

Justyna Kopka, Anna Dietrich-Muszalska

Wpływ kwercetyny na peroksydację lipidów indukowaną przez zyprazydon w ludzkim osoczu – badania *in vitro*

The effect of quercetine on lipid peroxidation induced by ziprasidone in human plasma – *in vitro* studies

Zakład Psychiatrii Biologicznej Międzywydziałowej, Katedra Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Correspondence to: Dr hab. n. med. Anna Dietrich-Muszalska – kierownik Zakładu Psychiatrii Biologicznej Międzywydziałowej Katedry Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Mazowiecka 6/8, 92-215 Łódź, tel.: 42 272 56 59, faks: 42 272 56 52, e-mail: tzn_lodz@post.pl

Praca finansowana przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi, numer badań: 502-03/1-155-02/502-14-106

The project has been financed by the means of the University of Łódź, research No 502-03/1-155-02/502-14-106

Streszczenie

Niektóre leki przeciwpsychotyczne, w tym zyprazydon (ZYP), przyczyniają się do zaburzeń równowagi pro- i antyoksydacyjnej u chorych na schizofrenię. Poszukiwanie skutecznej antyoksydacyjnej suplementacji zmniejszającej działanie prooksydacyjne leków przeciwpsychotycznych ma zatem duże znaczenie kliniczne. **Celem badania** było ustalenie wpływu ZYP na peroksydację lipidów ludzkiego osocza – przez oznaczenie stężenia związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS), w modelu *in vitro*. **Material i metody:** Krew do badań pobrano od zdrowych ochotników płci męskiej – na roztwór ACD. Substancję aktywną, czyli ZYP, rozpuszczono w 0,01% dimetylosulfotlenku do stężeń końcowych (40 ng/ml, 139 ng/ml) i inkubowano z osoczem (1 i 24 godziny, 37°C). Osocze inkubowano również z kwercetyną (7,5 µg/ml, 15 µg/ml) oraz z kwercetyną i ZYP, w różnych kombinacjach badanych stężeń. Do każdego doświadczenia wykonano próby kontrolne (bez leku). Oznaczenia stężenia TBARS przeprowadzono metodą spektrofotometryczną Rice'a-Evansa (modyfikacja: Wachowicz i Kustroń). **Wyniki:** ZYP w stężeniach 40 ng/ml i 139 ng/ml po 24 godzinach inkubacji z osoczem powoduje wzrost stężenia TBARS (*p* odpowiednio <0,01 i <0,002). Kwercetyna (7,5 µg/ml, 15 µg/ml) inkubowana 24 godziny w osoczu wraz z ZYP zmniejsza peroksydację lipidów średnio o 38% (dla ZYP 40 ng/ml *p* odpowiednio <0,0003 i <0,0001, dla ZYP 139 ng/ml *p* odpowiednio <0,002 i <0,004). **Wniosek:** Kwercetyna istotnie obniża peroksydację lipidów wywołaną przez zyprazydon.

Słowa kluczowe: leki przeciwpsychotyczne, zyprazydon, kwercetyna, peroksydacja lipidów, schizofrenia

Summary

Some antipsychotics, including ziprasidone (ZIP), contribute to pro- and antioxidative imbalance in schizophrenic patients. Therefore, searching for effective antioxidative supplementation decreasing antipsychotics prooxidative effects has a high clinical importance. **The aim of the study** was to establish the effect of ZIP on human plasma – by determining the levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), in *in vitro* model. **Material and methods:** Blood samples were obtained from healthy male volunteers and placed in the ACD solution. The active substance, i.e. ZIP, was dissolved in 0.01% solution of dimethylsulfoxide to reach the final concentrations (40 ng/ml, 139 ng/ml) and incubated with plasma (for 1 and 24 hours at 37°C). Plasma was also incubated with quercetine (7.5 µg/ml, 15 µg/ml) and with quercetine and ZIP, in different combinations of tested concentrations. Control samples (without the drug) were performed for each experiment. TBARS concentrations were determined using Rice-Evans

spectrophotometric method (modified by Wachowicz and Kustron). **Results:** ZIP at the concentrations of 40 ng/ml and 139 ng/ml after 24 hours of incubation with plasma causes an increase in TBARS (p respectively <0.01 and <0.002). Quercetine (7.5 $\mu\text{g/ml}$, 15 $\mu\text{g/ml}$) incubated for 24 hours in plasma with ZIP decreases lipid peroxidation on average by 38% (for ZIP 40 ng/ml p respectively <0.0003 and <0.0001 , for ZIP 139 ng/ml p respectively <0.002 and <0.004). **Conclusions:** Quercetine significantly decreases lipid peroxidation induced by ziprasidone.

Key words: antipsychotics, ziprasidone, quercetine, lipid peroxidation, schizophrenia

WSTĘP

Leki przeciwpsychotyczne znajdują szerokie zastosowanie w leczeniu zaburzeń psychicznych, zwłaszcza schizofrenii i choroby afektywnej dwubiegunowej (CHAD), w których etiopatogenezą jest zaangażowany stres oksydacyjny. Wyniki badań wskazują, że stosowanie części leków przeciwpsychotycznych indukuje stres oksydacyjny, co może sprzyjać występowaniu objawów pozapiramidowych (w tym późnych dyskinez)⁽¹⁻⁴⁾. Wpływ leków przeciwpsychotycznych na procesy pro- i antyoksydacyjne nie został jednak dokładnie poznany. Obecnie to obszar zainteresowań coraz większej grupy badaczy.

W różnych eksperymentach prowadzonych w modelu zwierzęcym i *in vitro* na liniach komórkowych stwierdzano indukowanie stresu oksydacyjnego i zwiększoną peroksydację lipidów błon komórkowych w czasie podawania wybranych leków przeciwpsychotycznych pierwszej generacji⁽⁵⁻⁷⁾. Jednakże w dotychczasowych badaniach nie wykazano, aby leki przeciwpsychotyczne drugiej generacji (LPIIG) powodowały istotny wzrost peroksydacji lipidów osocza.

W naszych badaniach po raz pierwszy zaobserwowaliśmy, że zyprazydon (LPIIG) w stężeniach 40 ng/ml, 139 ng/ml i 250 ng/ml – odpowiadających dawkom stosowanym w leczeniu schizofrenii (~40–160 mg na dobę)^(8,9) – wykazywał działanie prooksydacyjne.

Zyprazydon – 5-[2-(4-[1,2-benzisothiazol-3-yl]-1-piperazinyl)ethyl]-6-chloro-1,3-dihydro-2H-indol-2-one – działa antagonistycznie w stosunku do receptorów serotoninergicznych 2A (5HT_{2A}) i receptorów dopaminergicznych typu 2. (D₂). Wykazuje właściwości przeciwpsychotyczne i potencjalnie korzystny wpływ na objawy afektywne⁽¹⁰⁾. Stosowanie zyprazydonu wiąże się z niskim ryzykiem wystąpienia późnej dyskinezy czy objawów pozapiramidowych, a także deficytów poznawczych, nadmiernej sedacji i uspokożenia^(9,10).

Stosowanie zyprazydonu okazuje się wyjątkowo korzystne w przypadku pacjentów, którzy w czasie terapii innymi lekami przeciwpsychotycznymi uzyskali znaczący wzrost masy ciała, ponieważ terapia z użyciem tego leku pozwala zazwyczaj uzyskać normalizację wagi^(12,13). Z tego względu istotne wydaje się prowadzenie badań, których celem jest znalezienie skutecznej suplementacji antyoksydacyjnej przeciwdziałającej zwiększeniu peroksydacji lipidów osocza wywoływanej przez ZYP i część innych leków przeciwpsychotycznych.

INTRODUCTION

Antipsychotics find comprehensive application in treatment of mental disorders, especially schizophrenia and bipolar affective disorder (BAD) whose aetiopathogenesis involves oxidative stress. The results of the studies indicate that application of some of the antipsychotics induces oxidative stress, which may contribute to the occurrence of extrapyramidal symptoms (including tardive dyskinesias)⁽¹⁻⁴⁾. However, the effect of antipsychotics on pro- and antioxidative processes is not known precisely as yet. Presently, more and more researchers are interested in this issue.

Various experiments conducted in animal model and *in vitro* on cellular lines showed inducing of oxidative stress and increased lipid peroxidation of cellular membranes during administration of selected first generation antipsychotics⁽⁵⁻⁷⁾. However, the hitherto studies have not indicated that the second generation antipsychotics (SGAs) caused a significant increase in plasma lipid peroxidation.

In our studies we observed for the first time that ziprasidone (SGA) in concentrations: 40 ng/ml, 139 ng/ml and 250 ng/ml – corresponding to the doses used for treatment of schizophrenia (~40–160 mg per 24 hrs)^(8,9) – exhibited prooxidative effects.

Ziprasidone – 5-[2-(4-[1,2-benzisothiazol-3-yl]-1-piperazinyl)ethyl]-6-chloro-1,3-dihydro-2H-indol-2-one – acts antagonistically towards serotonergic receptors 2A (5HT_{2A}) and dopaminergic receptors of type 2 (D₂). It exhibits antipsychotic properties and potentially advantageous effect on affective symptoms⁽¹⁰⁾. The use of ziprasidone is associated with a low risk of the occurrence of tardive dyskinesia or extrapyramidal symptoms as well as cognitive deficits and excessive sedation^(9,10).

The use of ziprasidone appears to be particularly advantageous in case of the patients who during the therapy with other antipsychotics reached a significant increase in body mass, because therapy with this drug usually allows to achieve the weight normalization^(12,13). Therefore, it seems advisable to carry out the studies aimed at finding an effective antioxidative supplementation counteracting an increase in plasma lipid peroxidation induced by ZIP and some other antipsychotics.

Vegetal flavonoids, including quercetine, are commonly available in the diet and in form of various commercial preparations which could be used to supplement patients

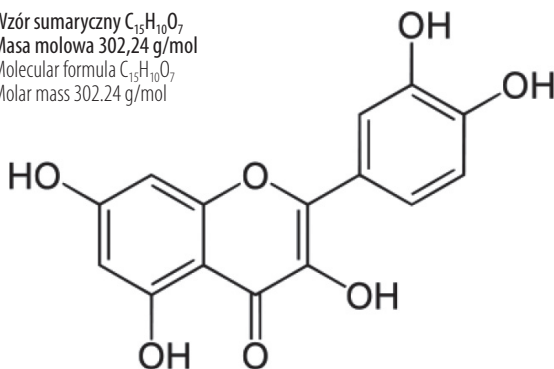
Flawonoidy roślinne, w tym kwercetyna, są powszechnie dostępne w diecie i w postaci różnych preparatów komercyjnych, które mogłyby zostać użyte do suplementacji u osób z zaburzeniami psychicznymi i towarzyszącym stresem oksydacyjnym – pod warunkiem określenia przydatności i sposobu stosowania w tej grupie pacjentów.

Kwercetyna, hydrofobowy polifenol (z grupy flawonoidów), występuje przeważnie w postaci glikozydu kwercetyny i ma wiele korzystnych działań antyoksydacyjnych⁽¹⁴⁾.

Kwercetyna (3,5,7,3',4'-pentahydroksyflawon) to organiczny wielopierścieniowy związek aromatyczny i najbardziej rozpowszechniony roślinny związek polifenolowy, dostępny w wielu pokarmach, takich jak cebula, jarmuż, truskawki, ciemne winogrona, brokuły i żółte kabaczki, a także w suplementach diety^(14,15). Kwercetyna i jej metabolity są silnymi antyoksydantami, wykazującymi złożone działanie, zależne od stężenia⁽¹⁶⁾: właściwości zmiatania rodników tlenowych – reaktywnych pochodnych tlenu i azotu (nadtlenoazotynu) oraz reaktywnych pochodnych chloru, chelatowania jonów żelaza, hamowania aktywności oksydazy ksantynowej, aktywowania peroksydazy glutationowej czy obniżania poziomu produktów peroksydacji lipidów⁽¹⁷⁻²⁴⁾.

Wykazano, że kwercetyna ma różnorodne korzystne działanie na ludzki organizm: obniża ciśnienie tętnicze krwi, hamuje agregację płytek krwi, zapobiega zakrzepom, pomaga w hamowaniu rozwoju zmian miażdżycowych, zmniejsza ryzyko wystąpienia chorób układu krążenia⁽²⁵⁻²⁸⁾ i cukrzycy typu II⁽²⁹⁾, przeciwdziała tworzeniu się zaćmy. Ponadto wykazuje aktywność przeciwnowotworową⁽³⁰⁻³²⁾, przeciwalergiczną i przeciwzapalną⁽³³⁻³⁵⁾ oraz przeciwwirusową⁽³⁶⁾. Hamuje kaskadę przemian kwasu arachidonowego, a więc zmniejsza powstawanie prozapalnych prostaglandyn i leukotrienów^(37,38). Przyczynia się do hamowania uwalniania histaminy, dzięki czemu znajduje zastosowanie w leczeniu – jako składnik preparatów pomocniczo stosowanych w leczeniu alergii, w połączeniu z solami wapnia⁽¹⁴⁾.

Wzór sumaryczny $C_{15}H_{10}O_7$
Masa molowa 302,24 g/mol
Molecular formula $C_{15}H_{10}O_7$
Molar mass 302.24 g/mol



Rys. 1. Kwercetyna – wzór chemiczny i sumaryczny oraz masa molowa

Fig. 1. Quercetine – chemical and molecular formulae, and molar mass

with mental disorders and concomitant oxidative stress, provided that usefulness and the way of using it in this group of patients are determined.

Quercetine, hydrophobic polyphenol (of flavonoids group), usually occurs in form of quercetine glycoside and exhibits many antioxidative effects⁽¹⁴⁾.

Quercetine (3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavone) is an organic polycyclic aromatic compound and most abundant vegetal polyphenol compound, available in many foodstuffs, such as onion, kale, strawberries, dark grapes, broccoli and yellow marrow, as well as dietary supplements^(14,15). Quercetine and its metabolites are strong antioxidants exhibiting complex effects, depending on their concentration⁽¹⁶⁾: the properties of scavenging of oxygen radicals – reactive derivatives of oxygen and nitrogen (peroxonitrite) and reactive derivatives of chlorine, chelation of iron ions, inhibition of activities of xanthine oxidase, activation of glutathione peroxidase or decreasing of the lipid peroxidation products level⁽¹⁷⁻²⁴⁾.

It has been demonstrated that quercetine has diverse advantageous effects on human organism: it reduces arterial blood pressure, inhibits platelets aggregation, prevents blood clots, helps inhibit the development of atherogenic changes, decreases the risk of circulatory system diseases⁽²⁵⁻²⁸⁾ and type 2 diabetes⁽²⁹⁾, and prevents the development of cataract. Furthermore, it exhibits anticarcinogenic⁽³⁰⁻³²⁾, antiallergic and anti-inflammatory effects⁽³³⁻³⁵⁾ as well as antiviral effects⁽³⁶⁾. It inhibits the cascade of arachidonic acid conversions, thereby reducing the development of proinflammatory prostaglandins and leukotriens^(37,38). It contributes to inhibition of the release of histamine, therefore it finds application in health care – as a component of preparations helpful in treatment of allergy, when combined with calcium salts⁽¹⁴⁾.

The organism's proper functioning requires an appropriate level and activity of antioxidants. Although endogenic antioxidants are produced in human organism, a proper supply of antioxidants in food is indispensable. It seems particularly important in patients with schizophrenia and bipolar disorder which are concomitant with oxidative stress.

Recognition of polyphenols antioxidative effects in patients with schizophrenia and bipolar disorder is an important clinical issue, because appropriate supplementation of these compounds could prevent redox homeostatis disorders induced also by some antipsychotics used in the treatment of these illnesses.

AIM OF THE STUDY

The study was aimed at establishing the effect of quercetine on human plasma lipid peroxidation induced by the second generation antipsychotic – ziprasidone (ZIP). The level of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in *in vitro* model was determined.

Właściwe funkcjonowanie organizmu wymaga odpowiedniego poziomu i aktywności antyoksydantów. Choć w organizmie człowieka wytwarzane są przeciwutleniacze endogenne, niezbędna jest właściwa podaż antyoksydantów w pożywieniu. Szczególnie istotna wydaje się ona u pacjentów ze schizofrenią i CHAD, w których występuje stres oksydacyjny.

Poznanie wpływu antyoksydacyjnego polifenoli u chorych na schizofrenię i CHAD to ważne zagadnienie kliniczne. Odpowiednia suplementacja tych związków mogłaby bowiem zapobiegać zaburzeniom homeostazy redoks, indukowanym również przez część leków przeciwpsychotycznych stosowanych w leczeniu wymienionych chorób.

CEL BADANIA

Celem badania było ustalenie wpływu kwercetyny na peroksydację lipidów ludzkiego osocza wywołaną działaniem leku przeciwpsychotycznego drugiej generacji – zyprydonu (ZYP). Oznaczono stężenie związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) w modelu *in vitro*.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiło osocze wyizolowane ze świeżej krwi pobranej na antykoagulant ACD (kwas cytrynowy/cytrynian sodu/dekstroza; 5:1 v/v). Krew pobrano od 10 zdrowych mężczyzn, studentów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, w wieku 24–26 lat (średnio $25 \pm 0,6$ roku). Do oceny stanu zdrowia psychicznego zastosowano M.I.N.I. – Mini-International Neuropsychiatric Interview⁽³⁹⁾. Przeprowadzono badania interwistyczne, neurologiczne i laboratoryjne, a także kwestionariuszowe wywiady dotyczące przebytych chorób, nawyków żywieniowych, stosowanych leków, antyoksydantów pochodzenia roślinnego i farmaceutycznego oraz substancji psychoaktywnych.

Do badań przyjęto osoby pochodzenia polskiego, żyjące w podobnych warunkach socjoekonomicznych, zdrowe (bez zaburzeń psychicznych i chorób somatycznych), niewykazujące cech zespołu metabolicznego (w tym zaburzeń gospodarki lipidowej i węglowodanowej), z prawidłowym BMI, stosujące zrównoważoną dietę. Ochotnicy nie suplementowali antyoksydantów pochodzenia roślinnego lub farmaceutycznego ani preparatów zawierających wielonienasycone kwasy tłuszczowe, nie palili papierosów, nigdy nie używali narkotyków oraz nie pili alkoholu przez kilka dni przed pobraniem krwi. Wykluczono możliwość występowania we krwi leków lub ich metabolitów – zastosowano kryterium nieużywania żadnych leków (również doraźnie) w ostatniej dobie przed badaniem lub w czasie odpowiednio dłuższym.

Na badania wyraziła zgodę Komisja Etyczna Uniwersytetu Medycznego w Łodzi – numer RNN/899/2000. Ochotnicy uzyskali informację na temat celu i metod badawczych oraz wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu.

MATERIAL AND METHODS

Plasma was isolated from fresh human blood and put in anticoagulant ACD (citric acid/sodium citrate/dextrose; 5:1 v/v). Blood samples were obtained from 10 healthy volunteers (students of the Medical University of Łódź) aged 24–26 years (mean 25 ± 0.6 year). They were screened for mental health disorders using the MINI – Mini-International Neuropsychiatric Interview⁽³⁹⁾ and for other medical conditions using questionnaires addressing their medical history, eating habits, medications taken, use of vegetal and synthetic antioxidants and psychoactive substances. General medical and neurological checkups were made along with basic lab tests.

We qualified persons of Polish origin, living in similar socio-economic conditions, healthy (somatically and psychiatrically), with no symptoms of metabolic syndrome (including lipid and carbohydrate imbalance), with normal body mass (normal BMI), on balanced diet, with no supplemented antioxidants (vegetal or synthetic) or polyunsaturated fatty acids, who never used narcotic drugs or tobacco, and did not drink alcohol within the last few days before the blood test. They did not use any medications for the period long enough to exclude any possible occurrence of medications or their metabolites in their blood.

The Committee for Research on Human Subjects of the Medical University of Łódź gave their consent for the study – No. RNN/899/2000. The volunteers obtained comprehensive information on the purpose and research methods and gave their written consent for their participation in the study.

PLASMA ISOLATION AND INCUBATION WITH THE MEDICATION

Blood samples (2×9 ml) were centrifuged for 20 minutes in the SIGMA 3K30 centrifuge at 2500 rpm and temperature 20°C. To each 0.5 ml plasma sample we added the active form of the medication dissolved in 0.01% solution of dimethylsulfoxide (DMSO). Final concentrations of ziprasidone were 40 ng/ml and 139 ng/ml, corresponding to the drug stable concentration achieved after multiple administration of the dose used for schizophrenia treatment. Active form of the medication was obtained from Pfizer (USA). The plasma samples were incubated for 1 and 24 hours with ziprasidone, quercetine (7.5 μ g/ml, 15 μ g/ml) and quercetine and the tested medication in different combinations of concentrations. With each experiment the control samples were made: plasma with DMSO, without the drug. In both study and control samples after incubation with the studied concentrations of ziprasidone and/or quercetine, we assessed spectrophotometrically the concentrations of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) by the Rice and Evans method⁽⁴⁰⁾ modified by Wachowicz and Kustroń (1984)⁽⁴¹⁾.

IZOLOWANIE OSOCZA I INKUBACJA OSOCZA Z LEKIEM

Pobraną krew (2×9 ml) wirowano w celu otrzymania osocza przez 20 minut w wirówce SIGMA 3K30 (2500 obr./min; temperatura 20°C). Do każdej próbki 0,5 ml osocza dodawano substancję czynną badanego leku, rozpuszczoną w 0,01% dimetylosulfotlenku – DMSO. Zastosowano stężenia końcowe zyprazydonu 40 ng/ml i 139 ng/ml, odpowiadające stabilnemu stężeniu leku, osiąganemu po wielokrotnym przyjęciu dawki stosowanej w leczeniu schizofrenii. Substancję czynną badanego leku otrzymano z firmy Pfizer (USA). Próbki osocza inkubowano 1 i 24 godziny z zyprazydonem, kwercetyną ($7,5 \mu\text{g/ml}$, $15 \mu\text{g/ml}$) oraz kwercetyną i testowanym lekiem w różnych kombinacjach stężeń. Do każdego doświadczenia wykonano próby kontrolne: osocze z DMSO, bez leku. W próbach badanego osocza i w próbach kontrolnych, po inkubacji z badanymi stężeniami zyprazydonu i/lub kwercetyny, oznaczono spektrofotometrycznie stężenie związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) – metodą, którą opisali Rice i Evans⁽⁴⁰⁾, a zmodyfikowali Wachowicz i Kustroń (1984)⁽⁴¹⁾.

OZNACZANIE STĘŻENIA ZWIĄZKÓW REAGUJĄCYCH Z KWASEM TIOBARBITUROWYM (TBARS)

Do próbek 0,5 ml osocza kontrolnego (bez leku) i osocza badanego (próby z odpowiednimi stężeniami końcowymi zyprazydonu i/lub kwercetyny) dodano 0,5 ml 15-procentowego kwasu trichlorooctowego (TCA) w 0,25 M HCl i 0,5 ml 0,37-procentowego kwasu tiobarbiturowego (TBA) w 0,25 M HCl. Próby mieszano i ogrzewano we wrzącej łaźni wodnej przez 10 minut. Następnie próbki osocza odwirowywano przez 15 minut (2500 obr./min, wirówka SIGMA 3K30) w celu otrzymania klarownego supernatantu. Absorbancję supernatantu oznaczano na spektrokolorymetrze SEMCO przy długości fali 535 nm w kuwecie o grubości warstwy 1 cm. Ilość TBARS obliczano na podstawie wartości absorbancji, z wykorzystaniem molowego współczynnika absorbancji ($\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$). Oznaczenia stężenia TBARS powtarzano dwukrotnie. Stężenie to wyrażono w $\mu\text{mol/l}$.

ANALIZA STATYSTYCZNA

Wyniki badań poddano analizie statystycznej: obliczono średnie arytmetyczne i błąd standardowy średniej (SEM). Istotność różnic stężenia TBARS między badanymi próbkami (z inkubowanymi: a) lekiem, b) kwercetyną, c) lekiem i kwercetyną) a próbkami kontrolnymi obliczono za pomocą testu *t*-Studenta dla prób zależnych (test sparowany). Do badań zastosowano pakiet StatSoft Inc., Statistica v. 6.0.

ASSESSMENT OF THIOBARBITURIC ACID REACTIVE SUBSTANCES (TBARS) CONCENTRATION

To 0.5 ml of control (without the drug) and studied (with appropriate final concentrations of ziprasidone and/or quercetine) plasma samples we added 0.5 ml of 15% trichloroacetic acid (TCA) in 0.25 M HCl and 0.5 ml of 0.37% thiobarbituric acid (TBA) in 0.25 M HCl. The samples were mixed and heated in a boiling water bath for 10 minutes. Then the plasma samples were centrifuged for 15 minutes at 2500 rpm in the SIGMA 3K30 centrifuge to obtain clear supernatant. The supernatant absorbance was measured using the SEMCO spectrophotometer at 535 nm in a sample cell of a 1 cm thick layer. TBARS concentration was calculated based on absorbance value, using the molar absorbance coefficient ($\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$). TBARS concentration assessment was carried out in double trials. The concentration was expressed in $\mu\text{mol/l}$.

STATISTICAL ANALYSIS

We analysed the results using Statistica 6.0 by StatSoft. We calculated mean values and standard error of mean (SEM). The significance of differences for TBARS levels between the study samples (with incubated: a) drug, b) quercetine, c) the drug and quercetine) and control samples was calculated using the paired Student's *t*-test.

RESULTS

After 24 hours incubation with plasma, ziprasidone at the concentrations of 40 ng/ml and 139 ng/ml, corresponding to the drug doses used *per os* in treatment of schizophrenia, causes a significant increase in TBARS concentration ($p < 0.01$ for ZIP concentration 40 ng/ml, $p < 0.002$ for ZIP concentration 139 ng/ml) (fig. 2).

Quercetine incubated with plasma at the concentrations $7.5 \mu\text{g/ml}$ and $15 \mu\text{g/ml}$ significantly decreases lipid peroxidation (TBARS level), as compared to working groups. So it exhibits antioxidative effects.

Quercetine ($7.5 \mu\text{g/ml}$, $15 \mu\text{g/ml}$) incubated for 24 hours in plasma with ziprasidone decreases lipid peroxidation on average by 38% (for ZIP 40 ng/ml p respectively < 0.0003 and < 0.0001 , for ZIP 139 ng/ml p respectively < 0.002 and < 0.004).

DISCUSSION

Every day intake of flavonoids is important for the prevention of many illnesses, including schizophrenia, because it protects against oxidative damage of DNA⁽⁴²⁾ and excessive lipid peroxidation⁽⁴³⁻⁴⁵⁾, and inhibits the release of inflammatory mediators^(34,36,46).

It seems that polyphenols, including quercetine, could find application in the prevention of oxidative damages

WYNIKI

Po 24 godzinach inkubacji z osoczem zyprazydon – w stężeniach 40 ng/ml i 139 ng/ml, odpowiadających dawkom leku podawanym *per os* chorym na schizofrenię – powoduje istotny wzrost stężenia TBARS ($p < 0,01$ dla stężenia ZYP 40 ng/ml, $p < 0,002$ dla stężenia ZYP 139 ng/ml) (rys. 2).

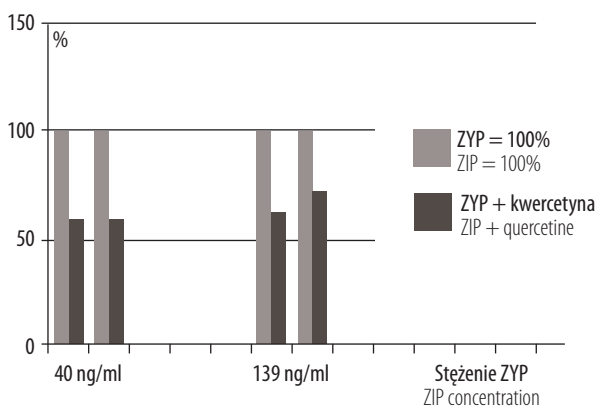
Kwercetyna inkubowana z osoczem w stężeniu 7,5 $\mu\text{g/ml}$ i 15 $\mu\text{g/ml}$ istotnie zmniejsza peroksydację lipidów (stężenie TBARS) w porównaniu z grupami roboczymi. Wykazuje więc działanie antyoksydacyjne.

Kwercetyna (7,5 $\mu\text{g/ml}$, 15 $\mu\text{g/ml}$) inkubowana przez 24 godziny w osoczu wraz z zyprazydonem zmniejsza peroksydację lipidów średnio o 38% (dla ZYP 40 ng/ml p odpowiednio $<0,0003$ i $<0,0001$, dla ZYP 139 ng/ml p odpowiednio $<0,002$ i $<0,004$).

OMÓWIENIE

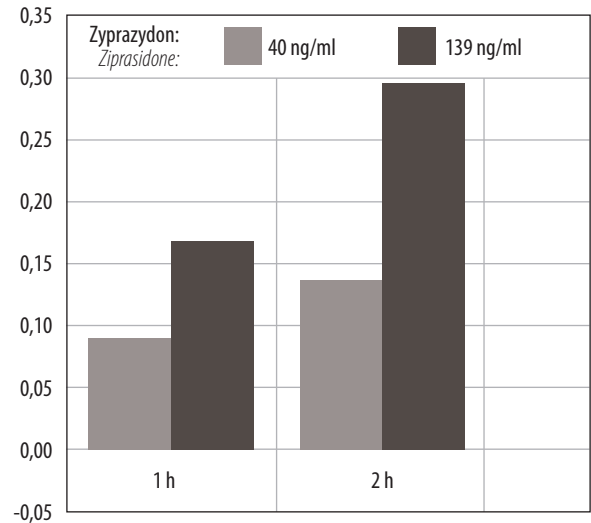
Codziennie spożycie flawonoidów ma znaczenie w profilaktyce wielu chorób, również schizofrenii, ponieważ chroni przed uszkodzeniem oksydacyjnym DNA⁽⁴²⁾, nadmierną peroksydacją lipidów^(43–45) i hamuje uwalnianie zapalnych mediatorów^(34,36,46).

Wydaje się, że polifenole, w tym kwercetyna, mogłyby znaleźć zastosowanie w profilaktyce uszkodzeń oksydacyjnych występujących w schizofrenii^(47,48). Aby rozstrzygnąć tę kwestię, należy jednak ustalić, czy antyoksydanty dałoby się wykorzystać w leczeniu pacjentów otrzymujących leki przeciwpsychotyczne. Niezbędne są dalsze



Rys. 3. Stężenie TBARS po 24-godzinnej inkubacji ludzkiego osocza z zyprazydonem i kwercetyną. Wartości TBARS uzyskane po inkubacji ZYP i kwercetyny (7,5 $\mu\text{g/ml}$, 15 $\mu\text{g/ml}$, odpowiednio słupki pierwszy i drugi) wyrażono w procentach w odniesieniu do kontroli – przyjętej jako 100%

Fig. 3. TBARS concentration after 24-hour incubation of human plasma with ziprasidone and quercetine. TBARS values obtained after incubation of ZIP and quercetine (7.5 $\mu\text{g/ml}$, 15 $\mu\text{g/ml}$, respectively the first and the second column) are expressed as percentages in relation to the control as 100%



Rys. 2. Stężenie związków reagujących z TBARS po inkubacji (1 godz., 24 godz.) ludzkiego osocza z zyprazydonem. Na osi x przedstawiono wartości delta. Delta – średnia różnica między wartościami prób z lekiem i prób bez leku

Fig. 2. The concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) after incubation (1 hour, 24 hours) of human plasma with ziprasidone. Axis x presents delta values. Delta – the mean difference between the values of samples with the drug and samples without the drug

occurring in schizophrenia^(47,48). However, to resolve this issue, we should first decide whether or not antioxidants could be used in the treatment of patients treated with antipsychotics. Further studies are necessary to find out recommendations to use antioxidants in this group of patients. Important issues are: acquiring appropriate knowledge about the effects of antipsychotics (coming from different groups, depending on the chemical structure and mechanism of action) on redox homeostasis disorders, and establishing of effective doses of antioxidants and their potential interaction with antipsychotics.

Antipsychotics exhibit diverse effects on oxidative stress biomarkers. The knowledge on this subject has not been established definitively as yet. Literature emphasizes that the first generation antipsychotics are usually prooxidative⁽⁴⁹⁾. As has been indicated by some authors conducting research on cellular lines, the second generation antipsychotics, such as clozapine, olanzapine, quetiapine or risperidone, protect cells against apoptosis caused by oxidative stress^(50–52). The results of the studies conducted in *in vitro* model on human plasma collected from healthy volunteers demonstrated antioxidative effects of quetiapine, clozapine and amisulpride^(4,53–57). No prooxidative effects of olanzapine and risperidone were found⁽⁵⁶⁾. Similarly, in clinical studies conducted by Kropp *et al.* (2005) no prooxidative effects of risperidone, clozapine, quetiapine and amisulpride have been mentioned⁽⁵⁸⁾.

badania, zmierzające do ustalenia wskazań do stosowania antyoksydantów w tej grupie chorych. Ważne kwestie to: pozyskanie odpowiedniej wiedzy na temat działania leków przeciwpsychotycznych (pochodzących z różnych grup, w zależności od budowy chemicznej i mechanizmu działania) na zaburzenia homeostazy redoks oraz ustalenie skutecznych dawek antyoksydantów i ich potencjalnych interakcji z lekami przeciwpsychotycznymi.

Leki przeciwpsychotyczne wykazują zróżnicowane działanie na biomarkery stresu oksydacyjnego. Wiedza na ten temat nie została jeszcze do końca ustalona. W piśmiennictwie podkreśla się, że leki przeciwpsychotyczne pierwszej generacji przeważnie działają prooksydacyjnie⁽⁴⁹⁾. Jak wykazali niektórzy autorzy prowadzący badania na liniach komórkowych, leki przeciwpsychotyczne drugiej generacji, takie jak kłozapina, olanzapina, kwetiapina czy risperidon, chronią komórki przed apoptozą spowodowaną stresem oksydacyjnym^(50–52). Wyniki badań prowadzonych w modelu *in vitro* na ludzkim osoczu pobranym od zdrowych ochotników wykazały antyoksydacyjne działanie kwetiapiny, kłozapiny i amisulprydu^(4,53–57). Nie stwierdzono działania prooksydacyjnego olanzapiny i risperidonu⁽⁵⁶⁾. Podobnie w badaniach klinicznych prowadzonych przez Kroppa i wsp. (2005) nie wskazano na prooksydacyjne działanie risperidonu, kłozapiny, kwetiapiny i amisulprydu⁽⁵⁸⁾.

Jednakże w naszych badaniach – po raz pierwszy – stwierdziliśmy, że zyprazydon (LPIIG) w stężeniach rekomendowanych do leczenia schizofrenii powoduje istotny wzrost peroksydacji lipidów osocza (TBARS), a przy tym nie prowadzi do istotnego wzrostu stężenia wolnych tioli w osoczu^(55,57). W obecnym badaniu potwierdziliśmy, iż stężenia zyprazydonu 40 ng/ml i 139 ng/ml, odpowiadające dawkom stosowanym w leczeniu pacjentów z objawami psychotycznymi, przyczyniają się do wzrostu peroksydacji lipidów osocza.

Stresowi oksydacyjnemu indukowanemu przez leki przeciwpsychotyczne przeciwdziałają system antyoksydacyjny organizmu – enzymatyczny (m.in. dysmutaza ponadtlenkowa, peroksydaza glutationowa, katalaza i inne) oraz nieenzymatyczny⁽⁵⁹⁾. Nieenzymatyczna obrona antyoksydacyjna organizmu jest uwarunkowana genetycznie i obejmuje zarówno niskocząsteczkowe tirole (w tym glutation), jak i tzw. antyoksydanty końcowe, np. kwas moczowy, albuminę czy bilirubinę^(59,60). W przypadku nierównowagi procesów pro- i antyoksydacyjnych, a więc nadmiernego generowania wolnych rodników czy – w szerszym ujęciu – reaktywnych form tlenu i azotu bądź niesprawności endogennego systemu antyoksydacyjnego, istotne znaczenie ma jednak wprowadzenie do suplementacji właściwych dawek odpowiednich antyoksydantów.

Wykazaliśmy istotny wpływ kwercetyny (7,5 µg/ml, 15 µg/ml) na hamowanie peroksydacji lipidów ludzkiego osocza i skuteczne zahamowanie przez kwercetynę (średnio około 38%) peroksydacji lipidów wywołanej przez zyprazydon.

But in our studies – for the first time – we have found out that ziprasidone (SGA) in concentrations recommended for treatment of schizophrenia causes a significant increase in plasma lipid peroxidation (TBARS), without inducing a significant increase in the concentration of free thiols in plasma^(55,57). In our current study we confirmed that ziprasidone concentrations 40 ng/ml and 139 ng/ml, corresponding to the doses applied in the treatment of patients with psychotic symptoms, contribute to an increase in plasma lipid peroxidation.

Oxidative stress induced by antipsychotics is counteracted by the organism's antioxidative system – enzymatic (among other: superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and other) and non-enzymatic⁽⁵⁹⁾. The non-enzymatic defence of the organism is genetically determined and comprises both low-molecular thiols (including glutathione), and the so-called final antioxidants, such as uric acid, albumin or bilirubin^(59,60). In case of an imbalance of pro- and antioxidative processes, i.e. excessive generation of free radicals, or – more comprehensively – reactive forms of oxygen and nitrogen or disability of the endogenous antioxidative system, addition of appropriate doses of relevant antioxidants to supplementation is important.

We have indicated a significant influence of quercetine (7.5 µg/ml, 15 µg/ml) on inhibition of human plasma lipid peroxidation and effective inhibition by quercetine (on average by approx. 38%) of lipid peroxidation induced by ziprasidone.

As it seems, quercetine could find application as an effective antioxidant in patients treated with ziprasidone, especially because it is only slightly metabolized by the same isoenzymes of cytochrome P450 as ziprasidone, so it does not significantly affect a change in ZIP concentration in plasma.

According to AHFS Drug Information, quercetine is an inhibitor of isoenzyme CYP2C8⁽⁶¹⁾. It has been also described as inhibitor CYP2C9⁽⁶²⁾ and inhibitor and inducer of CYP3A4^(63,64). It may contribute to a change in the concentration of some antipsychotics metabolized by the mentioned enzymes, and thereby to their effects. However, ziprasidone is metabolized in liver, mainly with participation of aldehyde oxidase, and to a lesser extent with CYP3A4^(65,66). According to literature, inducers CYP3A4 (e.g. carbamazepine) and inhibitors CYP3A4 (e.g. ketokonazol) respectively decrease or increase the level of ziprasidone in plasma, but this has insignificant clinical importance only^(67,68). Thus it seems that adding the quercetine supplementation would not be important for ziprasidone concentration in plasma and the effects of this drug, but could clearly contribute to a decrease in lipids oxidation and to the development of a cascade of adverse oxidative changes in various biomolecules of the organism.

If ziprasidone – a drug exhibiting prooxidative effects is used, it seems advisable to use supplements containing

Jak się wydaje, kwercetyna mogłaby znaleźć zastosowanie jako skuteczny antyoksydant u chorych leczonych zyprazydonem, zwłaszcza że tylko w niewielkim stopniu ulega metabolizowaniu przez te same izoenzymy cytochromu P450 co zyprazydon, a zatem nie wpływa istotnie na zmianę stężenia ZYP w osoczu.

Według AHFS Drug Information kwercetyna to inhibitor izoenzymu CYP2C8⁽⁶¹⁾. Opisano ją także jako inhibitor CYP2C9⁽⁶²⁾ oraz inhibitor i induktor CYP3A4^(63,64). Może wpływać na zmianę stężenia niektórych leków przeciwpsychotycznych metabolizowanych przez wymienione enzymy, a tym samym na ich działanie. Zyprazydon jest jednak metabolizowany w wątrobie, głównie przy udziale oksydazy aldehydowej i w mniejszym stopniu przez CYP3A4^(65,66). Jak wynika z piśmiennictwa, induktory CYP3A4 (np. karbamazepina) i inhibitory CYP3A4 (np. ketokonazol) odpowiednio obniżają lub zwiększają poziom zyprazydonu w osoczu, ale ma to niewielkie znaczenie kliniczne^(67,68). Wydaje się więc, że dołączenie suplementacji kwercetyną nie miałyby większego znaczenia dla stężenia zyprazydonu w osoczu i działania tego leku, mogłoby natomiast wydatnie przyczynić się do zmniejszenia utleniania lipidów i powstawania kaskady niekorzystnych oksydacyjnych zmian w różnych biomolekułach organizmu.

W przypadku stosowania zyprazydonu, leku o działaniu prooksydacyjnym, korzystne wydaje się zastosowanie suplementów zawierających kwercetynę. Zanim jednak zarekomenduje się suplementację kwercetyną u chorych na schizofrenię lub CHAD leczonych zypazydonem, należy przeprowadzić dalsze badania w modelu zwierzęcym oraz w populacjach klinicznych *in vivo* – z uwzględnieniem właściwości farmakokinetycznych i farmakodynamicznych obu badanych związków chemicznych.

PIŚMIENNICTWO: BIBLIOGRAPHY:

1. Andreassen O.A., Jorgensen H.A.: Neurotoxicity associated with neuroleptic induced oral dyskinesias in rats. Implications for tardive dyskinesia? *Prog. Neurobiol.* 2000; 61: 525–541.
2. Cadet J.L., Lohr J.B., Jeste D.V.: Free radicals and tardive dyskinesia. *Trends Neurosci.* 1986; 9: 107–108.
3. Coyle J.T., Puttfarcken P.: Oxidative stress glutamate and neurodegenerative disorders. *Science* 1993; 262: 689–695.
4. Dietrich-Muszalska A., Kontek B., Rabe-Jabłońska J.: Quetiapine, olanzapine and haloperidol affect human plasma lipid peroxidation *in vitro*. *Neuropsychobiology* 2011; 63: 197–201.
5. Parikh V., Khan M.M., Mahadik S.P.: Differential effects of antipsychotics on expression of antioxidant enzymes and membrane lipid peroxidation in rat brain. *J. Psychiatr. Res.* 2003; 37: 43–51.
6. Pillai A., Parikh V., Terry A.V. Jr, Mahadik S.P.: Long-term antipsychotic treatments and crossover studies in rats: differential effects of typical and atypical agents on the expression of antioxidant enzymes and membrane lipid peroxidation in rat brain. *J. Psychiatr. Res.* 2007; 41: 372–386.
7. Reinke A., Martins M.R., Lima M.S. i wsp.: Haloperidol and clozapine, but not olanzapine, induces oxidative stress in rat brain. *Neurosci. Lett.* 2004; 372: 157–160.
8. Miceli J.J., Wilner K.D., Hansen R.A. i wsp.: Single- and multiple-dose pharmacokinetics of ziprasidone under non-fasting conditions in healthy male volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2000; 49 suppl. 1: 5S–13S.
9. Prakash C., Kamel A., Gummerus J., Wilner K.: Metabolism and excretion of a new antipsychotic drug, ziprasidone in humans. *Drug Metab. Dispos.* 1997; 25: 863–872.
10. Schatzberg A.F., Nemeroff C.B. (red.): *The American Psychiatric Publishing Textbook of Psychopharmacology*. American Psychiatric Publishing, Arlington 2004.
11. Stip E., Zhornitsky S., Moteshafi H. i wsp.: Ziprasidone for psychotic disorders: a meta-analysis and systematic review of the relationship between pharmacokinetics, pharmacodynamics, and clinical profile. *Clin. Ther.* 2011; 33: 1853–1867.
12. Lee H.B., Yoon B.H., Kwon Y.J. i wsp.: The efficacy and safety of switching to ziprasidone from olanzapine in patients with bipolar I disorder: an 8-week, multicenter, open-label study. *Clin. Drug Investig.* 2013; 33: 743–753.
13. Weiden P.J., Daniel D.G., Simpson G., Romano S.J.: Improvement in indices of health status in outpatients with schizophrenia switched to ziprasidone. *J. Clin. Psychopharmacol.* 2003; 23: 595–600.
14. Nijveldt R., van Nood E., van Hoorn D.E.C. i wsp.: Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001; 74: 418–425.
15. Formica J.V., Regelson W.: Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem. Toxicol.* 1995; 33: 1061–1080.
16. Robaszkiewicz A., Balcerczyk A., Bartosz G.: Antioxidative and prooxidative effects of quercetin on A549 cells. *Cell Biol. Int.* 2007; 31: 1245–1250.
17. Bors W., Michel C., Saran M.: Flavonoids as antioxidants: rate constants for reaction with oxygen radicals. *Methods Enzymol.* 1994; 234: 420–429.
18. Afanas'ev I.B., Dorozhko A.I., Brodskii A.V. i wsp.: Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochem. Pharmacol.* 1989; 38: 1763–1768.
19. Zielińska M., Kostrzewa A., Ignatowicz E., Budzianowski J.: The flavonoids, quercetin and 3-O-acetylglucosides diminish neutrophil oxidative metabolism and lipid peroxidation. *Acta Biochim. Pol.* 2001; 48: 183–189.
20. da Silva E.L., Piskula M.K., Yamamoto N. i wsp.: Quercetin metabolites inhibit copper ion-induced lipid peroxidation in rat plasma. *FEBS Lett.* 1998; 430: 405–408.
21. Fiorani M., De Sanctis R., Menghinello P. i wsp.: Quercetin prevents glutathione depletion induced by dehydroascorbic acid in rabbit red blood cells. *Free Radic. Res.* 2001; 34: 639–648.
22. Robak J., Gryglewski R.J.: Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem. Pharmacol.* 1988; 37: 837–841.

23. Robak J., Gryglewski R.J.: Bioactivity of flavonoids. *Pol. J. Pharmacol.* 1996; 48: 555–564.
24. Nagata H., Takekoshi S., Takagi T. i wsp.: Antioxidative action of flavonoids, quercetin and catechin, mediated by the activation of glutathione peroxidase. *Tokai J. Exp. Clin. Med.* 1999; 24: 1–11.
25. Eget S., Bony-Westphal A., Seiberl J. i wsp.: Quercetin reduces systolic blood pressure and plasma oxidised low-density lipoprotein concentrations in overweight subjects with a high-cardiovascular disease risk phenotype: a double-blinded, placebo-controlled cross-over study. *Br. J. Nutr.* 2009; 102: 1065–1074.
26. De Whalley C.V., Rankin S.M., Hoult J.R.: Flavonoids inhibit the oxidative modifications of low density lipoproteins. *Biochem. Pharmacol.* 1990; 39: 1743–1749.
27. Edwards R.L., Lyon T., Litwin S.E. i wsp.: Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. *J. Nutr.* 2007; 137: 2405–2411.
28. Loke W.M., Proudfoot J.M., Hodgson J.M. i wsp.: Specific dietary polyphenols attenuate atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice by alleviating inflammation and endothelial dysfunction. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010; 30: 749–757.
29. Knekt P., Kumpulainen J., Järvinen R. i wsp.: Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am. J. Clin. Nutr.* 2002; 76: 560–568.
30. Hirpara K.V., Aggarwal P., Mukherjee A.J. i wsp.: Quercetin and its derivatives: synthesis, pharmacological uses with special emphasis on anti-tumor properties and prodrug with enhanced bio-availability. *Anticancer Agents Med. Chem.* 2009; 9: 138–161.
31. López-Lázaro M.: Flavonoids as anticancer agents: structure-activity relationship study. *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents* 2002; 2: 691–714.
32. Galluzzo P., Martini C., Bulzomi P. i wsp.: Quercetin-induced apoptotic cascade in cancer cells: antioxidant *versus* estrogen receptor α -dependent mechanisms. *Mol. Nutr. Food Res.* 2009; 53: 699–708.
33. Mamani-Matsuda M., Kauss T., Al-Kharrat A. i wsp.: Therapeutic and preventive properties of quercetin in experimental arthritis correlate with decreased macrophage inflammatory mediators. *Biochem. Pharmacol.* 2006; 72: 1304–1310.
34. Nieman D.C., Henson D.A., Maxwell K.R. i wsp.: Effects of quercetin and EGCG on mitochondrial biogenesis and immunity. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2009; 41: 1467–1475.
35. Choi E.J., Bae S.C., Yu R. i wsp.: Dietary vitamin E and quercetin modulate inflammatory responses of collagen-induced arthritis in mice. *J. Med. Food* 2009; 12: 770–775.
36. Kaul T.N., Middleton E. Jr, Ogra P.L.: Antiviral effect of flavonoids on human virus. *J. Med. Virol.* 1985; 15: 71–79.
37. Middleton E. Jr: Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1998; 439: 175–182.
38. Ferrándiz M.L., Alcaraz M.J.: Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. *Agents Actions* 1991; 32: 283–288.
39. Sheehan D.V., Lecrubier Y., Sheehan K.H. i wsp.: The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J. Clin. Psychiatry* 1998; 59 suppl. 20: 22–33.
40. Rice-Evans C.A.: Formation of free radicals and mechanisms of action in normal biochemical processes and pathological states. W: Rice-Evans C.A., Burdome R.H. (red.): *Free Radical Damage and its Control*. Elsevier, Amsterdam 1994: 131–153.
41. Wachowicz B., Kustron J.: Effect of cisplatin on lipid peroxidation in pig blood platelets. *Cytobios* 1992; 70: 41–47.
42. Farombi E.O., Onyema O.O.: Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin. *Hum. Exp. Toxicol.* 2006; 25: 251–259.
43. Gakhramanov F.S.: Effect of natural antioxidants on antioxidant activity and lipid peroxidation in eye tissue of rabbits with chemical burns. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2005; 140: 289–291.
44. Yamamoto Y., Oue E.: Antihypertensive effect of quercetin in rats fed with a high-fat high-sucrose diet. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2006; 70: 933–939.
45. Yeomans V.C., Linseisen J., Wolfram G.: Interactive effects of polyphenols, tocopherol and ascorbic acid on the Cu^{2+} -mediated oxidative modification of human low density lipoproteins. *Eur. J. Nutr.* 2005; 44: 422–428.
46. Rahman I., Adcock I.M.: Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. *Eur. Respir. J.* 2006; 28: 219–242.
47. Dietrich-Muszalska A., Olas B.: Modifications of blood platelet proteins of patients with schizophrenia. *Platelets* 2009; 20: 90–96.
48. Dietrich-Muszalska A., Olas B., Glowacki R., Bald E.: Oxidative/nitrative modifications of plasma proteins and thiols from patients with schizophrenia. *Neuropsychobiology* 2009; 59: 1–7.
49. Lohr J.B., Cadet J.L., Lohr M.A. i wsp.: Vitamin E in the treatment of tardive dyskinesia: the possible involvement of free radical mechanisms. *Schizophr. Bull.* 1988; 14: 291–296.
50. Bai O., Wei Z., Lu W. i wsp.: Protective effects of atypical antipsychotic drugs on PC12 cells after serum withdrawal. *J. Neurosci. Res.* 2002; 69: 278–283.
51. Wei Z., Bai O., Richardson J.S. i wsp.: Olanzapine protects PC12 cells from oxidative stress induced by hydrogen peroxide. *J. Neurosci. Res.* 2003; 73: 364–368.
52. Qing H., Xu H., Wei Z. i wsp.: The ability of atypical antipsychotic drugs vs. haloperidol to protect PC12 cells against MPP⁺-induced apoptosis. *Eur. J. Neurosci.* 2003; 17: 1563–1570.
53. Dietrich-Muszalska A., Kopka J., Kropiwnicki P. i wsp.: The effect of quetiapine on the *in vitro* serum concentration of free thiols and thiobarbituric acid-reacting substances. *Psychiatr. Psychol. Klin.* 2013; 13: 145–153.
54. Dietrich-Muszalska A., Kwiatkowska A., Kopka J. i wsp.: The assessment of amisulpride effects *in vitro* on plasma thiol groups. *Psychiatr. Psychol. Klin.* 2012; 12: 247–254.
55. Dietrich-Muszalska A., Kopka J., Kontek B., Kwiatkowska A.: The effects of therapeutic concentrations of ziprasidone on free thiols and thiobarbituric acid reactive substances levels in human plasma – *in vitro* studies. *Psychiatr. Psychol. Klin.* 2012; 12: 237–246.
56. Dietrich-Muszalska A., Kontek B.: Lipid peroxidation in patients with schizophrenia. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 2010; 64: 469–475.
57. Dietrich-Muszalska A., Kopka J., Kwiatkowska A.: The effects of ziprasidone, clozapine and haloperidol on lipid peroxidation in human plasma (*in vitro*): comparison. *Neurochem. Res.* 2013; 38: 1490–1495.
58. Kropp S., Kern V., Lange K. i wsp.: Oxidative stress during treatment with first- and second generation antipsychotics. *J. Neuropsych. Clin. Neurosci.* 2005; 17: 227–231.
59. Bartosz G.: *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. PWN, Warszawa 2013.
60. Bartosz G.: Total antioxidant capacity. *Adv. Clin. Chem.* 2003; 37: 219–292.
61. American Society of Health-System Pharmacists: *AHFS Drug Information* 2014.

62. Si D., Wang Y., Zhou Y.H. i wsp.: Mechanism of CYP2C9 inhibition by flavones and flavonols. *Drug Metab. Dispos.* 2009; 37: 629–634.
63. Hsiu S.L., Hou Y.C., Wang Y.H. i wsp.: Quercetin significantly decreased cyclosporin oral bioavailability in pigs and rats. *Life Sci.* 2002; 72: 227–235.
64. Raucy J.L.: Regulation of CYP3A4 expression in human hepatocytes by pharmaceuticals and natural products. *Drug Metab. Dispos.* 2003; 31: 533–539.
65. Spina E, de Leon J.: Metabolic drug interactions with newer antipsychotics: a comparative review. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2007; 100: 4–22.
66. Beedham C., Miceli J.J., Obach R.S.: Ziprasidone metabolism, aldehyde oxidase, and clinical implications. *J. Clin. Psychopharmacol.* 2003; 23: 229–232.
67. Miceli J.J., Anziano R.J., Robarge L. i wsp.: The effect of carbamazepine on the steady-state pharmacokinetics of ziprasidone in healthy volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2000; 49 suppl. 1: 65S–70S.
68. Miceli J.J., Smith M., Robarge L. i wsp.: The effects of ketoconazole on ziprasidone pharmacokinetics – a placebo-controlled crossover study in healthy volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2000; 49 suppl. 1: 71S–76S.

Zasady prenumeraty kwartalnika „Psychiatria i Psychologia Kliniczna”

1. Prenumeratę można rozpocząć od dowolnego numeru pisma. Prenumerujący otrzyma zamówione numery kwartalnika pocztą na podany adres.
2. Pojedynczy egzemplarz kwartalnika kosztuje 25 zł. Przy zamówieniu rocznej prenumeraty (4 kolejne numery) koszt całorocznej prenumeraty wynosi 80 zł.
3. Istnieje możliwość zamówienia numerów archiwalnych (do wyczerpania nakładu). Cena numeru archiwalnego – 25 zł.
4. Zamówienie można złożyć:
 - Wypełniając załączony blankiet i dokonując wpłaty w banku lub na poczcie. Prosimy o podanie dokładnych danych imiennych i adresowych.
 - Dokonując przelewu z własnego konta bankowego (ROR) – wpłaty należy kierować na konto:
Medical Communications Sp. z o.o.,
ul. Powsińska 34, 02-903 Warszawa
Deutsche Bank PBC SA
42 1910 1048 2215 9954 5473 0001
 - Drogą mailową: redakcja@psychiatria.com.pl.
 - Telefonicznie lub faksem: tel.: 22 651 97 83, faks: 22 842 53 63.
 - Wypełniając formularz prenumeraty zamieszczony na stronie:
www.gazeta.psychiatria.com.pl/index.php/prenumerata-wersji-drukowanej
5. Zamawiający, którzy chcą otrzymać fakturę VAT, proszeni są o kontakt z redakcją.

Rules of subscription to the quarterly “Psychiatria i Psychologia Kliniczna”

1. Subscription may begin at any time. Subscribers will receive ordered volumes of the journal to the address provided.
2. A single volume of the quarterly for foreign subscribers costs 8 EUR. The cost of annual subscription (4 consecutive volumes) for foreign subscribers is 30 EUR.
3. Archival volumes may be ordered at a price of 8 EUR per volume until the stock lasts.
4. Orders may be placed by making a money transfer from own bank account – payments should be made payable to:
Account Name: Medical Communications Sp. z o.o.
Bank Name: Deutsche Bank PBC S.A.
Bank Address: 02-903 Warszawa,
ul. Powsińska 42/44
Account number: 15 1910 1048 2215 9954 5473 0002
SWIFT Code/IBAN: DEUTPLPK
Please provide a precise address and nominative data.
5. The order should be send via e-mail at: redakcja@psychiatria.com.pl.