

PLASMA GHRELIN IN ALCOHOL-DEPENDENT PATIENTS TREATED IN ADDICTION INPATIENT CENTRES – PRELIMINARY RESEARCH

GRELINA W SUROWICY KRWI PACJENTÓW LECZONYCH STACJONARNIE ODWYKOWO Z POWODU UZALEŻNIENIA OD ALKOHOLU – BADANIE WSTĘPNE

Damian Czarnecki¹ , Marcin Ziółkowski¹ , Jacek Budzyński² , Barbara Góralczyk³, Ewa Żekanowska³ 

¹Department of Preventive Nursing, Faculty of Health Sciences, *Collegium Medicum* in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland

²Department of Vascular and Internal Diseases, Faculty of Health Sciences, *Collegium Medicum* in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland

³Department of Pathophysiology, Faculty of Pharmacy, *Collegium Medicum* in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland

¹*Katedra Pielęgniarstwa Zachowawczego, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Polska*

²*Katedra Chorób Naczyń i Chorób Wewnętrznych, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Polska*

³*Katedra Patofizjologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Polska*

Alcohol Drug Addict 2020; 33 (3): 253-274

DOI: <https://doi.org/10.5114/ain.2020.101801>

Abstract

Introduction: Ghrelin is an orexigenic peptide produced mainly in gastric mucosa that may increase food hunger and likely psychoactive substance, including alcohol, craving. The aim of the study was to estimate blood ghrelin con-

Streszczenie

Wprowadzenie: Grelina jest peptydem oreksygenicznym, wytwarzanym głównie w błonie śluzowej żołądka, który zwiększa głód pokarmu i prawdopodobnie substancji psychoaktywnych, w tym alkoholu. Celem badania była ocena stężenia gre-

Correspondence to/Adres do korespondencji: Damian Czarnecki, Katedra Pielęgniarstwa Zachowawczego, Wydział Nauk o Zdrowiu, *Collegium Medicum* w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. Ignacego Łukasiewicza 1, 85-821 Bydgoszcz, Polska, phone: +48 52 585 4282, fax: + 48 52 585 5809, e-mail: czarneckidamian@cm.umk.pl

Authors' contribution/Wkład pracy autorów: Study design/Koncepcja badania: D. Czarnecki, M. Ziółkowski, J. Budzyński; Data collection/Zebrań danych: D. Czarnecki; Statistical analysis/Analiza statystyczna: D. Czarnecki, M. Ziółkowski, J. Budzyński; Data interpretation/Interpretacja danych: D. Czarnecki, M. Ziółkowski, J. Budzyński, B. Góralczyk, E. Żekanowska; Acceptance of final manuscript version/Akceptacja ostatecznej wersji pracy: M. Ziółkowski; Literature search/Przygotowanie literatury: D. Czarnecki; Funds collection/Pozyskanie środków (finansowania): M. Ziółkowski

No ghostwriting and guest authorship declared./Nie występują zjawiska *ghostwriting* i *guest authorship*.

Submitted/Otrzymano: 05.07.2019 • Accepted/Przyjęto do druku: 30.03.2020

© 2020 Institute of Psychiatry and Neurology. Production and hosting by Termedia sp. z o.o.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

centration in alcohol-dependent patients (ADP) treated in addiction inpatient centres.

Material and methods: Blood ghrelin concentration was examined twice in 67 alcoholics at the beginning of the study and after four weeks of alcohol abstinence, and in 61 social drinkers (control group) at the beginning of the study. Clinical, biochemical and anthropometric parameters of nutritional status were determined in all the study participants.

Results: At the beginning of the study, ghrelin blood concentration was significantly lower in the studied persons than those from the control group. The ghrelin concentration in alcohol-dependent patients during four-week therapy increased. The independently to changes of ghrelin concentration alcohol craving did not increase and hunger remained stable. These changes of ghrelin were accompanied by an increase in body mass index (BMI) and mid muscle circumference as state of protein nutrition.

Discussion: Further studies are needed to explain the clinical importance of the reverse relationships between blood ghrelin concentration and nutritional status in alcohol-dependent patients.

Conclusions: The concentration of endogenous ghrelin in blood probably does not seem to be associated with alcohol craving but only with the intensity of drinking and alcohol-dependent patients' nutritional status.

Keywords: Alcohol, Dependence, Ghrelin, Clinical variables, Anthropometric variables.

liny we krwi u osób uzależnionych od alkoholu leczonych stacjonarnie odwykowo.

Materiał i metody: Stężenie greliny we krwi badano dwukrotnie u 67 pacjentów uzależnionych od alkoholu – na początku badania i po czterech tygodniach abstynencji alkoholowej oraz u 61 osób nieuzależnionych od alkoholu (grupa kontrolna). U wszystkich uczestników badania oceniono parametry kliniczne, biochemiczne i stanu odżywienia.

Wyniki: Na początku badania stężenie greliny we krwi było istotnie niższe u osób z badanej grupy niż z grupy kontrolnej. Podczas czterech tygodni terapii uzależnienia od alkoholu stężenie greliny u pacjentów wzrosło. Niezależnie od wzrostu stężenia greliny nie stwierdzono nasilenia głodu alkoholu ani istotnych zmian głodu pokarmowego. Zmianom stężenia greliny towarzyszył wzrost wskaźnika masy ciała (BMI) i obwodu mięśnia środkowego jako wskaźnika odżywienia białkowego.

Omówienie: Potrzebne są dalsze badania, aby wyjaśnić znaczenie kliniczne odwrotnych zależności między stężeniem greliny we krwi a stanem odżywienia pacjentów uzależnionych od alkoholu.

Wnioski: Wydaje się, że stężenie greliny całkowitej we krwi nie jest bezpośrednio związane z głodem alkoholu, lecz raczej z intensywnością spożywania alkoholu i stanem odżywienia osób uzależnionych od alkoholu.

Słowa kluczowe: alkohol, uzależnienie, grelina, zmienne kliniczne, zmienne antropometryczne.

■ INTRODUCTION

Ghrelin is a protein secreted mainly by the gastric mucosa cells. Damage to gastric mucosa, e.g. due to excessive alcohol consumption, can lead to disorders of gastric mucosa secretion and thus to disruption of the appetite process [1-3]. Many literature sources describe ghrelin as a neuropeptide that regulates appetite and at the same time may be a modulator of craving for psychoactive substances like alcohol [2, 4-10]. The simultaneous effect of ghrelin on appetite and alcohol craving is likely to be conditioned by a complex mechanism regulating appetite behaviour, in which ghrelin enhances alcohol-re-

■ WPROWADZENIE

Grelina jest białkiem wydzielanym głównie przez komórki błony śluzowej żołądka. Uszkodzenie błony śluzowej żołądka, np. w wyniku nadmiernego spożywania alkoholu, może prowadzić do zaburzeń wydzielania greliny, a tym samym do dysregulacji procesów apetytywnych [1-3]. Wiele źródeł literatury opisuje grelinę jako neuropeptyd, który reguluje łaknienie i jednocześnie może być modulatorem głodu substancji psychoaktywnych, w tym głodu alkoholu [2, 4-10]. Jednoczesne oddziaływanie greliny na łaknienie i głód alkoholu jest prawdopodobnie powodowane przez złożony mechanizm regulacyjny zachowań apetytywnych, w którym grelina wzmac-

lated reward behaviour that may lead to relapse [10-17]. There are two basic ghrelin isoforms – acylated and desacylated, together are described as total ghrelin. These reveal similar but independent biological activity [18]. The acylated ghrelin form stimulates appetite more strongly (“positive energy balance”), while the desacylated form may even reduce eating behaviour (“negative energy balance”) [18].

Generally, it can be considered that blood ghrelin concentration is significantly related to nutritional status [18]. It is believed that the inhibition of ghrelin suppression is associated with an increase in hunger prior to meals and alcohol craving. The higher the ghrelin concentration, the greater the hunger and probability of food or alcohol consumption (the influence of exogenous ghrelin on the occurrence of alcohol craving was proved by Leggio *et al.*) [19, 20]. Research conducted in 2012 showed that the composition of food (its high calorific value, carbohydrate and fat content) and the time of food intake (especially breakfast) associated with the suppression of ghrelin, reduced the intensity of fat and sweet-oriented hunger, which in turn reduced the risk of obesity recurrence [20]. Thus, the study confirmed the relationship of ghrelin secretion to the state of nutrition and nutrition in the feedback mechanism [20]. Some researchers, such as Addolorato *et al.*, suggest that although ghrelin plays a modulating role in alcohol craving and may increase the risk of relapse or deepen dependence, this occurs through a different regulatory mechanism than that associated with the eating process [16].

Alcohol dependence remains an important problem in healthcare [21]. Therefore the study of ghrelin and its biological activity mechanisms in alcohol dependent persons may contribute to the reduction of alcohol craving, relapse and regulation of appetite [7, 22].

The reason for undertaking this preliminary study was the lack of information in the literature on the relationship between the concentration of ghrelin and aspects of alcohol dependence including whether or not drinking took place at all. The aim of the study was to assess the changes in ghrelin concentration depending on the time since the last alcohol consumption and to compare selected clinical, biochemical (e.g. analysis of liver enzymes as markers of alcohol consump-

nia nagradzające zachowania związane ze spożywaniem alkoholu, co może prowadzić do nawrotów [10–17]. Wyróżnia się dwie podstawowe izoformy – acylowaną i desacylowaną, które razem określane są jako grelina całkowita. Wykazują podobną, ale niezależną aktywność biologiczną [18]. Forma acylowana greliny silniej wzmaga łaknienie (kierunek działania „dodatni bilans energetyczny”), natomiast desacylowana przeciwnie – może nawet redukować zachowania związane z odżywianiem („ujemny bilans energetyczny”) [18].

Ogólnie można uznać, że stężenie greliny we krwi jest istotnie związane ze stanem odżywienia [18]. Jak się uważa, zahamowanie supresji greliny wiąże się ze zwiększeniem głodu przedpołudniowego oraz alkoholowego. Im większe stężenie greliny, tym silniejszy głód i wyższe prawdopodobieństwo spożycia pokarmu czy alkoholu (wpływ egzogennej greliny na wystąpienie głodu alkoholu udowodnili Leggio i wsp.) [19, 20]. Badania przeprowadzone w 2012 r. wykazały, że skład pokarmu (jego wysoka kaloryczność, zawartość węglowodanów i tłuszczów) i pora spożycia pokarmu (szczególnie śniadania), powiązane z supresją greliny, zmniejszyły nasilenie głodów ukierunkowanych na tłuszcze i słodczyce, co zmniejszyło ryzyko nawrotów otyłości [20]. Tym samym badanie potwierdziło związek sekrecji greliny ze stanem odżywienia i odżywiania się w mechanizmie sprzężenia zwrotnego [20]. Niektórzy badacze, jak Addolorato i wsp., sugerują, że grelina wprawdzie pełni funkcję modulacyjną głodu alkoholu i może zwiększać ryzyko nawrotu czy pogłębiać uzależnienie, odbywa się to jednak przez inny mechanizm regulacyjny niż ten związany z procesem odżywiania się [16].

Uzależnienie od alkoholu pozostaje nadal ważnym problemem w opiece zdrowotnej [21]. Dlatego badanie greliny i jej mechanizmów biologicznej aktywności u osób uzależnionych od alkoholu może przyczyniać się do redukcji głodu alkoholu, nawrotów picia oraz regulacji łaknienia [7, 22].

Motywy podjęcia niniejszych badań wstępnych był występujący w literaturze przedmiotu niewielki zasób informacji na temat związku stężenia greliny z aspektami uzależnienia od alkoholu, w tym z faktem spożywania lub niespożywania alkoholu. Badania miały na celu ocenę zmian stężenia greliny w zależności od czasu, jaki upłynął od ostatniego spożycia alkoholu, oraz porównanie wybranych zmiennych klinicznych, biochemicznych (np. analizy enzymów wątrobowych jako markerów intensywności spo-

tion intensity, due to the potential relationship in the feedback mechanism between alcohol consumption and ghrelin levels) and anthropometric (assessed for the effect of ghrelin secretion on nutritional status) variables depending on ghrelin serum concentration in alcohol-dependent patients undergoing treatment and persons from the control group.

It can be estimated that the level of ghrelin in patients with the longest alcohol abstinence will be similar to that in control subjects, while biochemical (laboratory) parameters indicating intensive alcohol intake (e.g. exceeding reference values of mean corpuscular volume, aminotransferases) and unfavourable nutrition parameters (e.g. excessive body fat mass or abdominal obesity with values exceeding the upper limit of the norm) will be associated with higher levels of ghrelin, similarly to pre-meal hunger and alcohol craving.

Innovative aspects include the analysis of ghrelin concentration in dependent persons rather than in an animal model and monitoring of ghrelin concentration depending on the time of abstinence.

■ MATERIAL AND METHODS

Patients and control group

The study involved 67 alcohol-dependent addiction treatment ward patients (median age 45, standard deviation SD = 10 years) diagnosed according to International Classification of Diseases 10 (ICD-10) criteria. The criteria for inclusion in the study group are absence of symptoms of alcohol withdrawal syndrome and informed consent to participate in the study. However, persons with diagnosed diabetes, cognitive disorder (preventing logical communication with the environment) and addictions other than alcohol and nicotine were excluded from the study. The control group consisted of 61 non alcohol-dependent males (who did not meet the ICD-10 dependence criteria), middle-aged (median 35 years, SD = 13 years). In addition, the inclusion and exclusion criteria were the same as for those in the study group. Recruitment to both groups (the study and control group) involved a direct conversation, in which they were informed about the principles and course of the study and were instructed on how to fill in the questionnaires on their own and

żywiania alkoholu, z uwagi na potencjalny związek w mechanizmie sprzężenia zwrotnego między przyjmowaniem alkoholu a stężeniem greliny) i antropometrycznych (ocenianych z uwagi na wpływ sekrecji greliny na stan odżywienia) w zależności od stężenia greliny w surowicy krwi osób uzależnionych od alkoholu, leczonych stacjonarnie odwykowo oraz osób z grupy kontrolnej.

Można szacować, że stężenie greliny u pacjentów z najdłuższą abstynencją alkoholową będzie zbliżone do jej stężenia u osób w grupie kontrolnej, natomiast parametry biochemiczne (laboratoryjne) wskazujące na intensywne przyjmowanie alkoholu (np. przekroczenie wartości referencyjnych średniej objętości krwinki czerwonej, aminotransferaz) oraz niekorzystne parametry odżywienia (np. nadmierna zawartość tłuszczu w ciele, nadwaga czy otyłość brzuszna o wartościach wykraczających ponad górną granicę normy) będą związane z wyższym stężeniem greliny, podobnie jak głód przed posiłkiem i głód alkoholu.

Do nowatorskich aspektów pracy można zaliczyć analizę stężenia greliny u osób uzależnionych, a nie w modelu zwierzęcym oraz monitorowanie stężenia greliny w zależności od czasu utrzymania przez pacjentów abstynencji.

■ MATERIAŁ I METODY

Pacjenci i osoby z grupy kontrolnej

W badaniach uczestniczyło 67 mężczyzn uzależnionych od alkoholu, pacjentów oddziału leczenia uzależnień (mediana wieku 45 lat, odchylenie standardowe OS = 10 lat), diagnozowanych według kryteriów *International Classification of Diseases 10* (ICD-10). Kryteria włączenia do badanej grupy to brak objawów alkoholowego zespołu abstynencyjnego i wyrażenie świadomej zgody na udział w badaniu. Natomiast do wykluczenia z badań kwalifikowały się osoby ze zdiagnozowaną cukrzycą, zaburzeniami poznawczymi (uniemożliwiającymi logiczną komunikację z otoczeniem) i z innymi uzależnieniami niż od alkoholu i nikotyny. Grupę kontrolną stanowiło 61 mężczyzn nieuzależnionych od alkoholu (którzy nie spełniali kryteriów uzależnienia według ICD-10), w średnim wieku (mediana 35 lat, OS = 13 lat). Poza tym kryteria włączenia i wykluczenia z badań były takie same jak w przypadku osób z badanej grupy. Rekrutacja osób do obu grup (badanej i kontrolnej) polegała na bezpośredniej rozmowie, w której informowano o zasadach i przebiegu badań, sposobie

the possibility of withdrawing from the study at any stage without incurring consequences. Patients were recruited in the ward at the beginning of therapy.

Methods

The examination of patients (alcohol-dependent males) took place in two stages, the first in the first week of addiction therapy and the second in the fourth or fifth week so that there was four weeks between each stage. People in the control group were examined only once. In the first study stage, patients were assessed for sociodemographic data (e.g. age, place of residence, marital status, education), clinical data on alcohol dependence (e.g. dependence duration, number of standard alcoholic drinks consumed in the 30 days prior to the study), laboratory variables¹ (e.g. blood morphology assessment and liver tests for somatic diagnosis) and anthropometric data (e.g. hip and waist circumference, mid-arm circumference, body mass, height, skinfold thickness to assess nutritional status).

Anthropometric and clinical variables as well as serum-ghrelin concentration were reassessed four weeks after the first examination. Once in the first stage of the study, the subjects answered the SADD (Short Alcohol Dependence Data Questionnaire) used to assess the depth of alcohol dependence [23]. According to SADD, alcohol dependence can be divided into mild (1-9 points), moderate (10-19 points) and deep (20-45 points) [23]. In the evaluation of alcohol consumption, it was assumed that the standard drink is 10 g pure ethanol in 250 ml of 5% alcohol lager, 100 ml of 12% wine and 30 ml of 40% vodka.

Therapy methods. All examined patients during hospitalisation participated in cognitive-behavioural therapy in which they learned remedial behaviours, i.e. coping with stress and alcohol craving and relapse prevention. They also took part in relaxation classes and self-help group meetings.

Some patients received psychotropic drugs for clinical reasons. Pharmacotherapy was included in the study if the drug was administered on

¹ In the first stage of the study laboratory tests were performed only in patients and not in the control group.

samodzielnego wypełniania kwestionariuszy oraz możliwości rezygnacji z badań na każdym etapie bez poniesienia konsekwencji. Rekrutacja pacjentów odbywała się na oddziale na początku terapii.

Metody

Badanie pacjentów (mężczyzn uzależnionych od alkoholu) odbywało się dwuetapowo, tzn. pierwsze badanie w pierwszym tygodniu terapii odwykowej oraz drugie w czwartym lub piątym tygodniu terapii, tak aby każdy z etapów oddzielał okres czterech tygodni. Osoby z grupy kontrolnej były badane tylko raz. Na pierwszym etapie badań oceniono pacjentów pod kątem społeczno-demograficznym (np. wiek, miejsce zamieszkania, stan cywilny, wykształcenie), danych klinicznych uzależnienia od alkoholu (np. czas uzależnienia, liczba standardowych porcji alkoholu wypitych podczas 30 dni przed badaniem), zmiennych laboratoryjnych¹ (np. ocena morfologii krwi, próby wątrobowe – oznaczone w celu diagnostyki stanu somatycznego) i antropometrycznych (np. obwód bioder i pasa, obwód ramienia, masa ciała, wzrost, fałdy skórno-tłuszczowe – w celu oceny stanu odżywienia).

Po czterech tygodniach od pierwszego badania oceniono powtórnie zmienne antropometryczne, kliniczne oraz stężenie greliny w surowicy krwi. Jednorazowo na pierwszym etapie badań osoby badane odpowiedziały na pytania SADD, które posłużyły do oceny głębokości uzależnienia od alkoholu [23]. Według SADD uzależnienie od alkoholu można podzielić na łagodne (1–9 punktów), umiarkowane (10–19 punktów) i głębokie (20–45 punktów) [23]. W ocenie spożycia alkoholu przyjęto, że standardowa porcja to wartość 10 g czystego etanolu zawarta w 250 ml jasnego piwa 5%, 100 ml wina 12% i 30 ml wódki 40%.

Metody terapii. Wszyscy badani pacjenci podczas hospitalizacji uczestniczyli w terapii poznawczo-behawioralnej – uczyli się zachowań zaradczych, tzn. radzenia sobie ze stresem i głodem alkoholu, zapobiegania nawrotom picia. Brali także udział w zajęciach relaksacyjnych i w spotkaniach grup samopomocowych.

Część pacjentów ze względów klinicznych przyjmowała leki psychotropowe. W badaniach uwzględniono farmakoterapię, jeśli lek był podawany jako stałe zlecenie w leczeniu zaburzeń de-

¹ Na pierwszym etapie badań testy laboratoryjne zostały wykonane jedynie u pacjentów (nie u osób z grupy kontrolnej).

a regular basis to treat depressive, anxiety and psychotic disorders or mood instability.

Ghrelin marking. Ghrelin (total, which contains up to 20% acylated and 80% desacylated ghrelin [18]) was determined in blood serum using the Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit for Ghrelin (GHRL), CEA991Hu (produced by Cloud-Clone-Corp., USCN Life Science Inc.). Blood samples were collected between 7 and 8 am from fasting patients. Samples were centrifuged at 4°C at 3600 rpm. The serum was then stored at -80°C.

Nutrition assessment. Nutrition assessment was carried out in all study participants and the following parameters were measured:

- height (cm), body mass (kg),
- waist circumference (WC, cm), mid-arm circumference (MAC, cm),
- the triceps skinfold thickness (TSF, mm),
- biceps skinfold thickness (BSF, mm),
- subscapular skinfold thickness (SCSF, mm),
- supra-iliac skinfold thickness (SISF, mm) [24, 25].

The following parameters were calculated based on the above data:

- body mass index (BMI, kg/m²) [26-28];
- waist-to-hip ratio (WHR), which is calculated as the quotient of waist and hips circumference, the standard being ≤ 0.9 ;
- percentage of fat or fat mass (FM) according to the Durnin and Womersley formula, based on body mass, TSF, BSF, SCSF and SISF;
- mid muscle circumference (MMC), which reflects body muscle mass, calculated according to the following formula: $MMC = MAC - \pi \times TSF$ (the study substituted the value 3.14 for π) [24, 25].

Anthropometric examinations were performed twice, at the beginning of therapy and four weeks after the first examination of inpatients and once in control group.

Alcohol craving and pre-meal hunger. Alcohol craving and pre-meal hunger in alcohol dependent patients was determined on the basis of a visual analogue scale (VAS), where 0 is the absence of hunger symptoms and 10 is a very intense hunger. The subjects assessed the frequency

presyjnych, lękowych, psychotycznych lub niestabilności nastroju.

Oznaczanie greliny. Grelinę (całkowitą, która zawiera do 20% greliny acylowanej i 80% desacylowanej [18]) oznaczano w surowicy krwi, używając Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Ghrelin (GHRL), CEA991Hu (produkcji Cloud-Clone-Corp., USCN Life Science Inc.). Próbkę krwi pobierano między godziną 7.00 a 8.00 od pacjentów będących na czczo. Próbki były wirowane w temperaturze 4°C z prędkością 3600 obrotów na minutę. Następnie surowicę przechowywano w temperaturze -80°C.

Ocena stanu odżywienia. Ocenę stanu odżywienia przeprowadzono u wszystkich uczestników badania, mierząc następujące parametry:

- wzrost (cm), masę ciała (kg),
- obwód talii (WC, cm), obwód ramienia (MAC, cm),
- grubość fałdu skórno-tłuszczowego nad mięśniami trójgłowym (TSF, mm),
- grubość fałdu skórno-tłuszczowego nad bicipsem (BSF, mm),
- grubość fałdu skórno-tłuszczowego pod dolnym kątem łopatki (SCSF, mm),
- grubość fałdu skórno-tłuszczowego nad grzebieniem kości biodrowej (SISF, mm) [24, 25].

Na podstawie powyższych danych obliczono następujące parametry:

- wskaźnik masy ciała (BMI, kg/m²) [26-28];
- stosunek obwodu talii do bioder (WHR), który obliczono jako iloraz obwodów talii i bioder, przy czym norma wynosi $\leq 0,9$;
- procent tkanki tłuszczowej lub masy tłuszczowej (FM) zgodnie ze wzorem Durnina i Womersleya, na podstawie masy ciała, TSF, BSF, SCSF i SISF;
- obwód mięśnia środkowego (MMC), który odzwierciedla masę mięśniową ciała, obliczony według następującego wzoru: $MMC = MAC - \pi \times TSF$ (w badaniu podstawiono wartość 3,14 dla π) [24, 25].

Badania antropometryczne wykonano dwukrotnie – na początku terapii i po czterech tygodniach od pierwszego badania u pacjentów i jednorazowo w grupie kontrolnej.

Głód alkoholu i poczucie głodu przed posiłkiem. Głód alkoholu i poczucie głodu przed posiłkiem u pacjentów uzależnionych od alkoholu oznaczano na podstawie wizualnej analogowej skali (VAS), gdzie 0 to brak objawów głodu, a wynik 10 – bardzo silny głód. Osoby badane ocenia-

and craving/hunger intensity by analysing the last week before the study.

Statistical analysis

The statistical analysis plan included the assessment of ghrelin serum concentration in relation to the time of abstinence and the fact of drinking or not drinking alcohol prior the study, both in patients and in the control group. The division of the patient group into subpopulations was made arbitrarily on the basis of amount of alcohol consumption. The reference point was the average number of standard alcoholic drinks consumed by persons in the control group. Two subpopulations were distinguished:

- 1) patients consuming small amounts of alcohol, i.e. like that consumed by people in the control group (average number of standard alcoholic drinks or less),
- 2) patients who consume large amounts of alcohol, i.e. more than in the control group (above the average number of standard drinks).

The plan of statistical analysis included comparison of age, selected clinical, biochemical and anthropometric variables in two subpopulations distinguished by the consumption or non consumption of alcohol. The study analysis also included evaluation of clinical, biochemical and anthropometric variables in patient subpopulations separated according to ghrelin serum concentration, i.e. I and III quartile.

Statistical analysis was carried out using a licensed SPSS 23 programme. Normal distribution of variables was checked using the Kolomogorov-Smirnov test. Results were presented mainly as median with standard deviation (SD) or in absolute numbers and percentages. The following tests were used to assess the homogeneity of selected variables' distributions in individual subpopulations: Wilcoxon's (comparison of clinical, biochemical and anthropometric dependent variables between patient subpopulations), *U* Mann-Whitney's (comparison of independent variables – clinical and anthropometric – between patient groups and control subjects) and χ^2 test (to assess the frequency of variables in patient subpopulations separated by ghrelin concentration). The value of $p \leq 0.05$ was considered statistically significant.

ły częstość i siłę odczuwanych głodów, analizując ostatni tydzień przed badaniem.

Analiza statystyczna

Plan analizy statystycznej obejmował ocenę stężenia greliny w surowicy krwi w odniesieniu do czasu utrzymywania abstynencji oraz faktu spożywania lub niespożywania alkoholu przed badaniem – zarówno u pacjentów, jak i w grupie kontrolnej. Podział grupy pacjentów na subpopulacje był dokonany arbitralnie na podstawie kryterium ilości spożywanego alkoholu. Punktem odniesienia była średnia liczba standardowych porcji alkoholu spożywanych przez osoby z grupy kontrolnej. Wyodrębniono dwie subpopulacje:

- 1) pacjentów spożywających małe ilości alkoholu, tzn. takie, jakie spożywają osoby z grupy kontrolnej (przeciętną liczbę standardowych porcji alkoholu lub mniej),
- 2) pacjentów spożywających duże ilości alkoholu, tzn. większe niż spożywane przez osoby z grupy kontrolnej (powyżej przeciętnej liczby porcji standardowych).

Plan analizy statystycznej obejmował porównanie: wieku, wybranych zmiennych klinicznych, biochemicznych i antropometrycznych w dwóch subpopulacjach wyodrębnionych ze względu na spożywanie lub niespożywanie alkoholu. Analiza badań dotyczyła także oceny zmiennych klinicznych, biochemicznych i antropometrycznych w subpopulacjach pacjentów wydzielonych według kryterium stężenia greliny w surowicy krwi, tzn. I i III kwartyli.

Analiza statystyczna była przeprowadzona z użyciem licencjonowanego programu SPSS 23. Rozkład normalny zmiennych sprawdzono za pomocą testu Kołomogorowa–Smirnowa. Wyniki przedstawiono głównie jako medianę z odchyleniem standardowym (OS) lub w liczbach bezwzględnych i procentach. Do oceny jednorodności rozkładów wybranych zmiennych w poszczególnych subpopulacjach użyto testów: Wilcoxona (porównanie zmiennych zależnych – klinicznych, biochemicznych i antropometrycznych między subpopulacjami pacjentów), *U* Manna–Whitneya (porównanie zmiennych niezależnych – klinicznych i antropometrycznych między grupami pacjentów a osobami z grupy kontrolnej) oraz testu χ^2 (do oceny częstości zmiennych w subpopulacjach pacjentów wydzielonych według stężenia greliny). Wartość $p \leq 0,05$ uznano za istotną statystycznie.

■ RESULTS

More than 70% of patients and 82% of persons of the control group consumed alcohol in the 30 days prior to the start of the study (before the first stage). Due to the high percentage of people drinking alcohol prior to the study (a heterogeneous group in terms of alcohol consumption), the authors divided the study population (patients) into those who had and had not consumed alcohol prior to the study. The separated subpopulations were compared in terms of ghrelin concentration and clinical, biochemical and anthropometric variables.

Table I compares selected variables in patients who have consumed alcohol or have not consumed alcohol within 30 days prior to the first study. The results of statistical analysis showed that age and selected clinical and anthropometric variables were similar during this period in each patient in both subpopulations. Both patients who consumed alcohol and those who did not in the 30 days prior to the study had similar pre-meal appetite (5 vs. 5 points on the VAS scale).

Differences in the prevalence of alcohol craving during the last week prior to the study were presented. Patients who consumed alcohol were more likely to experience alcohol craving than those who did not drink in the 30 days prior to the study thus 0.00 (SD = 5.61) vs. 0.00 (SD = 4.3) respectively, $p = 0.020$. Patients of both subpopulations had similar ghrelin concentration values, MCV, haematocrit, haemoglobin, similar number of erythrocytes, fat mass, WHR, BMI, body mass or similar intensity of alcohol craving.

Due to the lack of statistically significant difference in serum ghrelin concentration between subpopulations of patients who consumed alcohol and did not consume within 30 days prior to the study, and the high value of standard deviation of blood ghrelin concentration results, it was decided to compare the ghrelin concentration in subpopulations of patients separated according to the time of alcohol abstinence. The following subpopulations of patients were separated within 30 days prior to the study:

- no alcohol consumed,
- low levels of alcohol consumed (average of standard alcoholic drinks consumed by the control group),

■ WYNIKI

Ponad 70% pacjentów i 82% osób z grupy kontrolnej spożywało alkohol w czasie 30 dni przed rozpoczęciem badania (przed pierwszym etapem). Z powodu wysokiego odsetka osób pijących alkohol przed badaniem (grupa heterogenna pod względem spożywania alkoholu) autorzy podzielili populację osób badanych (pacjentów) na tych, którzy spożywali alkohol i nie spożywali go przed badaniem. Wyodrębnione subpopulacje porównano pod względem stężenia greliny oraz zmiennych klinicznych, biochemicznych i antropometrycznych.

W tabeli I porównano wybrane zmienne u pacjentów, którzy spożywali alkohol lub go nie spożywali w okresie 30 dni przed pierwszym badaniem. Wyniki analizy statystycznej pokazały, że wiek i wybrane zmienne kliniczne oraz antropometryczne były podobne w tym okresie u każdego z pacjentów w obu tych subpopulacjach. Zarówno pacjenci spożywający alkohol, jak i niespożywający alkoholu w okresie 30 dni przed badaniem podobnie odczuwali łaknienie przed posiłkiem (5 vs. 5 punktów w skali VAS).

Wykazano różnice w częstości występowania głodu alkoholu w czasie ostatniego tygodnia przed badaniem. Pacjenci, którzy spożywali alkohol, częściej odczuwali głód alkoholu niż ci, którzy nie pili alkoholu w czasie 30 dni przed rozpoczęciem badań – odpowiednio: 0,00 (OS = 5,61) vs. 0,00 (OS = 4,3), $p = 0,020$. Pacjenci obu subpopulacji mieli podobne wartości stężenia greliny, MCV, hematokrytu, hemoglobiny, podobną liczbę czerwonych krwinek, masę tłuszczową w organizmie, WHR, BMI, masę ciała czy też zbliżone nasilenie głodu alkoholu.

Z uwagi na brak istotnej statystycznie różnicy w stężeniu greliny w surowicy między subpopulacjami pacjentów, którzy spożywali alkohol i nie spożywali go w czasie 30 dni przed rozpoczęciem badania, oraz na dużą wartość odchylenia standardowego wyników stężenia greliny we krwi postanowiono porównać stężenie greliny w subpopulacjach pacjentów wydzielonych według czasu utrzymywania abstynencji alkoholowej. Wydzielono następujące subpopulacje pacjentów, którzy w ciągu 30 dni przed badaniem:

- nie spożywali alkoholu,
- spożywali alkohol na poziomie niskim (tj. średnią liczbę standardowych porcji alkoholu dla osób z grupy kontrolnej),

Table I. Comparison of selected variables in alcohol-drinking and non-alcohol drinking patients in the 30 days prior to the study – median (SD)

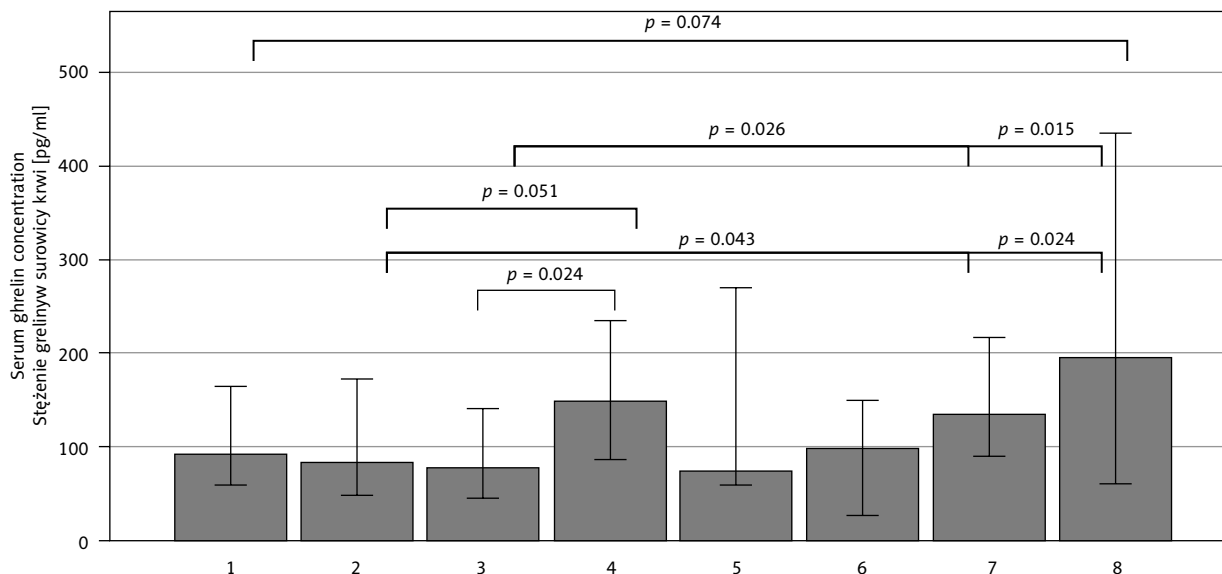
Tabela I. Porównanie wybranych zmiennych u pacjentów, którzy spożywali alkohol i nie spożywali alkoholu podczas 30 dni przed badaniem – mediana (OS)

| Variables Zmienne | Patients who drank alcohol 30 days prior to the study Pacjenci, którzy pili alkohol 30 dni przed badaniem n = 47 | Patients who did not drink alcohol 30 days prior to the study Pacjenci, którzy nie pili alkoholu 30 dni przed badaniem n = 20 | p |
|--|--|---|--------------|
| Age/Wiek | 43 (11) | 48.5 (10) | 0.291 |
| Duration of dependence/Czas uzależnienia od alkoholu, years/lata | 10 (7.19) | 11.5 (11.06) | 0.213 |
| Intensity of hunger/Nasilenie głodu przed posiłkiem, VAS | 5.00 (1.98) | 5.00 (1.45) | 0.627 |
| Intensity of alcohol craving/Nasilenie głodu alkoholu, VAS | 7.00 (2.46) | 7.00 (3.40) | 0.673 |
| Frequency of hunger per week Częstość występowania głodu przed posiłkiem w tygodniu | 2.00 (5.24) | 1.00 (5.98) | 0.966 |
| Frequency of alcohol craving per week Częstość występowania głodu alkoholu w tygodniu | 0.00 (5.61) | 0.00 (4.93) | 0.020 |
| SADD – points/punktacja | 23 (6.46) | 22.00 (6.03) | 0.276 |
| Erythrocytes/Czerwone krwinki, 10 ⁶ /μl | 4.70 (0.33) | 4.76 (0.41) | 0.247 |
| Haemoglobin/Hemoglobina, g/dl | 14.90 (1.10) | 14.95 (1.02) | 0.574 |
| Haematocrit/Hematokryt, % | 43.20 (2.68) | 43.15 (2.44) | 0.646 |
| Serum ghrelin concentration/Stężenie greliny w surowicy krwi, pg/ml | 78.53 (328.98) | 83.18 (91.50) | 0.891 |
| Body mass/Masa ciała, kg | 81.10 (13.26) | 78.80 (9.58) | 0.773 |
| MMC, cm | 26.25 (2.63) | 26.70 (1.90) | 0.971 |
| BMI, kg/m ² | 25.70 (3.31) | 24.70 (2.77) | 0.665 |
| Fat mass/Masa tłuszczowa, % | 19.10 (4.56) | 17.30 (2.84) | 0.276 |
| WHR | 1.00 (0.06) | 0.97 (0.05) | 0.589 |
| Gamma-glutamyl-transferase/Gamma-glutamyl-transferaza, U/l | 55.50 (170.52) | 38.50 (47.54) | 0.034 |
| Aspartate transferase/Aminotransferaza asparaginianowa, U/l | 25.00 (39.52) | 22.50 (9.01) | 0.096 |
| Alanine aminotransferase/Aminotransferaza alaninowa, U/l | 34.00 (61.02) | 20.00 (11.61) | 0.008 |
| Mean corpuscular volume, MCV/Średnia objętość krwinki czerwonej, fl | 91.90 (5.40) | 91.30 (14.26) | 0.314 |

U Mann-Whitney test, p ≤ 0.05

BMI – body mass index/wskaźnik masy ciała, MMC – mid muscle circumference/obwód mięśnia środkowego, SADD – Short Alcohol Dependence Data Questionnaire/kwestionariusz mierzący głębokość uzależnienia od alkoholu, VAS – Visual Analogue Scale/wizualna skala analogowa, WHR – waist-to-hip ratio/stosunek obwodu tali do obwodu bioder

- high levels of alcohol consumed (the number of standard drinks is higher than the average for the control group),
- no alcohol consumption and no alcohol in therapy for 30 days (that is abstinence for about 60 days),
- spożywali alkohol na poziomie wysokim (tj. liczba standardowych porcji większa niż średnia dla osób z grupy kontrolnej),
- nie spożywali alkoholu, przebywali w terapii przez 30 dni (czyli utrzymywali abstynencję przez około 60 dni),



1. Patients who drank alcohol 30 days prior to the study (high number of standard drinks)/Pacjenci, którzy pili alkohol 30 dni przed badaniem (wysoka liczba porcji standardowych), n = 23
2. Patients who did not drink alcohol 30 days prior to the study/Pacjenci, którzy nie pili alkoholu 30 dni przed badaniem, n = 20
3. Patients who drank alcohol prior to the study (low number of standard drinks)/Pacjenci, którzy pili alkohol 30 dni przed badaniem (niska liczba porcji standardowych), n = 17
4. Patients with 4-week abstinence (during hospitalisation) who drank alcohol 30 days prior to the study (high number of standard drinks)/Pacjenci z 4-tygodniową abstynencją (w czasie hospitalizacji), którzy pili alkohol 30 dni przed badaniem (wysoka liczba porcji standardowych), n = 17
5. Patients with 4-week abstinence (during hospitalisation) who drank alcohol 30 days prior to the study (low number of standard drinks)/Pacjenci z 4-tygodniową abstynencją (w czasie hospitalizacji), którzy pili alkohol 30 dni przed badaniem (niska liczba porcji standardowych), n = 12
6. Patients with 8-week abstinence who did not drink alcohol 30 days prior to the study/Pacjenci z 8-tygodniową abstynencją, którzy nie pili 30 dni przed badaniem, n = 11
7. Control group – persons who drank alcohol 30 days prior to the study/Grupa kontrolna – osoby, które piły alkohol 30 dni przed badaniem, n = 50
8. Control group – persons who did not drink alcohol 30 days prior to the study/Grupa kontrolna – osoby, które nie piły alkoholu 30 dni przed badaniem, n = 11

High number of alcohol standard drinks – higher than mean number of drinks consumed in control group/Wysoka liczba standardowych porcji alkoholu – wyższa od przeciętnej liczby porcji spożywanych przez osoby z grupy kontrolnej

Low number of alcohol standard drinks – similar to mean number of drinks consumed in control group/Niska liczba standardowych porcji alkoholu – zbliżona do przeciętnej liczby porcji spożywanych przez osoby z grupy kontrolnej

Figure 1. Serum ghrelin concentration in alcohol dependent patients and control group – comparison between subpopulations selected by alcohol drinking and abstinence duration prior to the study

Rycina 1. Stężenie greliny w surowicy krwi u pacjentów uzależnionych od alkoholu i osób z grupy kontrolnej – porównanie między podgrupami wydzielonymi według spożycia alkoholu i czasu abstynencji w okresie przed badaniem

- high or low alcohol consumption and in therapy for 30 days.

Figure 1 shows the relationship between alcohol consumption and alcohol abstinence time with serum ghrelin levels in patients and control subjects. It was shown that in patients who did not consume alcohol 30 days prior to the start of the study, the level of ghrelin was lower than in patients with four weeks' abstinence who previously consumed more standard portions of alcohol than the control group (83 vs. 148 pg/ml; $p = 0.051$, trend towards

- spożywali alkohol na poziomie niskim lub wysokim, przebywali na terapii przez 30 dni.

Na rycinie 1 przedstawiono związek spożycia alkoholu i czasu abstynencji alkoholowej ze stężeniem greliny w surowicy krwi u pacjentów i osób z grupy kontrolnej. Wykazano, że u pacjentów, którzy nie spożywali alkoholu w ciągu 30 dni przed rozpoczęciem badania, stężenie greliny było niższe niż u pacjentów z czterotygodniową abstynencją, którzy wcześniej spożywali więcej standardowych porcji alkoholu niż osoby z grupy

Table II. Comparison of selected variables in alcohol dependent patients subpopulations divided by low or high level of serum ghrelin – median (SD)

Tabela II. Porównanie wybranych zmiennych u pacjentów uzależnionych od alkoholu w podgrupach wydzielonych według niskiego i wysokiego stężenia greliny w surowicy krwi – mediana (OS)

| Zmienne Variables | Patients with low ghrelin concentration Pacjenci z niskim stężeniem greliny Quartile/Kwartyl I <i>n</i> = 17 | Patients with high ghrelin concentration Pacjenci z wysokim stężeniem greliny Quartile/Kwartyl III <i>n</i> = 17 | <i>p</i> |
|--|--|--|--------------|
| Clinical variables/Zmienne kliniczne | | | |
| Age/Wiek | 51.0 (10.5) | 40.0 (10.4) | 0.143 |
| Dependence duration/Czas uzależnienia od alkoholu, years/lata | 11.0 (10.0) | 8.0 (6.8) | 0.691 |
| Alcohol-drinking patients in the 30 days prior to the study Pacjenci, którzy pili alkohol 30 dni przed badaniem, <i>n</i> , % | 13 (76.5) | 11 (64.7) | 0.708 |
| Number of drinking days in the 30 days prior to the study Liczba dni picia w czasie 30 dni przed badaniem, <i>n</i> | 9.5 (11.6) | 3.0 (10.35) | 0.307 |
| Standard drinks consumed in the 30 days prior to the study Standardowe porcje wypite 30 dni przed badaniem, <i>n</i> | 27.00 (115.02) | 51.66 (149.24) | 0.932 |
| Time of hospitalisation/Czas hospitalizacji, days/dni | 46.0 (18.13) | 52.0 (11.7) | 0.157 |
| Patients who use psychopharmacotherapy Pacjenci objęci psychofarmakoterapią, <i>n</i> , % | 8 (47.1) | 7 (41.2) | 0.999 |
| Patients smoking cigarettes/Pacjenci palący tytoń, <i>n</i> , % | 16 (94.1) | 13 (76.5) | 0.335 |
| SADD – points/punktacja | 21.00 (6.94) | 26.00 (5.80) | 0.289 |
| Patients with alcohol craving per week Pacjenci z głodem alkoholu w tygodniu, <i>n</i> , % | 7 (46.7) | 9 (60.0) | 0.715 |
| Intensity of alcohol craving Nasilenie głodu alkoholu – VAS, 0-10 | 7.00 (2.73) | 7.00 (3.03) | 0.489 |
| Frequency of alcohol craving per week Częstość głodu alkoholu w tygodniu | 0.00 (2.42) | 0.00 (5.38) | 0.361 |
| Patients hunger per week Pacjenci z głodem przedposiłkowym w tygodniu, <i>n</i> , % | 8 (53.3) | 6 (40.0) | 0.715 |
| Intensity of hunger Nasilenie głodu przedposiłkowego – VAS, 0-10 | 5.00 (2.66) | 5.00 (1.45) | 0.529 |
| Frequency of hunger per week Częstość głodu przedposiłkowego w tygodniu | 1.00 (4.35) | 1.00 (3.91) | 0.696 |
| Biochemical variables/Zmienne biochemiczne | | | |
| Erythrocytes/Czerwone krwinki, 10 ⁶ /μl | 4.55 (0.28) | 4.88 (0.24) | 0.003 |
| Haemoglobin/Hemoglobina, g/dl | 14.90 (1.25) | 15.20 (0.87) | 0.016 |
| Haematocrit/Hematokryt, % | 43.10 (2.45) | 44.70 (2.36) | 0.006 |
| Thrombocytes/Płytki krwi, 10 ³ /μl | 240.00 (85.76) | 252.00 (76.98) | 0.931 |
| Mean Corpuscular Volume, MCV Średnia objętość krwinki czerwonej, fl | 91.60 (5.84) | 92.20 (3.60) | 0.667 |
| Glucose/Glukoz, mg/dl | 87.00 (6.58) | 88.00 (5.85) | 0.569 |
| Aspartate transferase/Aminotransferaza asparaginianowa, U/l | 24.00 (11.80) | 25.00 (8.90) | 0.678 |
| Alanine aminotransferase/Aminotransferaza alaninowa, U/l | 21.00 (25.74) | 34.00 (16.81) | 0.168 |
| Gamma-glutamyl-transferase/Gamma-glutamyl-transferaza, U/l | 45.00 (72.18) | 42.00 (222.08) | 0.885 |
| Total cholesterol/Cholesterol całkowity, mg/dl | 226.00 (38.71) | 220.00 (49.49) | 0.959 |

Table II. Cont.
Tabela II. Cd.

| Zmienne Variables | Patients with low ghrelin concentration Pacjenci z niskim stężeniem greliny Quartile/Kwartyl I n = 17 | Patients with high ghrelin concentration Pacjenci z wysokim stężeniem greliny Quartile/Kwartyl III n = 17 | p |
|--|--|--|--------------|
| Anthropometric variables/Zmienne antropometryczne | | | |
| Body mass/Masa ciała, kg | 73.55 (11.09) | 83.90 (8.93) | 0.012 |
| WHR | 0.95 (0.04) | 1.00 (0.07) | 0.342 |
| BMI, kg/m ² | 25.05 (2.63) | 26.60 (2.64) | 0.036 |
| % FM – Fat mass/Zawartość tłuszczu w ciele | 18.30 (3.58) | 18.40 (3.49) | 0.356 |
| MMC, cm | 25.35 (2.04) | 26.75 (2.41) | 0.046 |

Quartile I/Kwartyl I < 44.86 pg/ml, Quartile III/Kwartyl III > 163.79 pg/ml

U Mann-Whitney's test was used to assess statistically significant differences/Różnice istotne statystycznie były ocenione przy użyciu testu U Manna-Whitneya

Abbreviations see Table I/Skróty patrz tabela I

statistical significance). We observe a similar lower concentration of ghrelin if we compare this group (patients who did not drink alcohol 30 days prior to the study) with persons from the control group who consumed alcohol (83 vs. 135 pg/ml; $p < 0.05$) and did not consume alcohol (83 vs. 196 pg/ml; $p < 0.05$).

Patients consuming alcohol 30 days prior to the study were also characterised by lower blood-ghrelin concentration than patients maintaining abstinence for already four weeks, who previously drank more alcohol than the control group (77 vs. 148 pg/ml; $p < 0.05$) as well as compared to the persons of control group who drank alcohol (77 vs. 135 pg/ml; $p < 0.05$) and did not drink (77 vs. 196 pg/ml; $p < 0.5$).

To better illustrate the relationship between ghrelin concentration and clinical, biochemical and anthropometric variables, the analysis of selected variables in patient subpopulations with ghrelin concentration below and above average values (i.e. quartile I and III of ghrelin concentration) was performed. In the selection of subpopulations, the median value for verifying the variables in relation to the more extreme values of ghrelin concentration was omitted (Table II). The comparison of clinical, biochemical and anthropometric variables in subpopulations of patients with low or high ghrelin serum concentration showed that the values of most of the analysed variables do not differ statistically significantly, e.g. the variables that described the degree of alcohol dependence

kontrolnej (83 vs. 148 pg/ml; $p = 0,051$, trend ku istotności statystycznej). Obserwujemy podobne zjawisko – niższe stężenie greliny – jeśli porównamy tę grupę (pacjentów, którzy nie pili alkoholu przez 30 dni przed badaniem) z osobami z grupy kontrolnej, które spożywały alkohol (83 vs. 135 pg/ml; $p < 0,05$) i nie spożywały alkoholu (83 vs. 196 pg/ml; $p < 0,05$).

Pacjenci spożywający alkohol podczas 30 dni przed rozpoczęciem badania charakteryzowali się również niższym stężeniem greliny we krwi niż pacjenci utrzymujący abstynencję już cztery tygodnie, którzy wcześniej pili więcej alkoholu niż osoby z grupy kontrolnej (77 vs. 148 pg/ml; $p < 0,05$), a także w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej pijącymi alkohol (77 vs. 135 pg/ml; $p < 0,05$) i niepijącymi alkoholu (77 vs. 196 pg/ml; $p < 0,5$).

W celu lepszego zobrazowania związku stężenia greliny ze zmiennymi klinicznymi, biochemicznymi i antropometrycznymi przeprowadzono analizę wybranych zmiennych w subpopulacjach pacjentów ze stężeniem greliny poniżej oraz powyżej wartości przeciętnych (czyli kwartyl I i III stężenia greliny). W wyborze subpopulacji pominięto wartość mediany dla weryfikacji zmiennych w stosunku do bardziej skrajnych wartości stężenia greliny (tab. II). Porównanie zmiennych klinicznych, biochemicznych i antropometrycznych w subpopulacjach pacjentów z niskim lub wysokim stężeniem greliny w surowicy wykazało, że wartości większości analizowanych zmiennych nie różnią się istotnie statystycznie, np. zmienne, które opisywały

and the amount of alcohol consumed 30 days prior to the beginning of the study or the frequency and intensity of alcohol craving and hunger before a meal. However, it was found that alcohol-dependent patients with high ghrelin concentration had higher body mass (73 vs. 83 kg), BMI (25 vs. 26 kg/m²) and MMC (25 vs. 26 cm) as well as higher number of erythrocytes (4.55 vs. 4.88 10⁶/μl), higher haemoglobin concentration (14.90 vs. 15.20 g/dl) and higher haematocrit level (43.10 vs. 44.70%) than patients with low serum ghrelin concentration.

■ DISCUSSION

The study attempted to answer several research questions, including whether the concentration of ghrelin can be associated with the intensity and frequency of alcohol consumption and with alcohol dependence itself (Table I and Figure 1), and whether the concentration of ghrelin can be associated with selected clinical variables (e.g. alcohol craving and hunger prior to a meal), laboratory (morphology and blood biochemistry) and anthropometric parameters. The study has shown that there are large fluctuations in blood serum ghrelin levels in alcohol-dependent patients expressed as a high standard deviation, especially in those who have consumed alcohol in the 30 days prior to the study (Table I and Figure 1). Significantly lower blood ghrelin concentrations were found in alcohol dependent persons (as indicated at the beginning of inpatient drug therapy) than in control subjects who both consumed alcohol and did not.

The blood-ghrelin level was found to have increased after four weeks of treatment in alcohol-dependent patients and remained similar to that of the control group. There were no statistically significant differences between the blood-ghrelin levels determined in patients after four or eight weeks of abstinence and those in the control group (Figure 1). However, chronic alcohol consumption was found to reduce serum ghrelin levels. During alcohol abstinence after chronic alcohol consumption, dependent-person's blood-ghrelin concentration increases. It seems, therefore, that the mere fact of occasional drinking of alcohol does not lead to significant changes in ghrelin concentration (as it happened in the control group).

stopień uzależnienia od alkoholu i ilość alkoholu spożywanego w czasie 30 dni przed rozpoczęciem badania czy częstotliwość i nasilenie głodu alkoholu i głodu przed posiłkiem. Stwierdzono natomiast, że pacjenci uzależnieni od alkoholu z wysokim stężeniem greliny mieli wyższe wartości masy ciała (73 vs. 83 kg), BMI (25 vs. 26 kg/m²) i MMC (25 vs. 26 cm), a także wyższą liczbę czerwonych krwinek (4,55 vs. 4,88 10⁶/μl), wyższe stężenie hemoglobiny (14,90 vs. 15,20 g/dl) i wyższe stężenie hematokrytu (43,10 vs. 44,70%) niż pacjenci z niskim stężeniem greliny w surowicy krwi.

■ OMÓWIENIE

W badaniu próbowano odpowiedzieć na kilka pytań badawczych, m.in. czy stężenie greliny może być związane z intensywnością i częstością spożywania alkoholu oraz z samym uzależnieniem od alkoholu (tab. I i ryc. 1), a także czy stężenie greliny może być związane z wybranymi zmiennymi klinicznymi (np. głodem alkoholu, głodem przed posiłkiem), laboratoryjnymi (morfologią i biochemią krwi) i parametrami antropometrycznymi. W badaniu wykazano, że występują duże wahania stężenia greliny w surowicy krwi u pacjentów uzależnionych od alkoholu, wyrażone jako wysoka wartość odchylenia standardowego, szczególnie u tych pacjentów, którzy spożywali alkohol w okresie 30 dni przed badaniem (tab. I i ryc. 1). Stwierdzono istotnie niższe stężenie greliny we krwi u osób uzależnionych od alkoholu (oznaczone na początku stacjonarnej terapii odwykowej) niż u osób z grupy kontrolnej, które zarówno spożywały alkohol, jak i go nie spożywały.

Jak ustalono, u pacjentów uzależnionych od alkoholu stężenie greliny we krwi wzrosło po czterech tygodniach leczenia i pozostało na podobnym poziomie jak u osób z grupy kontrolnej. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic między stężeniem greliny oznaczonej u pacjentów po czterech lub ośmiu tygodniach abstynencji a stężeniem greliny oznaczonej w grupie kontrolnej (ryc. 1). Stwierdzono jednak, że przewlekłe spożywanie alkoholu przyczynia się do zmniejszenia stężenia greliny w surowicy. Podczas abstynencji alkoholowej, po przewlekłym przyjmowaniu alkoholu, dochodzi do podwyższenia stężenia greliny w surowicy krwi osób uzależnionych. Wydaje się więc, że sam fakt okazjonalnego wypicia alkoholu nie prowadzi do istotnych zmian stężenia greliny (jak to miało miejsce w grupie kontrolnej).

As shown by Szulc *et al.* [13], intraperitoneal alcohol administration has led to a reduction in the blood ghrelin concentration in Wistar alcohol non-preferring rats (NP) and Warsaw low preferring rats (WLP) whereas the blood ghrelin concentration increased in Wistar alcohol preferring rats (PR) and Warsaw high preferring rats (WHP). Moreover, the correlation between alcohol and ghrelin levels was negative in NP and WLP rats and positive in PR and WHP rats. After chronic alcohol consumption, the concentration of acylated ghrelin² decreased in both PR and WHP rats, as well as in NP and WLP. In contrast, PR and WHP rats had lower levels of both total³ and acylated ghrelin compared to NP and WLP rats – the observed differences in ghrelin levels were inversely proportional to alcohol consumption [13].

Observations by Ralevsky *et al.*, in human studies [29], showed a decrease in blood ghrelin levels after intravenous administration of alcohol in healthy alcohol users. Addolorato *et al.* [16], Badaoui *et al.* [17] and Calissendorff *et al.* [30] found lower blood ghrelin concentrations in alcohol dependent persons compared to healthy people. In turn, Kraus *et al.* [15] demonstrated that, in comparison to healthy people, patients with alcohol dependence were characterised by a higher concentration of ghrelin after a period of intensive alcohol consumption and a further increase in its concentration during abstinence. The Kraus *et al.* [15] study did not confirm our results because alcohol-dependent patients who did not consume alcohol or, on the contrary, consumed alcohol in the 30 days prior to the start of the study showed lower blood-ghrelin concentration than patients with four weeks' abstinence after the end of intensive drinking (Figure 1).

The researchers explain the lower blood ghrelin concentration after chronic alcohol consumption mainly on the grounds of the cytotoxic effects of ethanol on the gastric mucosa, which, as previously mentioned, is the main source of ghrelin [17].

Comparison of subpopulations of patients in a rehab therapy with low or high blood-ghrelin serum concentrations for selected clinical, anthropometric and biochemical variables, which were indicators of somatic health status and

Jak pokazali Szulc i wsp. [13], podawanie alkoholu dootrzewnowo doprowadziło do zmniejszenia stężenia greliny we krwi u szczurów Wistar „bez preferencji alkoholu” (NP) i szczurów WLP „z niską preferencją alkoholu”. Natomiast stężenie greliny we krwi zwiększyło się u szczurów Wistar „z preferencją alkoholu” (PR) i szczurów WHP „z wysoką preferencją alkoholu”. Co więcej, korelacja między stężeniem alkoholu i greliny była ujemna u szczurów NP i WLP, a dodatnia u szczurów PR i WHP, podczas gdy po przewlekłym spożywaniu alkoholu stężenie acylowanej greliny² zmniejszyło się zarówno u szczurów PR, jak i WHP, a także u NP i WLP. Z kolei szczury PR i WHP miały niższe stężenia zarówno całkowitej³, jak i acylowanej greliny w porównaniu ze szczurami NP i WLP – obserwowane różnice stężeń greliny były odwrotnie proporcjonalne do spożycia alkoholu [13].

Obserwacje Ralevsky'ego i wsp. w badaniach u ludzi [29] wykazały spadek stężenia greliny we krwi po dożylnym podaniu alkoholu u zdrowych osób spożywających alkohol. Addolorato i wsp. [16], Badaoui i wsp. [17] i Calissendorff i wsp. [30] stwierdzili niższe stężenia greliny we krwi u osób uzależnionych od alkoholu w porównaniu z osobami zdrowymi. Z kolei Kraus i wsp. [15] wykazali, że w porównaniu z osobami zdrowymi pacjenci uzależnieni od alkoholu charakteryzowali się wyższym stężeniem greliny po okresie intensywnego spożywania alkoholu i dalszym wzrostem jej stężenia podczas abstynencji. Badanie Krausa i wsp. [15] nie potwierdziło wyników niniejszych badań, ponieważ u pacjentów uzależnionych od alkoholu, którzy nie spożywali alkoholu lub przeciwnie – spożywali alkohol podczas 30 dni przed rozpoczęciem badania, wykazano niższe stężenie greliny we krwi niż u pacjentów z czterotygodniową abstynencją po zakończeniu intensywnego picia alkoholu (ryc. 1).

Badacze tłumaczą niższe stężenie greliny we krwi po przewlekłym spożywaniu alkoholu głównie działaniem cytotoksycznym etanolu na błonę śluzową żołądka, która, jak wcześniej wspomniano, jest głównym źródłem greliny [17].

Porównanie subpopulacji pacjentów leczonych odwykowo z niskim lub wysokim stężeniem greliny w surowicy krwi pod kątem wybranych zmiennych klinicznych, antropometrycznych, biochemicznych, które były wskaźnikami stanu zdrowia somatycznego oraz wyznacznikami intensywności

² Not designated as a separate factor in this study.

³ Was indicated in this study.

² Nieoznaczanej w tym badaniu jako oddzielny czynnik.

³ Oznaczanej w niniejszych badaniach.

determinants of alcohol consumption intensity (aminotransferase activity or GTP), showed only significantly higher values of several parameters of nutritional status (BMI, MMC as an indicator of protein nutrition and body mass) and blood morphology parameters (number of erythrocytes, haemoglobin and haematocrit) in patients with high serum-ghrelin concentrations (Table II). Other authors have obtained different results, i.e. negative correlation between ghrelin concentration and BMI [31, 32]. Higher ghrelin levels and coexisting higher nutritional parameters may be associated with e.g. reduced sleep time and insomnia [18], which is a common disorder in patients dependent on psychoactive substances.

It is worth mentioning that there are no statistically significant differences between subpopulations of patients with low and high serum ghrelin levels in terms of the severity of alcohol dependence, the severity and frequency of episodes of alcohol craving or a sudden strong feeling of hunger before meals (Table II).

Studies by other authors suggest that ghrelin is involved in the pathomechanism of alcohol dependence and the occurrence of episodes of alcohol craving [33]. In an experimental study conducted in 2018, it was found that the use of exogenous ghrelin leads to an increase in alcohol craving and promotes its consumption [33]. In this study, no significant relationship was found between alcohol craving and blood-ghrelin concentration (Table I and II), although ghrelin is considered an important factor in regulating appetite [4]. Other authors have shown a positive correlation between alcohol craving and ghrelin concentration [4, 6, 7, 19, 21, 29]. The lack of this correlation can also be explained by the methodology used. In this study, only total ghrelin was determined and not its isoforms like acylated ghrelin, which is an important appetite stimulator [18].

The observations resulting from the present study suggest that the concentration of ghrelin in blood, as stated above, is more related to the intensity of alcohol consumption [13, 16, 17, 19, 34] than to the fact of drinking alcohol itself [35].

The comparison of selected variables in subpopulations of patients with low and high ghrelin concentration suggests an interesting assumption (in the initial stage of the study, i.e. at the beginning of hospitalisation). Alcohol-de-

spożywania alkoholu (aktywność aminotransferaz czy GTP), wykazało jedynie istotnie wyższą wartość kilku parametrów stanu odżywienia (BMI, MMC jako wskaźnika odżywienia białkowego i masy ciała) oraz parametrów morfologii krwi (liczba czerwonych krwinek, hemoglobina i hematokryt) u pacjentów z wysokim stężeniem greliny w surowicy krwi (tab. II). Inni autorzy uzyskali odmienne wyniki, tzn. ujemną korelację między stężeniem greliny a BMI [31, 32]. Wyższe stężenie greliny i współwystępujące wyższe parametry stanu odżywienia mogą być związane np. ze skróceniem czasu snu oraz bezsennością [18], co u pacjentów uzależnionych od substancji psychoaktywnych jest powszechnym zaburzeniem.

Warto wspomnieć, że nie wykazano statystycznie istotnych różnic między subpopulacjami pacjentów z niskim i wysokim stężeniem greliny w surowicy krwi pod względem nasilenia uzależnienia od alkoholu, nasilenia i częstości epizodów głodu alkoholowego czy nagłego silnego uczucia głodu przed posiłkami (tab. II).

Badania innych autorów sugerują, że grelina bierze udział w patomechanizmie uzależnienia od alkoholu i występowania epizodów głodu alkoholu [33]. W eksperymentalnych badaniach przeprowadzonych w 2018 r. stwierdzono, że stosowanie egzogennej greliny prowadzi do zwiększenia głodu alkoholu i sprzyja jego spożyciu [33]. W niniejszych badaniach nie znaleziono istotnych związków między głodem alkoholu a stężeniem greliny we krwi (tab. I i II), mimo że grelina jest uznawana za ważny czynnik regulacji łaknienia [4]. Inni autorzy wykazywali pozytywną korelację między głodem alkoholu a stężeniem greliny [4, 6, 7, 19, 21, 29]. Brak powyższego związku można tłumaczyć również zastosowaną metodologią. W tych badaniach oznaczano jedynie grelinę całkowitą, a nie jej izoformy, jak np. grelinę acylowaną, która jest istotnym stymulatorem łaknienia [18].

Obserwacje wynikające z niniejszej pracy sugerują, że stężenie greliny we krwi, jak stwierdzono powyżej, wiąże się bardziej z intensywnością spożywania alkoholu [13, 16, 17, 19, 34] niż z samym faktem picia alkoholu [35].

Porównanie wybranych zmiennych w subpopulacjach pacjentów z niskim i wysokim stężeniem greliny nasuwa ciekawe przypuszczenie (na początkowym etapie badań, czyli na początku hospitalizacji). Pacjenci uzależnieni od alkoholu z wysokim stężeniem greliny we krwi charakte-

pendent patients with high blood-ghrelin concentration were characterised by higher body weight and BMI and higher values of blood morphology parameters (erythrocytes, haematocrit, haemoglobin) (Table II). This observation may indicate a reversed or impaired regulation of ghrelin concentration in alcohol-dependent men (in contrast to non-alcohol-dependent persons, i.e. in comparison with the control group). This is a similar conclusion, as described earlier in the literature, in relation to studies on the metabolism of reactive oxygen species [36] or glucose and lipids in blood of alcohol-dependent individuals [37, 38].

Study limitations

The study did not analyse acylated ghrelin. Only total endogenous ghrelin was analysed in a small group of subjects.

The number of the studied group was small, but similar to the number of participants in other studies on the role of hormones regulating appetite and conducted in the group of alcohol dependent persons [35, 39, 40].

Alcohol craving and before meal hunger were measured using the Visual Analogue Scale (VAS) and a few additional questions of our own, and not e.g. the Obsessive Compulsive Drinking Scale (OCDS), which is used in other studies [7, 14, 21].

The study did not assess the condition of gastric mucosa by endoscopy and histological examination, although alcohol is known to have a cytotoxic effect on the stomach and the main source of ghrelin in blood is gastric mucosa. Endoscopies and biopsies have been omitted because these are very invasive tests and their implementation should be justified only by clinical symptoms. Thus, this type of diagnosis has not been undertaken for ethical reasons.

Despite the limitations, the studies appear to be interesting and show some clinical links between blood-ghrelin concentrations and clinical, biochemical and anthropometric variables.

Further research is certainly needed into the role of ghrelin in the mechanism of formation and course of dependence on psychoactive substances especially as the literature points to different roles of ghrelin in the human body, confirming the necessity of its research. The literature indicates at least several important ghrelin roles like regulation of behaviour or cognitive functions

ryzowali się większą masą ciała i BMI oraz wyższymi wartościami parametrów morfologii krwi (czerwone krwinki, hematokryt, hemoglobina) (tab. II). Takie spostrzeżenie może wskazywać na odwróconą lub zaburzoną regulację stężenia greliny u mężczyzn uzależnionych od alkoholu (inaczej niż u osób niezależnych od alkoholu, czyli w porównaniu z grupą kontrolną). Jest to podobny wniosek, jak ten wcześniej opisany w literaturze, w odniesieniu do badań przemian reaktywnych form tlenu [36] czy glukozy i lipidów we krwi u osób uzależnionych od alkoholu [37, 38].

Ograniczenia badań

W badaniu nie analizowano greliny acylowanej. Analizowano jedynie całkowitą endogenną grelinę w małej grupie osób badanych.

Liczebność badanej grupy była niewielka, ale podobna do liczby uczestników innych badań dotyczących roli hormonów regulujących łaknienie i przeprowadzonych w grupie osób uzależnionych od alkoholu [35, 39, 40].

Głód alkoholu i głód przedposiłkowy mierzono za pomocą VAS i kilku dodatkowych pytań własnych, a nie np. skalą *Obsessive Compulsive Drinking Scale* (OCDS), która jest stosowana w innych badaniach [7, 14, 21].

W badaniu nie oceniano stanu błony śluzowej żołądka za pomocą endoskopii i badania histologicznego, chociaż wiadomo, że alkohol wywiera działanie cytotoksyczne na żołądek, a głównym źródłem greliny we krwi jest błona śluzowa żołądka. Zaniechano endoskopii i biopsji, ponieważ są to badania bardzo inwazyjne, a ich wdrażanie powinno być uzasadnione jedynie objawami klinicznymi. Tym samym ze względów etycznych nie podjęto tego typu diagnostyki.

Pomimo ograniczeń badania wydają się interesujące i pokazują pewne kliniczne powiązania między stężeniem greliny we krwi a zmiennymi klinicznymi, biochemicznymi i antropometrycznymi.

Na pewno niezbędne są dalsze badania roli greliny w mechanizmie powstawania i przebiegu uzależnień od substancji psychoaktywnych. Zwłaszcza że literatura wskazuje na różne role greliny w organizmie człowieka, potwierdzając konieczność jej dalszego badania. W literaturze wskazuje się co najmniej kilka ważnych ról greliny, jak regulacja zachowań czy funkcji poznawczych [11, 41], regulacja funkcji przewodu pokarmowego, np. wpływ na poposiłkowe stężenie glukozy [42],

[11, 41], regulation of gastrointestinal functions, e.g. influence on postprandial glucose levels [42], and when blocking the GHS-R1A ghrelin receptor reduction in alcohol consumption in rats [5, 14, 43–46]. However, exogenous administration of ghrelin may weaken the development of liver fibrosis in mouse models of this disease [47]. Moreover, ghrelin plays a role in the healing of oral ulcers [48, 49], which can be considered as a protective factor of its action, e.g. in inflammation. Therefore this study and those of other authors are worth continuing and their practical application may offer potential for increasingly effective drug treatment.

■ CONCLUSIONS

In alcohol-dependent males, especially those with short alcohol abstinence times, there are large variations in serum levels of ghrelin. Ghrelin levels in patients who started inpatient treatment of alcohol dependence were significantly lower than in non-alcohol-dependent people. In alcohol-dependent men, an increase in ghrelin levels can be observed during abstinence. And the change in ghrelin concentration is not only related to the length of abstinence, but also to the amount of alcohol consumed, body weight, protein levels or BMI. The values of the above mentioned factors increase with the increase of ghrelin concentration.

In patients who consume alcohol intensively, there is a significant increase in the concentration of ghrelin in a shorter abstinence period than in patients who do not consume alcohol for a longer period of time or drink small amounts of alcohol prior to abstinence.

The increase in serum ghrelin levels during abstinence may be caused by the earlier drinking of large quantities of alcohol (larger than those consumed by non-alcoholics), which may confirm the toxic effect of alcohol on the digestive system and the regenerative effect of ghrelin.

Despite the upward trend in the concentration of total ghrelin during abstinence in alcohol-dependent patients, no increase in the intensity of alcohol craving and no significant changes in the intensity of pre-meal hunger were observed.

a przy blokowaniu receptora greliny GHS-R1A zmniejszenie spożycia alkoholu u szczurów [5, 14, 43–46]. Natomiast egzogenne podawanie greliny ma osłabiać rozwój włóknienia wątroby w mysich modelach tej choroby [47]. Ponadto grelina odgrywa rolę w gojeniu owrzodzeń jamy ustnej [48, 49], co można uznać za czynnik protekcyjny jej działania, np. w stanach zapalnych. Zatem niniejsze badania i badania innych autorów warte są kontynuacji, a ich praktyczne zastosowanie może stanowić potencjał dla coraz to lepszej skuteczności leczenia odwykowego.

■ WNIOSKI

U mężczyzn uzależnionych od alkoholu, szczególnie u tych z krótkim czasem abstynencji alkoholowej, stwierdzono duże zróżnicowanie wartości stężenia greliny w surowicy krwi. Stężenie greliny u pacjentów, którzy rozpoczęli stacjonarne leczenie uzależnienia od alkoholu, było istotnie niższe niż u osób nieuzależnionych od alkoholu. U mężczyzn uzależnionych od alkoholu zaobserwowano wzrost stężenia greliny w czasie utrzymywania abstynencji. Zmiana stężenia greliny jest jednak związana nie tylko z długością abstynencji, lecz także ilością spożywanego alkoholu, wartością masy ciała, stanem odżywienia białkowego czy BMI. Wartości wyżej wymienionych czynników ulegają zwiększeniu wraz ze wzrostem stężenia greliny.

U pacjentów, którzy w sposób intensywny spożywają alkohol, dochodzi do bardziej istotnego wzrostu stężenia greliny w krótszym czasie abstynencji niż u pacjentów, którzy nie spożywają alkoholu dłuższy czas lub piją małe jego ilości przed rozpoczęciem abstynencji alkoholowej.

Wzrost stężenia greliny w surowicy krwi w czasie abstynencji może być spowodowany wcześniejszym pićm dużych ilości alkoholu (większych niż spożywały osoby nieuzależnione od alkoholu), co potwierdzałoby toksyczny wpływ alkoholu na układ pokarmowy i regeneracyjne działanie greliny.

Pomimo tendencji wzrostowej stężenia greliny całkowitej podczas abstynencji u pacjentów uzależnionych od alkoholu nie zaobserwowano zwiększenia nasilenia głodu alkoholu oraz istotnych zmian w nasileniu głodu przedpościłkowego.

Conflict of interest/Konflikt interesów

None declared./Nie występuje.

Financial support/Finansowanie

Research was financed by the young researchers grant of the Nicolaus Copernicus University in Toruń, Poland./Badania były sfinansowane z grantu dla młodych naukowców Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu; no/nr 243/2008.

Ethics/Etyka

Bioethics commission of Nicolaus Copernicus University in Toruń agreed to conduct the research; no 243/2008. Each patient signed informed consent to participate in the study./Komisja Bioetyczna Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu udzieliła zgody na badania [nr KB 243/2008]. Każdy pacjent podpisał świadomą zgodę na udział w badaniu.

The work described in this article has been carried out in accordance with the Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) on medical research involving human subjects, Uniform Requirements for manuscripts submitted to biomedical journals and the ethical principles defined in the Farmington Consensus of 1997./Treści przedstawione w pracy są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej odnoszącymi się do badań z udziałem ludzi, ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych oraz z zasadami etycznymi określonymi w Porozumieniu z Farmington w 1997 roku.

References/Piśmiennictwo

1. Ziółkowski M, Czarnecki D, Budzyński J, Rosińska Z, Żekanowska E, Góralczyk B. Orexin in patients with alcohol dependence treated for relapse prevention: a pilot study. *Alcohol Alcohol* 2016; 51: 416-21. DOI: 10.1093/alcalc/agv129.
2. Nogueiras R, Romero-Picó A, Vazquez MJ, Novelle MG, López M, Diéguez C. The opioid system and food intake: homeostatic and hedonic mechanisms. *Obest Facts* 2012; 5: 196-207. DOI: 10.1159/000338163.
3. López M, Lage R, Saha AK, Rérez-Tilve D, Vázquez MJ, Varela L, et al. Hypothalamic fatty acid metabolism mediates the orexigenic action of ghrelin. *Cell Metab* 2008; 7: 389-99. DOI: 10.1016/j.cmet.2008.03.006.
4. Haass-Koffler CL, Aoun EG, Swift RM, de la Monte SM, Kenna GA, Leggio L. Leptin levels are reduced by intravenous ghrelin administration and correlated with cue-induced alcohol craving. *Transl Psychiatry* 2015; 5: e646. DOI: 10.1038/tp.2015.140.
5. Engel JA, Jerlhag E. Role of appetite-regulating peptides in the pathophysiology of addiction: implications for pharmacotherapy. *CNS Drugs* 2014; 28: 875-86. DOI: 10.1007/s40263-014-0178-y.
6. Vadnie CA, Park JH, Abdel Gawad N, Ho AM, Hinton DJ, Choi DS. Gut-brain peptides in corticostriatal-limbic circuitry and alcohol use disorders. *Front Neurosci* 2014; 8: 288. DOI: 10.3389/fnins.2014.00288.
7. Leggio L, Ferrulli A, Cardone S, Nesci A, Miceli A, Malandrino M, et al. Ghrelin system in alcohol-dependent subjects: role of plasma ghrelin levels in alcohol drinking and craving. *Addict Biol* 2012; 17: 452-64. DOI: 10.1111/j.1369-1600.2010.00308.x.
8. Panagopoulos VN, Ralevski E. The role of ghrelin in addiction: a review. *Psychopharmacology* 2014; 231: 2725-40. DOI: 10.1007/s00213-014-3640-0.
9. Jerlhag E, Ivanoff L, Vater A, Engel JA. Peripherally circulating ghrelin does not mediate alcohol-induced reward and alcohol intake in rodents. *Alcohol Clin Exp Res* 2014; 38: 959-68. DOI: 10.1111/acer.12337.
10. Naleid AM, Grace MK, Cummings DE, Levine AS. Ghrelin induces feeding in the mesolimbic reward pathway between the ventral tegmental area and the nucleus accumbens. *Peptides* 2005; 26: 2274-9. DOI: 10.1016/j.peptides.2005.04.025.

11. Wu JT, Kral JG. Ghrelin. Integretive neuroendocrine peptide in health and disease. *Ann Surg* 2004; 239: 464-74.
12. Seo D, Sinha R. The neurobiology of alcohol craving and relapse. *Handb Clin Neurol* 2014; 125: 355-68. DOI: 10.1016/B978-0-444-62619-6.00021-5.
13. Szulc M, Mikolajczak PL, Geppert B, Wachowiak R, Dyr W, Bobkiewicz-Kozłowska T. Ethanol affects acylated and total ghrelin levels in peripheral blood of alcohol-dependent rats. *Addict Biol* 2013; 18: 689-701. DOI: 10.1111/adb.12025.
14. Koopmann A, von der Goltz C, Grosshans M, Dinter C, Vitale M, Wiedemann K, et al. The association of the appetitive peptide acetylated ghrelin with alcohol craving in early abstinent alcohol dependent individuals. *Psychoneuroendocrinology* 2012; 37: 980-6. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2011.11.005.
15. Kraus T, Schanze A, Gröschl M, Salomé N, Heilig M, Moechars D, et al. Ghrelin levels are increased in alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29: 2154-57. DOI: 10.1097/01.alc.0000191753.82554.7e.
16. Addolorato G, Capristo E, Leggio L, Ferrulli A, Abenavoli L, Malandrino N, et al. Relationship between ghrelin levels, alcohol craving, and nutritional status in current alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res* 2006; 30: 1933-37.
17. Badaoui A, De Saeger C, Duchemin J, Gihousse D, de Timary P, Stärkel P. Alcohol dependence is associated with reduced plasma and fundic ghrelin levels. *Eur J Clin Invest* 2008; 38: 397-403. DOI: 10.1111/j.1365-2362.2008.01947.x.
18. Polińska B, Matowicka-Karna J, Kemonia H. Rola greliny w organizmie. *Postepy Hig Med Dosw* (online) 2011; 65: 1-7.
19. Leggio L, Zywiak WH, Fricchione SR, Edwards SM, de la Monte SM, Swift RM, et al. Intravenous ghrelin administration increases alcohol craving in alcohol-dependent heavy drinkers: a preliminary investigation. *Biol Psychiatry* 2014; 76: 734-41. DOI: 10.1016/j.biopsych.2014.03.019.
20. Jakubowicz D, Froy O, Wainstein J, Boaz M. Corrigendum to “Meal timing and composition influence ghrelin levels, appetite scores and weight loss maintenance in overweight and obese adults”. *Steroids* 2012; 77: 323-31.
21. Akkişi Kumsar N, Dilbaz N. Relationship between craving and ghrelin, adiponectin, and resistin levels in patients with alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 2015; 39: 702-9. DOI: 10.1111/acer.12689.
22. Lee MR, Tapocik JD, Ghareeb M, Schwandt ML, Dias AA, Le AN, et al. The novel ghrelin receptor inverse agonist PF-5190457 administered with alcohol: preclinical safety experiments and a phase 1b human laboratory study. *Mol Psychiatry* 2020; 25: 461-75. DOI: 10.1038/s41380-018-0064-y.
23. Raistrick D, Dunbar G, Davidson R. Development of a questionnaire to measure alcohol dependence. *Br J Addict* 1983; 78: 89-95.
24. Durnin JVGA, Womersley J. Body fat assessed from the total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr* 1974; 32: 77-97.
25. Heymsfield SB, Williams PJ. Nutritional assessment by clinical and biochemical methods. In: Shils ME, Young VR (eds.). *Modern Nutrition in Health and Disease*, 7th ed. Philadelphia: Lea and Febiger; 1988, p. 817-60.
26. Budzyński J, Tojek K, Czerniak B, Banaszkiwicz Z. Scores of nutritional risk and parameters of nutritional status assessment as predictors of in-hospital mortality and readmissions in the general hospital population. *Clin Nutr* 2016; 35: 1464-71. DOI: 10.1016/j.clnu.2016.03.025.
27. Reiner Ž, Catapano A, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J* 2011; 32: 1769-818. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr158.
28. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task

- Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Atherosclerosis* 2016; 252: 207-74. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.05.037.
29. Ralevski E, Horvath TL, Shanabrough M, Hayden R, Newcomb J, Petrakis I. Ghrelin is suppressed by intravenous alcohol and is related to stimulant and sedative effects of alcohol. *Alcohol Alcohol* 2017; 52: 431-8. DOI: 10.1093/alcalc/agx022.
 30. Calissendorff J, Gustafsson T, Holst JJ, Brismar K, Röjdmarm S. Alcohol intake and its effect on some appetite-regulating hormones in man: influence of gastroprotection with sucralfate. *Endocr Res* 2012; 37: 154-62. DOI: 10.3109/07435800.2012.662662.
 31. Korek E, Krauss H, Piątek J, Chęcińska Z. Regulacja hormonalna łaknienia. *Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu* 2013; 19: 211-17.
 32. Nedvidková J, Kryorková I, Barták V, Papezová H, Gold PW, Alesci S, et al. Loss of meal-induced decrease in plasma ghrelin levels in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1678-82.
 33. Farokhnia M, Grodin EN, Lee MR, Oot EN, Blackburn AN, Stangl BL, et al. Exogenous ghrelin administration increases alcohol self-administration and modulates brain functional activity in heavy-drinking alcohol-dependent individuals. *Mol Psychiatry* 2018; 23: 2029-38. DOI: 10.1038/mp.2017.226.
 34. Calissendorff J, Danielsson O, Brismar K, Röjdmarm S. Inhibitory effect of alcohol on ghrelin secretion in normal man. *Eur J Endocrinol* 2005; 152: 743-7. DOI: 10.1530/eje.1.01905.
 35. Haass-Koffler C, Giovenco DE, Lee MR, Zywiak WH, de la Monte SM, Kenna GA, et al. Serum insulin levels are reduced by intravenous ghrelin administration but do not correlate with alcohol craving in alcohol-dependent individuals. *Int J Neuropsychopharmacol* 2016; 19(10): 1-7. DOI: 10.1093/ijnp/pyw048.
 36. Budzyński J, Ziółkowski M, Kłopocka M, Czarnecki D. Oxidoreductive homeostasis in alcohol-dependent male patients and the risk of alcohol drinking relapse in a 6-month follow-up. *Alcohol* 2016; 50: 57-64. DOI: 10.1016/j.alcohol.2015.10.004.
 37. Budzyński J, Ziółkowski M, Kłopocka M, Czarnecki D. Blood glucose and lipid concentrations after overload are not associated with the risk of alcohol relapse. *Drug Alcohol Depend* 2016; 161: 356-62. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2016.02.029.
 38. de Timary P, Cani PD, Duchemin J, Neyrinck AM, Gihousse D, Laterre PF, et al. The loss of metabolic control on alcohol drinking in heavy drinking alcohol-dependent subjects. *PLoS One* 2012; 7: e38682. DOI: 10.1371/journal.pone.0038682.
 39. Hillemecher T, Kraus T, Rauh J, Weiss J, Schanze A, Frieling H, et al. Role of appetite-regulating peptides in alcohol craving: an analysis in respect to subtypes and different consumption patterns in alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 2007; 31: 950-4.
 40. Hillemecher T, Weinland C, Heberlein A, Gröschl M, Schanze A, Frieling H, et al. Increased levels of adiponectin and resistin in alcohol dependence-possible link to craving. *Drug Alcohol Depend* 2009; 99: 333-7. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2008.07.019.
 41. Beheshti S, Shahrokhi S. Blocking the ghrelin receptor type 1a in the rat brain impairs memory encoding. *Neuropeptides* 2015; 52: 97-102. DOI: 10.1016/j.npep.2015.05.003.
 42. Denney WS, Sonnenberg GE, Carvajal-Gonzalez S, Tuthill T, Jackson VM. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of PF-05190457: the first oral ghrelin receptor inverse agonist to be profiled in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol* 2017; 83: 326-38. DOI: 10.1111/bcp.13127.
 43. Suchankova P, Steensland P, Fredriksson I, Engel JA, Jerlhag E. Ghrelin receptor (GHS-R1A) antagonism suppresses both alcohol consumption and the alcohol deprivation effect in rats following long-term voluntary alcohol consumption. *PLoS One* 2013; 8: e71284. DOI: 10.1371/journal.pone.0071284.
 44. Landgren S, Simms JA, Thelle DS, Strandhagen E, Bartlett SE, Engel JA, et al. The ghrelin signalling system is involved in the consumption of sweets. *PLoS One* 2011; 6: e18170. DOI: 10.1371/journal.pone.0018170. Erratum in: *PLoS One* 2014; 9. DOI: 10.1371/annotation/69c18638-12de-4f08-9a3c-f8c7bf3a0cc6.

45. Landgren S, Simms JA, Hyytiä P, Engel JA, Bartlett SE, Jerlhag E. Ghrelin receptor (GHS-R1A) antagonism suppresses both operant alcohol self-administration and high alcohol consumption in rats. *Addict Biol* 2012; 17: 86-94. DOI: 10.1111/j.1369-1600.2010.00280.x.
46. Kaur S, Ryabinin AE. Ghrelin receptor antagonism decreases alcohol consumption and activation of perioculomotor urocortin-containing neurons. *Alcohol Clin Exp Res* 2010; 34: 1525-34. DOI: 10.1111/j.1530-0277.2010.01237.x.
47. Mao Y, Zhang S, Yu F, Li H, Guo C, Fan X. Ghrelin attenuates liver fibrosis through regulation of TGF- β 1 expression and autophagy. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 21911-30. DOI: 10.3390/ijms160921911.
48. Warzecha Z, Kownacki P, Ceranowicz P, Dembinski M, Cieszkowski J, Dembinski A. Ghrelin accelerates the healing of oral ulcers in non-sialoadenectomized and sialoadenectomized rats. *J Physiol Pharmacol* 2013; 64: 657-68.
49. Matuszyk A, Ceranowicz P, Warzecha Z, Cieszkowski J, Ceranowicz D, Gałazka K, et al. Exogenous ghrelin accelerates the healing of acetic acid-induced colitis in rats. *Int J Mol Sci* 2016; 17: 1455. DOI: 10.3390/ijms17091455.

