 h po zatruciu	NEUROLOGICZNE	Glikol etylenowy Aldehyd glikolowy Kwas glikolowy Kwas glioksalowy Kwas szczawiowy Szcawian wapnia
II	12 – 24 h po zatruciu	SERCOWO-PŁUCNE	Aldehyd glikolowy Kwas glikolowy Kwas glioksalowy Kwas szczawiowy Szcawian wapnia
III	24 – 72 h po zatruciu	NERKOWE	Szcawian wapnia

**Rycina 2.** Kryształy szcawianów wapnia w moczu pacjentów zatrutych glikolem etylenowym [57].



### 1.5. Diagnostyka zatruc glikolem etylenowym

Zatrucie glikolem etylenowym powinno być rozważane w przypadku każdego pacjenta w śpiączce z towarzyszącą kwasicą metaboliczną o nieznannej etiologii. W związku z faktem, że ustalenie przyczyny ciężkiej kwasicy metabolicznej należy do trudnych wyzwań diagnostycznych w praktyce toksykologicznej, często do oddziałów toksykologii kieruje się pacjentów właśnie z takimi objawami, nawet jeśli nie ma jednoznacznego wywiadu, który

wskazywałyby na spożycie glikolu etylenowego. Obecnie zatrucia alkoholami niespożywczymi są najczęstszymi przyczynami ciężkich kwasic metabolicznych w praktyce lekarza-toksykologa w Polsce. Zatem dostęp do podstawowych jak i specjalistycznych narzędzi diagnostycznych, które umożliwiają szybką diagnozę wydaje się być kluczowy dla powodzenia leczenia [158].

### **1.5.1. Znaczenie badań laboratoryjnych w działalności ośrodków toksykologii klinicznej w Polsce**

Laboratoria toksykologiczne współpracujące z oddziałami leczenia ostrych zatruc i ośrodkami informacji toksykologicznej stanowią ważny element systemu umożliwiającego prawidłowe postępowanie z zatrutym pacjentem. Badania laboratoryjne o profilu toksykologicznym są niezbędne do identyfikacji substancji toksycznych, ich metabolitów jak i wyznaczania stężeń tych substancji. Do głównych zadań analityka-toksykologa należy dobór metod analitycznych odpowiednich do warunków pracy w szpitalnym laboratorium oraz interpretacja uzyskanych wyników z uwzględnieniem zakresów stężeń terapeutycznych i toksycznych, a także istotnych parametrów toksykokinetycznych identyfikowanej substancji, takich jak: dostępność biologiczna, objętość dystrybucji czy biologiczny okres półtrwania. Lekarz klinicysta oczekuje od analityka-toksykologa prawidłowej interpretacji uzyskanego wyniku w odniesieniu do wartości prawidłowych i podejmuje decyzję o wdrożeniu lub dalszym postępowaniu odtruającym [28, 158].

W wybranych przypadkach badanie toksykologiczne (np. wyznaczenie stężenia substancji) może być wskaźnikiem wystarczającym do wdrożenia prawidłowego postępowania terapeutycznego oraz dostarczającym informacji, których nie da się uzyskać tylko na podstawie obserwacji objawów klinicznych (np. zatrucie paracetamolem). W wielu przypadkach objawy kliniczne, poparte właściwą analizą toksykologiczną są głównym kryterium decydującym o dalszej terapii zatrutego pacjenta [158].

Niewątpliwie ustalenie przyczyny zatrucia nieznaną substancją stanowi podstawowe i niezwykle trudne wyzwanie dla lekarzy jak i analityków.

Możliwości oznaczeń wykonywanych w laboratoriach o profilu toksykologicznym są jednak ograniczone i dotyczą tylko wybranych i istotnych dla terapii badań. Należą do nich przede wszystkim oznaczenia: alkoholu etylowego oraz jego zamienników (alkohol metylowy, izopropylowy czy glikol etylenowy), metabolitów alkoholi niespożywczych (kwas glikolowy czy kwas mrówkowy), rozpuszczalników, leków, grup substancji

psychoaktywnych, toksyn roślinnych i grzybów, metali ciężkich oraz biomarkerów narażenia (acetylocholinoesteraza krwinkowa czy kwas  $\Delta$ -aminolewulinowy) [28, 38, 70, 158].

Ważną rolę oprócz specyficznych oznaczeń toksykologicznych odgrywają badania biochemiczne dostępne w każdym szpitalnym laboratorium, które umożliwiają ocenę: zaburzeń gospodarki sodowo-potasowej, wapnia i magnezu, równowagi kwasowo-zasadowej, glukozy czy markerów uszkodzeń narządowych. Zaburzenia elektrolitowe mogą często sugerować zatrucie określoną substancją i umożliwiają tym samym wstępną ocenę stopnia zagrożenia życia i zdrowia pacjenta. Dodatkowo zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej często stanowią jeden z pierwotnych jak i wtórnych objawów charakterystycznych dla ostrych zatruc [34, 57, 64, 194, 207].

Wyniki badań biochemicznych jak i toksykologicznych są interpretowane zawsze w odniesieniu do stanu klinicznego pacjenta i stanowią tylko jedno z wielu narzędzi oceniających ciężkość zatrucia.

### **1.5.2. Badania laboratoryjne potwierdzające zatrucie glikolem etylenowym**

Jednym z podstawowych czynników warunkujących skuteczność leczenia zatruc glikolem etylenowym jest jak najkrótszy czas postawienia rozpoznania. Właściwa diagnostyka możliwa jest dzięki potwierdzeniu obecności i wyznaczeniu stężenia glikolu etylenowego lub pośrednio przy pomocy badań uzupełniających diagnozę takich jak: oznaczenie luki osmolalnej i/lub anionowej, pozwalających na ocenę skutków jego toksycznego działania i powstających kolejno metabolitów. Diagnostykę zatrucia glikolem etylenowym można wesprzeć oznaczeniem kwasu glikolowego, który pozostaje w organizmie znacznie dłużej niż sam EG [7, 34, 38, 57, 64, 69, 70, 79, 167, 190].

Najbardziej wartościowym badaniem, umożliwiającym potwierdzenie zatrucia glikolem etylenowym jest pomiar jego stężenia we krwi. Stężenie EG powyżej 0,5 g/l (w niektórych zaleceniach powyżej 0,2 g/l), charakterystyczne objawy kliniczne oraz wyniki podstawowych badań biochemicznych, wskazujących na kwasicę metaboliczną lub niewydolność nerek mogą w pełni przemawiać za ostrym zatruciem tym alkoholem, wymagającym kompleksowej oceny klinicznej i właściwej terapii [7, 22, 32, 190]. Oznaczenie glikolu etylenowego ma istotne znaczenie nie tylko w potwierdzeniu zatrucia, ale również w trakcie monitorowania jego leczenia. Materiał do badań powinien być pobrany jak najszybciej od narażenia, ze względu na dynamiczną biotransformację EG do bardziej trwałych metabolitów. Pomocnym badaniem jest oznaczenie stężenia EG w moczu, w którym



ksenobiotyk może utrzymywać się nawet do 72 godziny od spożycia (pod warunkiem dostępności próbki moczu) [7, 22, 142].

Metody oznaczania glikolu etylenowego są zróżnicowane (Tab. 5). Dostępne w większości laboratoriów testy kolorymetryczne i enzymatyczne są mało specyficzne. Dlatego w celu oznaczenia glikolu etylenowego, najczęściej wykorzystuje się chromatografię gazową połączoną z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (FID) lub spektrometrią mas (MS). Metody chromatograficzne sprzężone z odpowiednimi detektorami należą do metod referencyjnych [48, 57, 58, 59, 69, 92, 100, 133, 142, 144, 165, 166, 168, 210, 211].

Dawniej w diagnostyce zatruc EG wykorzystywano fluorescencję przy pomocy lampy Wooda. Materiałem badanym były w tym przypadku mocz, wymiociny lub materiał z okolicy ust i ubrania. Test ten był jednak przydatny tylko w ciągu kilku godzin po spożyciu produktu zawierającego glikol [38].

**Tabela 5.** Metody oznaczania glikolu etylenowego i kwasu glikolowego [48, 57, 58, 59, 92, 100, 166, 168, 174, 210, 213].

<b>Glikol etylenowy</b>	<b>Kwas glikolowy</b>
zmiana wartości luki osmolalnej i luki anionowej wywołana kwasicą metaboliczną	
niespecyficzne metody kolorymetryczne	wzrost stężenia mleczanów (wynik fałszywy wywołany obecnością kwasu glikolowego)
metody enzymatyczne	
chromatografia gazowa: - z detekcją płomieniowo-jonizacyjną lub spektrometrią mas	chromatografia cieczowa: - detekcja UV przy pomocy wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), - chromatografia jonowymienna
chromatografia cieczowa - ze spektrometrią mas	chromatografia gazowa: - z detekcją płomieniowo-jonizacyjną lub spektrometrią mas

Uzyskanie wyniku potwierdzającego wysokie stężenie EG we krwi chorego wydaje się dawać jednoznaczną odpowiedź, niemniej jednak trudności sprawiają sytuacje, w których pacjent trafia późno do szpitala, z rozwiniętą kwasicą metaboliczną i ujemnym wynikiem glikolu etylenowego, który w całości został przekształcony do toksycznych metabolitów. W tych stanach często nie udaje się jednoznacznie ustalić przyczyny kwasicy metabolicznej nie tylko przyżyciowo, ale także w badaniach wykonanych pośmiertnie. Oznaczenie kwasu glikolowego we krwi takiego chorego może być rozstrzygające [57, 69, 157, 168].

Niestety, w warunkach klinicznego laboratorium diagnostycznego, możliwość oznaczenia stężenia glikolu etylenowego a zwłaszcza kwasu glikolowego często jest ograniczona i wówczas wstępna diagnoza musi być postawiona na podstawie obserwacji objawów klinicznych i wyników podstawowych badań biochemicznych, a przede wszystkim gazometrii krwi tętniczej.

W celu ustaleniu wstępnego rozpoznania należy kierować się określonymi algorytmami, charakterystycznymi dla danego zatrucia. Jeśli istnieje przypuszczenie spożycia EG, czynnikami potwierdzającymi podejrzenie zatrucie będą wyniki gazometrii: pH krwi tętniczej  $<7,3$  i stężenie wodorowęglanów  $<20$  mmol/l oraz wartość luki osmotycznej  $>10$  mOsm/kg, ewentualnie badanie osadu moczu, w którym obecność kryształów szczawianu wapnia będzie traktowana jedynie jako potwierdzenie wcześniej postawionej diagnozy i dodatkowy objaw zatrucia (Tab. 7) [7, 22]. Wartości referencyjne dla istotnych parametrów laboratoryjnych przedstawiono w tabeli 6 [57].

**Tabela 6.** Wartości referencyjne parametrów laboratoryjnych [57, 207].

Parametr	Wartość referencyjna
Stężenie EG w surowicy mg/dl (g/l)	nieobecny
<b>Gazometria krwi tętniczej</b>	
pH	7,35-7,45
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	35-45
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/l)	22-26
Luka anionowa (mmol/l)	8-16
Mleczany (mmol/l)	0,7-2,1
Osmolalność krwi zmierzona (mOsm/kg H <sub>2</sub> O)	270-290
Kreatynina (mg/dl)	0,6-1,3
Azot mocznikowy (mg/dl)	15-40
Badanie moczu	brak kryształów szczawianu wapnia, białka, krwinek czerwonych

Ważnym badaniem jest gazometria, w skład której wchodzi: pomiar pH (stężenie jonów wodoru, wskazujące na kwasowość/zasadowość krwi), ciśnienie parcjalne tlenu (pO<sub>2</sub>; ilość tlenu rozpuszczona we krwi) i dwutlenku węgla (pCO<sub>2</sub>; ilość dwutlenku węgla rozpuszczona we krwi). Do wyliczanych parametrów zalicza się m.in.: wysycenie O<sub>2</sub> (saturacja tlenem); HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (stężenie jonów wodorowęglanowych) oraz nadmiar lub niedobór zasad (BE równe sumie wszystkich anionów buforujących we krwi). W przebiegu zatrucia EG w gazometrii stwierdza się ciężką kwasicę metaboliczną z niskimi wartościami pH,

stężenia wodorowęglanów i BE (niedobór zasad i nadmiar produktów kwasowych) [57, 69, 142, 207].

**Tabela 7.** Algorytm dla zatrucia glikolem etylenowym [22].

upojenie alkoholowe - <b>brak zapachu alkoholu</b> w wydychanym powietrzu
<b>kwasicca metaboliczna</b> - pH krwi tętniczej <7,3; stężenie wodorowęglanów <20 mmol/l; <b>wysoka luka anionowa</b>
<b>szczawiany wapnia w moczu/hipokalcemia</b>
<b>luka osmotyczna</b> >10 mOsm/kg (jeśli wykluczono cukrzycę i alkoholową kwasicę ketonową)

### 1.5.3. Dodatkowe badania laboratoryjne uzupełniające diagnozę zatrucia glikolem etylenowym

Oznaczenie osmolalności stanowi jedno z badań, które w określonych warunkach może uzupełniać diagnozę w kierunku zatrucia glikolem etylenowym. Osmolalność opisuje liczbę moli substancji osmotycznie czynnych rozpuszczonych w kilogramie rozpuszczalnika (wody). Pomiar osmolalności wykonywany jest na podstawie porównania właściwości fizykochemicznych badanych roztworów (najczęściej temperatury zamarzania). Wyliczona osmolalność uwzględnia najważniejsze substancje osmotycznie czynne (m.in. jony sodu i chloru, azot pozabiałkowy, glukoza) i jest przydatna w monitorowaniu równowagi wodno-elektrolitowej organizmu. Istnieją wzory umożliwiające obliczenie lub przewidywanie osmolalności w nagłych przypadkach, ale nie są one w stanie zastąpić osmolalności zmierzonej (Ryc. 3). Wzrost osmolalności stwierdza się m.in. w hiperglikemii, kwasicy ketonowej, hipernatremii oraz w zatruciu alkoholem niespożywczym (metanolem lub glikolem etylenowym), gdy dochodzi do hiperosmolalności krwi, co objawia się wzrostem zmierzonych wartości ponad 300 mOsm/kg wody [207].

**Rycina 3.** Wzór na obliczenie osmolalności [207].

$\text{osmolalność obliczona [mOsm/kg]} = 2 \times [\text{Na}^+][\text{mmol/l}] + \text{glukoza [mmol/l]} + \text{mocznik [mmol/l]}$
--

Znaczenie diagnostyczne ma również luka osmotyczna. Jest to różnica między osmolalnością zmierzoną a wyliczoną, której wartości referencyjne nie przekraczają 10 mOsm/kg wody. Luka osmotyczna wzrasta przy zmniejszonej ilości wolnej wody w krwi (przy osmolalności krwi >300 mOsm/kg) oraz w obecności dodatkowych substancji o niskiej masie cząsteczkowej takich jak: alkohol etylowy, metylowy, izopropylowy, mannitol czy glikol etylenowy. Mimo to wartości mniejsze od 10 mOsm/kg, nie wykluczają narażenia na glikol etylenowy a podwyższona luka osmotyczna nie zawsze jest równoznaczna z zatruciem. W związku z tym oznaczenia osmolalności i luki osmotycznej traktowane są jako badania uzupełniające [38, 57, 79, 142].

Dodatkowym parametrem wykorzystywanym w rozpoznaniu zatrucia EG jest luka anionowa (LA), która ma znaczenie diagnostyczne w określaniu przyczyn kwasic nieoddechowych (metabolicznych). Obliczana jest na podstawie różnicy pomiędzy stężeniem sodu, a sumą stężeń jonów chlorkowych i wodorowęglanowych (przybliżona różnica pomiędzy oznaczanymi rutynowo w surowicy krwi anionami i kationami) (Ryc. 4) [57]. Referencyjne wartości LA wynoszą od 8 do 16 mmol/l. Zwiększona luka anionowa (wzrost anionów innych niż chlorkowe i wodorowęglanowe) może być spowodowana przez kwasy organiczne i nieorganiczne, a w zatruciu EG za jej wzrost odpowiadają aldehyd i kwas glikolowy oraz kwasy glioksalowy i szczawiowy.

**Rycina 4.** Wzór na obliczenie luki anionowej [57].

$$LA = [Na^+ + K^+] - [HCO_3^- + Cl^-]$$

Luka anionowa nie jest jednak oznaczeniem swoistym dla zatrucia EG, ponieważ jej wzrost stwierdza się również w zatruciu metanolem, w drugiej fazie zatrucia salicylanami czy w następstwie wzrastającego stężenia związków ketonowych i kwasu mlekowego w przebiegu cukrzycowej kwasicy ketonowej lub kwasicy mocznicowej. Wzrost luki anionowej może być też następstwem hipomagnezemii, hipokalcemii i hipokalemii [142, 194, 207].

Zatruciu glikolem etylenowym mogą towarzyszyć również zaburzenia elektrolitowe, m.in. podwyższone stężenie potasu lub obniżony poziom wapnia w krwi na skutek tworzenia kryształów szczawianu wapnia. Niezwykle ważne są również wyniki podstawowych badań biochemicznych, które umożliwiają ocenę czynności narządowej m.in. aktywności enzymów wątrobowych i stężenia wskaźników nerkowych. Wartości podstawowych i uzupełniających badań w zatruciach EG zestawiono w tabeli 8.

Aminotransferazy są obecne w większości tkanek z wyjątkiem mózgu oraz mięśni gładkich. Aminotransferazy alaninowa (ALT) i asparaginowa (AST) mają znaczenie diagnostyczne w różnicowaniu chorób wątroby, dróg żółciowych i trzustki. Wzrost aktywności ALT zazwyczaj odzwierciedla (przy niższej aktywności AST) zmiany chorobowe spowodowane przez alkohol [37, 42]. AST jest szeroko rozpowszechniona w tkankach, z największą aktywnością w sercu, wątrobie i mięśniach szkieletowych. Wzrost aktywności AST stwierdza się w chorobach wątroby, skórno – mięśniowych, mioglobinurii oraz w ostrym zawale serca. Wyraźny wzrost występuje w ostrym niedociśnieniu i toksycznym uszkodzeniu wątroby [1, 50, 207].

Kreatynina ma znaczenie diagnostyczne w ocenie funkcji nerek i wydalania różnych substancji w moczu. Jest bardziej swoistym i czułym wskaźnikiem chorób nerek niż azot mocznika (BUN). Podwyższone wartości kreatyniny w surowicy o  $\geq 0,5$  mg/dl lub o 50% powyżej wartości referencyjnych (0,6-1,3 mg/dl) świadczą o ostrej niewydolności nerek [207]. W niewydolności nerek znaczenie diagnostyczne ma również mocznik (azot mocznikowy), którego stężenie koreluje z objawami mocznicy lepiej niż stężenie kreatyniny. Obniżone stężenia mocznika prawie zawsze wskazują na stany przewodnienia i niewydolności miąższu wątroby. Swobodnie przesączony mocznik w kłębuszkach nerkowych  $\geq 50\%$  ulega zwrotnemu wchłanianiu. Wzrost jego stężenia świadczy o poważnym uszkodzeniu funkcji nerek [31, 207]. W przebiegu zatrucia EG, w trakcie i po zakończeniu hemodializy, niezbędne jest cykliczne badanie stężenia kreatyniny i mocznika jako podstawowych parametrów monitorujących czynność nerek.

**Tabela 8.** Wyniki podstawowych i uzupełniających badań w zatruciu EG [7, 31, 57, 207].

<b>Badanie krwi</b>	leukocyturia 10-40000/ $\mu$ l
	trombocytopenia
	hipokalemia
	hipokalcemia
	↑ aktywności aminotransferaz (ALT i AST)
	↑ aktywności kinazy fosfokreatynowej (CK)
	↑ aktywności $\gamma$ -glutamylotranspeptydazy (GGTP)
	↑ stężenia mocznika
	↑ stężenia kreatyniny
<b>Rozmaz krwi obwodowej</b>	makrocytoza krwinek czerwonych, leukocyty (głównie neutrofile)
<b>Badanie równowagi kwasowo- zasadowej</b>	niskie pH (często poniżej 7,0)
	duża luka anionowa (↓ stężenia wodorowęglanów we krwi)
	duża luka osmolalna
	↑ stężenia mleczanów
<b>Badanie moczu</b>	białkomocz
	krwinkomocz
	niski ciężar właściwy
	liczne kryształki szczawianu wapnia
	liczne nabłonki

## 1.6. Leczenie zatruc glikolem etylenowym

W leczeniu zatruc glikolem etylenowym szczególną rolę odgrywa podawanie odtrutek, do których należy alkohol etylowy (EA) i 4-metylopirazol (4MP) [13]. W ciężkich przypadkach konieczna jest hemodializa oraz podawanie wodorowęglanu sodu, tiaminy, pirydoksyny i wapnia, rzadko stosuje się płukanie żołądka [178].

### 1.6.1. Ograniczenie biotransformacji glikolu etylenowego za pomocą inhibitorów dehydrogenazy alkoholowej i kofaktorów

Alkohol etylowy konkurencyjnie wiąże się z dehydrogenazą alkoholową, blokując dalszą przemianę glikolu etylenowego do toksycznych metabolitów [7, 119, 204]. Ze względu na działania niepożądane występujące podczas terapii EA, coraz częściej w zatruciach EG podaje się 4-metylopirazol (*Fomepizole*, *Antizol*<sup>®</sup>), który również jest inhibitorem ADH

wykazującym około 8000 razy większe powinowactwo do enzymu niż alkohol etylowy [21, 23, 192].

W Polsce standardowa procedura lecznicza nadal obejmuje podawanie alkoholu etylowego, którego niewątpliwą zaletą jest ogólna dostępność oraz niska cena. 4-Metylopirazol jest zdecydowanie droższym lekiem, niemniej w przeciwieństwie do etanolu, nie wymaga ciągłego monitorowania jego stężenia w krwi pacjenta i umożliwia w wielu przypadkach uniknięcie zabiegu hemodializy [13, 21, 23, 52, 84].

Alkohol etylowy najczęściej podawany jest dożylnie jako 5 lub 10% roztwór w 5% dekstrozie. Najczęściej stosowane są roztwory 10-procentowe utrzymujące stężenie terapeutyczne etanolu w przedziale między 100 a 150 mg/dl (1,0 – 1,5 g/l), podawane dożylnie w dawce 0,8 g/kg m.c. przez 20 do 60 minut. W przypadku podania doustnego zalecana dawka wynosi 4 ml/kg m.c. 20% roztworu alkoholu etylowego (tab. 9) [95, 178]. Przeciwwskazaniami do podania alkoholu etylowego są m.in.: ryzyko wystąpienia hipoglikemii (zwłaszcza u dzieci), współzatrucie alkoholem etylowym czy stosowanie przez pacjenta disulfiramu. W tych przypadkach preferowane jest podawanie 4MP, szczególnie u pacjentów przyjmujących disulfiram, co pozwala na uniknięcie niebezpiecznej dla zdrowia i życia reakcji anatabusowej [95, 161, 192]. Wskazaniami do zastosowania inhibitora ADH w leczeniu zatrucia są [7, 22, 143]:

- stężenie glikolu etylenowego we krwi powyżej 0,2 g/l;
- udokumentowana historia przyjęcia toksycznej dawki EG;
- luka osmolalna powyżej 10 mOsm/kg H<sub>2</sub>O;
- potwierdzenie dwóch objawów klinicznych z poniższych:
  - pH krwi tętniczej < 7,3;
  - stężenie HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> w surowicy < 20 mmol/l;
  - luka osmolalna > 10 mOsm/kg H<sub>2</sub>O;
  - obecność kryształów szczawianu wapnia.

Zaprzestanie podawania odtrutki należy rozpatrzyć gdy [7, 13, 22, 95, 143]:

- stężenie glikolu etylenowego we krwi < 0,1 g/l;
- nie stwierdza się obecności kwasu glikolowego;
- nie stwierdza się zaburzeń kwasowo-zasadowych i patologicznych objawów ze strony układu nerwowego.

**Tabela 9.** Dawki alkoholu etylowego zależnie od sposobu podania w zatruciu EG [7, 13, 22, 143, 178, 220].

Dożylnie podanie EA		Doustne podanie EA	
Dawka nasycająca: 7,6 – 10 ml/kg m.c. jako 10% roztwór	Dawka podtrzymująca: 1-2 ml/kg/h	Dawka nasycająca: 3,8-5,0 ml/kg m.c. w 20% roztworze	Dawka podtrzymująca: 0,5 ml/kg/h

4-Metylopirazol jest alternatywną odtrutką stosowaną w zatruciu EG, hamującą aktywność dehydrogenazy alkoholowej poprzez łączenie się atomu azotu 4MP z atomem cynku centrum aktywnego enzymu [23, 129, 151]. Od lat 80 stosowany jest z powodzeniem w wielu ośrodkach na świecie. Wskazaniem do podania leku w przypadku podejrzenia zatrucia EG są: objawy kwasicy metabolicznej, wzrastająca luka anionowa i osmolalna, obecność kryształów szczawianu wapnia w moczu oraz stężenie EG > 0,2 g/l w krwi [178, 187].

Terapeutyczne zastosowanie 4MP w zatruciu EG obejmuje schemat wielokrotnego podania leku, z pierwszą dawką w jak najkrótszym czasie od zatrucia i kolejnymi co 12 godzin (Tab. 10). Najczęściej podawany jest dożylnie, mimo że jest szybko i prawie całkowicie absorbowany po podaniu doustnym [52, 178]. W różnych krajach, schematy podania 4MP są modyfikowane i np. we Francji zalecane jest podawanie dawki 15 mg/kg jako dawki początkowej a następnie czterokrotne dawki po 10 mg/kg m.c. co 12 h (aż do obniżenia stężenia EG < 0,2 g/l) [143]. W przypadku równoczesnego stosowania hemodializy, dawka leku jest korygowana. Im wyższe stężenie glikolu etylenowego, tym hemodializa jest dłużej kontynuowana. Pomiar stężenia 4MP nie jest konieczny [45, 130, 178, 187].



**Tabela 10.** Europejskie zalecenia dawkowania 4MP w zatruciu EG [143].

Stężenie EG w krwi		Dawka 4MP (mg/kg m.c.)					
g/l	mmol/l	I (T) <sup>5</sup>	II (T+12h)	III (T+24h)	IV (T+36h)	V (T+48h)	VI (T+60h)
6	96	15	10				
3	48	15	10	10			
1,5	24	15	10	10	10	7,5	
0,75	12	15	10	10	10	7,5	5
0,35	5,6	15	10	7,5	7,5		
0,1-0,3	1,6-5,5	15	7,5				

Sporadycznie, lecz z dobrym skutkiem stosuje się dodatkowe leczenie obejmujące podawanie kofaktorów: tiaminy i/lub pirydoksyny, które są zaangażowane w biotransformację EG do nietoksycznych metabolitów, co stanowi tym samym bezpieczną i niedrogą metodę w leczeniu zatrucia (tab. 11) [7, 22, 49, 64, 129, 178, 220].

**Tabela 11.** Porównanie mechanizmu działania i dawek tiaminy i pirydoksyny w terapii zatruc EG [7, 22, 179].

	Tiamina	Pirydoksyna
<b>mechanizm działania</b>	brak konwersji glikolu etylenowego do kwasu szczawiowego	brak konwersji kwasu glioksalowego do kwasu szczawiowego
<b>efekt działania</b>	kwas glioksalowy jest przekształcany do $\alpha$ -hydrokso- $\beta$ -ketokwasu.	powstaje glicyna i kwas hipurowy w obecności magnezu
<b>zalecana dawka</b>	100 mg dożylnie co 6 godzin do czasu, gdy wynik w kierunku EG będzie ujemny	50 mg dożylnie co 6 godzin (nie dłużej niż 24 h)

### 1.6.2. Leczenie nerkozastępcze u zatrutych glikolem etylenowym

Trzecia faza zatrucia glikolem etylenowym zwana nerkową trwa od 24 do 72 godziny od narażenia. Do charakterystycznych objawów klinicznych związanych z zaburzeniem czynności nerek zaliczane są: krwimocz, białkomocz, częstomocz a następnie skąpomocz i bezmocz. Na skutek zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej dochodzi do silnego

<sup>5</sup> T – czas podania pierwszej dawki

zakwaszenia organizmu a w efekcie uszkodzenia nerek (martwica kanalików nerkowych) i ostrej niezapalnej niewydolności nerek (ONN). Kumulacja kryształów szczawianów wapnia a także cytotoksyczne działanie kwasu glikolowego i glioksalowego na komórki kanalików proksymalnych nefronu prowadzi do dysfunkcji nerek. ONN jest wskazaniem do rozpoczęcia leczenia nerkozastępczego, zwiększającego efektywność terapii i bezpieczeństwo pacjenta. Do klasycznych wskazań do hemodializy w ONN należą m.in. ciężka hiperkalemia ( $> 6,5$  mmol/l lub dynamiczny wzrost stężenia potasu), pogłębiająca się kwasica metaboliczna ( $\text{pH} < 7,1$ ) oraz wysokie stężenie mocznika ( $> 200$  mg/dl) [11, 175].

Z corocznych raportów Amerykańskiego i Europejskiego Stowarzyszenia Ośrodków Kontroli Zatruc wynika, że w leczeniu ostrych zatruc ksenobiotykami zdecydowanie dominuje dializoterapia. Najczęściej stosowana jest standardowa przerywana hemodializa (IHD) oparta na zjawisku dyfuzji pozwalającym na utrzymanie odpowiednich gradientów stężeń usuwanych substancji podczas dużego przepływu płynu dializacyjnego. Warunkiem koniecznym do zastosowania hemodializy w ostrych zatruciach jest zatrucie ksenobiotykiem, którego usuwanie dzięki tej metodzie wzrośnie powyżej 30% (przy objętości dystrybucji  $V_d$  ksenobiotyku  $< 1$  l/kg, masie cząsteczkowej  $< 500 - 600$  Da, dobrej rozpuszczalności w wodzie, wiązaniu z białkami  $< 50\%$ ). Dodatkowo na podjęcie decyzji o rozpoczęciu IHD wpływają m.in. informacja o przyjęciu substancji toksycznej w takiej dawce, którą można uznać za toksyczną lub śmiertelną, potwierdzenie w surowicy chorego stężenia ksenobiotyku, brak efektów terapii zachowawczej, głęboka śpiączka, hipotonia, poważne zaburzenia gospodarki wodno – elektrolitowej i kwasowo – zasadowej czy niewydolność oddechowa [11, 45, 64, 161, 224].

Zastosowanie IHD w przypadku zatrucia glikolem etylenowym skraca biologiczny okres półtrwania kwasu glikolowego nawet o połowę, do około 2 - 4 godzin. W zatruciu EG, w trakcie zabiegu hemodializy, alkohol etylowy (odtrutka) powinien być nadal podawany, tak aby skutecznie blokujące stężenie EA wynosiło około 100 mg/dl (1,0 g/l) [161]. Wskazaniem do stosowania hemodializy u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym są (Tab. 12) [7, 22, 45, 161]:

- nasilenie kwasicy metabolicznej ( $\text{pH} < 7,10$ ); spadek pH krwi o 0,05 w stosunku do wcześniejszej wartości pH pomimo podawania wodorowęglanów oraz brak możliwości utrzymania pH krwi  $> 7,3$  pomimo podawania wodorowęglanów;
- zaburzenia równowagi elektrolitowej pomimo stosowania standardowej terapii;
- spadek stężenia  $\text{HCO}_3^-$  pomimo podawania wodorowęglanów;

- niewydolność nerek (stężenie kreatyniny > 3 mg/dl lub wzrost o 1,0 mg/dl w stosunku do wcześniejszej wartości);
- pogorszenie stanu zdrowia pomimo stosowania intensywnej terapii;
- stężenie glikolu etylenowego w krwi > 0,5 g/l;
- stężenie kwasu glikolowego w krwi >8 mmol/l.

**Tabela 12.** Parametry toksykokinetyczne glikolu etylenowego kwalifikujące zatrutych pacjentów do hemodializy [143, 148].

<b>Parametry toksykokinetyczne EG decydujące o zastosowaniu hemodializy</b>	<b>Wartość</b>
<b>Dawka śmiertelna</b>	1,4-1,6 ml/kg m.c.
<b>Masa cząsteczkowa</b>	62,4 g
<b>Objętość dystrybucji</b>	0,5-0,8 l/kg
<b>Wydalenie – kinetyka reakcji</b>	„0” lub „I” rzędu
<b>Całkowity klirens</b>	70 ml/min
<b>Nerkowy klirens (zależny od funkcji nerek)</b>	17-39 ml/min
<b>T<sub>1/2</sub> po podaniu 4-MP</b>	Ok. 20 h
<b>T<sub>1/2</sub> po podaniu etanolu</b>	11-18 h
<b>T<sub>1/2</sub> podczas dializy</b>	150-210 min
<b>Klirens podczas dializy (zależny od przepływu krwi podczas hemodializy)</b>	192-210 ml/min
<b>Klirens głównych metabolitów (kwas glikolowy)</b>	254 ml/min

## 2. Stres oksydacyjny

### 2.1. Reaktywne formy i wolne rodniki

Reaktywne formy (RF) są atomami, cząstkami lub jonami o dużej aktywności chemicznej, posiadającymi na ostatniej orbicie niesparowane (wolne) elektrony (jeden lub kilka). Wolne rodniki (WR) są produktami powstającymi podczas przenoszenia elektronów między orbitami lub rozrywania wiązań w cząsteczkach związków chemicznych m.in. pod wpływem wysokiej temperatury, promieniowania  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  i nadfioletowego lub w procesach chemicznych, w których dochodzi do utleniania i redukcji [124, 160, 184].

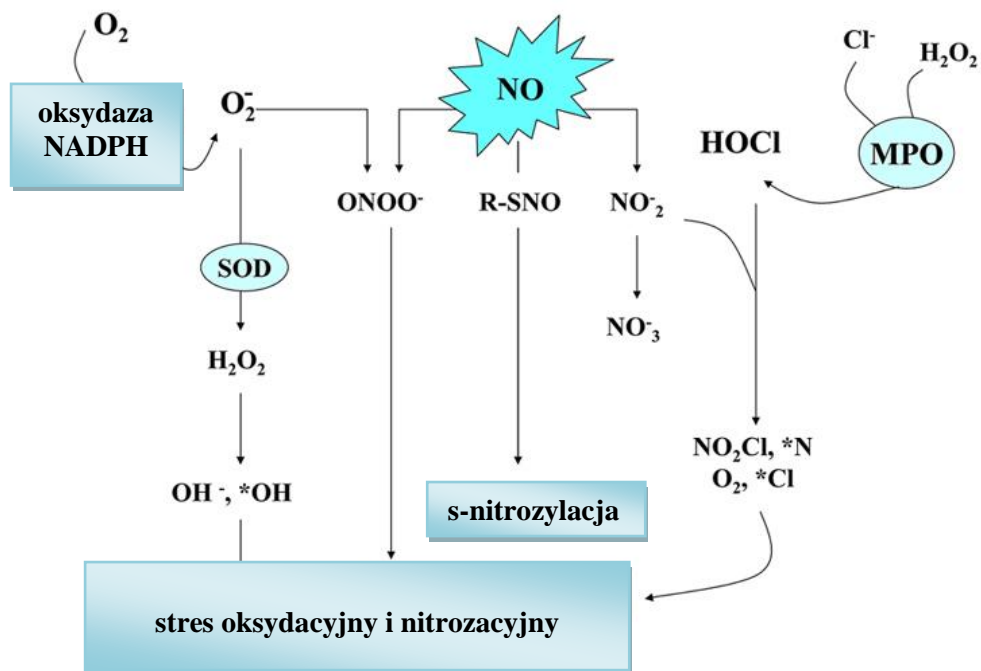
Produktami pełnej lub częściowej redukcji oraz wzbudzenia cząsteczek tlenu i azotu są reaktywne formy tlenu (RFT) i reaktywne formy azotu (RFA) (Ryc. 5). W fizjologicznym stężeniu kontrolują kluczowe dla komórki reakcje, będąc jednocześnie pod ścisłym nadzorem

organizmu. RF w stanie niezaburzonej równowagi organizmu pełnią rolę mediatorów i regulatorów metabolizmu. Biorą udział w różnicowaniu komórek, indukcji ich śmierci lub aktywacji wybranych genów. Dodatkowo przekazują sygnały zarówno wewnątrz komórki jak i między komórkami, przez co regulują syntezę kwasów nukleinowych (np. RNA) i białek. Dopiero stres oksydacyjny i nitrozacyjny, które są zaburzeniami równowagi między mechanizmami obronnymi komórki a dynamicznie wzrastającą liczbą reaktywnych form tlenu i azotu powstających na drodze wolnorodnikowych reakcji, prowadzą do zmian w budowie i funkcji m.in. białek, lipidów, węglowodanów i kwasów nukleinowych [9, 124, 150, 160, 184, 226].

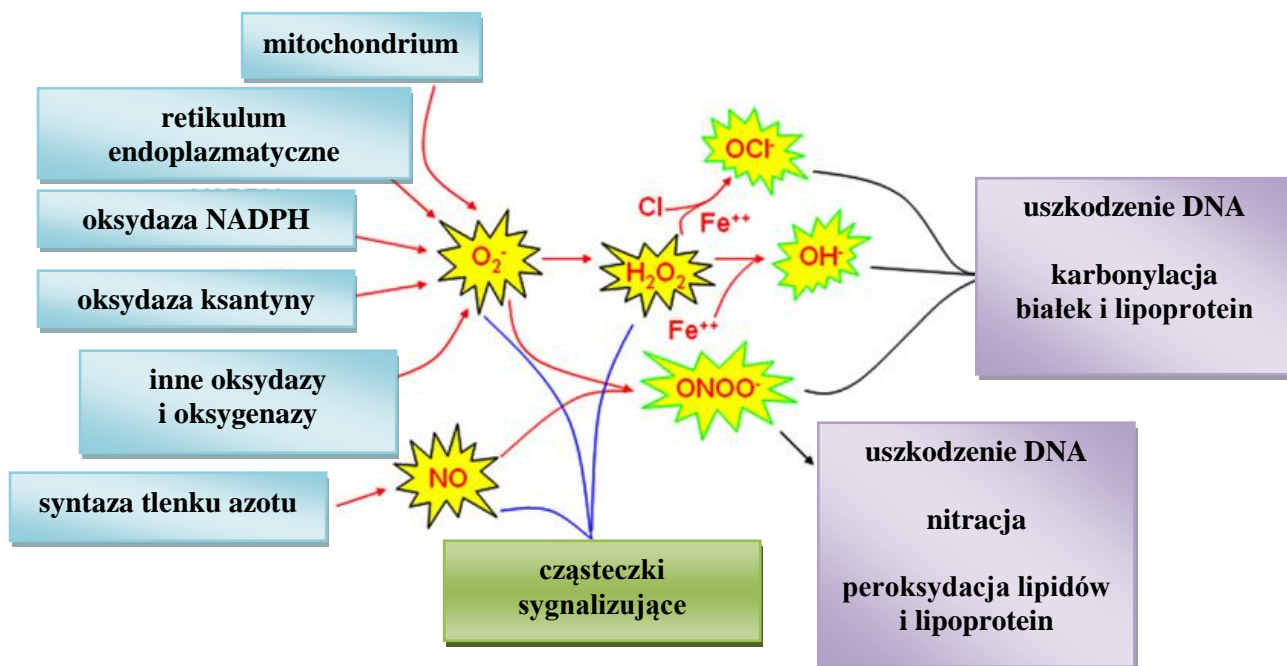
Tlen ulega czteroetapowej redukcji, w wyniku czego powstaje cząsteczka wody. Spośród najważniejszych produktów pośrednich redukcji tlenu należy wymienić: anionorodnik ponadtlenkowy  $O_2^{\cdot -}$ , rodnik tlenkowy  $O^{\cdot -}$ , rodnik wodoronadtlenowy  $HO_2^{\cdot}$  i rodnik wodorotlenowy  $^{\cdot}OH$ . Do reaktywnych form azotu należą m.in.: tlenek azotu  $NO^{\cdot}$  i dwutlenek azotu  $NO_2^{\cdot}$ . Wchodzą one szybko w reakcje łańcuchowe, prowadząc do powstawania kolejnych produktów tlenowych i azotowych oraz form o charakterze nierodnikowym tj.: nadtlenek wodoru  $H_2O_2$ , kwas nadtlenoazotawy  $OONO$ , kwas podchlorawy  $HOCl$ , podtiocyjanowy  $HOSCN$  [138, 160, 184].

Anionorodnik ponadtlenkowy  $O_2^{\cdot -}$  powstający w wyniku jednoelektronowej redukcji  $O_2$  jest trwałą cząsteczką wykazującą dużą zdolność przemieszczania się, co sprawia, że działa nie tylko w miejscu, w którym powstaje. Uszkadza lipidy, białka i kwasy nukleinowe, co prowadzi do zaburzeń metabolizmu komórkowego. Zmienia właściwości utleniaczy lub reduktorów w procesach utleniania i redukcji, łatwo reagując z jonami metali. Ulega reakcji dysmutacji, prowadzącej do powstania nadtlenku wodoru  $H_2O_2$ . W prawidłowo funkcjonujących komórkach  $O_2^{\cdot -}$  jest redukowany przez dysmutazę ponadtlenkową (SOD) [9, 184].

Rycina 5. Wolne rodniki tlenowe i azotowe (zastosowane skróty: SOD - dysmutaza ponadtlenkowa, MPO – mieloperoksydaza) [63].

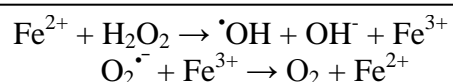


Rycina 6. Źródła reaktywnych form tlenu i azotu oraz ich udział w reakcjach sygnalizacyjnych i efekty ich szkodliwego działania w modyfikacji własnej [39].

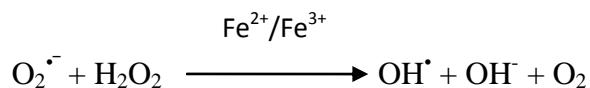


Nadtlenek wodoru nie posiada niesparowanego elektronu, niemniej zaliczany jest do reaktywnych form nierodnikowych jako silny utleniacz reagujący z różnymi grupami chemicznymi np. tiolowymi -SH. Równie łatwo jak  $O_2^{\cdot-}$ , nadtlenek wodoru utlenia jony metali  $Fe^{2+}$  do  $Fe^{3+}$  oraz  $Cu^+$  do  $Cu^{2+}$  przyczyniając się do powstawania rodnika hydroksylowego  $\cdot OH$  (reakcja Fentona i Habera-Weissa) (ryc. 7 i 8) [160].

**Rycina 7.** Reakcja nadtlenku wodoru z jonami żelaza (II) z wytwarzaniem rodnika hydroksylowego (Fentona).



**Rycina 8.** Reakcja nadtlenku wodoru i anionorodnika ponadtlenkowego w obecności jonów żelaza (II) z wytwarzaniem rodnika hydroksylowego (Habera-Weissa).



Rodnik hydroksylowy  $\cdot OH$  jest bardzo silnym utleniaczem i jedną z najbardziej niebezpiecznych reaktywnych form tlenu, która może reagować ze wszystkimi związkami chemicznymi w organizmie [124, 160].

### 2.1.1. Źródła reaktywnych form tlenu i wolnych rodników

Źródłami (wewnątrzkomórkowymi) wolnych rodników w komórkach są przemiany metaboliczne, szczególnie procesy oksydacyjne zachodzące w mitochondriach (mikrosomalny łańcuch transportu elektronów i łańcuch oddechowy) i peroksysomach (Ryc. 6). Dodatkowo RFT są generowane podczas peroksydacji lipidów, reakcji proteolitycznych i enzymatycznych, immunologicznych procesów obronnych, utleniania niskocząsteczkowych zredukowanych form i białek oddechowych czy oksydacji ksenobiotyków. Wprawdzie najważniejszym komórkowym źródłem rodników: ponadtlenkowego i hydroksylowego oraz nadtlenku wodoru jest mitochondrialny łańcuch oddechowy, to niewyczerpane źródło generujące  $H_2O_2$  i anionorodnik ponadtlenkowy stanowią również peroksysomy [103, 160, 184].

Kolejnym miejscem, w którym powstają RFT jest mikrosomalny łańcuch transportu elektronów z udziałem NADPH - zależnej reduktazy. Zredukowany cytochrom P450 wiąże tlen i wbudowuje go do cząsteczki substratu, w efekcie czego powstaje grupa hydroksylowa.

W wyniku tej reakcji, podczas przepływu elektronów przez mikrosomalny cykl hydroksylacyjny, wytwarzany jest anionorodnik ponadtlenkowy i  $H_2O_2$  [124, 160, 184].

Oprócz dynamicznie produkującej wolne rodniki macierzy mitochondrialnej, aktywnym miejscem transportu elektronów, wytwarzającym duże ilości rodnika ponadtlenkowego jest błona wewnętrzna organelli. Źródłem RFA są również mitochondria, które przy udziale syntazy tlenku azotu w reakcji z anionorodnikiem ponadtlenkowym, tworzą nadtlenoazotyn  $ONOO^-$ , zaangażowany m.in. w utlenianie glutationu czy peroksydację lipidów [9, 86, 103, 124].

Na ilość powstających RFT istotnie wpływają: stany zapalne, zmiany niedokrwienne oraz przemiany biotransformacyjne związków endo- i egzogennych m.in. w wątrobie. Do zwiększonej produkcji RFT prowadzą również: aktywacja oksydazy ksantynowej (również poprzez przekształcanie dehydrogenazy ksantyny do oksydazy ksantynowej) i hemoglobiny, uwalnianie wolnego żelaza, metabolizm prostaglandyn, aktywacja komórek śródbłonna oraz utlenianie homocysteiny przy udziale żelaza. Dużą rolę w tworzeniu RFT odgrywają także neutrofile (ich aktywacja) oraz metabolizm katecholamin i kwasu arachidonowego [9, 67, 91, 124].

Wśród pozakomórkowych przyczyn prowadzących do zachwiania równowagi oksydoredukcyjnej należy wymienić m.in. czynniki fizyczne (promieniowanie ultrafioletowe, jonizujące), biologiczne (infekcje wirusowe i bakteryjne) oraz środowiskowe (choroby, metale ciężkie, leki, urazy, stres, alkohol, palenie tytoniu, dieta) [66, 116, 124, 160, 171, 184].

### **2.1.2. Efekty działania stresu oksydacyjnego**

Wolne rodniki mogą reagować ze wszystkimi składnikami komórkowymi a spowodowane uszkodzenia występują już na poziomie biocząsteczek i ich jednostek strukturalnych m.in. białek (reszty aminokwasowe połączone wiązaniami peptydowymi), kwasów nukleinowych (nukleotydy), lipidów (grupy ketoacylowe i izoprenowe) i węglowodanów (grupy karbonylowe oraz hydroksylowe) oraz ważnych funkcjonalnie, transporterów błonowych (typu ABC). Na skutek niszczenia składników komórki, dochodzi do powstawania złożonych form rodnikowych, które wchodząc w reakcję z metabolitami komórkowymi, doprowadzają ostatecznie do śmierci komórki na drodze apoptozy i nekrozy [9, 39, 86, 124].

Tlenowy metabolizm komórkowy powoduje zmiany oksydacyjne w komórkach, których w stresie oksydacyjnym nie da się wyeliminować mimo dostępnych narzędzi obronnych. Przy dużej ilości wolnych rodników dochodzi do gromadzenia utlenionych

produktów białkowych, peroksydacji lipidów (zwłaszcza tych obecnych w błonach komórkowych) oraz niszczenia struktur kwasów nukleinowych i węglowodanów [124].

W prawidłowo funkcjonującej komórce, ilość grup tiolowych niezbędnych do właściwego działania białek pozostaje w równowadze i jest kontrolowana przez glutation. Jednak zaburzona jego funkcja na skutek stresu oksydacyjnego nie pozwala na utrzymanie ich w stanie zredukowanym [27, 124]. Rodnik ponadtlenkowy  $O_2^{\cdot-}$ , wodorotlenowy  $OH^{\cdot}$  i nadtlenek wodoru  $H_2O_2$  bezpośrednio utleniają białkowe grupy tiolowe ( $-SH$ ) m.in. cysteiny i metioniny. Dochodzi wówczas do szybkiej utraty aktywności biologicznej tych białek, zaburzenia homeostazy wapniowej oraz deficytu prawidłowo działających enzymów i transporterów. Utlenianie grup  $-SH$  prowadzi do zwiększonej przepuszczalności błon komórkowych oraz ich dezintegracji. Dodatkowo generowane przez RFT grupy białkowe, które powstają w wyniku uszkodzenia aminokwasów aromatycznych (tryptofan, tyrozyna), mają zdolność do redukcji metali przejściowych i cytochromu c. Wysokie stężenie RFT i obniżona czynność układów proteolitycznych powodują gromadzenie się uszkodzeń oksydacyjnych białek, co ma znaczenie w procesach starzenia czy etiopatogenezie wielu stanów chorobowych [9, 124].

Peroksydacja lipidów (LPO), podobnie jak uszkodzenia oksydacyjne grup  $-SH$ , przyczyniają się do utraty funkcji ochronnych i transportowych błon komórkowych. Utlenianie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych lub reszt tych kwasów wchodzących w skład fosfolipidów, skutkuje tworzeniem się reaktywnych wodoronadtlenków, będących pierwszymi produktami LPO. Powstające nadtlarki są mniej reaktywne niż RFT, co powoduje, że łatwo się przemieszczają i pełnią funkcję wtórnych przekaźników nieprawidłowego ich funkcjonowania. Reagują z grupami aminowymi białek, lipidów, aminocukrów i zasad azotowych kwasów nukleinowych. Dzięki wzrastającemu stężeniu RFT zachodzą kolejne przemiany peroksydacji lipidów, na drodze których z wodorotlenków powstają produkty bardziej stabilne i trwałe takie jak: dimery fosfolipidów. Należą do nich epoksydowe związki np. hydroksynonenal (HNE) oraz inne nasycone i nienasycone aldehydy. Ostatecznie zmiany LPO prowadzą do powstania izoprostanów i dialdehydu malonowego (MDA). Powstające produkty peroksydacji lipidów, w tym MDA prowadzą do utraty integralności błon wewnątrzkomórkowych jak i całej komórki [9, 80, 86, 91, 124].

Również z pozoru stabilna struktura kwasów nukleinowych jest atakowana przez wolne rodniki. Za te uszkodzenia odpowiedzialny głównie jest rodnik hydroksylowy. Następstwem jego bezpośredniego działania jest uszkodzenie zasad azotowych, wiążących je połączeń fosfodiesterowych i grup cukrowych. W efekcie tworzą się poprzeczne wiązania



z białkami, które prowadzą do powstania oksydacyjnie zmienionych zasad (guaniny, reszt tymidyny), powodując mutacje zmieniające ekspresję genów. Dodatkowo może dochodzić do pęknięć podwójnej nici DNA i zaprogramowanej śmierci komórki lub mechanicznego jej uszkodzenia a finalnie nekrozy. Efektem działania RFT mogą być również powstające addukty zmodyfikowanych zasad azotowych (np. metylocytozyny), takie jak: glikol tyminy, który jest odpowiedzialny za mutacje, zaburzające działanie DNA na ogólne i specyficzne czynniki transkrypcyjne (GTF, ang. *general transcription factors*; STF, ang. *specific transcription factors*) [39, 124].

Reakcje wolnorodnikowe wpływają również na struktury węglowodanów. RFT niszczą wiązania glikozydowe, tworząc oksydacyjne produkty o zmienionych właściwościach antygenowych, których nagromadzenie prowadzi do zmian miażdżycowych i cukrzycowych (Ryc. 9) [9, 86, 124].



**Rycina 9.** Stany chorobowe, w których etiopatogenezę zaangażowane są RFT [9, 160, 222].

### **2.1.3. Ochronna bariera antyoksydacyjna przed stresem oksydacyjnym**

Za redukcję RFT i RFA odpowiedzialne są systemy enzymatyczne i nieenzymatyczne drobnocząsteczkowe przeciwutleniacze. Najskuteczniejsze działanie ochronne organizmu występuje wówczas, gdy wszystkie składniki systemu antyoksydacyjnego pozostają w równowadze i współpracują ze sobą. Dysfunkcja chociażby jednej składowej powoduje zaburzenie bariery ochronnej i może być przyczyną powstawania produktów wolnorodnikowych i uszkodzeń w strukturze białek, lipidów czy kwasów nukleinowych. Mechanizmy obronne są uruchamiane w odpowiedzi na wzrost stężenia wolnych rodników, pojawiający się stres oksydacyjny i efekty ich działania na komórki i struktury komórkowe. Podstawowym zadaniem mechanizmów ochronnych bariery antyoksydacyjnej jest wyeliminowanie dużych ilości RFT i ich pochodnych. Dobrze zorganizowany system zabezpieczający komórkę przed produktami wolnorodnikowych reakcji działa na etapie niedopuszczania do inicjowania tych reakcji, niszczenia powstałych już produktów oraz naprawiania uszkodzonych cząsteczek [27, 74, 131, 184].

Efektywnie działająca bariera antyoksydacyjna zapewnia homeostazę, która skutecznie utrzymuje równowagę oksydoredukcyjną w komórce. Biorą w niej udział przeciwutleniacze endogenne tj. enzymy (dysmutaza ponadtlenkowa SOD, katalaza CAT, peroksydaza glutationowa GPx, reduktaza glutationowa GR i S-transferaza glutationowa GST) oraz składniki nieenzymatyczne tj. albumina, bilirubina, ceruloplazmina, glutation, koenzym Q, kwas limonowy, kwas moczowy, melatonina, poliamidy oraz transferyna. Spośród substancji nieenzymatycznych można wyróżnić te, które są rozpuszczalne w tłuszczach (hydrofobowe: bilirubina, cholesterol, karotenoidy, koenzym Q, tokoferole, witamina i prowitamina D<sub>3</sub>) i chronią wewnątrz komórki oraz hydrofilowe (askorbinian, cysteina, glutation, flawonoidy, kreatynina, kwas moczowy), rozpuszczalne w wodzie, zapobiegające uszkodzeniom w środowisku wodnym. Do egzogennych elementów bariery antyoksydacyjnej, należą: karotenoidy, ksantofile, polifenole oraz witaminy (A, askorbinian, tokoferol) [9, 74, 124, 131, 163, 184, 226].

## **2.2. Stres oksydacyjny w zatruciach**

Istniejąca w warunkach fizjologicznych równowaga między ilością produkowanych RFT a systemem obronnym organizmu, zapobiega uszkodzeniom komórek na poziomie strukturalnym i funkcjonalnym. Jednak, gdy dochodzi do zaburzenia tej równowagi, powstający stres oksydacyjny może być łączony z etiopatogenezą wielu stanów chorobowych

m.in. miażdżycą, cukrzycą, nadciśnieniem tętniczym czy otyłością (Ryc. 9). Zaburzenie równowagi oksydoredukcyjnej ustroju oraz osłabienie aktywności przeciwutleniaczy towarzyszy również ostrym i przewlekłym zatruciom. Taki deficyt antyoksydacyjny występuje nie tylko w efekcie narażenia na powszechnie znane trucizny takie jak alkohol etylowy czy dym tytoniowy, ale również w następstwie ekspozycji na tlenek węgla, pestycydy, metale ciężkie (arsen, kadm, glin), gazy anestetyczne (zwłaszcza personel medyczny pracujący na salach operacyjnych) czy nadużywania leków (paracetamol, antydepresanty) [3, 4, 12, 44, 46, 51, 53, 66, 105, 112, 136, 137, 154].

Opublikowane dane potwierdzają, że dobrze poznane związki toksyczne takie jak: tetrachlorek węgla (CCl<sub>4</sub>) wywołują silny stres oksydacyjny, obniżając zdolności antyoksydacyjne wątroby. W następstwie dochodzi do zwłóknienia i martwicy hepatocytów [212].

Z dostępnych danych wynika również, że w zatruciach alkoholem etylowym, zarówno w ostrych, jak i przewlekłych, aktywność enzymów antyoksydacyjnych ulega istotnym zmianom np. w mózgu zwierząt. Wyniki badań Augustyniak dowodzą, że obniżenie aktywności tych enzymów świadczy o oksydacyjnych modyfikacjach cząsteczek białek enzymatycznych przez wolne rodniki, które powstają zarówno podczas biotransformacji etanolu, jak i aldehydu octowego. Wzrost aktywności tych enzymów, z wyjątkiem katalazy, można traktować jako odpowiedź adaptacyjną komórki na nadmierne wytwarzanie wolnych rodników. Natomiast obniżenie aktywności katalazy może być związane z nasileniem syntezy białka. W zatruciu etanolem dochodzi również do obniżenia stężenia glutationu, szczególnie w mózdzku, prążkowie i korze mózgowej, co może być spowodowane wzrostem stężenia aldehydu octowego usuwanego z komórki z udziałem glutationu [4, 46].

Podobnie prezentują się dane dotyczące spożywania etanolu w dużych ilościach przez osoby uzależnione. Przewlekłe stosowanie alkoholu generuje duże ilości wolnych rodników, inicjuje peroksydację lipidów, powoduje uszkodzenia mitochondrialne i obniża zawartość glutationu w komórce, prowadząc do obniżenia całkowitej zdolności antyoksydacyjnej organizmu [66, 114, 116, 153].

Także przemianom biotransformacyjnym glikolu etylenowego zachodzącym z udziałem cytochromu P450 towarzyszy utrata elektronów i generowanie wolnych rodników na drodze oksydacyjnych reakcji. Mimo tego, że cytochrom P450 utlenia tylko niewielką część tego alkoholu, to odgrywa on kluczową rolę w wytwarzaniu stresu oksydacyjnego. Procesy utleniania koenzymów, biorące udział w biotransformacji, skutkują przeniesieniem elektronów na tlen, w wyniku czego powstają: anionorodnik ponadtlenkowy i nadtlenek

wodoru. Obecność glikolu etylenowego w komórkach prowadzi do nagromadzenia wolnych rodników uszkadzających, praktycznie wszystkie składniki komórkowe. Liczne badania prowadzone na modelach zwierzęcych potwierdzają związek między stresem oksydacyjnym a narażeniem na glikol etylenowy. Z badań Jurczyk i wsp. wynika, że powstające nadtlenki indukują proces peroksydacji lipidów, przyczyniając się do wzrostu stężenia aldehydu malonowego [106-109]. Niebezpieczeństwo stanowi również utlenianie związków z grupami tiolowymi (-SH), które prowadzą do niszczenia błon komórek i zwiększenia ich przepuszczalności. Tak więc przemiany jakim ulega glikol etylenowy, prowadzą do oksydacyjnych uszkodzeń tkanek i narządów.

Powyżej opisane fakty wskazują na istotność kompleksowej oceny zmian równowagi oksydoredukcyjnej w badaniach nad toksycznością znanych i nieznanymi związków chemicznych. Zrozumienie mechanizmów leżących u podstaw generowanego stresu oksydacyjnego w przebiegu narażenia na związki toksyczne może być przydatne zarówno w identyfikacji jak i przeciwdziałaniu szkodliwym skutkom wywołanym ich toksycznym działaniem.

### **2.3. Markery stresu oksydacyjnego**

Wysokie stężenie RFT i obniżona czynność układów proteolitycznych powodują, że uszkodzenia oksydacyjne białek gromadzą się nadmiernie w komórkach, co ma znaczenie w procesach starzenia czy etiopatogenezie wielu stanów chorobowych. Wskaźnikiem tym zmian są najczęściej grupy karbonylowe białek, które pozostają po oksydacji m.in. reszt aminokwasów, posiadających w swej budowie grupy aminowe, amidowe czy hydroksylowe (tyrozyna). Grupy karbonylowe są stabilnym produktem oksydacyjnych uszkodzeń białek, a wzrost ich stężenia świadczy o szkodliwych zmianach. Podwyższone stężenia grup karbonylowych stwierdzono m.in. w chorobach neurodegeneracyjnych, szczególnie u chorych na parkinsonizm [5, 9, 86, 124, 134, 150, 171].

Nasilenie peroksydacji lipidów np. w stanach zapalnych, infekcjach czy w procesie starzenia komórek, prowadzi do uszkodzenia i depolaryzacji błon komórkowych, co skutkuje wzrostem stężenia wolnych rodników o charakterze lipidowym. Zmodyfikowane cząsteczki lipidowe tj. hydroksynonenal i dialdehyd malonowy, uszkadzają nie tylko błony komórkowe, ale również białka i jednostki strukturalne kwasów nukleinowych. Wzrost ich stężenia oraz podwyższone poziomy związków, które reagują z kwasem tiobarbiturowym (TBARS), wykorzystywane są jako markery stresu oksydacyjnego świadczące o nasileniu peroksydacji i szkodliwym jego wpływie na struktury białkowe czy węglowodanowe. Podwyższone

poziomy TBARS wykazano w chorobie Alzheimera, co potwierdzało zmiany w budowie fosfolipidów [5, 9, 80, 85, 86, 124, 150, 171].

Również nukleotydy stanowiące podstawowe jednostki strukturalne kwasów nukleinowych ulegają licznym uszkodzeniom oksydacyjnym pod wpływem stresu oksydacyjnego. Efektem ich szkodliwego działania są powstające nadtlenki o zmienionej konfiguracji i kolejności zasad. Łatwo utlenieniu ulega np. tymidyna, która w reakcji z rodnikiem hydroksylowym tworzy różne izomery nadtlenków tymidyny. Równie podatna na zmiany oksydacyjne jest guanina, która pod wpływem tego samego rodnika tworzy 8-hydroksyguaninę (8-OH-G), będącą najczęściej spotykanym uszkodzeniem zasad azotowych w kwasach nukleinowych. W komórkach nowotworowych zidentyfikowano ponad 100 rodzajów zmodyfikowanych produktów oksydacyjnych powstających w wyniku działania wolnych rodników na kwasy nukleinowe, a w szczególności na DNA. Potwierdzono udział 8-OH-G w procesie kancerogenezy [5, 9, 39, 86, 124, 150].

Spośród markerów wykorzystywanych w identyfikacji uszkodzeń w strukturach węglowodanów, znane są produkty glikacji tzw. AGEs (z ang. *advanced glycation end products*), które swoje zastosowanie znalazły w diagnostyce miażdżycy i zmian cukrzycowych [5, 86, 124].

Badania, których celem jest określenie wielkości stresu oksydacyjnego w organizmie muszą uwzględniać różne czynniki. Nie ma bowiem jednej metody i markera, które umożliwiłyby w wystarczający sposób ocenę stopnia tworzenia wolnych rodników i związanych z nimi uszkodzeń komórkowych. Wybrane markery są swoistymi wskaźnikami zmian oksydacyjnych występujących w lipidach, białkach, węglowodanach i kwasach nukleinowych, stanowiąc mierzalny dowód zaburzeń równowagi oksydoredukcyjnej i metabolicznych następstw stresu oksydacyjnego. Od lat 60 XX wieku do oceny jakościowej i ilościowej bariery antyoksydacyjnej komórki wykorzystuje się oznaczenia aktywności enzymów takich jak: dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza, reduktaza i peroksydaza glutationowa.

Wzrastające zainteresowanie stresem oksydacyjnym, spowodowało, że od lat 90 opracowano nowe metody umożliwiające ocenę całkowitej zdolności antyoksydacyjnej komórki, tkanki czy nawet całego organizmu. Pomiaru te mogą być prowadzone w materiale biologicznym (krwi, ślinie, moczu, kale), żywności czy roślinnych wyciągach. Obecnie dostępne testy mierzące jakość i ilość hydrofilowych antyoksydantów w próbce umożliwiają ocenę sprawności organizmu w ograniczaniu i niwelowaniu skutków stresu oksydacyjnego i nitracijnego [5, 30, 41, 150].

### 2.3.1. Bezpośrednia ocena stężenia przeciwutleniaczy i przegląd dostępnych metod

Bezpośrednia ocena stężenia antyoksydantów (enzymatycznych i nieenzymatycznych) jest wykładnikiem stresu oksydacyjnego, wskazującym na stopień jego nasilenia i stan mechanizmów obronnych. Zazwyczaj do oceny stresu oksydacyjnego wykorzystuje się różne markery, w tym: antyoksydanty – enzymy (SOD, GPx, GST, GR i CAT), małowcząsteczkowe związki (tiodoksyna (Trx), białka szoku cieplnego, karotenoidy, witaminy (askorbinian, tokoferol), glutation, białka tiolowe, kwas moczowy, koenzym Q<sub>10</sub>), metale (selen, miedź, cynk) i białka transportowe (ceruloplazmina). Do oceny tak zróżnicowanych związków jak enzymy, białka czy małowcząsteczkowe związki, niezbędne są różne testy, uwzględniające ocenę aktywności pojedynczych przeciwutleniaczy lub kilku na podstawie całkowitej pojemności antyoksydacyjnej [5, 30, 36, 76, 125, 140, 150].

Większość dostępnych metod opiera się na pomiarach chromatograficznych, spektrofotometrycznych, kolorymetrycznych, rzadko elektrochemicznych [30, 36, 76, 140, 169]. W związku z tym, że żywotność wolnych rodników jest bardzo krótka to metoda ich oznaczenia jest bardzo trudna. Pomiar stężenia wolnych rodników możliwy jest jedynie przy zastosowaniu spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) [5, 76, 91, 150].

Większość dostępnych wskaźników pozwala ocenić efekty stresu oksydacyjnego na podstawie: peroksydacji lipidów (krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, aldehydy: dialdehyd malonowy, w reakcji z kwasem tiobarbiturowym (TBA) oraz hydroksynonenal); oksydacji białek (nadtlenki, grupy karbonylowe i wodorotlenowe), uszkodzenia oksydacji DNA (8-hydroksyguanina). Dodatkowo stosuje się ocenę gospodarki żelazem w organizmie (poziomu żelaza (wolnego), ferrytyny, transferyny i wysycenie transferyną). Wykorzystuje się również stężenie homocysteiny i glukozy oraz aktywność mieloperoksydazy (katalizującej reakcje powstawania kwasu podchlorawego) [5, 9, 76].

Metody oceniające natężenie stresu oksydacyjnego oparte są na jednym z dwóch mechanizmów dezaktywacji wolnych rodników: HAT (z ang. *hydrogen atom transfer*) polegającym na przeniesieniu atomu wodoru lub SET (z ang. *single electron transfer*), w którym przenoszony jest pojedynczy elektron. Część z tych metod umożliwia ocenę aktywności antyoksydacyjnej poprzez konkurencyjne utlenienie antyoksydantów (podobnie jak w przypadku uruchomienia systemów obronnych w komórce) lub reakcję utleniacza z przeciwutleniaczem w badanej próbce [5, 36, 41].

Istnieje szereg metod pomiarowych, wykorzystujących technikę SET, pozwalającą na ocenę aktywności i potencjału antyoksydacyjnego. Najpopularniejsze spośród nich są testy *in vitro* z odczynnikami takimi jak: 2,2-difenyl-1-pikrylohydrazyl (DPPH), 2,2'-azobis-3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian (ABTS), czy dichlorowodorek dimetylo-p-fenylenodiaminy (DMPD). Testy *in vitro* są tańsze i łatwiejsze do wykonania w porównaniu do badań *in vivo*. Bezpośrednia ocena właściwości redukujących badanego związku czy materiału biologicznego, możliwa jest dzięki zastosowaniu metody oznaczania m.in. zdolności redukcji jonów żelaza FRAP (z ang. *ferric reducing ability of plasma*) lub jej odmiana CRA (z ang. *copper reduction assay*), w której redukowane są jony miedzi [5, 30, 36, 41, 76, 169].

Spśród metod umożliwiających pomiar uszkodzeń chemicznych, wykorzystujących technikę HAT najpopularniejsze jest oznaczenie zdolności absorpcji rodników tlenowych ORAC (z ang. *oxygen radical absorbance capacity*), bardziej czułe niż FRAP. Testem oceniającym całkowitą zdolność wychwytywania wolnych rodników jest TRAP (z ang. *total radical – trapping antioxidant potential*), który wyznacza aktywności przeciwutleniające na podstawie czasu koniecznego do oksydacji próbki i użytego wzorcowego przeciwutleniacza. Dostępne są również testy, działające na innej zasadzie niż HAT ani SET, do których należą m.in. badania całkowitej zdolności wychwytywania rodników tlenowych TOSC (z ang. *total oxidant scavenging capacity*). Obrazują one całkowitą pojemność bariery antyoksydacyjnej komórki, tkanki lub narządu, na którego wartość wpływają niskocząsteczkowe antyoksydanty oraz enzymy antyoksydacyjne. Wskazują na wyczerpanie rezerwy antyoksydacyjnej jako miary równowagi oksydoredukcyjnej ustroju [5, 30, 36, 41, 76, 169].

W prawidłowo funkcjonującym systemie antyoksydacyjnym wymagane jest również utrzymanie odpowiednich stężeń mikroelementów m.in. ryboflawiny, cynku, manganu i miedzi. Obecność w komórkach dużych ilości metali przejściowych może dodatkowo sprzyjać generowaniu RFT, co skutkuje obniżonym poziomem czynników redukujących takich jak: glutation, askorbinian i tokoferol oraz wzrostem ilości uszkodzonych biomolekuł [9, 76, 134].

### 3. Cel pracy

Glikol etylenowy stanowi zagrożenie dla zdrowia i życia ludzkiego prowadząc do zatrucia, które objawiają się przede wszystkim rozwojem kwasicy metabolicznej, występowaniem zaburzeń ze strony ośrodkowego układu nerwowego, układu oddechowo-kръżeniowego, a także ostrą niewydolnością nerek. Takie działania są efektem szybkiej biotransformacji glikolu etylenowego do toksycznych metabolitów. Co więcej przemiany glikolu etylenowego istotnie wpływają na równowagę oksydoredukcyjną organizmu i mogą prowadzić do zaburzeń prawidłowo funkcjonującego systemu antyoksydacyjnego. Powstające podczas biotransformacji toksyczne metabolity wyczerpują zasoby i potencjał antyoksydacyjny komórek a generowane reaktywne formy tlenu mogą powodować uszkodzenia cząsteczek tłuszczów, DNA i białek.

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu glikolu etylenowego na równowagę antyoksydacyjną w materiale klinicznym pobranym od pacjentów hospitalizowanych z powodu ostrego zatrucia tym alkoholem. Podjęto próbę określenia korelacji markerów stresu oksydacyjnego z parametrami biochemicznymi określającymi ciężkość przebiegu zatrucia w zależności od stężenia glikolu etylenowego oraz czasu jaki upłynął od narażenia. W pracy oceniono również wpływ podjętego postępowania leczniczego, w tym podania alkoholu etylowego oraz przeprowadzonego zabiegu hemodializy, na poziom wybranych markerów stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym. Do oceny równowagi antyoksydacyjnej wykorzystano pomiary aktywności enzymów antyoksydacyjnych (katalazy, peroksydazy glutationowej, S-transferazy oraz reduktazy glutationowej), stężenia glutationu oraz poziomu produktów peroksydacji lipidów, w tym stężenia hydroksynonenalu wraz z oceną całkowitej pojemności antyoksydacyjnej. Oceniono również wpływ wieku, płci, zaburzeń biochemicznych i obecności innych alkoholi w materiale biologicznym pobranym w określonych punktach czasowych na wartości markerów stresu oksydacyjnego. Stan czynnościowy nerek i wątroby oceniono na podstawie oznaczonych parametrów tj. stężenia kreatyniny, mocznika, aktywności aminotransferaz alaninowej i asparaginianowej. Natomiast stan równowagi kwasowo-zasadowej oceniono na podstawie wyników gazometrii krwi tętniczej. Uzyskane wyniki porównano z wartościami tych parametrów w grupie kontrolnej zdrowych osób.



W oparciu o podstawowe cele badań postawiono następujące pytania badawcze:

1. Jaki jest udział stresu oksydacyjnego w toksycznym działaniu glikolu etylenowego?
2. W jaki sposób zmieniają się markery stresu oksydacyjnego w ostrym zatruciu glikolem etylenowym pod wpływem zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej, stanu czynnościowego wątroby i nerek, wieku czy płci, czasu jaki minął od zatrucia oraz zastosowanego postępowania leczniczego a przede wszystkim stężenia glikolu etylenowego w materiale pobranym od pacjentów?
3. Czy stan kliniczny pacjenta koreluje z stwierdzonymi zaburzeniami oksydacyjnymi?

W oparciu o założone cele badań postawiono kolejne pytania badawcze dotyczące pacjentów zatrutych glikolem etylenowym:

1. W jaki sposób zmieniają się markery stresu oksydacyjnego w zależności od zaburzeń biochemicznych charakterystycznych dla zatrucia glikolem etylenowym w grupach osób, które przeżyły i tych, które zmarły w wyniku zatrucia?
2. W jaki sposób zmieniają się markery stresu oksydacyjnego w zależności od zaburzeń biochemicznych charakterystycznych dla zatrucia glikolem etylenowym w grupach osób, które zostały zdiagnozowane przed upływem 12 godzin oraz między 12 a 24 godziną po spożyciu alkoholu?
3. Czy istnieje zależność pomiędzy czasem zdiagnozowania zatrucia a śmiertelnością pacjentów?
4. Czy markery stresu oksydacyjnego zależą od wieku i płci osób zatrutych i zdrowych?
5. Jak stężenie glikolu etylenowego w krwi wpływa na wartości markerów stresu oksydacyjnego?
6. Czy podanie alkoholu etylowego według standardowych procedur odtruwających lub zabieg hemodializy zapobiegają zaburzeniom równowagi antyoksydacyjnej?
7. Czy postępowanie odtruwające (podanie odtrutki/hemodializa) wpływa na równowagę kwasowo-zasadową oraz czynność nerkowo-wątrobową u zatrutych pacjentów?
8. Czy stwierdzenie współobecności alkoholu metylowego i/lub etylowego w zatruciu glikolem etylenowym wpływa na wartości markerów stresu oksydacyjnego?
9. Czy istnieje zależność między stresem oksydacyjnym a zmianami biochemicznymi w przebiegu zatrucia glikolem etylenowym?

Szczegółowa analiza dokumentacji medycznej grupy pacjentów zatrutych glikolem etylenowym dotyczyła:

- przyjętej dawki i rodzaju spożytego preparatu zawierającego glikol etylenowy;
- czasu, jaki upłynął od spożycia glikolu etylenowego do przyjęcia na szpitalny oddział ratunkowy;
- wyników badań przeprowadzonych w chwili przyjęcia, po zastosowaniu terapii odtruwającej oraz między 48 a 72 godziną od zatrucia a także w dniu wypisu ze szpitala/zakończenia hospitalizacji;
- zastosowanego postępowania leczniczego (hemodializa/odtrutka – etanol);
- czasu jaki upłynął od chwili przyjęcia alkoholu do wypisania pacjenta z oddziału (czas hospitalizacji; informacja jeśli nastąpił zgon).

W odniesieniu do przedstawionych pytań badawczych przyjęto następujące hipotezy:

1. Zatrucia glikolem etylenowym prowadzą do zaburzeń równowagi oksydoredukcyjnej ustroju.
2. Stres oksydacyjny występujący w ostrym zatruciu glikolem etylenowym jest jednym z podstawowych mechanizmów toksycznego działania tego ksenobiotyku.
3. Wybrane markery stresu oksydacyjnego w podobnym stopniu odzwierciedlają procesy oksydacyjne towarzyszące ostremu zatruciu glikolem etylenowym w materiale klinicznym pobranym od pacjentów.
4. Wartości markerów stresu oksydacyjnego korelują z przebiegiem klinicznym zatrucia glikolem etylenowym i mogą być wykorzystane jako czynnik prognostyczny w ocenie jego ciężkości.
5. Wartości markerów stresu oksydacyjnego korelują ze stężeniem glikolu etylenowego i czasem jaki upłynął od narażenia na alkohol.
6. Podanie odtrutki zmniejsza zaburzenia równowagi oksydoredukcyjnej, istotnie wpływając na poprawę parametrów równowagi kwasowo-zasadowej, a tym samym ogranicza kwasicę metaboliczną.

## **CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA**

## **4. Część doświadczalna**

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu – uchwała nr 126/11 z dnia 03.03.2011 r. (załącznik nr 4).

### **4.1. Grupa pacjentów**

Badaniami objęto przypadki ostrych zatruc glikolem etylenowym zdiagnozowane w Oddziale Toksykologii im W. Błęńskiej z Ośrodkiem Informacji Toksykologicznej Szpitala Miejskiego im. F. Raszei w Poznaniu oraz zgłoszone przez inne placówki zdrowotne z zachodniej Polski w latach 2009-2013. Od 2009 do 2011 roku analiza przypadków była prowadzona na podstawie dostępnej dokumentacji medycznej a od 2011 roku po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej, analizę poszerzono o badania biochemiczno-toksykologiczne w materiale biologicznym (krew) zgromadzonym w ramach standardowych procedur medycznych. Udział pacjenta w zaplanowanych badaniach sprowadzał się jedynie do wykorzystania próbki materiału biologicznego pobranego w ramach standardowych procedur medycznych oraz niezbędnych danych medycznych udostępnionych za zgodą zleceniodawcy (Dyrektor placówki, Ordynator oddziału). Wykorzystany materiał biologiczny, zgodnie z prawami pacjenta określonymi w przepisach ustawy o prawach pacjenta i Rzeczniku Praw Pacjenta podlega obowiązkowi zachowania tajemnicy zawodowej diagnosty laboratoryjnego tj. został zakodowany, co oznacza, że zawierał tylko te informacje, które uniemożliwią innym podmiotom powiązanie tych danych z określoną osobą.

#### **4.1.1. Dobór pacjentów i materiału do badań**

Grupa badana A - 69 pacjentów w wieku 20-82 lat zatrutych glikolem etylenowym, zakwalifikowanych do badania na podstawie dostępnej dokumentacji medycznej w latach 2009-2013. Analizowano: wiek, płeć, miesiąc i rok hospitalizacji, miejsce leczenia, charakter zatrucia, czas jaki upłynął od przyjęcia pacjenta do potwierdzenia zatrucia, dawkę i źródło glikolu etylenowego, stężenie glikolu etylenowego w krwi, jak długi był okres hospitalizacji oraz czy zatrucie zakończyło się wyzdrowieniem czy też zgonem pacjenta.

Grupa badana A1 - 47 pacjentów z grupy badanej A z zaburzeniami wskazującymi na zatrucie glikolem etylenowym, od których pobrano materiał biologiczny, w którym potwierdzono obecność glikolu etylenowego. Na wykorzystanie materiału biologicznego do badań naukowych pacjenci wyrazili pisemną zgodę (załącznik nr 2). W tej grupie oceniano czynność

wątrobowo-nerkową pacjenta, stan równowagi kwasowo-zasadowej, oraz obecność glikolu etylenowego i innych alkoholi w krwi. W tym samym materiale klinicznym oznaczono również stan równowagi oksydoredukcyjnej.

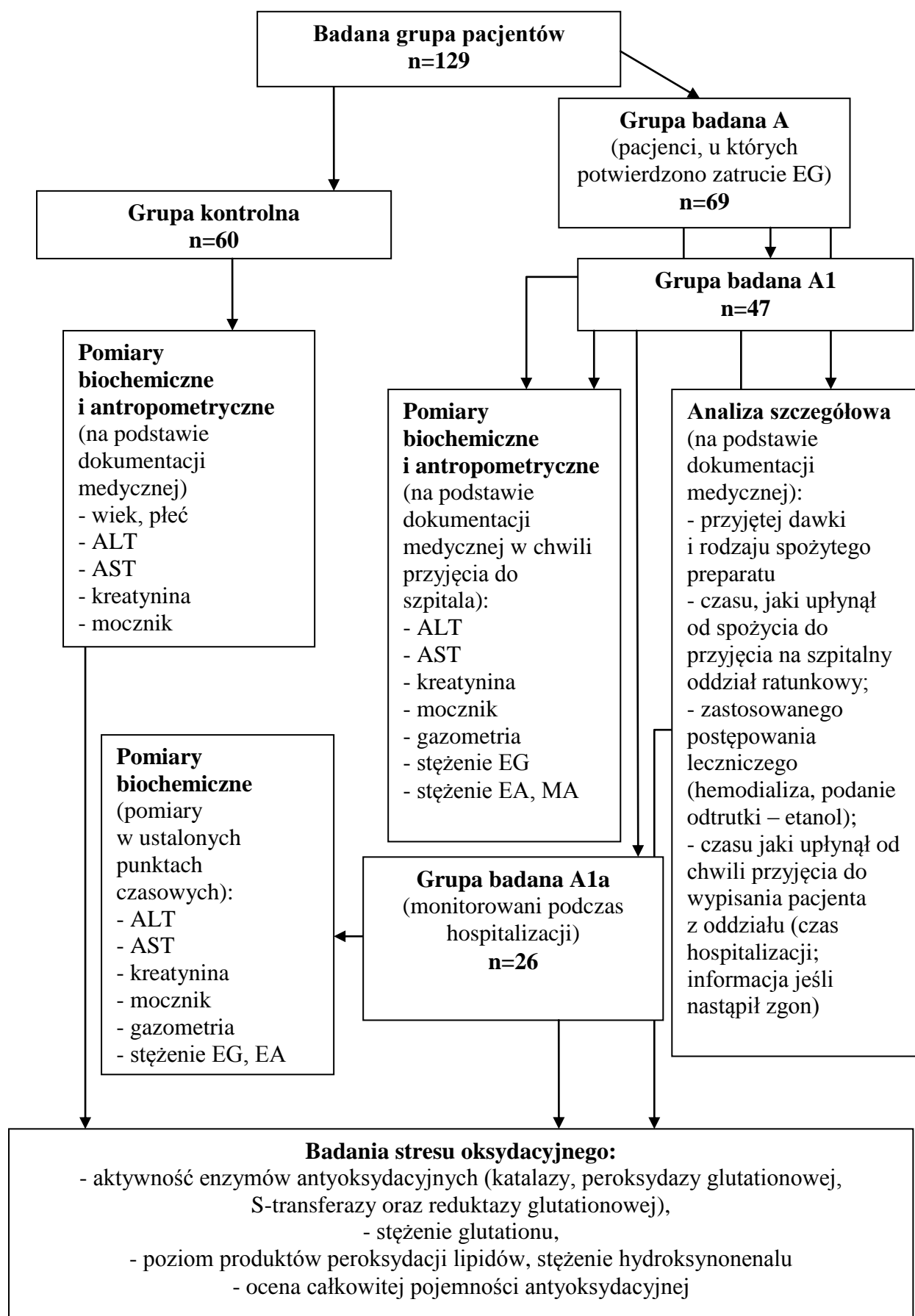
Grupa badana A1a - 26 pacjentów zdiagnozowanych pod kątem zatrucia glikolem etylenowym wybranych z grupy badanej A1, u których czterokrotnie pobrano materiał biologiczny w celu monitorowania czynności narządowej (wątroba, nerki), równowagi kwasowo-zasadowej oraz stężenia alkoholu etylowego podanego podczas hospitalizacji w ramach leczenia odtruwającego wraz z kompleksową oceną równowagi oksydoredukcyjnej w oparciu o wybrane markery. Badanie przeprowadzono w określonych punktach czasowych: podczas przyjęcia pacjenta z powodu zatrucia (potwierdzenia zatrucia na podstawie glikolu etylenowego w stężeniu powyżej 0,2 g/l), w trakcie stosowania leczenia (podanie odtrutki/hemodializa), między 48 a 72 godziną od zatrucia (ocena efektów leczenia odtruwającego) oraz w dniu wypisu ze szpitala.

Grupa kontrolna - 60 osób dorosłych w wieku 18 - 69 lat, zgłaszających się na badania kontrolne do Zakładu Diagnostyki Medycznej w Szpitalu im. F. Raszei w Poznaniu. O zakwalifikowaniu pacjentów do tej grupy decydowały wyniki podstawowych badań biochemicznych, w których nie stwierdzono odchyień od wartości referencyjnych. Na wykorzystanie materiału biologicznego do badań naukowych pacjenci wyrazili pisemną zgodę (załącznik nr 1).

Materiałem do prawie wszystkich badań była surowica krwi żyłnej, jedynie gazometrię, w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym, oznaczono w krwi tętniczej. Krew do badań została pobrana w trakcie leczniczych lub diagnostycznych procedur medycznych. W celu ochrony danych osobowych i zapewnienia prywatności dawcom materiału biologicznego, każdej surowicy nadano odpowiedni numer.

Badania przeprowadzono według schematu przedstawionego na rycinie 10. Opis metod zastosowanych w badaniach zestawiono w tabelach 13 i 14.

Rycina 10. Schemat badań.



**Tabela 13.** Metodyka oznaczeń biochemicznych i toksykologicznych u pacjentów monitorowanych w trakcie zatrucia glikolem etylenowym.

Oznaczany parametr	Zasady metody	Piśmiennictwo	Szczegółowe dane o teście	
Kreatynina	<p style="text-align: center;">Metoda kinetyczna</p> <p>Kreatynina w próbce badanej reaguje w środowisku zasadowym z pikrynianem tworząc żółto-czerwony kompleks, którego absorbancję mierzy się fotometrycznie. Ilość wytworzonego barwnika jest wprost proporcjonalna do stężenia kreatyniny. Jest to kinetyczna reakcja wg Jaffé, bez odbiałczania. Do oznaczeń użyto analizatora biochemicznego Cobas Integra 400 (Roche Diagnostics, USA).</p>	Wg Jaffé [102], Fabiny i wsp. [65], Bartels i wsp. [8]	Oznaczalność [mg/dl]	0,17
			Precyzja pośrednia [%]	1,2
			Błąd metody [%]	10,0
			Powtarzalność [%]	2,0
Mocznik	<p style="text-align: center;">Metoda kinetyczna</p> <p>Przy udziale ureazy i dehydrogenazy glutaminianowej (DG) mocznik ulega przemianie do amoniaku i węglanów a następnie do L-glutaminianu, z równoczesnym utlenieniem NADH (dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy – forma zredukowana) do NAD<sup>+</sup> (forma utleniona). Spadek stężenia NADH jest wprost proporcjonalny do stężenia mocznika i jest mierzony fotometrycznie. Do oznaczeń użyto analizatora biochemicznego Cobas Integra 400 (Roche Diagnostics, USA).</p>	Wg Richterich i wsp. [172], Talke i wsp. [197], Tiffany i wsp. [199], Sampson i wsp. [177]	Oznaczalność [mg/dl]	3,0
			Precyzja pośrednia [%]	1,1
			Błąd metody [%]	15,0
			Powtarzalność [%]	1,0

Aminotransferaza asparaginianowa (AST)	Metoda kinetyczna Aminotransferaza asparaginianowa katalizuje przeniesienie grup aminowych między L-asparaginianem i 2-ketoglutaranem z powstaniem szczawiooctanu i L-glutaminianu. W dalszej kolejności utworzony szczawiooctan w obecności dehydrogenazy jabłczanowej (MDH) reaguje z NADH (dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy – forma zredukowana) i tworzy się NAD <sup>+</sup> (forma utleniona). Stopień utlenienia NADH jest wprost proporcjonalny do katalitycznej aktywności AST. Oznaczenie wykonuje się mierząc spadek absorbancji <sup>6</sup> . Do oznaczeń użyto analizatora biochemicznego Cobas Integra 400 (Roche Diagnostics, USA).	Wg Bergmeyer i wsp. [15], ECCLS [55]	Oznaczalność [U/l]	5,0
			Precyzja pośrednia [%]	2,6
			Błąd metody [%]	5,0
			Powtarzalność [%]	0,4
Aminotransferaza alaninowa (ALT)	Metoda kinetyczna Aminotransferaza alaninowa jest katalizatorem reakcji między L-alaniną a 2-ketoglutaranem. Dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NADH) redukuje pirogronian w obecności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) do L-mleczanu i NAD <sup>+</sup> . Stopień utlenienia NADH jest wprost proporcjonalny do katalitycznej aktywności ALT. Oznaczenie wykonano mierząc spadek absorbancji <sup>6</sup> . Do oznaczeń użyto analizatora biochemicznego Cobas Integra 400 (Roche Diagnostics, USA).	Wg Bergmeyer i wsp. [16], ECCLS [56]	Oznaczalność [U/l]	5,0
			Precyzja pośrednia [%]	1,0
			Błąd metody [%]	5,0
			Powtarzalność [%]	0,4

<sup>6</sup> Metoda według Międzynarodowej Federacji Chemii Klinicznej (IFCC) bez fosforanu pirydoksalu.



Gazometria (ABGs)	<p>Zastosowana metoda to potencjometria z oksymetrią. Do oznaczeń pH zastosowano elektrodę szklaną o typie kapilarnym z wysyconą referencyjną elektrodą kalomelową i połączeniem lipidowym wysyconym KCl, zgodnie z standardami kalibracji odpowiadającymi Podstawowym Standardom Referencyjnym (Primary Reference Standards) dla pH. Do oznaczeń pCO<sub>2</sub> i pO<sub>2</sub> zastosowano metodę tonometrii z gazami zgodnymi ze Standardowymi Materiałami Referencyjnymi (Standard Reference Materials) NIST.</p> <p>Parametrami równowagi kwasowo-zasadowej wyliczonymi z wykonanych oznaczeń są: stężenie wodorowęglanów [mmol/l] (stężenie dwuwęglanów, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), aktualny nadmiar zasad [mmol/l] (stężenie miareczkowalnych zasad, w warunkach, gdy krew jest miareczkowana silną zasadą lub kwasem), aż do osiągnięcia pH równego 7,40 przy pCO<sub>2</sub>, wynoszącym 5,33 kPa (40 mmHg) i 37°C. Wyliczenia i równania parametrów równowagi kwasowo-zasadowej zostały przedstawione w załączniku 3. Do oznaczeń użyto analizatora gazometrycznego ABL 800 flex (Radiometer Copenhagen, Dania).</p>	Wg Severinghaus i wsp. [181] i NCCLS [152], Fraser [71], Ehrmeyer i wsp. [60], Fraser i wsp. [72]	Oznaczalność <sup>7</sup>	pH	0,002
				pCO <sub>2</sub>	0,11
				pO <sub>2</sub>	0,24
			Precyzja pośrednia <sup>8</sup>	pH	0,01
				pCO <sub>2</sub>	5,0
				pO <sub>2</sub>	5,0
			Błąd metody [%]	pH	5,0
				pCO <sub>2</sub>	4,0
				pO <sub>2</sub>	4,0
			Powtarzalność <sup>3,9</sup>	pH	0,005
				pCO <sub>2</sub>	0,9-2,6
				pO <sub>2</sub>	3,6-3,9

<sup>7</sup> Oznaczalność w mmHg dla pCO<sub>2</sub> i pO<sub>2</sub>; oznaczalność dla pH w jednostkach pH.

<sup>8</sup> Precyzja pośrednia w % dla pCO<sub>2</sub> i pO<sub>2</sub>; precyzja pośrednia dla pH w jednostkach pH.

<sup>9</sup> Dla różnych wartości pH, pCO<sub>2</sub> i pO<sub>2</sub>

Glikol etylenowy	Metoda chromatografii gazowej	Wg Edinboro i wsp. [59], Livesey i wsp. [133]	Oznaczalność [g/l]	0,10
	<p>W celu oznaczenia glikolu etylenowego przed nastrzykiem przygotowano próbkę w następujący sposób: do próbki o pojemności 1 ml wprowadzono 0,2 ml metanolowego roztworu 1,3-butanodiolu o stężeniu objętościowym 0,5 g/l, który pełnił rolę wzorca wewnętrznego, a następnie dodawano 0,1 ml krwi wraz z 0,15g bezwodnego siarczanu sodu. Próbkę wytrząsano przez 5 minut, po czym odwirowano (5 minut/10000 obrotów/min). Rozdział dokonywany był na kolumnie kapilarnej BAC1 (30 m x 0,32 mm x 1,8 µm; Restek, USA). Temperatura w komorze nastrzykowej wynosiła 220°C, a w detektorze 270°C. Podczas rozdzielania chromatograficznego temperatura kolumny wynosiła 70°C przez pierwsze 5 minut, a następnie wzrastała o 20°C/minutę aż do momentu osiągnięcia 160°C. Gazem nośnym był hel (przepływ 2,8 ml/min; split 10:1). Czasy retencji EG i wzorca wewnętrznego wynosiły odpowiednio 1,6 oraz 4,2 minuty. Całkowity czas analizy wynosił 12 minut. Do oznaczeń użyto chromatografu gazowego GC-TRACE z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym i oprogramowaniem ChromeCard SIW for TRACE GC Version 2.00.</p>		Precyzja pośrednia [%]	5,11
			Błąd metody [%]	4,0 dla stężeń do 1,0 g/l 10,0 dla stężeń powyżej 1,0 g/l
			Powtarzalność [%]	4,11

Alkohol etylowy i alkohol metylowy	<p>Metoda chromatografii gazowej</p> <p>Do oznaczenia alkoholu etylowego i metylowego wykorzystano technikę analizy fazy nadpowierzchniowej (z ang. <i>head-space analysis</i>). Do naczynka chromatograficznego o pojemności 10 ml wprowadzono 0,5 ml wodnego roztworu n-propanolu o stężeniu objętościowym 1 g/l, który pełnił rolę wzorca wewnętrznego, a następnie dodawano 0,5 ml krwi. Próbkę ogrzewano przez 10 minut w temp. 70°C. Rozdział dokonywany był na kolumnie kapilarnej BAC1 (30 m x 0,32 mm x 1,8 µm; Restek, USA). Temperatura w komorze nastrzykowej wynosiła 220°C, a w detektorze 250°C. Podczas rozdziału chromatograficznego temperatura kolumny wynosiła 40°C przez pierwsze 4,5 minuty, a następnie wzrastała o 5°C/30 sekund aż do momentu osiągnięcia 50°C. Gazem nośnym był hel (przepływ 2,8ml/min; split 10:1). Czasy retencji metanolu, etanolu i wzorca wewnętrznego wynosiły odpowiednio 1,8; 2,2 oraz 3,7 minuty. Całkowity czas analizy wynosił 7 minut. Do oznaczeń użyto chromatografu gazowego GC-TRACE z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym i oprogramowaniem ChromeCard SIW for TRACE GC Version 2.00.</p>	Wg Mergen i wsp. [145]	Oznaczalność [g/l]	0,10 dla alkoholu etylowego 0,05 dla alkoholu metylowego
			Precyzja pośrednia [%]	5,10
			Błąd metody [%]	6,0 dla stężeń do 1,0 g/l 12,0 dla stężeń powyżej 1,0 g/l
			Powtarzalność [%]	4,20

#### **4.1.2. Metodyka badań biochemicznych i toksykologicznych**

W tabeli 13 umieszczono opis zastosowanych metod w badaniach biochemicznych i toksykologicznych przeprowadzonych w Zakładzie Diagnostyki Medycznej oraz Pracowni Toksykologii w Szpitalu Miejskim im. F. Raszei w Poznaniu we współpracy z Oddziałem Toksykologii im. W. Błęńskiej z Ośrodkiem Informacji Toksykologicznej.

#### **4.1.3. Materiał biologiczny do badań biochemicznych i toksykologicznych**

Materiałem biologicznym do badań biochemicznych i toksykologicznych była krew, którą pobrano od chorych w chwili przyjęcia do szpitala oraz w ustalonych punktach czasowych w ramach monitorowania wybranych parametrów u pacjentów hospitalizowanych (grupa A1a). Krew pobierano metodą próżniową do probówek firmy Sarstedt. Przed pobraniem krwi skórę odkażono płynem dezynfekującym (OcteniSept firmy Schulke) zawierającym substancje czynne: dichlorowodorek octenidyny i alkohol fenoksyetylenowy. Do badań gazometrycznych zabezpieczono krew pełną tętniczą, pobieraną z tętnicy do strzykawk gazometrycznych z dodatkiem heparyny litowej. Badanie wykonywano w ciągu 15 minut od pobrania. Do badań biochemicznych (AST, ALT, kreatynina, mocznik) i toksykologicznych (glikol etylenowy) zastosowano probówki z aktywatorem krzepnięcia, surowicę uzyskano w wyniku odwirowania skrzepu krwi żyłnej (10 minut przy 4000 obrotów/min). Badanie w kierunku potwierdzenia obecności alkoholu etylowego i metylowego w krwi wykonano w próbach pobranych metodą próżniową z dodatkiem wersenianu sodowo-potasowego w chwili przyjęcia chorych do szpitala. Odpowiednio po wdrożeniu podstępowania leczniczego, sprawdzano obecność glikolu etylenowego oraz w trzech kolejnych pomiarach monitorowano stężenie alkoholu etylowego. Próbkę krwi, po oklejeniu kodem kreskowym niezwłocznie przekazano do analizy w trybie pilnym.

#### **4.1.4. Aparatura i sprzęt do badań biochemicznych i toksykologicznych**

- ABL 800 flex (Radiometer Copenhagen, Dania)
- Cobas Integra 400 (Roche Diagnostics, USA)
- wirówka Eppendorf 5427 R (Niemcy)
- chromatograf gazowy GC TRACE (Thermo Finnigan, USA)
- pipety jednokanałowe Eppendorf (10µl, 100µl, 1000µl, 5000µl) (Hamburg, Niemcy)

**Tabela 14.** Metodyka oznaczania parametrów stresu oksydacyjnego u pacjentów monitorowanych w trakcie zatrucia glikolem etylenowym.

Oznaczany parametr	Zasady metody	Piśmiennictwo	Szczegółowe dane o teście	
TBARS	<p style="text-align: center;">Metoda spektrofotometryczna</p> <p>Aldehyd dimalonowy (MDA) i inne związki (produkty uboczne rozkładu hydroperoksy kwasów tłuszczowych), reagują z kwasem tiobarbiturowym (TBA) dając barwny związek oznaczany spektrofotometrycznie przy długości fali 535 nm. Do oznaczeń użyto czytnika spektrofotometrycznego do mikropłytek Bio-Tek Instruments Elx-800 (Highland Park, Winooski, Vermont, USA).</p>	<p>TBARS Assay Kit (MDA Quantitation) firmy Cell Biolabs, USA; nr katalogowy STA-330</p>	Oznaczalność [μM/l]	0,98
			Precyzja pośrednia [%]	2,0
			Błąd metody [%]	4,0
			Powtarzalność [%]	7,5

Peroxysydaza glutationowa	<p style="text-align: center;">Metoda kinetyczna</p> <p>Utlenczenie glutationu (GSH) przez wodoronadtlenek kumenu zachodzi przy udziale peroksydazy glutationowej (GPx) jako katalizatora reakcji. W obecności reduktazy glutationowej (GR) i NADPH, utleniony glutation (GSSG) ulega natychmiastowej konwersji do zredukowanej formy z towarzyszącym temu utlenieniem NADPH do NADP<sup>+</sup>. Mierzone jest zmniejszenie absorbancji przy długości fali 340 nm. Do oznaczeń użyto spektrofotometru Zuzi Series 4481, Auxilab (Hiszpania).</p>	<p>Ransel firmy Radox Laboratories, UK, nr katalogowy RS 505</p>	Oznaczalność [U/l]	7,0
			Precyzja pośrednia [%]	7,0
			Błąd metody [%]	12
			Powtarzalność [%]	6,0
Hydroksynonenal	<p style="text-align: center;">Metoda immunoenzymatyczna</p> <p>Stężenie hydroksynonenalu zostało zmierzone przy użyciu metody immunoenzymatycznej do fazy stałej (ELISA). Do testu użyto gotowych polistyrenowych płytek opłaszczonych przeciwciałami HNE. Użyтым czynnikiem blokującym była albumina surowicy bydlęcej (BSA). Następnie użyto drugiego rodzaju przeciwciał detekcyjnych (anti-HNE) sprzężonych z peroksydazą chrzanową (HRP). Pomiaru spektrometrycznego dokonano przy długości fali 450 nm. Do oznaczeń użyto czytnika spektrofotometrycznego do mikroplótek Bio-Tek Instruments Elx-800 (Highland Park, Winooski, Vermont, USA).</p>	<p>HNE Adduct ELISA Kit firmy Cell Biolabs, USA; nr katalogowy STA-338</p>	Oznaczalność [ $\mu\text{g/ml}$ ]	1,6
			Precyzja pośrednia [%]	6,0
			Błąd metody [%]	4,0
			Powtarzalność [%]	7,5

Glutation całkowity	<p style="text-align: center;">Metoda kinetyczna</p> <p>Metoda polega na ilościowym pomiarze całkowitej zawartości glutationu w próbce (GSH/GSSG) przy udziale reduktazy glutationowej, która redukuje utleniony glutation (GSSG) do zredukowanego glutationu (GSH), w obecności NADPH. Następnie powstały chromogen reaguje z grupą tiolową GSH i tworzy barwny związek, który absorbuje przy długości fali 405 nm. Do oznaczeń użyto czytnika spektrofotometrycznego do mikropłytek Bio-Tek Instruments Elx-800 (Highland Park, Winooski, Vermont, USA).</p>	<p style="text-align: center;">Total Glutathione (GSSG/GSH) Assay Kit firmy Cell Biolabs, USA; nr katalogowy STA-312</p>	Oznaczalność [μM/l]	0,008
			Precyzja pośrednia [%]	7,0
			Błąd metody [%]	4,0
			Powtarzalność [%]	7,5
Reduktaza glutationowa	<p style="text-align: center;">Metoda kinetyczna</p> <p>Utlenieniu ulega fosforan dinukleotydu niktynoamidoadeninowy (NADPH) do NADP<sup>+</sup> czemu towarzyszy obniżenie absorbancji przy długości fali 340 nm, które jest wprost proporcjonalne do aktywności reduktazy glutationowej, która katalizuje reakcję redukcji utlenionego glutationu (GSSG) do zredukowanego (GSH). Do oznaczeń użyto spektrofotometru Zuzi Series 4481, Auxilab (Hiszpania).</p>	<p style="text-align: center;">Glutathione Reductase Assay Kit II firmy Calbiochem, Germany, nr katalogowy 359963</p>	Oznaczalność [U/l]	2,0
			Precyzja pośrednia [%]	5,0
			Błąd metody [%]	10,0
			Powtarzalność [%]	6,0

S-transferaza glutationowa	<p style="text-align: center;">Metoda kinetyczna</p> <p>S-transferaza glutationowa pełni funkcję katalizatora reakcji pomiędzy glutationem a 1-chloro-2,4-nitrobenzenem. W wyniku tej reakcji powstaje barwny kompleks 1-chloro-2,4-nitrofenyloglutationu. Szybkość, z jaką powstaje ten kompleks jest mierzona spektrofotometrycznie przy długości fali 340 nm. Do oznaczeń użyto spektrofotometru Shimadzu A-116 (Shimadzu Scientific Instruments, Inc. USA).</p>	Wg Habig i wsp. [89], Habdous i wsp. [88]	Oznaczalność [U/l]	7,0
			Precyzja pośrednia [%]	5,0
			Błąd metody [%]	10,0
			Powtarzalność [%]	7,5
Całkowita pojemność antyoksydacyjna (TAC)	<p style="text-align: center;">Metoda fotometryczna</p> <p>Do pomiaru całkowitej pojemności antyoksydacyjnej (TAC) wykorzystano mechanizm przenoszenia pojedynczego elektronu (SET) oraz redukcję jonów miedzi dwuwartościowych Cu (II) do jednowartościowych Cu (I), które następnie reagowały z chromogenem. Produktem tej reakcji jest barwny produkt, którego absorbancję mierzy się przy długości fali 490 nm. Stężenie kwasu moczowego (UAE) przelicza się na zawartość Cu (I) (CRE), której wartości są proporcjonalne do TAC. Do oznaczeń użyto spektrofotometru (Shimadzu Scientific Instruments, Inc. USA).</p>	Total Antioxidant Capacity (TAC) Assay Kit Cell firmy Biolabs, USA, nr katalogowy STA-360	Oznaczalność [ $\mu$ M Cu/Mm kwasu moczowego]	20,0
			Precyzja pośrednia [%]	7,0
			Błąd metody [%]	10,0
			Powtarzalność [%]	4,0



#### **4.1.5. Metodyka do badań stresu oksydacyjnego**

W tabeli 14 umieszczono opis metod zastosowanych w oznaczaniu parametrów stresu oksydacyjnego, które wykonano w Katedrze i Zakładzie Toksykologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

#### **4.1.6. Materiał biologiczny do badań stresu oksydacyjnego**

Materiałem biologicznym do badań stresu oksydacyjnego była krew, którą pobrano od chorych w chwili przyjęcia do szpitala oraz w ustalonych punktach czasowych w ramach monitorowania wybranych parametrów w krwi w sposób opisany w rozdziale „Materiał do badań biochemicznych i toksykologicznych”. Do oznaczania markerów stresu oksydacyjnego zastosowano próbki z aktywatorem krzepnięcia, surowicę uzyskaną po odwirowaniu skrzepu krwi żyłnej (10 minut przy 4000 obrotów/min), zabezpieczono i przechowywano w temperaturze -80°C do czasu wykonania analizy.

#### **4.1.7. Aparatura i sprzęt do badań stresu oksydacyjnego**

- wyrząsarka orbitalna MS-3 Digital (IKA WERKE GmbH, Niemcy)
- spektrofotometr Shimadzu A-116 (Shimadzu Scientific Instruments, Inc. USA)
- spektrofotometr Zuzi Series 4481, Auxilab (Hiszpania)
- kuwety kwarcowe i plastikowe
- czytnik spektrofotometryczny do mikroplitek Bio-Tek Instruments Elx-800 (Highland Park, Winooski, Vermont, USA) sterowany komputerem PC, wyposażony w oprogramowanie KC Junior v 1.4.1.8., Biotek Instruments
- płytka mikrotitracyjna z polistyrenu, z 96 dołkami typu I, aseptyczna, o pojemności 380 µl (Kartell S.p.A, Włochy)
- pipety jednokanałowe Eppendorf (10µl, 100µl, 1000µl, 5000µl) (Hamburg, Niemcy)
- wirówka z chłodzeniem MPV Medical Instruments (Warszawa, Polska)

## 4.2. Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki badań poddano ocenie statystycznej wykorzystując klasyczne miary rozproszenia statystyki opisowej tj.: wartość średnia, odchylenie standardowe, mediana, kwartyle (Q25 górny i Q75 dolny). Obliczeń dokonano przy użyciu programu Statistica 10 firmy StatSoft. Jako poziom istotności przyjęto  $\alpha=0,05$ . Wynik uznano za istotny statystycznie, gdy  $p<\alpha$ . Do porównania zmiennych zmierzonych na skali interwałowej, nie mających rozkładu zgodnego z normalnym, zastosowano test Manna-Whitneya. Do porównania zmiennych interwałowych mających rozkład zgodny z normalnym i równe wariancje zastosowano test t-Studenta dla prób niepowiązanych, natomiast w przypadku braku równości wariancji wykorzystano test z niezależną estymacją wariancji. Do zbadania zależności pomiędzy zmiennymi zmierzonymi na skali interwałowej, z powodu braku zgodności z rozkładem normalnym, obliczono współczynnik korelacji rangowej  $R_s$  Spearmana. Do zbadania zależności pomiędzy zmiennymi zmierzonymi na skali nominalnej zastosowano test  $\chi^2$ .

## 5. Wyniki badań

### 5.1. Charakterystyka pacjentów zakwalifikowanych do badań – grupa A

Charakterystykę pacjentów zakwalifikowanych do badań przedstawiono w Tabeli 15. Analizowano dane dotyczące: miesiąca i roku hospitalizacji (liczba zatruc), miejsca leczenia, czasu jaki upłynął od narażenia na glikol etylenowy (EG) do potwierdzenia zatrucia (wykonania analizy toksykologicznej potwierdzającej obecność EG w krwi w stężeniu  $>0,2$  g/l), przyjętej dawki i źródła glikolu etylenowego. Jednocześnie analiza grupy podstawowej (A) dotyczyła liczby zgonów, charakteru zatrucia, długości okresu hospitalizacji oraz rejestrowanych stężeń glikolu etylenowego w krwi, które stanowiły potwierdzenie zatrucia tym alkoholem. Badaniami objęto 5-letni okres identyfikacji przypadków ostrych zatruc glikolem etylenowym na terenie Wielkopolski i województwa lubuskiego, zdiagnozowanych w Pracowni Toksykologii Zakładu Diagnostyki Medycznej we współpracy z Oddziałem Toksykologii im. W. Błęńskiej w Szpitalu Miejskim im. F. Raszei w Poznaniu. Oddział Toksykologii wraz z Ośrodkiem Informacji Toksykologicznej stanowi jeden z 11 regionalnych ośrodków ostrych zatruc w Polsce, które zajmują się profilaktyką, diagnostyką i leczeniem pacjentów w stanach ostrych zatruc.

Dane dotyczące grupy podstawowej osób zatrutych glikolem etylenowym zebrano na podstawie analizy dokumentacji medycznej. Uzyskano pisemną zgodę na jej wykorzystanie wydaną przez odpowiednie placówki medyczne zgodnie z Ustawą z dnia 6 listopada 2009 roku o prawach pacjenta i Rzeczniku Praw Pacjenta (Dz. U. Nr 52, poz. 417) z późniejszymi zmianami. Dane medyczne zostały udostępnione celem ich wykorzystania w przygotowanej pracy doktorskiej, bez ujawniania nazwisk i innych danych umożliwiających identyfikację osoby, której dokumentacja dotyczyła.

Grupę podstawową (A) stanowiło 69 pacjentów w wieku od 20 do 82 lat, zdiagnozowanych w kierunku zatrucia glikolem etylenowym, których włączono do analizy wstępnej na podstawie dostępnej dokumentacji medycznej zebranej w latach 2009-2013 (65 mężczyzn i 4 kobiety). Średnia wieku w tej grupie wynosiła około 52 lata (kobiety:  $52,25 \pm 7,76$ ; mężczyźni  $50,42 \pm 12,90$ ). W grupie kobiet najmłodsza pacjentka miała 41 lat, a najstarsza 62 lata. Najstarszy mężczyzna zatruty glikolem etylenowym miał 82 lata, a najmłodszy 20. Tylko w 7 przypadkach znano ilość przyjętej trucizny. Średnia spożyta dawka preparatu zawierającego glikol etylenowy wynosiła 503 ml (min=20; max=1000). W 68 przypadkach udało się określić przyczynę zatrucia jako spożycie: zafałszowanego alkoholu (n=47), płynu do chłodziń (n=18), detergentów lub płynów do spryskiwaczy i mycia

szyb (n=3), co zaprezentowano na rycinie 14. W jednym przypadku źródło glikolu etylenowego było nieznane. W 33 przypadkach zatrucie miało charakter przypadkowy, natomiast 31 było spowodowane spożyciem glikolu etylenowego jako substytutu alkoholu etylowego w przebiegu zespołu zależności alkoholowej (ZZA). Zamiary samobójcze deklarowało 5 pacjentów. Średni czas hospitalizacji wynosił 11 dni. Analizując liczbę zgonów w badanej grupie, najwyższy odsetek przypadków ze skutkiem śmiertelnym odnotowano w 2010 roku, 6 przypadków z 15 zarejestrowanych (40%). Najmniej zgonów stwierdzono w 2012 roku (n=1). Średnia liczby zgonów w analizowanej grupie A w latach 2009-2013 wynosiła około 25% (tj. 17 przypadków). Najliczniejsza grupa pacjentów zatrutych glikolem etylenowym została odnotowana w 2011 roku (19 przypadków) (Tab. 15). Najczęściej do zatrucia dochodziło w miesiącach styczeń-marzec (23 przypadki) oraz kwiecień-czerwiec (20 przypadków) (Ryc. 11).

Analizie poddano również czas jaki upłynął od spożycia glikolu etylenowego do potwierdzenia zatrucia, czyli wykonania badania toksykologicznego w kierunku alkoholi niespożywczych (Ryc. 12). Pacjentów podzielono na grupy zależnie od czasu diagnozy w kierunku zatrucia. Do grupy pierwszej zakwalifikowano pacjentów, którzy zostali zdiagnozowani poniżej 12 godzin od spożycia (grupa I) natomiast do grupy drugiej pacjentów, u których potwierdzono obecność glikolu etylenowego w krwi w czasie od 12 do 24 godziny od zatrucia (grupa II). Najliczniejszą grupę stanowili pacjenci grupy I we wszystkich latach, z wyjątkiem 2012 roku, w którym obie grupy były równe pod względem liczby pacjentów. Największą liczbę pacjentów (12 pacjentów) zdiagnozowano przed 12 godziną od spożycia w 2011 roku (Ryc. 12).

Analizie wstępnej poddano również wyniki stężeń glikolu etylenowego w krwi, którego obecność potwierdzono u wszystkich 69 pacjentów. Najliczniejszą grupę stanowili pacjenci, u których stężenie glikolu etylenowego wynosiło  $<0,5$  g/l (n=28), następnie po 15 pacjentów ze stężeniem od 0,5 do 1,0 g/l i od 1,0 do 2,0 g/l. W 11 przypadkach stwierdzono stężenie powyżej 2,0 g/l (Ryc. 15).

Największa liczba pacjentów zakwalifikowanych do badania pochodziła z Poznania lub jego okolic (32 przypadki), następnie 6 przypadków z Zielonej Góry, 5 przypadków z Konina, 4 przypadki z Kalisza, i kolejno po 2 ze Złotowa, Piły, Leszna, Ostrowa Wielkopolskiego, Gorzowa Wielkopolskiego i Obornik, oraz po 1 przypadku z Nowego Tomysła, Gostynia, Żar, Nowej Soli, Krotoszyna, Rawicza i Szamotuł (Ryc. 13).

**Tabela 15.** Charakterystyka badanej grupy A pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w latach 2009-2013.

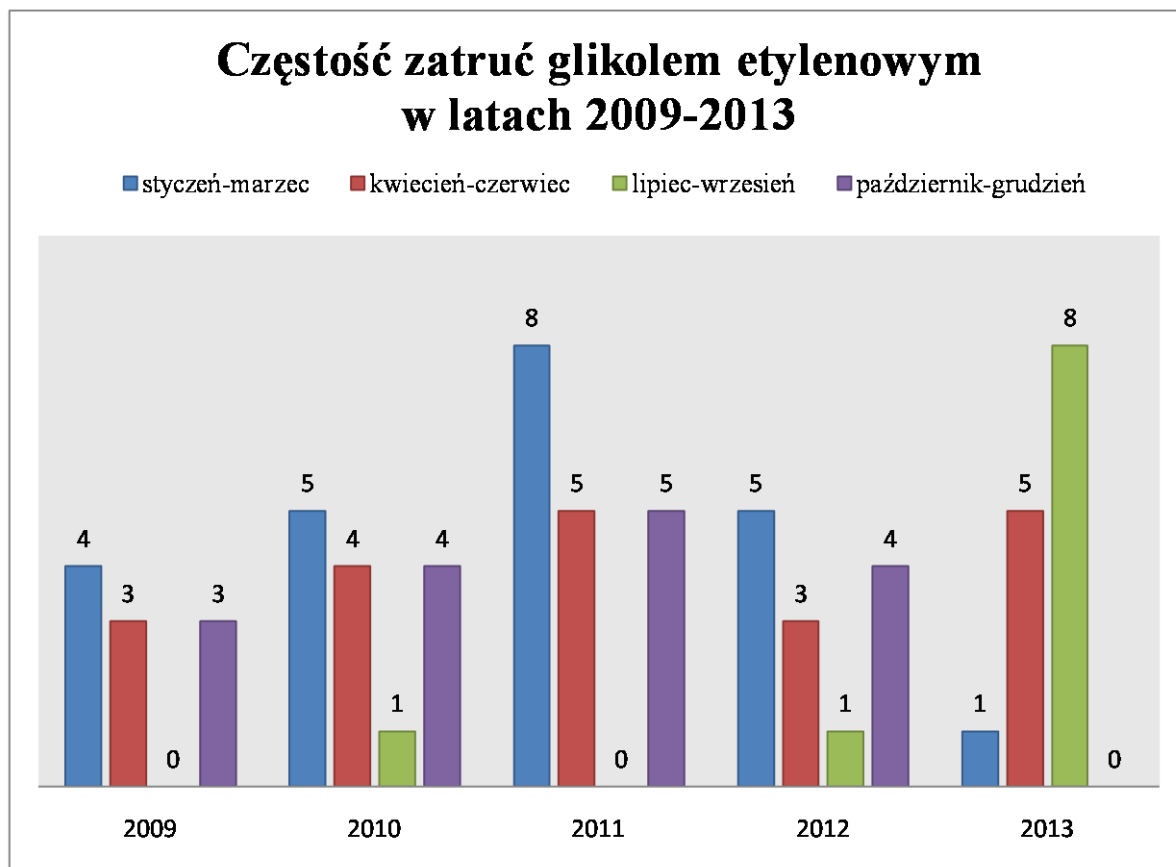
Parametry oceny statystycznej	Badana grupa A n=69											
	Wiek z podziałem na płeć		Śmiertelność w latach 2009-2013					Dawka [ml] n=7	S <sup>10</sup> n=5	P <sup>11</sup> n=33	ZZA <sup>12</sup> n=31	Czas hospitalizacji [dni]
	Kobiety n=4	Mężczyźni n=65	2009 n=9	2010 n=15	2011 n=19	2012 n=12	2013 n=14					
$\bar{x}$	52,25	50,42						503				11,65
SD	7,76	12,90	11%	40%	26%	8%	28%	313	7%	48%	45%	11,04
Min	41,00	20,00	n=1	n=6	n=5	n=1	n=4	20				1
Max	62,00	82,00						1000				70

<sup>10</sup> Zatrucie samobójcze

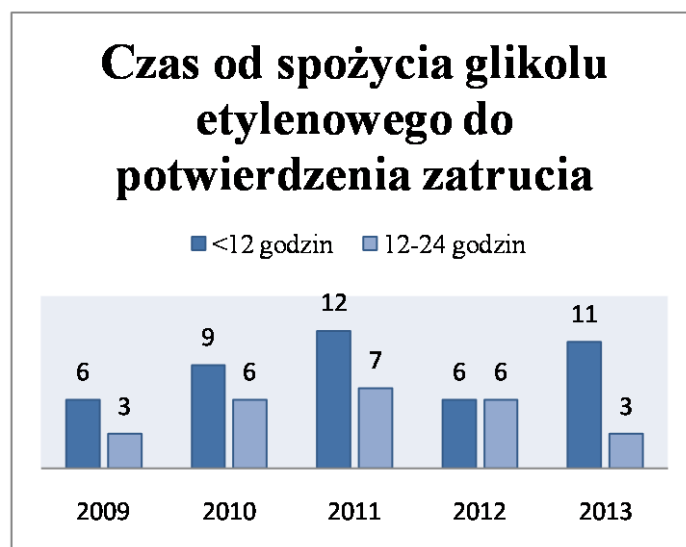
<sup>11</sup> Zatrucie przypadkowe

<sup>12</sup> Zatrucie w przebiegu zespołu zależności alkoholowej

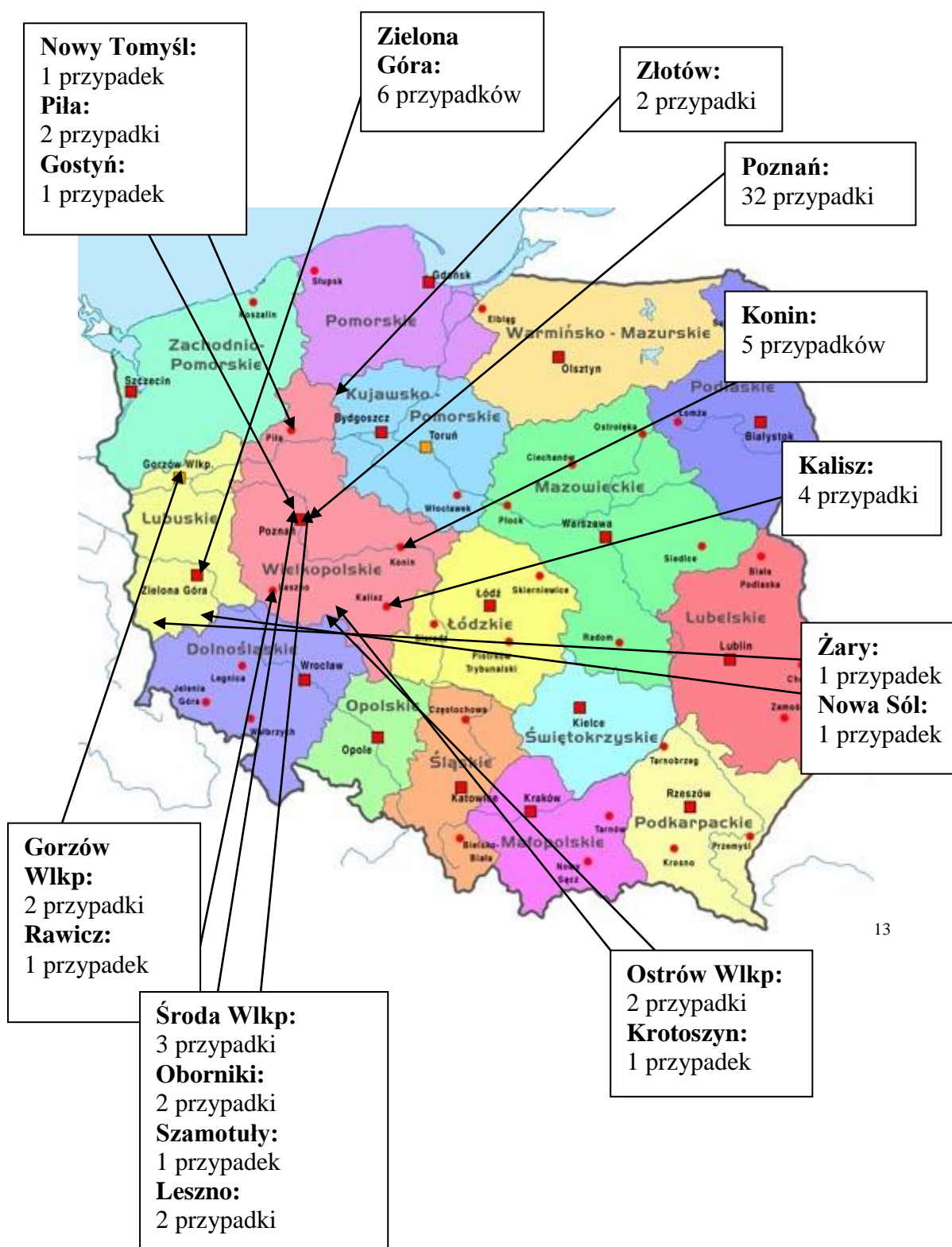
Rycina 11. Częstość zatruc glikolem etylenowym w grupie A według dokumentacji medycznej.



Rycina 12. Czas od spożycia glikolu etylenowego do potwierdzenia zatrucia według dokumentacji medycznej.



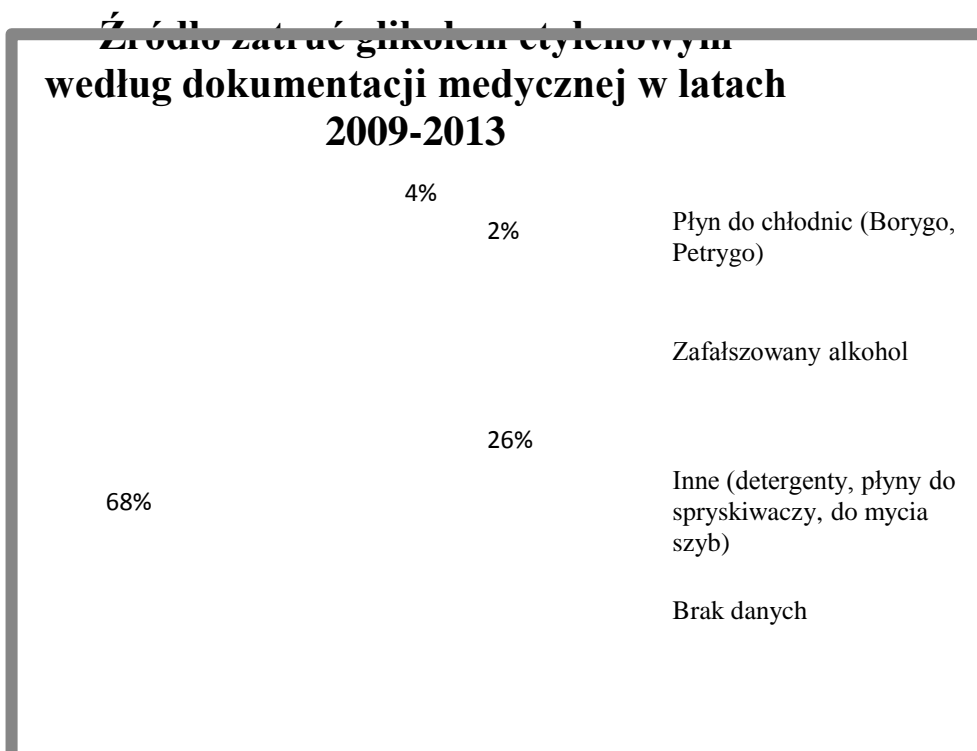
**Rycina 13.** Częstość występowania przypadków zatruc glikolem w województwie wielkopolskim i lubuskim w latach 2009-2013.



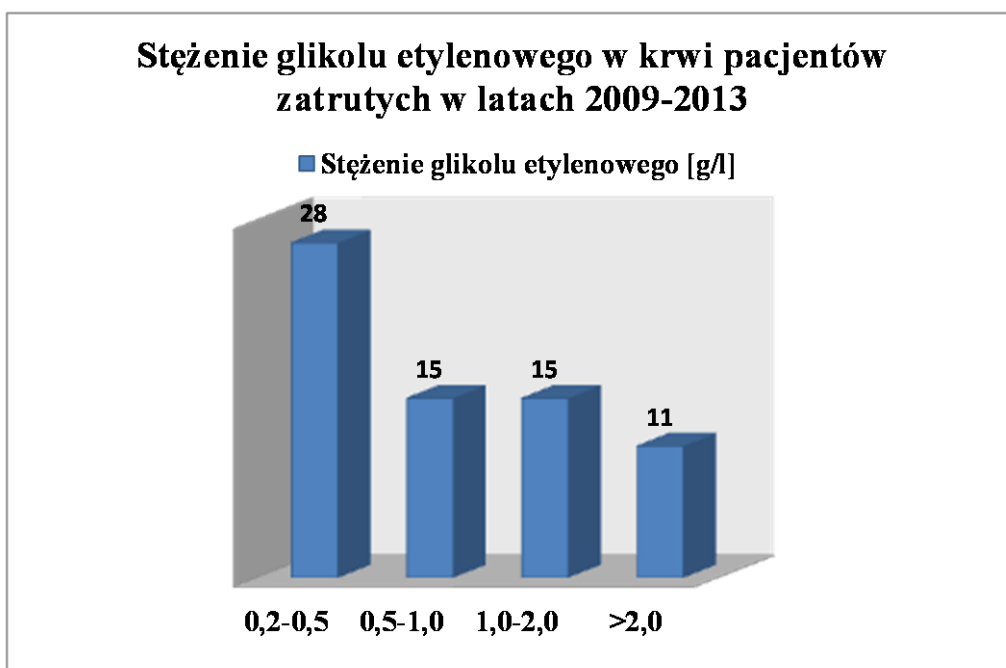
13

<sup>13</sup> <http://studioopinii.pl/wp-content/uploads/2011/07/mapa-polski.jpg>

Rycina 14. Źródło glikolu etylenowego według dokumentacji medycznej grupy A.



Rycina 15. Stężenie glikolu etylenowego w krwi pacjentów grupy A.





## 5.2. Charakterystyka pacjentów zakwalifikowanych do grupy A1 i grupy kontrolnej

Po wstępnej analizie dokonanej na podstawie dokumentacji medycznej przystąpiono do szczegółowego badania grupy pacjentów wyselekcjonowanych z grupy A. Badaniami objęto 47 pacjentów, u których w pobranym materiale biologicznym potwierdzono obecność glikolu etylenowego w stężeniu powyżej 0,2 g/l (Tab. 16). Do grupy A1 zakwalifikowano 2 kobiety i 45 mężczyzn. Średnia wieku kobiet wyniosła 59 lat a mężczyzn około 50. Pacjentów zatrutych glikolem etylenowym z grupy A1 porównano do osób zdrowych z grupy kontrolnej opisanych w punkcie 4.1.1. Średnia wieku w grupie kontrolnej wynosiła około 47 lat, dla kobiet jak i mężczyzn. W oparciu o analizę statystyczną (test  $\chi^2$  i Manna-Whitneya) stwierdzono, że grupa badana jak i kontrolna są jednorodnie pod względem wieku (Tab. 16). Nie stwierdzono natomiast jednorodności pod względem płci, co w przypadku grupy pacjentów zatrutych nie miało istotnego znaczenia dla diagnostyki i postępowania leczniczego.

Na tym etapie badań kluczowe było potwierdzenie obecności glikolu etylenowego (EG) w materiale biologicznym pacjentów (krew) i wyznaczenie jego stężenia. We wszystkich przypadkach wykonano również analizę w kierunku obecności alkoholu etylowego i metylowego; potwierdzając obecność etanolu w 10 przypadkach ( $> 0,2$  g/l) i metanolu w 8 ( $>0,5$  g/l). Średnie stężenia alkoholu etylowego (EA) i metylowego (MA) wynosiły odpowiednio  $0,22 \pm 0,70$  g/l i  $1,27 \pm 4,22$  g/l. We wszystkich 47 próbach stwierdzono obecność glikolu etylenowego w stężeniu powyżej 0,2 g/l (min: 0,20; max: 6,20). Średnie stężenie EG w krwi wynosiło  $1,26 \pm 1,39$  g/l. U osób zdrowych zakwalifikowanych do grupy kontrolnej wykluczono obecność alkoholi: etylowego, metylowego i glikolu etylenowego (Tab. 17). W grupie kontrolnej nie oznaczono gazometrii ze względu na ogólny dobry stan zdrowia osób zgłaszających się na badania oraz konieczność wykonania tych oznaczeń w krwi tętniczej (badanie gazometryczne wykonywano tylko w przypadku pacjentów zatrutych glikolem etylenowym). Z uwagi na konieczność zapewnienia małej inwazyjności podczas pozyskiwania materiału biologicznego i uzyskaną pisemną zgodę pacjentów jedynym materiałem wykorzystanym do badań w grupie kontrolnej była krew żylna. Grupa osób zatrutych glikolem etylenowym, oprócz potwierdzonej obecności EG w krwi, prezentowała pełnoobjawowy obraz kliniczny, który wskazywał na zatrucie alkoholem niespożywcym. Do charakterystycznych zaburzeń zaliczono: kwasicę metaboliczną oraz niewydolność nerek, potwierdzone wynikami wykonanych badań biochemicznych i gazometrii krwi tętniczej w chwili przyjęcia pacjenta do szpitala.

**Tabela 16.** Charakterystyka grupy pacjentów zatrutych glikolem etylenowym A1 i kontrolnej pod względem wieku i płci.

Parametry oceny statystycznej	Wiek [lata] i płeć			
	Grupa badana A1		Grupa kontrolna	
	Kobiety n=2	Mężczyźni n=45	Kobiety n=30	Mężczyźni n=30
$\bar{x}$ [lata]	59,00	49,53	47,87	47,07
%	4,26	95,74	50,00	50,00
SD	12,77	12,89	15,95	13,39
Min	56,00	20	18,00	21,00
Max	62,00	82	67,00	69,00
Mediana	50,00		53,00	
P względem płci	0,8653			
P względem wieku	<b>&lt;0,0001</b>			

**Tabela 17.** Porównanie parametrów biochemicznych i toksykologicznych w grupie badanej i kontrolnej

Wyniki biochemiczne i toksykologiczne	Parametry oceny statystycznej grupy pacjentów na poziomie istotności $\alpha=0,05$ n=107										
	Grupa badana A1 n=47					Grupa kontrolna n=60					p
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
Stężenie glikolu etylenowego [g/l]	1,26	1,39	0,71	0,28	1,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Stężenie alkoholu etylowego [g/l]	0,22	0,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Stężenie alkoholu metylowego [g/l]	1,27	4,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$[H^+] \times 10^{-8}$	13,55	6,44	13,09	13,01	14,11	-	-	-	-	-	-
pCO <sub>2</sub> [mmHg]	28,36	12,55	24,20	18,50	37,80	-	-	-	-	-	-
pO <sub>2</sub> [mmHg]	126,93	72,54	109,00	78,10	173,30	-	-	-	-	-	-
BE [mmol/l]	-23,15	10,69	-26,50	-29,00	-20,00	-	-	-	-	-	-
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mmol/l]	7,75	6,77	5,00	6,40	8,30	-	-	-	-	-	-
Kreatynina [mg/dl]	2,38	1,49	2,19	1,32	2,79	0,83	0,37	0,90	0,58	1,20	<0,0001
Mocznik [mg/dl]	34,89	23,37	26,50	23,00	45,00	16,80	7,48	15,00	11,00	24,00	<0,0001
ALT [U/l]	54,83	42,62	39,00	24,00	66,00	25,40	10,41	27,00	15,00	34,00	0,0002
AST [U/l]	118,12	203,51	48,00	35,00	76,00	29,27	8,23	29,00	25,00	34,00	<0,0001

### 5.2.1. Ocena wyników gazometrii i biochemicznych u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1) w porównaniu do grupy kontrolnej

Wyniki badań przedstawiono jako wartości średnie, mediany oraz kwartale (Q25 dolny i Q75 górny) wraz z odchyleniem standardowym (Tab. 17). Do określenia pH i przeprowadzenia prawidłowej analizy statystycznej wartość pH przeliczono na stężenie jonów wodorowych  $[H^+]^{14}$ . Średnie stężenie jonów wodorowych w grupie badanej wynosiło  $13,55 \times 10^{-8} \pm 6,44 \times 10^{-8}$ . Pozostałe parametry gazometrii prezentowały się następująco (średnia  $\pm$ SD):  $pCO_2$   $28,36 \pm 12,55$  mmHg (32-45<sup>15</sup>),  $pO_2$   $126,93 \pm 72,54$  mmHg (65-100<sup>16</sup>), BE  $-23,15 \pm 10,69$  mmol/l (-3,0 do 3,0<sup>17</sup>) i  $HCO_3^-$   $7,75 \pm 6,77$  mmol/l (22-26<sup>18</sup>). W porównaniu do wartości referencyjnych, obniżone stężenie jonów  $[H^+]$  potwierdziło zaburzenia o charakterze kwasicznym, natomiast niskie poziomy  $pCO_2$  i  $HCO_3^-$  pozwoliły określić przyczynę kwasicy jako metaboliczną. W porównaniu z pozostałymi parametrami gazometrii, istotne różnice stwierdzono między stężeniem jonów  $[H^+]$  a wartościami  $pO_2$ , BE i  $HCO_3^-$  (Tab. 18; Ryc. 20-22). Ponadto potwierdzono wpływ stężenia kreatyniny na stężenie jonów  $[H^+]$  w grupie badanej (Tab. 19; Ryc. 23)

Wyniki badań biochemicznych, wskazujące na postępującą niewydolność nerek, prezentowały się następująco: średnie stężenie kreatyniny  $2,38 \pm 1,49$  mg/dl (0,9-1,1<sup>19</sup>) i mocznika  $34,89 \pm 23,37$  mg/dl (12-50<sup>20</sup>), natomiast parametry wątrobowe tj. średnia aktywność aminotransferazy alaninowej ALT i aminotransferazy asparaginianowej AST, wynosiły odpowiednio  $54,48 \pm 42,56$  U/l i  $118,12 \pm 203,51$  U/l (15-30 U/l<sup>21</sup> oraz 19-40 U/l<sup>22</sup>). W porównaniu do grupy kontrolnej różnice istotne ( $p < 0,05$ ) potwierdzono w przypadku stężenia kreatyniny ( $0,83 \pm 0,37^{23}$  mg/dl) i mocznika ( $16,80 \pm 7,48^{22}$  mg/dl) oraz aktywności ALT i AST ( $25,40 \pm 10,41^{22}$  U/l;  $29,27 \pm 8,23^{22}$  U/l) (Tab. 17). Średnie stężenia kreatyniny oraz aktywności AST w grupie kontrolnej były kilkukrotnie niższe niż w grupie badanej. Podwyższone wartości mocznika oraz aktywności ALT w grupie badanej w porównaniu do

<sup>14</sup> Zgodnie z definicją  $pH = -\log_{10}[H_3O^+]$

<sup>15</sup> Wartości referencyjne gazometrii tętniczej dla  $pCO_2$  [63]

<sup>16</sup> Wartości referencyjne gazometrii tętniczej dla  $pO_2$  [63]

<sup>17</sup> Wartości referencyjne gazometrii tętniczej dla BE [63]

<sup>18</sup> Wartości referencyjne gazometrii tętniczej dla  $HCO_3^-$  [63]

<sup>19</sup> Wartości referencyjne kreatyniny [63]

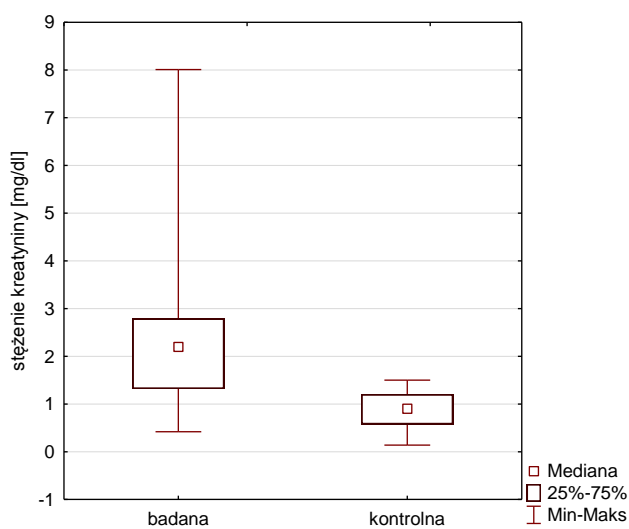
<sup>20</sup> Wartości referencyjne mocznika [63]

<sup>21</sup> Wartości referencyjne aminotransferazy alaninowej [63]

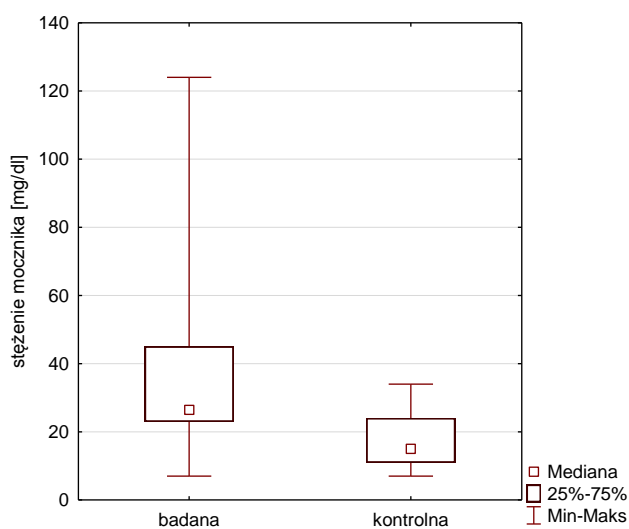
<sup>22</sup> Wartości referencyjne aminotransferazy asparaginianowej [63]

<sup>23</sup> Wartości uzyskane w grupie kontrolnej

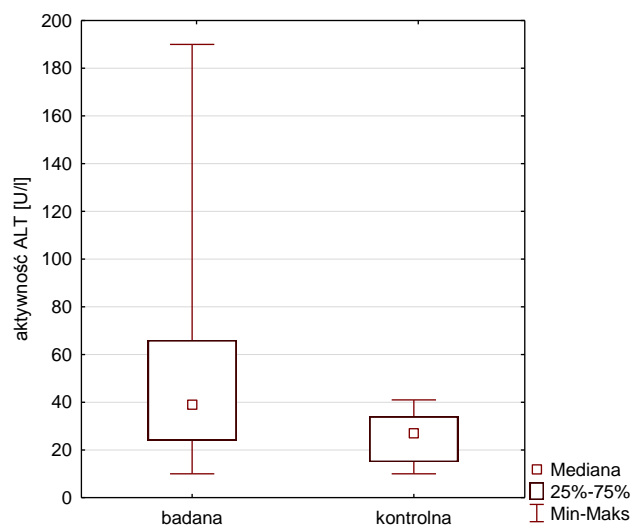
kontroli były na poziomie ok. 110%. Istotne różnice w średnich i medianach parametrów narządowych w obu grupach przedstawiono na rycinach 16-19.



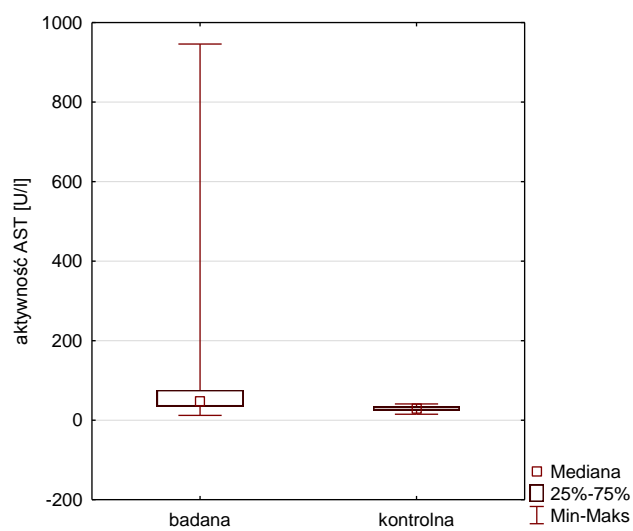
**Rycina 16.** Wykres ramkowy stężenia kreatyniny w grupie badanej i kontrolnej.



**Rycina 17.** Wykres ramkowy stężenia mocznika w grupie badanej i kontrolnej.



**Rycina 18.** Wykres ramkowy aktywności ALT w grupie badanej i kontrolnej.



**Rycina 19.** Wykres ramkowy aktywności AST w grupie badanej i kontrolnej.

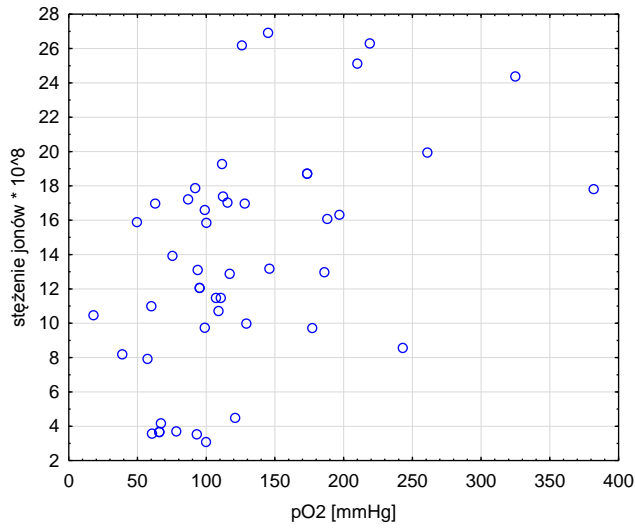
**Tabela 18.** Wpływ parametrów równowagi kwasowo-zasadowej i stężenia alkoholu etylowego i metylowego na stężenie jonów  $[H^+]$  w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.

Parametry toksykologiczne oraz równowagi kwasowo-zasadowej	Parametry oceny statystycznej $[H^+] \times 10^{-8}$ w grupie badanej pacjentów na poziomie istotności $\alpha=0,05$					
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
	49,94	12,91	50,00	42,00	57,00	
Stężenie alkoholu etylowego [g/l]	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
	0,22	0,70	0,00	0,00	0,00	
p	0,9888					
Stężenie alkoholu metylowego [g/l]	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
	1,27	4,22	0,00	0,00	0,00	
p	0,1737					
pCO <sub>2</sub> [mmHg]	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
	13,55	6,44	13,09	13,01	14,11	
p	0,3113					
pO <sub>2</sub> [mmHg]	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
	126,93	72,54	109,00	78,10	173,30	
p	<b>&lt;0,0001</b>					
BE [mmol/l]	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
	-23,15	10,69	-26,50	-29,00	-20,00	
p	<b>&lt;0,0001</b>					
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mmol/l]	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
	28,36	12,55	24,20	18,50	37,80	
p	<b>&lt;0,0001</b>					

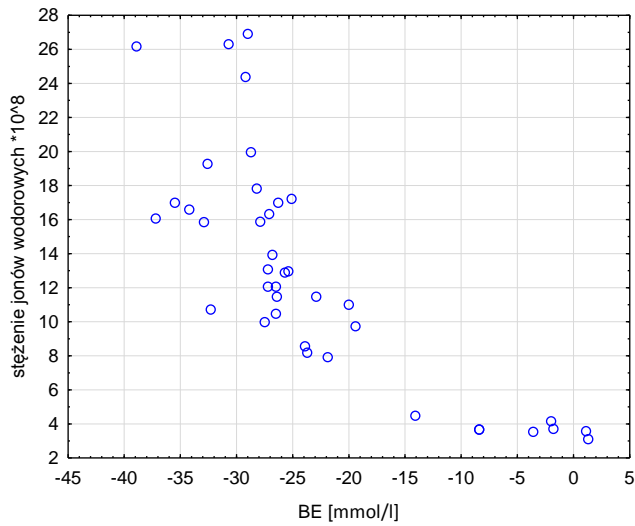
**Tabela 19.** Wpływ parametrów biochemicznych na stężenie jonów  $[H^+]$  w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.

Parametry biochemiczne	Parametry oceny statystycznej $[H^+] \times 10^{-8}$ w grupie badanej pacjentów na poziomie istotności $\alpha=0,05$						
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75		
		49,94	12,91	50,00	42,00	57,00	
<b>Kreatynina</b> [mg/dl]	$\bar{x}$			SD	Mediana	Q 25	Q 75
		2,38		1,49	2,19	1,32	2,79
p	<b>0,0489</b>						
<b>Mocznik</b> [mg/dl]	$\bar{x}$			SD	Mediana	Q 25	Q 75
		34,89		23,37	26,50	23,00	45,00
p	0,7817						
<b>ALT</b> [U/l]	$\bar{x}$			SD	Mediana	Q 25	Q 75
		54,83		42,62	39,00	24,00	66,00
p	0,0963						
<b>AST</b> [U/l]	$\bar{x}$			SD	Mediana	Q 25	Q 75
		118,12		203,51	48,00	35,00	76,00
p	0,0512						

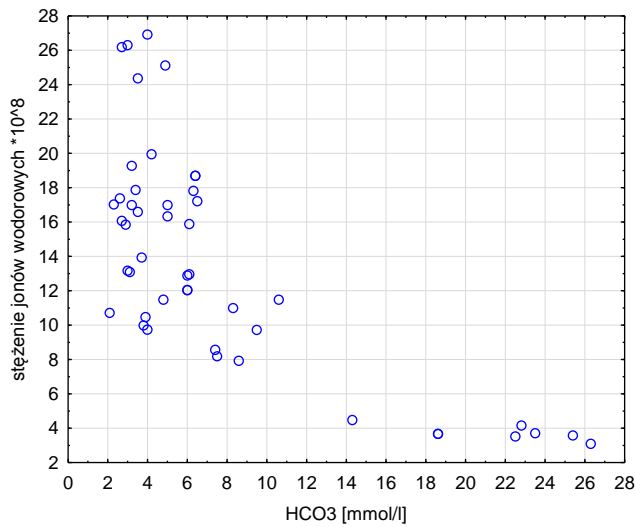




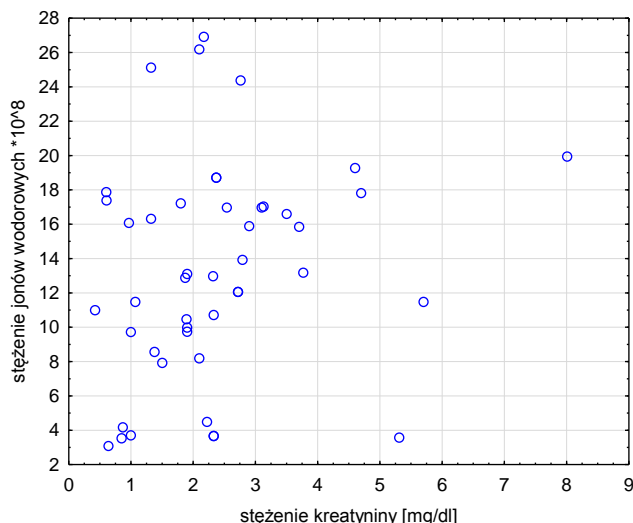
**Rycina 20.** Wykres rozrzutu dla stężenia jonów  $[H^+]$  w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od  $pO_2$ .



**Rycina 21.** Wykres rozrzutu dla stężenia jonów  $[H^+]$  w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od BE.



**Rycina 22.** Wykres rozrzutu dla stężenia jonów  $[H^+]$  w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od  $HCO_3^-$ .



**Rycina 23.** Wykres rozrzutu dla stężenia jonów  $[H^+]$  w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od stężenia kreatyniny.

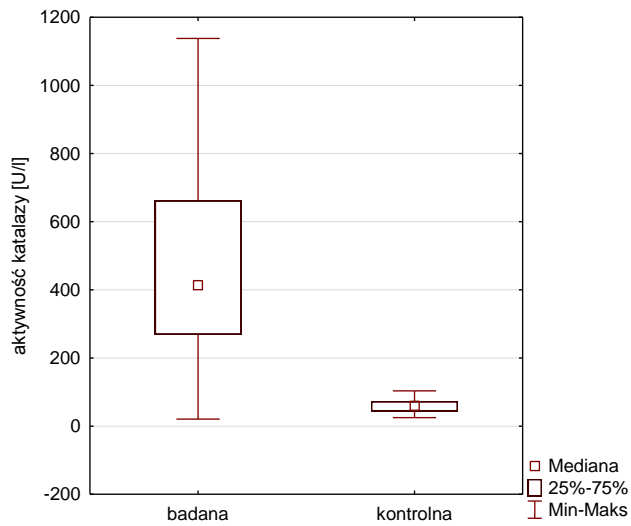
### 5.2.2. Ocena markerów stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1) w porównaniu do grupy kontrolnej

Wyniki oznaczeń markerów stresu oksydacyjnego przedstawiono jako wartości średnie, mediany oraz kwartale (Q25 dolny i Q75 górny) wraz z odchyleniem standardowym (Tab. 20). Aktywności enzymów antyoksydacyjnych, stężenia hydroksynonenalu (HNE) i glutationu całkowitego oraz poziomy TBARS i TAC w surowicy krwi zatrutych pacjentów porównano z grupą kontrolną osób zdrowych (Tab. 20, Ryc. 24-30). Średnie aktywności enzymów antyoksydacyjnych w grupie badanej wynosiły odpowiednio dla katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej (GPx), reduktazy glutationowej (GR) i S-transferazy glutationowej (GST):  $470,15 \pm 277,25$  U/l;  $142,84 \pm 86,28$  U/l;  $121,94 \pm 65,37$  U/l;  $33,85 \pm 26,32$  U/l. W grupie kontrolnej parametry te wynosiły odpowiednio:  $56,79 \pm 17,68$  U/l;  $195,74 \pm 11,56$  U/l;  $61,52 \pm 4,96$  U/l i  $33,48 \pm 8,37$  U/l. Aktywność katalazy w grupie badanej była 8-krotnie wyższa niż w grupie osób zdrowych, natomiast aktywność GPx była podwyższona o ok. 40% (Ryc. 24 i 25). Jedynie wzrost aktywności GST był nieznaczny w porównaniu do grupy kontrolnej o ok. 1% (Ryc. 29). Aktywność GR w grupie badanej była jako jedyna spośród enzymów obniżona o około 50% niż w grupie osób zdrowych (Ryc. 26). W porównaniu do grupy kontrolnej stwierdzono natomiast istotne statystycznie różnice w wyznaczonych średnich, odpowiednio dla hydroksynonenalu i glutationu, HNE ( $6,18 \pm 2,11$   $\mu\text{g/ml}$ ) oraz GSH ( $6,81 \pm 0,91$   $\mu\text{M/l}$ ). W porównaniu do grupy kontrolnej wartość HNE była ok. 2-krotnie wyższa (vs.  $2,99 \pm 0,65$   $\mu\text{g/ml}$ ), natomiast stężenie GSH ok. 2-krotnie niższe (vs.  $14,61 \pm 0,89$

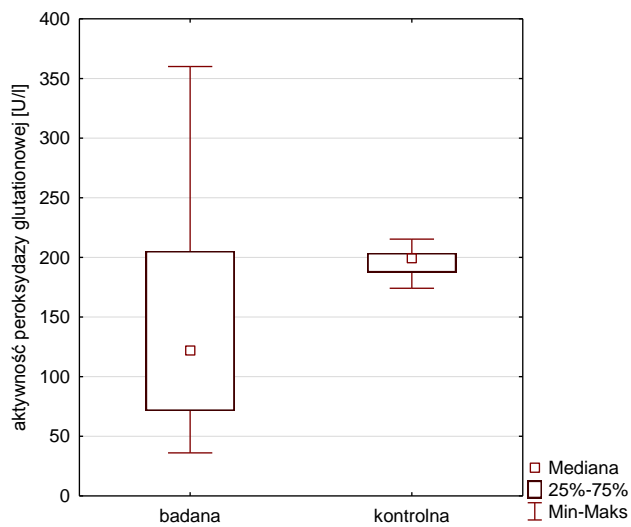
$\mu\text{M/l}$ ). Istotne różnice między obiema grupami przedstawiono na rycinach 27 i 30. W porównaniu do grupy kontrolnej stwierdzono ok. 30% wzrost TBARS ( $4,28 \pm 1,99 \mu\text{M/l}$  vs.  $3,32 \pm 0,49 \mu\text{M/l}$ ) (Ryc. 28). Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w wartości TAC.

**Tabela 20.** Porównanie parametrów stresu oksydacyjnego w grupie badanej i kontrolnej.

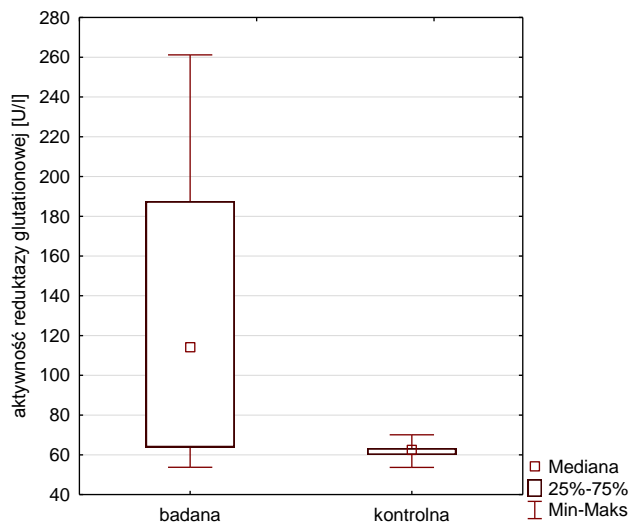
Markery stresu oksydacyjnego	Parametry oceny statystycznej w grupie pacjentów na poziomie istotności $\alpha=0,05$ n=107										
	Grupa badana A1 n=47					Grupa kontrolna n=60					p
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
<b>Katalaza [U/l]</b>	470,15	277,25	413,79	268,96	662,07	56,79	17,68	60,00	43,45	72,41	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Peroxydaza glutationowa [U/l]</b>	142,84	86,28	121,97	71,50	205,25	195,74	11,56	199,36	187,58	203,57	<b>0,0002</b>
<b>Reduktaza glutationowa [U/l]</b>	121,94	65,37	114,24	63,93	187,46	61,52	4,96	62,48	60,06	63,25	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Hydroksynonenal [<math>\mu\text{g/ml}</math>]</b>	6,18	2,11	7,03	3,19	8,19	2,99	0,65	3,02	2,42	3,52	<b>&lt;0,0001</b>
<b>TBARS [<math>\mu\text{M/l}</math>]</b>	4,28	1,99	4,44	2,27	5,49	3,32	0,49	3,29	3,03	3,69	<b>0,0273</b>
<b>S-Transferaza glutationowa[U/l]</b>	33,85	26,32	26,15	15,03	41,40	33,48	8,37	34,19	24,96	36,90	<b>0,0235</b>
<b>Całkowita pojemność antyoksydacyjna [CRE]</b>	874,98	480,98	857,70	565,20	1061,40	893,21	103,44	863,30	842,30	983,85	0,6329
<b>Glutation [<math>\mu\text{M/l}</math>]</b>	6,81	0,91	6,45	6,13	6,88	14,61	0,89	14,30	13,98	14,73	<b>&lt;0,0001</b>



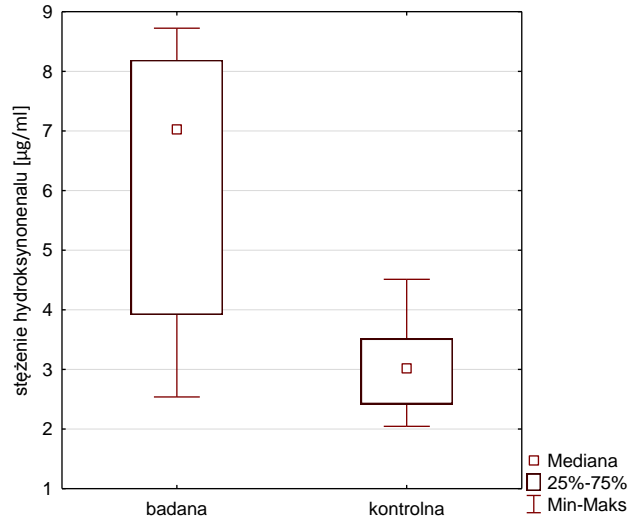
**Rycina 24.** Wykres ramkowy aktywności katalazy w grupie badanej i kontrolnej.



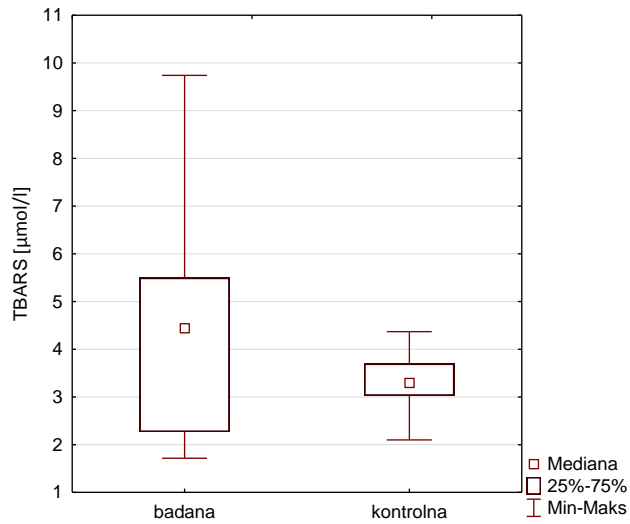
**Rycina 25.** Wykres ramkowy aktywności peroksydazy glutationowej w grupie badanej i kontrolnej.



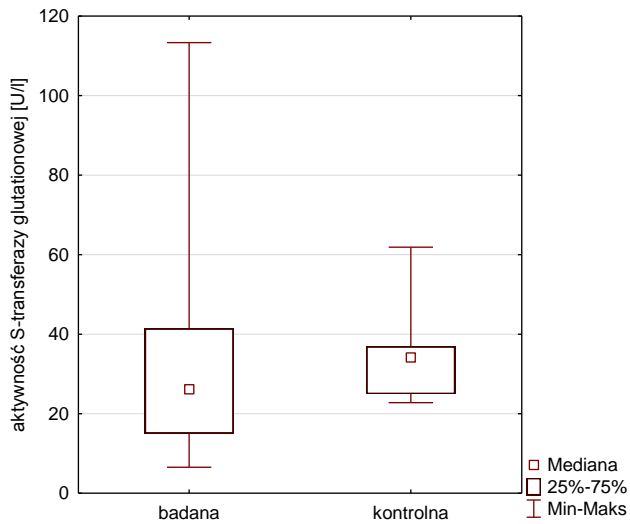
**Rycina 26.** Wykres ramkowy aktywności reduktazy glutationowej w grupie badanej i kontrolnej.



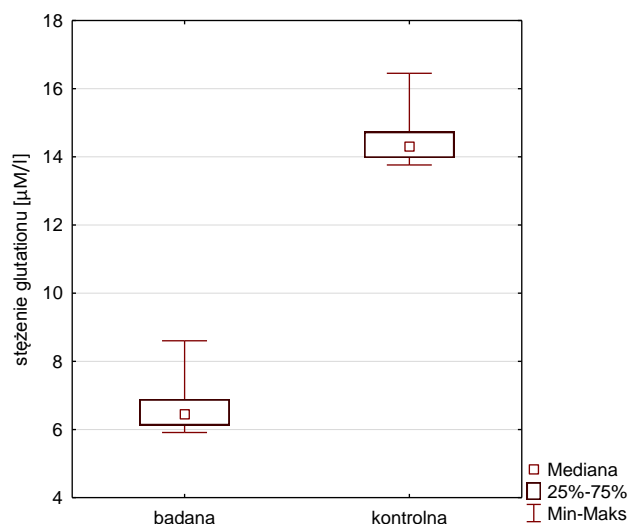
**Rycina 27.** Wykres ramkowy steżenia hydroksynonenalu w grupie badanej i kontrolnej.



**Rycina 28.** Wykres ramkowy poziomu TBARS w grupie badanej i kontrolnej.



**Rycina 29.** Wykres ramkowy aktywności S-transferazy glutationowej w grupie badanej i kontrolnej



**Rycina 30.** Wykres ramkowy stężenia glutationu w grupie badanej i kontrolnej.

### 5.2.3. Wpływ płci i wieku na markery stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1) i w grupie kontrolnej

Kolejnym etapem analizy była ocena wpływu płci i wieku na stan równowagi oksydoredukcyjnej w grupie osób zdrowych i pacjentów zatrutych. Przy pomocy korelacji rangowej  $R_5$  Spearmana wykazano wpływ wieku na wybrane markery stresu oksydacyjnego, w tym aktywność katalazy i poziom TBARS w grupie kontrolnej, co pozwala wnioskować, że im osoba jest starsza tym są wyższe wartości obu parametrów (Tab. 21; Ryc. 31 i 32). Podobną zależność stwierdzono między stężeniem kreatyniny a wiekiem osób zdrowych, co przedstawiono w tabeli 22 i na rycinie 33. Wpływ płci na markery stresu oksydacyjnego wykazano jedynie w przypadku wartości hydroksynonenalu, które były wyższe u kobiet niż u mężczyzn (Tab. 21; Ryc. 34). W grupie osób zatrutych glikolem etylenowym nie stwierdzono wpływu wieku na wartości żadnego z ocenianych markerów (Tab. 23-26). W grupie tej nie przeprowadzono analizy zależności markerów od płci ze względu na jej niejednorodność (2 kobiety, 45 mężczyzn).

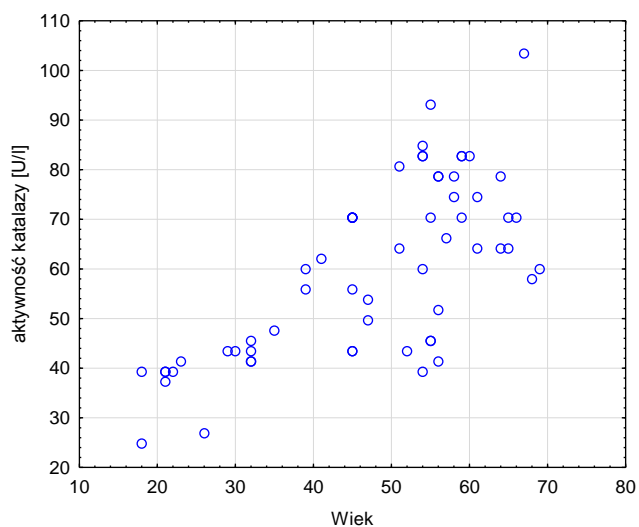
**Tabela 21.** Wpływ wieku i płci na markery stresu oksydacyjnego w grupie kontrolnej.

Markery stresu oksydacyjnego	Parametry oceny statystycznej w grupie kontrolnej na poziomie istotności $\alpha=0,05$ n=60																
						Wiek n=60	Kobiety n=30					Mężczyźni n=30					
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	p	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	p
Katalaza [U/l]	56,79	17,68	60,00	43,45	72,41	<0,0001	62,76	19,97	65,17	43,45	78,62	56,83	14,81	55,86	43,45	70,34	0,2662
Peroksydaza glutationowa [U/l]	195,74	11,56	199,36	187,58	203,57	0,5611	193,59	12,15	190,95	187,59	203,57	197,90	10,71	199,36	190,95	203,57	0,2336
Reduktaza glutationowa [U/l]	61,52	4,96	62,48	60,06	63,25	0,3059	61,13	4,18	62,48	60,06	63,25	61,90	5,68	62,54	60,06	66,57	0,8165
Hydroksynonenal [µg/ml]	2,99	0,65	3,02	2,42	3,52	0,8196	3,19	0,64	3,22	2,65	3,73	2,79	0,60	2,65	2,21	3,04	0,0190
TBARS [µM/l]	3,32	0,49	3,29	3,03	3,69	<0,0001	3,28	0,50	3,19	3,03	3,70	3,36	0,47	3,29	3,03	3,67	0,5448
S-Transferaza glutationowa [U/l]	33,48	8,37	34,19	24,96	36,90	0,5914	32,38	7,71	30,39	24,96	36,90	34,59	8,97	35,28	24,96	36,90	0,4255
Całkowita pojemność antyoksydacyjna [CRE]	893,21	103,44	863,30	842,30	983,85	0,1240	896,99	84,57	863,30	845,50	974,50	889,44	120,77	863,30	839,10	993,20	0,9585
Glutation [µM/l]	14,61	0,89	14,30	13,98	14,73	0,1741	14,54	0,94	14,30	13,87	14,73	14,67	0,87	14,30	14,30	14,73	0,2662

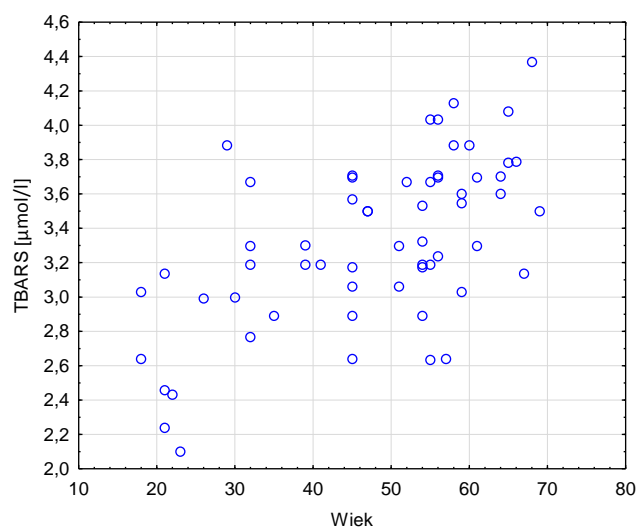


**Tabela 22.** Wpływ wieku i płci na parametry biochemiczne w grupie kontrolnej.

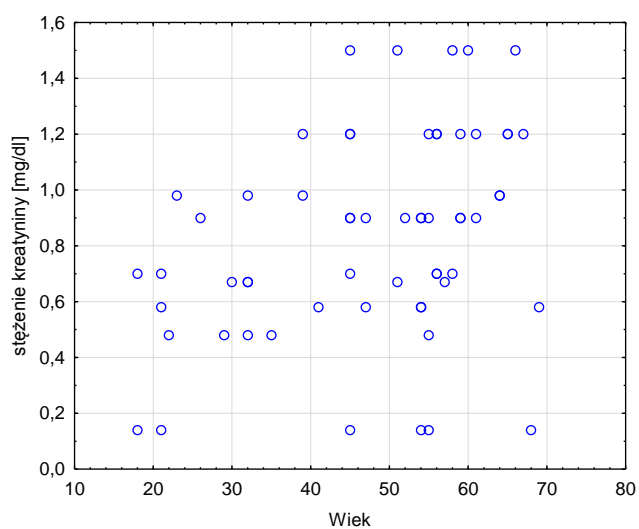
Parametry biochemiczne	Parametry oceny statystycznej w grupie kontrolnej na poziomie istotności $\alpha=0,05$ n=60																
	Wiek n=60						Kobiety n=30					Mężczyźni n=30					
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	p	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	p
<b>Kreatynina [mg/dl]</b>	0,83	0,37	0,90	0,58	1,20	<b>0,0036</b>	0,84	0,38	0,90	0,58	1,20	0,82	0,36	0,90	0,58	1,20	0,8761
<b>Mocznik [mg/dl]</b>	16,80	7,48	15,00	11,00	24,00	0,2109	16,23	7,33	14,00	11,00	18,00	17,37	7,71	15,00	11,00	24,00	0,5933
<b>ALT [U/l]</b>	25,40	10,41	27,00	15,00	34,00	0,4198	25,00	11,03	25,00	15,00	34,00	25,80	9,94	28,00	15,00	34,00	0,8351
<b>AST [U/l]</b>	29,27	8,23	29,00	25,00	34,00	0,4375	29,13	8,30	29,00	25,00	34,00	30,13	8,76	27,00	27,00	35,00	0,8405



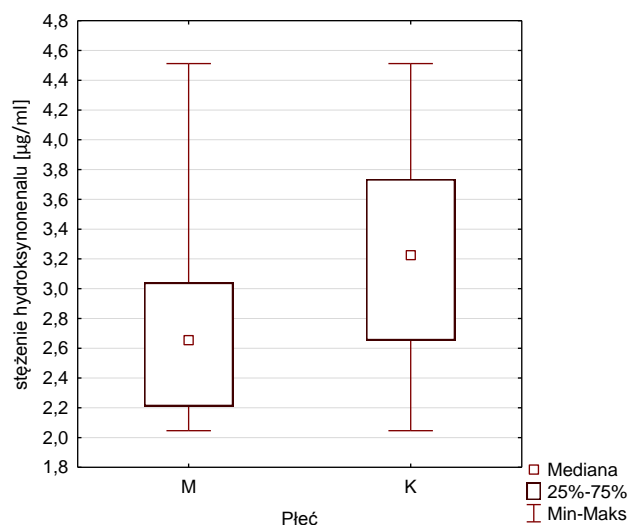
**Rycina 31.** Wykres rozrzutu: aktywność katalazy w grupie kontrolnej w zależności od wieku.



**Rycina 32.** Wykres rozrzutu: poziom TBARS w grupie kontrolnej w zależności od wieku.



**Rycina 33.** Wykres rozrzutu: stężenie kreatyniny w grupie kontrolnej w zależności od wieku.



**Rycina 34.** Wykres ramkowy stężenia hydroksynonenalu w grupie kontrolnej w zależności od płci.

#### **5.2.4. Wpływ wieku, stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i alkoholu metylowego na równowagę kwasowo-zasadową, wyniki biochemiczne oraz markery stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1)**

Kontynuacją badań w grupie pacjentów zatrutych była ocena wpływu wieku, stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i metylowego na wyniki gazometrii i parametry biochemiczne oraz markery stresu oksydacyjnego. Przedstawione w tabelach 23 i 24 dane nie potwierdziły wpływu wieku ani obecności badanych alkoholi na parametry biochemiczne i równowagę kwasowo-zasadową u zatrutych pacjentów. Istotne statystycznie różnice stwierdzono natomiast w wartościach markerów stresu oksydacyjnego, które zależały od obecności glikolu etylenowego i alkoholi: etylowego i metylowego w krwi (Tab. 25 i 26). Stwierdzono, że wraz ze wzrostem stężenia glikolu etylenowego podwyższeniu ulegają aktywności katalazy i reduktazy glutationowej oraz poziom TBARS. Równocześnie stwierdzono, że im niższe rejestrowane stężenie glikolu etylenowego, tym mniejsza jest aktywność peroksydazy glutationowej oraz stężenie HNE. Różnice te przedstawiono na rycinach 35-39. Ponadto wykazano, że obecność alkoholu etylowego istotnie wpływa jedynie na poziom TAC (Ryc. 40), przy czym stwierdzono, że im wyższe stężenie etanolu tym niższe wartości TAC. Również obecność metanolu, w 8 przypadkach wpłynęła na równowagę oksydoredukcyjną (Ryc. 41). Stwierdzono, że im wyższe stężenie alkoholu metylowego, tym wyższe aktywności reduktazy glutationowej.

**Tabela 23.** Wpływ wieku, stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i metylowego na parametry równowagi kwasowo-zasadowej w grupie badanej pacjentów zatrutych.

Parametry toksykologiczne i równowagi kwasowo-zasadowej	Wiek [lata]					Stężenie glikolu etylenowego [g/l]					Stężenie alkoholu etylowego [g/l]					Stężenie alkoholu metylowego [g/l]				
	- $\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	- $\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	- $\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	- $\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75
	49,94	12,91	50,00	42,00	57,00	1,26	1,39	0,71	0,28	1,70	0,22	0,70	0,00	0,00	0,00	1,27	4,22	0,00	0,00	0,0
Stężenie alkoholu etylowego [g/l]	-		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	0,22		0,70			0,00			0,00			0,00								
p	0,7715					0,9754					-					0,1476				
Stężenie alkoholu metylowego [g/l]	-		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	1,27		4,22			0,00			0,00			0,00								
p	0,7273					0,1536					0,1476					-				
[H <sup>+</sup> ] × *10 <sup>-8</sup>	-		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	13,55		6,44			13,09			13,01			14,11								
p	0,4028					0,9749					0,9888					0,1737				
pCO <sub>2</sub> [mmHg]	-		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	28,36		12,55			24,20			18,50			37,80								
p	0,9188					0,0506					0,8851					0,3694				
pO <sub>2</sub> [mmHg]	-		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	126,93		72,54			109,00			78,10			173,30								
p	0,3512					0,4952					0,3157					0,9206				
BE [mmol/l]	-		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	-23,15		10,69			-26,50			-29,00			-20,00								
p	0,4814					0,8733					0,6072					0,2422				
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mmol/l]	-		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	7,75		6,77			5,00			6,40			8,30								
p	0,6687					0,3932					0,7413					0,1222				

**Tabela 24.** Wpływ wieku, stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i metylowego na parametry biochemiczne w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.

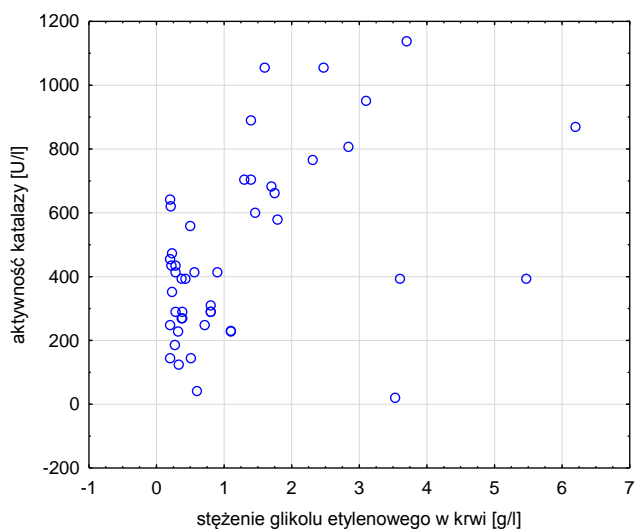
Parametry biochemiczne	Wiek [lata]					Stężenie glikolu etylenowego [g/l]					Stężenie alkoholu etylowego [g/l]					Stężenie alkoholu metylowego [g/l]				
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75
		49,94	12,91	50,00	42,00	57,00	1,26	1,39	0,71	0,28	1,70	0,22	0,70	0,00	0,00	0,00	1,27	4,22	0,00	0,00
Kreatynina [mg/dl]	$\bar{x}$		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	2,38		1,49			2,19			1,32			2,79								
p	0,9591					0,8066					0,3652					0,6604				
Mocznik [mg/dl]	$\bar{x}$		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	34,89		23,37			26,50			23,00			45,00								
p	0,0682					0,1597					0,2878					0,9039				
ALT [U/l]	$\bar{x}$		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	54,83		42,62			39,00			24,00			66,00								
p	0,7477					0,5260					0,9619					0,1833				
AST [U/l]	$\bar{x}$		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	118,12		203,51			48,00			35,00			76,00								
p	0,8940					0,2434					0,9588					0,0706				

**Tabela 25.** Wpływ wieku, stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i metylowego na markery stresu oksydacyjnego w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.

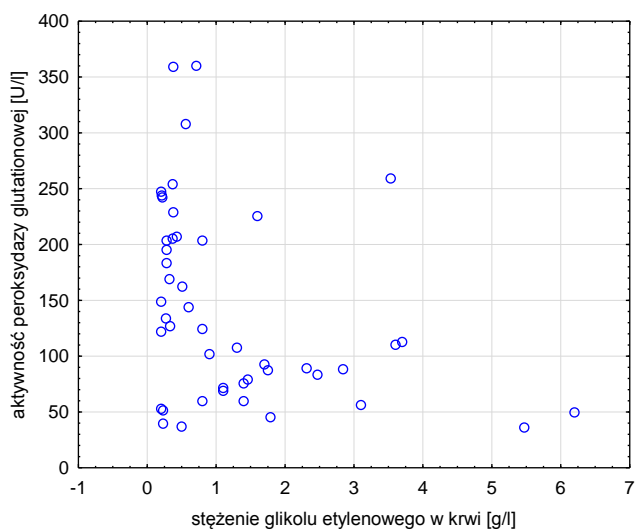
Markery stresu oksydacyjnego	Wiek [lata]					Stężenie glikolu etylenowego [g/l]					Stężenie alkoholu etylowego [g/l]					Stężenie alkoholu metylowego [g/l]				
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75
		49,94	12,91	50,00	42,00	57,00	1,26	1,39	0,71	0,28	1,70	0,22	0,70	0,00	0,00	0,00	1,27	4,22	0,00	0,00
Katalaza [U/l]	$\bar{x}$		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	470,15		277,25			413,79			268,96			662,07								
p	0,5455					<b>0,0032</b>					0,2008					0,5496				
Peroxysydzaza glutationowa [U/l]	$\bar{x}$		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	142,84		86,28			121,97			71,50			205,25								
p	0,6593					<b>0,0106</b>					0,7259					0,8078				
Reduktaza glutationowa [U/l]	$\bar{x}$		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	121,94		65,37			114,24			63,93			187,46								
p	0,4441					<b>&lt;0,0001</b>					0,5904					<b>0,0387</b>				
Hydroksynonenal [µg/ml]	$\bar{x}$		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	6,18		2,11			7,03			3,19			8,19								
p	0,4056					<b>&lt;0,0001</b>					0,6491					0,4516				

**Tabela 26.** Wpływ wieku, stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i metylowego na markery stresu oksydacyjnego w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.

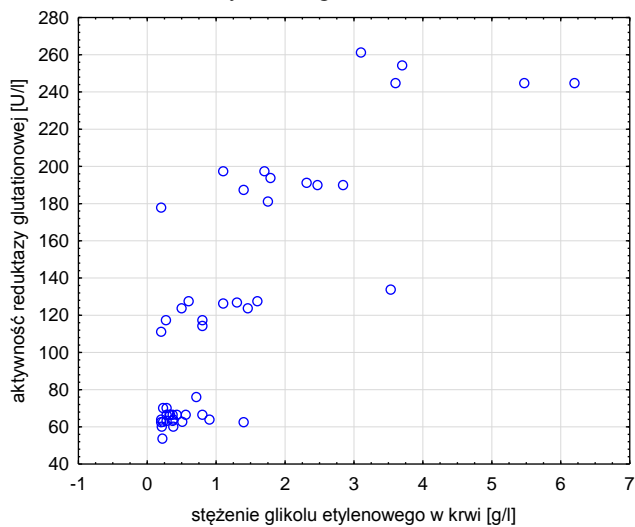
Markery stresu oksydacyjnego	Wiek [lata]				Stężenie glikolu etylenowego [g/l]					Stężenie alkoholu etylowego [g/l]					Stężenie alkoholu metylowego [g/l]					
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75
		49,94	12,91	50,00	42,00	57,00	1,26	1,39	0,71	0,28	1,70	0,22	0,70	0,00	0,00	0,00	1,27	4,22	0,00	0,00
TBARS [ $\mu$ M/l]	$\bar{x}$	SD				Mediana			Q 25			Q 75								
	3,32	0,49				3,29			3,03			3,69								
p	0,4302				<b>&lt;0,0001</b>					0,5536					0,3485					
S-Transferaza glutationowa[U/l]	$\bar{x}$	SD				Mediana			Q 25			Q 75								
	33,48	8,37				34,19			24,96			36,90								
p	0,5052				0,6515					0,2092					0,9992					
Całkowita pojemność antyoksydacyjna [CRE]	$\bar{x}$	SD				Mediana			Q 25			Q 75								
	893,21	103,44				863,30			842,30			983,85								
p	0,9301				0,6165					<b>0,0397</b>					0,9337					
Glutation [ $\mu$ M/l]	$\bar{x}$	SD				Mediana			Q 25			Q 75								
	14,61	0,89				14,30			13,98			14,73								
p	0,5387				0,7262					0,9311					0,3694					



**Rycina 35.** Wykres rozrzutu aktywności katalazy w zależności od stężenia glikolu etylenowego w krwi.

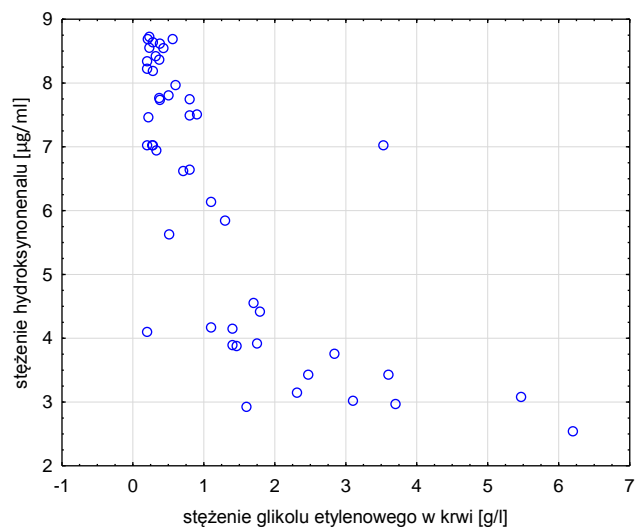


**Rycina 36.** Wykres rozrzutu: aktywność peroksydazy glutationowej w zależności od stężenia glikolu etylenowego w krwi.

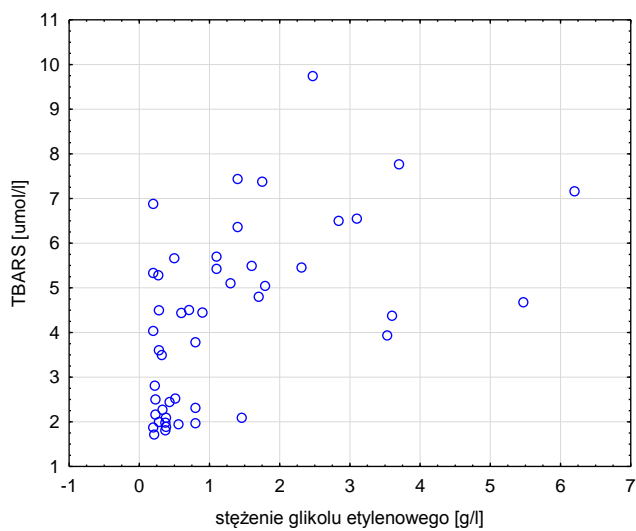


**Rycina 37.** Wykres rozrzutu: aktywność reduktazy glutationowej w zależności od stężenia glikolu etylenowego w krwi.

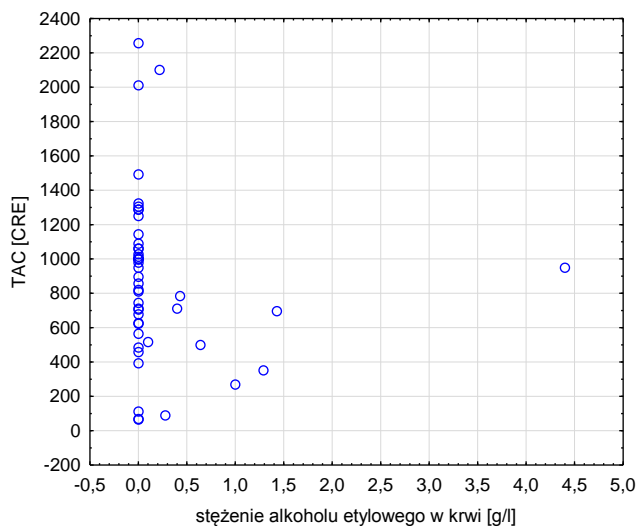




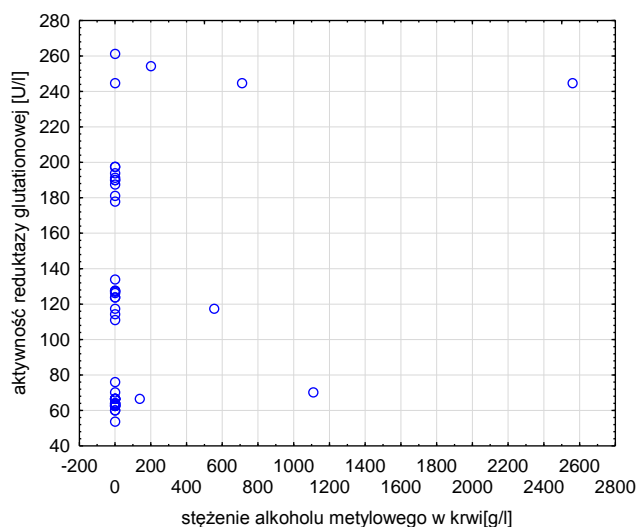
**Rycina 38.** Wykres rozrzutu: zależność stężenia hydroksynonenalu od stężenia glikolu etylenowego w krwi.



**Rycina 39.** Wykres rozrzutu: zależność poziomu TBARS od stężenia glikolu etylenowego w krwi.



**Rycina 40.** Wykres rozrzutu: zależność poziomu TAC od stężenia alkoholu etylowego w krwi.



**Rycina 41.** Wykres rozrzutu: zależność aktywności reduktazy glutationowej od stężenia alkoholu metylowego w krwi

### 5.2.5. Wpływ zaburzeń biochemicznych i równowagi kwasowo-zasadowej na markery stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1)

W dalszych badaniach, poddano ocenie wpływ parametrów biochemicznych i gazometrii na stan równowagi oksydoredukcyjnej. Nie stwierdzono wpływu zaburzeń kwasowo-zasadowej ani podwyższonych aktywności AST i ALT na wartości markerów stresu oksydacyjnego (Tab. 27-28). Jedynie wraz ze wzrostem stężenia kreatyniny stwierdzono wzrost aktywności GST oraz stężenia HNE zależnie od podwyższonych wartości mocznika (Ryc. 42 i 43).

**Tabela 27.** Wpływ równowagi kwasowo-zasadowej na markery stresu oksydacyjnego w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.

Markery stresu oksydacyjnego	$[H^+] \times 10^{-8}$					pCO <sub>2</sub> [mmHg]					pO <sub>2</sub> [mmHg]					BE [mmol/l]					HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mmol/l]					
	- X	SD	Mediana	Q 25	Q 75	- X	SD	Mediana	Q 25	Q 75	- X	SD	Mediana	Q 25	Q 75	- X	SD	Mediana	Q 25	Q 75	- X	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
	13,55	6,44	13,09	13,01	14,11	28,36	12,55	24,20	18,50	37,80	126,9	72,54	109,00	78,10	173,30	23,15	10,6	-26,50	-	-	29,0	20,00	7,75	6,77	5,00	6,40
<b>Katalaza</b> [U/l]	- X		SD	Mediana	Q 25					Q 75																
	470,15		277,25	413,79	268,96					662,07																
p	0,6996				0,6771					0,7564					0,4759					0,8484						
<b>Peroksydaza glutationowa</b> [U/l]	- X		SD	Mediana	Q 25					Q 75																
	142,84		86,28	121,97	71,50					205,25																
p	0,2660				0,5222					0,2214					0,0792					0,5017						
<b>Reduktaza glutationowa</b> [U/l]	- X		SD	Mediana	Q 25					Q 75																
	121,94		65,37	114,24	63,93					187,46																
p	0,8436				0,6597					0,9832					0,8421					0,6066						
<b>Hydroksynonenal</b> [µg/ml]	- X		SD	Mediana	Q 25					Q 75																
	6,18		2,11	7,03	3,19					8,19																
p	0,7668				0,6162					0,6469					0,8053					0,8213						

**Tabela 28.** Wpływ równowagi kwasowo-zasadowej na markery stresu oksydacyjnego w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.

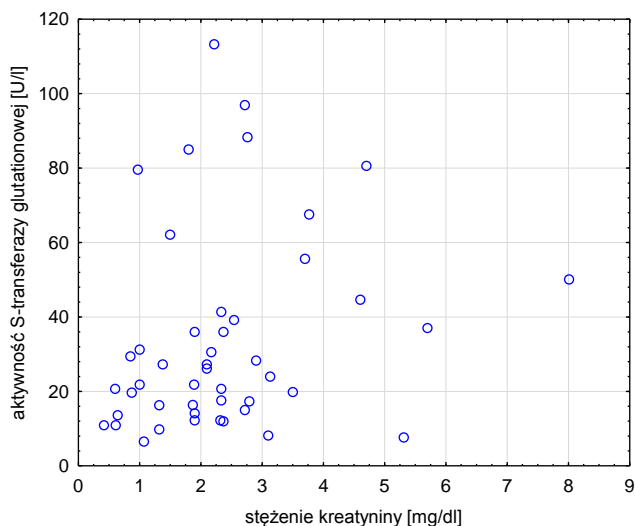
Markery stresu oksydacyjnego	$[H^+] \times 10^{-8}$					pCO <sub>2</sub> [mmHg]					pO <sub>2</sub> [mmHg]					BE [mmol/l]					HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mmol/l]						
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{X}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{X}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{X}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{X}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75		
	13,55	6,44	13,09	13,01	14,11	28,36	12,55	24,20	18,50	37,80	126,9	72,54	109,00	78,10	173,30	-	23,15	10,6	-26,50	-	29,0	-	20,00	7,75	6,77	5,00	6,40
TBARS [μM/l]	$\bar{X}$	SD				Mediana				Q 25				Q 75													
	4,28	1,99				4,44				2,27				5,49													
p	0,7731					0,2133					0,3462					0,5524					0,6248						
S-Transferaza glutationowa [U/l]	$\bar{X}$	SD				Mediana				Q 25				Q 75													
	33,85	26,32				26,15				15,03				41,40													
p	0,3999					0,5743					0,2096					0,1183					0,4781						
Całkowita pojemność antyoksydacyjna [CRE]	$\bar{X}$	SD				Mediana				Q 25				Q 75													
	874,98	480,98				857,70				565,20				1061,40													
p	0,7553					0,3865					0,3061					0,9332					0,4605						
Glutation [μM/l]	$\bar{X}$	SD				Mediana				Q 25				Q 75													
	6,81	0,91				6,45				6,13				6,88													
p	0,9037					0,7817					0,3446					0,3363					0,9802						

**Tabela 29.** Wpływ parametrów biochemicznych na markery stresu oksydacyjnego w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.

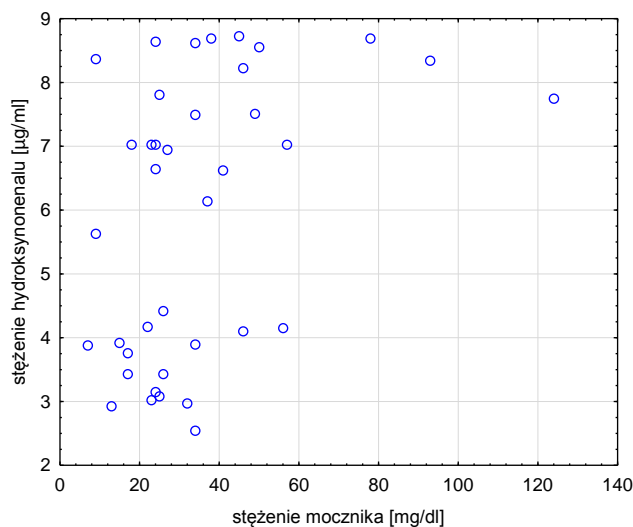
Parametry stresu oksydacyjnego	Kreatynina [mg/dl]					Mocznik [mg/dl]					ALT [U/l]					AST [U/l]				
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75
		2,38	1,49	2,19	1,32	2,79	34,89	23,37	26,50	23,00	45,00	54,83	42,62	39,00	24,00	66,00	118,12	203,51	48,00	35,00
Katalaza [U/ml]	$\bar{x}$	SD				Mediana				Q 25				Q 75						
	470,15	277,25				413,79				268,96				662,07						
p	0,4905				0,3571				0,3859				0,498							
Peroxydaza glutationowa [U/l]	$\bar{x}$	SD				Mediana				Q 25				Q 75						
	142,84	86,28				121,97				71,50				205,25						
p	0,9979				0,7078				0,1915				0,0572							
Reduktaza glutationowa [U/l]	$\bar{x}$	SD				Mediana				Q 25				Q 75						
	121,94	65,37				114,24				63,93				187,46						
p	0,7391				0,1089				0,4775				0,1511							
Hydroksynonenal [µg/ml]	$\bar{x}$	SD				Mediana				Q 25				Q 75						
	6,18	2,11				7,03				3,19				8,19						
p	0,1344				<b>0,0072</b>				0,4997				0,1565							

**Tabela 30.** Wpływ parametrów biochemicznych na markery stresu oksydacyjnego w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.

Parametry biochemiczne	Kreatynina [mg/dl]					Mocznik [mg/dl]					ALT [U/l]					AST [U/l]				
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75
		2,38	1,49	2,19	1,32	2,79	34,89	23,37	26,50	23,00	45,00	54,83	42,62	39,00	24,00	66,00	118,12	203,51	48,00	35,00
TBARS [ $\mu$ M/l]	$\bar{x}$		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	4,28		1,99			4,44			2,27			5,49								
p	0,3159					0,2448					0,2187					0,3601				
S-Transferaza glutationowa [U/l]	$\bar{x}$		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	33,85		26,32			26,15			15,03			41,40								
p	<b>0,0485</b>					0,3704					0,4248					0,8154				
Całkowita pojemność antyoksydacyjna [CRE]	$\bar{x}$		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	874,98		480,98			857,70			565,20			1061,40								
p	0,4111					0,4585					0,1355					0,0623				
Glutation [ $\mu$ M/l]	$\bar{x}$		SD			Mediana			Q 25			Q 75								
	6,81		0,91			6,45			6,13			6,88								
p	0,5881					0,7359					0,0798					0,1413				



**Rycina 42.** Wykres rozrzutu: zależność aktywności S-transferazy glutationowej od stężenia kreatyniny.



**Rycina 43.** Wykres rozrzutu: zależność stężenia hydroksynonenalu od stężenia mocznika.

### 5.2.6. Wpływ czasu diagnozy i śmiertelności u pacjentów zatrutych (grupa A1) na stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i metylowego oraz markery stresu oksydacyjnego

W kolejnym etapie badań u pacjentów zatrutych przeprowadzono analizę szczegółową wpływu czasu jaki upłynął od narażenia na glikol etylenowy i potwierdzenia zatrucia. Pacjentów podzielono na dwie grupy: 28 osób, u których potwierdzono zatrucie poniżej 12 godziny od zatrucia (grupa I) i 19 osób, zdiagnozowanych między 12 a 24 godziną (grupa II) (Tab. 31). Średni wiek pacjentów, w obu grupach wynosił około 50 lat. Średnie stężenie EG

w grupie I wynosiło  $1,91 \pm 1,49$  g/l, natomiast w grupie II:  $0,30 \pm 1,02$  g/l. Wyniki te potwierdziły, że im później pacjenci trafiali do szpitala, tym rejestrowane stężenia EG były niższe (Tab. 31, Ryc. 44). Nie stwierdzono istotnego wpływu czasu diagnozy na oznaczone stężenia etanolu i metanolu.

W grupach podzielonych pod względem czasu rozpoznania zatrucia zmierzono również markery stresu oksydacyjnego (Tab. 32). W grupie I, średnie aktywności enzymów antyoksydacyjnych wynosiły odpowiednio dla katalazy, peroksydazy, reduktazy oraz S-transferazy glutationowej:  $552,07 \pm 315,13$  U/l;  $113,20 \pm 129,12$  U/l;  $155,46 \pm 62,26$  U/l;  $33,08 \pm 27,81$  U/l. W grupie II markery te wynosiły odpowiednio:  $349,44 \pm 147,15$  U/l;  $186,52 \pm 84,80$  U/l;  $72,53 \pm 27,94$  U/l i  $34,98 \pm 24,66$  U/l. Różnice istotne dla CAT, GPx i GR przedstawiono na rycinach 45, 46 i 49. Czas diagnozy istotnie wpływał na wartość oznaczonych aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Aktywności katalazy w grupie II była o ok. 40% niższa niż w grupie I ( $552,07 \pm 315,13$  U/l vs  $349,44 \pm 147,15$  U/l) a aktywność reduktazy glutationowej ( $155,46 \pm 62,26$  U/l vs  $72,53 \pm 27,94$  U/l) o ok. 50%. W miarę upływu czasu aktywność peroksydazy glutationowej wzrastała w grupie II ( $186,52 \pm 84,80$  U/l vs.  $113,20 \pm 129,12$  U/l) w porównaniu do grupy I o około 40%. Nie stwierdzono różnic w aktywności S-transferazy glutationowej. Średnie stężenie HNE w grupie I było niższe w porównaniu do grupy II o ok. 40% ( $5,13 \pm 1,94$   $\mu$ g/ml vs.  $8,23 \pm 1,20$   $\mu$ g/ml) (Ryc. 47). W obu grupach nie stwierdzono różnic w stężeniu GSH ( $6,76 \pm 0,87$   $\mu$ M/l i  $6,88 \pm 0,97$   $\mu$ M/l). Porównano również poziomy TBARS i TAC. Wykazano wpływ czasu rozpoznania zatrucia na TBARS, którego poziom w grupie II był istotnie obniżony o ok. 44% ( $2,92 \pm 1,41$  vs  $5,21 \pm 1,81$   $\mu$ M/l) (Ryc. 48). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w poziomie TAC ( $907,98 \pm 549,11$  vs.  $826,37 \pm 367,07$ ). Niezależnie od czasu potwierdzenia zatrucia nie stwierdzono zmian w aktywności GST i stężeniu glutationu oraz poziomie TAC. Nie stwierdzono również wpływu czasu diagnozy na stan równowagi kwasowo-zasadowej oraz wyniki oznaczeń biochemicznych (Tab. 33).

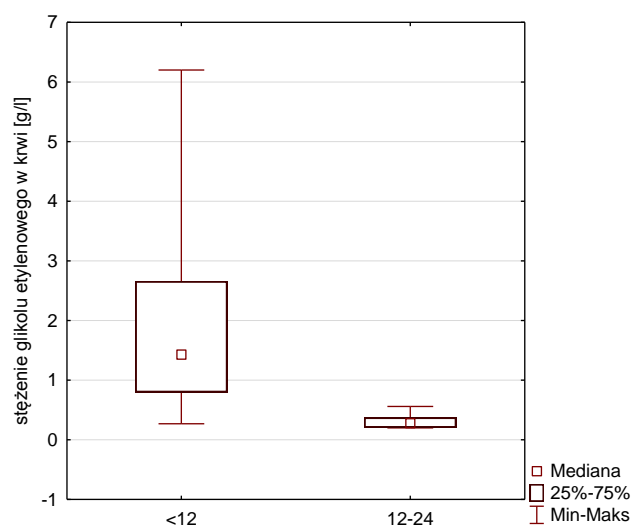
Analizę szczegółową grupy pacjentów zatrutych glikolem etylenowym poszerzono o ocenę korelacji między wybranymi markerami stresu oksydacyjnego a śmiertelnością w grupie zatrutych. W grupie A1, 30 pacjentów przeżyło zatrucie, natomiast w przypadku 17 zakończyło się zgonem (Tab. 34). Średnia wieku w obu grupach była podobna i wynosiła około 50 lat. Średnie stężenie glikolu etylenowego wyznaczone w grupie osób zmarłych, wynosiło  $1,74 \pm 1,89$  g/l i było prawie dwukrotnie wyższe niż w grupie osób, które przeżyły zatrucie ( $0,99 \pm 0,94$  g/l). W grupach pacjentów, którzy przeżyli zatrucie lub zmarli nie stwierdzono jednak statystycznie istotnych różnic w stężeniach zmierzonych alkoholi. W obu



grupach nie stwierdzono również różnic w wartościach markerów stresu oksydacyjnego a także parametrach biochemicznych oraz w równowadze kwasowo-zasadowej (Tab. 35 i 36). Stwierdzono natomiast istotne różnice w stężeniach jonów  $[H^+]$ , które były znacznie podwyższone u pacjentów zmarłych w porównaniu do tych, którzy przeżyli ( $16,58 \pm 6,71$  vs  $11,83 \pm 5,83$ ) (Ryc. 50).

**Tabela 31.** Wiek i stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i metylowego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin od spożycia glikolu etylenowego i między 12 a 24 godziną.

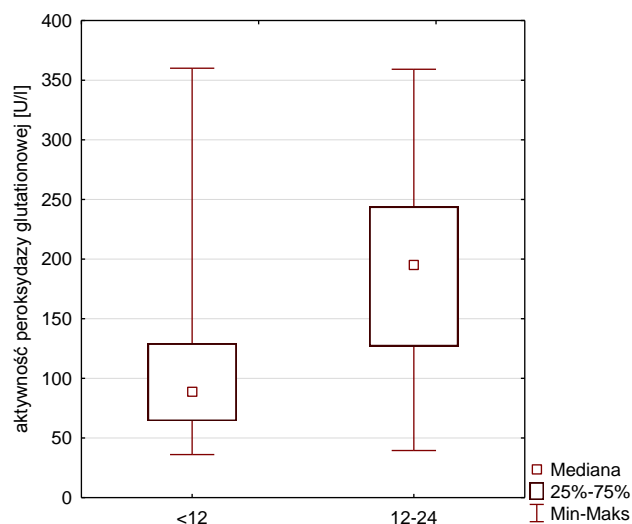
Wiek i parametry toksykologiczne	Parametry oceny statystycznej pacjentów grupy A1 na poziomie istotności $\alpha=0,05$ n=47										
	Pacjenci, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin od spożycia glikolu etylenowego n=28					Pacjenci, u których potwierdzono zatrucie między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego n=19					p
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
<b>Wiek [lata]</b>	50,03	12,88	50,00	43,50	57,50	49,79	13,31	50,00	41,00	56,00	0,9496
<b>Stężenie glikolu etylenowego [g/l]</b>	1,91	1,49	1,43	0,80	2,65	0,30	0,11	0,28	0,21	0,37	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Stężenie alkoholu etylowego [g/l]</b>	0,17	0,37	0,00	0,00	0,16	0,28	1,02	0,00	0,00	0,00	0,2088
<b>Stężenie alkoholu metylowego [g/l]</b>	1,69	5,04	0,00	0,00	0,00	0,65	2,48	0,00	0,00	0,00	0,5061



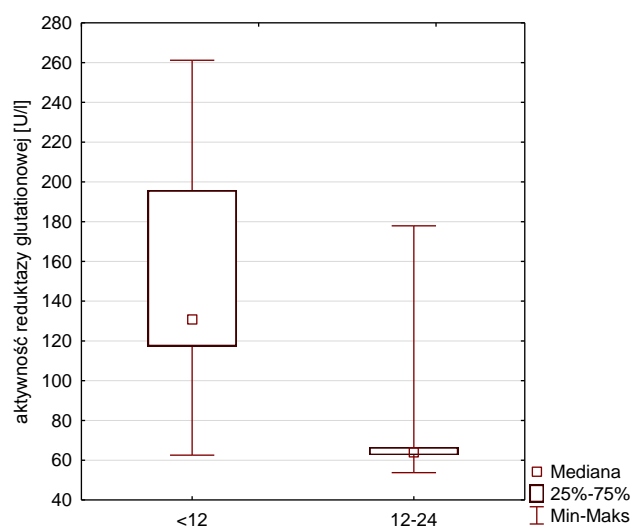
**Rycina 44.** Wykres ramkowy stężenia glikolu etylenowego z uwzględnieniem grup pacjentów, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin i między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego.

**Tabela 32.** Markery stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu jaki minął od spożycia glikolu etylenowego do potwierdzenia zatrucia.

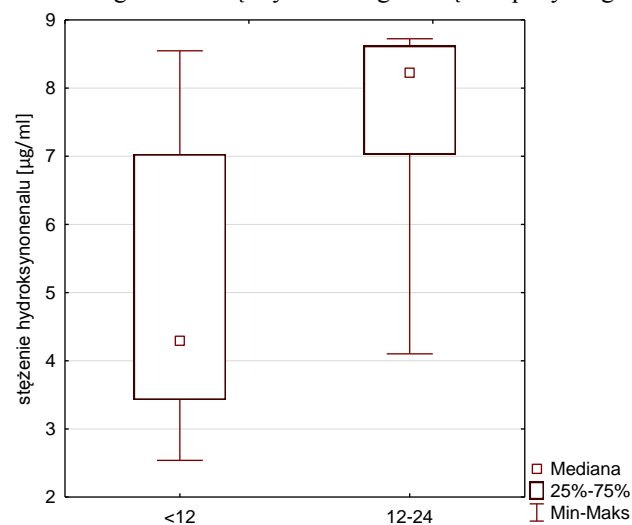
Markery stresu oksydacyjnego	Parametry oceny statystycznej pacjentów grupy A1 na poziomie istotności $\alpha=0,05$ n=47										
	Pacjenci, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin od spożycia glikolu etylenowego n=28					Pacjenci, u których potwierdzono zatrucie między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego n=19					p
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
<b>Katalaza [U/l]</b>	552,07	315,13	568,96	289,65	786,21	349,44	147,15	351,72	248,28	434,48	<b>0,0122</b>
<b>Peroksydaza glutationowa [U/l]</b>	113,20	129,12	88,75	64,35	129,12	186,52	84,80	195,16	127,02	243,95	<b>0,0045</b>
<b>Reduktaza glutationowa [U/l]</b>	155,46	62,26	130,72	117,42	195,67	72,53	27,94	63,93	62,62	66,48	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Hydroksynonenal [<math>\mu\text{g/ml}</math>]</b>	5,13	1,94	4,29	3,43	7,03	8,23	1,20	8,23	7,03	8,62	<b>&lt;0,0001</b>
<b>TBARS [<math>\mu\text{M/l}</math>]</b>	5,21	1,81	5,19	4,41	6,43	2,92	1,41	2,27	1,95	3,61	<b>&lt;0,0001</b>
<b>S-Transferaza glutationowa[U/l]</b>	33,08	27,81	20,70	12,91	43,04	34,98	24,66	27,24	17,54	37,05	0,4284
<b>Całkowita pojemność antyoksydacyjna [CRE]</b>	907,98	549,11	815,75	594,15	1075,40	826,37	367,07	896,10	483,90	1060,50	0,9827
<b>Glutation [<math>\mu\text{M/l}</math>]</b>	6,76	0,87	6,45	6,13	6,88	6,88	0,97	6,45	6,13	8,28	0,8761



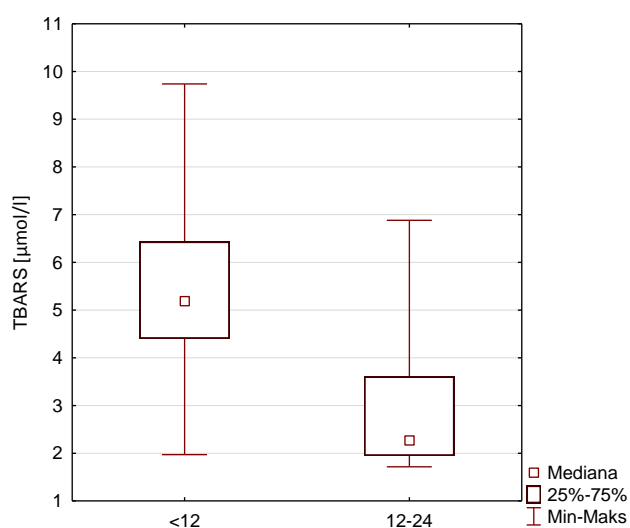
**Rycina 45.** Wykres ramkowy aktywności peroksydazy glutationowej z uwzględnieniem grup pacjentów, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin i między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego.



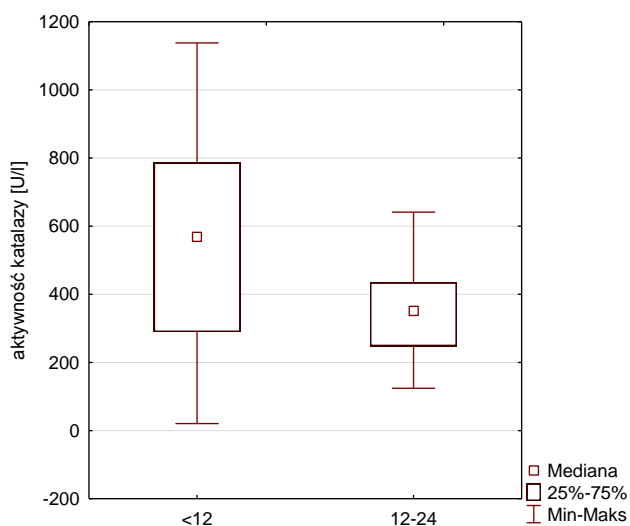
**Rycina 46.** Wykres ramkowy aktywności reduktazy glutationowej z uwzględnieniem grup pacjentów, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin i między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego.



**Rycina 47.** Wykres ramkowy stężenia hydroksynonenalu z uwzględnieniem grup pacjentów, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin i między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego.



**Rycina 48.** Wykres ramkowy poziomy TBARS z uwzględnieniem grup pacjentów, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin i między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego.



**Rycina 49.** Wykres ramkowy aktywności katalazy z uwzględnieniem grup pacjentów, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin i między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego.

**Tabela 33.** Parametry równowagi kwasowo-zasadowej oraz biochemiczne u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu jaki minął od spożycia glikolu etylenowego do potwierdzenia zatrucia.

Parametry równowagi kwasowo-zasadowej i biochemiczne	Parametry oceny statystycznej pacjentów grupy A1 na poziomie istotności $\alpha=0,05$ $n=47$										p
	Pacjenci, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin od spożycia glikolu etylenowego $n_1=28$					Pacjenci, u których potwierdzono zatrucie między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego $n_2=19$					
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
$[H^+] \times 10^{-8}$	13,87	7,39	15,96	7,11	17,84	13,08	5,09	12,05	9,73	17,02	0,5729
pO <sub>2</sub> [mmHg]	135,61	81,00	109,30	85,05	166,50	114,14	57,57	109,00	75,40	173,30	0,4545
pCO <sub>2</sub> [mmHg]	29,54	12,14	25,05	21,70	37,25	26,62	13,28	23,00	16,40	38,90	0,3400
BE [mmol/l]	-21,97	12,32	-27,15	-29,95	-11,25	-25,03	7,42	-26,40	-27,20	-23,70	0,7508
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mmol/l]	8,67	7,92	4,55	3,30	12,45	6,39	4,43	6,10	3,70	7,40	0,9394
Kreatynina [mg/dl]	2,35	1,74	1,90	1,00	3,10	2,41	1,08	2,33	1,80	2,79	0,3780
Mocznik [mg/dl]	32,71	23,17	25,50	22,50	35,50	38,64	24,10	36,00	24,00	46,00	0,3173
ALT [U/l]	62,30	48,81	50,00	35,00	67,00	45,28	31,94	34,00	22,00	66,00	0,3439
AST [U/l]	134,65	202,63	57,00	29,00	160,00	97,00	208,49	39,5	35,00	67,00	0,1636

**Tabela 34.** Wpływ wieku i stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i metylowego na przeżywalność i śmiertelność pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.

Wiek i parametry toksykologiczne	Parametry oceny statystycznej pacjentów grupy A1 na poziomie istotności $\alpha=0,05$ n=47										
	Pacjenci, którzy przeżyli n=30					Pacjenci, którzy zmarli n=17					p
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
Wiek [lata]	49,90	12,72	50,50	42,00	56,00	50,00	13,63	50,00	38,00	58,00	0,9799
Stężenie glikolu etylenowego [g/l]	0,99	0,94	0,63	0,27	1,40	1,74	1,89	0,80	0,38	2,31	0,1498
Stężenie alkoholu etylowego [g/l]	0,23	0,82	0,00	0,00	0,00	0,19	0,45	0,00	0,00	0,00	0,7926
Stężenie alkoholu metylowego [g/l]	0,46	1,59	0,00	0,00	0,00	0,25	0,63	0,00	0,00	0,00	0,1633

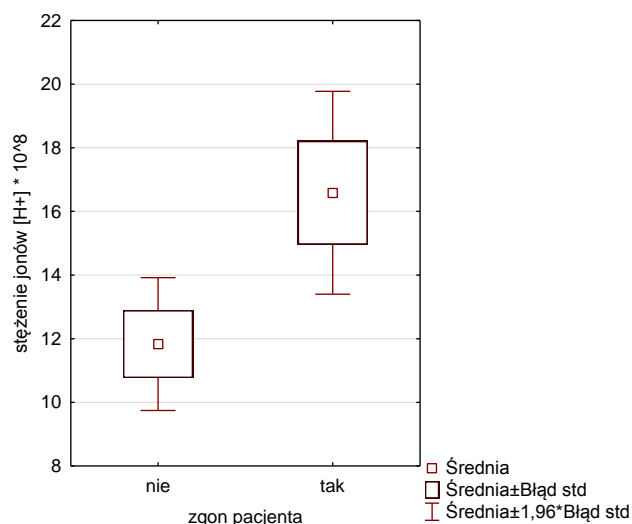


**Tabela 35.** Wpływ markerów stresu oksydacyjnego na przeżywalność i śmiertelność pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.

Markery stresu oksydacyjnego	Parametry oceny statystycznej pacjentów grupy A1 na poziomie istotności $\alpha=0,05$ n=47										
	Pacjenci, którzy przeżyli n=30					Pacjenci, którzy zmarli n=17					p
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
<b>Katalaza [U/l]</b>	450,37	274,49	413,79	230,30	641,38	505,07	287,06	393,10	289,65	682,76	0,5496
<b>Peroksydaza glutationowa [U/l]</b>	136,61	86,40	114,82	59,72	195,16	153,84	87,60	124,50	89,17	206,93	0,4254
<b>Reduktaza glutationowa [U/l]</b>	115,72	57,31	112,64	66,48	177,91	132,90	78,31	117,42	63,93	197,52	0,7226
<b>Hydroksynonenal [<math>\mu\text{g/ml}</math>]</b>	6,31	1,88	6,99	4,17	7,81	5,97	2,52	7,73	3,43	8,37	0,9382
<b>TBARS [<math>\mu\text{M/l}</math>]</b>	4,55	1,97	4,50	2,52	5,67	3,80	2,02	3,60	1,99	4,80	0,1293
<b>S-Transferaza glutationowa[U/l]</b>	30,67	25,49	21,25	15,04	35,96	39,44	27,60	30,51	16,23	62,11	0,2635
<b>Całkowita pojemność antyoksydacyjna [CRE]</b>	920,97	538,15	922,20	623,10	1089,40	793,85	359,50	745,50	565,20	1000,70	0,3898
<b>Glutation [<math>\mu\text{M/l}</math>]</b>	6,95	0,99	6,45	6,13	8,28	6,57	0,71	6,45	6,13	6,45	0,2066

**Tabela 36.** Wpływ parametrów biochemicznych i równowagi kwasowo-zasadowej na przeżywalność i śmiertelność pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.

Parametry równowagi kwasowo-zasadowej i biochemiczne	Parametry oceny statystycznej pacjentów grupy A1 na poziomie istotności $\alpha=0,05$ $n=47$										
	Pacjenci, którzy przeżyli $n_1=30$					Pacjenci, którzy zmarli $n_2=17$					p
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
$[H^+] \times 10^{-8}$	11,83	5,83	12,05	8,18	16,33	16,58	6,71	17,22	11,48	19,27	<b>0,0144</b>
pO <sub>2</sub> [mmHg]	113,54	55,88	99,45	78,10	126,00	150,56	92,40	129,10	86,90	177,00	0,2029
pCO <sub>2</sub> [mmHg]	25,49	9,72	23,45	17,80	30,70	33,41	15,48	34,40	20,70	45,00	0,0689
BE [mmol/l]	-22,06	12,31	-26,45	-28,70	-14,10	-25,31	6,26	-27,50	-29,00	-22,90	0,5713
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mmol/l]	8,62	7,85	5,50	3,40	8,30	6,21	3,98	5,00	3,50	6,50	0,8768
Kreatynina [mg/dl]	2,38	1,63	2,16	1,32	2,72	2,37	1,22	2,25	1,41	3,00	0,6949
Mocznik [mg/dl]	35,19	20,38	26,50	22,00	46,00	34,25	29,88	29,00	24,00	34,00	0,7176
ALT [U/l]	55,67	42,73	39,00	22,00	67,00	53,21	43,99	39,00	27,00	63,00	0,9561
AST [U/l]	97,74	175,40	48,00	25,00	75,00	157,43	251,74	54,00	35,00	141,00	0,5917



**Rycina 50.** Wykres ramkowy stężenia jonów  $[H^+]$  w grupach pacjentów, którzy przeżyli i tych którzy zmarli.

### 5.3. Charakterystyka pacjentów monitorowanych w trakcie hospitalizacji (grupa A1a)

Ważnym etapem badań była szczegółowa analiza grupy A1 pacjentów zatrutych glikolem etylenowym, z której wybrano 26 osób, poddanych następnie czterokrotnemu kompleksowemu monitorowaniu stanu równowagi oksydoredukcyjnej, wyników badań toksykologicznych i biochemicznych w określonym czasie, jaki upłynął od zatrucia. Wszyscy monitorowani pacjenci (A1a) byli hospitalizowani w Oddziale Toksykologii w Szpitalu Miejskim w Poznaniu. Pierwszy pomiar wykonano w chwili przyjęcia pacjenta do szpitala. Pomiar ten był równoważny z potwierdzeniem zatrucia na podstawie oznaczenia stężenia glikolu etylenowego w krwi. Drugi pomiar został dokonany po podaniu odtrutki tj. alkoholu etylowego i/lub przeprowadzeniu zabiegu hemodializy. Trzeci obejmował okres między 48 a 72 godziną od zatrucia, na podstawie którego można było ocenić skuteczność zastosowanej terapii. Ostatni pomiar wykonano w dniu wypisu pacjenta ze szpitala lub w chwili zakończenia jego hospitalizacji (z powodu zgonu). Wyniki badań przedstawiono jako wartości średnie, mediany oraz kwartale (górny i dolny) wraz z odchyleniem standardowym.

Średnia wieku w monitorowanej grupie A1a wynosiła około 50 lat. W chwili przyjęcia do szpitala średnie stężenie EG wynosiło  $0,95 \pm 0,96$  g/l. We wszystkich monitorowanych przypadkach w drugim punkcie czasowym (po podaniu odtrutki względnie po hemodializie) nie stwierdzono obecności EG. Badanie na obecność alkoholu etylowego wykonano u wszystkich pacjentów, a średnie jego stężenia wynosiły odpowiednio: przy przyjęciu  $0,27 \pm 0,88$  g/l, kolejno po podaniu odtrutki  $0,95 \pm 0,41$  g/l;  $0,16 \pm 0,16$  g/l między 48 a 72 godziną od zatrucia i  $0,0$  g/l w dniu wypisu ze szpitala (Tab. 37).

**Tabela 37.** Stężenie glikolu etylenowego (w dwóch punktach czasowych) i alkoholu etylowego (w czterech punktach czasowych) w grupie monitorowanych pacjentów.

Parametry toksykologiczne monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych	Parametry oceny statystycznej pacjentów grupy A1a n=26				
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75
Wiek [lata]	50,54	11,06	50,50	43,00	56,00
Stężenie glikolu etylenowego 1 [g/l]	0,95	0,96	0,50	0,28	1,40
Stężenie glikolu etylenowego 2 [g/l]	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Stężenie alkoholu etylowego 1 [g/l]	0,27	0,88	0,00	0,00	0,00
Stężenie alkoholu etylowego 2 [g/l]	0,95	0,41	0,90	0,70	1,20
Stężenie alkoholu etylowego 3 [g/l]	0,16	0,16	0,02	0,00	0,30
Stężenie alkoholu etylowego 4 [g/l]	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

### **5.3.1. Ocena wyników badań toksykologicznych, biochemicznych i gazometrii w czasie u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1a) monitorowanych w trakcie hospitalizacji**

Czterokrotna analiza krwi w grupie badanej A1a dotyczyła oceny stanu równowagi kwasowo-zasadowej, zmian biochemicznych oraz stężeń glikolu etylenowego i alkoholu etylowego (Tab. 37-39). Otrzymane wyniki gazometrii, biochemiczne i toksykologiczne porównano między sobą w określonych punktach czasowych.

W trakcie hospitalizacji stężenie alkoholu etylowego zmieniało się i po wdrożeniu postępowania leczniczego było ok. 2,5-krotnie wyższe niż w chwili przyjęcia pacjenta do szpitala ( $0,27 \pm 0,88$  vs  $0,95 \pm 0,41$  g/l). W trzeciej dobie stężenie etanolu było ok. 6-krotnie niższe w porównaniu do wyników uzyskanych po podaniu odtrutki. W ostatnim dniu hospitalizacji nie stwierdzono obecności alkoholu etylowego w krwi (Tab. 40, Ryc. 51).

We wszystkich czterech punktach pomiarowych podczas oceny parametrów równowagi kwasowo-zasadowej istotne różnice stwierdzono w stężeniu jonów  $[H^+]$  (Tab. 41, ryc. 52). Po podaniu odtrutki było ono o 30% niższe niż przy przyjęciu, a w trzeciej dobie leczenia obniżało się o kolejne 40%. Stężenie jonów  $[H^+]$  w dniu przyjęcia do szpitala było ponad 3-krotnie wyższe niż w chwili zakończenia hospitalizacji. W tabeli 42 przedstawiono wpływ czasu pomiaru na ciśnienie parcjalne dwutlenku węgla w krwi tętniczej  $pCO_2$ . Wykazano istotne różnice między pierwszym pomiarem wykonanym w dniu przyjęcia i ostatnim w dniu wypisu, w którym  $pCO_2$  było o ok. o 40% niższe. (Ryc. 53). Istotne statystycznie różnice  $pO_2$  zaprezentowano na rycinie 54. W dniu przyjęcia ciśnienie parcjalne tlenu  $pO_2$  było wyższe o około 25% w porównaniu do wartości uzyskanych przy wypisie. Pomiar wykonany po podaniu odtrutki i zastosowaniu hemodializy był wyższy o 17% niż w chwili przyjęcia (Tab. 43). Stężenie wodorowęglanów  $HCO_3^-$ , podobnie jak wartości BE, różniły się istotnie między pierwszym a kolejnymi pomiarami. Stężenie  $HCO_3^-$  po wdrożeniu leczenia wzrosło o ponad 85% niż w chwili przyjęcia, gdy wynosiło 8,75 mmol/l. Różnica między trzecią dobą a wypisem wynosiła około 11%. Wynik BE w dniu przyjęcia był 20-krotnie obniżony od jego wartość w chwili wypisu ze szpitala (Tab. 44 i 45; Ryc. 54 i 55).

Analizując wyniki badań wątrobowo-nerkowych nie stwierdzono istotnych różnic w wartościach tych parametrów w przebiegu hospitalizacji (Tab. 46-49). Jedynie aktywność AST, bezpośrednio po podaniu odtrutki, była prawie czterokrotnie wyższa niż w ostatnim dniu hospitalizacji (Tab. 49, Ryc. 56) ( $123,95 \pm 151,68$  vs  $36,44 \pm 16,56$  U/l).

**Tabela 38.** Parametry równowagi kwasowo-zasadowej (w czterech punktach czasowych) w grupie monitorowanych pacjentów.

Parametry równowagi kwasowo-zasadowej monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych	Parametry oceny statystycznej pacjentów grupy A1a				
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75
$[H^+] \times 10^{-8}$ 1	11,79	6,03	12,05	7,92	16,59
$[H^+] \times 10^{-8}$ 2	7,74	4,33	7,46	4,56	12,05
$[H^+] \times 10^{-8}$ 3	4,26	2,58	4,73	3,19	5,02
$[H^+] \times 10^{-8}$ 4	2,75	1,76	3,55	0,00	3,55
pCO <sub>2</sub> 1 [mmHg]	24,37	9,35	23,45	17,80	30,10
pCO <sub>2</sub> 2 [mmHg]	28,21	15,52	22,20	18,90	30,50
pCO <sub>2</sub> 3 [mmHg]	32,63	7,14	32,80	28,20	36,00
pCO <sub>2</sub> 4 [mmHg]	34,34	3,24	33,80	32,80	36,70
pO <sub>2</sub> 1 [mmHg]	121,46	58,92	109,80	93,00	173,30
pO <sub>2</sub> 2 [mmHg]	142,32	63,40	135,00	100,00	155,00
pO <sub>2</sub> 3 [mmHg]	113,91	34,46	98,50	90,00	143,00
pO <sub>2</sub> 4 [mmHg]	91,34	21,81	89,00	85,00	103,00
BE 1 [mmol/l]	-16,82	28,14	-25,55	-27,95	-11,25
BE 2 [mmol/l]	-9,86	10,51	-12,00	-15,80	-0,20
BE 3 [mmol/l]	-3,94	7,13	-2,55	-10,95	2,20
BE 4 [mmol/l]	-0,68	2,62	-0,50	-2,00	2,00
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 1 [mmol/l]	8,75	7,85	6,00	3,20	9,50
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 2 [mmol/l]	16,33	7,55	17,20	11,80	23,60
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 3 [mmol/l]	21,24	4,71	22,60	18,05	23,30
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 4 [mmol/l]	23,75	2,51	24,80	23,50	24,80

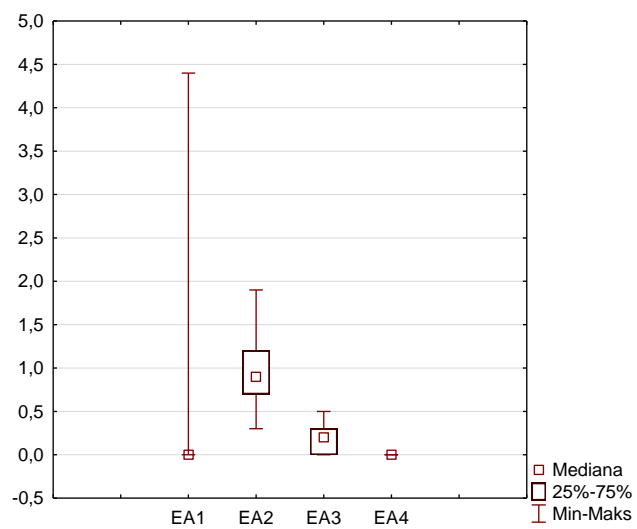
**Tabela 39.** Parametry biochemiczne (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych.

Parametry biochemiczne monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych	Parametry oceny statystycznej pacjentów grupy A1a				
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75
Kreatynina 1 [mg/dl]	3,33	4,68	2,27	1,38	2,72
Kreatynina 2 [mg/dl]	4,09	2,53	3,95	1,71	5,37
Kreatynina 3 [mg/dl]	5,57	2,66	6,27	4,22	7,12
Kreatynina 4 [mg/dl]	3,22	1,81	3,63	1,49	4,50
Mocznik 1 [mg/dl]	32,06	19,46	24,00	1,31	46,00
Mocznik 2 [mg/dl]	47,54	32,99	41,00	21,50	78,00
Mocznik 3 [mg/dl]	65,90	52,16	59,00	15,00	106,00
Mocznik 4 [mg/dl]	42,94	30,50	43,00	15,00	56,00
ALT 1 [U/l]	57,92	42,94	43,00	24,00	67,00
ALT 2 [U/l]	77,43	60,83	50,00	25,00	143,00
ALT 3 [U/l]	62,72	49,21	37,50	26,00	112,00
ALT 4 [U/l]	53,11	30,71	44,00	28,00	78,00
AST 1 [U/l]	106,80	181,09	50,00	37,00	76,00
AST 2 [U/l]	123,95	151,68	74,00	42,00	180,00
AST 3 [U/l]	100,68	161,24	53,00	37,50	95,00
AST 4 [U/l]	36,44	16,56	33,00	22,50	47,00

**Tabela 40.** Analiza statystyczna stężenia alkoholu etylowego (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu.

Wyniki toksykologiczne monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów stężenia alkoholu etylowego (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26					
					Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 1	Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 2	Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 3	Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 4	p	
Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 1					-	>0,05	>0,05	>0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
0,27	0,88	0,00	0,00	0,00						
Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 2					<0,05	-	<0,05	<0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
0,95	0,41	0,90	0,70	1,20						
Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 3					>0,05	<0,05	-	>0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
0,16	0,16	0,02	0,00	0,30						
Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 4					>0,05	<0,05	>0,05	-		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00						

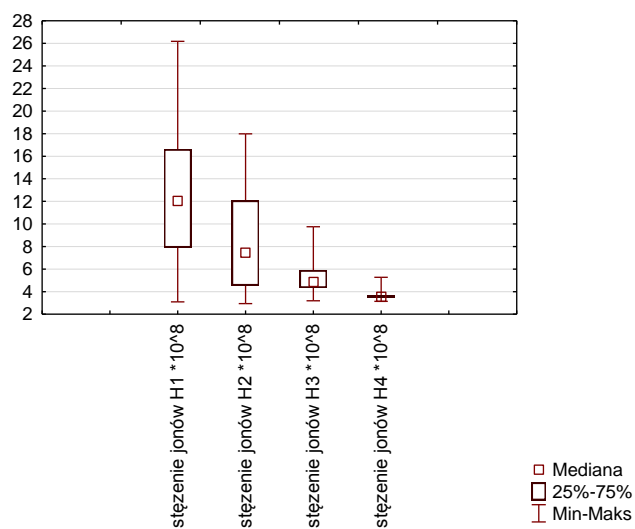




**Rycina 51.** Wykres ramkowy stężeń alkoholu etylowego (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru.

**Tabela 41.** Analiza statystyczna stężenia jonów [H<sup>+</sup>] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

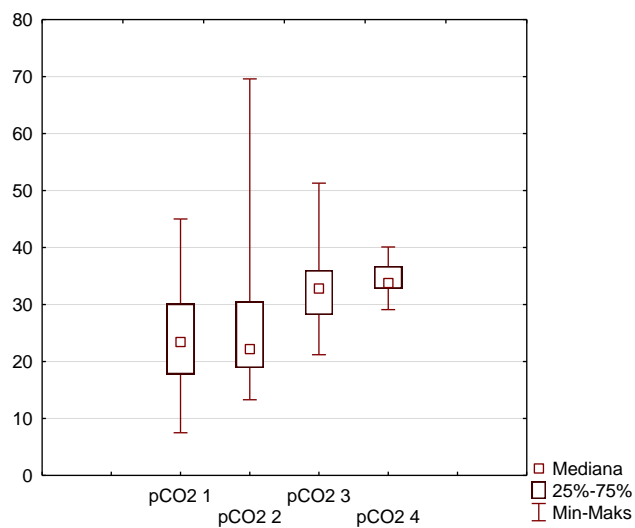
Parametry równowagi kwasowo-zasadowej monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów stężenia jonów [H <sup>+</sup> ] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26					
					Stężenie jonów [H <sup>+</sup> ] 1	Stężenie jonów [H <sup>+</sup> ] 2	Stężenie jonów [H <sup>+</sup> ] 3	Stężenie jonów [H <sup>+</sup> ] 4	p	
Stężenie jonów [H <sup>+</sup> ] 1					-	>0,05	>0,05	<0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
6,99	0,27	6,92	6,78	7,10						
Stężenie jonów [H <sup>+</sup> ] 2					>0,05	-	>0,05	<0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
7,15	0,23	7,13	6,92	7,31						
Stężenie jonów [H <sup>+</sup> ] 3					>0,05	>0,05	-	<0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
7,29	0,12	7,31	7,23	7,36						
Stężenie jonów [H <sup>+</sup> ] 4					<0,05	<0,05	<0,05	-		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
7,43	0,06	7,45	7,43	7,45						



**Rycina 52.** Wykres ramkowy dla stężenia jonów  $[H^+]$  (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru.

**Tabela 42.** Analiza statystyczna wartości pCO<sub>2</sub> (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

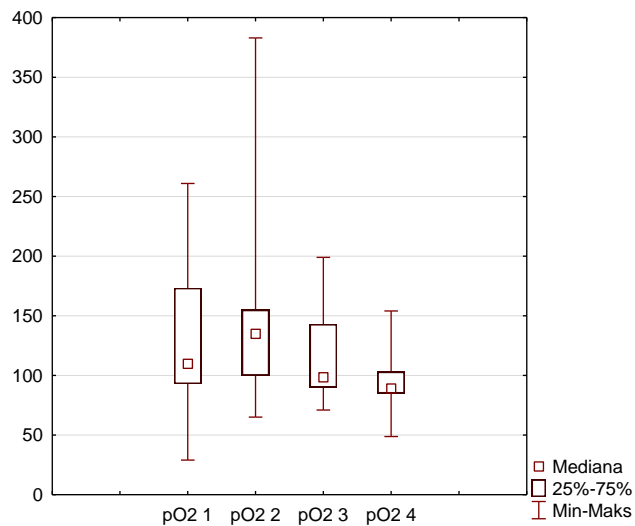
Parametry równowagi kwasowo-zasadowej monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów pCO <sub>2</sub> [mmHg] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26								
					pCO <sub>2</sub> [mmHg] 1	pCO <sub>2</sub> [mmHg] 2	pCO <sub>2</sub> [mmHg] 3	pCO <sub>2</sub> [mmHg] 4	p				
					pCO <sub>2</sub> 1 [mmHg]								
					$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	-	>0,05	>0,05	<0,05
24,37	9,35	23,45	17,80	30,10									
pCO <sub>2</sub> 2 [mmHg]					>0,05	-	<0,05	<0,05					
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75									
28,21	15,52	22,20	18,90	30,50									
pCO <sub>2</sub> 3 [mmHg]					>0,05	<0,05	-	>0,05					
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75									
32,63	7,14	32,80	28,20	36,00									
pCO <sub>2</sub> 4 [mmHg]					<0,05	<0,05	>0,05	-					
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75									
34,34	3,24	33,80	32,80	36,70									



**Rycina 53.** Wykres ramkowy dla pCO<sub>2</sub> (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru.

**Tabela 43.** Analiza statystyczna wartości pO<sub>2</sub> (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

Parametry równowagi kwasowo-zasadowej monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów pO <sub>2</sub> [mmHg] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26			
					pO <sub>2</sub> [mmHg] 1	pO <sub>2</sub> [mmHg] 2	pO <sub>2</sub> [mmHg] 3	pO <sub>2</sub> [mmHg] 4
					p			
pO <sub>2</sub> 1[mmHg]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	-	<0,05	>0,05	>0,05
121,46	58,92	109,80	93,00	173,30				
pO <sub>2</sub> 2[mmHg]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	<0,05	-	<0,05	<0,05
142,32	63,40	135,00	100,00	155,00				
pO <sub>2</sub> 3[mmHg]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	>0,05	<0,05	-	>0,05
113,91	34,46	98,50	90,00	143,00				
pO <sub>2</sub> 4[mmHg]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	>0,05	<0,05	>0,05	-
91,34	21,81	89,00	85,00	103,00				

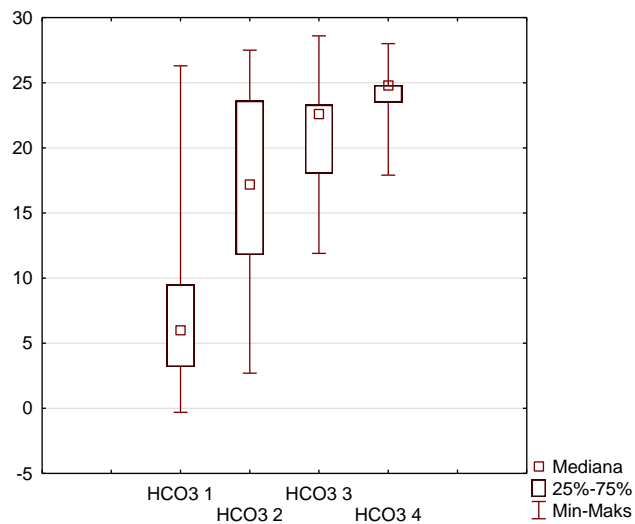


**Rycina 54.** Wykres ramkowy dla pO<sub>2</sub> (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru.

**Tabela 44.** Analiza statystyczna stężenia  $\text{HCO}_3^-$  (w czterech punktach czasowych) w grupie monitorowanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

Parametry równowagi kwasowo-zasadowej monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów stężenia $\text{HCO}_3^-$ [mmol/l] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26					
					$\text{HCO}_3^-$ [mmol/l] 1	$\text{HCO}_3^-$ [mmol/l] 2	$\text{HCO}_3^-$ [mmol/l] 3	$\text{HCO}_3^-$ [mmol/l] 4	p	
$\text{HCO}_3^-$ 1 [mmol/l]					-	>0,05	<0,05	<0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
8,75	7,85	6,00	3,20	9,50						
$\text{HCO}_3^-$ 2 [mmol/l]					>0,05	-	>0,05	<0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
16,33	7,55	17,20	11,80	23,60						
$\text{HCO}_3^-$ 3 [mmol/l]					<0,05	>0,05	-	>0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
21,24	4,71	22,60	18,05	23,30						
$\text{HCO}_3^-$ 4 [mmol/l]					<0,05	<0,05	>0,05	<0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
23,75	2,51	24,80	23,50	24,80						

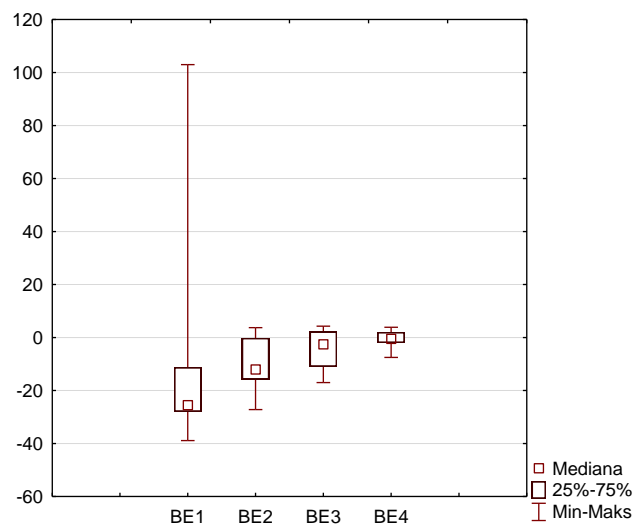




**Rycina 55.** Wykres ramkowy dla  $\text{HCO}_3^-$  (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru.

**Tabela 45.** Analiza statystyczna stężenia BE (w czterech punktach czasowych) w grupie monitorowanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

Parametry równowagi kwasowo-zasadowej monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów stężenia BE [mmol/l] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26			
					BE [mmol/l] 1	BE [mmol/l] 2	BE [mmol/l] 3	BE [mmol/l] 4
					p			
BE 1 [mmol/l]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	-	>0,05	<0,05	<0,05
-16,82	28,14	-25,55	-27,95	-11,25				
BE 2 [mmol/l]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	>0,05	-	>0,05	-
-9,86	10,51	-12,00	-15,80	-0,20				
BE 3 [mmol/l]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	<0,05	>0,05	-	>0,05
-3,94	7,13	-2,55	-10,95	2,20				
BE 4 [mmol/l]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05
-0,68	2,62	-0,50	-2,00	2,00				



**Rycina 56.** Wykres ramkowy dla BE (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru.

**Tabela 46.** Analiza statystyczna stężenia kreatyniny (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

<b>Parametry biochemiczne monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych</b>					<b>Istotność statystyczna pomiarów stężenia kreatyniny [mg/dl] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26</b>			
					Kreatynina [mg/dl] 1	Kreatynina [mg/dl] 2	Kreatynina [mg/dl] 3	Kreatynina [mg/dl] 4
					p			
Kreatynina 1 [mg/dl]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	-	>0,05	>0,05	>0,05
3,33	4,68	2,27	1,38	2,72				
Kreatynina 2 [mg/dl]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	>0,05	-	>0,05	>0,05
4,09	2,53	3,95	1,71	5,37				
Kreatynina 3 [mg/dl]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	>0,05	>0,05	-	>0,05
5,57	2,66	6,27	4,22	7,12				
Kreatynina 4 [mg/dl]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	>0,05	>0,05	>0,05	-
3,22	1,81	3,63	1,49	4,50				

**Tabela 47.** Analiza statystyczna stężenia mocznika (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

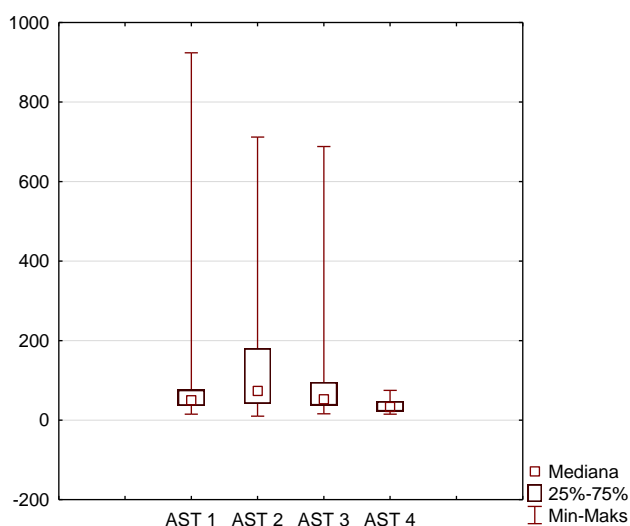
<b>Parametry biochemiczne monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych</b>					<b>Istotność statystyczna pomiarów stężenia mocznika [mg/dl] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26</b>							
					<b>Mocznik [mg/dl] 1</b>	<b>Mocznik [mg/dl] 2</b>	<b>Mocznik [mg/dl] 3</b>	<b>Mocznik [mg/dl] 4</b>	<b>p</b>			
<b>Mocznik 1 [mg/dl]</b>												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	-	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05			
32,06	19,46	24,00	1,31	46,00								
<b>Mocznik 2 [mg/dl]</b>												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	>0,05	-	>0,05	>0,05	>0,05			
47,54	32,99	41,00	21,50	78,00								
<b>Mocznik 3 [mg/dl]</b>												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	>0,05	>0,05	-	>0,05	>0,05			
65,90	52,16	59,00	15,00	106,00								
<b>Mocznik 4 [mg/dl]</b>												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05			
42,94	30,50	43,00	15,00	56,00								

**Tabela 48.** Analiza statystyczna aktywności ALT (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

Parametry biochemiczne monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów aktywności ALT [U/l] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26					
					ALT [U/l] 1	ALT [U/l] 2	ALT [U/l] 3	ALT [U/l] 4	p	
ALT 1 [U/l]					-	>0,05	>0,05	>0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
57,92	42,94	43,00	24,00	67,00						
ALT 2 [U/l]					>0,05	-	>0,05	>0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
77,43	60,83	50,00	25,00	143,00						
ALT 3 [U/l]					>0,05	>0,05	-	>0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
62,72	49,21	37,50	26,00	112,00						
ALT 4 [U/l]					>0,05	>0,05	>0,05	-		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
53,11	30,71	44,00	28,00	78,00						

**Tabela 49** Analiza statystyczna aktywności AST (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

Parametry biochemiczne monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów aktywności AST [U/l] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26							
					AST [U/l] 1	AST [U/l] 2	AST [U/l] 3	AST [U/l] 4	p			
					AST 1 [U/l]							
					$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	-	>0,05	>0,05
106,80	181,09	50,00	37,00	76,00								
AST 2 [U/l]					>0,05	-	>0,05	<0,05				
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
123,95	151,68	74,00	42,00	180,00								
AST 3 [U/l]					>0,05	>0,05	-	>0,05				
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
100,68	161,24	53,00	37,50	95,00								
AST 4 [U/l]					>0,05	<0,05	>0,05	-				
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
36,44	16,56	33,00	22,50	47,00								



**Rycina 57.** Wykres ramkowy dla aktywności AST (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru.

### 5.3.2. Ocena markerów stresu oksydacyjnego w czasie u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1a) monitorowanych w trakcie hospitalizacji

Czterokrotny pomiar krwi w grupie badanej A1a dostarczył szczegółowych danych dotyczących stanu równowagi oksydoredukcyjnej w przebiegu zatrucia glikolem etylenowym (Tab. 50). Otrzymane wyniki markerów stresu oksydacyjnego poddano analizie w poszczególnych punktach czasowych, wykazując znaczne różnice między pomiarami.

Aktywności katalazy w wyznaczonych punktach różniły się istotnie w chwili przyjęcia i w trzeciej dobie hospitalizacji w porównaniu do wyników otrzymanych po podaniu odtrutki i w dniu wypisu ze szpitala (418,45 i 188,96 U/l vs. 402,39 i 129,78 U/l) (Tab. 51, Ryc. 58). Aktywność CAT w chwili przyjęcia do szpitala była nieznacznie wyższa o ok. 4% od wartości uzyskanej po podaniu odtrutki. Niemniej w porównaniu do aktywności tego enzymu w dniu wypisu pacjenta ze szpitala była niższa o ok. 70%. Istotne różnice w aktywności peroksydazy glutationowej stwierdzono w wartościach uzyskanych w ostatnim dniu hospitalizacji (Tab. 52, Ryc. 59). Aktywność peroksydazy glutationowej była o ok. 40% wyższa niż w chwili przyjęcia do hospitalizacji. Stwierdzono również obniżenie aktywności reduktazy glutationowej utrzymujące się ciągu trzech pierwszych punktów czasowych. (Tab. 53, Ryc. 60). Porównując wynik uzyskany w dniu przyjęcia z otrzymanym w chwili wypisu, aktywność GR była obniżona o około 80%. Stwierdzono również istotne różnice w stężeniu HNE (Tab. 54; Ryc. 61). Po podaniu odtrutki, stężenie HNE było wyższe o 70% w porównaniu do wartości uzyskanej przy przyjęciu. W przypadku stężenia HNE



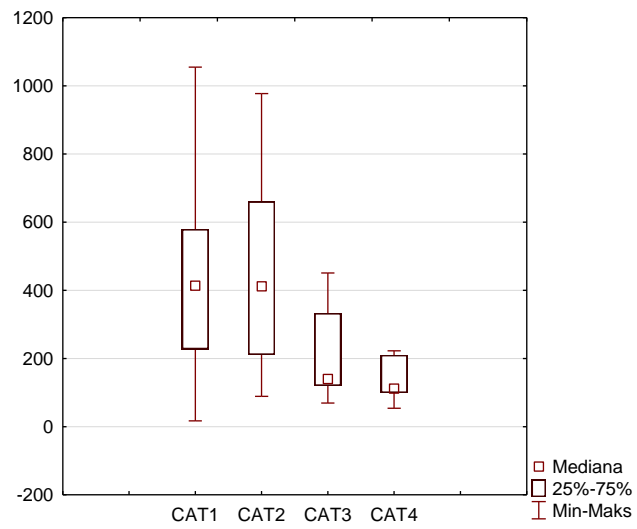
obserwowano różnice we wszystkich pomiarach po za badaniami wykonanymi w dniu przyjęcia i ostatnim hospitalizacji. Ciekawie również prezentowały się różnice w poziomie TBARS (Tab. 55). Statystyczne różnice wykazano między badaniami wykonanymi w dniu przyjęcia i po podaniu odtrutki a dwoma pozostałymi (Ryc. 62). Poziom TBARS w dniu wypisu był kilkadziesiąt razy wyższy w porównaniu do pozostałych. Istotne różnice w czasie obserwowano również w stężeniach glutationu. Po podaniu odtrutki stężenie glutationu wzrosło o ok. 100% w porównaniu do wartości oznaczonych w dniu przyjęcia. Podobnie jak w przypadku aktywności CAT, stężenie glutationu różniło się istotnie w chwili przyjęcia i w trzeciej dobie hospitalizacji w porównaniu do pozostałych pomiarów (Tab. 58, Ryc. 64). Poziom TAC po podaniu odtrutki różnił się istotnie od pozostałych pomiarów w czasie (Tab. 57, Ryc. 63). Największy spadek TAC odnotowano po podaniu odtrutki, prawie o 60%. Żadnych różnic nie odnotowano w aktywnościach GST (Tab. 56).

**Tabela 50.** Markery stresu oksydacyjnego (w czterech punktach czasowych) w grupie monitorowanych pacjentów w zależności od czasu.

Markery stresu oksydacyjnego monitorowane w grupie pacjentów A1a	Parametry oceny statystycznej pacjentów grupy A1a n=26				
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75
Katalaza 1 [U/l]	418,45	257,70	413,79	227,59	579,31
Katalaza 2 [U/l]	402,39	257,11	412,20	211,10	660,30
Katalaza 3 [U/l]	188,96	117,25	140,05	120,40	333,00
Katalaza 4 [U/l]	129,78	54,41	111,20	99,40	210,10
Peroksydaza glutationowa 1 [U/l]	140,03	93,53	108,09	59,72	196,84
Peroksydaza glutationowa 2 [U/l]	128,86	47,34	90,21	90,21	180,10
Peroksydaza glutationowa 3 [U/l]	172,53	25,12	170,50	168,00	178,50
Peroksydaza glutationowa 4 [U/l]	194,60	21,49	198,00	190,00	210,20
Reduktaza glutationowa 1 [U/l]	114,76	62,04	73,10	63,93	181,09
Reduktaza glutationowa 2 [U/l]	65,93	31,93	47,00	46,00	85,00
Reduktaza glutationowa 3 [U/l]	38,70	21,28	42,00	12,00	52,00
Reduktaza glutationowa 4 [U/l]	25,24	14,40	19,00	11,00	44,00
HNE 1 [µg/ml]	6,08	2,13	6,83	3,92	7,97
HNE 1 [µg/ml]	10,33	0,87	10,05	9,77	11,28
HNE 1 [µg/ml]	1,67	0,15	1,62	1,55	1,74
HNE 1 [µg/ml]	6,82	3,34	7,16	3,49	9,88
TBARS 1 [µM/l]	4,35	2,13	4,21	2,27	5,66
TBARS 2 [µM/l]	1,68	0,17	1,62	1,56	1,75
TBARS 3 [µM/l]	9,97	1,77	9,96	9,73	10,44
TBARS 4 [µM/l]	54,34	11,59	54,67	53,44	57,22
S-transferaza glutationowa 1 [U/l]	34,09	28,24	25,06	14,16	39,22
S-transferaza glutationowa 2 [U/l]	36,48	26,42	27,24	17,54	66,46
S-transferaza glutationowa 3 [U/l]	26,64	21,62	22,33	15,04	27,24
S-transferaza glutationowa 4 [U/l]	32,79	31,83	17,54	12,20	37,04
TAC 1 [CRE]	924,17	387,14	981,05	695,10	1089,14
TAC 2 [CRE]	441,28	189,74	413,70	377,50	66,30
TAC 3 [CRE]	919,48	385,21	948,30	752,12	1089,40
TAC 4 [CRE]	913,72	354,13	998,42	857,70	1089,40
Glutation 1 [µM/l]	6,92	0,99	6,54	6,13	8,28
Glutation 2 [µM/l]	12,42	2,15	12,20	9,81	15,03
Glutation 3 [µM/l]	12,59	2,26	12,20	11,98	15,04
Glutation 4 [µM/l]	12,29	2,08	12,20	9,81	12,20

**Tabela 51.** Analiza statystyczna aktywności katalazy (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

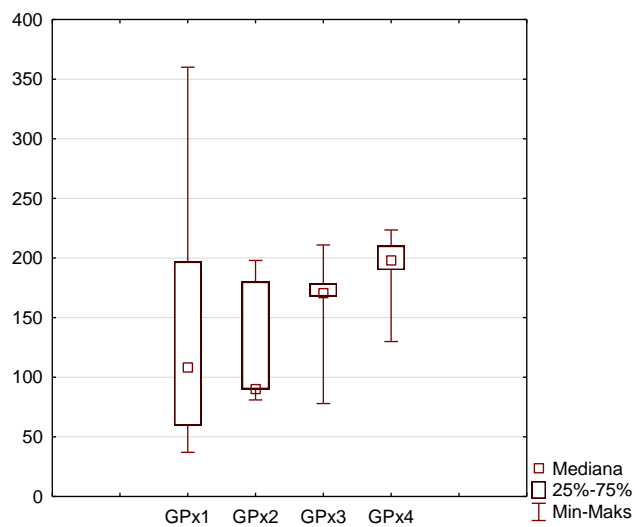
Markery stresu oksydacyjnego monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów aktywności katalazy [U/l] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26							
					Katalaza [U/l] 1	Katalaza [U/l] 2	Katalaza [U/l] 3	Katalaza [U/l] 4	p			
Katalaza 1 [U/l]					-	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05			
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
418,45	257,70	413,79	227,59	579,31								
Katalaza 2 [U/l]					>0,05	-	<0,05	<0,05	<0,05			
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
402,39	257,11	412,20	211,10	660,30								
Katalaza 3 [U/l]					<0,05	<0,05	-	>0,05	>0,05			
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
188,96	117,25	140,05	120,40	333,00								
Katalaza 4 [U/l]					<0,05	<0,05	>0,05	-	-			
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
129,78	54,41	111,20	99,40	210,10								



**Rycina 58.** Wykres ramkowy dla aktywności katalazy (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru.

**Tabela 52.** Analiza statystyczna aktywności peroksydazy glutationowej (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

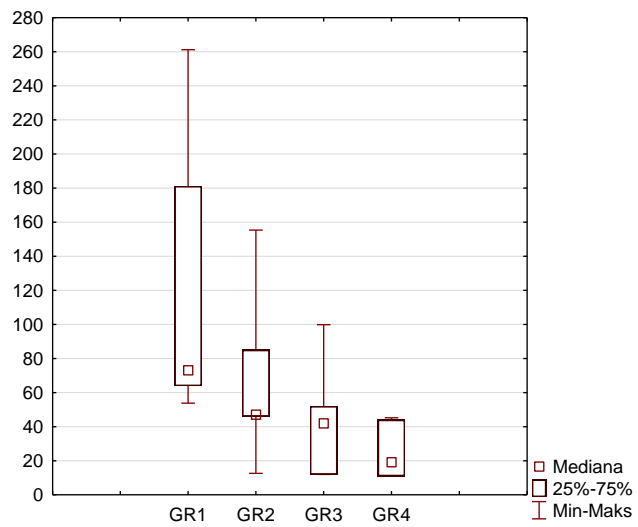
Markery stresu oksydacyjnego monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów aktywności peroksydazy glutationowej [U/l] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26							
					Peroksydaza glutationowa [U/l] 1	Peroksydaza glutationowa [U/l] 2	Peroksydaza glutationowa [U/l] 3	Peroksydaza glutationowa [U/l] 4	p			
Peroksydaza glutationowa 1 [U/l]					-	>0,05	>0,05	<0,05				
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
140,03	93,53	108,09	59,72	196,84								
Peroksydaza glutationowa 2 [U/l]					>0,05	-	>0,05	<0,05				
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
128,86	47,34	90,21	90,21	180,10								
Peroksydaza glutationowa 3 [U/l]					>0,05	>0,05	-	<0,05				
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
172,53	25,12	170,50	168,00	178,50								
Peroksydaza glutationowa 4 [U/l]					<0,05	<0,05	<0,05	-				
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
194,60	21,49	198,00	190,00	210,20								



**Rycina 59.** Wykres ramkowy dla aktywności peroksydazy glutationowej (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru.

**Tabela 53.** Analiza statystyczna aktywności reduktazy glutationowej (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

Markery stresu oksydacyjnego monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów aktywności reduktazy glutationowej [U/l] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26							
					Reduktaza glutationowa [U/l] 1	Reduktaza glutationowa [U/l] 2	Reduktaza glutationowa [U/l] 3	Reduktaza glutationowa [U/l] 4	p			
Reduktaza glutationowa 1 [U/l]												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	-	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05			
114,76	62,04	73,10	63,93	181,09								
Reduktaza glutationowa 2 [U/l]												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	<0,05	-	>0,05	<0,05	<0,05			
65,93	31,93	47,00	46,00	85,00								
Reduktaza glutationowa 3 [U/l]												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	<0,05	>0,05	-	>0,05	>0,05			
38,70	21,28	42,00	12,00	52,00								
Reduktaza glutationowa 4 [U/l]												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	<0,05	<0,05	>0,05	-	>0,05			
25,24	14,40	19,00	11,00	44,00								

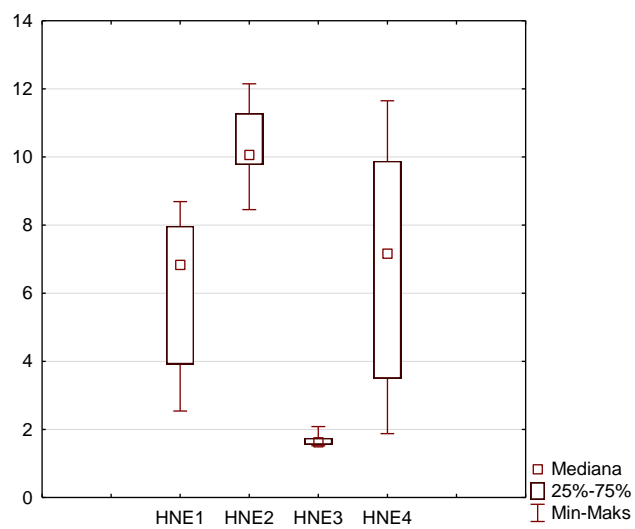


**Rycina 60.** Wykres ramkowy dla aktywności reduktazy glutationowej (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru.



**Tabela 54.** Analiza statystyczna stężenia HNE (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

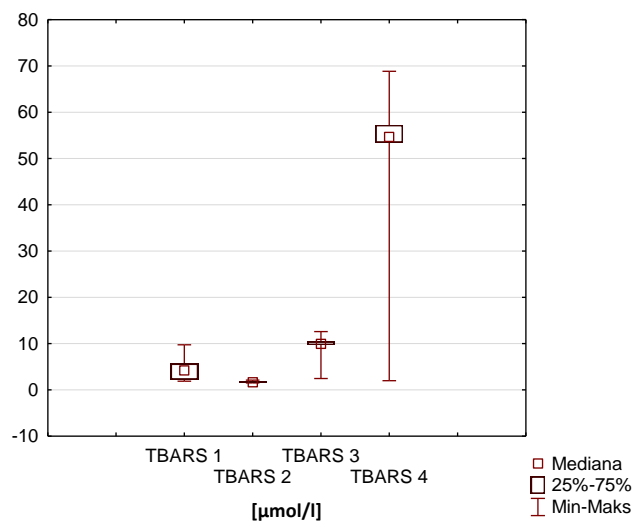
Markery stresu oksydacyjnego monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów stężenia HNE [µg/ml] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26			
					HNE [µg/ml] 1	HNE [µg/ml] 2	HNE [µg/ml] 3	HNE [µg/ml] 4
					p			
HNE 1 [µg/ml]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	-	<0,05	<0,05	>0,05
6,08	2,13	6,83	3,92	7,97				
HNE 2 [µg/ml]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	<0,05	-	<0,05	<0,05
10,33	0,88	10,05	9,77	11,28				
HNE 3 [µg/ml]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	<0,05	<0,05	-	<0,05
1,67	0,15	1,62	1,55	1,74				
HNE 4 [µg/ml]								
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	>0,05	<0,05	<0,05	-
6,82	3,35	7,16	3,49	9,88				



**Rycina 61.** Wykres ramkowy dla HNE (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru.

**Tabela 55.** Analiza statystyczna poziomu TBARS (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

Markery stresu oksydacyjnego monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów poziomu TBARS [ $\mu\text{M/l}$ ] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26							
					TBARS [ $\mu\text{M/l}$ ] 1	TBARS [ $\mu\text{M/l}$ ] 2	TBARS [ $\mu\text{M/l}$ ] 3	TBARS [ $\mu\text{M/l}$ ] 4	p			
TBARS 1 [ $\mu\text{M/l}$ ]					-	>0,05	<0,05	<0,05				
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
4,35	2,13	4,21	2,27	5,66								
TBARS 2 [ $\mu\text{M/l}$ ]					>0,05	-	<0,05	<0,05				
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
1,68	0,17	1,62	1,56	1,75								
TBARS 3 [ $\mu\text{M/l}$ ]					<0,05	<0,05	-	>0,05				
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
1,68	0,17	1,62	1,56	1,75								
TBARS 4 [ $\mu\text{M/l}$ ]					<0,05	<0,05	>0,05	-				
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75								
54,34	11,59	54,67	53,44	57,22								



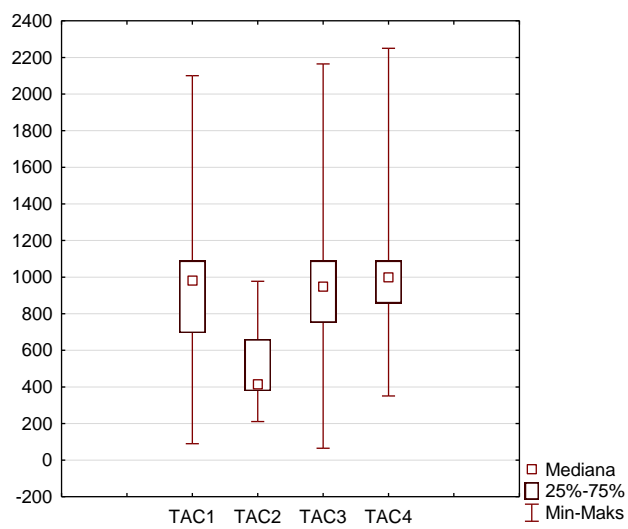
**Rycina 62.** Wykres ramkowy dla poziomu TBARS (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru.

**Tabela 56.** Analiza statystyczna aktywności S-transferazy glutationowej (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

<b>Markery stresu oksydacyjnego monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych</b>					<b>Istotność statystyczna pomiarów aktywności GST [U/l] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26</b>					
					<b>S-transferaza glutationowa [U/l] 1</b>	<b>S-transferaza glutationowa [U/l] 2</b>	<b>S-transferaza glutationowa [U/l] 3</b>	<b>S-transferaza glutationowa [U/l] 4</b>	<b>p</b>	
<b>S-transferaza glutationowa 1 [U/l]</b>					-	>0,05	>0,05	>0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
34,09	28,24	25,06	14,16	39,22						
<b>S-transferaza glutationowa 2 [U/l]</b>					>0,05	-	>0,05	>0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
36,48	26,42	27,24	17,54	66,46						
<b>S-transferaza glutationowa 3 [U/l]</b>					>0,05	>0,05	-	>0,05		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
26,64	21,62	22,33	15,04	27,24						
<b>S-transferaza glutationowa 4 [U/l]</b>					>0,05	>0,05	>0,05	-		
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75						
32,79	31,83	17,54	12,20	37,04						

**Tabela 57.** Analiza statystyczna poziomu TAC (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

Markery stresu oksydacyjnego monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów poziomu TAC [CRE] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26							
					TAC [CRE] 1	TAC [CRE] 2	TAC [CRE] 3	TAC [CRE] 4	p			
TAC 1 [CRE]												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	-	<0,05	>0,05	>0,05				
924,17	387,15	981,05	695,10	1089,40								
TAC 2 [CRE]												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	<0,05	-	<0,05	<0,05				
441,28	189,74	413,70	377,50	660,30								
TAC 3 [CRE]												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	>0,05	<0,05	-	>0,05				
919,48	354,13	998,42	857,70	1067,98								
TAC 4 [CRE]												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	>0,05	<0,05	>0,05	-				
983,72	354,13	998,42	857,70	1078,67								

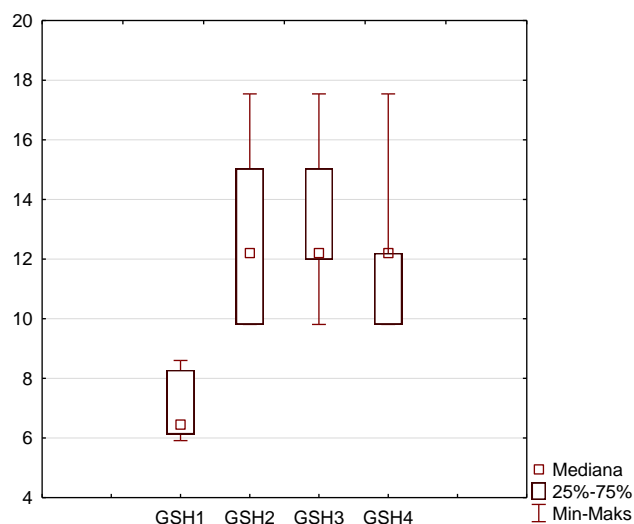


**Rycina 63.** Wykres ramkowy dla TAC (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru.

**Tabela 58.** Analiza statystyczna stężenia glutationu (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.

Markery stresu oksydacyjnego monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych					Istotność statystyczna pomiarów stężenia glutationu [ $\mu\text{M/l}$ ] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu n=26							
					Glutation [ $\mu\text{M/l}$ ] 1	Glutation [ $\mu\text{M/l}$ ] 2	Glutation [ $\mu\text{M/l}$ ] 3	Glutation [ $\mu\text{M/l}$ ] 4	p			
Glutation 1 [ $\mu\text{M/l}$ ]												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	-	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05			
6,92	0,99	6,54	6,13	8,28								
Glutation 2 [ $\mu\text{M/l}$ ]												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	<0,05	-	>0,05	>0,05	>0,05			
12,42	2,15	12,20	9,81	15,03								
Glutation 3 [ $\mu\text{M/l}$ ]												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	<0,05	>0,05	-	>0,05	>0,05			
12,59	2,26	12,20	11,98	15,04								
Glutation 4 [ $\mu\text{M/l}$ ]												
$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-			
12,29	2,08	12,20	9,81	12,20								





**Rycina 64.** Wykres ramkowy dla stężenia glutationu (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru.

### 5.3.3. Wpływ czasu diagnozy na wyniki badań toksykologicznych, biochemicznych i gazometrii oraz markery stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych (grupa A1a) monitorowanych w trakcie hospitalizacji

Otrzymane wyniki czterokrotnych pomiarów w krwi pacjentów porównano w grupach względem czasu, jaki upłynął od spożycia glikolu etylenowego do chwili przyjęcia do szpitala (po 13 osób, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin i między 12 a 24 godziną od narażenia) (Tab. 59).

W tabeli 59 porównano wyniki oznaczeń glikolu etylenowego oraz alkoholu etylowego zmierzone w wyznaczonych godzinach w grupach pacjentów, którzy zostali przyjęci do szpitala w różnym czasie od zatrucia. Czas diagnozy istotnie wpływał na stężenia glikolu etylenowego w chwili przyjęcia, co zaprezentowano na rycinach 65 i 66.

Istotnie statystycznie różnice stwierdzono w poziomie  $pO_2$ , które w dniu wypisu pacjentów ze szpitala było niższe w grupie II o około 20% (Tab. 60) (Ryc. 67-68).

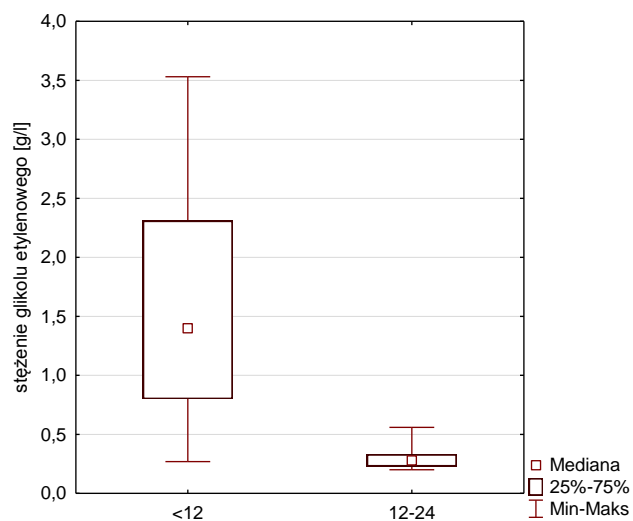
Niezależnie od czasu w którym pacjenci zostali zdiagnozowani, nie stwierdzono różnic w stężeniach kreatyniny, mocznika oraz w aktywnościach ALT i AST (Tab. 61).

Istotnie statystycznie różnice stwierdzono natomiast w aktywności reduktazy glutationowej i poziomie TBARS w chwili przyjęcia w zależności od czasu diagnozy (Tab. 62, Ryc. 69-72).

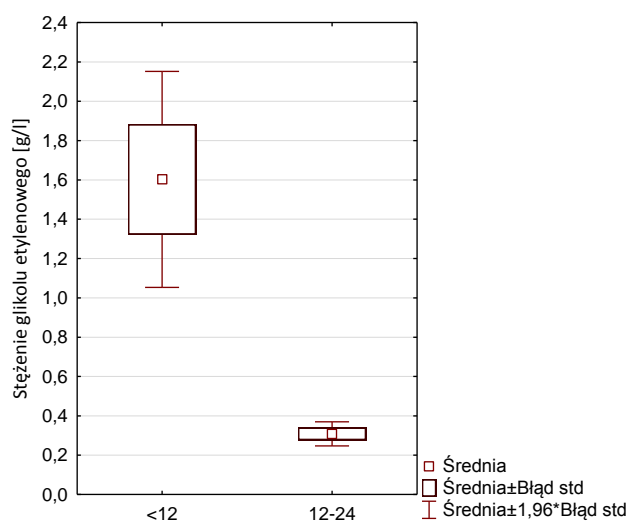
Nie zbadano wpływu płci ani śmiertelności w grupie badanej na wybrane parametry z uwagi na małą liczebność kobiet w grupie ( $n=2$ ) oraz tylko dwa zgony spośród monitorowanych pacjentów.

Tabela 59. Stężenie glikolu etylenowego (w dwóch punktach czasowych) i alkoholu etylowego (w czterech punktach czasowych) w grupie monitorowanych pacjentów w zależności od czasu.

Wiek i parametry toksykologiczne monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych	Parametry oceny statystycznej pacjentów grupy A1a na poziomie istotności $\alpha=0,05$ n=26										
	Pacjenci, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin od spożycia glikolu etylenowego n=13					Pacjenci, u których potwierdzono zatrucie między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego n=13					p
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
Wiek [lata]	50,03	12,88	50,00	43,50	57,50	49,79	13,31	50,00	41,00	56,00	0,9496
Stężenie glikolu etylenowego 1 [g/l]	1,91	1,49	1,43	0,80	2,65	0,30	0,11	0,28	0,21	0,37	<0,0001
Stężenie glikolu etylenowego 2 [g/l]	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-
Stężenie alkoholu etylowego 1 [g/l]	0,12	0,21	0,00	0,00	0,22	0,41	1,23	0,00	0,00	0,00	0,5549
Stężenie alkoholu etylowego 2 [g/l]	0,83	0,35	0,40	0,60	1,00	1,06	0,44	0,30	0,90	1,20	0,1511
Stężenie alkoholu etylowego 3 [g/l]	0,14	0,18	0,00	0,00	0,30	0,18	0,14	0,00	0,00	0,30	0,4786
Stężenie alkoholu etylowego 4 [g/l]	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-



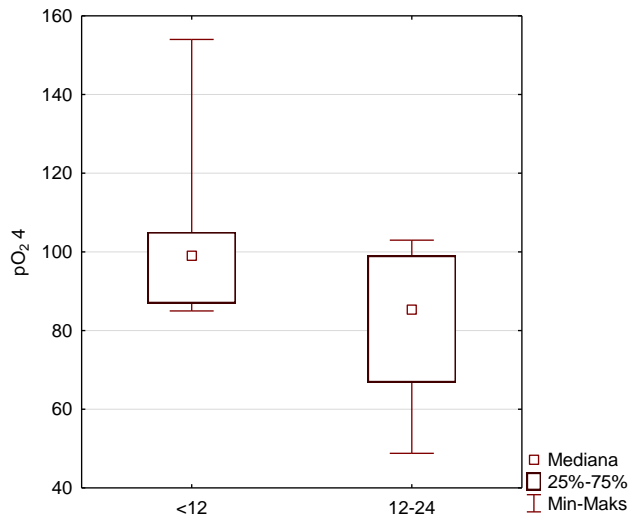
**Rycina 65.** Wykres ramkowy mediany stężenia glikolu etylenowego w grupie pacjentów monitorowanych podczas hospitalizacji z uwzględnieniem czasu w jakim zostało potwierdzone zatrucie



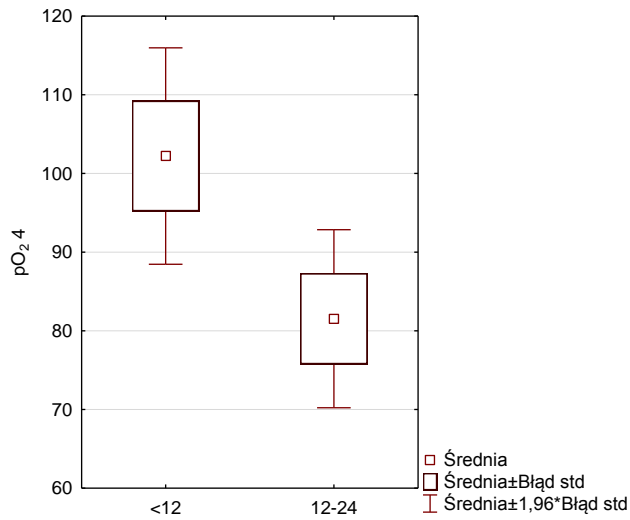
**Rycina 66.** Wykres ramkowy średniego stężenia glikolu etylenowego w grupie pacjentów monitorowanych podczas hospitalizacji z uwzględnieniem czasu w jakim zostało potwierdzone zatrucie.

Tabela 60. Parametry równowagi kwasowo-zasadowej (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu.

Parametry równowagi kwasowo-zasadowej monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych	Parametry oceny statystycznej pacjentów grupy A1a na poziomie istotności $\alpha=0,05$ n=26										p
	Pacjenci, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin od spożycia glikolu etylenowego n <sub>1</sub> =13					Pacjenci, u których potwierdzono zatrucie między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego n <sub>2</sub> =13					
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
[H <sup>+</sup> ]*10 <sup>-8</sup> 1	10,81	6,30	12,88	3,71	16,33	12,78	5,81	12,05	8,57	16,98	0,5386
[H <sup>+</sup> ]*10 <sup>-8</sup> 2	7,00	3,73	5,44	4,56	9,73	9,20	4,35	7,87	5,46	13,27	0,1862
[H <sup>+</sup> ]*10 <sup>-8</sup> 3	4,49	0,85	4,81	3,87	4,91	5,97	1,92	5,02	4,36	7,08	0,1385
[H <sup>+</sup> ]*10 <sup>-8</sup> 4	3,69	0,50	3,55	3,51	3,55	3,83	0,52	3,61	3,55	4,34	0,2689
pCO <sub>2</sub> 1 [mmHg]	25,52	9,53	24,20	19,20	30,70	23,22	9,41	20,20	16,40	28,70	0,5416
pCO <sub>2</sub> 2 [mmHg]	26,85	9,57	24,10	20,50	30,50	29,68	20,52	20,40	16,30	35,60	0,3686
pCO <sub>2</sub> 3 [mmHg]	31,24	6,52	32,20	25,10	36,00	33,89	7,76	32,80	28,20	38,10	0,4098
pCO <sub>2</sub> 4 [mmHg]	34,13	2,65	33,60	32,80	33,80	34,52	3,83	33,80	32,80	36,80	0,7114
pO <sub>2</sub> 1 [mmHg]	118,34	63,56	99,90	78,10	128,00	124,58	56,32	110,60	95,20	173,30	0,7931
pO <sub>2</sub> 2 [mmHg]	133,08	50,58	109,00	95,80	155,00	152,33	75,96	139,50	121,00	154,00	0,4298
pO <sub>2</sub> 3 [mmHg]	120,50	42,59	99,00	90,10	158,00	108,51	27,09	98,00	89,90	142,00	0,5426
pO <sub>2</sub> 4 [mmHg]	102,22	21,04	99,00	87,00	105,00	81,54	18,24	85,35	66,90	99,00	<b>0,0405</b>
BE 1 [mmol/l]	-10,34	36,82	-25,70	-28,70	-1,80	-24,47	8,69	-25,40	-27,20	-21,90	0,6638
BE 2 [mmol/l]	-10,28	12,12	-4,50	-26,00	-0,20	-9,41	8,97	-12,10	-15,30	-0,20	0,8702
BE 3 [mmol/l]	-3,35	7,64	-2,70	-6,30	3,20	-4,42	7,02	-2,40	-11,40	2,00	0,7499
BE 4 [mmol/l]	-1,60	2,81	-2,00	-2,20	-0,50	0,14	2,27	0,05	-0,50	2,00	0,1079
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 1 [mmol/l]	10,42	9,77	5,00	3,20	18,60	7,07	5,18	6,10	4,80	7,50	0,9386
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 2 [mmol/l]	16,28	8,79	17,20	6,00	23,60	16,37	6,35	15,60	12,05	20,85	0,9769
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 3 [mmol/l]	21,62	5,23	22,50	19,50	22,70	20,94	4,46	22,70	16,60	23,80	0,9391
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 4 [mmol/l]	23,58	2,39	24,80	24,40	24,80	23,91	2,73	24,80	23,50	54,80	0,7662



**Rycina 67.** Wykres ramkowy mediany pO<sub>2</sub> w chwili wypisu pacjenta ze szpitala z uwzględnieniem czasu w jakim zostało potwierdzone zatrucie glikolem etylenowym.



**Rycina 68.** Wykres ramkowy średniej pO<sub>2</sub> w chwili wypisu pacjenta ze szpitala z uwzględnieniem czasu w jakim zostało potwierdzone zatrucie glikolem etylenowym.

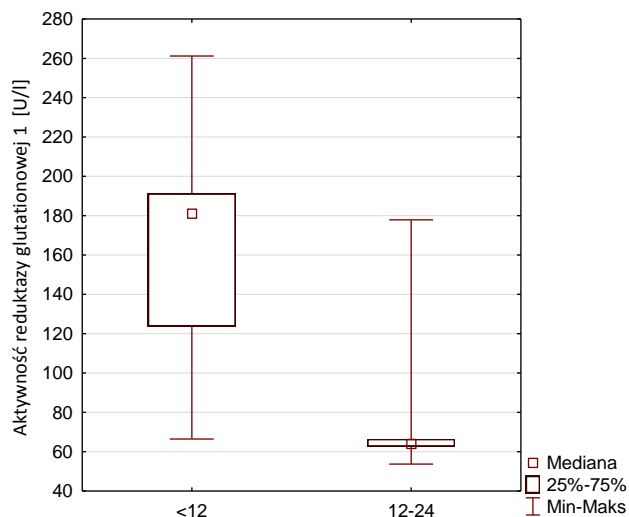
**Tabela 61.** Parametry biochemiczne (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu.

Parametry biochemiczne monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych	Parametry oceny statystycznej pacjentów grupy A1a na poziomie istotności $\alpha=0,05$ n=26										
	Pacjenci, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin od spożycia glikolu etylenowego n <sub>1</sub> =13					Pacjenci, u których potwierdzono zatrucie między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego n <sub>2</sub> =13					p
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
Kreatynina 1 [mg/dl]	4,34	6,47	2,22	1,32	3,50	2,32	1,22	2,32	1,50	2,72	1,0000
Kreatynina 2 [mg/dl]	3,62	2,18	3,95	1,45	5,37	4,60	2,87	3,87	2,46	6,52	0,3429
Kreatynina 3 [mg/dl]	4,83	3,03	6,11	1,18	6,72	6,24	2,19	6,43	4,52	7,45	0,2366
Kreatynina 4 [mg/dl]	3,23	1,91	3,37	1,66	4,50	3,21	1,79	3,36	1,39	4,12	0,9820
Mocznik 1 [mg/dl]	25,33	14,59	23,00	22,00	26,00	40,80	22,18	45,50	24,00	50,00	0,0762
Mocznik 2 [mg/dl]	49,17	34,83	41,50	21,50	82,00	45,92	32,51	41,00	23,50	60,00	0,8394
Mocznik 3 [mg/dl]	67,60	55,03	58,50	15,00	127,00	64,36	52,07	59,00	15,00	106,00	0,8913
Mocznik 4 [mg/dl]	43,80	29,62	44,50	15,00	77,00	41,87	33,61	37,50	13,50	56,00	0,8989
ALT 1 [U/l]	67,75	49,26	50,00	37,00	97,00	48,84	35,76	37,00	22,00	66,00	0,2642
ALT 2 [U/l]	85,91	66,43	72,00	22,00	145,00	69,67	57,03	46,00	25,50	113,50	1,0000
ALT 3 [U/l]	59,89	49,29	42,00	26,00	61,00	65,55	51,95	33,00	27,00	112,00	0,8243
ALT 4 [U/l]	49,33	28,31	44,00	28,00	58,00	56,89	34,22	44,00	28,00	78,00	0,6167
AST 1 [U/l]	92,25	80,22	58,50	36,50	138,50	120,23	243,48	42,00	37,00	67,00	0,4963
AST 2 [U/l]	104,09	78,06	78,00	38,00	186,00	145,80	208,19	61,50	43,00	170,00	0,9719
AST 3 [U/l]	58,11	44,06	40,00	35,00	54,00	155,43	237,04	64,00	52,00	111,00	0,2030
AST 4 [U/l]	32,11	12,79	31,00	22,00	41,00	42,00	20,09	43,00	23,00	54,00	0,2493

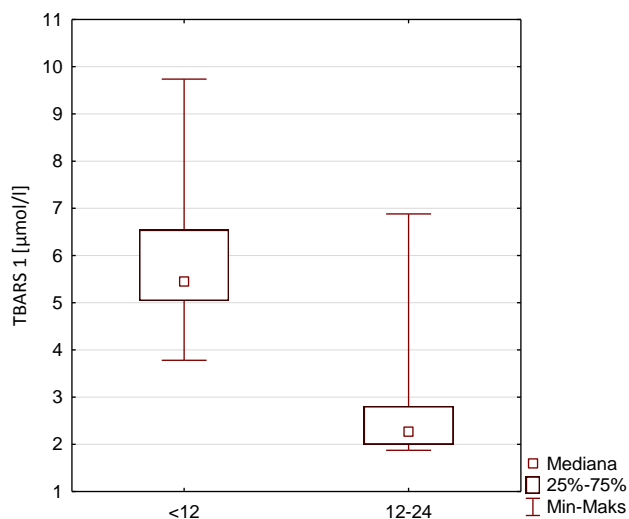
**Tabela 62.** Markery stresu oksydacyjnego (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu.

Markery stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych	Pacjenci, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin					Pacjenci, u których potwierdzono zatrucie między 12 a 24 godziną					p
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{X}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
Katalaza 1 [U/l]	442,36	335,93	310,35	227,58	662,06	394,53	155,76	413,79	351,72	455,17	
Katalaza 2 [U/l]	439,98	318,03	412,20	211,10	660,30	364,80	183,07	412,20	220,10	415,20	0,8565
Katalaza 3 [U/l]	221,33	139,89	168,00	120,40	333,00	156,60	82,46	135,00	120,40	150,20	0,3940
Katalaza 4 [U/l]	140,25	64,28	122,00	99,40	210,10	119,31	42,40	111,20	99,40	120,20	0,5525
Peroksydaza glutationowa 1 [U/l]	108,58	94,66	71,50	59,73	89,17	171,48	84,40	183,38	127,02	242,26	0,1239
Peroksydaza glutationowa 2 [U/l]	103,98	33,78	90,21	90,21	90,21	153,73	46,77	180,10	90,21	180,10	0,0504
Peroksydaza glutationowa 3 [U/l]	170,73	9,79	170,50	168,00	170,50	174,34	34,81	170,50	168,00	198,00	0,4019
Peroksydaza glutationowa 4 [U/l]	198,65	9,39	198,00	198,00	200,00	190,56	28,96	200,00	186,00	210,20	0,9791
Reduktaza glutationowa 1 [U/l]	157,41	55,17	181,09	123,78	191,28	72,10	32,14	63,93	62,66	66,48	<0,0001
Reduktaza glutationowa 2 [U/l]	68,79	34,53	75,40	47,00	85,00	63,08	30,25	47,00	46,00	85,00	0,5554
Reduktaza glutationowa 3 [U/l]	37,21	25,56	42,00	12,00	52,00	40,18	16,89	42,00	42,00	52,00	0,4417
Reduktaza glutationowa 4 [U/l]	28,78	15,16	19,00	19,00	44,00	21,69	13,23	19,00	11,00	19,00	0,2382
HNE 1 [µg/ml]	6,29	1,94	7,03	4,17	7,77	5,89	2,37	6,64	3,88	7,97	0,3455
HNE 2 [µg/ml]	10,64	0,93	10,16	9,88	11,31	10,02	0,75	9,77	9,66	10,44	0,4345
HNE 3 [µg/ml]	11,65	0,12	11,62	9,57	12,45	11,70	0,17	12,60	11,65	12,55	0,1255
HNE 4 [µg/ml]	5,71	3,18	5,28	2,81	8,45	7,93	3,24	9,73	6,55	9,97	0,4333
TBARS 1 [µM/l]	5,84	1,62	5,45	5,04	6,54	2,85	1,42	2,27	1,99	2,81	0,0002
TBARS 2 [µM/l]	1,65	0,16	1,58	1,55	1,68	1,71	0,18	1,62	1,57	1,83	0,3559
TBARS 3 [µM/l]	10,14	1,02	9,85	9,73	10,27	9,81	2,33	10,16	9,81	10,44	0,4727
TBARS 4 [µM/l]	55,81	5,14	54,07	53,44	56,34	52,86	15,77	55,73	53,87	57,22	0,7427
S-transferaza glutationowa 1 [U/l]	32,90	31,49	19,83	13,62	39,22	35,29	25,82	27,24	17,54	37,04	0,5049
S-transferaza glutationowa 2 [U/l]	31,95	24,63	27,24	17,54	37,04	41,00	28,35	27,24	17,54	66,46	0,5709
S-transferaza glutationowa 3 [U/l]	29,12	29,47	19,83	12,21	27,23	24,16	9,69	23,97	19,83	29,42	0,5036
S-transferaza glutationowa 4 [U/l]	32,86	36,75	16,35	12,32	29,42	32,73	27,57	27,24	12,20	37,04	0,8372
TAC 1 [CRE]	1028,78	414,09	1000,70	745,50	1250,20	819,56	342,16	948,30	695,10	1000,70	0,2929
TAC 2 [CRE]	420,03	129,19	415,20	412,20	417,20	462,53	239,45	378,20	220,10	660,30	0,6225
TAC 3 [CRE]	980,76	423,52	948,30	820,30	1089,40	858,20	348,76	996,90	678,30	1027,80	0,8978
TAC 4 [CRE]	973,73	452,22	996,90	678,30	1000,70	994,71	237,90	1027,80	948,30	1143,60	0,3292
Glutation 1 [µM/l]	6,89	0,96	6,45	6,45	6,88	6,95	1,07	6,45	6,12	8,28	0,8746
Glutation 2 [µM/l]	11,93	2,07	12,20	9,81	12,20	12,89	2,19	12,20	12,21	15,04	0,3698
Glutation 3 [µM/l]	13,07	2,49	12,21	12,20	15,04	12,10	1,98	12,20	9,81	12,20	0,3204
Glutation 4 [µM/l]	12,88	2,20	12,23	12,32	15,06	11,71	1,86	12,23	9,80	12,02	0,3169

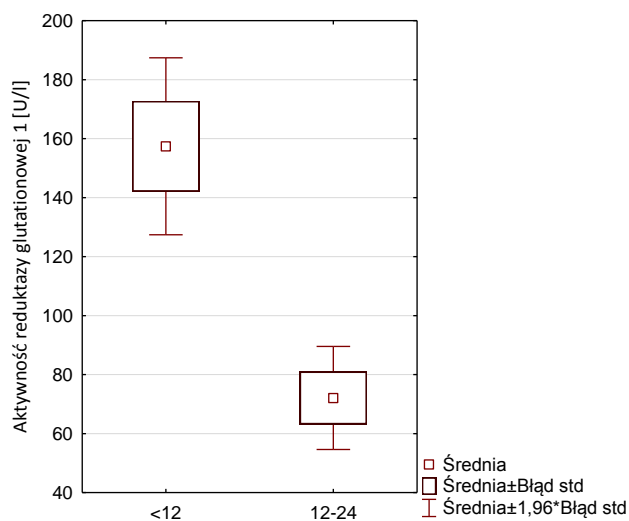




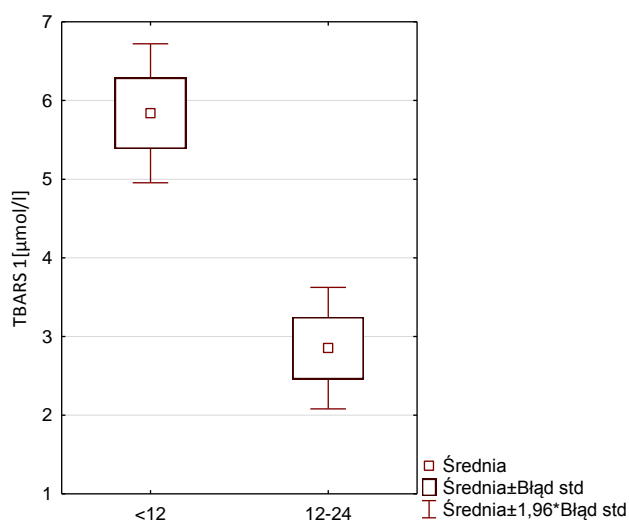
**Rycina 69.** Wykres ramkowy mediany aktywności reduktazy glutationowej zmierzonej przy przyjęciu do szpitala z uwzględnieniem czasu jaki minął od potwierdzenia zatrucie glikolem.



**Rycina 70.** Wykres ramkowy mediany poziomu TBARS zmierzonego przy przyjęciu do szpitala z uwzględnieniem czasu jaki minął od potwierdzenia zatrucie glikolem.



**Rycina 71.** Wykres ramkowy średniej aktywności reduktazy glutationowej zmierzonej przy przyjęciu do szpitala z uwzględnieniem czasu jaki minął od potwierdzenia zatrucie glikolem



**Rycina 72.** Wykres ramkowy średniej poziomu TBARS zmierzonego przy przyjęciu do szpitala z uwzględnieniem czasu jaki minął od potwierdzenia zatrucia glikolem.

#### **5.3.4. Wpływ wieku, płci, stężenia alkoholu etylowego oraz zaburzeń biochemicznych i równowagi kwasowo-zasadowej na markery stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym (grupa A1a) monitorowanych w trakcie hospitalizacji**

W wybranej grupie pacjentów oceniono wpływ wybranych parametrów na stan równowagi oksydoredukcyjnej w czterech punktach czasowych względem wybranych parametrów (Tab. 63-66).

Nie stwierdzono wpływu wieku pacjentów na wartości wybranych markerów stresu oksydacyjnego w poszczególnych punktach czasowych. Natomiast szczegółowe badanie wykazały korelację pomiędzy poziomem markerów stresu oksydacyjnego a zaburzeniami biochemicznymi i równowagą kwasowo-zasadową co zaprezentowano w tabelach 63-66.

W chwili przyjęcia pacjenta do szpitala stwierdzono jedynie wpływ podwyższonego stężenia mocznika na poziom TBARS (Tab. 64, Ryc. 75). Nie stwierdzono w tym okresie żadnych innych istotnych zmian w stanie równowagi oksydoredukcyjnej wynikających z zaburzeń pozostałych parametrów biochemicznych i równowagi kwasowo-zasadowej (Tab. 63-66).

Po wdrożeniu leczenia przy użyciu odtrutki wykazano istotny wpływ poziomu alkoholu etylowego na wartość poszczególnych markerów stresu oksydacyjnego (Tab. 67 i 68). Stwierdzono, że im wyższe stężenie etanolu podanego w ramach postępowania

lecniczego tym wyższa aktywność GST (Ryc. 86). Po podaniu odtrutki i zakończeniu zabiegu hemodializy dodatkowo stwierdzono różnice w aktywnościach AST i CAT. Wykazano, że im wyższa aktywność AST tym niższe wartości CAT (Ryc. 78). Ponadto stwierdzono zależność  $pO_2$  od aktywności GST, wykazując, że im wyższe aktywności GST tym większe ciśnienie parcjalne tlenu ( $pO_2$ ) w krwi tętniczej (Ryc. 82).

W trzecim z analizowanych punktów czasowych tj. między drugą a trzecią dobą hospitalizacji stwierdzono, podobną zależność jak po podaniu odtrutki i zastosowaniu hemodializy, między aktywnościami AST i CAT tj. im wyższa aktywność AST tym niższe wartości CAT (Ryc. 77). Odmienne wnioski wysunięto na podstawie zbadanych zależności TAC od parametrów biochemicznych. Stwierdzono, że im niższa aktywność ALT tym wyższe wartości TAC (Ryc. 79) .

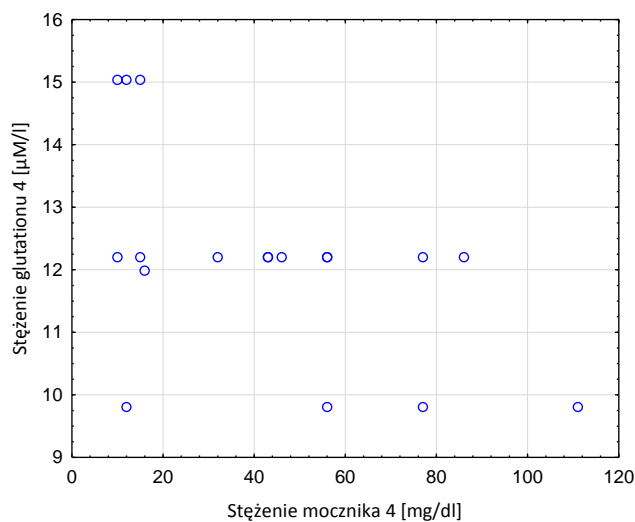
W ostatnim dniu hospitalizacji, stwierdzono zmiany w wielu oznaczeniach. Wykazano istotną zależność między aktywnościami ALT i reduktazy glutationowej (Ryc. 76); wzrost aktywności ALT korelował ze wzrostem aktywności GR. Stwierdzono również wpływ stężenia mocznika na aktywność GST i stężenie glutationu; im wyższe stężenie mocznika, tym niższe wartości glutationu i GST (Ryc. 73 i 74). Podobną zależność stwierdzono w przypadku wpływu poziomu  $pCO_2$  na aktywność CAT. Im wyższe poziomy  $pCO_2$  tym niższe wartości CAT (Ryc. 83). Podobnie na aktywność katalazy wpływało ciśnienie parcjalne tlenu ( $pO_2$ ), którego wzrost korelował z podwyższonymi wartościami CAT (Ryc. 81). Również stężenie jonów  $[H^+]$  wpływało istotnie na stan równowagi oksydoredukcyjnej w tym okresie. Wyższe stężenie jonów  $[H^+]$  w dniu wypisu pacjenta ze szpitala korelowało z wyższymi aktywnościami GR i glutationu (Ryc. 84 i 85). Natomiast wyższe  $HCO_3^-$  korelowały ze wzrostem aktywności GR (Ryc. 80).

**Tabela 63.** Analiza statystyczna markerów stresu oksydacyjnego w grupie monitorowanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu, wieku i parametrów biochemicznych.

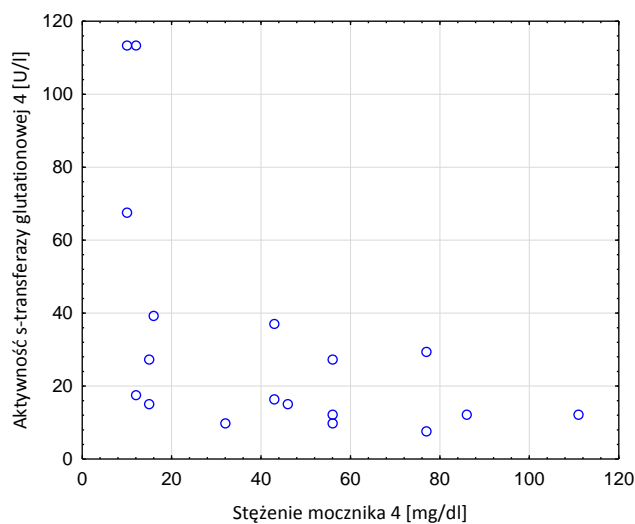
Markery stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych	Wiek i parametry biochemiczne (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu pomiaru. Analiza statystyczna na poziomie istotności $\alpha=0,05$ n=26																
	Wiek	AST [U/l] 1	AST [U/l] 2	AST [U/l] 3	AST [U/l] 4	ALT [U/l] 1	ALT [U/l] 2	ALT [U/l] 3	ALT [U/l] 4	Kreat [mg/dl] 1	Kreat [mg/dl] 2	Kreat [mg/dl] 3	Kreat [mg/dl] 4	Mocznik [mg/dl] 1	Mocznik [mg/dl] 2	Mocznik [mg/dl] 3	Mocznik [mg/dl] 4
	p																
Katalaza 1 [U/l]	0,2407	0,9156	-	-	-	0,4653	-	-	-	0,8943	-	-	-	0,8991	-	-	-
Katalaza 2 [U/l]	0,7502	-	<b>0,0331</b>	-	-	-	0,0915	-	-	-	0,8069	-	-	-	0,1231	-	-
Katalaza 3 [U/l]	0,5923	-	-	<b>0,0011</b>	-	-	-	0,1515	-	-	-	0,9775	-	-	-	0,0754	-
Katalaza 4 [U/l]	0,6714	-	-	-	0,1113	-	-	-	0,4076	-	-	-	0,5118	-	-	-	0,2039
Peroksydaza glutationowa 1 [U/l]	0,4453	0,3412	-	-	-	0,2886	-	-	-	0,6875	-	-	-	0,6413	-	-	-
Peroksydaza glutationowa 2 [U/l]	0,8257	-	0,5964	-	-	-	0,8464	-	-	-	0,7521	-	-	-	0,7703	-	-
Peroksydaza glutationowa 3 [U/l]	0,5401	-	-	0,9454	-	-	-	0,0839	-	-	-	0,1273	-	-	-	0,9354	-
Peroksydaza glutationowa 4 [U/l]	0,2855	-	-	-	0,2660	-	-	-	0,7132	-	-	-	0,2131	-	-	-	0,3522
Reduktaza glutationowa 1 [U/l]	0,4635	0,9802	-	-	-	0,8155	-	-	-	0,1732	-	-	-	0,2496	-	-	-
Reduktaza glutationowa 2 [U/l]	0,5594	-	0,6534	-	-	-	0,1442	-	-	-	0,3173	-	-	-	0,9571	-	-
Reduktaza glutationowa 3 [U/l]	0,6741	-	-	0,2340	-	-	-	0,8476	-	-	-	0,7630	-	-	-	0,2064	-
Reduktaza glutationowa 4 [U/l]	0,9749	-	-	-	0,4237	-	-	-	-	<b>0,0341</b>	-	-	-	0,6745	-	-	0,3669
HNE 1 [µg/ml]	0,8798	0,4716	-	-	-	0,2274	-	-	-	0,0871	-	-	-	0,5998	-	-	-
HNE 2 [µg/ml]	0,8901	-	0,1179	-	-	-	0,3317	-	-	-	0,3697	-	-	-	0,2399	-	-
HNE 3 [µg/ml]	0,6937	-	-	0,3701	-	-	-	0,3629	-	-	-	0,5977	-	-	-	0,0826	-
HNE 4 [µg/ml]	0,8693	-	-	-	0,9353	-	-	-	0,3651	-	-	-	0,9646	-	-	-	0,9609

**Tabela 64.** Analiza statystyczna markerów stresu oksydacyjnego w grupie monitorowanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu, wieku i parametrów biochemicznych.

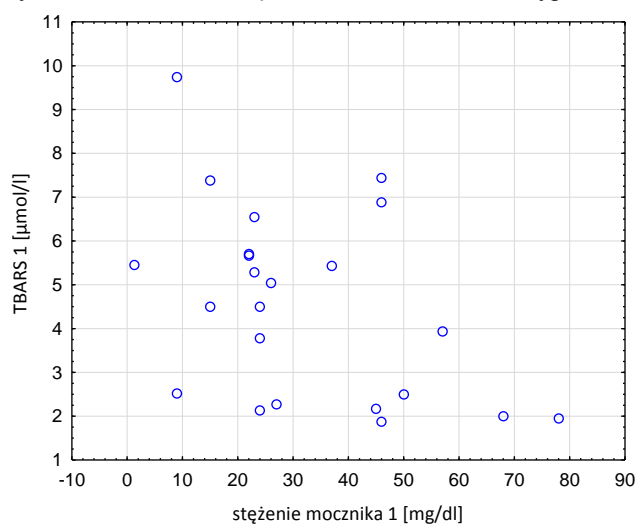
Markery stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych	Wiek i parametry biochemiczne (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu pomiaru. Analiza statystyczna na poziomie istotności $\alpha=0,05$ n=26																
	Wiek	AST [U/l] 1	AST [U/l] 2	AST [U/l] 3	AST [U/l] 4	ALT [U/l] 1	ALT [U/l] 2	ALT [U/l] 3	ALT [U/l] 4	Kreat [mg/dl] 1	Kreat [mg/dl] 2	Kreat [mg/dl] 3	Kreat [mg/dl] 4	Mocznik [mg/dl] 1	Mocznik [mg/dl] 2	Mocznik [mg/dl] 3	Mocznik [mg/dl] 4
	p																
TBARS 1 [ $\mu$ M/l]	0,2407	0,6553	-	-	-	0,3428	-	-	-	0,9921	-	-	-	<b>0,0168</b>	-	-	-
TBARS 2 [ $\mu$ M/l]	0,7502	-	0,2304	-	-	-	0,1535	-	-	-	0,3423	-	-	-	0,7722	-	-
TBARS 3 [ $\mu$ M/l]	0,5923	-	-	0,5649	-	-	-	0,5275	-	-	-	0,3478	-	-	-	0,4512	-
TBARS 4 [ $\mu$ M/l]	0,6714	-	-	-	0,7492	-	-	-	0,6915	-	-	-	0,3651	-	-	-	0,4259
S-transferaza glutationowa 1 [U/l]	0,4453	0,2877	-	-	-	0,2303	-	-	-	0,5460	-	-	-	0,8381	-	-	-
S-transferaza glutationowa 2 [U/l]	0,8257	-	0,7387	-	-	-	0,1164	-	-	-	0,4483	-	-	-	0,6399	-	-
S-transferaza glutationowa 3 [U/l]	0,5401	-	-	0,5824	-	-	-	0,5541	-	-	-	0,2261	-	-	-	0,0604	-
S-transferaza glutationowa 4 [U/l]	0,2855	-	-	-	0,7158	-	-	-	0,1054	-	-	-	0,5654	-	-	-	<b>0,0044</b>
TAC 1 [CRE]	0,2929	0,8896	-	-	-	0,9366	-	-	-	0,4345	-	-	-	0,9534	-	-	-
TAC 2 [CRE]	0,4637	-	0,0627	-	-	-	0,7216	-	-	-	0,6500	-	-	-	0,3502	-	-
TAC 3 [CRE]	0,2099	-	-	0,2717	-	-	-	<b>0,0080</b>	-	-	-	0,3449	-	-	-	0,4497	-
TAC 4 [CRE]	0,2406	-	-	-	0,5461	-	-	-	0,7015	-	-	-	0,9406	-	-	-	0,3809
Glutation 1 [ $\mu$ M/l]	0,4635	0,5403	-	-	-	0,1533	-	-	-	0,2647	-	-	-	0,7391	-	-	-
Glutation 2 [ $\mu$ M/l]	0,5594	-	0,5581	-	-	-	0,5641	-	-	-	0,2042	-	-	-	0,7517	-	-
Glutation 3 [ $\mu$ M/l]	0,6741	-	-	0,8689	-	-	-	0,9313	-	-	-	0,3494	-	-	-	0,3279	-
Glutation 4 [ $\mu$ M/l]	0,9749	-	-	-	0,9823	-	-	-	0,4493	-	-	-	0,1451	-	-	-	<b>0,0335</b>



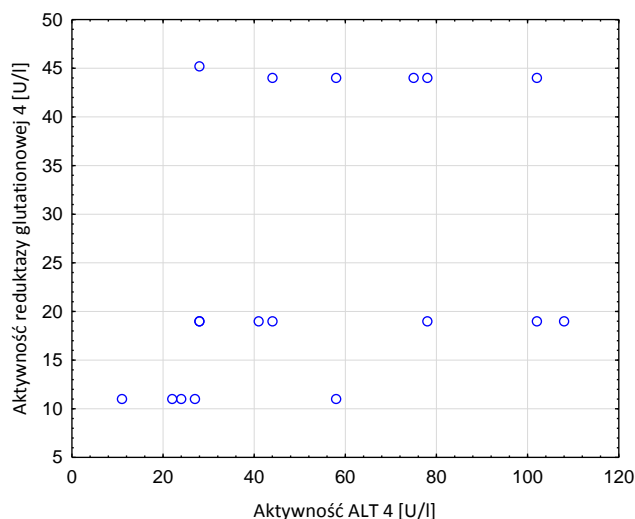
**Rycina 73.** Wykres rozrzutu dla stężenia glutationu w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od stężenia mocznika w dniu wypisu ze szpitala.



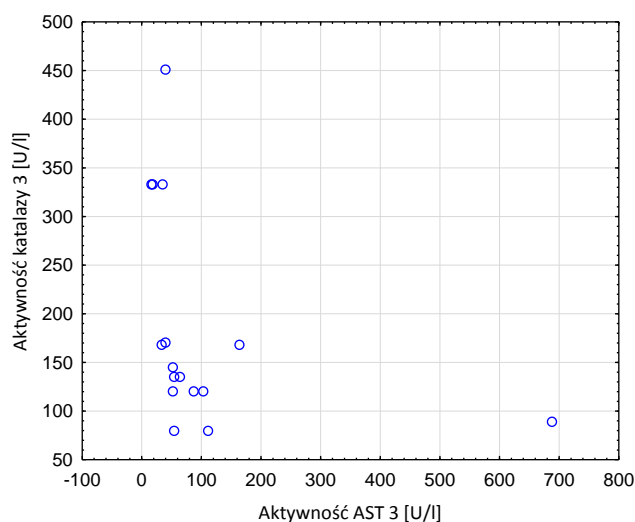
**Rycina 74.** Wykres rozrzutu dla aktywności S-transferazy glutationowej w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od stężenia mocznika w dniu wypisu ze szpitala.



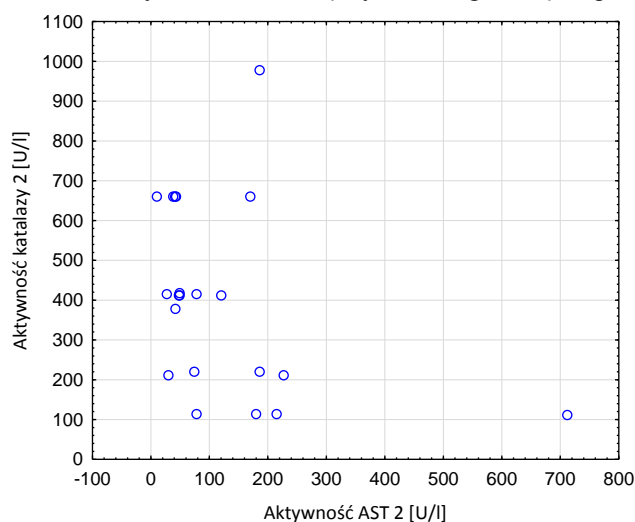
**Rycina 75.** Wykres rozrzutu dla poziomu TBARS w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od stężenia mocznika w chwili potwierdzenia zatrucia.



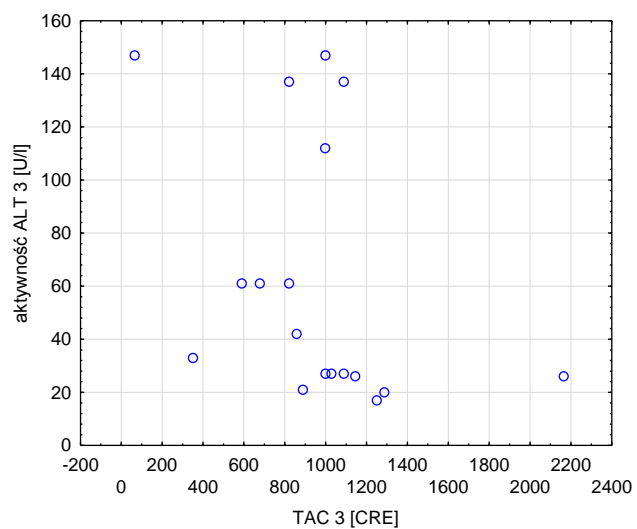
**Rycina 76.** Wykres rozrzutu dla aktywności reduktazy glutationowej w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od aktywności ALT w dniu wypisu ze szpitala.



**Rycina 77.** Wykres rozrzutu dla aktywności katalazy w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od aktywności AST między 48 a 72 godziną hospitalizacji.



**Rycina 78.** Wykres rozrzutu dla aktywności katalazy w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od aktywności AST po podaniu odtrutki/przeprowadzeniu hemodializy.



**Rycina 79.** Wykres rozrzutu dla TAC w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od aktywności ALT po podaniu odtrutki/przeprowadzeniu hemodializy.

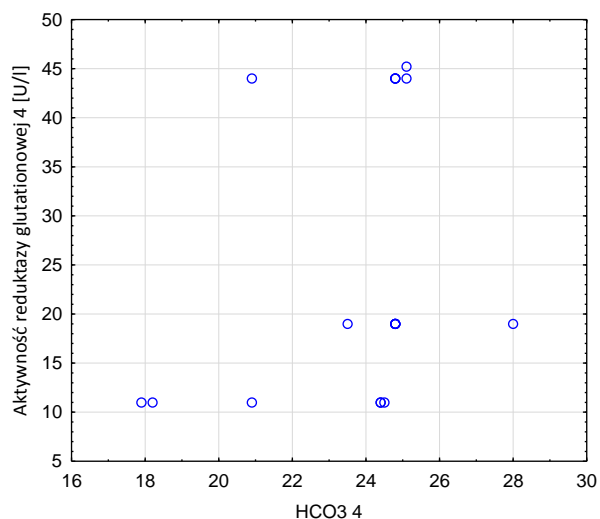


**Tabela 65.** Analiza statystyczna markerów stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu i równowagi kwasowo-zasadowej.

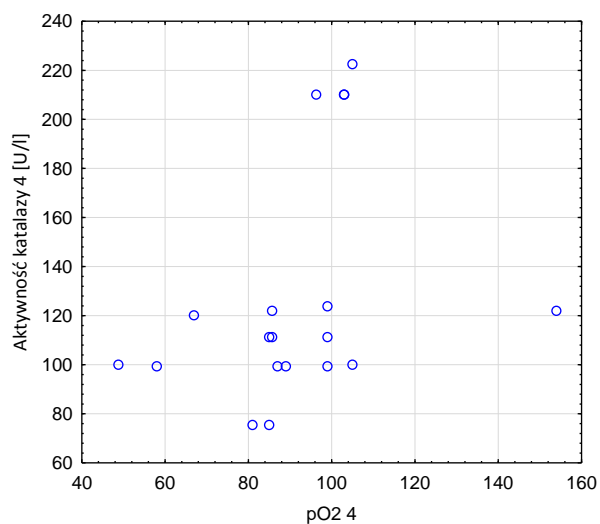
Markery stresu oksydacyjnego	Parametry równowagi kwasowo-zasadowej (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu. Analiza statystyczna na poziomie istotności $\alpha=0,05$																			
	[H <sup>+</sup> ] 1	[H <sup>+</sup> ] 2	[H <sup>+</sup> ] 3	[H <sup>+</sup> ] 4	pCO <sub>2</sub> [mmHg] 1	pCO <sub>2</sub> [mmHg] 2	pCO <sub>2</sub> [mmHg] 3	pCO <sub>2</sub> [mmHg] 4	pO <sub>2</sub> [mmHg] 1	pO <sub>2</sub> [mmHg] 2	pO <sub>2</sub> [mmHg] 3	pO <sub>2</sub> [mmHg] 4	BE [mmol/l] 1	BE [mmol/l] 2	BE [mmol/l] 3	BE [mmol/l] 4	HCO <sub>3</sub> [mmol/l] 1	HCO <sub>3</sub> [mmol/l] 2	HCO <sub>3</sub> [mmol/l] 3	HCO <sub>3</sub> [mmol/l] 4
	p																			
Katalaza 1 [U/l]	0,4043	-	-	-	0,9754	-	-	-	0,2564	-	-	-	0,0978	-	-	-	0,9378	-	-	-
Katalaza 2 [U/l]	-	0,2336	-	-	-	0,7532	-	-	-	0,7681	-	-	-	0,7779	-	-	-	0,1346	-	-
Katalaza 3 [U/l]	-	-	0,4931	-	-	-	0,3303	-	-	-	0,2237	-	-	-	0,4976	-	-	-	0,9847	-
Katalaza 4 [U/l]	-	-	-	0,3374	-	-	-	<b>0,0321</b>	-	-	-	<b>0,0182</b>	-	-	-	0,9464	-	-	-	0,8779
Peroksydaza glutationowa 1 [U/l]	0,1929	-	-	-	0,7474	-	-	-	0,5019	-	-	-	0,0699	-	-	-	0,2412	-	-	-
Peroksydaza glutationowa 2 [U/l]	-	0,5143	-	-	-	0,7441	-	-	-	0,2361	-	-	-	0,8406	-	-	-	0,7928	-	-
Peroksydaza glutationowa 3 [U/l]	-	-	0,5235	-	-	-	0,8982	-	-	-	0,8175	-	-	-	0,3476	-	-	-	0,4815	-
Peroksydaza glutationowa 4 [U/l]	-	-	-	0,1747	-	-	-	0,6231	-	-	-	0,1792	-	-	-	0,8834	-	-	-	0,1426
Reduktaza glutationowa 1 [U/l]	0,8592	-	-	-	0,5609	-	-	-	0,5690	-	-	-	0,5768	-	-	-	0,2926	-	-	-
Reduktaza glutationowa 2 [U/l]	-	0,2891	-	-	-	0,7158	-	-	-	0,5456	-	-	-	0,0705	-	-	-	0,0990	-	-
Reduktaza glutationowa 3 [U/l]	-	-	0,5250	-	-	-	0,4809	-	-	-	0,1834	-	-	-	0,3079	-	-	-	0,6667	-
Reduktaza glutationowa 4 [U/l]	-	-	-	<b>0,0213</b>	-	-	-	0,1027	-	-	-	0,9564	-	-	-	0,5358	-	-	-	<b>0,0036</b>
HNE 1 [µg/ml]	0,4515				0,4508				0,6390				0,3064				0,0824			
HNE 2 [µg/ml]		0,1478				0,4586				0,7794				0,2916				0,9227		
HNE 3 [µg/ml]			0,4587				0,0787				0,09524				0,7245				0,6112	
HNE 4 [µg/ml]				0,4782				0,2932				0,1994				0,7184				0,9026

**Tabela 66.** Analiza statystyczna markerów stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu i wyników gazometrii.

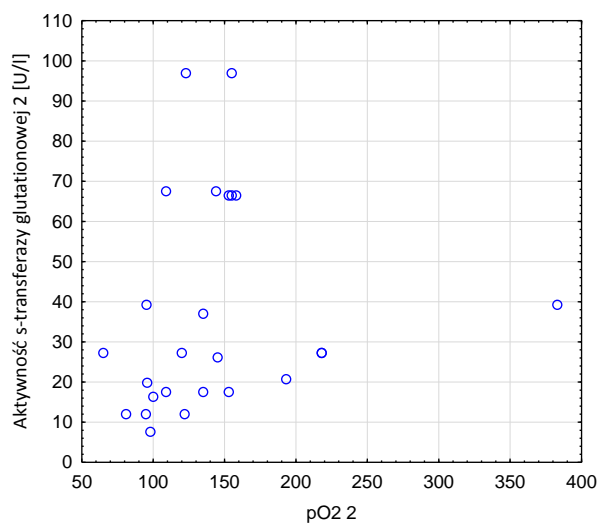
Markery stresu oksydacyjnego	Parametry równowagi kwasowo-zasadowej (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu pomiaru. Analiza statystyczna na poziomie istotności $\alpha=0,05$																			
	[H <sup>+</sup> ] 1	[H <sup>+</sup> ] 2	[H <sup>+</sup> ] 3	[H <sup>+</sup> ] 4	pCO <sub>2</sub> [mmHg] 1	pCO <sub>2</sub> [mmHg] 2	pCO <sub>2</sub> [mmHg] 3	pCO <sub>2</sub> [mmHg] 4	pO <sub>2</sub> [mmHg] 1	pO <sub>2</sub> [mmHg] 2	pO <sub>2</sub> [mmHg] 3	pO <sub>2</sub> [mmHg] 4	BE [mmol/l] 1	BE [mmol/l] 2	BE [mmol/l] 3	BE [mmol/l] 4	HCO <sub>3</sub> [mmol/l] 1	HCO <sub>3</sub> [mmol/l] 2	HCO <sub>3</sub> [mmol/l] 3	HCO <sub>3</sub> [mmol/l] 4
	p																			
TBARS 1 [μM/l]	0,7499	-	-	-	0,6191	-	-	-	0,4220	-	-	-	0,2786	-	-	-	0,5299	-	-	-
TBARS 2 [μM/l]	-	0,4017	-	-	-	0,2092	-	-	-	0,3072	-	-	-	0,9461	-	-	-	0,3707	-	-
TBARS 3 [μM/l]	-	-	0,9565	-	-	-	0,9731	-	-	-	0,3657	-	-	-	0,2052	-	-	-	0,4070	-
TBARS 4 [μM/l]	-	-	-	0,9557	-	-	-	0,8972	-	-	-	0,7013	-	-	-	0,4240	-	-	-	0,8151
S-transferaza glutationowa 1 [U/l]	0,8931	-	-	-	0,4387	-	-	-	0,5435	-	-	-	0,4549	-	-	-	0,9345	-	-	-
S-transferaza glutationowa 2 [U/l]	-	0,5142	-	-	-	0,6741	-	-	-	<b>0,0345</b>	-	-	-	0,3134	-	-	-	0,7743	-	-
S-transferaza glutationowa 3 [U/l]	-	-	0,3865	-	-	-	0,8177	-	-	-	0,5664	-	-	-	0,3998	-	-	-	0,1274	-
S-transferaza glutationowa 4 [U/l]	-	-	-	0,7168	-	-	-	0,6876	-	-	-	0,8282	-	-	-	0,8046	-	-	-	0,3614
TAC 1 [CRE]	0,7908	-	-	-	0,1759	-	-	-	0,6536	-	-	-	0,6682	-	-	-	0,7271	-	-	-
TAC 2 [CRE]		0,3358	-	-		0,4602	-	-		0,5730	-	-		0,4225	-	-		0,6063	-	-
TAC 3 [CRE]			0,7834	-			0,5657	-			-	0,7066	-	-	0,5549	-	-		0,3864	-
TAC 4 [CRE]				0,8966				0,7375			-		0,6518	-	-	-	0,9367	-	-	0,3633
Glutation 1 [μM/l]	0,9803	-	-	-	0,9532	-	-	-	0,3988	-	-	-	0,3671	-	-	-	0,8548	-	-	-
Glutation 2 [μM/l]	-	0,0665	-	-	-	0,6625	-	-	-	0,9550	-	-	-	0,3979	-	-	-	0,3205	-	-
Glutation 3 [μM/l]	-	-	0,6067	-	-	-	0,8189	-	-	-	0,5326	-	-	-	0,3287	-	-	-	0,5820	-
Glutation 4 [μM/l]	-	-	-	<b>0,0368</b>	-	-	-	0,3902	-	-	-	0,6497	-	-	-	0,7866	-	-	-	0,2022



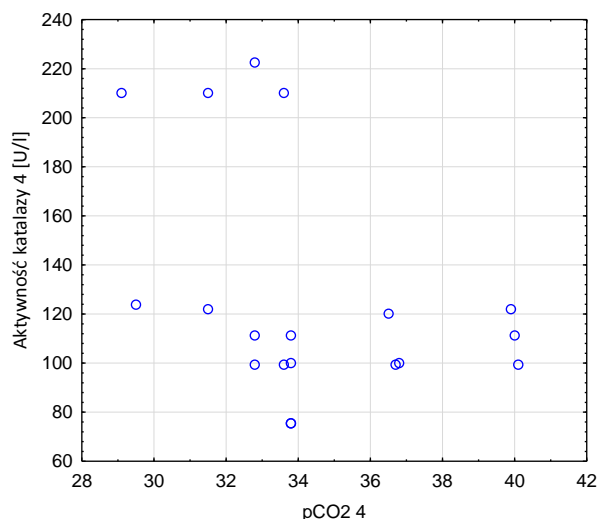
**Rycina 80.** Wykres rozrzutu dla aktywności reduktazy glutationowej w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od  $\text{HCO}_3^-$  w dniu wypisu ze szpitala.



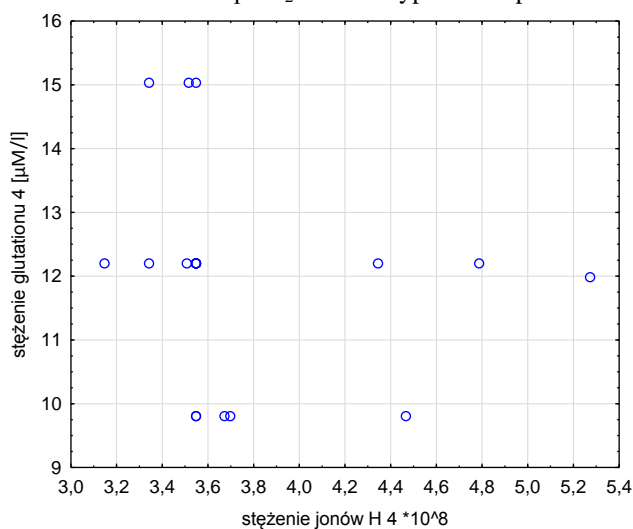
**Rycina 81.** Wykres rozrzutu dla aktywności katalazy w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od  $\text{pO}_2$  w dniu wypisu ze szpitala.



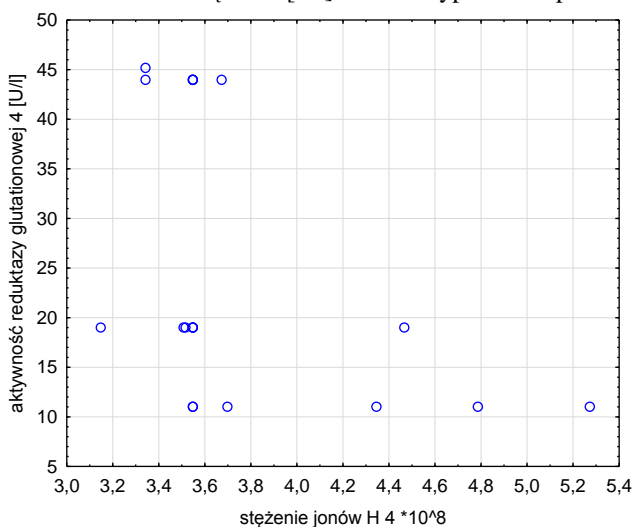
**Rycina 82.** Wykres rozrzutu dla aktywności S-transferazy glutationowej w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od  $\text{pO}_2$  po podaniu odtrutki/przeprowadzeniu hemodializy.



**Rycina 83.** Wykres rozrzutu dla aktywności katalazy w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od pCO<sub>2</sub> w dniu wypisu ze szpitala.



**Rycina 84.** Wykres rozrzutu dla stężenia glutatonu w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od stężenia [H<sup>+</sup>] w dniu wypisu ze szpitala.



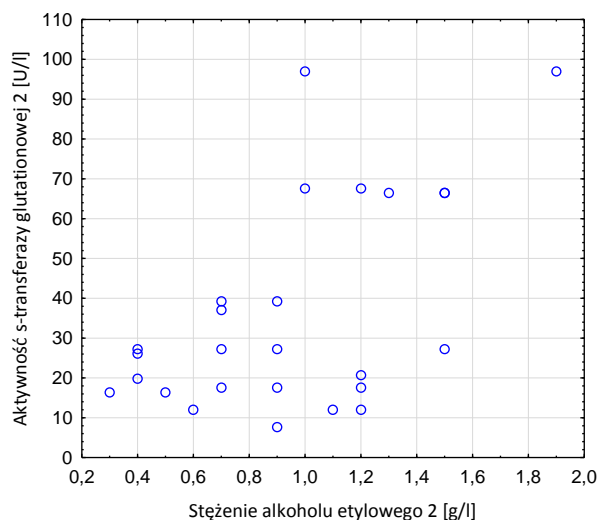
**Rycina 85.** Wykres rozrzutu dla aktywności reduktazy glutationowej w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od stężenia [H<sup>+</sup>] w dniu wypisu ze szpitala.

**Tabela 67.** Analiza statystyczna markerów stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu i stężenia alkoholu etylowego.

Markery stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych	Istotność statystyczna pomiarów stężenia alkoholu etylowego [g/l] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu pomiaru. n=26			
	P			
	Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 1	Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 2	Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 3	Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 4
<b>Katalaza 1 [U/l]</b>	0,7427	-	-	-
<b>Katalaza 2 [U/l]</b>	-	0,7995	-	-
<b>Katalaza 3 [U/l]</b>	-	-	0,5977	-
<b>Katalaza 4 [U/l]</b>	-	-	-	-
<b>Peroksydaza glutationowa 1 [U/l]</b>	0,6956	-	-	-
<b>Peroksydaza glutationowa 2 [U/l]</b>	-	0,6145	-	-
<b>Peroksydaza glutationowa 3 [U/l]</b>	-	-	0,7355	-
<b>Peroksydaza glutationowa 4 [U/l]</b>	-	-	-	-
<b>Reduktaza glutationowa 1 [U/l]</b>	0,4854	-	-	-
<b>Reduktaza glutationowa 2 [U/l]</b>	-	0,9618	-	-
<b>Reduktaza glutationowa 3 [U/l]</b>	-	-	0,3904	-
<b>Reduktaza glutationowa 4 [U/l]</b>	-	-	-	-
<b>HNE 1 [µg/ml]</b>	0,7394	-	-	-
<b>HNE 2 [µg/ml]</b>	-	0,1302	-	-
<b>HNE 3 [µg/ml]</b>	-	-	0,2436	-
<b>HNE 4 [µg/ml]</b>	-	-	-	-

**Tabela 68.** Analiza statystyczna markerów stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu i stężenia alkoholu etylowego.

Markery stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych	Istotność statystyczna pomiarów stężenia alkoholu etylowego [g/l] (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu pomiaru. Analiza statystyczna na poziomie istotności $\alpha=0,05$			
	p			
	Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 1	Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 2	Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 3	Stężenie alkoholu etylowego [g/l] 4
TBARS 1 [ $\mu$ M/l]	0,5429	-	-	-
TBARS 2 [ $\mu$ M/l]	-	0,1277	-	-
TBARS 3 [ $\mu$ M/l]	-	-	-	-
TBARS 4 [ $\mu$ M/l]	-	-	0,9642	-
S-transferaza glutationowa 1 [U/l]	0,3010	-	-	-
S-transferaza glutationowa 2 [U/l]	-	<b>0,0292</b>	-	-
S-transferaza glutationowa 3 [U/l]	-	-	0,2745	-
S-transferaza glutationowa 4 [U/l]	-	-	-	-
TAC 1 [CRE]	0,8618	-	-	-
TAC 2 [CRE]	-	0,3088	-	-
TAC 3 [CRE]	-	-	0,3059	-
TAC 4 [CRE]	-	-	-	-
Glutation 1 [ $\mu$ M/l]	0,2044	-	-	-
Glutation 2 [ $\mu$ M/l]	-	0,7781	-	-
Glutation 3 [ $\mu$ M/l]	-	-	0,7359	-
Glutation 4 [ $\mu$ M/l]	-	-	-	-



**Rycina 86.** Wykres rozrzutu dla aktywności S-transferazy glutationowej w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od stężenia alkoholu etylowego po podaniu odtrutki/przeprowadzeniu hemodializy.

### 5.3.5. Ocena wpływu stężenia glikolu etylenowego i alkoholu etylowego oraz zaburzeń biochemicznych i równowagi kwasowo-zasadowej na markery stresu oksydacyjnego u pacjentów monitorowanych w trakcie hospitalizacji (grupa A1a) w porównaniu do grupy kontrolnej

Ostatnim etapem badań obejmujących podsumowanie wyników w grupie pacjentów monitorowanych w trakcie hospitalizacji było porównanie ich do grupy kontrolnej. Otrzymane wyniki czterokrotnych pomiarów w krwi pacjentów porównano z tożsamymi wynikami grupy kontrolnej (Tab. 69-71). Wyjątek stanowił pomiar gazometrii (czyt. str. 80).

Porównując oceniane parametry toksykologiczne i biochemiczne w grupie pacjentów zatrutych z grupą kontrolną istotne różnice stwierdzono w stężeniach glikolu etylenowego, alkoholu etylowego, kreatyniny i mocznika oraz aktywnościach ALT i AST. Średnie stężenie glikolu etylenowego w grupie badanej wynosiło  $0,95 \pm 0,96$  g/l, przy ujemnych wartościach w grupie kontrolnej (Tab. 69). Podobną zależność stwierdzono w odniesieniu do stężenia alkoholu etylowego (Ryc. 87-90). Porównując stężenia kreatyniny stwierdzono istotny wzrost tego parametru. Średnie stężenie kreatyniny w kolejnych pomiarach w grupie badanej wynosiły odpowiednio rozpoczynając od przyjęcia pacjenta do szpitala:  $3,33 \pm 4,68$  mg/dl; i w kolejnych pomiarach:  $4,09 \pm 2,53$  mg/dl;  $5,57 \pm 2,66$  mg/dl;  $3,22 \pm 1,81$  mg/dl i były istotnie wyższe o ok. 4-7 krotnie niż w grupie kontrolnej ( $0,83 \pm 0,37$  mg/dl) (Tab. 70 Ryc. 91-94).

Podobnie stężenia mocznika były istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej ( $16,80 \pm 0,37$  mg/dl). Średnie stężenie mocznika w kolejnych punktach pomiarowych w grupie badanej wynosiło odpowiednio, rozpoczynając od przyjęcia pacjenta do szpitala:  $32,06 \pm 19,46$  mg/dl;  $47,54 \pm 32,99$  mg/dl;  $65,90 \pm 52,16$  mg/dl;  $42,94 \pm 30,50$  mg/dl i było o ok. 2-4 krotnie wyższe niż w grupie kontrolnej ( $16,80 \pm 7,48$  mg/dl) (Ryc. 95-98). Średnie aktywności ALT w kolejnych pomiarach w grupie badanej wynosiły odpowiednio:  $57,92 \pm 42,94$  U/l;  $77,43 \pm 60,83$  U/l;  $62,72 \pm 49,21$  U/l;  $53,11 \pm 30,71$  U/l i były istotnie wyższe (o ok. 2-4 krotnie) od aktywności tego enzymu w grupie kontrolnej ( $25,40 \pm 10,41$  mg/dl) (Ryc. 99-102). Średnie aktywności AST w kolejnych pomiarach w grupie badanej wynosiły odpowiednio:  $106,80 \pm 181,09$  U/l;  $123,95 \pm 151,68$  U/l;  $100,68 \pm 161,24$  U/l;  $36,44 \pm 16,56$  U/l i były istotnie wyższe (o ok. 5-6 krotnie) od aktywności tego enzymu w grupie kontrolnej ( $29,27 \pm 8,23$  mg/dl) (Ryc. 103-105). Brak istotnych różnic w aktywności AST w porównaniu do kontroli wykazano w dniu wypisu, gdzie wartości enzymu były zbliżone do tych otrzymanych w grupie osób zdrowych.

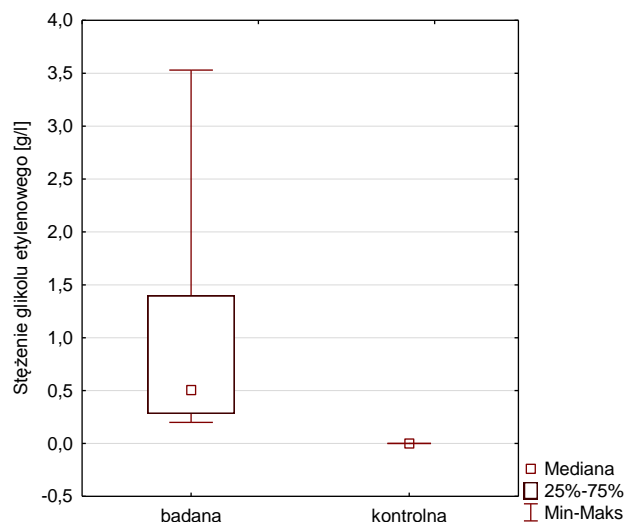
Kluczowym wydaje się porównanie wybranych markerów stresu oksydacyjnego w obu grupach (Tab. 71). Różnice we wszystkich pomiarach w porównaniu do osób zdrowych stwierdzono w aktywnościach CAT, GPx, GR oraz w stężeniach HNE i glutationu (Ryc. 106-133). Porównując aktywności CAT w grupie badanej i kontrolnej, stwierdzono istotne różnice we wszystkich pomiarach. Średnie aktywności CAT w kolejnych punktach pomiarowych w grupie badanej wynosiły odpowiednio, rozpoczynając od przyjęcia pacjenta do szpitala:  $418,45 \pm 257,70$  U/l;  $402,39 \pm 257,11$  U/l;  $188,96 \pm 117,25$  U/l;  $129,78 \pm 54,41$  U/l i były kilkukrotnie wyższe w porównaniu do grupie kontrolnej ( $57,79 \pm 17,68$  U/l). Porównując aktywności GPx w grupie badanej i kontrolnej, stwierdzone istotne różnice we wszystkich pomiarach. Średnie aktywności GPx w kolejnych punktach pomiarowych w grupie badanej wynosiły odpowiednio, rozpoczynając od przyjęcia pacjenta do szpitala:  $140,03 \pm 93,53$  U/l;  $128,86 \pm 47,34$  U/l;  $172,53 \pm 25,12$  U/l;  $194,60 \pm 21,49$  U/l i były niższe odpowiednio o około 30%, 35%, 12% i 1% w porównaniu do grupie kontrolnej ( $195,75 \pm 17,68$  U/l). Porównując aktywności GR w grupie badanej i kontrolnej, stwierdzono istotne różnice we wszystkich pomiarach. Średnie aktywności GR w kolejnych punktach pomiarowych w grupie badanej wynosiły odpowiednio, rozpoczynając od przyjęcia pacjenta do szpitala:  $114,76 \pm 62,04$  U/l;  $65,93 \pm 31,93$  U/l;  $38,70 \pm 21,28$  U/l;  $25,24 \pm 14,40$  U/l i były wyższe początkowo odpowiednio o około 86%, 6%, i niższe kolejno o 40% i 60% w porównaniu do grupie kontrolnej ( $61,52 \pm 4,96$  U/l).



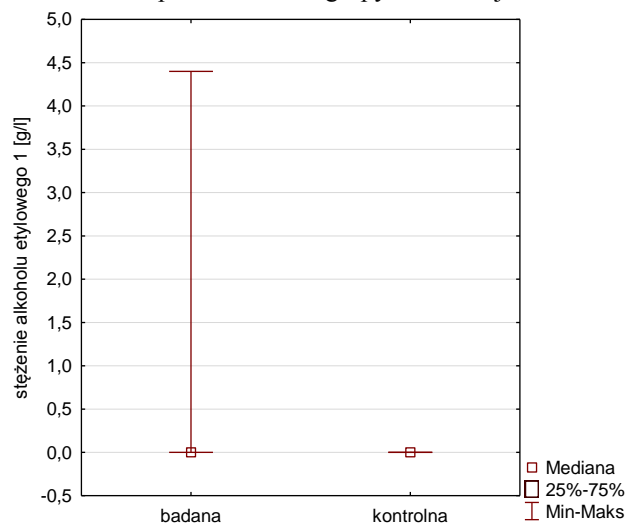
Porównując stężenie HNE w grupie badanej i kontrolnej, stwierdzone istotne różnice we wszystkich pomiarach z czterech wykonanych. Średnie stężenie HNE w kolejnych punktach pomiarowych w grupie badanej wynosiło odpowiednio, rozpoczynając od przyjęcia pacjenta do szpitala:  $6,08 \pm 2,13 \mu\text{g/ml}$ ;  $10,33 \pm 0,87 \mu\text{g/ml}$ ;  $1,67 \pm 0,15 \mu\text{g/ml}$ ;  $6,84 \pm 3,34 \mu\text{g/ml}$  i były odpowiednio wyższe o ponad 100% w chwili przyjęcia, następnie 230%, po czym nastąpiło obniżenie o 44% w porównaniu do grupy kontrolnej ( $2,99 \pm 0,65 \mu\text{g/ml}$ ). W ostatnim punkcie pomiarowym, wzrost w grupie badanej wynosił ponad 120% w porównaniu do grupy kontrolnej. Porównując wartości TBARS w grupie badanej i kontrolnej, istotne różnice stwierdzono tylko w trzech pomiarach, z czterech wykonanych. Średnie poziomy TBARS w kolejnych punktach pomiarowych w grupie badanej wynosiły odpowiednio, rozpoczynając od przyjęcia pacjenta do szpitala:  $4,35 \pm 2,13 \mu\text{M/l}$ ;  $1,68 \pm 0,17 \mu\text{M/l}$ ;  $9,97 \pm 1,77 \mu\text{M/l}$ ;  $54,34 \pm 11,59 \mu\text{M/l}$  i były odpowiednio wyższe o 31% w chwili przyjęcia, następnie obniżyły się o 50%, po czym wzrosły ponad dwukrotnie w porównaniu do grupy kontrolnej. W ostatnim punkcie pomiarowym, wzrost w grupie badanej był kilkudziesięciokrotny. Nie stwierdzono wpływu podania odtrutki na aktywność GST. W chwili przyjęcia i w dniu wypisu w grupie badanej GST było o 2 do 4% wyższe niż w grupie kontrolnej. Porównując wartości TAC w grupie badanej i kontrolnej, stwierdzono istotne różnice tylko po podaniu odtrutki i w dniu wypisu ze szpitala. Średnie wartości TAC w kolejnych punktach pomiarowych w grupie badanej wynosiły odpowiednio, rozpoczynając od przyjęcia pacjenta do szpitala:  $924,17 \pm 387,14$ ;  $441,28 \pm 189,74$ ;  $919,48 \pm 385,21$ ;  $913,72 \pm 354,13$ ; i były odpowiednio niższe przy drugim pomiarze o ponad 40% w porównaniu do grupy kontrolnej ( $877,50 \pm 335,38$ ). Porównując stężenie glutationu w grupie badanej i kontrolnej, stwierdzono istotne różnice we wszystkich pomiarach z czterech wykonanych. Średnie stężenie glutationu w kolejnych punktach pomiarowych w grupie badanej wynosiło odpowiednio, rozpoczynając od przyjęcia pacjenta do szpitala:  $6,92 \pm 0,99 \mu\text{M/l}$ ;  $12,42 \pm 2,15 \mu\text{M/l}$ ;  $12,59 \pm 2,15 \mu\text{M/l}$ ;  $12,59 \pm 2,08 \mu\text{M/l}$  i były odpowiednio niższe o ponad 60% w chwili przyjęcia, następnie było zbliżone do wartości z grupy kontrolnej ( $14,61 \pm 0,89 \mu\text{M/l}$ ).

**Tabela 69.** Wiek i wyniki badań toksykologicznych (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych i grupie kontrolnej.

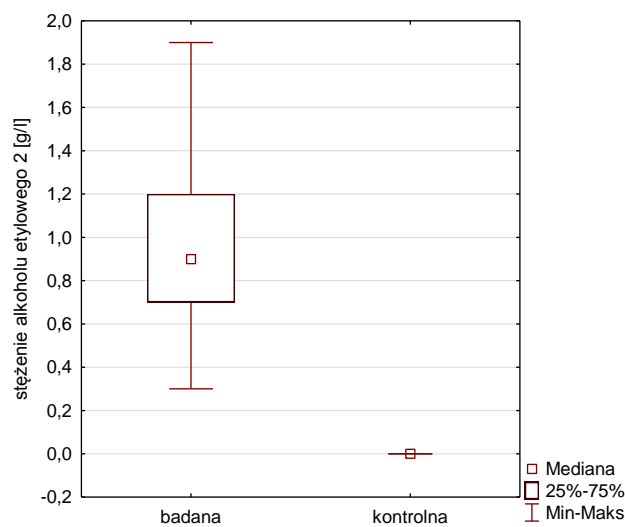
Parametry toksykologiczne monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych	Parametry oceny statystycznej grupy A1a na poziomie istotności $\alpha=0,05$					Parametry oceny statystycznej grupy kontrolnej na poziomie istotności $\alpha=0,05$					p
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
Wiek [lata]	50,54	11,06	50,50	43,00	56,00	47,47	14,45	53,00	37,00	58,00	0,8653
Stężenie glikolu etylenowego 1 [g/l]	0,95	0,96	0,50	0,28	1,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>&lt;0,0001</b>
Stężenie glikolu etylenowego 2 [g/l]	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00						
Stężenie alkoholu etylowego 1 [g/l]	0,27	0,88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>&lt;0,0001</b>
Stężenie alkoholu etylowego 2 [g/l]	0,95	0,41	0,90	0,70	1,20						
Stężenie alkoholu etylowego 3 [g/l]	0,16	0,16	0,02	0,00	0,30						
Stężenie alkoholu etylowego 4 [g/l]	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00						



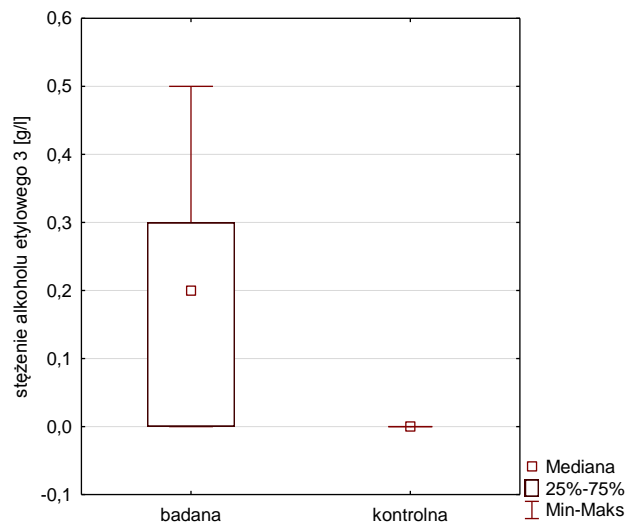
**Rycina 87.** Wykres ramkowy mediany stężenia glikolu etylenowego zmierzonego przy przyjęciu do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



**Rycina 88.** Wykres ramkowy mediany stężenia alkoholu etylowego zmierzonego przy przyjęciu do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



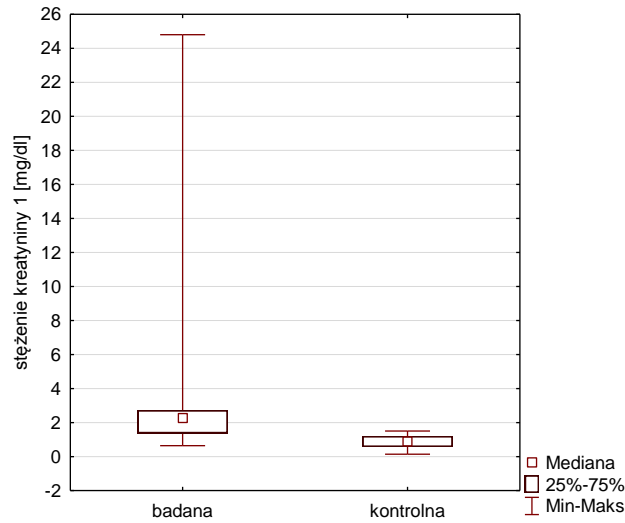
**Rycina 89.** Wykres ramkowy mediany stężenia alkoholu etylowego zmierzonego po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej.



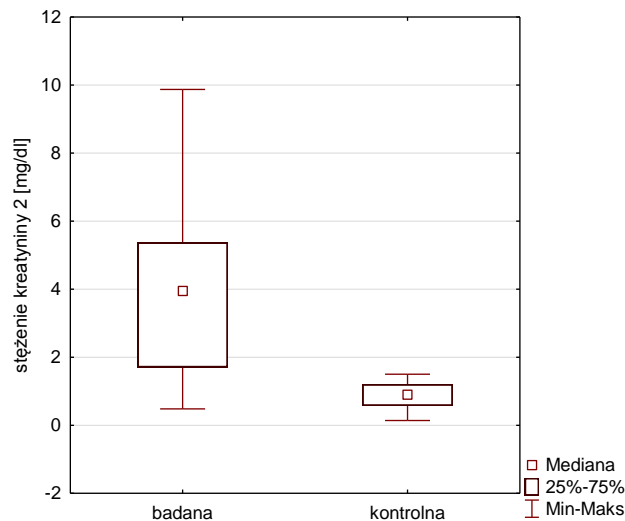
**Rycina 90.** Wykres ramkowy mediany stężenia alkoholu etylowego zmierzonego między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej.

Tabela 70. Parametry biochemiczne (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych i grupie kontrolnej.

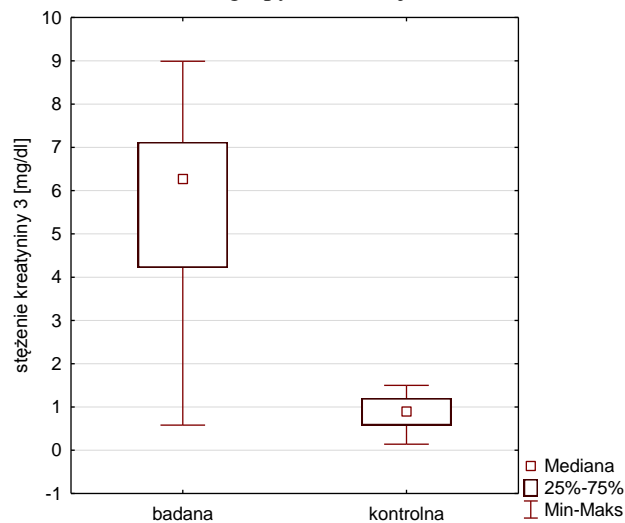
Parametry biochemiczne monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych	Parametry oceny statystycznej grupy A1a na poziomie istotności $\alpha=0,05$					Parametry oceny statystycznej grupy kontrolnej na poziomie istotności $\alpha=0,05$					p
	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{x}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
Kreatynina 1 [mg/dl]	3,33	4,68	2,27	1,38	2,72	0,83	0,37	0,90	0,58	1,20	<0,0001
Kreatynina 2 [mg/dl]	4,09	2,53	3,95	1,71	5,37						
Kreatynina 3 [mg/dl]	5,57	2,66	6,27	4,22	7,12						
Kreatynina 4 [mg/dl]	3,22	1,81	3,63	1,49	4,50						
Mocznik 1 [mg/dl]	32,06	19,46	24,00	1,31	46,00	16,80	7,48	15,00	11,00	24,00	<0,0001
Mocznik 2 [mg/dl]	47,54	32,99	41,00	21,50	78,00						
Mocznik 3 [mg/dl]	65,90	52,16	59,00	15,00	106,00						
Mocznik 4 [mg/dl]	42,94	30,50	43,00	15,00	56,00						
ALT 1 [U/l]	57,92	42,94	43,00	24,00	67,00	25,40	10,41	27,00	15,00	34,00	<0,0001
ALT 2 [U/l]	77,43	60,83	50,00	25,00	143,00						
ALT 3 [U/l]	62,72	49,21	37,50	26,00	112,00						
ALT 4 [U/l]	53,11	30,71	44,00	28,00	78,00						
AST 1 [U/l]	106,80	181,09	50,00	37,00	76,00	29,27	8,23	29,00	25,00	34,00	<0,0001
AST 2 [U/l]	123,95	151,68	74,00	42,00	180,00						<0,0001
AST 3 [U/l]	100,68	161,24	53,00	37,50	95,00						<0,0001
AST 4 [U/l]	36,44	16,56	33,00	22,50	47,00						0,0940



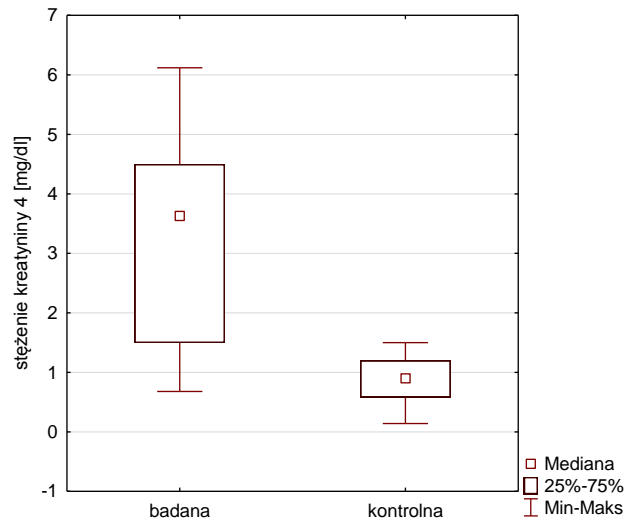
**Rycina 91.** Wykres ramkowy mediany stężenia kreatyniny zmierzonej przy przyjęciu do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



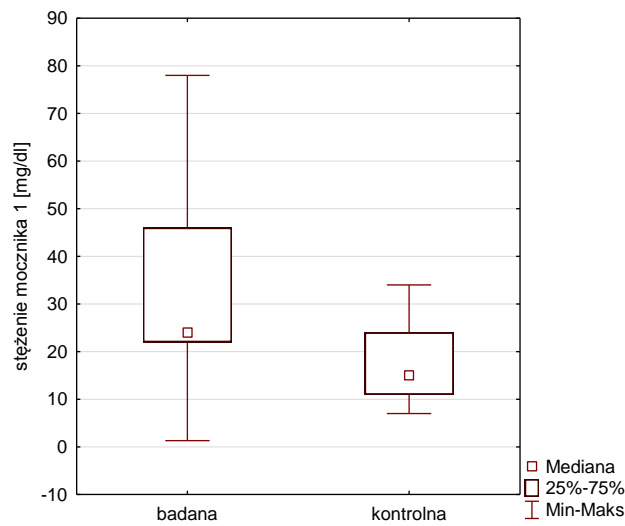
**Rycina 92.** Wykres ramkowy mediany stężenia kreatyniny zmierzonej po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej.



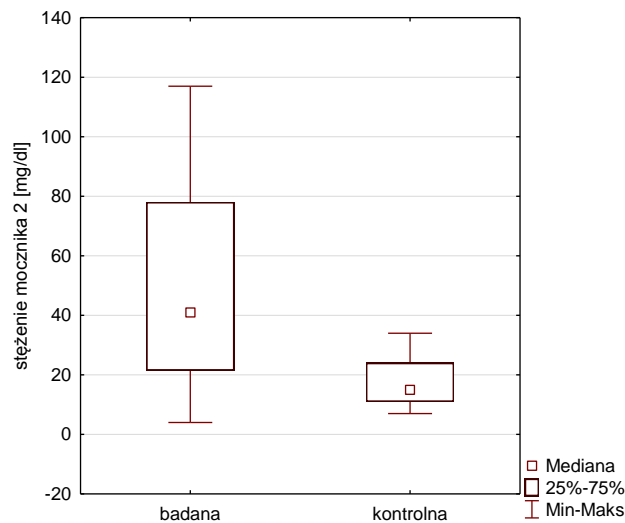
**Rycina 93.** Wykres ramkowy mediany stężenia kreatyniny zmierzonej między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej.



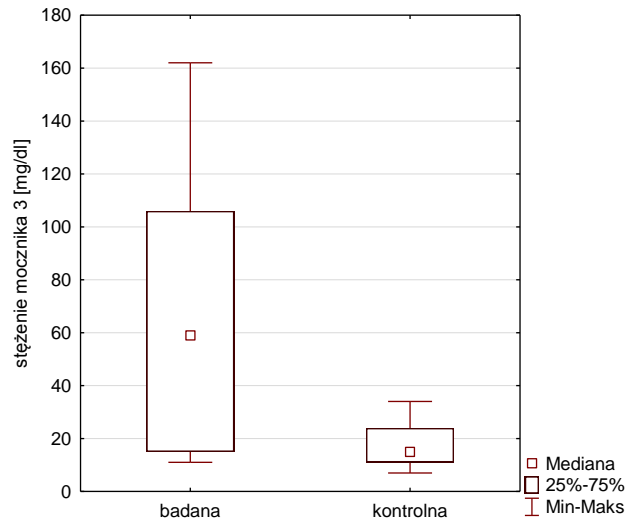
**Rycina 94.** Wykres ramkowy mediany stężenia kreatyniny zmierzonej w dniu wypisu pacjentów ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



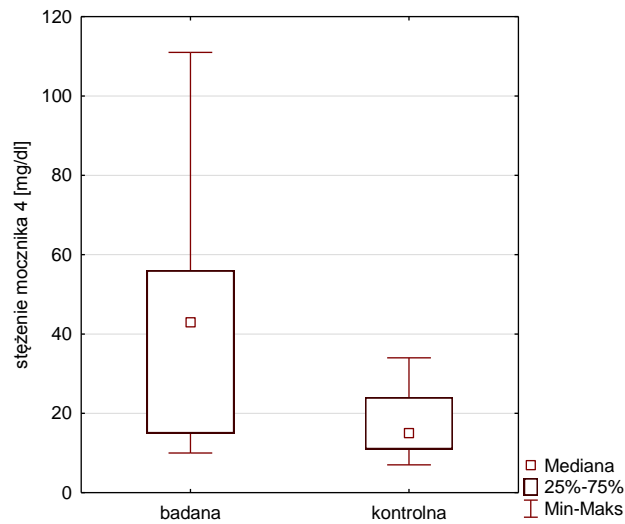
**Rycina 95.** Wykres ramkowy mediany stężenia mocznika zmierzonego w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



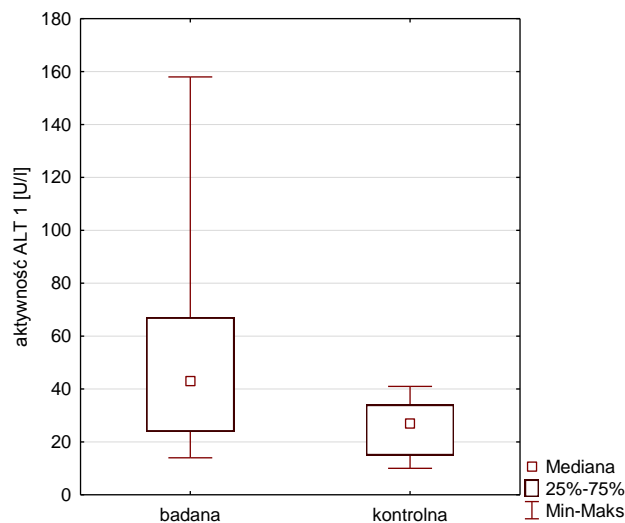
**Rycina 96.** Wykres ramkowy mediany stężenia mocznika zmierzonego po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej.



**Rycina 97.** Wykres ramkowy mediany stężenia mocznika zmierzonego między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej.

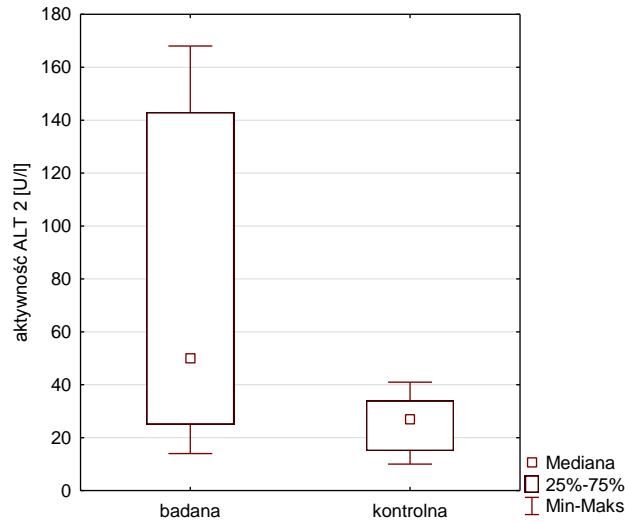


**Rycina 98.** Wykres ramkowy mediany stężenia mocznika zmierzonego w dniu wypisu pacjentów ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.

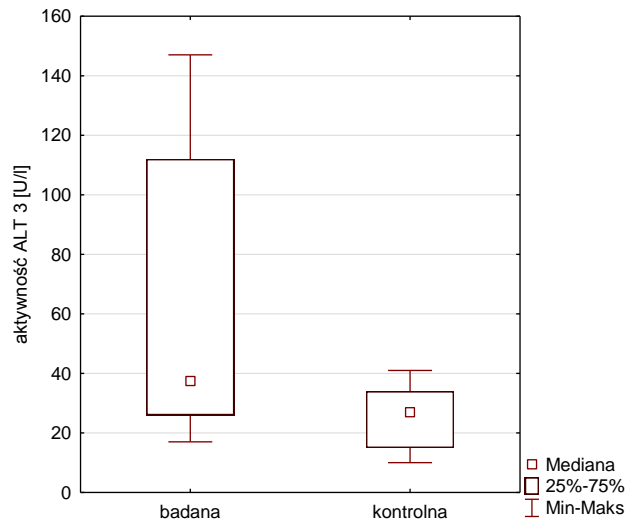


**Rycina 99.** Wykres ramkowy mediany aktywności ALT zmierzonej w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.

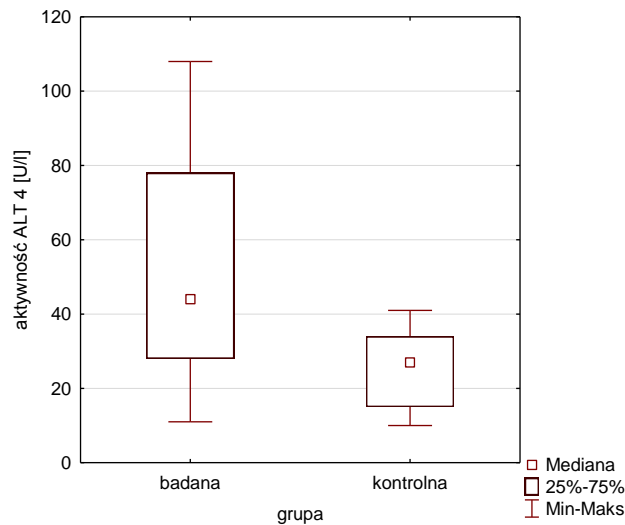




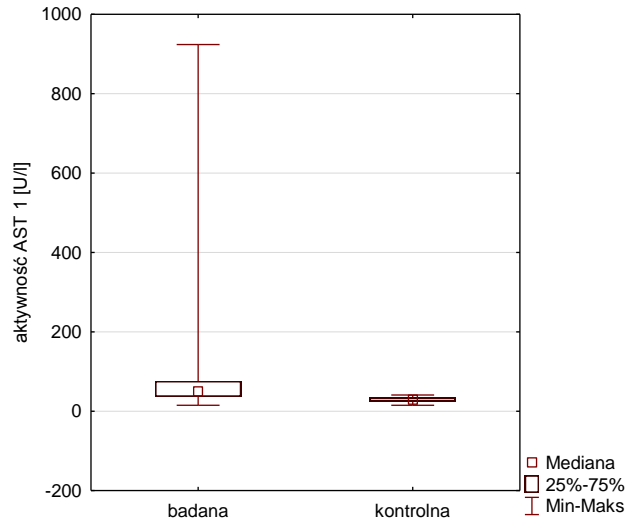
**Rycina 100.** Wykres ramkowy mediany aktywności ALT zmierzonej po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej.



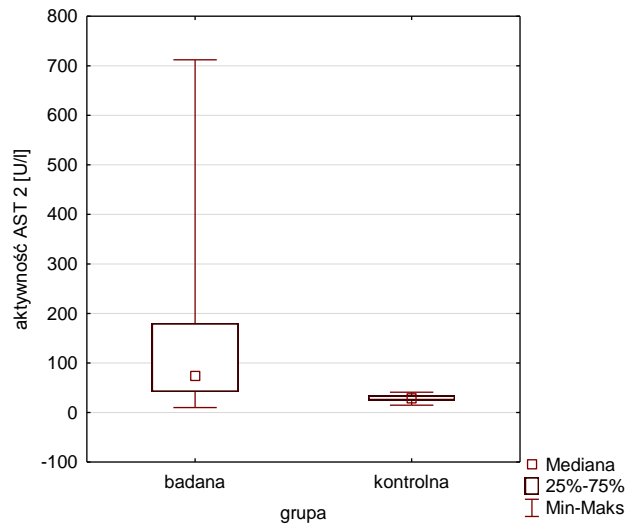
**Rycina 101.** Wykres ramkowy mediany aktywności ALT zmierzonej między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej.



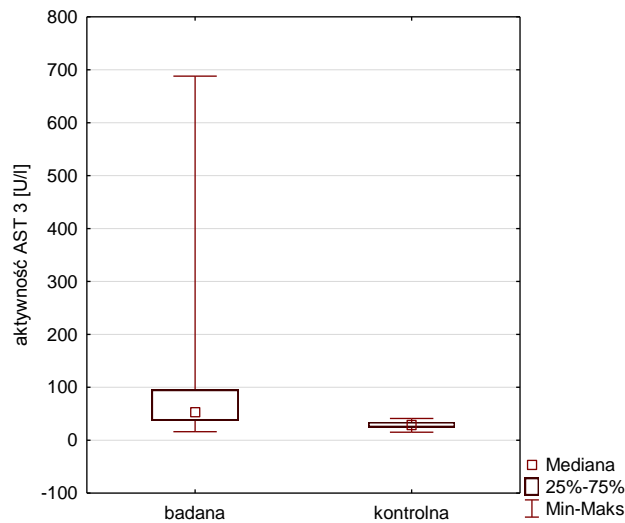
**Rycina 102.** Wykres ramkowy mediany aktywności ALT zmierzonej w dniu wypisu pacjentów ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



**Rycina 103.** Wykres ramkowy mediany aktywności AST zmierzonej w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



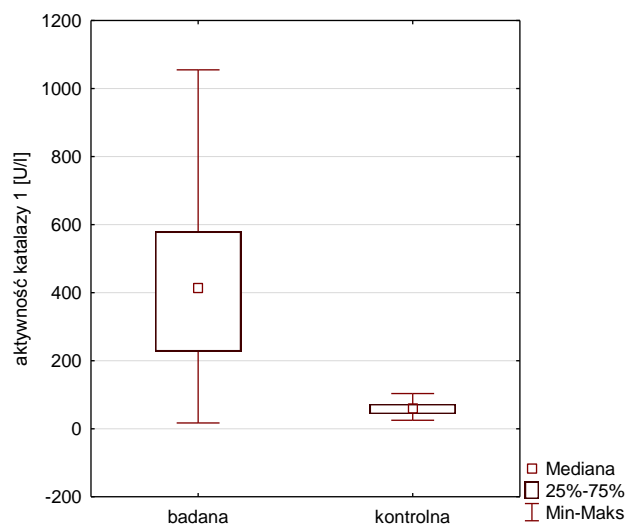
**Rycina 104.** Wykres ramkowy mediany aktywności AST zmierzonej po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej.



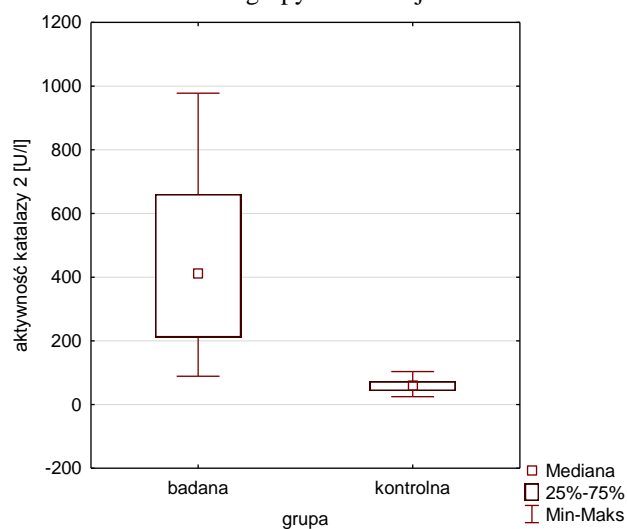
**Rycina 105.** Wykres ramkowy mediany aktywności AST zmierzonej między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej.

**Tabela 71.** Markery stresu oksydacyjnego (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych i grupie kontrolnej.

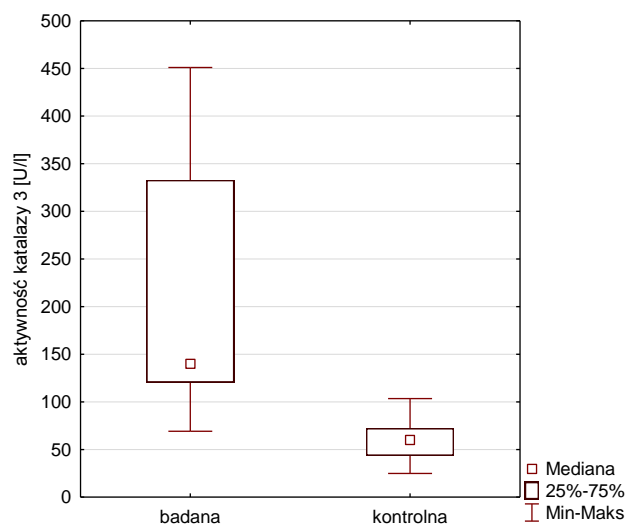
Markery stresu oksydacyjnego monitorowane w grupie pacjentów A1a w określonych punktach czasowych	Parametry oceny statystycznej w grupie badanej na poziomie istotności $\alpha=0,05$					Parametry oceny statystycznej w grupie kontrolnej na poziomie istotności $\alpha=0,05$					p
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	$\bar{X}$	SD	Mediana	Q 25	Q 75	
Katalaza 1 [U/l]	418,45	257,70	413,79	227,59	579,31	59,79	17,68	60,00	43,45	72,41	<0,0001
Katalaza 2 [U/l]	402,39	257,11	412,20	211,10	660,30						
Katalaza 3 [U/l]	188,96	117,25	140,05	120,40	333,00						
Katalaza 4 [U/l]	129,78	54,41	111,20	99,40	210,10						
Peroksydaza glutationowa 1 [U/l]	140,03	93,53	108,09	59,72	196,84	195,75	11,56	199,36	187,59	203,57	<0,0001
Peroksydaza glutationowa 2 [U/l]	128,86	47,34	90,21	90,21	180,10						
Peroksydaza glutationowa 3 [U/l]	172,53	25,12	170,50	168,00	178,50						
Peroksydaza glutationowa 4 [U/l]	194,60	21,49	198,00	190,00	210,20						
Reduktaza glutationowa 1 [U/l]	114,76	62,04	73,10	63,93	181,09	61,52	4,96	62,48	60,06	63,25	<0,0001
Reduktaza glutationowa 2 [U/l]	65,93	31,93	47,00	46,00	85,00						
Reduktaza glutationowa 3 [U/l]	38,70	21,28	42,00	12,00	52,00						
Reduktaza glutationowa 4 [U/l]	25,24	14,40	19,00	11,00	44,00						
HNE 1 [µg/ml]	6,08	2,13	6,83	3,92	7,97	2,99	0,65	3,02	2,42	3,51	<0,0001
HNE 2 [µg/ml]	10,33	0,87	10,05	9,77	11,28						
HNE 3 [µg/ml]	1,67	0,15	1,62	1,55	1,74						
HNE 4 [µg/ml]	6,82	3,34	7,16	3,49	9,88						
TBARS 1 [µM/l]	4,35	2,13	4,21	2,27	5,66	3,32	0,49	3,29	3,03	3,69	0,1319
TBARS 2 [µM/l]	1,68	0,17	1,62	1,56	1,75						<0,0001
TBARS 3 [µM/l]	9,97	1,77	9,96	9,73	10,44						<0,0001
TBARS 4 [µM/l]	54,34	11,59	54,67	53,44	57,22						<0,0001
S-transferaza glutationowa 1 [U/l]	34,09	28,24	25,06	14,16	39,22	33,48	8,37	34,19	24,96	36,90	<0,0483
S-transferaza glutationowa 2 [U/l]	36,48	26,42	27,24	17,54	66,46						0,2572
S-transferaza glutationowa 3 [U/l]	26,64	21,62	22,33	15,04	27,24						<0,0001
S-transferaza glutationowa 4 [U/l]	32,79	31,83	17,54	12,20	37,04						<0,0001
TAC 1 [CRE]	924,17	387,14	981,05	695,10	1089,14	877,50	335,38	863,30	798,00	993,20	0,2472
TAC 2 [CRE]	441,28	189,74	413,70	377,50	66,30						<0,0001
TAC 3 [CRE]	919,48	385,21	948,30	752,12	1089,40						0,2472
TAC 4 [CRE]	913,72	354,13	998,42	857,70	1089,40						0,0136
Glutation 1 [µM/l]	6,92	0,99	6,54	6,13	8,28	14,61	0,89	14,30	13,98	14,73	<0,0001
Glutation 2 [µM/l]	12,42	2,15	12,20	9,81	15,03						
Glutation 3 [µM/l]	12,59	2,26	12,20	11,98	15,04						
Glutation 4 [µM/l]	12,29	2,08	12,20	9,81	12,2						



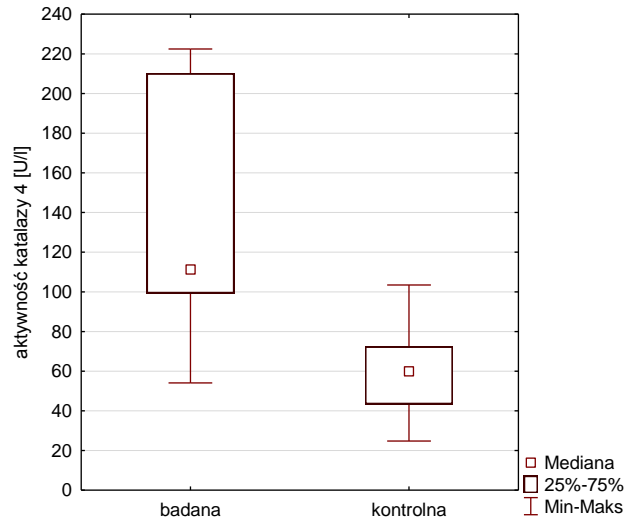
**Rycina 106.** Wykres ramkowy mediany aktywności CAT zmierzonej w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



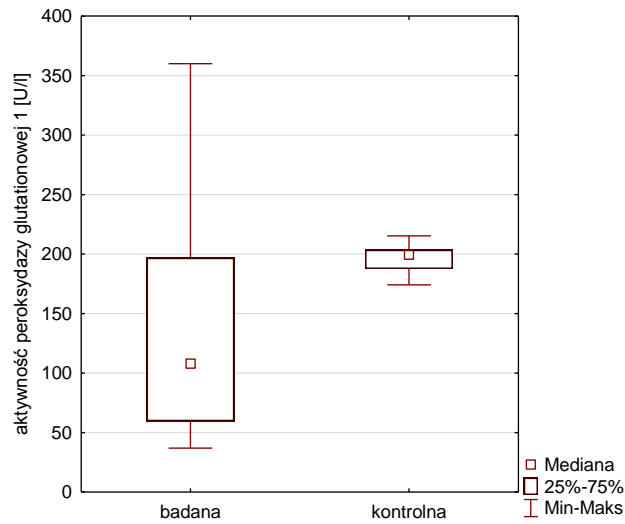
**Rycina 107.** Wykres ramkowy mediany aktywności CAT zmierzonej po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej.



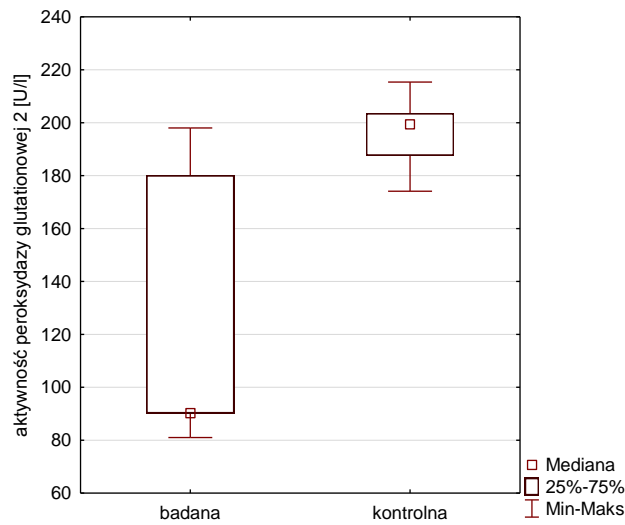
**Rycina 108.** Wykres ramkowy mediany aktywności CAT zmierzonej między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej.



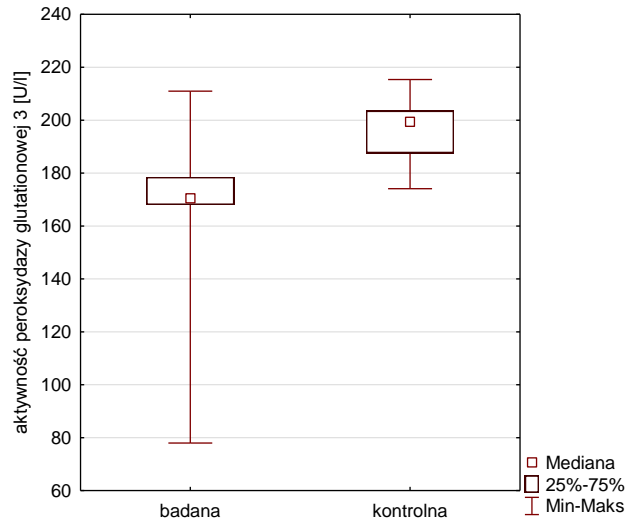
**Rycina 109.** Wykres ramkowy mediany aktywności CAT zmierzony w dniu wypisu ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



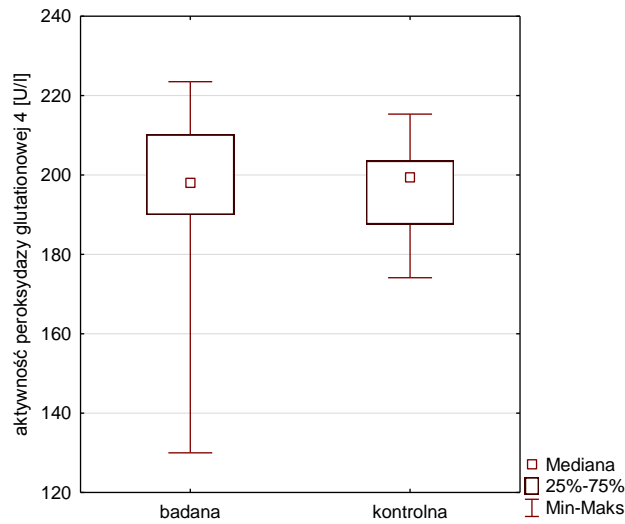
**Rycina 110.** Wykres ramkowy mediany aktywności GPx zmierzony w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



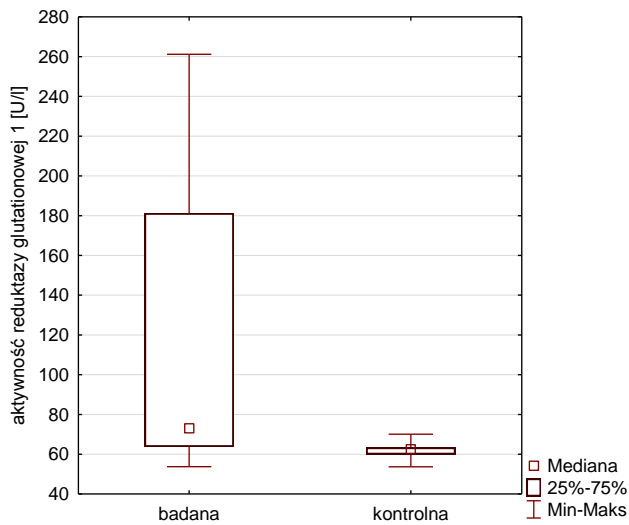
**Rycina 111.** Wykres ramkowy mediany aktywności GPx zmierzony po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej.



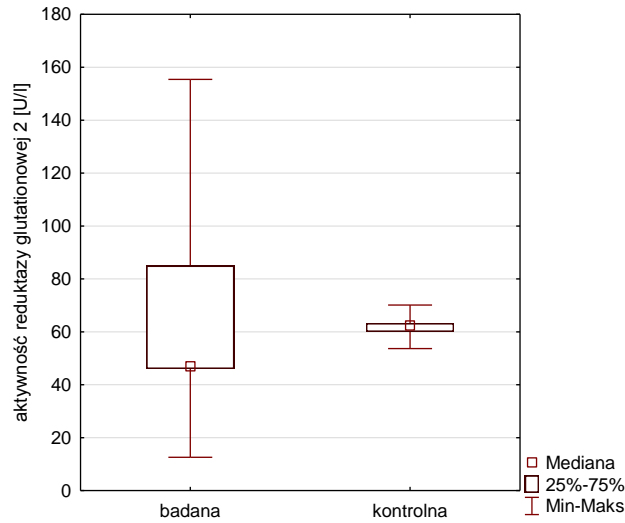
**Rycina 112.** Wykres ramkowy mediany aktywności GPx zmierzonej między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej.



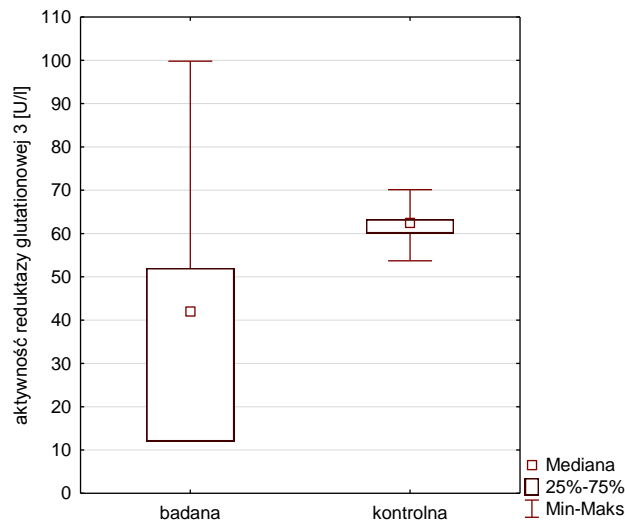
**Rycina 113.** Wykres ramkowy mediany aktywności GPx zmierzonej w dniu wypisu ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



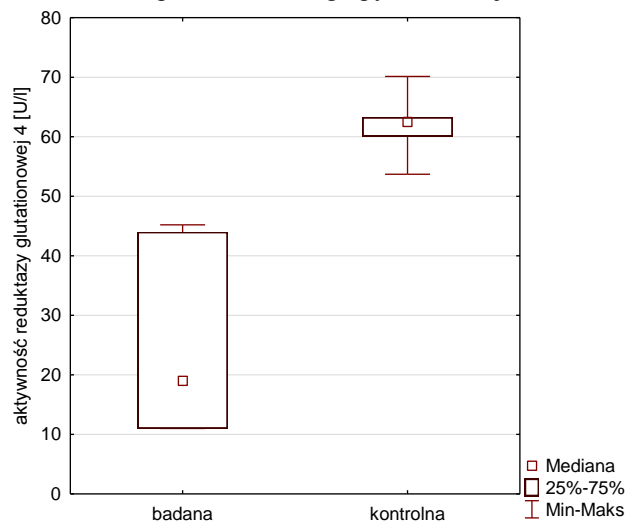
**Rycina 114.** Wykres ramkowy mediany aktywności GR zmierzonej w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



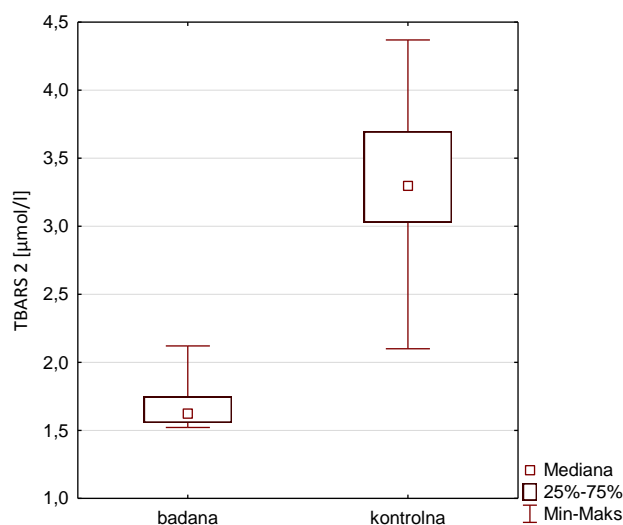
**Rycina 115.** Wykres ramkowy mediany aktywności GR zmierzonej po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej.



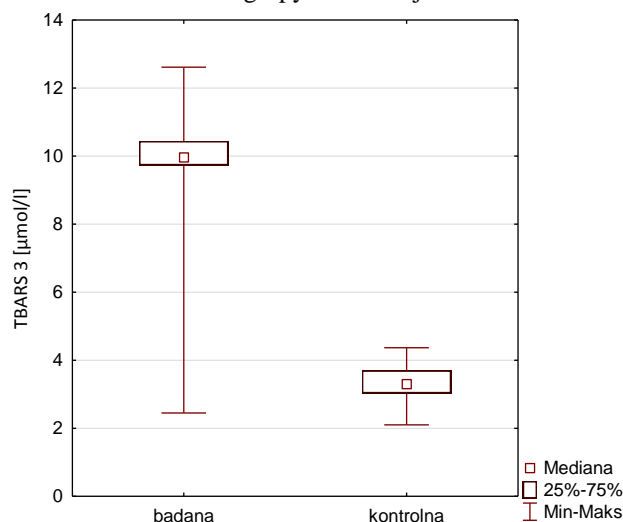
**Rycina 116.** Wykres ramkowy mediany aktywności GR zmierzonej między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej.



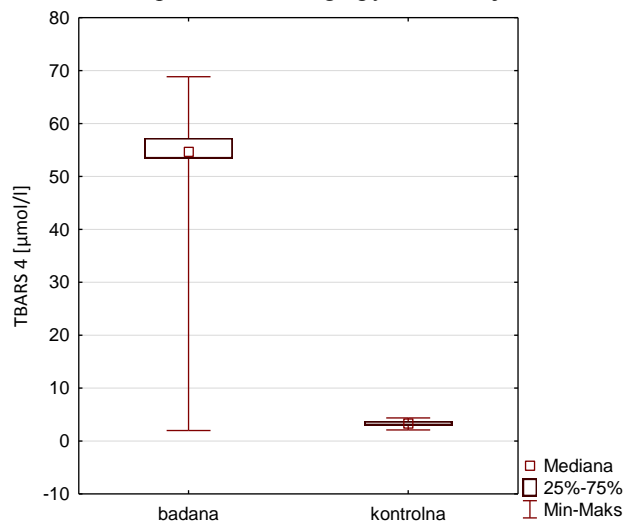
**Rycina 117.** Wykres ramkowy mediany aktywności GR zmierzonej w dniu wypisu ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



**Rycina 118.** Wykres ramkowy mediany poziomu TBARS zmierzonego po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej.

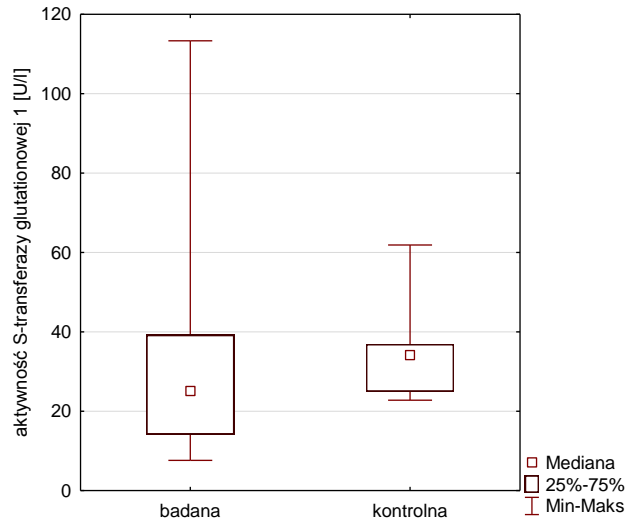


**Rycina 119.** Wykres ramkowy mediany poziomu TBARS zmierzonego między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej.

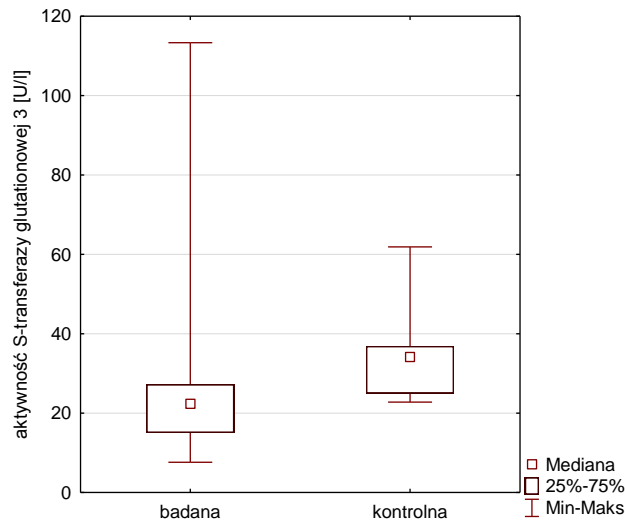


**Rycina 120.** Wykres ramkowy mediany poziomu TBARS zmierzonego w dniu wypisu ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.

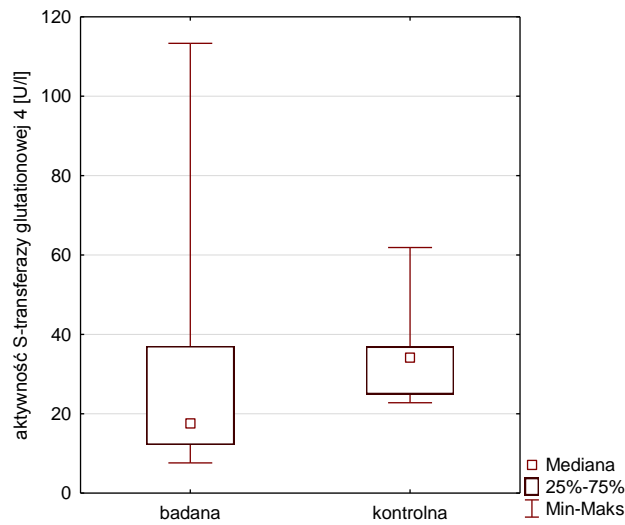




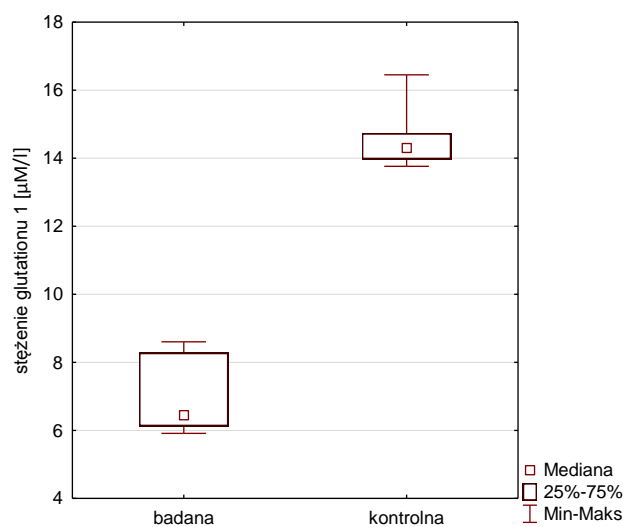
**Rycina 121.** Wykres ramkowy mediany aktywności GST zmierzonej w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



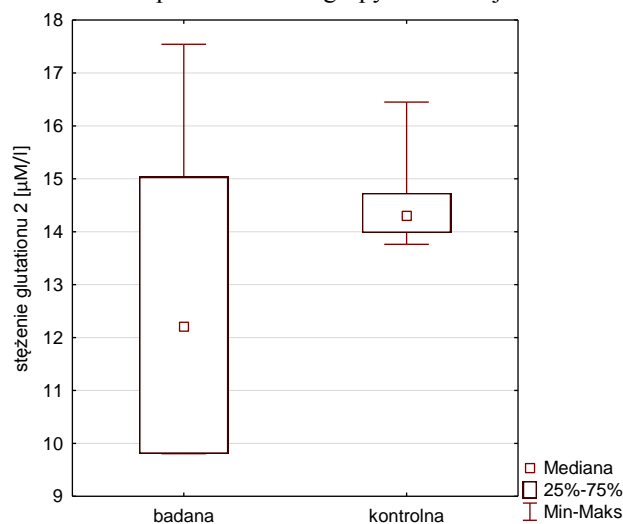
**Rycina 122.** Wykres ramkowy mediany aktywności GST zmierzonej między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej.



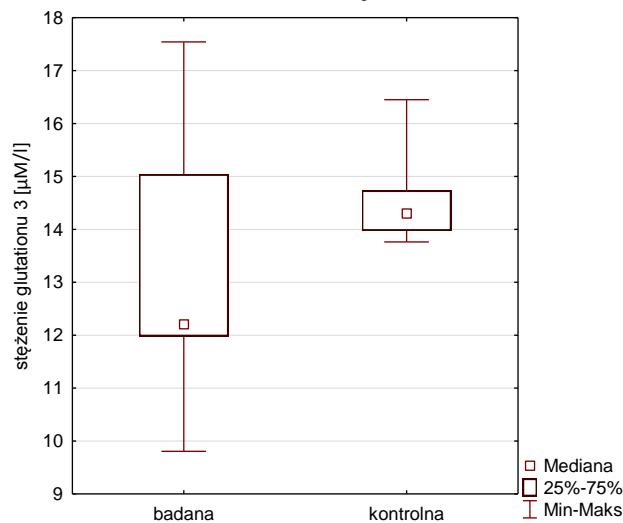
**Rycina 123.** Wykres ramkowy mediany aktywności GST zmierzonej w dniu wypisu ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



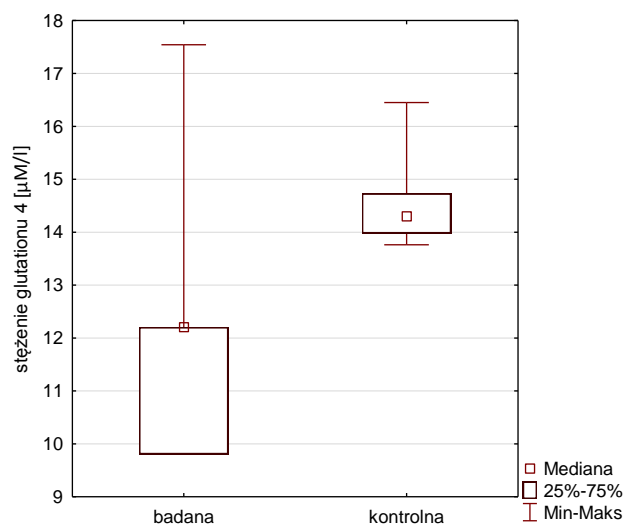
**Rycina 124.** Wykres ramkowy mediany stężenia glutationu zmierzonego w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



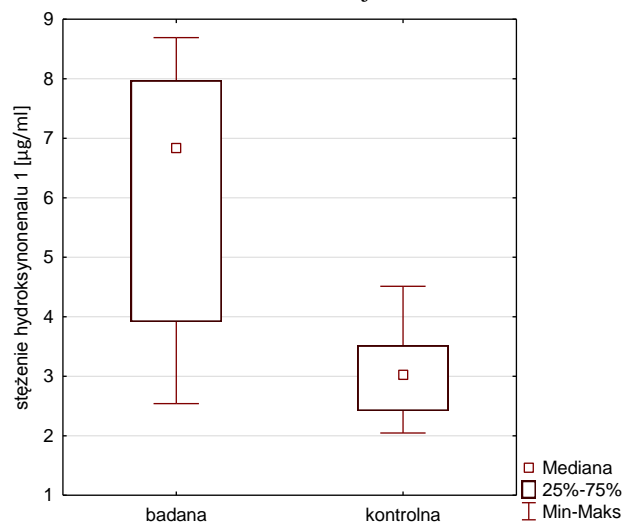
**Rycina 125.** Wykres ramkowy mediany stężenia glutationu po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej.



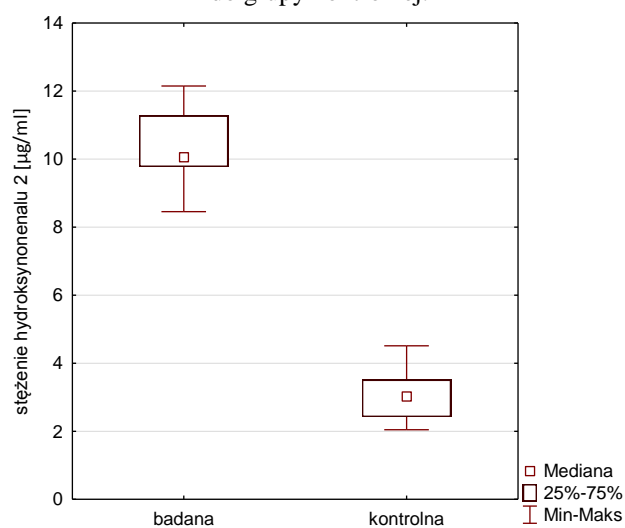
**Rycina 126.** Wykres ramkowy mediany stężenia glutationu zmierzonego między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej.



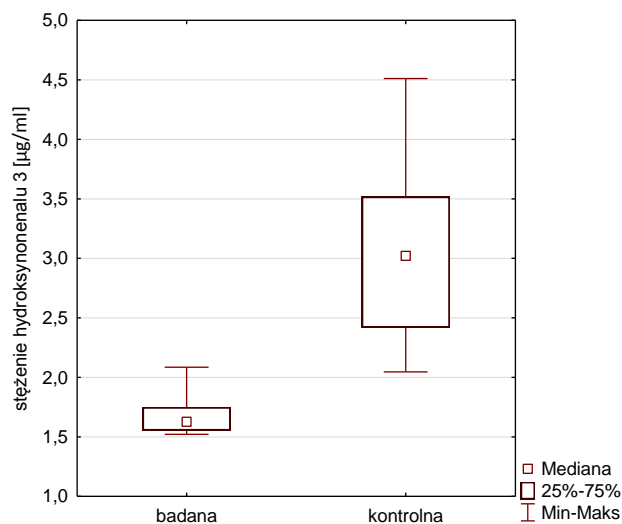
**Rycina 127.** Wykres ramkowy mediany stężenia glutationu zmierzonego w dniu wypisu w porównaniu do grupy kontrolnej.



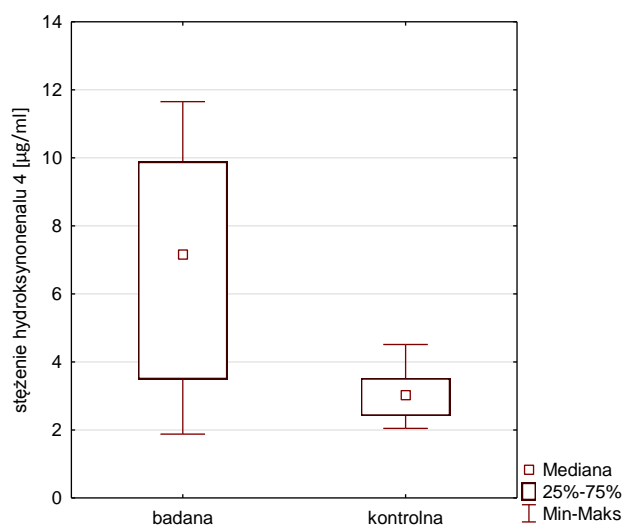
**Rycina 128.** Wykres ramkowy mediany stężenia HNE zmierzonego w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



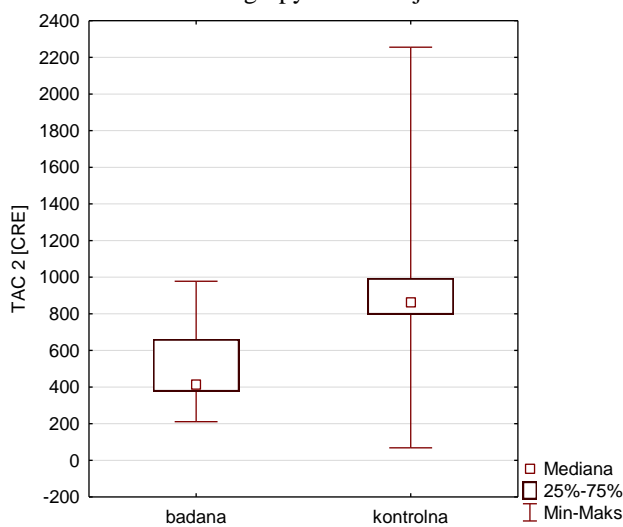
**Rycina 129.** Wykres ramkowy mediany stężenia HNE zmierzonego po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej.



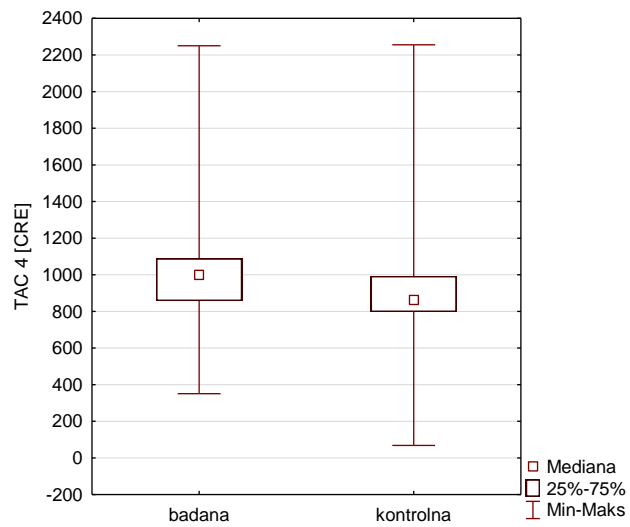
**Rycina 130.** Wykres ramkowy mediany stężenia HNE zmierzonego między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej.



**Rycina 131.** Wykres ramkowy mediany stężenia HNE zmierzonego w dniu wypisu ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.



**Rycina 132.** Wykres ramkowy mediany poziomu TAC zmierzonego po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej.



**Rycina 133.** Wykres ramkowy mediany poziomu TAC zmierzonego w dniu wypisu ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej.

## 6. Dyskusja

Problem zatruc glikolem etylenowym (EG) stanowi wciąż aktualne zagadnienie w kręgu zainteresowań toksykologii klinicznej. Od wielu lat obserwuje się niemalejącą liczbę hospitalizacji w polskich oddziałach toksykologicznych z powodu ostrych zatruc tak zwanymi „zamiennikami alkoholu etylowego”, do których należy glikol etylenowy. Jako najbardziej toksyczny wśród alkoholi dwuwodorotlenowych, glikol etylenowy i produkty jego degradacji stanowią szczególne zainteresowanie również wśród toksykologów doświadczalnych, którzy w oparciu o badania na zwierzętach i dostępne metody alternatywne (*in vitro*, genomiczne i proteomiczne), poszerzają dotychczasową wiedzę o dodatkowe aspekty praktyczne i poznawcze, uzyskując cenne informacje dla celów profilaktycznych i leczniczych w obszarze ostrych zatruc tym alkoholem.

Od lat 60 XX wieku większość artykułów i publikacji dotyczących glikolu etylenowego, które ukazały się w światowym piśmiennictwie, dotyczyła zatruc samobójczych. Przez lata prezentowano ciężkie, pełnoobjawowe przypadki ostrych zatruc, ukazujące niejednokrotnie różne powikłania zdrowotne związane z narażeniem na EG, z których większość kończyła się niepomyślnym zejściem śmiertelnym.

Najczęściej spotykanymi publikacjami w polskim piśmiennictwie od lat są analizy zatruc glikolem etylenowym, które pochodzą przeważnie z kilkuletnich obserwacji większych grup pacjentów, obejmujących od kilku do kilkudziesięciu osób. Dane te na ogół wywodzą się z regionalnych ośrodków ostrych zatruc, których zadaniem, oprócz udzielania informacji i konsultacji medycznych, jest analiza poszczególnych przypadków w celach edukacyjnych, ze szczególną oceną diagnostyczną, leczniczą i profilaktyczną. Największym źródłem informacji o zatruciach glikolem etylenowym od lat są łódzki i krakowski ośrodek ostrych zatruc [43, 82]. W miarę upływu czasu, cenne doświadczenia prezentowały również ośrodki z Warszawy, Poznania i Sosnowca [82, 135, 170]. Z danych Narodowego Funduszu Zdrowia (NFZ) wynika, że w 2010 roku spośród ok. 80 tysięcy odnotowanych w Polsce ostrych zatruc, ponad 500 przypadków stanowiły zatrucia tzw. zamiennikami alkoholu etylowego [196]. Należy zaznaczyć, że struktura zatruc występujących w Polsce całkowicie odbiega od notowanych w krajach Europy Zachodniej i Stanach Zjednoczonych. Różni się ona przede wszystkim ciężkością opisywanych zatruc oraz liczbą zgonów, która nadal jest w znacznym stopniu większa w Polsce niż np. w USA. Odmienne są również przyczyny zatruc. Jak wynika z publikowanych danych, najczęstszą przyczyną zatruc glikolem etylenowym w Polsce jest

jego spożycie jako substytutu alkoholu etylowego, szczególnie przez osoby z zespołem zależności alkoholowej [118, 176, 180].

Pomimo uznania glikolu etylenowego za truciznę blisko 50 lat temu, głównym problemem toksykologicznym są nadal zatrucia ostre, wywołane doustnym przyjęciem dużych dawek EG i szybkim jego wchłanianiem z przewodu pokarmowego. Przypadkowe spożycia EG najczęściej dotyczą dzieci. Obraz kliniczny pacjenta po spożyciu tego alkoholu jest zróżnicowany i zależy przede wszystkim od przyjętej dawki oraz fazy zatrucia [7, 22, 179].

Piśmiennictwo poświęcone toksyczności, mechanizmom i efektom toksycznego działania glikolu etylenowego i jego metabolitów jest systematycznie wzbogacane. Wyniki badań opublikowanych w światowej literaturze, pochodzące z drugiej połowy XX wieku, były głównie skupione na mechanizmie toksycznego działania glikolu etylenowego i jego metabolitów powstających podczas biotransformacji z udziałem dehydrogenaz alkoholowej i aldehydowej. Na przełomie lat 80 i 90 ubiegłego stulecia, ukazały się pierwsze doniesienia o możliwości generowania, podczas biotransformacji glikolu etylenowego zachodzącej przy udziale cytochromu P450, wolnych rodników i niebezpiecznych dla organizmu, reaktywnych form tlenu, m.in. anionorodnika ponadtlenkowego i nadtlenu wodoru. Wyniki tych prac zwiększyły możliwości badawcze i poznawcze w obszarze toksyczności glikolu i ocenie jego wpływu na równowagę oksydoredukcyjną organizmu. Fakt udziału struktur mikrosomalnych w oksydacji EG do aldehydu mrówkowego został potwierdzony w wielu badaniach doświadczalnych, głównie z użyciem zwierząt laboratoryjnych. W badaniach tych analizowano również zaburzenia równowagi oksydoredukcyjnej wywołane działaniem glikolu etylenowego. Powstające podczas biotransformacji EG reaktywne formy tlenu, jako związki odpowiadające za oksydacyjne uszkodzenia struktur komórkowych i tkankowych, skierowały uwagę badaczy na dynamikę zmian w systemie antyoksydacyjnym organizmu oraz na zagrożenia jakie pociągają za sobą procesy inicjowane przez stres oksydacyjny. Opublikowane dane dotyczą przede wszystkim wpływu glikolu etylenowego na procesy pro- i antyoksydacyjne, oceniane w różnych tkankach i narządach zwierząt doświadczalnych. Z dotychczas opublikowanych danych ważne miejsce zajmują wyniki prac m.in. Jurczyk, Celik'a, oraz Kukielki i Cederbaum'a, które ukazały się na przełomie wieku XX i XXI [35, 96, 97, 106, 107, 108, 109, 122, 123]. Wszystkie prace te, dotyczyły wpływu EG na markery stresu oksydacyjnego, potwierdzając tym samym udział stresu oksydacyjnego w mechanizmie toksycznego działania glikolu etylenowego.

Do chwili obecnej brak jest opublikowanych prac, które dotyczyłyby badań stresu oksydacyjnego u osób, z zdiagnozowanym ostrym zatruciem glikolem etylenowym. W niniejszej pracy podjęto badania, których celem jest między innymi wypełnienie tej luki. Potwierdzenie udziału stresu oksydacyjnego w ostrym zatruciu glikolem etylenowym oraz ocena zależności wykorzystanych markerów stresu od zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej, czynności wątroby i nerek, czasu jaki minął od zatrucia czy zastosowanego postępowania leczniczego a przede wszystkim stężenia glikolu etylenowego w materiale pobranym od pacjentów, może przyczynić się do poprawy efektów leczenia oraz ustalenia korelacji zastosowanych markerów z przebiegiem klinicznym zatrucia, co może być wykorzystane jako czynnik prognostyczny w ocenie jego ciężkości.

Ocena stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym okazała się być procesem złożonym, obejmującym szereg porównań, które analizowano w kilku etapach. W pierwszym etapie dokonano wyboru pacjentów do badań w czasie 5-letniej obserwacji i identyfikacji zatruc glikolem etylenowym na terenie dwóch województw: wielkopolskiego i lubuskiego. Do grupy podstawowej zakwalifikowano 69 pacjentów, zdiagnozowanych w kierunku zatrucia glikolem etylenowym, u których na podstawie dokumentacji medycznej określono czas jaki upłynął od narażenia do potwierdzenia zatrucia, źródło i przyjętą dawkę glikolu etylenowego, charakter zatrucia oraz liczbę dni hospitalizacji. Kluczowe było również oznaczenie u pacjentów stężenia glikolu etylenowego oraz wykonanie badań w kierunku obecności alkoholu etylowego i metylowego. Określono również odsetek przypadków, które zakończyły się zgonem i ich zależność od czasu diagnozy oraz stanu równowagi oksydoredukcyjnej. Wyniki gazometrii krwi tętniczej i parametrów biochemicznych uzyskano z informacji zawartych w dokumentacjach medycznych oraz z oznaczeń przeprowadzonych w zgromadzonym i zabezpieczonym od pacjentów materiale biologicznym.

W populacji (A) zakwalifikowanej do badań przeważali mężczyźni (94,20%). Podobną dominację mężczyzn wśród zatrutych EG obserwowali również inni autorzy [13, 176]. Z danych opublikowanych przez ośrodek łódzki w latach 1991-1995, wśród 75 pacjentów zatrutych EG, również przeważał odsetek mężczyzn (ponad 90%) [176].

W badanej grupie, głównym źródłem glikolu etylenowego w ponad 60% przypadków był zafałszowany alkohol, a w 26% płyn do chłodziń (Borygo, Petrygo). Z badań Rzepeckiego wynika, że prawie wszyscy pacjenci (93,3%) spożywali glikol etylenowy lub preparaty zawierające glikol jako niespożywczy substytut alkoholu etylowego [176].

Prawie u wszystkich pacjentów zakwalifikowanych do badań własnych ustalono przyczynę zatrucia EG. W 48% miały one charakter przypadkowy, równie często dochodziło



do spożycia EG w przebiegu zależności alkoholowej (45%), kwalifikując te przypadki jako celowe. Jedynie w 5 przypadkach zatrucie miało charakter samobójczy. Opublikowane dane wskazują, że intoksykacje wskutek pomyłkowej jak i celowej konsumpcji glikolu etylenowego stanowią największy odsetek wszystkich zatruc alkoholem niespożywczy [176]. W Polsce większość zatruc ma charakter intencjonalny; zatrucia spowodowane nieumyślnym spożyciem EG są opisywane rzadko. Z badań przeprowadzonych przez czeski ośrodek toksykologiczny w Pradze, obejmujących dwuletnią obserwację zatruc glikolem etylenowym wynika, że ponad 30% pacjentów z obserwowanej grupy (86 przypadków) stanowili pacjenci po nieumyślnym spożyciu EG. Pozostała część grupy, czyli około 70% dotyczyła osób przewlekłe spożywających alkohol (163 pacjentów) [121]. Rzepecki podaje, że wśród zatrutych EG ponad 60% badanych stanowiły osoby z zespołem zależności alkoholowej (ZZA) a tylko w 5 przypadkach zatrucie miało charakter samobójczy [176].

Porównując, przyczyny zatruc EG w badanej populacji w niniejszej pracy z wynikami innych autorów, można stwierdzić, że w badaniach własnych dominują zatrucia w przebiegu zależności alkoholowej oraz o charakterze przypadkowym. Samobójcze zatrucia przy użyciu EG są bardzo rzadkie. W dostępnym piśmiennictwie mało jest prac dotyczących problematyki przypadkowych zatruc EG, w których dawki spożytego alkoholu nie przekraczają zakresów toksycznych. W świetle powyższych danych należy z dużą ostrożnością podejść do porównywania polskich baz danych np. z amerykańskimi. Z informacji prezentowanych przez Caravati'ego, wśród całkowitej liczby zatruc EG zarejestrowanych w 2002 roku przez amerykańskie ośrodki ostrych zatruc (z ang. *American Association of Poison Control Centers; AAPCC*), liczba nieumyślnych zatruc wynosiła 82% a celowych, mniej niż 20% [32]. Zatem można stwierdzić, że różnice w strukturze i przyczynach zatruc w Polsce i USA są znaczne, natomiast pewne podobieństwo prezentują porównania z wynikami otrzymanymi w innych ośrodkach ostrych zatruc w krajach europejskich [120].

Analizując badaną populację, oceniono wiek pacjentów zakwalifikowanych do badań. Średnia wieku wynosiła około 52 lata i była podobna u kobiet ( $52,25 \pm 7,76$ ) jak i u mężczyzn ( $50,42 \pm 12,90$ ). Wśród chorych leczonych z powodu zatrucia EG nie stwierdzono osób nieletnich. Najmłodszy pacjent miał 20 lat a najstarszy 82. Średnia wieku, z badań ośrodka łódzkiego, była niższa i wynosiła 41,9 lat [176]. Również z danych pochodzących z systemów *Medline*<sup>24</sup> (zakres badania obejmował okres od 1966 do 2010 roku) oraz *Embase*<sup>25</sup> (1974 do

---

<sup>24</sup> baza bibliograficzna stworzona przez *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) działający przy *National Library of Medicine*, (NLM), która należy do *National Institutes of Health* (NIH) w USA.

2010), prezentowanych przez zespół Beatty'ego, w ponad dwóch tysiącach artykułów publikowanych w języku angielskim, dotyczących intoksykacji EG, średnia wieku pacjentów zatrutych była niższa niż w badaniach własnych i wynosiła  $42,5 \pm 14,7$  lat [13].

Analizując liczbę pacjentów w badanej grupie A (69 przypadków), zgon w następstwie zatrucia wystąpił u 17 osób (24,64%). Dane opublikowane w 2005 roku, pochodzące z AAPCC (z ang. *American Association of Poison Control Centers*), wykazały prawie dwa tysiące przypadkowych zatruc EG, z których tylko w 4% stwierdzono zgon pacjenta. Niemniej jednak w przypadku zatruc o charakterze celowym (280 osób), śmiertelność była znacznie wyższa i wynosiła 24% [200]. W grupie badanych przez Rzepeckiego pod koniec lat 90 XX w., śmiertelność wśród zatrutych EG wynosiła 33,3% [176].

Śmiertelność w Polsce z powodu zatrucia EG od wielu lat utrzymuje się prawie na stałym poziomie i jest bliska 30% [196]. W badaniach własnych odsetek zgonów był niższy (<25%), co mogło być związane z łatwiejszym dostępem do właściwych narzędzi diagnostycznych oraz krótszym czasem wdrożenia terapii odtruwającej.

W 2002 roku opublikowano raport z amerykańskich baz danych analizujący m.in. drogi narażenia na glikol etylenowy. Wg tego raportu stwierdzono, że ekspozycja przez układ oddechowy występowała w 15% wszystkich przypadków a przez skórę w 19%. Najczęstsze były doustne zatrucia EG, które stanowią aż 54% [200, 209]. Również w przypadku wyników własnych wszystkie oceniane zatrucia EG były spowodowane przez przyjęcie glikolu etylenowego drogą pokarmową.

W wielu przypadkach zatruc EG trudno jest określić przyjętą dawkę i rodzaj spożytego preparatu. Ustalanie toksycznej dawki na podstawie relacjonowanych danych często jest trudne, a czasem niemożliwe. Ponadto rzadko w dokumentacji lekarskiej zawarte są informacje dotyczące ilości, stężenia czy rodzaju spożytego EG. W badaniu Caravati'ego stwierdzono, że najmniejsza dawka toksyczna stężonego EG (80-99%) wynosiła od 10 do 30 ml a w grupie osób dorosłych po spożyciu EG w dawce poniżej 10 ml nie odnotowano żadnych efektów toksycznych. Natomiast jako dawkę śmiertelną określono zakres między 50 a 100 ml [32]. Z badań Krenovej wynika, że większość osób z grupy badanej, u których określono przyczynę zatrucia jako nieumyślną, stanowiły dzieci, które spożyły tzw. „łyk” EG, czyli około 10 ml. Spośród 15 dzieci, u których nie obserwowano poważnych objawów zatrucia i nie zastosowano hemodializy, tylko w trzech przypadkach stężenie glikolu

---

<sup>25</sup> baza bibliograficzna indeksująca ponad 5.000 biomedycznych czasopism z 70 krajów

osiągnęło toksyczny poziom ( $> 0,2$  g/l). W badaniach tych, dorosłych pacjentów podzielono względem spożytej dawki EG, tj. na osoby, które spożyły jeden łyk (około 30 ml), dwa (30-60 ml) i trzy łyki (60-100 ml) EG. Jeden łyk był kwalifikowany jako toksyczna dawka, a od 60 do 100 ml jako dawka potencjalnie śmiertelna. Niemniej jednak po spożyciu około 20 ml EG, u żadnego z pacjentów nie stwierdzono objawów uszkodzenia nerek (jedynie objawy łagodnej kwasicy, leczonej wodorowęglanami). Spośród 39 pacjentów, którzy wypili 30 ml, tylko w pięciu przypadkach, stężenie kreatyniny wzrosło do 124  $\mu\text{mol/l}$  (1,61 mg/dl) a u 6 osób stężenie glikolu etylenowego przekroczyło 0,20 g/l (maksymalnie 0,82 g/l). W grupie pacjentów, którzy spożyli dwa łyki (14 osób), maksymalne stężenie EG wynosiło 1,21 g/l. W obu grupach, w których pacjenci spożyli mniej niż 30 ml, czas jaki minął od spożycia do hospitalizacji nie przekraczał 4 godzin. W grupie, w której przyjęto największą dawkę EG (17 osób), średnie stężenie EG wynosiło 0,63 g/l a najwyższe zarejestrowane 1,90 g/l (pacjent z przewlekłą niewydolnością nerek, stężeniem kreatyniny powyżej 191  $\mu\text{mol/l}$ , czyli 2,15 mg/dl) [121]. Z danych zebranych przez ośrodek łódzki w latach 90, w 8 przypadkach ustalono, że przyczyną zatrucia było wypicie płynu typu Borygo, w ilości od 180-1000 ml (średnio 428 ml). Oznaczone stężenia EG wahały się od 0-535 mg/dl (średnio 1,08 g/l). U 75% zatrutych stężenia EG nie przekraczały 100 mg/dl (1,0 g/l). W kilku przypadkach u pacjentów stwierdzono również obecność alkoholu etylowego (EA), przy czym u 4 pacjentów EA występował w stężeniu powyżej 35 mg/dl (0,35 g/l) [176].

Z danych pochodzących z bazy *Medline* oraz *Embase* wynika, że średnie stężenia EG u osób zatrutych mieściły się w zakresach od 1,31 do 2,97 g/l a czas diagnozy wahał się między 0,5 a 17 godzin od spożycia [13]. W populacji zakwalifikowanej do badań własnych, najliczniejszą grupę stanowili pacjenci, u których stężenie EG wynosiło  $<0,5$  g/l (28 osób). Stężenia EG do 1 g/l oznaczono u 15 zatrutych a najwyższe powyżej 2,0 g/l stwierdzono w 11 przypadkach (Ryc. 15). Dawkę spożytego EG udało się określić w 7 przypadkach, a jej średnia wartość wynosiła 504 ml (min: 20 ml, max: 1000 ml). Wartości te były zbliżone do danych zgromadzonych w ośrodku łódzkim [176].

Powodzenie procesu leczniczego w zatruciach glikolem etylenowym zależy m.in. od czasu, po którym pacjenci trafiają do szpitala, a także od czasu jaki upłynął od momentu zatrucia do postawienia diagnozy, równoznacznej z potwierdzeniem obecności glikolu etylenowego w krwi i rozpoczęciem terapii. Z badań Krenovej wynika, że po nieumyślnym spożyciu EG w większości przypadków, czas jaki mijał od spożycia do hospitalizacji był stosunkowo krótki ( $<4,5$  godziny, średnio około 1 godziny), a u zatrutych szybko występowały wymioty. W 4 przypadkach odtrutkę podano już na miejscu zdarzenia a w 11,

w szpitalu [121]. Z łódzkich danych zebranych przez Rzepeckiego, czas od zatrucia ustalono jedynie u 20 hospitalizowanych osób i średnio wynosił on 12 godzin. Z tych samych danych wynika, że średni czas hospitalizacji, zakończony zgonem wynosił 7 dni. Natomiast czas leczenia pacjentów, którzy przeżyli zatrucie był zdecydowanie dłuższy i średnio wynosił 23 dni (1-53). Z powodu zatrucia zmarło 25 osób (33,3%), przy czym u 12 osób zgon nastąpił już w 48 godzinie od spożycia EG [176].

W 1997 roku ukazał się zbiór monografii pod redakcją Ekwall'a, który dotyczył m.in. analizy udokumentowanych przypadków zatruc glikolem etylenowym [61]. W zbiorze tym zebrano informacje m.in. na temat rejestrowanych stężeń EG (toksycznych i śmiertelnych) w zależności od czasu, jaki minął od zatrucia. Dane zebrane w latach 80 i 90 XX w. wykazały, że u pacjentów monitorowanych przyżyciowo w oddziałach ostrych zatruc (ze średnim stężeniem EG 1,8 g/l), średni czas, jaki mijał od spożycia do oznaczenia glikolu etylenowego wynosił ok. 12 godzin. W przypadku oznaczeń pośmiertnych, stężenia glikolu nie odbiegały istotnie od stężeń oznaczonych przyżyciowo, natomiast czas, w którym wykonano badania był znacznie dłuższy i wynosił średnio 23 godziny od spożycia [61]. W populacji pacjentów zakwalifikowanych do badań własnych, w 44 przypadkach stężenie glikolu zostało oznaczone w czasie krótszym niż 12 godzin od zatrucia. W pozostałych przypadkach, badanie wykonano pomiędzy 12 a 24 godziną od zatrucia.

W grupie osób dorosłych zatrutych EG w następstwie nieumyślnego spożycia alkoholu, analizowanych w badaniu Krenovej, zastosowano standardowe procedury lecznicze. 93% zatrutych było leczonych etanolem, a w przypadku 17 zastosowano hemodializę [121]. Z danych ośrodka łódzkiego wynika, że w standardowym postępowaniu odtruającym podawano dożylnie 10% roztwór alkoholu etylowego, utrzymując jego stężenie na poziomie 100-150 mg/dl (1,0-1,5 g/l). Dializoterapię wdrożono u pacjentów, u których stężenie EG przekraczało 0,5 g/l. Przy niższych stężeniach decyzję o dializoterapii podejmowano na podstawie wartości pH, niższej niż 7,0 [176]. Z ponad 800 przypadków ostrych zatruc alkoholem niespożywczymi, opisanych w światowym piśmiennictwie, analizowanych przez zespół Beatty'ego<sup>26</sup>, wyodrębniono 293 osoby zatrute glikolem etylenowym (32,7% zgłoszonych przypadków) [13]. W 215 przypadkach podjęto leczenie za pomocą etanolu, natomiast w 65 zastosowano 4-metylopirazol (4MP). W 15 przypadkach zastosowano obie odtrutki, po podaniu których stwierdzono zmniejszenie śmiertelności zatrutych o 8%. Ponadto krótszy był okres hospitalizacji pacjentów (od 4 do 13 dni). Zabiegowi hemodializy poddano

---

<sup>26</sup> Baza *Medline* i *Embase*

>65% zatrutych. Śmiertelność pacjentów z postępującą niewydolnością nerek, była większa w grupie pacjentów leczonych alkoholem etylowym niż 4MP (ok. 40% vs 14%) [13]. W populacji zakwalifikowanej do badań w niniejszej pracy doktorskiej wszyscy pacjenci byli leczeni alkoholem etylowym podawanym dożylnie jako 10% roztwór w 5% dekstrozie. U zatrutych pacjentów nie stosowano podawania 4MP. Zabieg hemodializy przeprowadzono u 78% pacjentów.

Na podstawie wstępnej analizy do dalszych badań własnych zakwalifikowano 47 pacjentów (A1) z populacji A, u których w pobranym materiale biologicznym (krew) potwierdzono obecność glikolu etylenowego. W tym samym materiale dokonano kluczowej dla pracy oceny równowagi oksydoredukcyjnej wykorzystując pomiary aktywności enzymów antyoksydacyjnych (katalazy CAT, peroksydazy glutationowej GPx, S-transferazy GST oraz reduktazy glutationowej GR), stężenia całkowitego glutationu oraz poziomu produktów peroksydacji lipidów (TBARS), w tym stężenia hydroksynonenalu (HNE) wraz z oceną całkowitej pojemności antyoksydacyjnej (TAC). W celu kompleksowej oceny badanych parametrów biochemicznych, toksykologicznych i markerów stresu oksydacyjnego w przebiegu zatrucia glikolem etylenowym, 26 hospitalizowanych pacjentów (A1a) wybranych z grupy A1 poddano monitorowaniu w określonych punktach czasowych tj. podczas przyjęcia pacjenta z powodu zatrucia (1), w trakcie stosowania leczenia odtruwającego (podanie odtrutki/hemodializa) (2), między 48 a 72 godziną od zatrucia (ocena efektów leczenia odtruwającego) (3) oraz w dniu wypisu ze szpitala (4). U pacjentów tych czterokrotnie pobrano materiał biologiczny (krew), w którym wyznaczono stężenie EG oraz stężenia alkoholu etylowego podanego podczas hospitalizacji w ramach leczenia odtruwającego. Ponadto oceniono czynność narządową (wątroba, nerki), równowagę kwasowo-zasadową oraz równowagę oksydoredukcyjną w oparciu o wybrane markery.

47 pacjentów zakwalifikowanych do badań (grupa badana A1), oprócz potwierdzonej obecności EG w krwi (średnia±SD; 1,26±1,39 g/l), prezentowało pełnoobjawowy obraz zatrucia, który wskazywał na spożycie alkoholu niespożywczego. Dodatkowo u każdego pacjenta wykonano badania w kierunku obecności alkoholi: etylowego (EA) i metylowego (MA). Tylko w 10 przypadkach stwierdzono stężenie EA powyżej 0,2 g/l (średnia±SD; 0,22±0,70 g/l). Obecność alkoholu metylowego potwierdzono u 8 pacjentów, w średnim stężeniu 1,27±4,22 g/l (Tab. 17). Podobnie jak w pracy Rzepeckiego, odsetek pacjentów zatrutych jednocześnie EG i EA lub EG i MA w badaniach własnych był niewielki [176]. Analizując przebieg zatrucia w badaniach własnych u osób, u których potwierdzono obecność dwóch alkoholi EG i EA lub EG i MA, stwierdzono, że najcięższy przebieg miały zatrucia

mieszane glikolem etylenowym i alkoholem metylowym. Zatrucie mieszane EG i EA charakteryzowały się łżejszym przebiegiem, gdyż obecny w organizmie EA działał, podobnie jak alkohol etylowy podany w trakcie terapii odtruwającej. U pacjentów monitorowanych (grupa A1a) podczas leczenia, średnie stężenia glikolu etylenowego przy przyjęciu wynosiły  $0,95 \pm 0,96$  g/l (min: 0,28 g/l, max: 1,40 g/l). Natomiast po podaniu odtrutki oraz w pozostałych dwóch punktach czasowych nie stwierdzono obecności glikolu etylenowego w badanym materiale biologicznym. Średnie stężenie EA podanego w ramach procedury odtruwającej wynosiło  $0,95 \pm 0,41$  g/l, co było zgodne z zaleceniami dotyczącymi wartości stężeń terapeutycznych etanolu, skutecznie hamujących biotransformację EG do toksycznych metabolitów. W trzeciej dobie, po zakończonej hemodializie, stężenie alkoholu etylowego obniżyło się do wartości  $< 0,20$  g/l. W dniu wypisu pacjentów ze szpitala nie stwierdzano obecności EA w badanych materiałach (Tab. 37).

Do charakterystycznych zaburzeń u osób zatrutych EG zaliczono: kwasicę metaboliczną oraz niewydolność nerek, potwierdzone wynikami badań biochemicznych i gazometrii krwi tętniczej wykonanych w chwili przyjęcia pacjenta do szpitala. Kwasica wystąpiła u 42 pacjentów z czego w 95% przypadków miała charakter metaboliczny. W kilku przypadkach, w związku z narastającymi zaburzeniami oddychania, pojawiała się również kwasica o charakterze mieszanym (metaboliczno-oddechowa). Podobne wyniki uzyskał Rzepecki, który prawie u 80% pacjentów stwierdził kwasicę metaboliczną, przechodzącą w mieszaną, wywołaną zaburzeniami krążeniowo-oddechowymi [176]. Wyniki gazometrii krwi tętniczej w grupie badanej przedstawiono w tabeli 17. Wykazane zmiany średnich wartości pH (stężenia jonów  $[H^+]$ ) i pozostałych parametrów równowagi kwasowo-zasadowej świadczą o zachwianiu/zaburzeniach równowagi kwasowo-zasadowej. Stwierdzono obniżone: pH (średnia $\pm$ SD;  $6,93 \pm 0,26$ ), co odpowiada wzrastającemu stężeniu jonów  $[H^+]$  (średnia $\pm$ SD;  $13,55 \pm 6,44$ <sup>27</sup>), stężenie wodorowęglanów  $< 10$  mmol/l (średnia $\pm$ SD;  $7,75 \pm 6,77$  mmol) i wartości BE  $< -20$  mmol/l (średnia $\pm$ SD;  $-23,15 \pm 10,69$  mmol). Również inni autorzy opisują występowanie w przebiegu ostrego zatrucia EG zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej, prowadzących do ciężkiej kwasicy metabolicznej. Dostępne dane jednak najczęściej dotyczą pacjentów w różnym okresie zatrucia [22, 178].

W tabeli 38 przedstawiono wartości zmieniających się parametrów równowagi kwasowo-zasadowej podczas czterokrotnego monitorowania w określonych punktach czasowych. Uzyskane wyniki wskazują na ciężką kwasicę metaboliczną przy przyjęciu, która

---

<sup>27</sup> Zgodnie z definicją  $pH = -\log_{10}[H_3O^+]$

w miarę upływu czasu i podjętego postępowania leczniczego ulega wyrównaniu. W dniu wypisu ze szpitala u zatrutych nie stwierdzano zaburzeń w wartościach parametrów równowagi kwasowo-zasadowej. Z przeprowadzonych analiz statystycznych wynika, że im niższe wartości pH (wyższe stężenia jonów  $[H^+]$ , objawy pogłębiającej się kwasicy) tym, wyższe poziomy  $pO_2$  (najczęściej związane z intubacją pacjentów i ich ciężkim stanem) oraz niższe wartości BE i stężenia  $HCO_3^-$  (narastająca kwasica metaboliczna). Dodatkowo wykazano dodatnią korelację między stężeniem kreatyniny i jonów  $[H^+]$  stwierdzając, że im wyższe stężenie kreatyniny, tym wyższe stężenia jonów  $[H^+]$ . Podsumowując, objawy ciężkiej kwasicy korelują z podwyższonymi stężeniami kreatyniny, które świadczą o postępującej niewydolności nerek u zatrutych.

Badania stężenia kreatyniny i mocznika należą do rutynowych oznaczeń wykonywanych u osób z podejrzeniem uszkodzenia nerek i postępującej ich niewydolności. Oznaczone w grupie pacjentów monitorowanych A1a wartości tych parametrów w chwili przyjęcia do szpitala wskazywały na postępującą niewydolność nerek. Stężenie kreatyniny i mocznika w grupie A1a, w porównaniu do wartości referencyjnych ustalonych przez laboratorium oraz otrzymanych w grupie kontrolnej, były istotnie wyższe, odpowiednio dla kreatyniny ( $3,33 \pm 4,68$  mg/dl vs  $0,83 \pm 0,37$  mg/dl) i mocznika ( $32,06 \pm 19,46$  mg/dl vs  $16,80 \pm 7,48$  mg/dl). W trakcie monitorowania stwierdzono dynamiczny wzrost stężenia obu parametrów nerkowych, utrzymujący się również po podaniu odtrutki i zastosowanym zabiegu hemodializy. W trzeciej dobie leczenia maksymalne średnie stężenie kreatyniny wynosiło  $5,57 \pm 2,66$  mg/dl. W dniu wypisu pacjentów średnie stężenie kreatyniny utrzymywało się na poziomie  $3,22 \pm 1,81$  mg/dl i nadal było o ok. czterokrotnie wyższe niż w grupie kontrolnej. Stężenie mocznika zmieniało się podczas leczenia i podobnie jak stężenie kreatyniny najwyższe wartości odnotowano w trzeciej dobie hospitalizacji;  $65,90 \pm 52,16$  mg/dl. W dniu wypisu stężenie mocznika nadal było podwyższone ( $42,94 \pm 30,50$  mg/dl) w porównaniu do grupy kontrolnej. W oparciu o wykonaną analizę statystyczną nie stwierdzono jednak istotnych różnic między poszczególnymi wynikami kreatyniny i mocznika w grupie monitorowanych pacjentów w określonych punktach czasowych (Tab. 46 i 47). Stężenia kreatyniny i mocznika u zatrutych różniły się istotnie od wartości uzyskanych w grupie kontrolnej. Z opublikowanych danych wynika, że podczas monitorowania stanu pacjenta w przebiegu ostrej niewydolności nerek niezbędne jest wykonanie oznaczeń stężenia kreatyniny i względnie mocznika, parametrów, które stanowią kryterium oceny filtracji kłębuszkowej nerek. W ocenie dynamiki ostrej niewydolności nerek najważniejsza jest ocena codziennych zmian kreatyninemii i diurezy [194, 207]. Utrzymujące

się podwyższone stężenia kreatyniny i mocznika po zakończeniu hospitalizacji, zgodnie z zaleceniami lekarskimi, powinny być dalej monitorowane i kontrolowane przez lekarzy rodzinnych.

Aminotransferaza alaninowa (ALT) i aminotransferaza asparaginianowa (AST) są markerami stanu czynnościowego wątroby. Wzrost aktywności tych enzymów może być następstwem zaburzeń procesów metabolicznych bądź uszkodzenia tkanek m.in. na skutek przewlekłego spożywania etanolu (z ang. *relapse markers*) [1, 31, 194]. Podobnie jak w przypadku oznaczeń kreatyniny i mocznika oznaczenia te należą do badań rutynowych. W grupie zatrutych pacjentów (A1), średnie aktywności ALT i AST, wynosiły odpowiednio  $54,83 \pm 42,62$  U/l i  $118,12 \pm 203,51$  U/l i były kilkakrotnie wyższe od oznaczonych w grupie kontrolnej  $25,40 \pm 10,41$  U/l i  $29,27 \pm 8,23$  U/l. Podwyższone aktywności ALT i AST, mogą świadczyć m.in. o wcześniejszym uszkodzeniu komórek wątrobowych np. na skutek przewlekłego spożywania etanolu, zwłaszcza wśród pacjentów uzależnionych [37]. Aktywności tych wskaźników w grupie pacjentów zatrutych w przebiegu zespołu zależności alkoholowej (31 osób) były podwyższone w porównaniu do tych samych parametrów w grupie osób nieuzależnionych (33 osoby) ( $55,12 \pm 47,12$  U/l vs  $35,00 \pm 12,41$  U/l dla ALT i  $92,47 \pm 48,12$  U/l vs  $53,01 \pm 48,12$  U/l dla AST). W badaniach przeprowadzonych przez zespół Alatalo w grupie osób pijących (z ang. *heavy drinkers*), którzy w ciągu miesiąca spożywali średnio 110 g EA na dobę, średnia aktywność AST kształtowała się na poziomie  $64 \pm 51$  U/l a ALT  $70 \pm 84$  U/l [1]. Według badań Devgun'a jednorazowy epizod intensywnego spożycia etanolu nie powoduje wzrostu aktywności ALT i AST [50]. Zatem można wnioskować, że podwyższone aktywności tych enzymów, stwierdzone w badaniach własnych, prawdopodobnie są związane z wcześniejszym długotrwałym przyjmowaniem alkoholu etylowego przez pacjentów (45% zatrutych to osoby z ZZA). Niemniej na podstawie uzyskanych wyników nie można wykluczyć również wpływu narażenia na EG i jego metabolity oraz efektów działania stresu oksydacyjnego w komórkach wątroby [78, 156].

Oceniając aktywność ALT w grupie monitorowanej (A1a) najwyższe wartości stwierdzono po podaniu odtrutki i wdrożeniu zabiegu hemodializy ( $77,43 \pm 60,83$  U/l). W dniu wypisu ze szpitala aktywność tego enzymu nadal była wyższa o ponad 100% niż w grupie kontrolnej ( $53,11 \pm 30,71$  U/l vs  $25,40 \pm 10,41$  U/l). Po podaniu odtrutki stwierdzono również, ok. 16% wzrost aktywności AST, w porównaniu do aktywności zmierzonej w chwili przyjęcia ( $123,95 \pm 151,68$  U/l vs  $106,80 \pm 181,09$  U/l). W dniu wypisu aktywność tego enzymu była zbliżona do wartości zmierzonych w grupie kontrolnej ( $36,44 \pm 16,56$  U/l vs.  $29,27 \pm 8,23$  U/l).



W przebiegu alkoholowego zapalenia wątroby, aktywność AST może wzrastać dwu a nawet sześciokrotnie w porównaniu do wartości referencyjnych. Nie przekracza jednak 500 U/l, co jest znamienne dla innych przyczyn, takich jak procesy chorobowe niezwiązane ze spożywaniem alkoholu [42]. W badaniach własnych aktywności obu enzymów nie przekraczały wartości 150 U/l dla ALT i 180 U/l dla AST. Stwierdzone zmiany w aktywnościach obu enzymów przemawiają za przejściowym uszkodzeniem wątroby, która wykazuje duży potencjał regeneracyjny. Proces powrotu wątroby do prawidłowej czynności, również po ekspozycji na EG, jest jednak długotrwały [78, 114, 195].

Podsumowując, oznaczenie aktywności obu transaminaz w zatruciu EG ma niewielką wartość diagnostyczną i może być wykorzystywane jedynie jako wskaźnik czynności wątroby, świadczący m.in. o hepatotoksycznym działaniu alkoholu etylowego [132, 194]. W przyszłości należałoby rozważyć wykonanie innych badań pomocniczych takich jak: aktywność  $\gamma$ -glutamylotranspeptydazy (GGTP), aktywność fosfatazy alkalicznej (ALP), stężenie żelaza, niekiedy bilirubiny, które w lepszy sposób odzwierciedlają toksyczne uszkodzenia wątroby [75, 126, 195].

Najważniejszym etapem prezentowanej pracy była ocena markerów stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów hospitalizowanych z powodu zatrucia glikolem etylenowym. Uzyskane wyniki odniesiono do grupy kontrolnej. W przypadku osób zdrowych zakwalifikowanych do grupy kontrolnej, wyniki parametrów biochemicznych mieściły się w zakresie wartości referencyjnych ustalonych przez laboratorium.

Ocena parametrów stresu oksydacyjnego nie należy do rutynowych badań laboratoryjnych, stąd też wyniki oznaczeń wykonanych, przy użyciu dostępnych testów, odniesiono do wartości uzyskanych w grupie kontrolnej, a w interpretacji wykorzystano również wartości rejestrowane w większości opublikowanych danych [18, 20, 24, 26, 29, 40, 54, 146, 149, 173, 218]. Po stwierdzeniu, że otrzymane wyniki w grupie kontrolnej (60 osób dorosłych w wieku 18-69 lat) były zbliżone do opisywanych w dostępnych źródłach, przystąpiono do kluczowych porównań.

Do oceny równowagi oksydoredukcyjnej w grupie kontrolnej jak i badanej wykorzystano pomiary aktywności enzymów antyoksydacyjnych (katalazy, peroksydazy glutationowej, S-transferazy oraz reduktazy glutationowej), stężenia całkowitego glutationu oraz poziomu produktów peroksydacji lipidów, w tym stężenia hydroksynonenalu wraz z oceną całkowitej pojemności antyoksydacyjnej. Przeanalizowano wpływ wieku, płci, zaburzeń biochemicznych oraz stężeń alkoholi (EA, MA) w materiale biologicznym pobranym w określonych punktach czasowych na wartości markerów stresu oksydacyjnego.

Ponadto zbadano korelację wyników uzyskanych w określonych przedziałach czasowych u pacjentów monitorowanych w zależności od stężenia EG w krwi, zmieniającej się równowagi kwasowo-zasadowej, zaburzonej czynności nerkowo-wątrobowej, postępowania leczniczego oraz czasu jaki minął od zatrucia.

Markerami mierzącymi nasilenie stresu oksydacyjnego są zmiany m.in. aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz stężenia wybranych parametrów lub wskaźników [5, 76, 140, 150, 160, 169, 214, 215]. Prowadzone w tym zakresie badania w oparciu o określone markery stresu oksydacyjnego zmierzały w kierunku wzajemnego powiązania efektów działania glikolu etylenowego i równowagi oksydoredukcyjnej u pacjentów hospitalizowanych z powodu zatrucia.

Oznaczanie stężenia TBARS jest powszechnie stosowaną metodą wykorzystywaną do oceny poziomu produktów peroksydacji lipidów (LPO), podczas której reaktywne formy tlenu utleniając wielonienasycone kwasy tłuszczowe, powodują powstawanie nadtlenków lipidów. LPO jest jednym z najbardziej znanych procesów biologicznych, w którym przeważają reakcje utlenienia i degradacji, co w rezultacie prowadzi do dysfunkcji błony komórkowej, a ostatecznie całej komórki. Jednym z produktów utleniania lipidów jest aldehyd dimalonowy (MDA), który reagując z kwasem tiobarbiturowym (TBA) umożliwia ocenę natężenia reakcji wolnorodnikowych i powstających produktów peroksydacji lipidów. MDA stanowi jedynie 1% wszystkich produktów peroksydacji [9, 67, 150]. Zatem należy pamiętać, że reakcja z kwasem tiobarbiturowym nie jest specyficzna dla MDA i biorą w niej udział również inne aldehydy i ich pochodne. Fakt ten przyczynił się do wprowadzenia do oznaczeń dodatkowego, bardziej czułego markera stresu oksydacyjnego, jakim jest hydroksynonenal (HNE) [76, 80, 117, 171, 201].

Poziom TBARS, podobnie jak w większości opublikowanych prac, został przeliczony i wyrażony w  $\mu\text{mol/l}$ . W grupie kontrolnej osób zdrowych oznaczony poziom TBARS wynosił  $3,32 \pm 0,49 \mu\text{mol/l}$  i był niższy od oznaczanego w grupie badanej ( $4,28 \pm 1,99 \mu\text{mol/l}$ ). Wzrost TBARS w grupie badanej o ok. 29% w porównaniu do kontroli, może świadczyć o generowaniu produktów reakcji wolnorodnikowych i aktywacji procesu peroksydacji lipidów podczas biotransformacji EG. Analizując poziomy TBARS w przebiegu hospitalizacji pacjentów, stwierdzono jego gwałtowny spadek po podaniu odtrutki (o 60%) w porównaniu do wartości oznaczonej w chwili przyjęcia i rozpoznania zatrucia a następnie dynamiczny kilkudziesięciokrotny jego wzrost w dniu wypisu ze szpitala ( $4,35 \mu\text{mol/l}$  vs  $54,34 \mu\text{mol/l}$ ). Stwierdzony po podaniu odtrutki obniżony poziom TBARS może być spowodowany osłabieniem procesów peroksydacyjnych w chwili wdrożenia leczenia. Jednak nie bez

wpływu na stan równowagi oksydoredukcyjnej pozostaje również przeprowadzony zabieg hemodializy [47]. Wyniki badań Kędzierskiej wskazują na dużą zależność poziomu TBARS od rodzaju przeprowadzonego zabiegu hemodializy w grupie osób z przewlekłą niewydolnością nerek. Obserwowano, że poziom TBARS w grupie pacjentów dializowanych bez glukozy wzrastał, szczególnie w osoczu. Ponadto w grupie osób dializowanych z glukozą odnotowano niższe poziomy TBARS przed i po dializie [113]. Glukoza spełnia ważną rolę w płynie dializacyjnym, pozwalając na ultrafiltrację, czyli usuwanie wody z organizmu. Natomiast gwałtowny wzrost TBARS, odnotowany w dniu zakończenia hospitalizacji, może być wywołany późną odpowiedzią na inne źródła generujące wolne rodniki i produkty peroksydacji lipidów, niezwiązane z wcześniejszą biotransformacją EG. Podwyższone poziomy TBARS są często obserwowane w pracach oceniających równowagę oksydoredukcyjną w materiale pobranym od pacjentów w różnych stanach chorobowych m.in. w ostrym zapaleniu wyrostka robaczkowego, niealkoholowym stłuszczeniowym zapaleniu wątroby czy reumatoidalnym zapaleniu stawów [54, 117, 146, 216]. Również, zbliżone do własnych, wyniki wskazujące na aktywację LPO uzyskano w pracy Pelclovej u osób narażonych zawodowo na nanocząsteczki [162]. Także w licznych badaniach na zwierzętach, w których oceniano równowagę oksydoredukcyjną potwierdzono wzrost produktów reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) np. w ostrym zatruciu chlorfenwinfosem czy kadmem [44, 105, 136, 137].

Stężenie hydroksynonenalu, drugiego z wykorzystanych w pracy markerów LPO, było również podwyższone, o ok. 106% w porównaniu do kontroli (6,08 vs. 2,99 µg/ml). Tak duże zmiany w chwili przyjęcia pacjenta i potwierdzenia zatrucia, przemawiają za udziałem stresu oksydacyjnego w zatruciu EG i masywną produkcją tego aldehydu spowodowaną nasileniem procesów peroksydacyjnych. Po podaniu odtrutki, stężenie HNE nadal wzrastało o około 70% (6,08 vs 10,33 µg/ml), natomiast w dniu wypisu było ponownie zbliżone do wartości oznaczonych w dniu przyjęcia pacjenta do szpitala. Wzrost HNE po podaniu alkoholu etylowego jak i po hemodializie przemawia za zwiększonym generowaniem wolnych rodników w trakcie podjętego postępowania odtruwającego [47, 201]. Publikowane dane potwierdzają, również że bezpośredni kontakt krwi z błoną dializacyjną w czasie hemodializy powoduje szereg zmian morfotycznych krwi, co również może generować produkcję RFT i wzmacniać metabolizm tlenowy [47, 113, 155]. Publikowane dane wskazują, że znaczny wzrost stężenia HNE może występować u chorych na miażdżycę, choroby neurodegeneracyjne, nowotwory czy skrobiawicę a więc w stanach chorobowych, w których patogenezę zaangażowany jest stres oksydacyjny [201].

Dynamika zmian stężenia HNE i poziomu TBARS w grupie zatrutych glikolem etylenowym może również wynikać z charakterystycznego przebiegu zatrucia. Objawy zatrucia glikolem etylenowym pojawiają się szybko, jako pierwsze ze strony ośrodkowego układu nerwowego. Wzrost natężenia procesów oksydoredukcyjnych i generowanie produktów peroksydacyjnych odzwierciedla zaburzenia w podwyższonych poziomach TBARS i stężeniach HNE w pierwszych godzinach po zatruciu, statystycznie istotnie odbiegających od wartości występujących u osób zdrowych. Również pojawiające się w drugiej fazie zatrucia zaburzenia oddechowo-krażeniowe, mogą pobudzać procesy wolnorodnikowe, które są nasilane podczas terapii odtruwającej etanolem i po przeprowadzonej hemodializie, znajdujące swoje odbicie w istotnych zmianach wartości obu oznaczonych markerów.

W dostępnym piśmiennictwie niewiele jest danych dotyczących wpływu ostrego zatrucia glikolem etylenowym na parametry stresu oksydacyjnego. Istnieją natomiast pojedyncze doniesienia, z badań eksperymentalnych prowadzonych na zwierzętach laboratoryjnych, o zaburzeniach aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz obniżeniu stężenia glutationu w zatruciach przewlekłych EG [35, 106, 107, 116, 147].

W większości badań dotyczących szkodliwego wpływu narażenia na czynniki generujące wolne rodniki potwierdzono wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych [35, 109]. W badaniach własnych nie stwierdzono jednak takich zmian w aktywności S-transferazy glutationowej (GST), odgrywającej istotną rolę w katalizowaniu reakcji glutationu ze związkami elektrofilowymi i usuwaniu produktów tej reakcji na zewnątrz komórki np. nadtlenu wodoru [182, 183]. Brak zmian w aktywności GST może wynikać z niewielkiego jej udziału w procesach antyoksydacyjnych, za czym przemawia również niezmiennione stężenie glutationu. W badaniach przeprowadzonych przez zespół Green'a, w których szczurom (Sprague-Dawley), podawano 0,75% roztwór glikolu etylenowego w celu wywołania hiperoksalurii (przewlekłe zwiększone wydalanie szczawianów z moczem) przez okres jednego miesiąca. Na podstawie otrzymanych wyników wykazano wzrost wydalania GST (klasy  $\alpha$  i  $\mu$ ) z moczem po dwóch jak i po czterech tygodniach doświadczenia. Jednak, w kolejnym etapie badań, gdy zwierzęta poddano usunięciu jednej nerki (nefrektomii) w przebiegu zatrucia, poziom  $\mu$ -GST w moczu ulegał podwyższeniu dopiero po czterech tygodniach od ekspozycji, co było spowodowane miąższowym uszkodzeniem nerek, któremu towarzyszył wzrost wydalania również innych enzymów takich jak: dehydrogenaza mleczanowa (LDH) czy fosfataza alkaliczna (ALP) [85]. Również badania Celik'a i wsp., dotyczyły wpływu stresu oksydacyjnego w zatruciu podoстрыm glikolem etylenowym

u szczurów po podaniu 1,25% i 2,5% roztworu EG przez 21 dni. Potwierdziły one wzrost aktywność GST o ok. 60% w erytrocytach, 95% w mózgu, 21% w nerkach i 50% w sercu [35]. W nielicznych pracach pojawiają się dane dotyczące obniżonych aktywności GST i ograniczonego jej udziału w obronie antyoksydacyjnej. Wyniki pracy Muttig'i potwierdziły brak istotnego wzrostu GST w następstwie uszkodzenia komórek wątroby spowodowanego przez różne czynniki u pacjentów z wirusowym zapaleniem wątroby, marskością wątroby, leptospirozą czy malarią [149].

Reduktaza glutationowa (GR) jest enzymem przekształcającym disiarczek glutationu (GSSG) w zredukowany glutation (GSH), utrzymującym dzięki temu prawidłowe stężenie GSH w komórkach. GR bierze czynny udział w procesach detoksykacyjnych w obecności czynników redukujących takich jak NADPH. Wraz z peroksydazą glutationową oraz glutationem pełni istotną rolę w detoksykacji nadtlenu wodoru i nadtlenków organicznych powstających w następstwie peroksydacji lipidów [146].

Aktywność tego enzymu w grupie badanej była istotnie statystycznie o ok. 100% wyższa niż w grupie kontrolnej. W przebiegu hospitalizacji stwierdzono sukcesywny spadek aktywności GR aż do wartości mniejszych o około 60% niż w grupie kontrolnej. Zmiany te mogą świadczyć o zaangażowaniu GR w ochronę antyoksydacyjną przeciwko wolnym rodnikom generowanym przez EG. Nie można również wykluczyć udziału tego enzymu w detoksykacji wolnych rodników generowanych podczas terapii z wykorzystaniem alkoholu etylowego i hemodializy. Inni autorzy oceniając aktywność GR w prowadzonych badaniach donoszą, że jej poziom może ulegać zmianom w zależności od wieku, płci, narządu i lokalizacji enzymu. Obniżanie aktywności enzymu może być nie tylko związane z niedoborem GSH, ale również ze zmianą budowy cząsteczki enzymu pod wpływem reaktywnych form tlenu. Spadek aktywności GR obserwowano także w badaniu przeprowadzonym na grupie szczurów (Wistar), którym podawano roztwór EA w stężeniu 10%, przez dwa do sześciu tygodni [115]. Istotny wzrost GR stwierdzany jest w różnych schorzeniach, w tym w reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS) i schorzeniach wątroby pochodzenia niealkoholowego [146, 206].

Glutation jest szeroko występującym niskocząsteczkowym związkem tiolowym. Cechą wyróżniającą go ponad inne przeciwutleniacze jest obecność w jego strukturze grupy tiolowej (-SH) cysteiny, warunkującej udział w reakcjach antyoksydacyjnych i detoksykacyjnych. Wraz z peroksydazą glutationową oraz reduktazą glutationową pełni istotną rolę w detoksykacji nadtlenu wodoru oraz nadtlenków organicznych powstałych w wyniku peroksydacji lipidów. Zredukowany glutation (GSH) usuwa wolne rodniki i zapewnia

w komórce równowagę w ilości grup –SH [27, 134]. W reakcji eliminacji nadtlenu wodoru powstaje disiarczek glutationu (GSSG), którego stężenie w warunkach fizjologicznych w komórkach jest dość niskie i wzrasta dopiero w stresie oksydacyjnym.

W badaniach własnych oznaczano całkowitą zawartość glutationu (GSH/GSSG). W grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym, w chwili przyjęcia do szpitala i potwierdzenia zatrucia, stwierdzono statystycznie istotne obniżenie stężenia glutationu o ok. 54% w porównaniu do grupy kontrolnej. Tak nagły ubytek glutationu może wynikać z nasilonej jego konsumpcji i niedostatecznej syntezy w warunkach stresu oksydacyjnego spowodowanego ostrym działaniem EG. Jest to niekorzystna sytuacja, gdyż deplecja glutationu może prowadzić do uszkodzeń komórkowych m.in. pęcznienia mitochondriów, nasilonej wakuolizacji czy pęknięcia błon mitochondrialnych [134, 186]. Z opublikowanych danych wynika, że glutation reagując z różnymi strukturami wolnorodnikowymi, jest również donorem elektronów do redukcji nadtlenu, w reakcjach, w których udział bierze peroksydaza glutationowa. Generowany nadtlenek wodoru, który powstaje podczas przemian biotransformacyjnych EG może być usuwany drogą enzymatyczną właśnie przy udziale GSH [27]. Zaangażowanie glutationu w usuwanie nadtlenu wodoru, generowanego w pierwszej fazie zatrucia EG może skutkować, po wyczerpaniu jego rezerw, znacznym obniżeniem, co stwierdzono w chwili przyjęcia pacjentów do szpitala. Odnotowany następnie wzrost stężenia glutationu po podaniu odtrutki utrzymywał się na podobnym poziomie wynosząc ok. 12  $\mu\text{mol/l}$  w kolejnych dniach hospitalizacji. Rejestrowane stężenia glutationu, od chwili wdrożenia leczenia, nieznacznie odbiegały od wartości oznaczonych w grupie kontrolnej ( $12,42 \pm 2,15$  vs  $14,61 \pm 0,89$ ), co może przemawiać za brakiem dalszych zaburzeń w równowadze oksydoredukcyjnej, wymagających jego udziału. W dostępnym piśmiennictwie opisywane są liczne badania, głównie na zwierzętach, oceniające udział glutationu w usuwaniu wolnych rodników i obronie antyoksydacyjnej. W badaniach Celik'a, markery stresu oksydacyjnego oznaczono w erytrocytach, mózgu, wątrobie, nerkach, sercu i żołądka zwierząt (Sprague-Dawley). W obu grupach, po podawaniu dwóch roztworów EG o różnych stężeniach (1,25% i 2,5%), stwierdzono istotny statystycznie wzrost stężenia GSH w mózgu, odpowiednio o ok. 31% i ok. 19%. Obniżone o ok. 8% stężenia GSH w erytrocytach stwierdzono w grupie zwierząt otrzymujących 2,5% roztwór EG [35]. W badaniach przeprowadzonych przez Bashir'a szczurom (Wistar), podawano 0,75% roztwór EG przez trzy tygodnie. Stężenie glutationu w nerkach było obniżone o około 30%, przy równoczesnym wzroście aktywności enzymów antyoksydacyjnych (CAT, SOD, GPx) [10]. Znaczne obniżenie stężenia glutationu w nerkach stwierdził również Ashok i wsp.

w prowadzonych badaniach u szczurów (Wistar), którym podawano przez okres miesiąca 0,75% roztwór EG [2].

Katalaza (CAT) katalizuje reakcję dysproporcjonowania nadtlenu wodoru. Jako enzym o podwójnej funkcyjności, wykazuje aktywność: typową (cytoplazmatyczną) i atypową (proksymalną). Z jednej strony CAT katalizuje reakcję dysmutacji  $H_2O_2$ , natomiast z drugiej chroni komórkę przed działaniem rodnika hydroksylowego. W stosunku do niektórych związków chemicznych, katalaza wykazuje jedynie aktywność cytoplazmatyczną np. w reakcji utleniania alkoholi: etylowego i metylowego oraz związków takich jak: azotyny czy mrówczany. Nadtlenek wodoru spełnia wówczas funkcję substratu redukowanego do wody przez związki, które są donorami atomów wodoru [6, 17, 19].

W badaniach własnych, w chwili potwierdzenia zatrucia stwierdzono siedmiokrotny wzrost aktywności CAT w porównaniu do kontroli, utrzymujący się na podwyższonym poziomie również po podaniu odtrutki i wdrożeniu leczenia. Dopiero w trzeciej dobie hospitalizacji aktywność tego enzymu uległa obniżeniu o 50% w porównaniu do pomiaru wykonanego przy przyjęciu, co przemawia za wyczerpywaniem się jej rezerw podczas rozkładu nadtlenu wodoru. W badaniach prowadzonych przez Jurczyk i wsp., w których ocenie poddano wpływ EG na aktywności wybranych enzymów antyoksydacyjnych u szczurów (Lewis), otrzymujących 1,0 M roztwór przez okres trzech miesięcy, w czwartym tygodniu narażenia stwierdzono obniżenie aktywności CAT, w porównaniu do grupy kontrolnej otrzymującej wodę [109]. We wspomnianych już badaniach Celik'a, po podaniu dwóch różnych stężeń EG (1,25 i 2,5%) również stwierdzono obniżenie aktywności katalazy w erytrocytach, wątrobie i nerkach, przy jednoczesnym wzroście jej aktywności w żołądku. W obu grupach, po podaniu EG, aktywność katalazy była niezmienną w sercu i mózgu [35]. Odmienne wyniki uzyskał zespół Huang'a, badając aktywność katalazy w nerkach szczurów (Wistar), którym podawano 0,75% roztwór glikolu etylenowego przez 42 dni [97]. W początkowej fazie stwierdzono wzrost aktywności CAT, co mogło być związane z ostrą fazą zatrucia glikolem etylenowym i nadprodukcją nadtlenu wodoru w tym okresie. W końcowej fazie prowadzonych badań aktywność katalazy w nerce była istotnie obniżona, co prawdopodobnie związane było z wyczerpaniem zasobów antyoksydacyjnych [97]. W innych badaniach prowadzonych przez Kukielkę i Cederbaum'a, zastosowanie katalazy w zatruciu glikolem etylenowym, jako inhibitora reakcji, w której powstaje formaldehyd z EG, potwierdziło funkcję ochronną tego enzymu przed skutkami stresu oksydacyjnego powstającego w następstwie podania EG [123].

Peroksydaza glutationowa (GPx) należy do grupy enzymów, które redukują nadtlarki nieorganiczne oraz organiczne z wytworzeniem kwasu selenowego. Głównym jej zadaniem jest reagowanie z nadtlarkiem wodoru, wodoronadtlenkiem tyminy oraz z innymi szkodliwymi wodoronadtlenkami lipidów, w tym również pochodnymi cholesterolu w obecności zredukowanego glutationu, tym samym zapobieganie m.in. utlenianiu lipidów błon komórkowych [159]. Niektóre z chorób neurologicznych a także chorób układu krążenia (m.in. młodzieńcza kardiomiopatia; choroba Keshan), nowotwory oraz polipy jelita grubego czy obniżona płodność mogą przyczynowo być związane z niedostateczną podażą selenu oraz z obniżoną aktywnością GPx [127, 131].

Otrzymane w badaniach własnych wyniki aktywności GPx istotnie odbiegały od wartości kontrolnych, co potwierdzono w analizach statystycznych. Aktywność GPx w grupie badanej, w przeciwieństwie do CAT i GR, jako jedyna spośród oznaczonych enzymów antyoksydacyjnych, była obniżona o około 30% (195,74 U/l vs 142,84 U/l). Bezpośrednia szybka reakcja GPx z nadtlarkiem wodoru może być przyczyną jej obniżonej aktywności oznaczonej w chwili przyjęcia pacjentów do szpitala. W grupie pacjentów monitorowanych, aktywność GPx ulegała dalszemu obniżeniu (128,86 U/l) po podaniu odtrutki, co można wiązać z obecnością dodatkowego czynnika generującego stres, czyli alkoholu etylowego jak i hemodializy, które dodatkowo wyczerpywały rezerwy tego enzymu, podobnie jak to stwierdzono w przypadku aktywności GR. W kolejnych punktach pomiarowych aktywność GPx powoli wzrastała, osiągając w dniu wypisu ze szpitala wartości zbliżone do otrzymanych w grupie kontrolnej (194,60 U/l vs 195,74 U/l). Powrót GPx do wartości prawidłowych może świadczyć o wygaszaniu zaburzeń oksydacyjnych. Celik w swoich badaniach, dotyczących aktywności enzymów antyoksydacyjnych w zatruciu podostrym EG, wykazał spadek aktywności peroksydazy glutationowej w erytrocytach oraz jej wzrost w mózgu. Zmiany te autor tłumaczył naruszeniem równowagi oksydoredukcyjnej w następstwie stresu oksydacyjnego wywołanego podaniem EG [35].

Ostatnim parametrem na podstawie którego, rozważano udział stresu oksydacyjnego w zatruciu EG był pomiar TAC, umożliwiający ocenę całkowitej zdolności antyoksydacyjnej różnych cząsteczek przeciwutleniaczy, z wykorzystywaniem mechanizmu SET [41]. W badaniach własnych stwierdzono jedynie niewielkie, statystycznie nieistotne różnice między wartościami TAC u zatrutych glikolem etylenowym ( $874,98 \pm 480,98$ ) i u pacjentów zdrowych, stanowiących grupę kontrolną ( $893,21 \pm 103,44$ ). Nie potwierdzono wpływu glikolu etylenowego na całkowitą pojemność antyoksydacyjną organizmu w badanej grupie, co może



wynikać z faktu, że w warunkach fizjologicznych wytwarzanie RFT jest równoważone przez procesy antyoksydacyjne.

W dostępnym piśmiennictwie można znaleźć liczne przykłady potwierdzające przydatność oceny całkowitej pojemności antyoksydacyjnej w badaniach klinicznych. W pracy Neethumol'a w grupie mężczyzn w wieku od 30 do 70 lat, spożywających nałogowo alkohol etylowy przez okres powyżej trzech lat, potwierdzono, że EA jest czynnikiem przyczyniającym się do występowania stresu oksydacyjnego w organizmie i obniżenia całkowitej zdolności antyoksydacyjnej, w porównaniu do grupy kontrolnej, którą stanowili mężczyźni, nie uzależnieni od alkoholu w podobnej grupie wiekowej [153].

W badaniach własnych, podczas monitorowania grupy A1a, odnotowano gwałtowny spadek TAC, podobnie jak w przypadku innych markerów (TBARS, GR czy GPx) po wdrożeniu postępowania odtruwającego za pomocą alkoholu etylowego i przeprowadzeniu zabiegu hemodializy. Obniżenie wartości TAC przemawiało raz kolejny za generowaniem stresu oksydacyjnego przez podany w terapii alkohol etylowy i zmniejszaniem rezerw antyoksydantów zabezpieczających komórkę przez jego szkodliwym działaniem pod wpływem hemodializy [62].

W piśmiennictwie dostępne są również dane dotyczące przydatności oznaczeń TAC w ocenie stresu oksydacyjnego. Buico oceniał zastosowanie TAC u pacjentów z przewlekłą białaczką i nowotworami ginekologicznymi oraz u palaczy. Otrzymane wyniki wykazały, że w porównaniu z grupą kontrolną, wartość TAC była znacząco niższa u osób palących natomiast ulegała podwyższeniu u chorych z przewlekłą białaczką i nowotworami ginekologicznymi [26]. Co ciekawe, Jackson w swojej pracy oceniał wpływ hemodializy u pacjentów z przewlekłą niewydolnością nerek, wykorzystując oznaczenia TAC. Uzyskane wyniki wykazały wzrost całkowitej pojemności antyoksydacyjnej u osób zakwalifikowanych do zabiegu i jej spadek po zakończonej hemodializie. Podwyższoną wartość TAC przed hemodializą wiązano z wysokim poziomem moczanów, który ulegał obniżeniu w następstwie hemodializy. Niskie wartości mocznika po hemodializie sprzyjały wyczerpywaniu przeciwutleniaczy biorących udział w procesach antyoksydacyjnych w grupie pacjentów dializowanych, co przyczynia się do szybszego rozwoju miażdżycy u tych chorych [101]. W wielu pracach autorzy stosują oznaczenia TAC jako biomarkera w różnych schorzeniach (choroby serca, choroby neurologiczne i psychiczne, astma, uszkodzenie nerek, cukrzyca, stwardnienie rozsiane, zakażenie wirusem HIV) oraz podejmują próbę wykorzystania TAC jako wskaźnika diagnostycznego jak i prognostycznego. Wyniki tych badań wskazują na to,

że zastosowanie skutecznej terapii w omawianych schorzeniach wpływa korzystnie na całkowitą pojemność antyoksydacyjną, zwiększając jej poziom [54, 125, 189, 193, 218].

Trudna jest interpretacja uzyskanych wyników własnych w odniesieniu do badań innych autorów. Przegląd dostępnego piśmiennictwa wykazał brak opublikowanych badań dotyczących stresu oksydacyjnego w kontekście zmian w aktywnościach enzymów GPx, CAT, GST i GR, czy pozostałych analizowanych parametrów stresu oksydacyjnego w ostrych zatruciach glikolem etylenowym. W badaniach własnych w potwierdzonym zatruciu EG stwierdzono istotne różnice w wartościach oznaczanych markerów w grupie badanej i grupie kontrolnej, z wyjątkiem całkowitej pojemności antyoksydacyjnej.

Opisywane przypadki ostrych zatruc EG wskazują na konieczność rozważenia istotnych aspektów dla tego zatrucia, takich jak np. czas jaki minął od spożycia, szybka diagnoza czy zastosowane leczenie. Często zdarza się, iż pacjenci trafiają do szpitala w późnej fazie zatrucia EG, czyli w okresie w którym nie można już stwierdzić istotnych zmian równowagi oksydoredukcyjnej, powstających na skutek przemian EG z udziałem cytochromu P450.

Kolejnym etapem analizy uzyskanych wyników w grupie osób zatrutych w porównaniu do kontroli była ocena wpływu wieku i płci na wartość wybranych markerów stresu oksydacyjnego.

W wyniku przeprowadzonej analizy w grupie kontrolnej wykazano zależny od wieku pacjenta wzrost aktywności katalazy oraz poziomu TBARS. Stwierdzono, że im pacjent starszy, tym wartości obu parametrów są wyższe. Podobne wyniki uzyskali Goth oraz Inal, którzy potwierdzili zależny od wieku wzrost aktywności CAT [83, 99]. Dodatkowo Inal i wsp. wskazali taką zależność również w przypadku aktywności GPx [99]. W badaniach własnych nie stwierdzono wpływu wieku na aktywność GPx. Odmienne wyniki uzyskał Cals i wsp., gdzie w populacji francuskiej stwierdził zależne od wieku obniżenie aktywności CAT i GPx [29]. Różnice te mogą jednak wynikać z różnych danych geograficznych, metodologicznych, płci, ilości spożywanego alkoholu, palenia tytoniu i innych współistniejących chorób, które w konsekwencji powodują wzrost wolnych rodników i przewagę stresu oksydacyjnego nad systemami obronnymi organizmu. Badania Inal i wsp. oraz Junqueir'a wykazały również zależny od wieku wzrost TBARS [99, 104]. Badania przeprowadzone u kobiet w wieku przed- i pomenopauzalnym, wykazały wyższe stężenia HNE w grupie kobiet starszych [185].

Spośród parametrów biochemicznych w badaniach własnych w grupie kontrolnej stwierdzono zależny od wieku wzrost stężenia kreatyniny. Zależność ta została potwierdzona

również w badaniach Tiao przeprowadzonych u kobiet w wieku powyżej 40 roku życia i mężczyzn powyżej 60 lat, u których odnotowano łagodny wzrost stężeń kreatyniny zależny od wieku [198].

Analizując wpływ płci na wartość ocenianych parametrów, zależność taką w grupie kontrolnej potwierdzono jedynie w przypadku stężenia HNE, które było wyższe u kobiet niż u mężczyzn. Zależność ta została potwierdzona również w badaniach Wagnerberger i wsp. przeprowadzonych w grupie szczurów z poalkoholową chorobą wątroby, u których stwierdzono wyższe stężenie HNE u samic niż u samców [205].

W badaniach własnych, w grupie osób zatrutych glikolem etylenowym nie stwierdzono jednak wpływu wieku na wartości żadnego z ocenianych markerów. Nie przeprowadzono natomiast analizy zależności ocenianych markerów od płci ze względu na niejednorodność badanej grupy (2 kobiety, 45 mężczyzn).

Kolejny etap analizy dotyczył oceny zależności równowagi kwasowo-zasadowej i biochemicznej od wieku, stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego oraz metylowego. W oparciu o zastosowane testy statystyczne nie stwierdzono wpływu wieku ani obecności badanych alkoholi na parametry biochemiczne i równowagę kwasowo-zasadową u zatrutych pacjentów.

Istotnie statystycznie różnice stwierdzono natomiast w wartościach markerów stresu oksydacyjnego, których wartości były zależne od stężenia glikolu etylenowego i alkoholi: etylowego oraz metylowego w krwi. Wykazano, że wraz ze wzrostem stężenia glikolu etylenowego podwyższeniu ulegają aktywności katalazy i reduktazy glutationowej oraz poziom TBARS. Podwyższone wartości tych markerów potwierdzają udział stresu oksydacyjnego w zatruciu EG. Ponadto stwierdzono, że obecność alkoholu etylowego, podawanego podczas leczenia, istotnie wpływa na poziom TAC, przy czym wykazano, że im wyższe stężenie etanolu, tym niższe wartości TAC, co potwierdzają również inne opublikowane dane. Podobną zależność wykazano w grupie alkoholików, gdzie poziom TAC był znacznie niższy niż u osób zdrowych, stanowiących grupę kontrolną [153]. Również obecność metanolu, w 8 przypadkach wpłynęła na równowagę oksydoredukcyjną. Stwierdzono, że im wyższe stężenie alkoholu metylowego, tym wyższe aktywności reduktazy glutationowej. Podobne wyniki uzyskała Skrzydlewska w doświadczalnym zatruciu metanolem u zwierząt, w których potwierdziła zaburzenia aktywności enzymów antyoksydacyjnych, w tym wpływ metanolu na aktywność GR [188].

Następny etap przeprowadzonej analizy dotyczył oceny wpływu zaburzeń biochemicznych i równowagi kwasowo-zasadowej na poziom stresu oksydacyjnego

u zatrutych. Zależność taką stwierdzono jedynie między stężeniem kreatyniny i mocznika a aktywnością GST i stężeniem HNE. Wraz ze wzrostem wartości kreatyniny i mocznika wzrastały wartości markerów stresu oksydacyjnego takich jak: GST i HNE. Opublikowane badania innych autorów potwierdzają wpływ zmian stężenia kreatyniny na poziom TBARS oraz mocznika na aktywność innych enzymów np. dysmutazy ponadtlenkowej [62].

W dalszym etapie przeanalizowano wpływ czasu, w jakim pacjenci byli zdiagnozowani na stężenia EG, EA i MA. Pacjentów podzielono na dwie grupy: 28 osób, u których potwierdzono zatrucie poniżej 12 godziny od zatrucia (grupa I) i 19 osób, zdiagnozowanych między 12 a 24 godziną (grupa II). Przeprowadzona analiza potwierdziła, że im później pacjenci trafiali do szpitala, tym rejestrowane stężenia EG były niższe, co spowodowane było eliminacją EG z krwi w wyniku zachodzących przemian biotransformacyjnych.

W zależności od czasu w jakim pacjenci trafiali do szpitala, analizie poddano również stan równowagi oksydoredukcyjnej. Istotnie statystycznie różnice odnotowano prawie we wszystkich markerach, z wyjątkiem aktywności GST, stężenia glutationu i poziomów TAC. Stwierdzono, że im później zatruci pacjenci trafiali do szpitala, tym niższe były aktywności CAT i GR oraz poziom TBARS, co przemawiało za toczącymi się wcześniej, jeszcze przed 12 godziną od narażenia, procesami prooksydacyjnymi, wyczerpującymi rezerwy tych enzymów. Późniejszy wzrost aktywności GPx może wskazywać, że działa ona jako druga linia obrony przed zmianami oksydacyjnymi pojawiającymi się w późniejszym okresie zatrucia. Nieliczne są dane z piśmiennictwa, które oceniają dynamikę zmian enzymów antyoksydacyjnych w czasie. Publikowane wyniki Lemarié dostarczają informacji o późniejszej aktywacji tego enzymu w badaniach prowadzonych w grupie szczurów (Sprague-Dawley) po przeszczepach skóry. Zastosowana hiperbaria (podwyższone ciśnienie tlenu) wywoływała znaczny wzrost poziomów TBARS i aktywności GPx, co w przypadku enzymu następowało znacznie później (4 vs 7 dni) [128].

Kolejnym etapem analizy była ocena wpływu stężeń EG, EA i MA na liczbę zgonów w grupie zatrutych. Analizowaną grupę A1 podzielono na pacjentów, którzy przeżyli zatrucie (30 pacjentów) oraz którzy zmarli (17 zgonów). Nie stwierdzono wpływu stężeń badanych alkoholi na liczbę zgonów. Również żaden marker stresu oksydacyjnego nie korelował z przeżywalnością pacjentów w grupie. Natomiast stwierdzono korelację pomiędzy przeżywalnością pacjentów a stężeniem jonów  $[H^+]$ . U wszystkich zmarłych pacjentów stwierdzono niższe wartości pH, czyli wysokie stężenie jonów  $[H^+]$  niż u pacjentów, którzy przeżyli zatrucie ( $11,83 \pm 5,83$  vs  $16,58 \pm 6,71$ ).

Analizę wpływu czasu w jakim pacjenci trafili do szpitala na oznaczane parametry przeprowadzono również w grupie pacjentów monitorowanych (grupa A1a). Czas hospitalizacji w większości przypadków nie wpływał na wyniki badań biochemicznych. Stwierdzono natomiast zależne od czasu hospitalizacji niższe wartości  $pO_2$  i rejestrowanych stężeń EG oraz niższe aktywności GR oraz TBARS w chwili przyjęcia pacjentów powyżej 12 godzin od zatrucia.

Sprawdzono również wpływ zaburzeń biochemicznych i równowagi kwasowo-zasadowej na stres oksydacyjny w grupie pacjentów monitorowanych. Szybko pojawiające się zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej nie wpływały istotnie na wybrane markery stresu oksydacyjnego w chwili przyjęcia pacjenta do szpitala (1). W okresie tym, w obszarze zmian biochemicznych i narządowych, stwierdzono jedynie korelację pomiędzy stężeniem mocznika a poziomem TBARS. Wraz ze wzrostem stężenia mocznika (upośledzona czynność nerek) wzrastał poziom TBARS (zwiększona ilość produktów peroksydacji lipidów). Opublikowane dane innych autorów potwierdzają, że na poziom TBARS może wpływać stężenie kreatyniny, co pozwala przypuszczać, że w patogenezę uszkodzenia nerek (potwierdzone podwyższonym stężeniem kreatyniny lub mocznika) zaangażowana jest wzmożona peroksydacja lipidów [62].

Wdrożone leczenie przy użyciu alkoholu etylowego oraz przeprowadzenie zabiegu hemodializy (2) znalazły swoje odzwierciedlenie w podwyższonych aktywnościach GST. Stwierdzono, że im wyższe stężenie EA podczas terapii, tym wyższa aktywność GST. Wzrost aktywności GST potwierdził również Das i wsp., po przewlekłym narażeniu na EA [46]. Wykazano również zależność między  $pO_2$  i GST, gdzie wyższe poziomy  $pO_2$  korelowały z wyższymi aktywnościami GST. Wdrożenie leczenia przy użyciu alkoholu etylowego oraz przeprowadzenie zabiegu hemodializy miały swoje odzwierciedlenie również w podwyższonych aktywnościach AST i CAT. Podobną zależność stwierdzono również między drugą a trzecią dobą (3). Wykazano, że im wyższa aktywność AST, tym wyższe CAT, co można łączyć z udziałem katalazy w procesach antyoksydacyjnych, przy jednoczesnych objawach niewydolności wątroby [62]. Ujemną korelację natomiast stwierdzono między poziomem TAC i aktywnością ALT w trzeciej dobie tj. im niższa aktywność ALT, tym wyższe wartości TAC.

W ostatnim dniu hospitalizacji (4), stwierdzono zmiany w wielu oznaczeniach. Wykazano dodatnią korelację między aktywnościami ALT i GR oraz między stężeniem mocznika a aktywnością GST i stężeniem glutationu. Podobne zależności stwierdzono w przypadku wpływu poziomu  $pCO_2$  i  $pO_2$  na aktywność CAT. Również stężenie jonów  $[H^+]$

wpływało istotnie na stan równowagi oksydoredukcyjnej w tym okresie. Wyższe stężenie jonów  $[H^+]$  w dniu wypisu pacjenta ze szpitala korelowało z wyższymi aktywnościami GR i wyższym stężeniem glutationu. Natomiast wyższe stężenia wodorowęglanów  $HCO_3^-$  korelowały ze wzrostem aktywności GR. Wszelkie stwierdzone zmiany wskazują na dynamiczne pobudzanie systemu oksydacyjnego w zależności od zmian biochemicznych i uszkodzeń narządowych.

Podsumowując, glikol etylenowy a zwłaszcza produkty jego degradacji są związkami cytotoksycznymi dla komórek i wywołują silny stres oksydacyjny, głównie poprzez peroksydację lipidów. Wywoływany w ten sposób stres oksydacyjny jest dodatkowo stymulowany przez anionorodnik ponadtlenkowy i nadtlenek wodoru, powstające podczas przemian biotransformacyjnych EG z aldehydu mrówkowego. Powstałe wodoronadtlenki lipidowe inicjują i przyspieszają proces peroksydacji lipidów, wpływając destrukcyjnie na błony komórkowe, które tracą swoją integralność. Generowany nadtlenek wodoru prowadzi do obniżenia stężenia glutationu i wzrostu aktywności CAT i GR w pierwszej fazie zatrucia. Intensywny udział GPx świadczy o wyczerpaniu jej aktywności w chwili rozpoznania zatrucia, co po raz kolejny potwierdza udział stresu oksydacyjnego w ostrym zatruciu EG i wskazuje na fakt, że zaburzenia równowagi oksydoredukcyjnej są jednym z mechanizmów toksycznego działania tego alkoholu. Wyniki uzyskane w badaniach własnych potwierdzają występowanie zaburzeń równowagi oksydoredukcyjnej w organizmie u pacjentów z ostrym zatruciem glikolem etylenowym, a wybrane markery w zróżnicowany sposób odzwierciedlają te zmiany, co znajduje swoje odbicie szczególnie w poziomach TBARS i stężeniach HNE.

Również zmienione aktywności niektórych enzymów w różny sposób wskazują na zaburzenia oksydacyjne. Zmiany te dotyczą szczególnie aktywności CAT i GR w chwili przyjęcia i potwierdzenia zatrucia. Nie stwierdzono natomiast różnic w poziomach całkowitej pojemności antyoksydacyjnej TAC w grupie wszystkich zatrutych pacjentów jak i u pacjentów monitorowanych podczas hospitalizacji z wyjątkiem drugiego punktu pomiarowego, w którym wdrożono leczenie etanolem i hemodializą.

Cenne obserwacje wynikają z pomiarów przeprowadzonych po wdrożeniu leczenia i przeprowadzeniu zabiegu hemodializy. Łączne zastosowanie obydwu elementów w postępowaniu terapeutycznym w ostrych zatruciach EG wpływało, w większości przypadków, na wartości wybranych markerów przemawiając za nasilonymi procesami oksydacyjnymi, związanymi z alkoholem etylowym i wpływem hemodializy (podwyższone stężenie HNE oraz obniżone aktywności enzymów: CAT, GPx, GR oraz spadek wartości TAC).

Większość wybranych markerów koreluje z ciężkością zatrucia, niemniej jednak z uwagi na złożoność pomiarów nie ustalono jednoznacznie, które z nich mogą stanowić czynnik prognostyczny. Stwierdzono natomiast istotny wpływ czasu jaki minął od zatrucia na aktywność niektórych z nich.

Przedstawione w niniejszej pracy wyniki badań dostarczają nowych informacji i poszerzają wiedzę na temat stresu oksydacyjnego, występującego w ostrym zatruciu glikolem etylenowym, jako jednego z istotnych mechanizmów toksycznego działania tego alkoholu u ludzi.

## 7. Wnioski

1. Glikol etylenowy oraz powstające podczas jego biotransformacji, reaktywne formy tlenu indukują stres oksydacyjny w zatruciu ostrym, którego następstwem są: peroksydacja lipidów, niedobór glutationu oraz zaburzenia aktywności enzymów biorących udział w obronie antyoksydacyjnej.
2. Poziom markerów stresu oksydacyjnego zależy od stężenia glikolu etylenowego w krwi zatrutych pacjentów. Wzrost stężenia glikolu etylenowego w krwi koreluje z podwyższonymi aktywnościami katalazy i reduktazy glutationowej oraz wyższym poziomem TBARS. Natomiast im niższe stężenie glikolu etylenowego, tym mniejsza aktywność peroksydazy glutationowej oraz stężenie hydroksynonenalu.
3. Obecność alkoholu etylowego w zatruciu EG istotnie wpływa na poziom TAC, a współobecność alkoholu metylowego na aktywności reduktazy glutationowej.
4. Alkohol etylowy podany zgodnie z obowiązującymi standardowymi procedurami odtruwającymi i zabieg hemodializy nie wpływają na równowagę kwasowo-zasadową i czynność nerkowo-wątrobową u zatrutych pacjentów.
5. Wdrożone postępowanie odtruwające (podanie alkoholu etylowego i zastosowanie hemodializy) nasila występujące w zatruciu zaburzenia równowagi oksydoredukcyjnej, za czym przemawiają podwyższone stężenia hydroksynonenalu oraz obniżone aktywności: katalazy, peroksydazy glutationowej, reduktazy glutationowej oraz spadek wartości TAC.
6. Zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej oraz podwyższone markery wątrobowe (ALT i AST) w przebiegu ostrego zatrucia EG nie wpływają na markery stresu oksydacyjnego. Współistniejąca w zatruciu niewydolność nerek wpływa na równowagę oksydoredukcyjną u zatrutych, co stwierdzono na podstawie dodatniej korelacji między stężeniem mocznika i stężeniem hydroksynonenalu oraz między stężeniem kreatyniny i aktywnością S-transferazy glutationowej.
7. Czas postawienia diagnozy istotnie wpływa na wybrane markery stresu oksydacyjnego, w tym na obniżoną aktywność reduktazy glutationowej i ilość substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS). Nie stwierdzono wpływu czasu diagnozy na aktywność S-transferazy glutationowej, stężenie glutationu całkowitego i poziom TAC.
8. Stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i metylowego nie wpływają istotnie na przeżywalność zatrutych pacjentów. Nie stwierdzono wpływu zmienionych wartości markerów stresu oksydacyjnego a także parametrów biochemicznych oraz równowagi



kwasowo-zasadowej. Śmiertelność zatrutych pacjentów zwiększała się wraz ze wzrostem stężenia jonów  $[H^+]$ .

9. Większość ocenianych markerów stresu oksydacyjnego koreluje z ciężkością zatrucia, niemniej jednak z uwagi na złożoność pojawiających się zaburzeń ustrojowych nie można jednoznacznie ustalić, który z nich może stanowić czynnik prognostyczny.
10. Uzyskane w pracy wyniki dostarczają nowych informacji i poszerzają wiedzę na temat występowania stresu oksydacyjnego w ostrym zatruciu glikolem etylenowym, jako jednego z istotnych mechanizmów jego toksycznego działania u ludzi.

## 8. Streszczenie

Autor: mgr Karina Sommerfeld

Tytuł: **Udział stresu oksydacyjnego w ostrym zatruciu glikolem etylenowym**

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu glikolu etylenowego na równowagę oksydoredukcyjną w materiale klinicznym pobranym od pacjentów hospitalizowanych z powodu ostrego zatrucia tym alkoholem. Badaniami objęto 69 pacjentów w wieku od 20 do 82 lat, diagnozowanych w kierunku zatrucia glikolem etylenowym w latach 2009-2013 (65 mężczyzn i 4 kobiety) na terenie województw: wielkopolskiego i lubuskiego (grupa A). Po wstępnej analizie, dokonanej na podstawie dokumentacji medycznej, badaniami objęto 47 pacjentów, u których w krwi potwierdzono obecność glikolu etylenowego w stężeniu powyżej 0,2 g/l (A1). Ponadto wyznaczono stężenie alkoholu etylowego i alkoholu metylowego i dokonano oceny równowagi kwasowo-zasadowej ( $\text{pH}/[\text{H}^+]$ ,  $\text{pCO}_2$ ,  $\text{pO}_2$ , BE i  $\text{HCO}_3^-$ ) i stanu czynnościowego nerek (kreatynina i mocznik) oraz wątroby (aminotransferaza alaninowa i asparaginianowa). Kluczową dla pracy analizę równowagi antyoksydacyjnej oparto o pomiary aktywności enzymów antyoksydacyjnych (katalazy, peroksydazy glutationowej, S-transferazy oraz reduktazy glutationowej), stężenia glutationu oraz poziomu produktów peroksydacji lipidów, w tym stężenia TBARS i hydroksynonenalu wraz z oceną całkowitej pojemności antyoksydacyjnej (TAC). Aktywności enzymów antyoksydacyjnych, stężenia hydroksynonenalu (HNE) i całkowitego glutationu oraz poziomy TBARS i TAC w surowicy krwi zatrutych pacjentów porównano z grupą kontrolną osób zdrowych (60 osób w wieku 18-69 lat, zgłaszających się na badania kontrolne, u których nie stwierdzono odchyień od wartości referencyjnych).

Uzyskane wyniki, potwierdziły występowanie u zatrutych nasilonych procesów peroksydacji lipidów, obniżenie stężenia całkowitego glutationu i wzrost aktywności CAT i GR w pierwszej fazie zatrucia. Stwierdzono, że wybrane markery w zróżnicowany sposób odzwierciedlają występujące zaburzenia oksydacyjne, co znalazło swoje odbicie szczególnie w poziomach TBARS i stężeniach HNE jak i w zmienionych aktywnościach niektórych enzymów. Potwierdzono wpływ wieku na wybrane markery stresu oksydacyjnego, w tym aktywność katalazy i poziom TBARS w grupie kontrolnej. Podobną zależność stwierdzono między stężeniem kreatyniny a wiekiem osób zdrowych. Potwierdzono wpływ płci na wartości hydroksynonenalu, które były wyższe u kobiet niż u mężczyzn. W grupie osób

zatrutych glikolem etylenowym nie stwierdzono wpływu wieku na wartości żadnego z ocenianych markerów.

W kolejnym etapie badań oceniono wpływ stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i metylowego na wyniki gazometrii i parametry biochemiczne oraz markery stresu oksydacyjnego. Stwierdzono statystycznie istotny wpływ obecności glikolu etylenowego i alkoholi: etylowego i metylowego w krwi na wartości markerów stresu oksydacyjnego. Wraz ze wzrostem stężenia glikolu etylenowego podwyższeniu ulegały aktywności katalazy i reduktazy glutationowej oraz poziom TBARS. Równocześnie stwierdzono, że im niższe stężenie glikolu etylenowego, tym mniejsza jest aktywność peroksydazy glutationowej oraz stężenie HNE. Wykazano, że obecność alkoholu etylowego istotnie wpływa na poziom TAC a obecność metanolu zmienia aktywność reduktazy glutationowej. Nie stwierdzono wpływu zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej ani podwyższonych aktywności AST i ALT na wartości markerów stresu oksydacyjnego. Jedynie wraz ze wzrostem stężenia kreatyniny stwierdzono wzrost aktywności GST oraz stężenia HNE zależnie od podwyższonych wartości mocznika. Czas potwierdzenia zatrucia nie wpływał na aktywność GST i stężenie glutationu oraz poziom TAC. Nie stwierdzono korelacji między wybranymi markerami stresu oksydacyjnego a śmiertelnością w grupie zatrutych pacjentów. Nie stwierdzono różnic w wartościach markerów stresu oksydacyjnego a parametrami biochemicznymi oraz równowagi kwasowo-zasadowej u pacjentów, którzy przeżyli zatrucie i u których stwierdzono zgon. Potwierdzono natomiast istotnie podwyższone stężenie jonów  $[H^+]$  u pacjentów zmarłych.

Ważnym etapem badań była szczegółowa analiza 26 pacjentów wybranych z grupy A1, których poddano czterokrotnemu kompleksowemu monitorowaniu stanu równowagi oksydoredukcyjnej, wyników badań toksykologicznych i biochemicznych w określonym czasie od zatrucia tj. w dniu przyjęcia, po zastosowaniu terapii odtruwającej, między 48 a 72 godziną od zatrucia i w dniu wypisu lub zgonu. Po wdrożeniu leczenia odtruwającego i/lub przeprowadzeniu zabiegu hemodializy w grupie pacjentów monitorowanych podczas hospitalizacji, szczególnie u zatrutych poddanych obu postępowaniom, stwierdzono zmiany w wartościach większości markerów stresu oksydacyjnego, potwierdzające nasilone procesy oksydacyjne (podwyższone stężenie HNE oraz obniżone aktywności enzymów: CAT, GPx, GR oraz spadek wartości TAC).

Podsumowując, większość wybranych markerów korelowała z ciężkością zatrucia, niemniej jednak z uwagi na złożoność pomiarów nie ustalono jednoznacznie, które z nich mogą stanowić czynnik prognostyczny.

Przedstawione w niniejszej pracy wyniki badań dostarczają cennych informacji i poszerzają wiedzę o dodatkowe aspekty poznawcze i praktyczne na temat udziału stresu oksydacyjnego w ostrym zatruciu glikolem etylenowym, jako jednego z istotnych mechanizmów jego toksycznego działania u ludzi.

## 9. Summary

Author: Karina Sommerfeld M.Sc.

Title: **Oxidative stress in acute ethylene glycol poisoning**

The aim of the present study was to assess the effect of ethylene glycol on antioxidative balance in clinical material collected from patients who were hospitalized due to acute ethylene glycol poisoning. The study included 69 patients (65 men and 4 women), aged between 20 and 82 years old, who were diagnosed for ethylene glycol poisoning in the Wielkopolska and Lubuskie provinces in 2009-2013 (Group A). After a primary evaluation performed on the basis of medical records, a total of 47 patients whose blood was found to contain ethylene glycol at concentrations exceeding 0.2 g/l were enrolled in the study (A1). In addition, concentrations of ethyl and methyl alcohol were determined, and an evaluation of acid-base homeostasis ( $\text{pH}/[\text{H}^+]$ ,  $\text{pCO}_2$ ,  $\text{pO}_2$ , BE and  $\text{HCO}_3^-$ ) was performed. Also, the functional status of the kidneys (creatinine and urea levels) and the liver (alanine and aspartate aminotransferase activity) was assessed. The analysis of antioxidative balance, which was key to the study, was based on measurements of the activity of antioxidative enzymes (catalase, glutathione peroxidase, S-transferase and glutathione reductase), the concentration of glutathione and the levels of products of lipid peroxidation including TBARS and hydroxynonenal, along with an assessment of total antioxidant capacity (TAC). Levels of antioxidative enzyme activity, concentrations of hydroxynonenal (HNE) and total glutathione, as well as TBARS and TAC values determined in the blood serum of alcohol-poisoned patients were compared with a control group of healthy individuals (60 people, aged 18-69 years old, reporting for medical check-ups, who had no deviations from reference values).

The study provided evidence for intensified processes of lipid peroxidation, reduced total glutathione concentrations and elevated CAT and GR activity in the first phase of alcohol poisoning. The selected markers were found to variously reflect oxidative disorders, which was especially evident in TBARS levels and HNE concentrations, but also in shifts in the activity of some enzymes. The effect of age on selected markers of oxidative stress (including catalase activity and TBARS concentration) was confirmed in the control group. A similar correlation was identified between creatinine concentration and the age of healthy individuals.

The effect of sex on the level of hydroxynonenal was also demonstrated: it was higher in women than in men. No effect of age on any of the evaluated markers was noted in the group of patients with ethylene glycol poisoning.

The next stage of the study was an investigation of the impact of age, and concentrations of ethylene glycol, ethyl and methyl alcohol on arterial blood gas (ABGs) results and biochemical parameters and markers of oxidative stress. The presence of ethylene glycol and alcohols (ethyl and methyl) was found to have a statistically significant effect on the values of oxidative stress markers. An increase in ethylene glycol concentration triggered an increase in the activity of catalase and glutathione reductase, and an elevation of the TBARS level. At the same time, it was determined that the lower the concentration of ethylene glycol, the lower the activity of glutathione peroxidase and HNE concentration. The presence of ethyl alcohol was found to have a significant impact on the TAC level, while the presence of methanol was shown to cause a change in the activity of glutathione reductase. However, there was no observed effect of acid-base imbalance or elevated AST and ALT activity on the levels of oxidative stress markers. The only finding was that increased creatinine concentration triggered an increase in GST activity and HNE concentration depending on elevated urea levels. The time of poisoning diagnosis had no impact on GST activity, glutathione concentration or TAC level. There was no correlation between selected markers of oxidative stress and mortality rates in the group of poisoned patients. No differences were identified in the values of oxidative stress markers and biochemical and acid-base homeostasis parameters between patients who survived poisoning and who were pronounced dead. However, a significant drop in the concentration of  $[H^+]$  ions was demonstrated in dead patients.

An important aspect of the study was a detailed examination of 26 patients selected from Group A1, who underwent four comprehensive monitoring programmes of the oxidoreductive balance status, results of toxicological and biochemical tests at specific time points after poisoning, i.e. on the day of hospital admission, after detoxification therapy, between 48 and 72 hours after poisoning, and on the date of hospital discharge or death. Following detoxification therapy and/or haemodialysis administered to the group of patients who were monitored during hospitalization, and particularly poisoned patients who underwent both procedures, changes were identified in the values of the majority of markers of oxidative stress, demonstrating intensified oxidation processes (increased HNE concentration, reduced activity of enzymes: CAT, GPx, GR, and a fall in the TAC level).

Summing up, the majority of markers selected for the study exhibited a correlation with the severity of poisoning, though due to the complexity of measurements it could not be established unambiguously which of them might be used as prognostic factors.

The study results reported above provide valuable insights and extend the body of knowledge by additional cognitive and practical aspects concerning the involvement of oxidative stress in acute ethylene glycol poisoning as one of significant mechanisms of the substance's toxic effects in humans.

## 10. Piśmiennictwo

1. Alatalo P., Koivisto H., Puukka K., Hietala J., Anttila P., Bloigu R., Niemela O. Biomarkers of liver status in heavy drinkers, moderate drinkers and abstainers. *Alcohol Alcohol.* 2009; 44: 199-203.
2. Ashok P., Koti BC., Vishwanathswamy AH. Antiurolithiatic and antioxidant activity of *Mimusops elengi* on ethylene glycol-induced urolithiasis in rats. *Indian J Pharmacol.* 2010; 42: 380-383.
3. Ashok-Kumar BS., Lakshman K., Jayaveera KN., Shedshadri SD., Nandeesh R., Velmurugan C. Chemoprotective and antioxidant activities of methanolic extract of *amaranthus spinosus* leaves on paracetamol induced-liver damage in rats. *Acta Med Sal.* 2010; 39: 68-74.
4. Augustyniak A., Michalak K., Skrzydlewska E. Wpływ stresu oksydacyjnego indukowanego etanolem na ośrodkowy układ nerwowy (OUN). *Post Hig Med Dosw.* 2005; 59: 464-471.
5. Avery SV. Molecular targets of oxidative stress. *Biochem J.* 2011; 434: 201-210.
6. Baker RD., Cook CO., Goodwin DC. Properties of catalase-peroxidase lacking its C-terminal domain. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004; 320: 833-839.
7. Barceloux DG., Krenzelok EP., Olson K., Watson W. American Academy of Clinical Toxicology Practice Guidelines on the treatment of ethylene glycol poisoning. *Clin Toxicol.* 1999; 37: 537-560.
8. Bartels H., Böhmer M. Micro-determination of creatinine. *Clin Chim Acta.* 1971; 32: 81-85.
9. Bartosz G.: Druga twarz tlenu, Wolne rodniki w przyrodzie. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2003.
10. Bashir S., Gilani AH. Antiurolithic effect of *Bergenia ligulata* rhizome: an explanation of the underlying mechanisms. *J Ethnopharmacol.* 2009; 25: 106-116.
11. Bayliss G. Dialysis in the poisoned patient. *Hemodial Int.* 2010; 14: 158-167.



12. Baysal Z., Cenzqiz M., Ozqonul A., Cakir M., Celik H., Kocyigit A. Oxidative status and DNA damage in operating room personnel. *Clin Biochem.* 2009; 42: 189-193.
13. Beatty L., Green R., Magee K., Zed P. A systemic review of ethanol and fomepizole use in toxic alcohol ingestions. *Emerg Med Inter.* 2013; 1-14.
14. Beers R., Sizer I. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem.* 1952; 195: 133-140.
15. Bergmeyer HU., Hørder M., Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC Method for aspartate aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1986; 24: 497-510.
16. Bergmeyer HU., Hørder M., Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC Method for alanine aminotransferase. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1986; 24: 481-495.
17. Beyer W., Fridivich I. Catalases with and without heme. *Basic Life Sci.* 1988; 49: 651-661.
18. Block G., Dietrich M., Norkus EP., Morrow JD., Hudes M., et al. Factors associated with oxidative stress in human populations. *Am J Epidemiol.* 2002; 156: 274-285.
19. Boon E., Downs A., Marcey D. Catalase: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidoreductase. Reviews on structure and function of catalases. In: *Biomolecules at Kenyon*, David Marcey Edition, 1997.
20. Bouzid M., Hannouda O., Matran R., Robin S., Fabre C. Changes in oxidative stress markers and biological markers with aging at rest and in response to an exhaustive exercise. *PLoS ONE.* 2014; 9 (3): doi: 10.1371/journal.pone.0090420.
21. Bradley K., Lotzer D. Fomepizole. A new antidote for the treatment of ethylene glycol poisoning. *Pharma Persp.* 1998; 10: 39-45.
22. Brent J. Current management of ethylene glycol poisoning. *Drugs.* 2001; 61: 979-988.
23. Brent J., McMartin K., Phillips S., Burkhart KK., Donovan JW., Wells M., et al. Fomepizole for the treatment of ethylene glycol poisoning. *NEJM.* 1999; 340: 832-838.

24. Brighenti F., Valtuena S., Pellegrini N., Ardigo D., et al. Total plasma antioxidant capacity of the diet is inversely and independently related to plasma concentration of high-sensitivity C-reactive protein in adult Italian subjects. *Brit J Nutr.* 2005; 93: 619-625.
25. Bronstein AC., Spyker DA., Cantilena LR., Green JL., Rumack BH., Giffin SL. 2009 annual report of the American Association of Poison Control Centers National Poison Data System (NPDS): 27<sup>th</sup> Annual Report. *Clin Toxicol.* 2010, 48; 979-1178.
26. Buico A., Cassino C., Ravera M., Betta P., Osella D. Oxidative stress and total antioxidant capacity in human plasma. *Redox Report*, 2009; 14: 125-131.
27. Bukowska B. Glutation: biosynteza, czynniki indukujące oraz stężenie w wybranych jednostkach chorobowych. *Med Pracy.* 2004; 55: 501-509.
28. Burda P., Gomółka E., Winnicka R., Olszowy Z., Madej T., Wendeker B., Sommerfeld K., Zajko E. Medical analytical toxicology in Poland in year 2012. *Przegl Lek.* 70: 490-499.
29. Cals MJ., Succari M., Meneguzzer E., Ponteziere C., Bories PN., et al. Markers of oxidative stress in fit, health-conscious elderly people living in the Paris Area. *Nutrition.* 1997; 13: 319-323.
30. Cao G., Prior RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem.* 1998; 44: 1309-1315.
31. Caquet R. 250 badań laboratoryjnych. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2007.
32. Caravati ME., Erdman AR., Christianson G., Manoguerra AS., Booze LL., Woolf AD., Olson KR., Chyka PA., et al. Ethylene glycol exposure: an evidence-based consensus guideline for out-of-hospital management. *Clin Toxicol.* 2005; 48: 327-345.
33. Carney EW. An integrated perspective on the developmental toxicity of ethylene glycol. *Reprod Toxicol.* 1994; 8: 99-113.
34. Carney EW., Freshour N., Dittenber D., et al.: Ethylene glycol developmental toxicity: unraveling the roles of glycolic acid and metabolic acidosis. *Toxicol Sci.* 1999; 50: 117-126.
35. Celik I., Suzek H. Effects of subacute treatment of ethylene glycol on serum marker enzymes and erythrocyte and tissue antioxidant defense systems and lipid peroxidation in rats. *Chem-Biol Interact.* 2007; 167: 145-152.

36. Ching S., Hall J., Coft K., Beilby J., Rossi E., Ghisalberti E. Antioxidant inhibition of oxygen radical for measurement of total antioxidant capacity in biological samples. *Anal Biochem.* 2006; 353: 257-265.
37. Chodorowski Z., Sein Anand J., Kujawska H., Wiśniewski M., Ciechanowicz R. Wybrane aspekty kliniczne ostrego zatrucia alkoholem etylowym. *Przegl Lek.* 2004; 61: 314-316.
38. Church AS., Witting MD. Laboratory testing in ethanol, methanol, ethylene glycol and isopropanol toxicities. *J Emerg Med.* 1997, 15: 687-692.
39. Cooke MS., Oliński R., Evans MD. Does measurement of oxidative damage to DNA have clinical significance? *Clin Chim Acta.* 2006; 365: 30-49.
40. Cornelli U., Belcaro G., Finco A. The Oxidative Stress Balance Measured in Humans with Different Markers, Following a Single Oral Antioxidants Supplementation or a Diet Poor of Antioxidants. *JCDSA.* 2011; 3: 64-70.
41. Cybul M., Nowak R. Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych. *Herba Polonica.* 2008; 54: 68-78.
42. Czech E., Hartleb M. Tradycyjne i nowe wskaźniki biologiczne spożywania alkoholu w ilościach szkodliwych dla zdrowia. *Alkohol Narkom.* 2007; 20: 103-118.
43. Czyżewska S., Winnicka R., Rzepecki J., Kołaciński Z., Politański P., Sawicka J., Krakowiak A. Acute ethylene glycol poisoning among patients of Nofer Institute of Occupational Medicine in Łódź, Toxicology Unit, hospitalized in the years 2000-2009. *Przegl Lek.* 2013; 70: 500-505.
44. Ćosić-Djukić D., Ninković M., Malicević Z., Matović V. Soldatović D. Effect of magnesium pretreatment on reduced glutathione levels in tissues of mice exposed to acute and subacute cadmium intoxication: a time course study. *Magnes Res.* 2007; 20: 177-186.
45. Darracq MA., Cantrell LF. Hemodialysis and extracorporeal removal after pediatric and adolescent poisoning reported to a state poison center. *J Emerg Med.* 2013; 44: 1101-1107.
46. Das S., Hiran KR., Sukhes M., Vasudevan DM. Oxidative stress is the primary event: effects of ethanol consumption in brain. *Indian J Clin Biochem.* 2007; 22: 99-104.

47. Daschner M., Lenhartz H., Botticher D., Schaefer F., Wollschlager M., et al. Influence of dialysis on plasma lipid peroxidation products and antioxidant levels. *Kidney Int.* 1996; 50: 1268-1272.
48. Dasgupta A., Blackwell W., Griego J., Malik S. Gas chromatography–mass spectrometric identification and quantitation of ethylene glycol in serum after derivatization with perfluorooctanoyl chloride: a novel derivative. *J Chromatogr Biomed Appl.* 1995; 666: 63-70.
49. Davis DP., Bramwell KJ., Hamilton RS., Williams SR. Ethylene glycol poisoning: case report of a recorded- high level and a review. *J Emerg Med.* 1997, 15: 653-657.
50. Devgun MS., Dunbar JA., Hagart J., Martin BT., Ogston SA. Effects of acute and varying amounts of alcohol consumption on alkaline phosphatase, aspartate transaminase, and gamma-glutamyltransferase. *Alcohol Clin Exp Res.* 1985; 9: 235-237.
51. Drelich G., Lewandowska-Staniek H., Jagiełło-Wójtowicz E. Zachwianie równowagi oksydoredukcyjnej w samobójczym zatruciu lekami przeciwdepresyjnymi. *Przegl Lek.* 2007; 64: 258-259.
52. Druteika DP., Zed PJ., Ensom MH. Role of fomepizole in the management of ethylene glycol toxicity. *Pharmacother.* 2002; 22: 365-372.
53. Dzobo K., Naik YS. Effect of selenium on cadmium-induced oxidative stress and esterase activity in rat organs. *S Afr J Sci.* 2013; 109: 1-8.
54. Dzuvo-Hadzovic A., Lepara O., Valjevac A., Avdagic N., Hasic S., et al. Serum Total Antioxidant Capacity in patients with multiple sclerosis. *Bosn J Basic Med Sci.* 2011; 11: 33-36.
55. ECCLS. Determination of the catalytic activity concentration in serum of L-aspartate aminotransferase (EC 2.6.1.1, ASAT). *Klin Chem Mitt.* 1989; 20: 198-204.
56. ECCLS. Determination of the catalytic activity concentration in serum of L-alanine aminotransferase (EC 2.6.1.2, ALAT). *Klin Chem Mitt.* 1989; 20: 204-211.
57. Eder AF., McGrath C., Dowdy YG., Tomaszewski JE., Rosenberg FM., Wilson B., et al. Ethylene glycol poisoning: toxicokinetic and analytical factors affecting laboratory diagnosis. *Clin Chem.* 1998; 44: 168-177.

58. Eder AF., Dowdy YG., Gardiner JA., Wolf BA., Shaw LM. Serum lactate and lactate dehydrogenase in high concentrations interfere in enzymatic assay of ethylene glycol. *Clin Chem.* 1996; 42: 1489–1491.
59. Edinboro LE., Nanco CR., Soghioan DM., Poklis A. Determination of Ethylene Glycol in Serum Utilizing Direct Injection on a Wide-Bore Capillary Column. *Ther Drug Monit.* 1993; 15: 220-223.
60. Ehrmeyer SS., Laessig RH., Leinweber JE., Oryall JJ. 1990 Medicare/CLIA final rules for proficiency testing: minimum intralaboratory performance characteristics (CV and bias) needed to pass. *Clin Chem.* 1990; 36: 1736-1740.
61. Ekwall B., Clemenson C. Time-related lethal blood concentrations form acute human poisoning of chemicals. Part 2. The monographs. No 7, Ethylene glycol. First Edition, *CTLU.* 1997: 1-10.
62. El-Azab S., Morsy H., El-Adawy W., Seleem A. Does Vitamin E influence oxidative stress and renal anaemia in haemodialysed patients? *Internet J Nutr.* 2013. <http://ispub.com/IJNW/6/1/5136> z dnia 02.04.2014.
63. Eleuteri E., Magno F., Gnemmi I., Carbone M., Colombo M., Rocca G., Anzalone R., Genta F., Zummo G., Stefano A., Giannuzzi P. Role of oxidative and nitrosative stress biomarker in chronic heart failure. *Front Biosci.* 2009; 14: 2230-2237.
64. Ellenhorn MJ., Barceloux DG. Medical Toxicology. Diagnosis and treatment of human poisoning. *Elsevier.* New York, 1988.
65. Fabiny DL., Ertinghausen G. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the Centrifichem. *Clin Chem.* 1971; 17: 696-700.
66. Ferrari C. Effects of xenobiotics on total antioxidant capacity. *Interdiscip Toxicol.* 2012; 5: 117-122.
67. Forman HJ., Fukuto J., Torres M. Signal Transduction Reactive Oxygen and Nitrogen Species. *Kluwer Academic Publishers,* 2003.
68. Frantz SW., Beskitt JL., Tallant MJ., Zourelis LA., Ballantyne B. Pharmacokinetics of ethylene glycol. III. Plasma disposition and metabolic fate after single increasing

- intravenous, peroral, or percutaneous doses in male Sprague-Dawley rat. *Xenobiotica*. 1996; 26: 515-539.
69. Fraser AD. Clinical Toxicologic implications of ethylene glycol and glycolic acid poisoning. *Ther Drug Monit*. 2001; 24: 232-238.
70. Fraser AD., Coffin L., Worth D. Drug and chemical metabolites in clinical toxicology investigations: The importance of ethylene glycol, methanol and cannabinoid metabolite analyses. *Clin Biochem*. 2002; 35: 501-511.
71. Fraser CG, The application of theoretical goals based on biological variation data in proficiency testing. *Arch Pathol Lab Med*. 1988; 112: 402-15.
72. Fraser CG., Petersen PH., Ricos C., Haeckel R. Proposed quality specifications for the imprecision and inaccuracy of analytical systems for clinical chemistry. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1992; 30: 311-317.
73. Fujishiro K., Imazu K., Inoue N., Mori K., Kohriyama K. Effects of ethylene glycol on hepatic microsomal cytochrome P-450. *JUOEH*. 1990, 12: 399-402.
74. Gałęcka E., Jacewicz R., Mrowicka M., Florkowski A., Gałęcki P. Enzymy antyoksydacyjne – budowa, właściwości, funkcje. *Pol Merk Lek*. 2008; 25: 266-268.
75. Geppert B., Teżyk A., Żaba C. Markery biochemiczne stosowane w ocenie ostrej i przewlekłej konsumpcji alkoholu etylowego. *Przegl Lek*. 2012; 69: 1163-1167.
76. Ghiselli A., Serafini M., Natella F., Scaccini C. Total Antioxidant Capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radical Bio and Med*. 2000; 29: 1106-1114.
77. Giermaziak H., Lutz W., Giermaziak M. Biochemiczne i kliniczne aspekty zatrucia glikolem etylenowym. *Pol Tyg Lek*. 1995; 1: 812-815.
78. Giermaziak H., Orkisz S. Effects of ethylene glycol on the ultrastructure of hepatocytes. *Exp Toxic Pathol*. 1995; 47: 359-365.
79. Glaser DS. Utility of the serum osmolal gap in the diagnosis of methanol or ethylene glycol ingestion. *Ann Emerg Med*. 1996; 27: 343-346.

80. Gromadzińska J., Skłodowska M., Wąsowicz W. Glutathione peroxidase activity, lipid peroxides and selenium concentration in various rat organs. *Biomed Biochem Acta*. 1988; 47: 19-24.
81. Gomes R., Liteplo R., Meek ME. Ethylene glycol: Human health aspects. United Nations Environment Programme, the International Labour Organization, and the World Health Organization with Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals, Geneva, 2002.  
<http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad45.htm#fwd> z dnia 14.03.2014 r.
82. Gomółka E., Kapala M., Hydzik P. Confirmed poisonings with ethylene glycol and methanol in south Poland in the years 2010-2012 based on results from toxicological laboratories in Kraków and Sosnowiec. *Przegl Lek*. 2013; 70: 506-510.
83. Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta*. 1991; 196: 143-152.
84. Grauer GF., Thrall MA., Henre BA., Hjelle JJ. Comparison of the effects of ethanol and 4-methylpyrazole on the pharmacokinetics and toxicity of ethylene glycol. *Toxicol Lett*. 1987; 35: 307-314.
85. Green ML., Freel RW., Hatch M. Lipid peroxidation is not the underlying cause of renal injury in hyperoxaluric rats. *Kidney Int*. 2005; 68: 2629-2638.
86. Grosicka-Maciąg E. Biologiczne skutki stresu oksydacyjnego wywołanego działaniem pestycydów. *Postępy Hig Med Dosw*. 2011; 65: 357-366.
87. Guemouri LA., Herbeth B., Jeandel C., Cuny G., Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clin Chem*. 1991; 37: 1932-1937.
88. Habdous M., Vincent-Viry M., Visvikis S., Siest G. Rapid spectrophotometric method for serum glutathione S-transferases activity. *Clin Chim Acta*. 2002; 326: 131-142.
89. Habig WH., Pabst MJ., Jakoby WB. Glutathione S-Transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*. 1974; 249: 7130-7139.
90. Hall TL. Fomepizole in the treatment of ethylene glycol poisoning. *CJEM*. 2002; 4: 199-204.

91. Halliwell B., Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. *Oxford University Press*. 1990.
92. Hanson P., Masson P. Simple enzymatic screening assay for ethylene glycol (ethano-1,2-diol) in serum. *Clin Chim Acta*. 1989; 182: 95–102.
93. Hess R., Bartles MJ., Pottenger LH. Ethylene glycol: an estimate of tolerable levels of exposure based on a review of animal and human data. *Arch Toxicol*. 2004; 78: 671-680.
94. Hewlett TP., Jacobsen D., Collins TD., et al. Ethylene glycol and glycolate kinetics in rats and dogs. *Vet Hum Toxicol*. 1989; 31: 116-120.
95. Howland MA. Antidotes in depth. Ethanol. *Goldfrank Toxicologic Emergencies*, 8<sup>th</sup> Edition, 2006.
96. Huang HS., Chen CF., Chien CT., Chen J. Possible biphasic changes of free radicals in ethylene glycol-induced nephrolithiasis in rats. *BJU Int*. 2002; 85: 1143-1149.
97. Huang HS., Ma MC., Chen J., Chen CF. Changes in the oxidant-antioxidant balance in the kidney of rats with nephrolithiasis induced by ethylene glycol. *J Urology*, 2002; 167: 2584-2593.
98. Imazu K., Fujishiro K., Inoue N., Mori K. Effects of ethylene glycol on drug metabolizing enzymes in rat liver. *JUOEH*. 1991; 13: 13-18.
99. Inal M., Kanbak G., Sunal E. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging. *Clin Chim Acta*. 2001; 305: 75-80.
100. Isobe K., Nishise H. A new enzymatic method for glycoaldehyd production from ethylene glycol. *J Mol Catal B-Enzymatic 1*. 1995; 37-43.
101. Jackson P., Loughrey CM., Lightbody JH., McNamee PT., Young IS. Effect of hemodialysis on Total Antioxidant Capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. *Clin Chem*. 1995; 41: 1135-1138.
102. Jaffé M. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaction des Kreatinins. *Z Physiol Chem*. 1886; 10: 391-400.
103. Jezek P., Hlavata L. Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species in cell, tissues and organism. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005; 37: 2478-2503.



104. Junqueira V., Barros S., Chan S., Rodrigues L., Giavarotti L., Abud R., Deucher G. Aging and oxidative stress. *Mol Aspects Med.* 2004; 25: 5–16.
105. Jurczuk M., Moniuszko-Jakoniuk J., Rogalska J. Glutathione-related enzyme activity in liver and kidney of rats exposed to cadmium and ethanol. *Pol J Environ Stud.* 2006; 15: 861-868.
106. Jurczyk AP., Barzdo M., Jankowska B., Meissner E., Berent J., Kordel K., Szram S. Influence of selected alcohols on oxidative stress parameters in rat lungs. *Probl Foren Sci.* 2003; 55: 50–59.
107. Jurczyk AP., Bardzo M., Meissner E. et al. A study of hydrogen peroxide concentration changes in organs of rats protractedly intoxicated with ethanol, methanol and ethylene glycol. *Probl Foren Sci.* 2003; 40: 37-49.
108. Jurczyk AP., Gałeczki P., Jankowska B., Meissner E., Szram S., Fijałkowski P., Błaszczak J., Kędziora J., Śmigielski J. Wpływ glikolu etylenowego na aktywność enzymów antyoksydacyjnych i peroksydację lipidów w erytrocytach. *Arch Med Sad i Krym.* 2002; 52: 147-153.
109. Jurczyk AP., Gałeczki P., Kędziora J., Jankowska B., Meissner E., et al. Wpływ wybranych alkoholi na procesy pro- i antyoksydacyjne w krwinkach czerwonych szczurów. *Arch Med Sqd Kryminol.* 2004; 54: 117–124.
110. Kahn HS., Brotchner RJ. A recovery from ethylene glycol (antifreeze) intoxication: a Case of survival and two fatalities form ethylene glycol including autopsy findings. *Ann Intern Med.* 1950; 32: 284-294.
111. Karta charakterystyki substancji chemicznej zgodna z Rozporządzeniem (WE) nr 1907/2006 (REACH), Załącznik II oraz Rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008 (CLP) – Polska.
112. Kavakli HS., Erel O., Delice O., Gormez G., Isikoglu S., Tanriverdi F. Oxidative stress increases in carbon monoxide poisoning patients. *Hum Exp Toxicol.* 2011; 30: 160-164.
113. Kędzierska K., Bober J., Kwiatkowska E., Stachowska W., Olszewska M., et al. Stres oksydacyjny i pierwiastki śladowe wpływają na aktywność systemów transportujących sód w błonie komórkowej erytrocytu. *Ann Acad Med Stetin.* 2008; 54: 105-114.

114. Kołota A., Gromadzka-Ostrowska J. Oxido-reductive stress and alcoholic liver disease. *Med Biol Sci.* 2013; 27: 13-17.
115. Kołota A., Rawa M., Dziendzikowska K., Oczkowski M., Gromadzka-Ostrowska J. Wpływ spożycia alkoholu etylowego na parametry obrony antyoksydacyjnej w wątrobie szczurów Wistar. *Alkohol Narkom.* 2012; 25: 273-287.
116. Koop DR. Alcohol metabolism's damaging effects on the cell. *Alcohol Res Health.* 29: 2006: 274-280.
117. Koruk M., Taysi S, Savas C., Yilmaz O., Akcay F., Karakok M. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Clin Lab Sci.* 2004; 34: 57-62.
118. Kotwica M., Rogaczewska A. Ostre zatrucia w Polsce w latach 1997-1999. Analiza danych zgromadzonych w Krajowym Centrum Informacji Toksykologicznej. *Przegl Lek.* 2002; 59: 318-324.
119. Kowalczyk M., Halvorsen S., Ovrebo S., Bredesen JE., Jacobsen D. Ethanol treatment in ethylene glycol poisoned patients. *Vet Hum Toxicol.* 1998; 40: 225-228.
120. Krenova M., Pelclova D., Navratil T., Merta M., Tesar V. Ethylene glycol poisoning in the Czech Republic (2000-2002). *Blood Purif.* 2006; 24: 180-184.
121. Krenova P., Pelclova D. Does unintentional ingestion of ethylene glycol represent a serious risk? *Hum Exp Toxicol.* 2007; 26: 60-67.
122. Kukielka E., Cederbaum AI. Increased oxidation ethylene glycol to formaldehyde by microsomes after ethanol treatment: role of oxygen radicals and cytochrome P450. *Toxicol. Lett.* 1995; 78: 9-15.
123. Kukielka E., Cederbaum AI. Oxidation of ethylene glycol to formaldehyde by rat liver microsomes. Role of cytochrome P-450 and Reactive Oxygen Species. *Drug Metab Dispos.* 1991, 19: 1108-1114.
124. Kulbacka J., Saczko J., Chwiłkowska A. Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórek. *Pol Merk Lek.* 2009; 27: 44-47.
125. Kusano C., Ferrari B. Total Antioxidant Capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *J Cell Mol Biol.* 2008; 7: 1-15.

126. Laposata M. Fatty acid ethyl esters: short-term and long-term serum markers of ethanol intake. *Clin Chem.* 1997, 43, 1527-1534.
127. Lawrence AR., Burk FR., Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun.* 1976; 71: 952-958.
128. Lemarie RJ., Hosgood G., VanSteenhouse J., Hodgins EC., et al. Effect of hyperbaric oxygen on lipid peroxidation in free skin grafts in rats. *Am J Vet Res.* 1998; 59: 913-917.
129. Leth PM., Gregersen M. Ethylene glycol poisoning. *Forensic Sci Int.* 2005; 155: 179-184.
130. Levine M, Curry SC., Ruha AM., Pizon AF., Boyer E., Burns J., Bikin D., Gerkin RD. Ethylene glycol elimination kinetics and outcomes in patients managed without hemodialysis. *Ann Emerg Med.* 2012;59: 527-531.
131. Lewiński Z. Zmiatacze wolnych rodników. *Przewodnik Lekarza*, 2000; 9; 99-104.
132. Liu J. Fas-mediated signaling pathway in ethanol-induced liver apoptosis: inhibition by zinc. *Exp Biol Med.* 2004; 229: 365-366.
133. Livesey JF., Perkins SL., Tokessy NE., Maddock MJ. Simultaneous determination of alcohols and ethylene glycol in serum by packed or capillary-column gas chromatography. *Clin Chem.* 1995; 41: 300-305.
134. Lorenc-Koci E. Neuroprotekcjne właściwości glutationu i ich znaczenie w schorzeniach neurodegeneracyjnych. *Neuroprotekcja XX Zimowa Szkoła Instytutu Farmakologii PAN*, 2003; 169-185.
135. Łukasik - Głębocka M., Adamek R. Fatal poisoning in the Department of Toxicology in Poznan in 2008-2012-preliminary analysis. *Przegl Lek.* 2013; 70: 485-489.
136. Łukaszewicz-Hussain A., Moniuszko-Jakoniuk J. Liver catalase, glutathione peroxidase and reductase activity, reduced glutathione and hydrogen peroxide levels in acute intoxication with chlorfenvinphos, an organophosphate insecticide. *Pol J Environ Stud.* 2004; 13: 303-309.
137. Łukaszewicz-Hussain A., Moniuszko-Jakoniuk J., Rogalska J. Assessment of lipid peroxidation in rat tissues in subacute chlorfenvinphos administration. *Pol J Environ Stud.* 2007; 16: 233-236.

138. Łuszczewski A., Matyska-Piekarska E., Trefler J., Wawer I., Łacki J., Śliwińska-Stańczyk P. Reaktywne formy tlenu - znaczenie w fizjologii i stanach patologii organizmu. *Reumatologia*, 2007; 45: 284-289.
139. Markiewicz K., Pełka W., Trznadel K., Wyszomirski W. Ostre zatrucie glikolem etylenowym. *Biul WAM*, 1970; 13: 357-361.
140. Mateos R., Bravo L. Chromatographic and electrophoretic methods for the analysis of biomarkers of oxidative damage to macromolecules (DNA, lipids and proteins). *J Sep Sci*. 2007; 30: 175-191.
141. McMartin KE, Wallace KB. Calcium oxalate monohydrate, a metabolite of ethylene glycol, is toxic for rat renal mitochondrial function. *Toxicol Sci*. 2005; 84: 195-200.
142. McQuade DJ., Dargan PI., Wood DM. Challenges in the diagnosis of ethylene glycol poisoning. *Ann Clin Biochem*. 2014; 51: 167-178.
143. Mégarbane B., Borron SW., Baud FJ. Current recommendations for treatment of severe toxic alcohol poisoning. *Intensive Care Med*. 2005; 31: 189-195.
144. Meola JM., Rosano TG., Swift TA. Fluorometry of ethylene glycol in serum. *Clin Chem*. 1980; 26: 1709.
145. Mergen G., Kayaalt Z., Dural E., Aliyev V., Kaya S. et al. Simultaneous Headspace-GC-FID analysis for methanol and ethanol in blood, saliva, and urine: Validation of method and comparison of specimens. *LCGC North America*. 2010; 28: 540-543.
146. Mohan SK, Priyav V. Serum total sialic acid, lipid peroxidation and glutathione reductase levels in patients with rheumatoid arthritis. *Turk J Med Sci*. 2010; 40: 537-540.
147. Mohanasundari M., Sabesan M., Sethupathy S. Renoprotective effect of grape seeds extract in ethylene glycol induced nephrotoxic mice. *Indian J Exp Biol*. 2005; 43: 356-359.
148. Moreau C., Kerns W., Tomaszewski C., McMartin KE., Rose SR., et al. Glycolate kinetics and hemodialysis clearance in ethylene glycol poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1998; 36: 659-666.

149. Muttigi MS., Kedage V., Suvarna R. et al. Serum GST activity and total thiols status in patients with liver disease secondary to various disorders. *TOHEPAJ*. 2009; 1: 5-8.
150. Naito Y., Lee MC., Kato Y., Nagai R., Yonei Y. Oxidative stress markers. *AAAAM*. 2010; 7: 36-44.
151. Najafi CC., Hertko LJ., Leikin JB., Korbet SM. Fomepizole in ethylene glycol intoxication. *Ann Emerg Med*. 2001; 37: 358-359.
152. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Blood gas pre-analytical considerations: Specimen collection, Calibration and Controls. A guideline. NCCLS Publication C27-A. Villanova. 1985.
153. Neethumol P., Chiramel KJ., Shivashankara AR. Effect of Alcohol Withdrawal on Glutathione S-transferase, Total antioxidant capacity and amylase in blood and saliva of alcohol-dependent males. *J Clin Diagn Res*. 2013; 7: 797-800.
154. Nuttal A., Khan JN., Thorpe GH., Langford N., Kendall MJ. The impact of therapeutic doses of paracetamol on serum total antioxidant capacity. *J Clin Pharm Ther*. 2003; 28: 289-294.
155. Olszewska M. Wpływ hemodializy na stan wybranych elementów układu antyoksydacyjnego krwi u pacjentów z przewlekłą niewydolnością nerek. [http://www.pum.edu.pl/uczelnia/wydawnictwo/annales-academiae-medicae-stetinensis/2004 z dnia 05.04.2014](http://www.pum.edu.pl/uczelnia/wydawnictwo/annales-academiae-medicae-stetinensis/2004%20z%20dnia%2005.04.2014).
156. Olszowy Z. Badania doświadczalne nad przebiegiem zatrucia glikolem etylenowym w aspekcie toksykologicznym i medyczno-sadowym. Cz. 2. Wybrane parametry biochemiczne w doświadczalnym zatruciu glikolem etylenowym. *Arch Med Sad Krym*. 2000; 50: 89-101.
157. Olszowy Z. Badania doświadczalne nad przebiegiem zatrucia glikolem etylenowym w aspekcie toksykologicznym i medyczno-sadowym. Cz. 1. Kształtowanie się stężeń glikolu etylenowego i jego metabolitów w doświadczalnym zatruciu ostrym i podostym. *Arch Med Sad Krym*, 2000; 50: 1-13.
158. Pach J. Zarys toksykologii klinicznej. 2009 Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego.

159. Paglia DE., Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967; 70: 158-169.
160. Pantapoulos K., Schipper HM. Principles of free radicals biomedicine. *Nova Science Publisher.* 2011.
161. Pappas SC., Silverman M. Treatment of methanol poisoning with ethanol and hemodialysis. *Can Med Assoc J.* 1982; 126: 1391-1394.
162. Pelcova D., Zdimal V., Fenclova Z. Vlckova S., Schwarz J., Pusman J., et al. Markers of oxidative stress are elevated in workers to nanoparticles. *Nanocon 2012*, Brno, Czech Republic.
163. Pinchuk I., Shoval H., Dotan Y., Lichtenberg D. Evaluation of antioxidants: Scope, limitations and relevance of assays. *Chem Phys Lipids.* 2012; 165: 638-347.
164. Plewka A., Plewka D., Nowaczyk G., Kowalówka-Zawieja J., Zielińska-Psuja B., Szczepanik T. Wątrobowy i nerkowy układ monooksygenaz zależnych od cytochromu P450: wpływ glikolu etylenowego i 4-metylopirazolu. *Farm Przegl Nauk.* 2009; 2: 61-70.
165. Porter WH. Ethylene glycol poisoning: Quintessential clinical toxicology; analytical conundrum. *Clin Chim Acta.* 2012; 413: 365-377.
166. Porter WH., Auansakul A. Gas-chromatographic determination of ethylene glycol in serum. *Clin Chem.* 1982, 28: 75-78.
167. Porter WH., Rutter PW., Bush BA., Pappas AA., Dunnington JE. Ethylene glycol toxicity: the role of serum glycolic acid in hemodialysis. *J Toxicol Clin Toxicol.* 2001; 39: 607-615.
168. Porter WH., Rutter PW., Yao HH. Simultaneous determination of ethylene glycol and glycolic acid in serum by gas chromatography-mass spectrometry. *J Anal Toxicol.* 1999; 2: 591-597.
169. Prior R., Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical method. *Free Radical Bio and Med.* 1999; 27: 1173-1181.
170. Puka J., Szajewski J. Zatrucie glikolem etylenowym – 205 przypadków leczonych w stołecznym ośrodku ostrych zatruc. *Pol Arch Med Wewn.* 1988; 2-3: 88-98.

171. Radwańska-Wala B., Buszman E., Drużba D. Udział reaktywnych form w patogenezie chorób ośrodkowego układu nerwowego. *Wiad Lek.* 2008; 61: 1-3
172. Richterich R., Colombo JP. *Klinische Chemie.* 4<sup>th</sup> ed. Basel: Karger S. 1978: 319-324.
173. Rush JWE., Sandiford SD. Plasma glutathione peroxidase in healthy young adults: influence of gender and physical activity. *Clin Biochem.* 2003; 36: 345-351.
174. Russell JC., McChesney EW., Goldberg L. Reappraisal of the toxicology of ethylene glycol. Determination of ethylene glycol in biological material by a chemical method. *Food Cosmet Toxicol.* 1969; 7: 107-113.
175. Rutkowski B. *Leczenie nerkozastępcze.* Czelej, Lublin, 2007, wydanie I.
176. Rzepecki J., Stasiak M., Kołaciński Z. Symptomatyka kliniczna i diagnostyka laboratoryjna 75 przypadków zatrucie glikolem etylenowym. *Pol Merk Lek.* 1998, 26; 74-79.
177. Sampson EJ., Baird MA., Burtis CA., et al. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: Optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. *Clin Chem.* 1980; 26: 816-826.
178. Scalley RD., Ferguson DR., Smart ML., Archie TW. Treatment of ethylene glycol poisoning. *Am Fam Physician.* 2002; 66: 807-812.
179. Schwerk N., Desel H., Schulz M., Schwerk C., Kiess W., Siekmeyer W. Successful therapy of paediatric ethylene glycol poisoning: a case report and annual survey by a regional poison centre. *Acta Paediatrica.* 2007; 96: 461-471.
180. Sein Anand J., Świdorska A., Pach J., Burda P. Selected data of acute intoxications with ethylene glycol and methanol in Poland in the year 2009. *Przegl Lek.* 2011; 68: 453-458.
181. Severinghaus JW., Honda Y. History of blood gas analysis. VII. Pulse Oximetry. *J Clin Monit.* 1987; 3: 135-138.
182. Sheehan D., Meade G., Foley VM., Dowd CA. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J.* 2001; 360: 1-16.

183. Sherratt PJ., Hayes JD. Glutathione S-transferases. *Enzyme Systems that Metabolise Drugs and Other Xenobiotics*. Costas Ioannides, 2002.
184. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*. 1997; 82: 291-295.
185. Signorelli SS., Neri S., Sciacchitano S. et al. Behaviour of some indicators of oxidative stress in postmenopausal and fertile women. *Maturitas*, 2006; 53: 77-82.
186. Siu MT., Shapiro AM., Wiley MJ., Wells PG. A role for glutathione, independent of oxidative stress, in the developmental toxicity of methanol. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2013; <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2013.09.020>.
187. Sivilotti ML., Burns MJ., McMartin KE., Brent J. Toxicokinetics of ethylene glycol during fomepizole therapy: implications for management. *Ann Emerg Med*. 2000; 36: 114-124.
188. Skrzydlewska E., Farbiszewski R. Antioxidant status of liver, erythrocytes, and blood serum of rats in acute methanol intoxication. *Alcohol*. 1997; 14: 431-437.
189. Slavikova H., Lojek A., Hamar J., Duskova M., Kubala L., et al. Total antioxidant capacity of serum increased in early but not late period after intestinal ischemia in rats. *Free Radical Biol Med*. 1998; 25: 9-18.
190. Sommerfeld K., Łukasik-Głębocka M., Zielińska-Psuja B. Znaczenie diagnostyczne oznaczania glikolu etylenowego w ostrych zatruciach - analiza przypadków z terenu województwa wielkopolskiego. *Przegl Lek*. 2012; 69: 435-438.
191. Sommerfeld K., Zielińska-Psuja B., Przystanowicz J., Kowalówka-Zawieja J., Orłowski J. Effect of 4-methylpyrazole on antioxidant enzyme status and lipid peroxidation in the liver of rats after exposure to ethylene glycol and ethyl alcohol. *Pharmacol Rep*. 2012; 64: 1547-1553.
192. Sturkenboom MG., Rieke HM., Uges DR. Treatment of ethylene glycol and methanol poisonings: why ethanol? *NJCC*. 2009; 13: 292-302.
193. Suresh D., Annam V., Pratibha K., Prasad M. Total antioxidant capacity – a novel early bio-chemical marker of oxidative stress in HIV infected individuals. *J Biomed Sci*. 2009, 16: 1-4. doi:10.1186/1423-0127-16-61.



194. Szczeklik A., Gajewski P., Choroby wewnętrzne, Kompendium medycyny praktycznej, 2009. *Wydawnictwo Medycyna Praktyczna*, Kraków.
195. Szram S., Bielnik K., Trojanowski K., Młoczkowski D., Wołkanin P. Ocena morfologiczna mikroskopowo-światlna i elektronowa zmian w wątrobie w przewlekłej intoksykacji glikolem etylenowym. *Arch Med Sąd Krym.* 2000; 50: 15-27.
196. Świdarska A., Sein Anand J. Selected data of acute poisonings with ethylene glycol and methanol in Poland in the year 2010. *Przegl Lek.* 2013; 70: 479-484.
197. Talke H., Schubert GA. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut und Serum im optischen Test nach Warburg. *Klin Wochenschr.* 1965; 43: 174-175.
198. Tiao JY., Semmens JB., Masarei JR., Lawrence-Brown MM. The effect of age on serum creatinine levels in an aging population: relevance to vascular surgery. *Cardiovasc Surg.* 2002; 10: 445-451.
199. Tiffany TO., Jansen JM., Burtis CA et al. Enzymatic kinetic rate and end-point analyses of substrate, by use of a Gemsac Fast Analyzer. *Clin Chem.* 1972; 18: 829-840.
200. Toxic Exposure Surveillance System (TESS). Washington, DC, *American Association of Poison Control Centers*, 2004.
201. Uchida K. 4-Hydroxy-2-nonenal: a product and mediator of oxidative stress. *Prog Lipid Res.* 2003; 42: 318-343.
202. Vasavada N., Williams C., Hellman R. Ethylene Glycol Intoxication: Case Report and Pharmacokinetic Perspectives. *Pharmacother.* 2004; 23: 652-1658.
203. Velez LI., Shepherd G., Lee YC., Keyes DC. Ethylene glycol ingestion treated only with fomepizole. *J Med Toxicol.* 2007; 3: 125-128.
204. Wacker W., Hayner H., Druyan R. et al. Treatment of ethylene glycol poisonings with ethyl alcohol. *JAMA.* 1965; 194: 1231-1233.
205. Wagnerberger S., Fiederlein L., Kanuri G., Stahl C., Millonig G., Mueller S., et al. Sex-specific differences in the development of acute alcohol-induced liver steatosis in mice. *Alcohol Alcohol.* 2013; 21: 1-9.

206. Wakui K., Kumata H., Tadaki H. Clinical significance of serum glutathione reductase in various clinical conditions especially in liver diseases. *Tohoku J Exp Med*, 1976; 118: 17-23.
207. Walach J. Interpretacja badań laboratoryjnych. *Medipage*, 2011, Warszawa.
208. Watson WA., Litovitz TL., Rodgers GC Jr., Klein-Schwartz W., Reid N., Youniss J. et al. 2004 Annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. *Am J Emerg Med*. 2005; 23: 589–666.
209. Watson WA., Litovitz TL., Rodgers GC Jr., Klein-Schwartz W., Youniss J., Rutherford R., Borys D., May ME. 2002 annual report of the American association of poison control centers toxic exposure surveillance system, *Am J Emerg Med*. 2003; 21: 353-421
210. Williams RH., Shah SM., Maggiore JA., Erickson TB. Simultaneous detection and quantitation of diethylene glycol, ethylene glycol and the toxic alcohols in serum using capillary column gas chromatography. *J Anal Tox*. 2000; 24: 621-626.
211. Wu AHB., Broussard LA., Hoffman RS., Kwong TC., McKay C., Moyer TP., et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: recommendations for the use of laboratory tests to support the impaired and overdosed patients from the emergency department. *Clin Chem*. 2003; 49: 357–379.
212. Wu SJ., Lin YH., Chu CC., Tsai YH., Chao JCJ. Curcumin or saikosaponin a improves hepatic antioxidant capacity and protects against CCl<sub>4</sub> induced liver injury in rats. *J Med Food*. 2008; 11: 224-229.
213. Yao HH., Porter WH. Simultaneous determination of ethylene glycol and its major toxic metabolite, glycolic acid, in serum by gas chromatography. *Clin Chem*. 1996; 42: 292-297.
214. Yeum KJ., Aldini G., Chung HY., Krinsky NI., Russell R. The activities of antioxidant nutrients in human plasma depend on the localization of attacking radical species *J Nutr*. 2003; 133: 2688-2691.
215. Yeum KJ., Rusell RM., Krinsky NI., Aldini G. Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Arch Biochem Biophys*. 2004; 430: 97-103.

216. Yilmaz F., Yilmaz G., Erol MF., Koklu S., Yucel D. Nitric oxide, lipid peroxidation and total thiol levels in acute appendicitis. *J Clin Lab Anal.* 2010; 24: 63-66.
217. Yilmaz O., Keser S., Tuzcu M. Guvenc M., Cetintas B., et al. A practical HPLC method to measure reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione concentrations in animal tissues. *J Adv Vet Re.* 2009; 8: 343-347.
218. Yoon SY., Kim TB., Baek S., Kim S., Kwon HS., Lee YS., et al. The impact of total antioxidant capacity on pulmonary function in asthma patients. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2012; 16: 1544-1550.
219. Zhang J., Veasey S. Making sense of oxidative stress in obstructive sleep apnea: mediator or distracter? *Front Neurol.* 2012; 3: 1-8.
220. Zimmermann HE., Burkhart KK., Donovan JW. Ethylene glycol and methanol poisoning: diagnosis and treatment. *J Emerg Nurs.* 1999; 25: 116-120.
221. [http://manhaz.cyf.gov.pl/manhaz/substancje\\_niebezpieczne/default.html](http://manhaz.cyf.gov.pl/manhaz/substancje_niebezpieczne/default.html) z dnia 17.03.2014.
222. <http://wisechoiceliving.com/its-radical-part-1/> z dnia 22.03.2014.
223. [http://www.chemikalia.gov.pl/bazy\\_danych\\_informacje\\_o\\_chemikaliach.html](http://www.chemikalia.gov.pl/bazy_danych_informacje_o_chemikaliach.html) z dnia 18.03.2014.
224. [http://www.pctox.pl/e107\\_files/downloads/Dializoterapia%20-%20HD.pdf](http://www.pctox.pl/e107_files/downloads/Dializoterapia%20-%20HD.pdf) z dnia 23.03.2014.
225. [http://www.proauto.pl/index.php?id=57#3.\\_P%C5%81YNY\\_CH%C5%81ODNICZE](http://www.proauto.pl/index.php?id=57#3._P%C5%81YNY_CH%C5%81ODNICZE) z dnia 18.03.2014.
226. [http://www.probiox.com/uk/html/body\\_stressoxydant.htm](http://www.probiox.com/uk/html/body_stressoxydant.htm) z dnia 01.06.2011.

## 11. Spis tabel

Tabela 1. Właściwości fizykochemiczne glikolu etylenowego. ....	18
Tabela 2. Płyny chłodnicze zawierające glikol etylenowy dostępne na rynku krajowym. ....	20
Tabela 3. Płyny hamulcowe zawierające glikol etylenowy dostępne na rynku krajowym. ....	21
Tabela 4. Podział na fazy zatrucia względem objawów klinicznych, czasu ich wystąpienia i metabolitów .....	29
Tabela 5. Metody oznaczania glikolu etylenowego i kwasu glikolowego.....	32
Tabela 6. Wartości referencyjne parametrów laboratoryjnych. ....	33
Tabela 7. Algorytm dla zatrucia glikolem etylenowym .....	34
Tabela 8. Wyniki podstawowych i uzupełniających badań w zatruciu EG.....	37
Tabela 9. Dawki alkoholu etylenowego zależnie od sposobu podania w zatruciu EG.....	39
Tabela 10. Europejskie zalecenia dawkowania 4MP w zatruciu EG .....	40
Tabela 11. Porównanie mechanizmu działania i dawek tiaminy i pirydoksyny w terapii zatruc EG .....	40
Tabela 12. Parametry toksykokinetyczne glikolu etylenowego kwalifikujące zatrutych pacjentów do hemodializy .....	42
Tabela 13. Metodyka oznaczeń biochemicznych i toksykologicznych u pacjentów monitorowanych w trakcie zatrucia glikolem etylenowym. ....	62
Tabela 14. Metodyka oznaczania parametrów stresu oksydacyjnego u pacjentów monitorowanych w trakcie zatrucia glikolem etylenowym. ....	68
Tabela 15. Charakterystyka badanej grupy A pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w latach 2009-2013. ....	76
Tabela 16. Charakterystyka grupy pacjentów zatrutych glikolem etylenowym A1 i kontrolnej pod względem wieku i płci. ....	81
Tabela 17. Porównanie parametrów biochemicznych i toksykologicznych w grupie badanej i kontrolnej .....	82
Tabela 18. Wpływ parametrów równowagi kwasowo-zasadowej i stężenia alkoholu etylenowego i metylowego na stężenie jonów $[H^+]$ w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym. ....	86
Tabela 19. Wpływ parametrów biochemicznych na stężenie jonów $[H^+]$ w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.....	87
Tabela 20. Porównanie parametrów stresu oksydacyjnego w grupie badanej i kontrolnej. ....	91
Tabela 21. Wpływ wieku i płci na markery stresu oksydacyjnego w grupie kontrolnej. ....	95
Tabela 22. Wpływ wieku i płci na parametry biochemiczne w grupie kontrolnej.....	96
Tabela 23. Wpływ wieku, stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylenowego i metylowego na parametry równowagi kwasowo-zasadowej w grupie badanej .....	99
Tabela 24. Wpływ wieku, stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylenowego i metylowego na parametry biochemiczne w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym. ....	100
Tabela 25. Wpływ wieku, stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylenowego i metylowego na markery stresu oksydacyjnego w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym. ....	101
Tabela 26. Wpływ wieku, stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylenowego i metylowego na markery stresu oksydacyjnego w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym. ....	102
Tabela 27. Wpływ równowagi kwasowo-zasadowej na markery stresu oksydacyjnego w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym .....	106
Tabela 28. Wpływ równowagi kwasowo-zasadowej na markery stresu oksydacyjnego w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym .....	107

Tabela 29. Wpływ parametrów biochemicznych na markery stresu oksydacyjnego w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym. ....	108
Tabela 30. Wpływ parametrów biochemicznych na markery stresu oksydacyjnego w grupie badanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym. ....	109
Tabela 31. Wiek i stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i metylowego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin od spożycia glikolu etylenowego i między 12 a 24.....	113
Tabela 32. Parametry stresu oksydacyjnego u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu jaki minął od spożycia glikolu etylenowego do potwierdzenia zatrucia. ....	115
Tabela 33. Parametry równowagi kwasowo-zasadowej oraz biochemiczne u pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu jaki minął od spożycia glikolu etylenowego do potwierdzenia zatrucia. ....	118
Tabela 34. Wpływ wieku i stężeń stężenia glikolu etylenowego, alkoholu etylowego i metylowego na przeżywalność i śmiertelność pacjentów zatrutych glikolem etylenowym. ....	119
Tabela 35. Wpływ markerów stresu oksydacyjnego na przeżywalność i śmiertelność pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.....	120
Tabela 36. Wpływ parametrów biochemicznych i równowagi kwasowo-zasadowej na przeżywalność i śmiertelność pacjentów zatrutych glikolem etylenowym.....	121
Tabela 37. Stężenie glikolu etylenowego (w dwóch punktach czasowych) i alkoholu etylowego (w czterech punktach czasowych) w grupie monitorowanych pacjentów....	123
Tabela 38. Parametry gazometrii (w czterech punktach czasowych) w grupie monitorowanych pacjentów. ....	125
Tabela 39. Parametry biochemiczne (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych. ....	126
Tabela 40. Analiza statystyczna stężenia alkoholu etylowego (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu.....	127
Tabela 41. Analiza statystyczna stężenie jonów $[H^+]$ (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.....	129
Tabela 42. Analiza statystyczna wartości $pCO_2$ (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.....	131
Tabela 43. Analiza statystyczna wartości $pO_2$ (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.....	133
Tabela 44. Analiza statystyczna stężenia $HCO_3$ (w czterech punktach czasowych) w grupie monitorowanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.....	135
Tabela 45. Analiza statystyczna stężenia BE (w czterech punktach czasowych) w grupie monitorowanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.....	137
Tabela 46. Analiza statystyczna stężenia kreatyniny (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.....	139
Tabela 47. Analiza statystyczna stężenia mocznika (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.....	140
Tabela 48. Analiza statystyczna aktywności ALT (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.....	141
Tabela 49. Analiza statystyczna aktywności AST (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu.....	142
Tabela 50. Markery stresu oksydacyjne (w czterech punktach czasowych) w grupie monitorowanych pacjentów .....	145

Tabela 51. Analiza statystyczna aktywności katalazy (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu. ....	146
Tabela 52. Analiza statystyczna aktywności peroksydazy glutationowej (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu. ....	148
Tabela 53. Analiza statystyczna aktywności reduktazy glutationowej (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu. ....	150
Tabela 54. Analiza statystyczna stężenia HNE (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu. ....	152
Tabela 55. Analiza statystyczna poziomu TBARS (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu. ....	154
Tabela 56. Analiza statystyczna aktywności S-transferazy glutationowej (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu. ....	156
Tabela 57. Analiza statystyczna poziomu TAC (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu. ....	157
Tabela 58. Analiza statystyczna stężenia glutationu (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru..	159
Tabela 59. Stężenie glikolu etylenowego (w dwóch punktach czasowych) i alkoholu etylowego (w czterech punktach czasowych) w grupie monitorowanych pacjentów w zależności od czasu w jakim zostali zdiagnozowani. ....	162
Tabela 60. Wyniki gazometrii (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych, w zależności od czasu w jakim zostali zdiagnozowani. ....	164
Tabela 61. Parametry biochemiczne (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu w jakim zostali zdiagnozowani. ....	166
Tabela 62. Markery stresu oksydacyjnego (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych w zależności od czasu w jakim zostali zdiagnozowani. ...	167
Tabela 63. Analiza statystyczna markerów stresu oksydacyjnego w grupie monitorowanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu, wieku .....	171
Tabela 64. Analiza statystyczna markerów stresu oksydacyjnego w grupie monitorowanej pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu, wieku .....	172
Tabela 65. Analiza statystyczna markerów stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu i wyników gazometrii. ....	176
Tabela 66. Analiza statystyczna markerów stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu i wyników gazometrii. ....	177
Tabela 67. Analiza statystyczna markerów stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu i stężenia alkoholu etylowego.	180
Tabela 68. Analiza statystyczna markerów stresu oksydacyjnego w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu i stężenia alkoholu etylowego.	181
Tabela 69. Wiek i wyniki badań toksykologicznych (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych i grupie kontrolnej. ....	185
Tabela 70. Parametry biochemiczne (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych i grupie kontrolnej. ....	188
Tabela 71. Markery stresu oksydacyjnego (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów monitorowanych i grupie kontrolnej. ....	194

## 12. Spis rycin

Rycina 1. Biotransformacja glikolu etylenowego w modyfikacji własnej.....	27
Rycina 2. Kryształy szczawianów wapnia w moczu pacjentów zatrutych glikolem etylenowym. ....	29
Rycina 3. Wzór na obliczenie osmolalności. ....	34
Rycina 4. Wzór na obliczenie luki anionowej.....	35
Rycina 5. Wolne rodniki tlenowe i azotowe .....	44
Rycina 6. Źródła reaktywnych form tlenu i azotu oraz ich udział w reakcjach sygnalizacyjnych i efekty ich szkodliwego działania.....	44
Rycina 7. Reakcja nadtlenu wodoru z jonami żelaza (II) z wytwarzaniem rodnika hydroksylowego. ....	45
Rycina 8. Reakcja nadtlenu wodoru i anionorodnika ponadtlenkowego w obecności jonów żelaza (II).....	45
Rycina 9. Stany chorobowe, w których etiopatogenezę zaangażowane są RFT.....	48
Rycina 10. Schemat badań. ....	61
Rycina 11. Częstość zatruc glikolem etylenowym w grupie A według dokumentacji medycznej.....	77
Rycina 12. Czas od spożycia glikolu etylenowego do potwierdzenia zatrucia według dokumentacji medycznej. ....	77
Rycina 13. Częstość występowania przypadków zatruc glikolem w województwie wielkopolskim i lubuskim .....	78
Rycina 14. Źródło glikolu etylenowego według dokumentacji medycznej grupy A. ....	79
Rycina 15. Stężenie glikolu etylenowego w krwi pacjentów grupy A. ....	79
Rycina 16. Wykres ramkowy stężenia kreatyniny w grupie badanej i kontrolnej. ....	84
Rycina 17. Wykres ramkowy stężenia mocznika w grupie badanej i kontrolnej. ....	84
Rycina 18. Wykres ramkowy aktywności ALT w grupie badanej i kontrolnej. ....	85
Rycina 19. Wykres ramkowy aktywności AST w grupie badanej i kontrolnej. ....	85
Rycina 20. Wykres rozrzutu dla stężenia jonów $[H^+]$ w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym .....	88
Rycina 21. Wykres rozrzutu dla stężenia jonów $[H^+]$ w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym .....	88
Rycina 22. Wykres rozrzutu dla stężenia jonów $[H^+]$ w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym .....	88
Rycina 23. Wykres rozrzutu dla stężenia jonów $[H^+]$ w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym .....	89
Rycina 24. Wykres ramkowy aktywności katalazy w grupie badanej i kontrolnej. ....	92
Rycina 25. Wykres ramkowy aktywności peroksydazy glutationowej w grupie badanej i kontrolnej. ....	92
Rycina 26. Wykres ramkowy aktywności reduktazy glutationowej w grupie badanej i kontrolnej. ....	92
Rycina 27. Wykres ramkowy stężenia hydroksynonenalu w grupie badanej i kontrolnej. ....	93
Rycina 28. Wykres ramkowy poziomu TBARS w grupie badanej i kontrolnej. ....	93
Rycina 29. Wykres ramkowy aktywności S-transferazy glutationowej w grupie badanej i kontrolnej .....	93
Rycina 30. Wykres ramkowy stężenia glutationu w grupie badanej i kontrolnej. ....	94
Rycina 31. Wykres rozrzutu: aktywność katalazy w grupie kontrolnej w zależności od wieku. ....	97
Rycina 32. Wykres rozrzutu: poziom TBARS w grupie kontrolnej w zależności od wieku. ..	97

Rycina 33. Wykres rozrzutu: stężenie kreatyniny w grupie kontrolnej w zależności od wieku. ....	97
Rycina 34. Wykres ramkowy stężenia hydroksynonenalu w grupie kontrolnej w zależności od płci. ....	98
Rycina 35. Wykres rozrzutu aktywności katalazy w zależności od stężenia glikolu etylenowego. ....	103
Rycina 36. Wykres rozrzutu: aktywność peroksydazy glutationowej w zależności od stężenia glikolu etylenowego. ....	103
Rycina 37. Wykres rozrzutu: aktywność reduktazy glutationowej w zależności od stężenia glikolu etylenowego. ....	103
Rycina 38. Wykres rozrzutu: zależność stężenia hydroksynonenalu od stężenia glikolu etylenowego. ....	104
Rycina 39. Wykres rozrzutu: zależność poziomu TBARS od stężenia glikolu etylenowego. ....	104
Rycina 40. Wykres rozrzutu: zależność poziomu TAC od stężenia alkoholu etylowego. ....	104
Rycina 41. Wykres rozrzutu: zależność aktywności reduktazy glutationowej od stężenia alkoholu metyloвого. ....	105
Rycina 42. Wykres rozrzutu: zależność aktywności S-transferazy glutationowej od stężenia kreatyniny. ....	110
Rycina 43. Wykres rozrzutu: zależność stężenia hydroksynonenalu od stężenia mocznika. ....	110
Rycina 44. Wykres ramkowy stężenia glikolu etylenowego z uwzględnieniem grup pacjentów, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin i między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego. ....	114
Rycina 45. Wykres ramkowy aktywności peroksydazy glutationowej z uwzględnieniem grup pacjentów, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin i między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego. ....	116
Rycina 46. Wykres ramkowy aktywności reduktazy glutationowej z uwzględnieniem grup pacjentów, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin i między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego. ....	116
Rycina 47. Wykres ramkowy stężenia hydroksynonenalu z uwzględnieniem grup pacjentów, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin i między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego. ....	116
Rycina 48. Wykres ramkowy poziomu TBARS z uwzględnieniem grup pacjentów, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin i między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego. ....	117
Rycina 49. Wykres ramkowy aktywności katalazy z uwzględnieniem grup pacjentów, u których potwierdzono zatrucie <12 godzin i między 12 a 24 godziną od spożycia glikolu etylenowego. ....	117
Rycina 50. Wykres ramkowy stężenia jonów $[H^+]$ w grupach pacjentów, którzy przeżyli i tych którzy zmarli. ....	122
Rycina 51. Wykres ramkowy stężeń alkoholu etylowego (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru. ....	128
Rycina 52. Wykres ramkowy dla stężenia jonów $[H^+]$ (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru. ....	130
Rycina 53. Wykres ramkowy dla $pCO_2$ (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru. ....	132
Rycina 54. Wykres ramkowy dla $pO_2$ (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru. ....	134
Rycina 55. Wykres ramkowy dla $HCO_3$ (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru. ....	136



Rycina 56. Wykres ramkowy dla BE (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru. ....	138
Rycina 57. Wykres ramkowy dla aktywności AST (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru. .	143
Rycina 58. Wykres ramkowy dla aktywności katalazy (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru. .	147
Rycina 59. Wykres ramkowy dla aktywności peroksydazy glutationowej (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru. ....	149
Rycina 60. Wykres ramkowy dla aktywności reduktazy glutationowej (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru. ....	151
Rycina 61. Wykres ramkowy dla HNE (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru. ....	153
Rycina 62. Wykres ramkowy dla poziomu TBARS (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru. .	155
Rycina 63. Wykres ramkowy dla TAC (w czterech punktach czasowych) w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od czasu pomiaru. ....	158
Rycina 64. Wykres ramkowy mediany stężenia glikolu etylenowego w grupie pacjentów monitorowanych podczas hospitalizacji z uwzględnieniem czasu w jakim zostało potwierdzone zatrucie .....	163
Rycina 65. Wykres ramkowy średniego stężenia glikolu etylenowego w grupie pacjentów monitorowanych podczas hospitalizacji z uwzględnieniem czasu w jakim zostało potwierdzone zatrucie. ....	163
Rycina 66. Wykres ramkowy mediany pO <sub>2</sub> w chwili wypisu pacjenta ze szpitala z uwzględnieniem czasu w jakim zostało potwierdzone zatrucie glikolem. ....	165
Rycina 67. Wykres ramkowy średniej pO <sub>2</sub> w chwili wypisu pacjenta ze szpitala z uwzględnieniem czasu w jakim zostało potwierdzone zatrucie glikolem. ....	165
Rycina 68. Wykres ramkowy mediany aktywności reduktazy glutationowej zmierzonej przy przyjęciu do szpitala z uwzględnieniem czasu jaki minął od potwierdzenia zatrucie glikolem. ....	168
Rycina 69. Wykres ramkowy mediany poziomu TBARS zmierzonego przy przyjęciu do szpitala z uwzględnieniem czasu jaki minął od potwierdzenia zatrucie glikolem. ....	168
Rycina 70. Wykres ramkowy średniej aktywności reduktazy glutationowej zmierzonej przy przyjęciu do szpitala z uwzględnieniem czasu jaki minął od potwierdzenia zatrucie glikolem. ....	168
Rycina 71. Wykres ramkowy średniej poziomu TBARS zmierzonego przy przyjęciu do szpitala z uwzględnieniem czasu jaki minął od potwierdzenia zatrucie glikolem. ....	169
Rycina 72. Wykres rozrzutu dla stężenia glutationu w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od stężenia mocznika w dniu wypisu ze szpitala. ....	173
Rycina 73. Wykres rozrzutu dla aktywności S-transferazy glutationowej w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od stężenia mocznika w dniu wypisu ze szpitala. ....	173
Rycina 74. Wykres rozrzutu dla poziomu TBARS w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od stężenia mocznika w chwili potwierdzenia zatrucia. ....	173
Rycina 75. Wykres rozrzutu dla aktywności reduktazy glutationowej w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od aktywności ALT w dniu wypisu ze szpitala. ....	174
Rycina 76. Wykres rozrzutu dla aktywności katalazy w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od aktywności AST między 48 a 72 godziną hospitalizacji. ....	174

Rycina 77. Wykres rozrzutu dla aktywności katalazy w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od aktywności AST po podaniu odtrutki/przeprowadzeniu hemodializy. ....	174
Rycina 78. Wykres rozrzutu dla TAC w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od aktywności ALT po podaniu odtrutki/przeprowadzeniu hemodializy	175
Rycina 79. Wykres rozrzutu dla aktywności reduktazy glutationowej w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od HCO <sub>3</sub> w dniu wypisu ze szpitala. ....	178
Rycina 80. Wykres rozrzutu dla aktywności katalazy w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od pO <sub>2</sub> w dniu wypisu ze szpitala. ....	178
Rycina 81. Wykres rozrzutu dla aktywności S-transferazy glutationowej w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od pO <sub>2</sub> po podaniu odtrutki/przeprowadzeniu hemodializy. ....	178
Rycina 82. Wykres rozrzutu dla aktywności katalazy w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od pCO <sub>2</sub> w dniu wypisu ze szpitala. ....	179
Rycina 83. Wykres rozrzutu dla stężenia glutationu w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od stężenia [H <sup>+</sup> ] w dniu wypisu ze szpitala. ....	179
Rycina 84. Wykres rozrzutu dla aktywności reduktazy glutationowej w grupie j pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od stężenia [H <sup>+</sup> ] w dniu wypisu ze szpitala. ....	179
Rycina 85. Wykres rozrzutu dla aktywności S-transferazy glutationowej w grupie pacjentów zatrutych glikolem etylenowym w zależności od stężenia alkoholu etylowego po podaniu odtrutki/przeprowadzeniu hemodializy. ....	182
Rycina 86. Wykres ramkowy mediany stężenia glikolu etylenowego zmierzonego przy przyjęciu do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	186
Rycina 87. Wykres ramkowy mediany stężenia alkoholu etylowego zmierzonego przy przyjęciu do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	186
Rycina 88. Wykres ramkowy mediany stężenia alkoholu etylowego zmierzonego po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	186
Rycina 89. Wykres ramkowy mediany stężenia alkoholu etylowego zmierzonego między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	187
Rycina 90. Wykres ramkowy mediany stężenia kreatyniny zmierzonej przy przyjęciu do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	189
Rycina 91. Wykres ramkowy mediany stężenia kreatyniny zmierzonej po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	189
Rycina 92. Wykres ramkowy mediany stężenia kreatyniny zmierzonej między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	189
Rycina 93. Wykres ramkowy mediany stężenia kreatyniny zmierzonej w dniu wypisu pacjentów ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	190
Rycina 94. Wykres ramkowy mediany stężenia mocznika zmierzonego w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	190
Rycina 95. Wykres ramkowy mediany stężenia mocznika zmierzonego po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	190
Rycina 96. Wykres ramkowy mediany stężenia mocznika zmierzonego między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	191
Rycina 97. Wykres ramkowy mediany stężenia mocznika zmierzonego w dniu wypisu pacjentów ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	191
Rycina 98. Wykres ramkowy mediany aktywności ALT zmierzonej w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	191
Rycina 99. Wykres ramkowy mediany aktywności ALT zmierzonej po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	192

Rycina 100. Wykres ramkowy mediany aktywności ALT zmierzonej między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	192
Rycina 101. Wykres ramkowy mediany aktywności ALT zmierzonej w dniu wypisu pacjentów ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	192
Rycina 102. Wykres ramkowy mediany aktywności AST zmierzonej w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	193
Rycina 103. Wykres ramkowy mediany aktywności AST zmierzonej po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	193
Rycina 104. Wykres ramkowy mediany aktywności AST zmierzonej między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	193
Rycina 105. Wykres ramkowy mediany aktywności CAT zmierzonej w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	195
Rycina 106. Wykres ramkowy mediany aktywności CAT zmierzonej po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	195
Rycina 107. Wykres ramkowy mediany aktywności CAT zmierzonej między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	195
Rycina 108. Wykres ramkowy mediany aktywności CAT zmierzonej w dniu wypisu ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	196
Rycina 109. Wykres ramkowy mediany aktywności GPx zmierzonej w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	196
Rycina 110. Wykres ramkowy mediany aktywności GPx zmierzonej po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	196
Rycina 111. Wykres ramkowy mediany aktywności GPx zmierzonej między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	197
Rycina 112. Wykres ramkowy mediany aktywności GPx zmierzonej w dniu wypisu ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	197
Rycina 113. Wykres ramkowy mediany aktywności GR zmierzonej w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	197
Rycina 114. Wykres ramkowy mediany aktywności GR zmierzonej po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	198
Rycina 115. Wykres ramkowy mediany aktywności GR zmierzonej między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	198
Rycina 116. Wykres ramkowy mediany aktywności GR zmierzonej w dniu wypisu ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	198
Rycina 117. Wykres ramkowy mediany poziomu TBARS zmierzonego po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	199
Rycina 118. Wykres ramkowy mediany poziomu TBARS zmierzonego między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	199
Rycina 119. Wykres ramkowy mediany poziomu TBARS zmierzonego w dniu wypisu ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	199
Rycina 120. Wykres ramkowy mediany aktywności GST zmierzonej w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	200
Rycina 121. Wykres ramkowy mediany aktywności GST zmierzonej między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	200
Rycina 122. Wykres ramkowy mediany aktywności GST zmierzonej w dniu wypisu ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	200
Rycina 123. Wykres ramkowy mediany stężenia glutationu zmierzonego w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	201
Rycina 124. Wykres ramkowy mediany stężenia glutationu po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	201

Rycina 125. Wykres ramkowy mediany stężenia glutationu zmierzonego między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	201
Rycina 126. Wykres ramkowy mediany stężenia glutationu zmierzonego w dniu wypisu w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	202
Rycina 127. Wykres ramkowy mediany stężenia HNE zmierzonego w dniu przyjęcia do szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	202
Rycina 128. Wykres ramkowy mediany stężenia HNE zmierzonego po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	202
Rycina 129. Wykres ramkowy mediany stężenia HNE zmierzonego między 48 a 72 godziną hospitalizacji w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	203
Rycina 130. Wykres ramkowy mediany stężenia HNE zmierzonego w dniu wypisu ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	203
Rycina 131. Wykres ramkowy mediany poziomu TAC zmierzonego po podaniu odtrutki w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	203
Rycina 132. Wykres ramkowy mediany poziomu TAC zmierzonego w dniu wypisu ze szpitala w porównaniu do grupy kontrolnej. ....	204

## 13. Załączniki

### 13.1. Załącznik nr 1.

#### INFORMACJE DLA DAWCY MATERIAŁU BIOLOGICZNEGO

(grupa kontrolna)

1. *W jaki sposób zamierza się pobrać materiał biologiczny?*

Do eksperymentu zostanie wykorzystany pozostały materiał pozyskany w trakcie diagnostycznych rutynowych procedur medycznych (krew).

2. *Czy pozyskanie materiału jest związane z ryzykiem poniesienia szkody na zdrowiu lub z niedogodnościami?*

Pozyskanie materiału nie wiąże się z żadnym ryzykiem poniesienia szkody na zdrowiu.

3. *Kto będzie przechowywał pobrany materiał biologiczny i dysponował nim?*

Materiał będzie przechowywany w Zakładzie i Katedrze Toksykologii UM w Poznaniu

4. *W jakim celu zamierza się wykorzystać pozyskany materiał?*

Celem zaplanowanego doświadczenia jest ocena równowagi oksydacyjno - redukcyjnej w materiale biologicznym (krew) pochodzącym od zdrowych uczestników, zgromadzonym w ramach standardowych procedur medycznych. Wyniki uzyskane w badaniach pozyskanego materiału posłużą jako wartości referencyjne.

5. *W jaki sposób będą chronione dane osobowe dawcy?*

Dane osobowe dawcy nie stanowią źródła informacji dla zaplanowanego eksperymentu.

6. *Jakie korzyści wynikają dla dawcy z przeprowadzonych badań?*

Korzyścią dla uczestników grupy kontrolnej będzie znajomość statusu antyoksydacyjnego.

## **Deklaracja świadomej zgody**

**(dla grupy kontrolnej)**

Imię i nazwisko pacjenta:

---

PESEL pacjenta:

---

Adres zamieszkania:

---

Niniejszym wyrażam zgodę na wykorzystanie niezbędnych danych medycznych oraz nieodpłatne udostępnienie próbki materiału biologicznego (krew) pobranego zgodnie z wymaganiami rutynowych procedur diagnostycznych celem przeprowadzenia badań naukowych w kierunku oceny równowagi oksydacyjnej w ustroju osób zdrowych z zachowaniem anonimowości mojej osoby. Uzyskane wyniki będą stanowić grupę odniesienia w badaniach stresu antyoksydacyjnego w zatruciach ostrych.

Wymierną korzyścią tych badań dla uczestnika będzie znajomość własnego statusu antyoksydacyjnego (równowagi oksydacyjno-redukcyjnej).

.....

Data

.....

Czytelny podpis

Uczestnika

.....

Czytelny podpis

Badacza

## 13.2. Załącznik nr 2.

### INFORMACJE DLA DAWCY MATERIAŁU BIOLOGICZNEGO

(grupa osób z potwierdzonym zatruciem glikolem etylenowym)

1. *W jaki sposób zamierza się pobrać materiał biologiczny?*

Do eksperymentu zostanie wykorzystany pozostały, po wykonaniu badań zleconych przez lekarza, materiał biologiczny pozyskany w trakcie leczniczych lub diagnostycznych rutynowych procedur medycznych (krew i/lub mocz).

2. *Czy pozyskanie materiału jest związane z ryzykiem poniesienia szkody na zdrowiu lub z niedogodnościami?*

Pozyskanie materiału nie wiąże się z żadnym ryzykiem poniesienia szkody na zdrowiu.

3. *Kto będzie przechowywał pobrany materiał biologiczny i dysponował nim?*

Materiał będzie przechowywany w Zakładzie i Katedrze Toksykologii UM w Poznaniu

4. *W jakim celu zamierza się wykorzystać pozyskany materiał?*

Celem zaplanowanego doświadczenia jest ocena równowagi oksydacyjno - redukcyjnej w materiale biologicznym (krew) pochodzącym od pacjentów leczonych z powodu potwierdzonego zatrucia glikolem etylenowym. Efektem badań będzie uzyskanie danych dotyczących roli stresu oksydacyjnego w zatruciu glikolem etylenowym oraz ocena korelacji pomiędzy ciężkością zatrucia, jego przebiegiem, współistniejącym stresem oksydacyjnym i podjętą terapią odtruwającą w przeciwdziałaniu negatywnym skutkom zdrowotnym.

5. *W jaki sposób będą chronione dane osobowe dawcy?*

Dane osobowe dawcy nie stanowią źródła informacji dla zaplanowanego eksperymentu.

6. *Jakie korzyści wynikają dla dawcy z przeprowadzonych badań?*

Korzyść dla pacjenta stanowi poznanie mechanizmu toksycznego działania i poprawa efektywności leczenia zdiagnozowanych zatruc glikolem etylenowym.

## **Deklaracja świadomej zgody**

(dla grupy osób z potwierdzonym zatruciem glikolem etylenowym)

Imię i nazwisko pacjenta:

---

PESEL pacjenta:

---

Adres zamieszkania:

---

Niniejszym wyrażam zgodę na wykorzystanie niezbędnych danych medycznych oraz nieodpłatne udostępnienie próbki materiału biologicznego (krew i/lub mocz), pobranego zgodnie z wymaganiami rutynowych procedur diagnostycznych, celem przeprowadzenia dodatkowych badań naukowych w kierunku oceny zaburzeń równowagi oksydacyjnej w ustroju w potwierdzonym u mnie zatruciu glikolem etylenowym z zachowaniem anonimowości mojej osoby.

Wymierną korzyścią przeprowadzonych badań będzie poznanie mechanizmu toksycznego działania glikolu etylenowego oraz udziału stresu oksydacyjnego w tych zatruciach a w efekcie poprawa skuteczności leczenia zdiagnozowanych zatruc glikolem etylenowym.

.....

Data

.....

Czytelny podpis

Uczestnika

.....

Czytelny podpis

Badacza



### 13.3. Załącznik nr 3.

Wszystkie definicje i równania użyte w obliczeniach parametrów równowagi kwasowo-zasadowej są oparte na jednostkach SI: stężenie w mmol/l, temperatura w °C, ciśnienie w Kpa [23].

W równaniach wykorzystywane są następujące symbole:

$$\log(x) = \log_{10}(x)$$

$$\ln(x) = \log_e(x)$$

#### Równanie 1:

$$pH(T) = pH(37) - [0.0146 + 0.0065 \times (pH(37) - 7.40)] [T - 37]$$

#### Równanie 2:

$$cH^+(T) = 10^{(9 - pH(T))}$$

#### Równanie 3:

$$pCO_2(T) = pCO_2(37) \times 10^{[0.021 \times (T - 37)]}$$

#### Równanie 4:

$$cHCO_3^-(P) = 0.23 \times pCO_2 \times 10^{[pH - pK_p]}$$

gdzie:

$$pK_p = 6.125 - \log [1 + 10^{(pH - 8.7)}]$$

$cHCO_3^-(P)$  zawiera jony wodorowęglanów, węglanów i karbaminianów w osoczu.

#### Równanie 5:

$$cBase(B) = 0.5 \times \left( \frac{8a' - 0.919}{a'} \right) + 0.5 \times \sqrt{\left( \frac{0.919 - 8a'}{a'} \right)^2 - 4x \frac{24.47 - cHCO_3^-(5.33)}{a'}}$$

## 13.4. Załącznik nr 4



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym  
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Collegium Maius  
ul. Fredry 10  
61-701Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60  
fax. (+48 61) 854 61 07  
www.bioetyka.ump.edu.pl

### Uchwała nr 126/11

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 1 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (Dz. U. 1997, Nr 26, poz. 152); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 21 maja 1999r. w sprawie szczególnych zasad prowadzenia i finansowania oraz wyboru stowarzyszeń i innych organizacji (Dz. U. Nr 47, poz. 488); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 11 marca 2005 r. w sprawie rozróżnienia województwa Wielkopolskiego (Dz. U. 2005, Nr 57, poz. 530); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. z 2004r. Nr 22, poz. 338 ze zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 20 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i opiekuna (Dz. U. 2004 nr 101, poz. 1024 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2009r. zmieniającego rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i opiekuna (Dz. U. Nr 181, poz. 145); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 10 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem pacjentów (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1148); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 10 kwietnia 2004r. w sprawie zgłoszenia niepożądanego zdarzenia niepożądanego zdarzenia produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 4 listopada 2008r. w sprawie sposobu dochodzenia przestępstw w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wydatków i sposobu obciążenia opłat za rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. Nr 201, poz. 1247), kierując się Zasadami Prowadzenia Prowadzenia Badań Klinicznych – GCP – opracowanymi w oparciu o Deklarację Helsińską.

**Komisja, na posiedzeniu w dniu: 03 marca 2011 r.**

rozpatrzyła wniosek, który przedstawiła Pani:

**prof. dr hab. Barbara Zielińska- Psuja**

w sprawie prowadzenia badań w

**Katedrze i Zakładzie Toksykologii UM w Poznaniu, we współpracy z Oddziałem Toksykologii im. W. Błęńskiej, Ośrodkiem Informacji Toksykologicznej oraz Zakładem Diagnostyki Medycznej Labo- Med. w szpitalu Miejskim im. F. Raszeł w Poznaniu**

**Główny badacz: mgr Karina Sommerfeld**  
**Członkowie zespołu badawczego: dr Magdalena Łukasik- Głębocka**

**Temat**

**badan: "Wpływ ostrej intoksykacji glikolem etylenowym na parametry stresu oksydacyjnego w materiale diagnozowanym w Oddziale Toksykologii im. W. Błęńskiej z Ośrodkiem Informacji Toksykologicznej Szpitala Miejskiego im. F. Raszeł w Poznaniu".**

**Komisja wyraża zgodę na prowadzenie badań**

Przewodniczący Komisji

Prof. zw. dr hab. med. Zygmunt Przybylski

## 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](http://www.wbc.poznan.pl)).

Poznań, dnia.....

.....

(podpis)

## OŚWIADCZENIE

Niniejszym oświadczam, iż jestem autorem pracy.....**doktorskiej**..... p.t.:

".....  
.....  
.....  
....."

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 .....

Data, podpis .....