

BROMATOLOGIA I CHEMIA TOKSYKOLOGICZNA

Czasopismo poświęcone zagadnieniom badań ochrony
zdrowia i środowiska

Wersja internetowa wydawanego czasopisma jest wersją pierwotną

TOM L

2017

Nr 1

TREŚĆ

<i>B. Kulczyński, A. Gramza-Michałowska, M. Grdeń</i> : Amarantus – wartość odżywcza i właściwości prozdrowotne	1
<i>Z. Goluch-Koniuszy, M. Salmanowicz</i> : Znaczenie żywienia w fizjologicznej insulinooporności u młodzieży będącej w skoku pokwitaniowym	8
<i>B. Bobrowska-Korczak, D. Skrajnowska, A. Tokarz</i> : Telomery, aktywność telomerazy a dieta	17
<i>K. Miranowicz-Dzierżawska</i> : Porównanie cytotoksycznego działania nano- i mikro- ZnO na kolejne pasażę starzejących się komórek <i>in vitro</i>	25
<i>B. Paszczyk, J. Luczyńska</i> : Sery i produkty seropodobne jako źródło sprzężonego kwasu linolowego (CLA) oraz izomerów <i>trans</i> w naszej diecie	33
<i>A. Daragó, M. Nasiadek, A. Sapota, E. Bruchajzer, A. Kilanowicz</i> : Ocena poziomów wapnia i magnezu w wybranych wodach mineralnych, źródłanych i uzdrowiskowych w odniesieniu do zalecanego dziennego spożycia (RDA)	39
<i>A. Karmańska, J. Florczak, B. Karwowski</i> : Badanie zawartości związków polifenolowych oraz aktywności przeciwutleniającej różnych odmian pieczarek	48
<i>M. Bożym, M. Wzorek, I. Kłosok-Bazan</i> : Stopień narażenia korzystających z pływalni na działanie wybranych toksycznych produktów dezynfekcji wody	55
<i>A. Kozieł, B. Karwowski</i> : Przegląd badań nad papierosami elektronicznymi w kontekście analizy literatury i zainteresowania społecznego	65
<i>D. Skrajnowska, B. Bobrowska-Korczak, A. Tokarz</i> : Wpływ zastosowanych diet na zmiany w zawartości miedzi w kości udowej i sierści szczurów z rakiem sutka	75
<i>A. Daragó, A. Sapota, M. Nasiadek, M. Klimczak, E. Bruchajzer, A. Kilanowicz</i> : Wpływ podprzewlekłej suplementacji cynkiem i/lub selenem samców szczurów Wistar na homeostazę tych bio pierwiastków w nerce	80

Bartosz Kulczyński, Anna Gramza-Michałowska, Marzena Grdeń

AMARANTUS – WARTOŚĆ ODŻYWCZA I WŁAŚCIWOŚCI PROZDROWOTNE

Katedra Technologii Żywienia Człowieka, Wydziału Nauk o Żywności i Żywienia
Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
Kierownik: prof. dr hab. *J. Korczak*

Słowa kluczowe: amarantus, przeciwutleniacze, właściwości prozdrowotne.
Keywords: amaranth, antioxidants, health benefits.

Amarantus (*Amaranthus spp.*), nazywany szarłatem jest rośliną zaliczaną do pseudozboż, należąca do rodziny szarłatowatych (*Amaranthaceae*) (1). Rodzaj *Amaranthus* obejmuje ok. 70 gatunków. Uprawiany jest głównie w Rosji, Chinach, Meksyku, Gwatemali, Peru, Kenii, czy też w Indiach (2, 3). W czasach prekolumbijskich, w Nowym Świecie, ziarna szarłatu stanowiły podstawowy pokarm, tuż obok kukurydzy i fasoli. Stosowane były przez Azteków, Majów i Inków do przygotowywania napojów, sosów, kaszek, mąk, a także tortilli. Jak podaje literatura, amarantus wprowadzono do uprawy w Hiszpanii w XVI wieku, skąd rozprzestrzenił się do pozostałych krajów Europy. Na początku XIX wieku zaczęto go wykorzystywać w Afryce i Azji (4). Częścią jadalną rośliny są zarówno nasiona jak i liście. W Ameryce Północnej i Południowej, amarantus spożywany jest głównie w postaci ziaren (nasion), zaś w Azji jako warzywo (liście) (5). Gatunki uprawiane, przeznaczone do spożycia przez ludzi to przede wszystkim: *Amaranthus hypochondriacus* L., *Amaranthus cruentus* L. oraz *Amaranthus caudatus* (3). Ziarna amarantusa znajdują szerokie zastosowanie w produkcji produktów spożywczych i potraw. Wykorzystywane są do przygotowywania płatków śniadaniowych, produktów cukierniczych (jako dodatek smako- i teksturotwórczy do czekolad), krutonu, wypieków (pieczywa, muffinek, ciast), przekąsek ekstrudowanych, makaronów, czy też klusek. Warto zauważyć, że podobnie jak inne zboża (gryka, kukurydza, ryż, sorgo, proso) nie zawiera on glutenu, przez co może być spożywany przez osoby cierpiące m.in. na celiakię (5). Wysoka wartość odżywcza amarantusa sprawiła, że nazywany jest on zbożem XXI wieku i stał się w ostatnich latach przedmiotem wielu badań (1).

Charakterystyka botaniczna i wymagania uprawowe

Szarłat stanowi jednoroczną, dwuliścienną roślinę zielną, cechującą się wyprostowanym i ogromnym kwiatostanem (sięgającym nawet do 50 cm długości) o dużej trwałości. Greckie określenie amárantos oznacza „niewiędnący” (3).

Kwiatostany przyjmują kolor zielony, żółty, fioletowy, pomarańczowy, różowy, czy też brązowy. Łodygi są proste lub rozgałęzione i osiągają wysokość 0,5–3,5 m. Liście w zależności od gatunku, różnią się kształtem. Mogą być eliptyczne, rombowe, jajowate, lancetowate. Zazwyczaj są koloru zielonego lub czerwonego. Nasiona szarłatów mają soczewkowy kształt i są bardzo niewielkie – ich średnica wynosi ok. 0,9–1,7 mm. Mogą mieć one kolor biały, złoty, brązowy, a także czarny. Są bardzo lekkie, masa 1000 nasion to zaledwie 0,6–1,0 g (2, 4). *Amarantus* najlepiej rośnie na żyznej, gliniastej lub mulisto-gliniastej glebie o dobrej zdolności zatrzymywania wody. Jednocześnie dostosowany jest do niekorzystnych warunków glebowych, w tym do niskiego poziomu wilgotności gleby. Rozwija się zarówno w wilgotnym jak i suchym, gorącym klimacie. Toleruje temp. sięgające w dzień 40°C, podczas gdy temp. nocą nie powinna spadać poniżej 15°C (2). Wielkość plonów jest silnie uzależniona od środowiska, warunków pogodowych, gatunku rośliny, jej genotypu, a także stosowanych technik uprawy. Według danych literaturowych, średnio z 1 ha uzyskać można nawet 3000 kg ziaren (4).

Skład chemiczny

Nasiona *amarantusa* cechują się wysoką wartością odżywczą (tab. I), która wynika przede wszystkim z dużej zawartości białka o bardzo korzystnym składzie aminokwasowym (4, 6). Dominujące aminokwasy to: kwas glutaminowy, glicyna, kwas asparaginowy, seryna i arginina, natomiast aminokwasami ograniczającymi są lizyna i treonina (7, 8). Warto zaznaczyć, że wartość biologiczna białka *amarantusa* jest bardzo wysoka i wynosi 75%, przy wartości 73% dla mleka krowiego, czy też 68% dla soi i 56% dla pszenicy (1). Zawartość tłuszczu w ziarnach szarłatów oscyluje w granicach 6–8% (7). Wśród obecnych kwasów tłuszczowych najliczniej występują: kwas stearynowy (4,1%), kwas palmitynowy (20,9%), kwas oleinowy (23,7%) oraz kwas linolowy (47,8%) (9). Uwagę zwraca wysoka zawartość błonnika pokarmowego w nasionach *amarantusa* (5,6%), w porównaniu do innych roślin zbożowych: pszenicy (2,6%), kukurydzy (2,7%), owsa (3,2%), czy też ryżu (0,3%). Nasiona *amarantusa* bogate są także w tokoferole (β -, δ -, γ -, α -tokoferol), skwalen (469,96 mg/100 g) oraz fitosterole (177,66 mg/100 g): sitosterol, α -spinasterol, ergosterol, stigmasterol, stigmastenol (10). Warto również podkreślić wysoką zawartość składników mineralnych (m.in. żelaza, magnezu, potasu, cynku) oraz obecność niektórych witamin, przede wszystkim witaminy B₁, B₂, B₆, E oraz niacyny (6, 8). Analiza składu chemicznego nasion szarłatów wykazała obecność związków polifenolowych. W zależności od gatunku i części rośliny, wymienia się m.in.: kwas galusowy, ferulowy, p-hydroksybenzoesowy, wanilinowy, p-kumarowy, prokatechowy, kawowy, sinapowy, witekсынę, izowitekсынę, rutynę, kwercetynę, izokwercetynę (9).

Właściwości prozdrowotne *amarantusa*

Literatura wskazuje na szerokie działanie terapeutyczne szarłatów. W poniższej części pracy skupiono się na omówieniu najważniejszych właściwości prozdrowotnych.

Tabela I. Wartość odżywcza nasion amarantusa (*A. cruentus*) (4, 7, 8)Table I. The nutritional value of amaranth seed (*A cruentus*) (4, 7, 8)

Składniki odżywcze	Literatura		
	USDA (8)	Młakar i współpr. (4)	Mburu i współpr. (7)
Wartość energetyczna (kcal)	371		345,42–418,9
Białko (g)	13,56	17,1	13,58–17,6
Tłuszcz (g)	7,02	7,7	6,3–8,1
Węglowodany (g)	65,25	65,9	b/d
Popiół (g)	2,88	3,2	b/d
Błonnik pokarmowy (g)	6,7	3,9	3,4–5,3
Cukry proste (g)	1,69	b/d	b/d
Nasycone kwasy tłuszczowe (g)	1,46		
Jednonienasycone kwasy tłuszczowe (g)	1,68		
Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (g)	2,78		
Wapń (mg)	159		153–175
Żelazo (mg)	7,61		7,59–17,4
Magnez (mg)	248		244–266
Fosfor (mg)	557		455–477
Potas (mg)	508		290–366
Cynk (mg)	2,87		3,18–3,7
Mangan (mg)	3,33		4,6
Witamina C (mg)	4,2		4,2–4,5
Tiamina (mg)	0,11		0,07–0,1
Ryboflawina (mg)	0,2		0,19–0,23
Niacyna (mg)	0,92		1,17–1,45
Witamina E (mg)	1,19		b/d
Witamina B6 (mg)	0,59		

b/d – brak danych; wartości podano w przeliczeniu na 100 g surowca

Wpływ na układ sercowo-naczyniowy

Wiele przeprowadzonych badań potwierdza działanie hipolipemiczne amarantusa. Doświadczenie wykonane przez *Kabiri* i współpr. (11) wykazało, że podawanie królikom będącym na diecie wysokotłuszczowej wodno-alkoholowego ekstraktu *Amaranthus caudatus* w dawce 150 mg/kg/dzień przez okres 75 dni spowodowało poprawę profilu lipidowego krwi. Zaobserwowano, że osobniki, które przyjmowały ekstrakt miały niższy poziom stężenia cholesterolu całkowitego, triglicerydów, cholesterolu frakcji LDL we krwi oraz jednocześnie wyższy poziom cholesterolu frakcji HDL niż zwierzęta, które go nie spożywały. Co więcej, króliki otrzymujące ekstrakt cechowały się niższym stężeniem dialdehydu malonowego

(MDA), będącego biomarkerem peroksydacji lipidów oraz niższym poziomem białka C-reaktywnego, który jest wskaźnikiem powstających stanów zapalnych (11). Podobny efekt uzyskali *Czerwiński* i współpr. (12), którzy sprawdzali wpływ wzbogacenia diety wysokotłuszczowej szczurów o 10% dodatek amarantusa. Jak się okazało, osobniki, którym podawano amarantus miały niższy poziom cholesterolu całkowitego we krwi, cholesterolu LDL oraz triglicerydów. Nie odnotowano jednakże statystycznie istotnych różnic w stężeniu cholesterolu HDL (12). Z kolei w swoim eksperymencie *Clemente* i *Desai* (13) stwierdzili, że szczury z wywołaną alloksanem cukrzycą otrzymujące ekstrakt z liści *Amaranthus tricolor*, w ilości 400 mg/kg przez 21 dni odznaczały się wyższym stężeniem białych i czerwonych krwinek, a także wyższym poziomem hematokrytu i hemoglobiny, niż zwierzęta nieotrzymujące amarantusa (13). *Mendonca* i współpr. (14) dostarczyli dowodów potwierdzających działanie hipolipemiczne białek obecnych w amarantusie (*Amaranthus cruentus*). Zauważyli oni, że podawanie chomikom z wywołaną hipercholesterolemią izolatu białka z nasion amarantusa, spowodowało obniżenie stężenia cholesterolu całkowitego we krwi (14). Zauważono, że peptydy uzyskane z amarantusa, o sekwencjach: GGV, IVG i VGVL działają inhibitująco na aktywność reduktazy 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-koenzymu A (HMG-CoA) (15). Dodatkowo, *Lado* i współpr. (16) dowiedli, że izolat białkowy otrzymany z *Amaranthus mantegazzianuss* powodował redukcję ciśnienia tętniczego krwi u badanych szczurów. Aktywność obniżającą poziom lipidów we krwi potwierdzono również w przypadku suplementacji skwalenem pochodzącym z ziaren amarantusa. W badaniach prowadzonych na modelu zwierzęcym odnotowano, że związek ten powoduje wzrost wydalania cholesterolu wraz z kałem oraz nieznacznie hamuje aktywność reduktazy HMG-CoA (17).

Działanie hipoglikemiczne

Wpływ spożycia amarantusa na poziom cukru we krwi był przedmiotem licznych badań. *Girija* i współpr. (18) zaobserwowali efekt hipoglikemiczny metabolowych ekstraktów otrzymanych z trzech gatunków amarantusa: *Amaranthus caudatus*, *Amaranthus spinosus*, *Amaranthus viridis*. Naukowcy odnotowali, że u szczurów z wywołaną streptozotocyną cukrzycą, które przyjmowały doustnie 200 lub 400 mg/kg ekstraktu przez 21 dni nastąpił spadek poziomu glukozy we krwi. Wielkość efektu uzależniona była od rodzaju podawanego ekstraktu oraz jego stężenia (18). Działanie hipoglikemiczne amarantusa zostało również potwierdzone w badaniu przeprowadzonym przez *Kim* i współpr. (19) W doświadczeniu tym, szczury cierpiące na cukrzycę otrzymywały nasiona amarantusa (*Amaranthus esculantus*) w ilości 500 g/kg diety lub ich frakcję olejową w dawce 100 g/kg diety przez 3 tygodnie. Na końcu eksperymentu odnotowano zarówno spadek stężenia glukozy we krwi na czczo jak i wzrost poziomu insuliny w porównaniu do zwierząt pozbawionych dodatku amarantusa (19). Z kolei *Pandhare* i współpr. (20) odnotowali właściwości hipoglikemiczne łądygi amarantusa (*Amaranthus viridis*). Autorzy badania zaobserwowali, że u szczurów z indukowaną cukrzycą, podaż wodnego ekstraktu z łądyg amarantusa, w dawce 100, 200 lub 400 mg/kg masy ciała przez okres 30 dni, spowodowała statystycznie istotne obniżenie poziomu glukozy we

krwi. Należy podkreślić, że efekt ten był zależny od dawki (20). Działanie antyhiperglikemiczne amarantusa potwierdzili *Rahman* i współpr. (21) w eksperymencie przeprowadzonym na myszach. Wykazali oni, że podaż metanolowego ekstraktu z całej rośliny, w ilości 50, 100, 200 i 400 mg/kg masy ciała, spowodowała niższy wzrost poziomu cukru we krwi, po jednoczesnym podaniu 2 g glukozy/kg masy ciała, w porównaniu do grupy kontrolnej. Odnotowano, że poziom glukozy we krwi był niższy o odpowiednio: 23,7; 27,1; 42,7 oraz 49,2%. Uzyskany efekt był porównywalny w przypadku grupy zwierząt otrzymującej glibenklamid (46,1%). Wyniki istotne statystycznie zaobserwowano dla stężeń 100, 200 i 400 mg/kg masy ciała (21).

Działanie przeciwdrobnoustrojowe

Dostępne są wyniki badań, które wskazują na działanie przeciwdrobnoustrojowe amarantusa. W doświadczeniu wykonanym przez *Ahmed* i współpr. (22) stwierdzono, że 80- i 100% metanolowe ekstrakty z liści i nasion amarantusa (*Amaranthus viridis*) wykazują właściwości antybakteryjne wobec takich mikroorganizmów jak *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* oraz antygrzybiczne przeciwko *Fusarium solani* i *Rhizopus oligosporus*, przy czym silniejsze działanie zaobserwowano w przypadku liści. Z kolei metanolowe ekstrakty liści pochodzących z gatunku *Amaranthus tricolor* wpływają inhibującą na rozwój wielu bakterii gram-ujemnych i gram-dodatnich: *Staphylococcus aprophyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* (23). Działanie przeciwbakteryjne *Amaranthus spinosus* zostało odnotowane w eksperymencie przeprowadzonym przez *Bulbul* i współpr. (24). Autorzy badania dowiedli, że ekstrakty roślinne przygotowane z wykorzystaniem wybranych rozpuszczalników: octanu etylu, chloroformu i heksanu hamują rozwój bakterii: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Vibrio mimicus*, *Salmonella paratyphi*, *Vibrio parahemolyticus*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella boydii*, *Pseudomonas aeruginosa* (24). *Mosovska* i *Birosova* (25) potwierdziły aktywność przeciwgrzybiczą amarantusa wobec *Aspergillus flavus*, *Fusarium culmorum*, *Alternaria alternata*. Jednocześnie w ich badaniach nie zauważono inhibującego wpływu na rozwój *Rhizopus oryzae*.

Aktywność przeciwutleniająca

Właściwości przeciwutleniające amarantusa zostały potwierdzone zarówno w doświadczeniach *in vitro* jak i *in vivo*. Wykazano, że acetonowe i metanolowe ekstrakty z liści, łodygi i nasion amarantusa (*Amaranthus hybridus*) cechują się zdolnością do wygaszania rodników ABTS i DPPH (26). Z kolei *Paško* i współpr. (27) wykazali zdolność ekstraktu uzyskanego z nasion *Amaranthus cruentus* do redukcji jonów żelaza (27). Badania przeprowadzone na szczurach z uszkodzoną arsenianem sodu wątrobą wykazały, że osobniki otrzymujące etanolowy ekstrakt z nasion *Amaranthus hypochondriacus* w dawce 200 lub 300 mg/kg masy ciała przez okres 14 dni cechowały się wyższą aktywnością enzymów przeciwutleniających: dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy i peroksydazy glutationowej,

w porównaniu do zwierząt pozbawionych dodatku amarantusa (26). *Akin-Idowu* i współpr. (28) analizowali wpływ podaży ziaren i oleju z amarantusa na proces peroksydacji lipidów oraz aktywność enzymów przeciwutleniających w wątrobie. Zaobserwowali oni, że szczury z cukrzycą wywołaną streptozotocyną, którym podawano ziarna amarantusa, w ilości 500 g/kg diety przez 3 tygodnie, cechowały się statystycznie istotnie wyższą aktywnością enzymów takich jak: peroksydaza glutationowa, peroksydaza, katalaza, w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej. Jednocześnie odnotowano niższe stężenie dysmutazy ponadtlenkowej i reduktazy glutationowej. Zauważono również obniżenie procesu peroksydacji lipidów, mierzonego stężeniem związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS). Podobny efekt potwierdzono dla oleju z amarantusa (18). *Paško* i współpr. (29) potwierdzili właściwości przeciwutleniające ziaren amarantusa, w doświadczeniu wykonanym na szczurach karmionych dietą wysokofruktozową. Odnotowali oni, że osobniki, które spożywały amarantus, odznaczały się niższym stężeniem dialdehydu malonowego we krwi, co świadczy o redukcji stresu oksydacyjnego. Wykazano również, że amarantus działa modulująco na aktywność katalazy i peroksydazy glutationowej w tkankach wątroby, serca, jąder, płuc, trzustki i śledziony (29).

Podsumowanie

Amaranthus spp. ze względu na swoją wartość odżywczą nazywany jest zbożem XXI wieku. Można stwierdzić, że jest to na nowo odkrywana roślina. Zawiera dużą ilość białka charakteryzującego się bardzo korzystnym składem aminokwasowym. Co więcej jest dobrym źródłem błonnika pokarmowego oraz jednonienasyconych i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. W ziarnach amarantusa obecne są liczne witaminy i składniki mineralne oraz związki bioaktywne takie jak: tokoferole, fitosterole, skwalen, polifenole. Przeprowadzone badania *in vivo* oraz *in vitro* wskazują, że szarłat posiada wiele właściwości prozdrowotnych, m.in. obniża poziom cukru we krwi, wpływa korzystnie na profil lipidowy, działa przeciwdrobnoustrojowo oraz wykazuje wysoką aktywność przeciwutleniającą. Ze względu na to, że nie zawiera on glutenu, może być spożywany przez osoby cierpiące na celiakię, co niewątpliwie jest jego dodatkowym atutem.

B. Kulczyński, A. Gramza-Michałowska, M. Grdeń

AMARANTH – NUTRITIONAL VALUE AND HEALTH BENEFITS

PIŚMIENNICTWO

1. *Kaźmierczak A., Bolesławska Z., Przysławski J.*: Szarłat – jego wykorzystanie w profilaktyce i leczeniu wybranych chorób cywilizacyjnych. *Now. Lek.*, 2011; 80(3): 192-198. – 2. *Ebert A.W., Wu T., Wang S.*: Vegetable amaranth (*Amaranthus L.*). International Cooperators' Guide. AVRDC Publication, 2011: 1-9. – 3. *Vélez-Jiménez E., Tenbergen K., Santiago P.D., Cardador-Martinez M.A.*: Functional attributes of amaranth. *Austin J. Nutri. Food Sci.*, 2014; 2(1): 1-6. – 4. *Mlakar S.G., Turinek M., Jakop M., Bavec M., Franc B.*: Nutrition value and use of gran amaranth: potential future application in bread

making. *Agricultura*, 2009; 6: 43-53. – 5. *Vinning G., McMahon G.*: Gluten-free grains. A demand-and-supply analysis of prospects for the Australian health grains industry. Rural Industries Research and Development Corporation. Publication no. 05/011, 2006: 22-24. – 6. *Caselato-Sousa V.M., Amaya-Farfán J.*: State of knowledge on amaranth grain: a comprehensive review. *J. Food Sci.*, 2012; 77(4): 93-104. – 7. *Mburu M.W., Gikonyo N.K., Kenji G.M., Mwasaru A.M.*: Properties of a complementary food based on amaranth grain (*Amaranthus cruentus*) grown in Kenya. *J. Agric. Food Tech.*, 2011; 1(9): 153-178. – 8. *United States Department of Agriculture*: Nutrient Data Laboratory (USDA), 2010. Dostep online: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/measure.pl> (12-10-2016). – 9. *Venskutonis P.R., Kraujalis P.*: Nutritional components of amaranth seeds and vegetables: a review on composition properties, and uses. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2013; 12: 381-412. – 10. *Ogrodowska D., Zadernowski R., Czaplicki S., Derewiaka D., Wronowska B.*: Amaranth seeds and products – the source of bioactive compounds. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2014; 64(3): 165-170.

11. *Kabiri N., Asgary S., Madani H., Mahzouni P.*: Effects of *Amaranthus caudatus* L. extract and lovastatin on atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *J. Med. Plants Res.*, 2010; 4(5): 355-361. – 12. *Czerwiński J., Bartnikowska E., Leontowicz H., Lange E., Leontowicz M., Katrich E., Trakhtenberg S., Gorinstein S.*: Oat (*Avena sativa* L.) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) meals positively affect plasma lipid profile in rats fed cholesterol-containing diets. *J. Nutr. Biochem.*, 2004; 15(10): 622-629. – 13. *Clemente C., Desai P.V.*: Evaluation of the hematological, hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant properties of *Amaranthus tricolor* leaf extract in rat. *Trop. J. Pharm. Res.*, 2011; 10(5): 595-602. 14. *Mendonca S., Saldiva P.H., Cruz R.J., Areas J.A.G.*: Amaranth protein presents cholesterol-lowering effect. *Food Chem.*, 2009; 116: 738-742. – 15. *Soares R.A.M., Mendonca S., de Castro L.I.A., Menezes A.C., Areas J.A.G.*: Major peptides from Amaranth (*Amaranthus cruentus*) protein inhibit HMG-CoA reductase activity. *Int. J. Mol. Sci.*, 2015; 16: 4150-4160. – 16. *Lado M.B., Burini J., Rinaldi G., Añón M.C., Tironi VA3.*: Effects of the dietary addition of amaranth (*Amaranthus mantegazzianus*) protein isolate on antioxidant status, lipid profiles and blood pressure of rats. *Plants Food Hum. Nutr.*, 2015; 70: 371-379. – 17. *Shin D.H., Heo H.J., Lee Y.J., Kim H.K.*: Amaranth squalene reduces serum and liver lipid levels in rats fed a cholesterol diet. *Br J Biomed Sci.*, 2004; 61(1): 11-14. – 18. *Girija K., Lakshman K., Chandrika U., Ghosh S.S., Divya T.*: Anti-diabetic and anti-cholesterolemic activity of methanol extracts of three species of *Amaranthus*. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 2011; 1(2): 133-138. – 19. *Kim H.K., Kim M.J., Cho H.Y., Kim E.K., Shin D.H.*: Antioxidative and anti-diabetic effects of amaranth (*Amaranthus esculentus*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochem.Funct.*, 2006; 24(3): 195-199. – 20. *Pandhare R., Balakrishnan S., Mohite P., Khanage S.*: Antidiabetic and antihyperlipidaemic potential of *Amaranthus viridis* (L.) Merr. in streptozotocin induced diabetic rats. *Asian Pac. J. Trop. Dis.*, 2012: S180-S185.

21. *Rahman F., Afroz S., Jahan S., Hosain M., Khondoker D.F., Rahman S.M., Banik J., Ahmad I., Rahmatullah M.*: Antihyperglycemic and antinociceptive properties of methanolic extract of whole plants of *Amaranthus viridis* L. (*Amaranthaceae*). *Adv. in Nat. Appl. Sci.*, 2012; 6(8): 1330-1335. – 22. *Ahmed S.A., Hanif S., Jfthkar T.*: Phytochemical profiling with antioxidant and antimicrobial screening of *Amaranthus viridis* L. leaf and seed extracts. *OJMM*, 2013; 3: 164-171. – 23. *Pulipati S., Babu S., Narasu L.*: Phytochemical analysis and antibacterial efficacy of *Amaranthus tricolor* (L) methanolic leaf extract against clinical isolates of urinary tract pathogens. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 2015; 9(20): 1381-1385. – 24. *Bulbul I.J., Nahar L., Ripa F.A., Haque O.*: Antibacterial, cytotoxic and antioxidant activity of chloroform n-hexane and ethyl acetate extract of plant *Amaranthus spinosus*. *Int. J. Pharm.Tech. Res.*, 2011; 3(3): 1675-1680. – 25. *Mosovska S., Birosova L.*: Antimycotic and antifungal activities of amaranth and buckwheat extracts. *Asian J. Plant. Sci.*, 2012; 11(3): 160-162. – 26. *Kraujalis P., Venskutonis P.R., Kraujaliene V., Pukalskas A.*: Antioxidant properties and preliminary evaluation of phytochemical composition of different anatomical parts of amaranth. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 2013; 68(3): 322-328. – 27. *Paško P., Bartoň H., Zagrodzki P., Gorinstein S., Fořta M., Zachwieja Z.*: Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chem.*, 2009; 115: 994-998. – 28. *Akin-Idowu P.E., Odunola O.A., Gbadegesin M.A., Aduloju A.O., Owumi S.A., Adegoke A.M.*: Hepatoprotective effect of *Amaranthus hypochondriacus* seed extract on sodium arsenite-induced toxicity in male Wistar rats. *J. Med. Plants Res.*, 2015; 9(26): 731-740. – 29. *Pasko P., Barton H., Zagrodzki P., Chłopicka J., Izewska A., Gawlik M., Gawlik M., Gorinstein S.*: Effect of amaranth seeds in diet on oxidative status in plasma and selected tissues of high fructose-fed rats. *Food Chem*, 2011; 126: 85-90.

Zuzanna Goluch-Koniuszy, Maria Salmanowicz

ZNACZENIE ŻYWIENIA W FIZJOLOGICZNEJ INSULINOOPORNOŚCI U MŁODZIEŻY BĘDĄCEJ W SKOKU POKWITANIOWYM

Zakład Fizjologii Żywienia Człowieka
Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie
Kierownik: prof. dr hab. *M. Friedrich*

Hasła kluczowe: adolescencja, młodzież, fizjologiczna insulinooporność, żywienie.
Key words: adolescence, youth, physiological insulin resistance, nutrition.

Okres pokwitania (adolescencja), zachodzący w organizmie młodego człowieka, jest czasem burzliwych przemian (somatycznych, fizjologicznych, psychologicznych i społecznych), ściśle związanych z m.in. prawidłową czynnością osi podwzgórze – przysadka – trzustka.

Adolescencja obejmuje najpierw gotowość organizmu do reprodukcji gatunku (wczesna adolescencja), a następnie nabywania kompetencji osobistych i społecznych (późna adolescencja). U dziewcząt okres skoku pokwitaniowego przypada na 10,5–13 rok życia, natomiast u chłopców na 12,5–15 rok życia. W okresie tym u adolescentów dochodzi do zmniejszenia insulinooporności tkanek obwodowych, co jest kompensowane zwiększoną sekrecją insuliny z wysepek β -Langerhansa trzustki. Zjawisko to sprzyja powstawaniu fizjologicznej insulinooporności polegającej na zaburzeniu homeostazy glukozy poprzez zmniejszenie wrażliwości komórek na działanie insuliny, pomimo że jej stężenie w surowicy krwi jest prawidłowe lub podwyższone (1). W ostatnich latach coraz częściej zwraca się uwagę na fakt występowania insulinooporności u młodych osób nawet z prawidłowym stanem odżywienia, u których nie występują jawne zaburzenia metaboliczne, ani nie są też nimi obciążeni w wywiadzie rodzinnym (2).

Istotną rolę w etiopatogenezie fizjologicznej insulinooporności odgrywają zmiany w ilości wydzielanych przez tkankę tłuszczową adipocytokiny, m.in. wzrost stężenia we krwi leptyny (3). Wpływ na to zaburzenie ma również obniżone stężenie we krwi adiponektyny, która jest odpowiedzialna za utrzymanie prawidłowej wrażliwości komórek na insulinę. Obserwuje się także istotnie wyższe stężenie somatotropiny we krwi, co dodatkowo sprzyja indukowaniu oporności tkanek na insulinę (4). Nieleczona fizjologiczna insulinooporność może prowadzić do wielu komplikacji zdrowotnych, a z czasem może przekształcić się w pełnoobjawową cukrzycę typu 2.

Z powodu wyżej opisanych zmian w homeostazie glukozy zasadnym jest u młodzieży, będącej w okresie skoku pokwitaniowego, monitorowanie sposobu żywienia celem zapobieżenia następstw zdrowotnych fizjologicznej insulinooporności.

Prawidłowo zbilansowana dieta powinna pokryć zarówno zapotrzebowanie intensywnie rosnącego i rozwijającego się organizmu, jak i zapewniać prawidłową glikemię.

INSULINOOPORNOŚĆ

Generalnie insulinooporność polega na zaburzeniu homeostazy glukozy poprzez zmniejszenie wrażliwości tkanek docelowych (komórki mięśniowe, tłuszczowe i wątrobowe) na insulinę, pomimo że jej stężenie w surowicy krwi jest prawidłowe lub podwyższone. Może mieć ona charakter przedreceptorowy, polegający na przyspieszonym metabolizmie insuliny lub syntezie hormonu o nieprawidłowej budowie. Mechanizm przedreceptorowy może być również spowodowany obecnością we krwi przeciwciał (najczęściej klasy IgG), które wiążą cząsteczki prawidłowej insuliny lub występowaniem we krwi hormonów działających antagonistycznie takich jak: glukagon, kortyzol, somatotropina, hormony tarczycy, a także androgeny.

Natomiast implikowanie insulinooporności receptorowej wynika najczęściej ze zmniejszenia liczby receptorów insulinowych lub ich powinowactwa do insuliny. Mechanizm postreceptorowy implikowania insulinooporności wiąże się z mutacją genów białek, które są odpowiedzialne za wewnątrzkomórkowe przekazywanie sygnału o pobudzeniu receptora oraz dysfunkcją transporterów glukozy – głównie GLUT4 (3).

Oporność na insulinę powstaje w wyniku działania czynników genetycznych, a także środowiskowych. Znaczący wpływ ma również otyłość i okres dojrzewania płciowego. Indukcja tego zjawiska jest przede wszystkim związana ze wzmożonym uwalnianiem wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) na skutek dynamicznego procesu lipolizy i zwiększonego wychwytu WKT przez komórki, głównie hepatocyty i miocyty. Istotna jest także zdolność adipocytów do wytwarzania wielu czynników prozapalnych oraz specyficznych białek – adipokin (5). Tkanka tłuszczowa jest miejscem syntezy aktywnych biologicznie adipocytokin (m.in. adiponektyny, leptyny) (6), których stężenie zmienia się w okresie dojrzewania, co sprzyja powstawaniu fizjologicznej insulinooporności (1).

Leptyna jest białkiem, którego stężenie w surowicy zwiększa się proporcjonalnie do masy tkanki tłuszczowej i m.in. poprzez podwzgórze wpływa na regulację łaknienia i wydatkowania energii. W wyniku działania na komórki β -Langerhansa trzustki i mięśni leptyna bierze udział w regulacji metabolizmu węglowodanów i tłuszczów, dlatego jej zbyt wysokie stężenie we krwi sprzyja rozwojowi insulinooporności u adolescentów z nieprawidłowym stanem odżywienia (7).

Adiponektyna jest białkiem przeciwzapalnym, którego stężenie w surowicy krwi jest odwrotnie proporcjonalne do masy tkanki tłuszczowej i insulinooporności. Hormon ten wzmacnia insulinowrażliwość i poprawia profil lipidowy krwi. Obniżenie stężenia adiponektyny w surowicy krwi poprzedza rozwój otyłości, insulinooporności i cukrzycy 2 typu (7). Wykazano, że niskie stężenia adiponektyny we krwi adolescentów mogą mieć związek z występowaniem fizjologicznej pokwitaniowej insulinooporności (4). Jednak wraz z wiekiem stężenie adiponektyny maleje, co jest spowodowane działaniem somatotropiny i hormonów płciowych.

W okresie skoku pokwitaniowego dochodzi do okresowego wzmożonego wydzielania somatotropiny, co przyczynia się do osłabienia insulino-wrażliwości tkanek oraz wpływa na wzrost lipolizy, a tym samym stężenia WKT. Fizjologicznie, dzieci będące w fazie przedpokwitaniowej, mają wyższą wrażliwość na insulinę, która utrzymuje się tylko w początkowym etapie okresu pokwitania. Następnie obserwuje się rozwój insulinooporności pokwitaniowej, natomiast pod koniec okresu dojrzewania dochodzi do zwiększenia insulino-wrażliwości, jednakże nie do poziomu sprzed okresu dojrzewania (1).

KONSEKWENCJE ZDROWOTNE FIZJOLOGICZNEJ INSULINOOPORNOŚCI

Podczas rozwoju insulinooporności obserwuje się w wątrobie wzrost glukoneogenezy, w mięśniach szkieletowych zmniejszenie wychwyty i zużycia glukozy, natomiast w adipocytach wzrost lipolizy pod wpływem lipazy hormonozależnej (3). Nasiloną lipolizą przyczynia się do wzrostu stężenia we krwi triacylogliceroli (TG) oraz WKT w tkankach wrażliwych na insulinę. Powoduje również rozwój przewlekłej reakcji zapalnej, ponieważ powstająca otyłość uruchamia kaskadę czynników prozapalnych.

Mechanizmy molekularne występujące w insulinooporności są podobne do reakcji zapalnej, co skutkuje wytworzeniem wadliwego śródbłonka, który predestynuje do chorób układu sercowo-naczyniowego. Hiperinsulinemia modyfikuje metabolizm związków lipidowych, sprzyja nadciśnieniu tętniczemu oraz działaniu prozakrzepowemu (8). Wykazano, że wzrost stężenia insuliny we krwi, wynikający z narastającej insulinooporności, stymuluje resorpcję zwrotną sodu w kanalikule bliższym nefronu, wywołując tym samym wzrost stężenia sodu w surowicy krwi, co predestynuje do rozwoju nadciśnienia tętniczego (9).

Współistnienie otyłości oraz insulinooporności prowadzi do hiperglikemii oraz rozwoju jawnej cukrzycy typu 2. Długo utrzymująca się wtórna hiperinsulinemia uważana jest za jeden z najbardziej istotnych czynników predysponujących do wystąpienia powikłań cukrzycowych, które obserwuje się w dużych naczyniach (makroangiopatie), jak i retino- i nefropatie (mikroangiopatie). Dysfunkcja komórek β -Langerhansa trzustki wynika z glukotoksyczności, a także lipotoksyczności, które nasilają proces apoptozy i przyczyniając się do spadku ich masy. Niewystarczająco rozwinięty układ antyoksydacyjny komórek β -Langerhansa trzustki czyni je podatnymi na stres oksydacyjny występujący zarówno w przebiegu ostrej oraz przewlekłej hiperglikemii (3).

ZNACZENIE STANU ODŻYWIENIA ORAZ AKTYWNOŚCI FIZYCZNEJ W FIZJOLOGICZNEJ INSULINOOPORNOŚCI

Dojrzewanie to istotny okres dla przyrostu otłuszczenia ogólnego oraz rozlokowania tkanki tłuszczowej w organizmie. Wykazano, że wisceralne gromadzenie tkanki tłuszczowej występujące w wieku rozwojowym jest ważnym bodźcem

sprzyjającym implikowaniu zespołu metabolicznego, którego składową jest insulinooporność.

Nadwaga i otyłość (interpretowana u młodzieży wartością wskaźnika Body Mass Index BMI \geq 85 percentyla siatki centylowej odpowiednio dla płci i wieku) zaburza funkcje motoryczne i metaboliczne, przyczyniając się do wadliwego wydzielania adipokin, powstawania stanu zapalnego w tkance tłuszczowej oraz w innych narządach, co ostatecznie prowadzi do nagromadzenia tłuszczu w innych niż tkanka tłuszczowa narządach i tkankach. Skutkuje to zaburzeniem funkcji mitochondriów w tych komórkach i wytworzeniem insulinooporności w podstawowych narządach takich jak: serce, mięśnie szkieletowe i wątroba (7). Wisceralna tkanka tłuszczowa (interpretowana u młodzieży wartością obwodu talii Waist Circumference WC \geq 90 percentyla siatki centylowej odpowiedni do płci i wieku) charakteryzuje się wzmoczoną aktywnością lipolityczną i dostarcza znaczące ilości WKT do układu wrotnego i wątroby. W efekcie tego powstają liczne zaburzenia metaboliczne w wątrobie, takie jak: defekt w ekstrakcji wątrobowej insuliny, wzrost syntezy frakcji VLDL-cholesterolu, nasilenia glukoneogenezy oraz syntezy globuliny wiążącej hormony płciowe. Dlatego zasadnym jest monitorowanie i utrzymanie u adolescentów normowagi, jak i prawidłowego obwodu talii (BMI i WC w granicach 5–75 percentyla siatki centylowej odpowiednio dla płci i wieku).

Zjawisko insulinooporności często związane jest ze stosowaniem nieodpowiednio zbilansowanej diety, przy równoczesnej niskiej aktywności fizycznej. Pracujące komórki mięśni zwiększają wrażliwość komórek na insulinę, natomiast wzrost zapotrzebowania na energię stymuluje tempo przemian metabolicznych w tkance tłuszczowej i wątrobowej (10). Wysiłek fizyczny poprawia wrażliwość tkanek na insulinę, dzięki czemu zapotrzebowanie na ten hormon ulega redukcji. Dodatkowo pomaga w utracie masy ciała, co korzystnie rzutuje na kontrolę stężenia glukozy we krwi. Adolescentom zalecany jest regularny umiarkowany (60 minut /dobę) wysiłek fizyczny o charakterze aerobowym, ponieważ w połączeniu z racjonalnym żywieniem zmniejsza ryzyko rozwoju insulinooporności, poprzez sprawniejszy metabolizm glukozy w mięśniach oraz zwiększenie ilości receptorów insulinowych, podwyższenie wrażliwości na insulinę, jak i pośrednio przez wpływ na obniżenie wartości wskaźników stanu odżywienia BMI i WC (11). Ponadto wykazano (7), że sport w połączeniu z odpowiednią dietą, wpływa także korzystnie na wzrost stężenia w surowicy krwi adiponektyny zwiększającej insulinooporność tkanek.

ZNACZENIE ŻYWIENIA ADOLESCENTÓW W FIZJOLOGICZNEJ INSULINOOPORNOŚCI

Intensywny wzrost i rozwój młodzieży będącej w okresie skoku pokwitaniowego wymaga stałego dostarczania energii i składników odżywczych niezbędnych do przebiegu procesów metabolicznych, tworzenia oraz odbudowy struktur ustroju. Dlatego wartość energetyczna diety powinna być indywidualnie dostosowana do wieku, płci oraz wysiłku fizycznego. Wartość energetyczna diety w granicach 2100–3000 kcal/dobę przy umiarkowanej aktywności fizycznej (12) powinna być rozłożona optymalnie na 4–5 posiłki w ciągu dnia, w odstępach 3–3,5 godzin-

nych, gdyż jest warunkiem utrzymania prawidłowej glikemii w ustroju. Ponadto wykazano (13), że zmniejszenie ilości spożywanych posiłków skutkuje częstszym występowaniem nadwagi, otyłości (w tym otyłości wisceralnej), predestynujących do rozwoju insulinooporności.

Istotne w diecie adolescentów jest dostarczenie pełnowartościowego białka w ilościach 10–15% wartości energetycznej diety (WED) zapewniającego budowę nowych struktur organizmu. Około 60–70% białka ogółem powinno stanowić białko pochodzenia zwierzęcego (12). Zbyt niska podaż białka z dietą u adolescentów powoduje zaburzenia wzrostu i rozwoju, natomiast nadmierne jego spożycie skutkuje wzrostem stężenia insuliny i insulinopodobnego czynnika (IGF-1) we krwi, nadmiernym obciążeniem metabolicznym wątroby i nerek oraz zwiększonym ryzykiem rozwoju otyłości (12).

Biorąc pod uwagę fizjologiczną insulinooporność zasadnym jest zbilansowanie białka pod kątem zawartości aminokwasów. Szczególnie tryptofanu, z którego w mózgu przy współudziale witamin B₆, B₁₂ oraz kwasu foliowego syntetyzowana jest serotonina. Jej obniżone stężenie może być przyczyną dojadania między posiłkami i/lub w godzinach wieczornych przez adolescentów, szczególnie pieczywa cukierniczego i słodyczy. Jest to zjawisko niekorzystne, gdyż wykazano, że dojadanie szczególnie w godzinach wieczornych i/lub nocnych jest mniej sycące, powoduje hipoglikemię będącą przyczyną deprywacji snu oraz w kolejnym dniu w godzinach porannych staje się przyczyną większego pobrania energii, co sprzyja gromadzeniu tkanki tłuszczowej i tą drogą przyczynia się do rozwoju insulinooporności (14).

Równie istotna wydaje się zawartość leucyny w spożywanym białku, która uczestniczy w metabolizmie białek ustrojowych, syntezie somatotropiny oraz w utrzymaniu prawidłowej glikemii. Długotrwałe niedobory leucyny predestynują do katabolizmu białek mięśniowych, zahamowania wzrostu i odbudowy tkanek (15). Dlatego zalecanymi źródłami białek dostarczających wszystkich niezbędnych aminokwasów są produkty pochodzenia zwierzęcego takie jak: lekkostrawne twarogi, chudy drób i wędliny drobiowe, chude ryby słodkowodne i morskie, jaja oraz z grupy produktów pochodzenia roślinnego: nasiona roślin strączkowych, produkty zbożowe, warzywa, owoce oraz orzechy (16).

Powszechnie wiadomo, że rodzaj spożywanych węglowodanów oraz ich źródło pochodzenia to determinanty wpływające na szybkość absorpcji i odpowiedź glikemiczną organizmu. Rola tych elementów znalazła swoje odbicie w idei indeksu glikemicznego GI (*Glycemic Index*) i ładunku glikemicznego (*Glycemic Load*). Wykazano, że spożycie żywności o niskim GI (<70) i GL (<10 dla pojedynczego produktu i <120 na dobę) skutkuje redukcją poposiłkowego stanu zwiększonego stężenia glukozy we krwi oraz stopniową normalizacją glikemii, co jest związane ze zmniejszoną sekrecją insuliny – obniżoną poposiłkową hiperinsulinemią (17). Podczas stosowania diety opartej na niskim GI i GL stężenie glukozy wzrasta w małym stopniu i pozostaje na względnie stałym poziomie przez kilka godzin, nie obserwuje się objawów hiper- i hipoglikemii, które mogą wystąpić po spożyciu posiłku o wysokim GI i GL. Związane z tym faktem wydzielanie insuliny jest mniej gwałtowne i odpowiednie do panującego stężenia glukozy we krwi, co nie pozwala na inicjację dalszych negatywnych reakcji. Żywność o wysokim GI i GL

sprzyja intensywnym zmianom insulinemii poposiłkowej, może to prowadzić do osłabienia wrażliwości komórek docelowych na insulinę (18). Dlatego zasadnym jest spożywanie przez adolescentów węglowodanów złożonych w postaci produktów skrobiowych (50–70% WED), a ograniczenie tych zawierających cukry proste do 10% WED (19). Wykazano, że spożycie cukrów prostych (obecnych w pieczywie cukierniczym, słodyczach i słodzonych napojach) stymuluje objawy hiperglikemii i hipoglikemii, zakłóca regulację apetytu w podwzgórzu poprzez zmiany w sygnalizacji ośrodka głodu i sytości oraz wpływa na wzrost ekspresji genów serotoniny (*Sert*) (20). Obniżenie ogólnej ilości pobranych z dietą węglowodanów wydaje się być jednak niekorzystne, gdyż wykazano u adolescentów z cukrzycą typu 1, którym ograniczono ich spożycie, zwiększone spożycie nasyconych kwasów tłuszczowych (21). Wówczas pod wpływem nadmiaru spożytych nasyconych kwasów tłuszczowych insulinooporność powstaje za pośrednictwem reakcji zapalnej, co skutkuje zaburzeniami w przenoszeniu sygnału insulinowego (22).

Dlatego w diecie adolescentów powinny dominować węglowodany złożone (ciemne pieczywo, kasze z pełnego przemiału, ryż, makarony, ziemniaki, warzywa, nasiona roślin strączkowych), które zawierają błonnik pokarmowy poprawiający tolerancję glukozy i fizjologiczne mechanizmy regulacji jej stężenia we krwi, a przez ten fakt zapobiegający powstawaniu hiperinsulinemii, a w efekcie – oporności tkanek na insulinę (12). Ponadto frakcje rozpuszczalne błonnika (rośliny strączkowe i owoce) regulują również profil lipidowy krwi. W Polsce zalecane spożycie błonnika (*AI Adequate Intake*) wynosi 19 g/dobę dla dzieci i młodzieży obojga płci w wieku 10–15 lat (12).

Ilość energii pochodzącej z tłuszczów powinna stanowić 20–35% WED, w tym tłuszcze nasycone nie powinny przekraczać 10% WED (23). Istotna jest podaż niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT), które nie są syntetyzowane w organizmie człowieka, dlatego też ich prekursorzy powinny być dostarczane z dietą (12). Kwasy tłuszczowe nienasycone z rodziny n-3, posiadają szczególne właściwości prozdrowotne, m.in. znajdują zastosowanie w formie suplementów diety przy zwiększaniu wrażliwość tkanek na insulinę (24). Zaobserwowano, że u osób, których dieta jest bogata w wielonienasycone kwasy tłuszczowe n-3 pozyskiwanych z ryb oraz owoców morza następuje wzrost insulinooporności. Przeciwny efekt zauważono u osób spożywających w nadmiarze kwasy tłuszczowe nasycone oraz o kwasy tłuszczowe o konfiguracji trans (22). Dlatego zalecanymi źródłami tłuszczów w diecie adolescentów powinny być: odtłuszczony nabiał, chude mięso, drób bez skóry, jaja, oliwa z oliwek, olej rzepakowy, ryby, orzechy i nasiona roślin strączkowych (16). Generalnie źródłem witamin w diecie adolescentów powinny być naturalne produkty, takie jak produkty zbożowe, orzechy, ryby oraz świeże warzywa i owoce bogate w naturalne antyoksydanty (tokoferole, karotenoidy, kwas askorbinowy, polifenole). Jednak spośród tych związków zasadnym jest zwrócenie szczególnej uwagi na spożycie tiaminy (witaminy B₁) oraz witaminy D₃. Niska podaż w diecie tiaminy skutkuje zaburzeniami transketolacji zachodzącej w trakcie tlenowego metabolizmu glukozy, szczególnie w układzie nerwowym, który czerpie energię wyłącznie z jej przemian (25). Zalecanymi produktami zawierającymi jej większe ilości powinny być: pieczywo pełnoziarniste, kasze z pełnego przemiału, nasiona roślin strączkowych, orzechy, chude mięso i ryby (16).

Receptory witaminy D₃, znajdują się w wielu komórkach ciała, m.in. na powierzchni trzustkowych wysp Langerhansa, co sygnalizuje o istotnej roli tej witaminy w przemianach, które odpowiadają za właściwą glikemię. Liczne badania wykazały, że jej zbyt niskie stężenie we krwi, szczególnie u dzieci z nadwagą, jest związane z występowaniem insulinooporności (26–28). Witamina D₃ w sposób bezpośredni wpływa na funkcję wydzielniczą trzustkowych komórek β, a więc na regulację syntezy i sekrecji insuliny. Właściwym sposobem ograniczenia ryzyka rozwoju insulinooporności jest obniżenie masy ciała do normowagi oraz uzupełnienie niedoborów tej witaminy (27). Źródłem witaminy D jest głównie jej synteza skórna, gdyż 90% tej witaminy znajdującej się w organizmie jest pochodzenia endogennego, której sprzyja przebywanie i aktywność na świeżym powietrzu. Z produktów spożywczych nadzwyczaj bogate w ten związek są ryby morskie oraz oleje rybne. Natomiast suplementy diety zawierające witaminę D₃ znajdują uzasadnienie tylko z wyraźnych wskazań medycznych (30).

W profilaktyce insulinooporności fizjologicznej, jak i jej terapii, ważnym składnikiem mineralnym biorącym udział w metabolizmie glukozy jest chrom. Pierwiastek ten jest komponentem czynnika tolerancji glukozy GTF (ang. *Glucose Tolerance Factor*), który jest połączeniem trójwartościowego kwasu chromowo-nikotynowego z kwasem glutaminowym, glicyną i cysteiną. Na działanie insuliny wpływa chrom w formie GTF, reguluje on wychwyt glukozy przez komórki i dzięki temu kontrolowane jest stężenie glukozy we krwi. Działanie chromu w regulacji gospodarki węglowodanowej polega na zwiększaniu liczby receptorów dla insuliny oraz pobudzeniu receptora insulinowego poprzez jego fosforylację (31). Niedobór tego pierwiastka prowadzi do obniżenia działania insuliny i nieprawidłowości w przemianach glukozy. Naturalnym zalecanym źródłem chromu w diecie adolescentów mogą być drożdże piwne, wołowina, wątroba cielęca, kurczaki, jaja, produkty nabiałowe, ryby morskie, ostrygi, świeże owoce, ziemniaki ze skórą oraz pełnoziarniste produkty zbożowe (16).

Równie cennym składnikiem mineralnym wpływającym na gospodarkę węglowodanową jest magnez, który stanowi składnik wielu enzymów wpływając na wzajemne oddziaływanie między insuliną i glukozą oraz bierze udział w syntezie insuliny. Niedobór tego pierwiastka może zwiększać oporność na insulinę prawdopodobnie poprzez postreceptorowe upośledzenie działania insuliny (32). Dobrym źródłem magnezu w diecie adolescentów mogą być: kakao, orzechy, kasza gryczana, ryż brązowy, produkty zbożowe, ziarna sezamu, nasiona roślin strączkowych oraz wody mineralne (16).

Szczególnemu monitoringowi powinna podlegać podaż sodu nieprzekraczająca ilości zalecanych normami (AI 1300–1500 mg/dobę), a głównie obecnego w żywności przetworzonej i słonych przekąskach często spożywanych przez adolescentów (33). Dotychczas nie wykazano jednoznacznego związku przyczynowo – skutkowego pomiędzy obniżonym spożyciem sodu a insulinoopornością (34). Natomiast nadmierne spożycie sodu implikuje insulinooporność poprzez zwiększenie stężenia kortyzolu w moczu i jego metabolitów, dyslipidemię i hipoadiponektynię (35).

Nieodłącznym elementem wyrabiania prawidłowych nawyków żywieniowych u adolescentów powinna być nie tylko indywidualna korekta diety, ale również uczestnictwo w prozdrowotnej edukacji żywieniowej. W takie działania powin-

ni być zaangażowani ich rodzice/opiekunowie prawni, pielęgniarki szkolne, nauczyciele i wychowawcy. Roztoczona nad adolescentami z fizjologiczną insulinoopornością szeroko pojęta opieka żywieniowa może ustrzec ich przed rozwojem pełnoobjawowej cukrzycy typu 2 i innymi niekorzystnymi konsekwencjami zdrowotnymi w dalszych etapach życia.

PODSUMOWANIE

Okres pokwitania jest czasem zwiększonego ryzyka występowania fizjologicznej insulinooporności u adolescentów, dlatego zasadnym jest bieżące monitorowanie ich stanu odżywienia, gdyż nadwaga lub otyłość predestynują do tego zjawiska. Równie ważne jest objęcie adolescentów szczególną opieką żywieniową przez specjalistę ds. żywienia człowieka uwzględniającą zarówno potrzeby intensywnie rozwijającego się organizmu, jak i mechanizmy implikujące fizjologiczną insulinooporność oraz możliwe jej konsekwencje zdrowotne. Poddawanie adolescentów prozdrowotnej edukacji żywieniowej powinno mieć na celu wyrobienie i/lub podtrzymanie pożądanых nawyków żywieniowych, które są niezbędne zarówno w terapii, jak i w profilaktyce insulinooporności.

Z. Goluch-Koniuszy, M. Salmanowicz

SIGNIFICANCE OF NUTRITION IN PHYSIOLOGICAL INSULIN RESISTANCE IN YOUTHS DURING THE PUBERTAL PERIOD

PIŚMIENNICTWO

1. Moran A., Jacobs D.R., Steinberger J., et al.: Changes in insulin resistance and cardiovascular risk during adolescence. *Circulation* 2008; 117(18): 2361-2368.
2. Placzkowska S., Pawlik-Sobecka L., Kokot I., et al.: Analiza częstości występowania insulinooporności u osób młodych w oparciu o wybrane kryteria diagnostyczne – badanie wstępne. *Hygeia Public Health* 2014; 49(4): 851-856.
3. Kołodziej D., Jabłecka D., Grigier D., et al.: Cukrzyca typu 2-nowoczesne leczenie. *Farm. Przegl. Nauk.* 2009; 49(2): 14-18.
4. Morrisom J.A., Ford E.S., Steinberger J.: The pediatric metabolic syndrome. *Minerva Med.* 2008; 99(3): 269-287.
5. Teran-Garcia M., Gouchard C.: Genetics of the metabolic syndrome. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2007; 32(1): 89-114.
6. Rudzka-Kocjan A., Lecka A., Szarras-Czapnik M., et al.: Ocena korelacji pomiędzy stężeniami adipocytokina a wykładnikami insulinooporności i aterogenności u dzieci i młodzieży z otyłością prostą w zależności od stadium pokwitania. *Endokr. Ped.* 2011; 4(37): 45-52.
7. Cambuli V.M., Musiu M.C., Incani M., et al.: Assessment of adiponectin and leptin as biomarkers of positive metabolic outcomes after lifestyle intervention in overweight and obese children. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008; 93(8): 3051-3057.
8. Jasik M., Karnafel W.: Aspekty patofizjologiczne wpływu insuliny na układ sercowo-naczyniowy i zachowanie ciśnienia tętniczego. *Przegl. Kardiol.* 2009; 1: 25-29.
9. Strazzullo P., Barbato A., Galletti F., et al.: Abnormalities of renal sodium handling in the metabolic syndrome. Results of the Olivetti Heart Study. *J. Hypertens.* 2006; 24(8): 1633-1639.
10. Wilczak J., Jank M.: Fizjologiczne i biochemiczne mechanizmy związane z przemianami energetycznymi zachodzącymi w czasie wysiłku fizycznego. *Kosmos*, 2010; 59(3-4): 403-411.
11. World Health Organization (WHO). *Global Recommendations for Physical Activity and Health* 2010.
12. Jarosz M. *Normy żywienia dla populacji polskiej – nowelizacja*. 2012; IŻŻ. Warszawa.
13. Ahadi Z., Kelishadi R., Qorbani M., et al.: Association between meal frequency with anthropometric measures and blood pressure in Iranian children and adolescents. *Minerva Pediatr.* 2016, 8.

14. *Baron K.G., Reid K.J., Kern A.S., et al.*: Role of sleep timing in caloric intake and BMI. *Obesity* 2011; 19(7): 1374-1381. – 15. *Harris R.A., Joshi M., Jeoung N.H., et al.*: Overview of the molecular and biochemical basis of branched-chain amino acid catabolism. *J. Nutr.* 2005; 135(6 suppl): 1527-1530. – 16. *Kunachowicz W., Nadolna I., Przygoda B., et al.*: Tabele wartości odżywczej produktów spożywczych i potraw. 2005, IŻŻ, Warszawa. – 17. *Monro J.A., Shaw M.*: Glycemic impact, glycemic glucose equivalents, glycemic index and glycemic load: definitions, distinctions, and implications. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008; 87(1): 237-243. – 18. *Levy-Marchal C., Arslanian S., Cutfield W., et al.*: Insulin resistance in children: consensus, perspective, and future directions. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 95(12): 5189-5198. – 19. *WHO*: Sugars intake for adult and children Guideline. WHO, Geneva, 2015. – 20. *Spadaro P.A., Naug H.L., Du Toit E.F., et al.*: A refined high carbohydrate diet is associated with changes in the serotonin pathway and visceral obesity. *Genet. Res.* 2015; 97: e23.
21. *Margeisdottir H.D., Larsen J.R., Brunborg C., et al.*: High prevalence of cardiovascular risk factors in children and adolescents with type 1 diabetes: a population-based study. *Diabetologia* 2008; 51: 554-561. – 22. *Ebbesson S., Tejero M., Nobmann E., et al.*: Fatty acid consumption and metabolic syndrome components: the Gocadan study. *J. Cardiometab. Syndr.* 2007; 2(4): 244-249. – 23. *Dyson P., Kelly T., Deakin T., et al.*: Diabetes UK evidence-based nutrition guidelines for the prevention and management of diabetes. *Diabet. Med.* 2011; 28: 1282-1288. – 24. *Jańczyk W., Socha P.*: Kliniczne efekty suplementacji wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi ω -3. *Stand. Med. Pediatr.* 2009; 6(10): 100-111. – 25. *Jan-kowska-Kulawy A., Bielarczyk H., Ronowska A., et al.*: Zaburzenia metabolizmu energetycznego mózgu w stanach niedoboru tiaminy. *Diagn. Lab.* 2014; 50(4): 333-338. – 26. *Ekbom K.*: Vitamin D deficiency is associated with prediabetes in obese Swedish children. *Acta Pædiatrica.* 2006; 105(10): 1192-1197. – 27. *Peterson C.A., Tosh A.K., Belenchia A.M.*: Vitamin D insufficiency and insulin resistance in obese adolescents. *Ther. Adv. Endocrinol. Metab.* 2014; 5(6): 166-189. – 28. *Roth C. L., Elfers C., Kratz M., et al.*: Vitamin D deficiency in Obese children and its relationship to insulin resistance and adipokines. *J. Obes.* 2011; 495101. – 29. *Sobek G., Mazur A.*: Niski poziom witaminy D u dzieci i młodzieży jako czynnik sprzyjający rozwojowi cukrzycy typu 2. *Przeł. Med. Uniw. Rzeszowskiego i Nar. Inst. Leków w Warszawie*, 2014; 12(3): 289-293. – 30. *Pludowski P., Karczmarewicz E., Chlebna-Sokół D., et al.*: Rekomendacje dawkowania w populacji osób zdrowych oraz w grupach ryzyka deficytów – wytyczne dla Europy Środkowej 2013 r. *Stand. Med. Ped.* 2013; 10: 573-578.
31. *Król E., Krejpcio Z.*: Poglądy na temat roli chromu (III) w zapobieganiu i leczeniu cukrzycy. *Diabet. Prakt.* 2008; 9(3-4): 168-175. – 32. *Lima M.L., Cruz T., Rodrigues L.E., et al.*: Serum and intracellular magnesium deficiency in patients with metabolic syndrome-evidences for its relation to insulin resistance. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2009; 83(2): 257-262. – 33. *Malczyk E., Wróbel P.*: Ocena nawyków żywieniowych uczniów szkół powiatukłobuckiego w zakresie spożycia słonych przekąsek. *Probl. Hig. Epidemiol.* 2016; 97(3): 255-260. – 34. *Oh H., Lee H.Y., Jun D.W., et al.*: Low Salt Diet and Insulin Resistance. *Clin. Nutr. Res.* 2016; 5(1): 1-6. – 35. *Baudrand R., Campino C., Carvajal C.A., et al.*: High sodium intake is associated with increased glucocorticoid production, insulin resistance and metabolic syndrome. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 2014; 80(5): 677-684.

Adres: 71-459 Szczecin, ul. Papieża Pawła VI 3.

Barbara Bobrowska-Korczak, Dorota Skrajnowska, Andrzej Tokarz

TELOMERY, AKTYWNOŚĆ TELOMERAZY A DIETA

Zakład Bromatologii
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. dr hab. *A. Tokarz*

Słowa kluczowe: telomery, telomeraza, dieta.
Key words: telomere, telomerase, diet.

W 2009 r. Nagroda Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny została przyznana trzem amerykańskim uczonym: Elizabeth H. Blackburn, Jack W. Szostak i Carol W. Greiner, którzy wyjaśnili sposób w jaki chromosomy chronione są przez telomery i enzym telomerazę (1). W następnym etapie, poszukiwano odpowiedzi na ile mechanizm ten może być wykorzystywany w zapobieganiu występowania chorób cywilizacyjnych, spowolnieniu procesu starzenia się organizmu człowieka, jak również jakie czynniki, w tym i dietetyczne, mogą oddziaływać na ten proces.

Telomery (gr. telos – koniec i meros – część) są to nie kodujące, powtarzające się motywy nukleotydowe, które chronią zakończenia prawidłowych chromosomów przed degradacją i fuzją, co zapewnia utrzymanie stabilności genomu. U człowieka powtarzającym się motywem jest sekwencja TTAGGG (1, 2). Telomery pełnią szereg istotnych funkcji m.in.: chronią chromosomy przed rekombinacją, zapobiegają powstawaniu chromosomów dicentrycznych, umożliwiają systemom naprawczym rozpoznanie prawidłowych i uszkodzonych zakończeń chromosomów, zapewniają przestrzenną organizację jądra komórkowego oraz regulację ekspresji genów zlokalizowanych w pobliżu telomerów. Ponadto, zapobiegają translokacjom, amplifikacjom i delecjom materiału genetycznego (2–4). Każdy podział komórki związany jest z nieodwracalnym skracaniem sekwencji telomerowej (ok. 50–150 pz). W wyniku podziałów komórki i replikacji DNA dochodzi do skracania długości telomerów oraz aktywacji szlaków procesów związanych ze starzeniem komórki, w tym również indukcji apoptozy (5, 6). Enzymem odpowiedzialnym za utrzymanie odpowiedniej długości telomerów jest telomeraza (1, 5, 6). Enzym ten, o masie 500 kDa, odgrywa szczególną rolę w procesie proliferacji komórki. Telomeraza jest polimerazą DNA zależną od RNA, która syntetyzuje telomery na zasadzie odwrotnej transkrypcji (specyficzna odwrotna transkryptaza). Składa się z fragmentu nici RNA (hTERC/hTR) oraz podjednostki białkowej o aktywności odwrotnej transkryptazy (hTERT). Gen hTERC zlokalizowany jest na chromosomie 3q26 i składa się z 445 nukleotydów, z powtarzającą się sekwencją 11 nukleotydową: 5'-(CUAACCCUAAC)-3, która jest komplementarna do sekwencji telomeru (TTAGGG). Gen dla podjednostki TR zlokalizowany jest na ramieniu chromosomu

5 (p15.33) i obejmuje 37 pz genomowego DNA i składa się z 16 eksonów. Cykl reakcji telomerazy składa się z trzech etapów: rozpoznania i związania startera, wydłużania nici DNA oraz translokacji enzymu. Wzrost aktywności telomerazy nie tylko wywiera wpływ na długość telomerów oraz potencjał proliferacyjny komórki, ale również zapewnia prawidłowe funkcjonowanie komórki i jej odpowiednią odpowiedź immunologiczną. Dodatkowo telomery chronione są przez wyspecjalizowane kompleksy białkowe, które składają się z sześciu białek: TRF1 i TRF2 (czynnik wiążący się do podwójnych powtórzeń TTAGGG ang. telomeric repeat binding factor 1,2), RAP1 (białko represorowo-aktywatorowe, ang. repressor – activator protein 1), TIN2 (czynnik jądrowy oddziałujący z TRF1 2, ang. TRF1 interacting nuclear factor 2), TPP1 (tripeptydylopeptydaza 1, ang. tripeptidyl peptidase 1) i POT1 (białko chroniące telomery 1, ang. protection of telomeres 1). Białka TRF1 TRF2 łączą się bezpośrednio z telomerowym dwuniciowym DNA, natomiast białka RAP1, TIN2, TPP1 i POT1 stabilizują strukturę kompleksu (1, 5, 6).

Telomery, aktywność telomerazy a choroby cywilizacyjne

Aktywność telomerazy, jak również długość telomerów mają istotne znaczenie w patogenezie i przebiegu szeregu chorób w tym: otyłości, cukrzycy, miażdżycy, chorobach układu krążenia, otępienia, depresji, jak również w nowotworach (2, 7–10). Długość telomerów ulega skróceniu wraz z wiekiem średnio o 25–28 par zasad na rok (5, 6). W badaniach prowadzonych przez zespół *Kima* (11), z udziałem 647. kobiet, pochodzących ze Stanów Zjednoczonych i Puerto Rico, wykazano odwrotnie proporcjonalną zależność pomiędzy masą ciała badanych kobiet (wskaźnikiem BMI – body mass index), rozmieszczeniem tkanki tłuszczowej (wskaźnikiem WHR – waist-to-hip circumference ratio) oraz przyrostem masy ciała, a długością telomerów w elementach morfotycznych krwi badanych osób. Kobiety w wieku 40 lat i powyżej, z nadwagą, bądź otyłością, o podwyższonej wartości współczynnika BMI (BMI >25 kg/m²), zarówno w trakcie badania, jak również w okresie od 30 do 39 roku życia, odznaczały się niższą wartością długości telomerów, w odniesieniu do kobiet o umiarkowanej masie ciała i prawidłowej wartości BMI (BMI <25.0 kg/m²), w analogicznym przedziale czasowym. Na podstawie uzyskanych wyników badacze postulowali, iż występowanie otyłości może w istotny sposób przyczyniać się do przyspieszenia starzenia się organizmu. Dodatkowo stwierdzono, iż duże różnice masy ciała w krótkim czasie tzw. „skoki” masy również mogą prowadzić do skrócenia długości telomerów. Podobne wyniki badań uzyskali inni autorzy (12). Występowanie krótszych telomerów stwierdzono również u pacjentów chorych na cukrzycę (3, 13, 14). Nadal jednak nie wiadomo, czy zjawisko to jest przyczyną choroby czy jej skutkiem. W badaniach prowadzonych przez *Uziel* i wspólr. (3) wzięło udział 79. pacjentów z cukrzycą, podzielonych na dwie grupy w zależności od poziomu hemoglobiny glikowanej (HbA1C) w surowicy oraz 33. zdrowych wolontariuszy. Stężenie HbA1C jest zalecanym markerem w monitorowaniu cukrzycy. Poziom poniżej 7% świadczy o dobrze kontrolowanej chorobie. U wszystkich pacjentów z cukrzycą stwierdzono krótsze telomery, w odniesieniu do zdrowych osób. Jednakże odpowiednia kontrola cukrzycy spowalnia ten proces. Długość telomerów u cukrzyków jest ściśle związana z przebiegiem choroby,

jak również występowaniem powikłań np: nefropatii. Warto podkreślić, iż u osób chorych na cukrzycę często stwierdza się również nadciśnienie, hiperlipidemię czy otyłość. W badaniach na zwierzętach wykazano, że z obniżeniem aktywności telomerazy związane są nieprawidłowy metabolizm glukozy, jak również zakłócenia w wydzielaniu insuliny. Zarówno stres oksydacyjny, jak również występujący proces zapalny, mogą w istotny sposób przyczyniać się do obniżenia aktywności telomerazy oraz skrócenia telomerów (1, 12).

Wielu badaczy skupia swoją uwagę na znaczeniu długości telomerów w chorobach nowotworowych (13). W komórkach nowotworowych nie dochodzi do skracania się telomerów w kolejnych podziałach, co wskazuje na fakt, iż stabilność telomerów może być niezbędna w procesie nowotworzenia. Dodatkowo, wzrost aktywności telomerazy w komórkach nowotworowych zaburza ich cykl komórkowy i powoduje wzrost różnicowania się komórek. Aktywność telomerazy wykazuje ok. 85% typów komórek nowotworowych, a w przypadku pozostałych rodzajów komórek ok. 15% (13). W komórkach nowotworowych do znaczącego wzrostu syntezy telomerazy dochodzi dopiero po rozpoczęciu niekontrolowanych podziałów, już po znacznej utracie podjednostek telomeru. Zaktywowany kompleks telomerazy stabilizuje końce chromosomów, pozwalając tym samym na nabycie przez komórki nieśmiertelności. Samo unieśmiertelnienie nie oznacza jednak fenotypu nowotworowego, jednakże sprzyja uzyskaniu przez komórki cech nowotworowych. Wykrycie aktywności telomerazy na wczesnym etapie rozwoju choroby możliwe jest w nowotworach piersi, głowy i szyi, płuc, skóry oraz pierwotnych nowotworach wątroby. Identyfikacja ekspresji genu TERT możliwa jest dopiero w bardziej zaawansowanych stadiach choroby w komórkach raka okrężnicy, trzustki czy tarczycy. Im wyższy stopień agresywności i złośliwości nowotworu, tym wyższa jest aktywność telomerazy w komórkach (13).

Telomery, aktywność telomerazy a składniki diety

Styl życia, w tym sposób żywienia, w istotny sposób mogą wpływać zarówno na długość telomerów, jak również aktywność telomerazy (14, 15). Z jednej strony dążymy do wydłużenia telomerów w celu zapobiegania starzeniu się organizmu i występowaniu chorób cywilizacyjnych (np. otyłości, cukrzycy, chorób układu krążenia), z drugiej strony w przypadku chorób nowotworowych, celem terapii jest zahamowanie aktywności telomerazy i wyeliminowanie komórek nowotworowych. Warto podkreślić, że skrócenie długości telomerów jest czynnikiem ryzyka zapadalności na choroby nowotworowe (6). Osoby z krótszymi telomerami charakteryzuje wyższe ryzyko zachorowania na nowotwory płuc, pęcherza moczowego, nerek, przewodu pokarmowego, głowy i szyi (6). Co ciekawe, długość telomerów u kobiet jest wyższa w odniesieniu do mężczyzn (14).

Restrykcja energetyczna, rozumiana jako obniżenie wartości kalorycznej pożywienia, przy jednoczesnym zapewnieniu wszystkich składników odżywczych niezbędnych do prawidłowego wzrostu i rozwoju organizmu, może wydłużać życie i zapobiegać występowaniu szeregu chorób (6). Celem badań prowadzonych przez *Makino* i współpr. (16) była ocena wpływu obniżenia wartości energetycznej posiłku na długość telomerów i aktywność telomerazy u szczurów z cukrzycą. Badanie

trwało 32 tygodnie. Zwierzęta podzielono na 4 grupy: zwierzęta z cukrzycą otrzymywały normalną, standardową dietę (grupa 1), bądź dietę o obniżonej o 30% wartości kalorycznej (grupa 2), analogicznie zwierzęta zdrowe – kontrolne (grupy 3 i 4). W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że zwierzęta z cukrzycą, na diecie o obniżonej wartości energetycznej wykazywały statystycznie istotnie wyższą aktywność telomerazy, w odniesieniu do zwierząt z pozostałych grup, natomiast nie wykazano różnic w długości telomerów.

W badaniu przeprowadzonym przez zespół *Cassidy* (17), z udziałem 2284. kobiet w wieku ok. 60. lat, wykazano odwrotną korelację pomiędzy spożyciem zwiększonej ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, szczególnie kwasu linolowego, a długością telomerów w leukocytach krwi badanych osób. Długość telomerów pozytywnie korelowała ze spożyciem błonnika. *Farzaneh-Far* i współpracownicy (18) dokonali oceny długości telomerów w zależności od poziomu kwasów tłuszczowych omega-3: kwasu dokozaheksaenowego (DHA) i kwasu eikozapentaenowego (EPA) we krwi pacjentów z chorobą wieńcową. Badanie trwało 6 lat i brało w nim udział 608 pacjentów. Wykazano, iż u osób z niższym poziomem kwasów tłuszczowych, należących do rodziny omega-3, proces skracania długości telomerów następował znacznie szybciej, w odniesieniu do pacjentów o wyższym stężeniu kwasów DHA i EPA. Wzrost poziomu DHA+EPA o 1% powodował spowolnienie skracania telomerów o 19%. W badaniu pilotażowym, *Ornish* i współpracownicy (19) wykazali, iż zmiana stylu życia ma wpływ zarówno na aktywność telomerazy, jak i długość telomerów. W przypadku osób będących przez 5 lat na zmodyfikowanej diecie bogatej w warzywa i owoce, w białka roślinne oraz w nieprzetworzone zboża, o obniżonej zawartości tłuszczu (10%) i rafinowanych cukrów, o umiarkowanej aktywności fizycznej, nie wykazano skrócenia długości telomerów, w porównaniu do pacjentów odżywiających się w sposób tradycyjny (20).

Celem badań prowadzonych przez *Zhu* i współpracownicy (21) była ocena wpływu suplementacji witaminą D na aktywność telomerazy u osób otyłych. Badanie trwało 16 tygodni i brało w nim udział 38 dorosłych osób, pochodzenia afroamerykańskiego. Grupa 18 osób, w wieku 32 ± 10 lat, o BMI wartości 30 ± 8 otrzymywała placebo, natomiast druga grupa, 19 osób w wieku 31 ± 10 i BMI równym 30 ± 9 , suplementowana była witaminą D w dawce 60000IU/miesiąc (średnio 2000 IU/dzień). W wyniku przeprowadzonych badań wykazano, że zawartość 25-hydroksywitaminy D w surowicy krwi osób badanych wynosiła odpowiednio: osoby otrzymujące placebo: $40,7 \pm 15,7$ (początek badania) vs. $48,1 \pm 17,5$ nmol/dm³ (po 16 tygodniach); osoby suplementowane witaminą D odpowiednio: $35,4 \pm 11,3$ vs. $103,7 \pm 31,5$ nmol/dm³. Jednocześnie aktywność telomerazy w grupie osób suplementowanych witaminą D wzrosła o 19,2%. Natomiast u osób otrzymujących placebo nie wykazano żadnych różnic w aktywności badanego enzymu. W badaniach przeprowadzonych z udziałem 2160. kobiet w wieku 18–79 lat *Richards* i współpracownicy (22) wykazali, iż pacjentki z wyższą zawartością witaminy D we krwi odznaczały się dłuższymi telomerami w leukocytach.

Poszukując odpowiedzi na pytanie czy stosowanie preparatów multiwitaminowych wpływa na długość telomerów, *Xu* i współpracownicy (23) przeprowadzili badanie z udziałem 586. kobiet w wieku 35–74 lat. Respondentki podzielone zostały na 4 grupy w zależności od częstotliwości stosowania suplementów: nie stosujące su-

plementów, stosujące suplementy codziennie, 4–6 razy w tygodniu, poniżej 3 razy w tygodniu. Badacze wykazali, iż długość telomerów była o 5,1% (średnio o 273 par zasad) wyższa u osób stosujących suplementację, w odniesieniu do grupy kontrolnej (bez suplementacji). Zakładając, iż wraz z wiekiem długość telomerów ulega skróceniu o 25–28 par zasad na rok, liczba 273 par zasad odpowiada wynikowi uzyskiwanemu w ciągu średnio 10 lat. Długość telomerów ściśle korelowała z podażą witaminy C i E, zarówno w przypadku osób suplementowanych, jak i u osób z grupy kontrolnej. U osób, które stosowały suplementy zawierające witaminę B₁₂ (n=52), wykazano o 5,9% wyższą długość telomerów, w odniesieniu do pozostałych respondentów (n=518) (odpowiednio 5850±159 vs 5505±89 par zasad). Natomiast osoby, które suplementowane były żelazem odznaczały się niższą długością telomerów, odpowiednio: 5121±183 vs 5583±87. W przypadku kobiet pozbawionych suplementacji, wyższa podaż β-karotenu, kwasu foliowego, magnezu, witamin: C, E i A wraz z dietą, proporcjonalnie korelowała z wyższą długością telomerów. Wśród mechanizmów oddziaływania witamin i składników mineralnych na długość telomerów należy podkreślić ich wpływ na reakcje wywołane przez stres oksydacyjny, bądź stan zapalny.

Duże znaczenie w regulacji długości telomerów odgrywa proces metylacji DNA (14). Ograniczona ilość w diecie metioniny, choliny, folianów bądź witamin B6 i B12 może przyczyniać się do nadmiernej hipometylacji (24). W wyniku hipometylacji dochodzi do wydłużania telomerów. Obecność dłuższych telomerów wykazano u mężczyzn z niskim poziomem folianów (25). *Paul* i współpracownicy (25) przeprowadzili badanie z udziałem 195. mężczyzn pochodzenia włoskiego w wieku 40–68 lat. Średnia długość telomerów u osób o niskim poziomie kwasu foliowego w surowicy (na poziomie 11,6 nmol/dm³) korelowała z występowaniem krótszych telomerów, w odniesieniu do osób o wysokim poziomie kwasu foliowego. Co ciekawe osoby, u których oznaczona wartość kwasu foliowego w surowicy była poniżej 11,6 nmol/dm³ odznaczały się znacznie dłuższymi telomerami, nawet w stosunku do osób z najwyższym poziomem kwasu foliowego w surowicy. Nie wykazano żadnej zależności długości telomerów od zawartości witamin B₁₂ w surowicy badanych mężczyzn. Autorzy pracy tłumaczą uzyskane wyniki dualizmem działania kwasu foliowego, z jednej strony zaangażowanego w syntezę i naprawę DNA, włączając telomery, a jednocześnie w proces metylacji. W badaniach prowadzonych przez zespół *Richards* (26), z udziałem 1319. kobiet, wykazano, iż długość telomerów w leukocytach była niższa u osób z wyższym poziomem homocysteiny. Wyższa zawartość kwasu foliowego w surowicy badanych kobiet korelowała z występowaniem dłuższych telomerów (26).

W przeciwieństwie do żelaza, wyższa podaż magnezu i cynku koreluje z wyższą długością telomerów. Celem badań *Martin* i współpracownicy (27) była ocena wpływu żywienia o zawartości magnezu: 0,15; 0,8; 3,2 g/kg diety na długość telomerów u szczurów. Badanie trwało 2 lata. Wykazano, iż zwierzęta na diecie z obniżoną wartością magnezu odznaczały się najniższą długością telomerów w odniesieniu do pozostałych grup. Podobne rezultaty uzyskali *Killilea* i współpracownicy (28) w badaniach *in vitro* z wykorzystaniem komórek ludzkich fibroblastów. *Cipriano* i współpracownicy (29) dokonali oceny długości telomerów u 125. starszych osób, leczonych z powodu nadciśnienia. Pacjenci zostali podzieleni na dwie grupy w zależności od wieku:

pierwszą grupę stanowili pacjenci w wieku 60–79 lat, drugą pacjenci w przedziale wiekowym 80–100 lat. Część osób dodatkowo leczona była z powodu niewydolności mięśnia sercowego. Wykazano, iż osoby najstarsze odznaczały się zarówno najkrótszymi telomerami, jak również najniższym poziomem cynku wewnątrzkomórkowego. Zespół *Nemoto* (30) wykazał, że cynk zwiększa aktywność telomerazy w komórkach nowotworowych (zarówno w przypadku komórek raka prostaty DU145, jak i nerek NRC-12).

Ze względu na właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne oraz przeciwnowotworowe, istotne znaczenie w zapobieganiu skracania telomerów wykazują również związki polifenolowe (14). W badaniu, z udziałem 976 mężczyzn pochodzenia chińskiego, w wieku powyżej 65. lat, wykazano, iż długość telomerów była znacznie wyższa u mężczyzn, którzy spożywali chińską herbatę w ilości powyżej 750 cm³/dzień (3. szklanek), w odniesieniu do osób, które spożywały chińską herbatę w ilości poniżej 70 cm³/dzień (poniżej 1 szklanki) (31). Podobnej zależności nie stwierdzono w przypadku kobiet (n=1030). W badaniach przeprowadzonych przez *Liu* i współpr. (32) wykazano, iż myszy (C57/BL6) suplementowane resweratolem (w dawce ok. 7,0 mg/kg/dzień, przez okres 6 bądź 12 tygodni) odznaczały się dłuższymi telomerami, wyższą aktywnością telomerazy w odniesieniu do zwierząt pozbawionych suplementacji. Podobne wyniki uzyskali *Xia* i współpr. (33) w badaniach *in vitro* z wykorzystaniem komórek śródbłonna. Wykazali, iż resweratrol, zależnie od dawki, zwiększa aktywność telomerazy (maksymalny wzrost obserwowano przy stężeniu 50 μM). Autorzy sugerują, iż aktywacja telomerazy zachodzi przy udziale szlaku PI3K-Akt – wzrost fosforylacji Akt prowadzi do wzrostu fosforylacji TERT. W badaniach z udziałem szczurów z przerostem serca wykazano, iż zarówno kwercetyna, jak i galusan epigallokatechiny (podawane dożołądkowo w dawce 100 mg/kg, przez okres 6. tygodni) chronią telomery przed skracaniem (34). Zarówno w badaniach *in vivo*, jak i *in vitro* wykazano, że galusan epigallokatechiny hamuje aktywność telomerazy w komórkach nowotworowych (35, 36). *Khaw* i współpr. (37), wykorzystując do badań komórki nowotworu mózgu, stwierdzili, iż genisteina hamuje aktywność telomerazy i indukuje proces skracania telomeraz.

Podsumowując można stwierdzić, że styl życia, a szczególnie sposób żywienia, w tym poszczególne składniki żywności, w istotny sposób wpływają na długość telomerów, jak również aktywność telomerazy, mogą spowalniać proces starzenia się organizmu oraz przyczyniać się do zapobiegania występowaniu chorób cywilizacyjnych, takich jak: otyłość, cukrzyca, choroby układu krążenia czy nowotwory.

B. Bobrowska-Korczak, D. Skrajnowska, A. Tokarz

TELOMERES, TELOMERASE ACTIVITY AND DIET

PIŚMIENNICTWO

1. *Bryś M., Laskowska M., Forma E., Krześlak A.*: Telomeraza – struktura i funkcja oraz regulacja ekspresji genu. *Folia Med. Lodz.* 2012; 39(2): 293-326. – 2. *Salpea KD., Humphries SE.*: Telomere length in atherosclerosis and diabetes. *Atherosclerosis* 2010; 209: 35-38. – 3. *Uziel O., Singer JA., Danicek V.*

Sahar G, Berkov E, Luchansky M, Fraser A, Ram R, Lahav M.: Telomere dynamics in arteries and mononuclear cells of diabetic patients: effect of diabetes and of glycemic control. *Exp. Gerontol.* 2007; 42: 971-978. – 4. Cong YS, Wright WE., Shay JW.: Human telomerase and its regulation. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2002; 66(3): 407-425. – 5. Nan WQ., Ling Z., Bing C.: The influence of the telomere/telomerase system on diabetes mellitus and its vascular complications. *Expert. Opin. Ther. Targets* 2015; doi: 10.1517/14728222.2015.1016500. – 6. Shammas MA.: Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 2011; 14(1): 28-34. – 7. Khan S., Naidoo DP., Chuturgoon AA.: Telomeres and atherosclerosis. *Cardiovasc. J. Afr.* 2012; 23(10): 563-571. – 8. Kordinas V., Ioannidis A., Chatzipanagiotou S.: The telomere/telomerase system in chronic inflammatory diseases. Cause or effect? *Genes* 2016; 7(9): 60. – 9. Hapangama DK., Kamal A., Saretzki G.: Implications of telomeres and telomerase in endometrial pathology. *Hum. Reprod.* 2016; 1-22. doi:10.1093/humupd/dmw044. – 10. Kozłowska A., Mikołajczyk A. Pawlas N.: Długość telomerów – nowy biomarker w medycynie. *Med. Środow.* 2015; 18(4): 7-13.

11. Kim S., Parks C., DeRoo LA., Jack HC., Cawthon TRM., Sandler DP.: Obesity and weight gain in adulthood and telomere length. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2009; 18(3): 816-825. – 12. Valdes AM., Andrew T, Gardner JP, Kimura M., Oelsner E., Cherkas LF., Aviv A., Spector TD.: Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *Lancet* 2005; 366: 662-664. – 13. Kowalska M., Lipińska N., Romaniuk A., Rubiś B.: Telomeraza jako cel terapii przeciwnowotworowej. *Diagn. Lab.* 2014; 50(2): 159-167. – 14. Ligi P.: Diet, nutrition and telomere length. *J. Nutritional. Biochemistry* 2011; 22: 895-901. – 15. Shammas MA.: Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 2011; 14(1): 28-34. – 16. Makino N., Oyama J., Maeda T., Koyanagi M., Higuchi Y., Tsuchida T.: Calorie restriction increases telomerase activity, enhances autophagy, and improves diastolic dysfunction in diabetic rat hearts. *Mol. Cell. Biochem.* 2015; 403: 1-11. – 17. Cassidy A., De Vivo L, Liu Y, Han J, Prescott J, Hunter DJ, Rimm EB.: Associations between diet, lifestyle factors, and telomere length in women. *Am. J. Clin. Nutr.* 2010; 91: 1273-1280. – 18. Farzaneh-Far R., Lin J., Epel ES., Harris WS., Blackburn EH., Whooley MA.: Association with marine omega-2-fatty acid levels with telomeric aging in patients with coronary heart disease. *JAMA.* 2010; 303: 250-257. – 19. Ornish D., Lin J., Daubenmier J., Weidner G., Epel E., Kemp C., Magbanua MJ., Marlin R., Yglecias L., Carroll PR., Blackburn EH.: Increased telomerase activity and comprehensive lifestyle changes: a pilot study. *Lancet Oncol.* 2008; 9(11): 1048-1057. – 20. Ornish D., Lin J., Chan JM., Epel E., Kemp C., Weidner G., Marlin R., Frenda SJ., Jesus M., Magbanua M.: Effect of comprehensive lifestyle changes on telomerase activity and telomere length in men with biopsy-proven low-risk prostate cancer: 5-year follow-up of a descriptive pilot study. *Lancet Oncol.* 2013; 14(11): 1112-1120.

21. Zhu H., Guo D., Li K., Pedersen-White J., Stallmann-Jorgensen IS., Huang Y., Parikh S., Liu K., Dong Y.: Increased telomerase activity and vitamin D supplementation in overweight African Americans. *Int. J. Obes.* 2012; 36: 805-809. – 22. Richards JB., Valdes AM., Gardner JP., Paximadas D, Kimura M, Nessa A, Lu X., Surdulescu GL., Swaminathan R., Spector TD., Aviv A.: Higher serum vitamin D concentrations are associated with longer leukocyte telomere length in women. *Am. J. Clin. Nutr.* 2007; 86(5): 1420-1425. – 23. Xu Q., Parks CG., DeRoo LA., Cawthon RM., Sandler DP., Chen H.: Multivitamin use and telomere length in women. *Am. J. Clin. Nutr.* 2009; 89(6): 1857-1863. – 24. Bobrowska-Korczak B., Bieniek K., Tokarz A.: Metylacja DNA – wpływ wybranych naturalnych składników diety. *Post. Biol. Komórki* 2014; 41(3): 417-428. – 25. Paul L., Cattaneo M., D'Angelo A., Sampietro F., Fermo I., Razzari C., Fontana G., Eugene N., Jacques PF., Selhub J.: Telomere length in peripheral blood mononuclear cells is associated with folate status in men. *J. Nutr.* 2009; 139: 1273-1278. – 26. Richards JB., Valdes AM., Gardner JP., Kato BS., Siva A., Kimura M., Lu X., Brown MJ., Aviv A., Spector TD.: Homocysteine levels and leukocyte telomere length. *Atherosclerosis* 2008; 200: 271-277. – 27. Martin H., Uring-Lambert B., Adrian M., Lahlou A., Bonet A., Demougeot C., Devaux S., Laurant P., Richert L., Berthelot A.: Effects of long-term dietary intake of magnesium on oxidative stress, apoptosis and ageing in rat liver. *Magnes. Res.* 2008; 21: 124-130. – 28. Killilea DW., Ames BN.: Magnesium deficiency accelerates cellular senescence in cultured human fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008; 105: 5768-5773. – 29. Cipriano C., Tesei S., Malavolta M., Giacconi R., Muti E., Costarelli L., Piacenza F., Pierpaoli S., Galeazzi R., Blasco M., Vera E., Canela A., Lattanzio F., Mocchegiani E.: Accumulation of cells with short telomeres is associated with impaired zinc homeostasis and inflammation in old hypertensive participants. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 2009; 64: 745-751. – 30. Nemoto K, Kondo Y, Himeno S, Suzuki Y, Hara S, Akimoto M, Imura M.: Modulation of telomerase activity by zinc in human prostatic and renal cancer cells. *Biochem. Pharmacol.* 2000; 59: 401-405.

31. Chan R., Wool J., Suen E., Leung J., Tang N.: Chinese tea consumption is associated with longer telomere length in elderly Chinese men. *Br. J. Nutr.* 2010; 103: 107-113. – 32. Liu M., Yin Y., Ye X., Zeng M., Zhao Q., Keefe DL., Liu L.: Resveratrol protects against age-associated infertility in mice. *Hum. Reprod.* 2013; 28(3): 707-717. – 33. Xia L., Wang XX., Hu XS., Guo XG., Shang YP., Chen HJ., Zeng CL., Zhang FR., Chen JZ.: Resveratrol reduces endothelial progenitor cells senescence through augmentation of telomerase activity by Akt-dependent mechanisms. *Br. J. Pharmacol.* 2008; 155(3): 387-94. – 34. Sheng R., Gu ZL., Xie ML.: Epigallocatechin gallate, the major component of polyphenols in green tea, inhibits telomere attrition mediated cardiomyocyte apoptosis in cardiac hypertrophy. *Int. J. Cardiol.* 2013; 162: 199-209. – 35. Naasani I., Oh-hashii F., Oh-hara T., Feng WY., Johnston J., Chan K., Tsuru T.: Blocking telomerase by dietary polyphenols is a major mechanism for limiting the growth of human cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Res.* 2003; 63: 824-830. – 36. Hua Y., Jianhua L., Qiuliang W., Jun F., Zhi C.: Effects of tea polyphenols on telomerase activity of a tongue cancer cell line: a preliminary study. *Oral Maxillofacial Surg.* 2006; 35(4): 352-355. – 37. Khaw AK., Yong JW., Kalthur G., Hande MP.: Genistein induces growth arrest and suppresses telomerase activity in brain tumor cells. *Gene Chromosome Canc.* 2012; 51: 961-974.

Adres: 02-091 Warszawa, ul Banacha 1

Katarzyna Miranowicz-Dzierżawska

PORÓWNANIE CYTOTOKSYCZNEGO DZIAŁANIA NANO- I MIKRO- ZNO NA KOLEJNE PASAŻE STARZEJĄCYCH SIĘ KOMÓREK *IN VITRO**

Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy
Dyrektor: prof. dr hab. med. *D. Koradecka*

Celem pracy było porównanie cytotoksyczności tlenku cynku(II) w postaci nanoproszku o wielkości cząstek <50 nm oraz tlenku cynku(II) o wielkości cząstek < 5 μm. Badania wykonano na dwóch starzejących się liniach komórkowych: diploidalnych fibroblastach płucnych oraz skórnych. ZnO w zależności od rozmiaru cząstek wykazywał zróżnicowaną cytotoksyczność w stosunku do badanych komórek. Związek o wielkości cząstek < 50 nm był mniej toksyczny niż ten sam związek o wielkości cząstek < 5 μm. Stwierdzono, że wrażliwość starzejących się komórek na działanie tlenku cynku(II) może zmieniać się w miarę ich starzenia się.

Hasła kluczowe: tlenek cynku(II); nano; mikro; starzejące się komórki; *in vitro*.
Key words: zinc oxide(II); nano; micro; senescent cells; *in vitro*.

Nanotechnologia to dziedzina nauki, która powstała w latach dziewięćdziesiątych XX wieku. Zajmuje się kontrolowanym wytwarzaniem nanocząstek i nanomateriałów oraz metodami służącymi do ich badania i modelowania (1).

W zaleceniu Komisji z 2011 r. dotyczącym definicji nanomateriału „nanomateriał” zdefiniowano jako „naturalny, powstały przypadkowo lub wytworzony materiał zawierający cząstki w stanie swobodnym lub w formie agregatu bądź aglomeratu, w którym co najmniej 50% lub więcej cząstek w liczbowym rozkładzie wielkości cząstek ma jeden lub więcej wymiarów w zakresie 1 nm ÷ 100 nm. W określonych przypadkach, uzasadnionych względami ochrony środowiska, zdrowia, bezpieczeństwa lub konkurencyjności, zamiast wartości progowej liczbowego rozkładu wielkości cząstek wynoszącej 50% można przyjąć wartość z zakresu 1–50%. [...]” (2).

Nanotechnologia może wpłynąć na polepszenie warunków życia i pracy człowieka. Należy jednak pamiętać także o potencjalnym szkodliwym działaniu nanocząstek na człowieka i środowisko, wynikającym z ich specyficznych właściwości fizycznych i chemicznych. Zakres potencjalnie szkodliwego działania nanoczą-

* Opracowano w ramach III etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2014–2016 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Narodowe Centrum Badań i Rozwoju. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

stek na organizm człowieka i środowisko nie w pełni jest jeszcze zdefiniowany, ponieważ odkrywanie stale nowych zastosowań nanoproductów może nieść za sobą nieuświadomione dzisiaj zagrożenia, skąd wynika pilna potrzeba badań tych związków.

Biorąc natomiast pod uwagę, iż w nadchodzących dziesięcioleciach kraje UE doświadczą gwałtownego wzrostu udziału w ogólnej populacji osób starszych, a co za tym idzie zwiększy się liczba seniorów na rynku pracy, pojawiła się pilna potrzeba uzupełnienia i poszerzenia badań o wykonywane na modelach, w których zachodzą zmiany typowe dla procesu starzenia się, jako niezbędnego narzędzia dla zapewnienia bezpiecznych warunków pracy również pracownikom w wieku uważanym do tej pory za poprodukcyjny.

Celem badań była zatem ocena wpływu tlenku cynku o dwóch wielkościach cząstek (nano i mikro) na starzejące się ludzkie linie komórkowe, przyjęte jako model starzejącego się organizmu człowieka.

MATERIAŁ I METODY

Badania porównawcze przeprowadzono z wykorzystaniem związków komercyjnie dostępnych i opisanych przez producenta pod względem wielkości cząstek oraz powierzchni właściwej, których rozmiar potwierdzono za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM). Została oceniona cytotoksyczność tlenku cynku(II) (CAS 1314-13-2) ($M_{cz} = 81,4$) w postaci nanoproszku o wielkości cząstek < 50 nm (BET) i powierzchni właściwej $> 10,8$ m²/g oraz tlenku cynku(II) o wielkości cząstek < 5 μm. Badane związki pochodziły z firmy Sigma-Aldrich (Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo USA).

Badania wykonano na dwóch starzejących się liniach komórkowych zakupionych w amerykańskiej kolekcji ATCC (Amerykańska Kolekcja Kultur Typowych): linii diploidalnych fibroblastów skórnych CCD-1136Sk (ATCC® CRL-2697™) oraz linii diploidalnych fibroblastów płucnych CCD-8Lu (ATCC® CCL-201™).

Do oceny cytotoksycznego działania badanych związków zastosowano test redukcji soli tetrazolowej MTT określający aktywność metaboliczną komórek (test MTT) oraz test NRU oceniający integralność błon komórkowych, którego zasada jest oparta na zdolności żywych, nieuszkodzonych komórek do pochłaniania barwnika – czerwieni obojętnej (chlorowodorek 3-amino-7-dimetylo-amino-2-metylofenazyny).

Zawiesiny wyjściowe badanych związków o stężeniu w/v przygotowywano bezpośrednio przed wykonaniem testów cytotoksyczności. Badane związki zawieszano bezpośrednio w medium hodowlanym (jednorodność zawiesiny utrzymywano poprzez wytrząsanie na Votrex'ie). Roztwory obu ksenobiotyków sporządzano w sześciu stężeniach w zakresie stężeń efektywnych w medium hodowlanym. Badanie cytotoksyczności wykonywano w trzech powtórzeniach. Czas narażenia komórek na badane substancje wybrano na podstawie przeglądu piśmiennictwa. Zastosowano narażenie trwające 24 h.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Przeprowadzono badania porównawcze *in vitro* wrażliwości późnych, przyjętych jako model starzejącego się organizmu oraz wczesnych pasażów ludzkich komórek diploidalnych na cytotoksyczne działanie ZnO w postaci dwóch związków o różnych rozmiarach cząstek: nanotlenku cynku(II) z tlenkiem cynku(II) o wielkości cząstek < 5 μm . W celu potwierdzenia deklarowanej przez producenta wielkości cząstek wykonano zdjęcia badanych związków za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM).

Badania wpływu ZnO o dwóch rozmiarach cząstek na komórki linii fibroblastów skórnych CCD-1136Sk (ATCC® CRL-2697™) przeprowadzono na pasażach 6–31.

Analizując wartości IC_{50} oznaczone przy narażeniu komórek fibroblastów skóry CCD-1136Sk (tab. I) stwierdzono, że tlenek cynku(II) o wielkości cząstek < 50 nm wykazywał słabsze działanie cytotoksyczne na kolejne pasażę komórek CCD-1136Sk niż ten sam związek o wielkości cząstek < 5 μm na analogiczne pasażę tych komórek. Zjawisko to obserwowano zarówno w teście MTT, jak i NRU.

Tab e l a I. Wartości IC_{50} wyznaczone dla tlenku cynku o wielkości cząstek < 50 nm oraz < 5 μm na kolejnych pasażach komórek CCD-1136Sk (ATCC® CRL-2697™) w teście MTT i NRU.

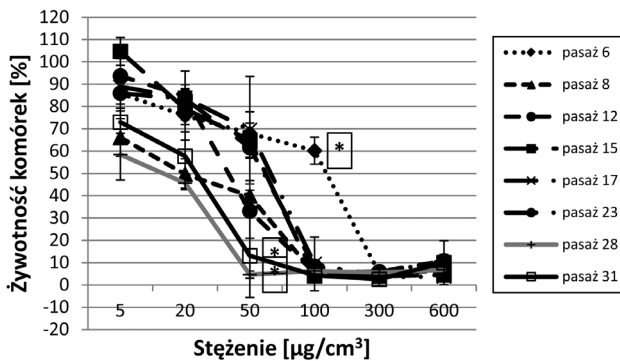
Tab l e I. IC_{50} values for < 50 nm and < 5 μm zinc oxide particle sizes determined in consecutive passages of CCD-1136Sk (ATCC® CRL-2697™) cells in MTT and NRU tests

Numer pasażu	Wartość IC_{50} (μM)			
	ZnO nano (< 50 nm)		ZnO mikro (< 5 μm)	
	MTT	NRU	MTT	NRU
pasaż 6	1384 \pm 66	1687 \pm 183	263 \pm 1	428 \pm 7
pasaż 8	592 \pm 10	782 \pm 11	246 \pm 7	308 \pm 40
pasaż 12	782 \pm 59	1455 \pm 250	503 \pm 15	702 \pm 17
pasaż 15	654 \pm 33	857 \pm 61	271 \pm 6	439 \pm 7
pasaż 17	734 \pm 34	1006 \pm 100	334 \pm 8	442 \pm 31
pasaż 23	664 \pm 22	1035 \pm 55	365 \pm 4	450 \pm 54
pasaż 28	239 \pm 1	539 \pm 19	171 \pm 3	183 \pm 36
pasaż 31	290 \pm 4	725 \pm 1	260 \pm 1	264 \pm 5

Wyniki przedstawiono jako wartości średnie \pm odchylenie standardowe (n=3).

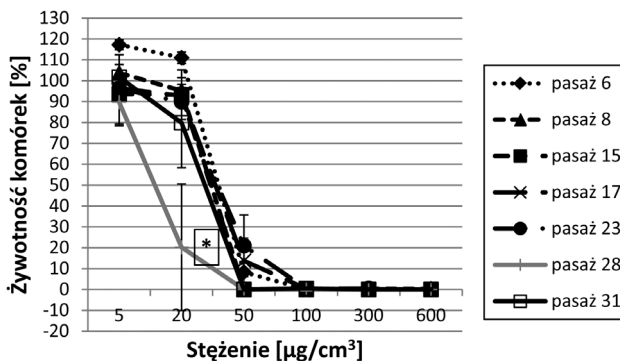
W ocenie działania cytotoksycznego (tj. obniżeniu żywotności komórek w porównaniu z kontrolą) badanych związków na komórki fibroblastów skórnych CCD-1136Sk oraz płucnych CCD-8Lu ocenianego na podstawie testu redukcji MTT i testu NRU za 100% przyjęto stopień pochłaniania czerwieni obojętnej i stopień redukcji MTT w próbach kontrolnych (nienarażanych). Każdy punkt reprezentuje średnią i odchylenie standardowe z 9 pomiarów w 3 niezależnych eksperymentach. Pełny profil działania toksycznego badanych związków ocenianych testem MTT i NRU, tj. obniżenie żywotności komórek w zakresie 20÷80% w porównaniu z kontrolą, uzyskano dla obu badanych związków.

Analizując przebieg krzywych zależności żywotności komórek od stężenia ZnO stwierdzono, że dwa ostatnie pasaży komórek CCD-1136Sk (pasaż 28 i 31) okazały się bardziej wrażliwe na działanie nanotlenku cynku(II) niż pasaży wcześniejsze. Było to widoczne w teście MTT przy narażeniu komórek na związek o wielkości cząstek < 50 nm w stężeniu 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ (ryc. 1), podczas gdy w teście NRU, w którym obserwowano większą zmienność wartości oznaczanych w poszczególnych pasażach, bardziej wrażliwe okazały się tylko komórki pasażu nr 28. Jednocześnie komórki najmłodszego pasażu (nr 6) były statystycznie istotnie najmniej wrażliwe na badany związek o stężeniu 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$.



Ryc. 1. Wpływ tlenku cynku(II) o wielkości cząstek < 50 nm na żywotność komórek CCD-1136Sk (ATCC® CRL-2697™) ocenianą testem MTT. Wyniki przedstawiono jako wartość średnią \pm odchylenie standardowe (n=9); * – wyniki istotne statystycznie (p<0,05).

Fig. 1. Effect of zinc (II) oxide < 50 nm particles on CCD-1136Sk (ATCC® CRL-2697™) cell viability assessed by MTT test. The results represent mean values \pm standard deviation (n=9); * – statistically significant results (p<0.05).



Ryc. 2. Wpływ tlenku cynku(II) o wielkości cząstek < 50 nm na żywotność komórek CCD-1136Sk (ATCC® CRL-2697™) ocenianą testem NRU. Wyniki przedstawiono jako wartość średnią \pm odchylenie standardowe (n=9); * – wyniki istotne statystycznie (p<0,05).

Fig. 2. Effect of zinc (II) oxide < 50 nm particles on CCD-1136Sk (ATCC® CRL-2697™) cell viability assessed by NRU test. The results represent mean values \pm standard deviation (n=9); * – statistically significant results (p<0.05).

Podobną tendencję (zwiększoną wrażliwość pasaży 28), choć mniej nasiloną, zanotowano przy narażeniu badanych fibroblastów skórnych na mikro tlenek cynku(II) w teście NRU (ryc. 2), a także w teście MTT. Zjawisko takie zaobserwowano przy narażeniu na związek w stężeniu 20 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$.

Badania wpływu ZnO o dwóch rozmiarach cząstek na komórki linii fibroblastów płucnych CCD-8Lu (ATCC® CCL-201™) przeprowadzono na pasażach 11 ÷ 22.

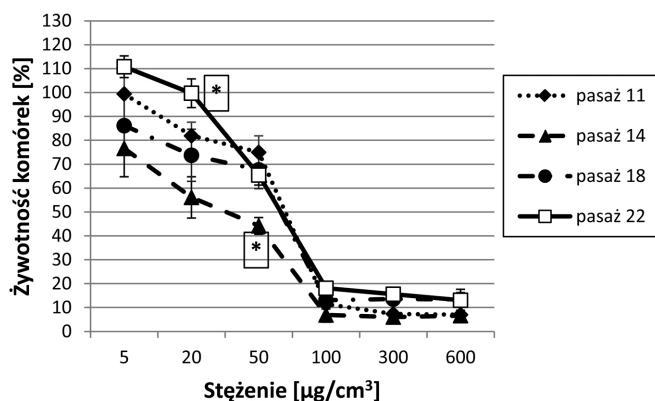
Podobnie jak w przypadku narażenia fibroblastów skórnych, tlenek cynku(II) o wielkości cząstek < 50 nm wykazywał słabsze działanie cytotoksyczne na komórki fibroblastów płucnych CCD-8Lu niż ten sam związek o wielkości cząstek < 5 μm . Zjawisko to obserwowano zarówno w teście MTT, jak i NRU (tab. II).

Tabela II. Wartości IC_{50} wyznaczone dla tlenku cynku o wielkości cząstek < 50 nm oraz < 5 μm na kolejnych pasażach komórek CCD-8Lu (ATCC® CCL-201™) w teście MTT i NRU

Table II. IC_{50} values for < 50 nm and < 5 μm zinc oxide particle sizes determined in consecutive passages of CCD-8Lu (ATCC® CCL-201™) cells in MTT and NRU tests

Numer pasaży	Wartość IC_{50} (μM)			
	ZnO nano (< 50 nm)		ZnO mikro (< 5 μm)	
	MTT	NRU	MTT	NRU
pasaż 11	766 ± 15	577 ± 48	423 ± 25	405 ± 45
pasaż 14	503 ± 78	705 ± 40	334 ± 9	405 ± 36
pasaż 18	667 ± 38	715 ± 62	342 ± 7	402 ± 23
pasaż 22	720 ± 1	798 ± 19	329 ± 41	351 ± 29

Wyniki przedstawiono jako wartości średnie ± odchylenie standardowe (n=3).



Ryc. 3. Wpływ tlenku cynku o wielkości cząstek < 50 nm na żywotność komórek CCD-8Lu (ATCC® CCL-201™) ocenianą testem MTT. Wyniki przedstawiono jako wartość średnią ± odchylenie standardowe (n=9); * – wyniki istotne statystycznie (p<0,05).

Fig. 3. Effect of zinc (II) oxide < 50 nm particles on CCD-8Lu (ATCC® CCL-201™) cell viability assessed by MTT test. The results represent mean values ± standard deviation (n=9); * – statistically significant results (p<0.05).

Analizując przebieg krzywych zależności żywotności komórek od stężenia badanych związków chemicznych w badanych pasażach komórkowych fibroblastów płucnych stwierdzono, że komórki ostatniego pasażu (nr 22) były z kolei najmniej wrażliwe (zjawisko odwrotne niż w przypadku fibroblastów skórnych) na nanotlenek cynku(II) w stężeniu $20 \mu\text{g}/\text{cm}^3$, co zaobserwowano w teście MTT (ryc. 3). Komórki tego samego pasażu okazały się również najmniej wrażliwe w teście MTT na mikrotlenek cynku(II) w stężeniu 300 i $600 \mu\text{g}/\text{cm}^3$, ale były najbardziej wrażliwe na ten związek o stężeniu $20 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ w teście NRU.

Zaobserwowana w niniejszych badaniach odmienna reaktywność fibroblastów pochodzących z różnych anatomicznie miejsc na cytotoksyczne działanie tych samych ksenobiotyków jest spójna z badaniami *Chang* i współpr. (3), którzy badali różnice na 50 pierwotnych liniach komórkowych fibroblastów wyprowadzonych z 10 miejsc u 16 dawców i obserwowali znaczące różnice między nimi.

Podobnie różną reaktywność komórek w zależności od ich pochodzenia stwierdzili *Hetzel* i współpr. (4), którzy zaobserwowali, że fibroblasty pochodzące z płuc prawidłowych oraz płuc objętych włóknieniem różnią się pod względem reakcji na czynniki wzrostu.

Wykazano także (5), że fibroblasty pochodzące z błony śluzowej jamy ustnej proliferują szybciej i mają większą zdolność podwojeń populacji niż fibroblasty skórne. Stwierdzono, że fibroblasty pochodzące z błony śluzowej jamy ustnej wydzielają więcej czynnika wzrostu hepatocytów (HGF) oraz keratynocytów (KGF) niż fibroblasty skórne.

Nawet w komórkach linii ustalonych (unieśmiertelnionych), które są utrzymywane przez długi okres czasu mogą występować mutacje, które zmieniają charakterystykę komórek, jaka była stwierdzona we wczesnych pasażach danej linii (6). Stwierdzono m.in. zmiany (aberracje) w kariotypie komórek (zestaw chromosomów komórki): duplikacje (powielenia odcinka chromosomu) oraz powielenia całych chromosomów. Autorzy podkreślają, że potwierdzenie pochodzenia linii komórkowej, jak również dokładna jej charakterystyka (z podaniem numeru pasażu) jest warunkiem niezbędnym do uzyskiwania wiarygodnych wyników doświadczeń, które tylko pod tym warunkiem mogą być przydatne dla innych badaczy.

Przy interpretacji wyników badania cytotoksyczności nanocząstek tlenku cynku(II) należy wziąć pod uwagę zasadę, która mówi, że badany nanomateriał, który nie jest rozpuszczalny w wodzie należy identyfikować jako potencjalnie inwazyjny dla organizmów żywych. Natomiast jeśli nanocząstki w temperaturze pokojowej rozpuszczają się w wodzie, to nie należy prowadzić dalszej ich oceny jako nanomateriałów (7). Biorąc pod uwagę, że ZnO nie jest związkiem całkowicie, w 100% nierozpuszczalnym w wodzie, należy wziąć pod uwagę, iż może to znajdować odzwierciedlenie we wpływie na jego cytotoksyczność również jonów, mogących tworzyć się (choć w bardzo niewielkich ilościach) podczas zawieszania związku w wodzie/medium hodowlanym (8, 9).

Porównując cytotoksyczne działanie dwóch tlenków cynku(II) o różnej deklarowanej przez producenta wielkości cząstek stwierdzono, że ZnO o wielkości cząstek $< 50 \text{ nm}$ wykazywał słabsze działanie cytotoksyczne na komórki fibroblastów skóry CCD-1136Sk niż ten sam związek o wielkości cząstek $< 5 \mu\text{m}$. Prawidłowość tę stwierdzono zarówno w teście MTT, jak i NRU. Jest to godne uwagi, zwłaszcza,

że nie przeprowadzano sonikacji przygotowanych zawiesin, a więc komórki były narażane również na powstałe agregaty/aglomeraty nanotlenku cynku(II).

Zjawisko takie nie jest obserwowane powszechnie, ale w literaturze znajdują się doniesienia zarówno o wyższej toksyczności nanocząstek ZnO w porównaniu z tlenkiem cynku(II) o większym rozmiarze cząstek, o zjawisku odwrotnym, jak również o braku jakichkolwiek różnic związanych z rozmiarem cząstek (10).

Oznaczone w niniejszej pracy stężenia nanotlenku cynku(II) hamujące niemal całkowicie proliferację komórek są spójne z doniesieniami literaturowymi (11) tylko w przypadku doświadczeń na wczesnych pasażach komórkowych. Stwierdzono natomiast, że nanotlenek cynku(II) w analogicznych stężeniach działał bardziej toksycznie na komórki dwóch najstarszych pasażu fibroblastów skórnych, które okazały się bardziej wrażliwe na działanie ZnO o wielkości cząstek < 50 nm niż pasaż młodsze.

Przyczyną zróżnicowanych wyników badań nad nanocząstkami opisywanych przez różnych autorów może być duża liczba parametrów, które mogą mieć wpływ na ich toksyczność. Podstawowym zagadnieniem jest charakterystyka nanomateriałów oraz ich interferencja z metodami badawczymi (12).

Podstawowym problemem przy badaniu związków chemicznych w postaci pyłów metodami kolometrycznymi jest ich osadzanie się na dnie dołków mikroplytek, w których przeprowadzane są doświadczenia, co może zaburzać pomiar absorbancji. Z tego powodu ograniczony jest zakres stężeń badanych pyłów, na które mogą być narażane komórki, a co za tym idzie niekiedy niemożliwe staje się uzyskanie pełnego profilu działania związku i uzyskania działania cytotoksycznego na badane komórki.

Wyniki wielu doniesień literaturowych wskazują, że nanocząstki mogą wywoływać szeroki zakres odpowiedzi biologicznych, począwszy od działania cytotoksycznego aż po działanie „cytoochronne” (13), co stanowi ważną przesłankę do prowadzenia dalszych badań nad działaniem związków skali nano na organizmy.

WNIOSKI

1. Tlenek cynku(II) o wielkości cząstek < 50 nm wykazywał słabsze działanie cytotoksyczne na komórki fibroblastów skóry oraz płuc niż ten sam związek o wielkości cząstek < 5 μ m. Zjawisko to obserwowano zarówno w teście MTT, jak i NRU.

2. Uzyskane wyniki wskazują, że wrażliwość starzejących się komórek na cytotoksyczne działanie badanych związków chemicznych może zmieniać się w miarę ich starzenia się, jednak zmiany te przy narażeniu na ZnO o dwóch rozmiarach cząstek nie są wyraźne.

3. Bardziej spójne wyniki porównania wrażliwości kolejnych pasażu starzejących się komórek uzyskano w badaniach na fibroblastach wyprowadzonych ze skóry.

4. Kluczowe znaczenie w porównaniu cytotoksycznego działania związków chemicznych na młodsze i starsze pasażu fibroblastów ludzkich może mieć stężenie badanego związku.

K. Miranowicz-Dzierżawska

COMPARISON OF THE CYTOTOXIC EFFECT OF NANO- AND MICRO-ZNO
IN THE CONSECUTIVE PASSAGES OF SENESCENT CELLS *IN VITRO*

Summary

The aim of the study was to assess whether there were differences between the results of determining cytotoxicity of ZnO in nano (< 50 nm) versus micro (< 5 µm) particle size on senescent cells of different age. Experiments were conducted on subsequent passages of senescent human lung CCD-8Lu (ATCC® CCL-201™) or skin CCD-1136Sk (ATCC® CRL-2697™) fibroblasts. Cytotoxicity of the xenobiotics was evaluated using two cell viability assays: MTT assay, determining metabolic activity of cells, and NRU assay, assessing the integrity of cell membranes.

The older skin fibroblasts CCD-1136Sk were more susceptible to the cytotoxic effect of both tested substances in comparison with younger cells, although not for all tested concentrations of the compounds.

Zinc oxide (II) having a particle size < 50 nm was less cytotoxic to the skin and lung fibroblasts than the same compound having a particle size of < 5 microns. This phenomenon was observed in both the MTT and the NRU assay.

The results showed that the passage number of diploid human fibroblasts had an important impact on the susceptibility of cells to chemicals. The concentration of the tested compounds may also play a key role in the influence of xenobiotics on successive passages of human diploid fibroblasts.

PIŚMIENNICTWO

1. *Bujak-Pietrek S.*: Narażenie na nanocząstki w środowisku pracy jako zagrożenie dla zdrowia. Problemy oceny ekspozycji zawodowej. *Medycyna Pracy*, 2010; 61(2): 183-189. – 2. Komunikat Komisji Do Parlamentu Europejskiego, Rady i Europejskiego Komitetu Ekonomiczno-Społecznego. Drugi Przegląd Regulacyjny Poświęcony Nanomateriałom, COM(2012) 572 final, Bruksela, 2012. – 3. *Chang H.Y., Chi J.T., Dudoit S., Bondre C., van de Rijn M., Botstein D.*, et al.: Diversity, topographic differentiation, and positional memory in human fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 12877-82. – 4. *Hetzel M., Bachem M., Anders D., Trischler G., Faehling M.*: Different effects of growth factors on proliferation and matrix production of normal and fibrotic human lung fibroblasts. *Lung*, 2005; 183: 225-237. – 5. *Gron B., Stoltze K., Andersson A., Dabelsteen E.*: Oral fibroblasts produce more HGF and KGF than skin fibroblasts in response to co-culture with keratinocytes. *APMIS*, 2002; 110: 892-898. – 6. *Wenger S.L., Senft J.R., Sargent L.M., Bamezai R., Bairwa N., Grant S.G.*: Comparison of established cell lines at different passages by karyotype and comparative genomic hybridization. *Bioscience Reports*, 2004; 24(6): 631-639. – 7. *Snopczyński T., Góralczyk K., Czaja K., Struciński P., Hernik A., Korcz W., Ludwicki J.K.*: Nanotechnologia – możliwości i zagrożenia. *Roczn. PZH*, 2009; 60(2): 101-111. – 8. *Adam N., Schmitt C., Galceran J., Companys E., Vakurov A., Wallace R., Knapen D., Blust R.*: The chronic toxicity of ZnO nanoparticles and ZnCl₂ to *Daphnia magna* and the use of different methods to assess nanoparticle aggregation and dissolution. *Nanotoxicology*, 2014; 8, 7: 709-717. – 9. *Roy R., Dasa M., Dwivedi P.D.*: Toxicological mode of action of ZnO nanoparticles: Impact on immune cells. *Molecular Immunology*, 2015; 63, 2: 184-192. doi:10.1016/j.molimm.2014.08.001. – 10. *Heggelund L.R., Diez-Ortiz M., Lofts S., Lahive E., Jurkschat K., Wojnarowicz J., Cedergreen N., Spurgeon D., Svendsen C.*: Soil pH effects on the comparative toxicity of dissolved zinc, non-nano and nano ZnO to the earthworm *Eisenia fetida*. *Nanotoxicology*, 2013; 8, 5: 559-572. doi: 10.3109/17435390.2013.809808.

11. *Włodarczyk A.J.*: „Aktywność cytotoksyczna tlenku cynku wobec komórki śródłonka ludzkiej żyły pępowinowej”. IV Konferencja Nanotechnologii NANO 2010, Poznań 2010. – 12. *Stone V., Johnston H., Roel P., Schins F.*: Development of *in vitro* systems for nanotoxicology: methodological considerations. *Crit. Rev. Toxicol.*, 2009; 39: 613-626. doi: 10.1080/10408440903120975. – 13. *Xia T., Kovochich M., Liong M., Mädler L., Gilbert B., Shi H., Yeh J.I., Zink J.I., Nel A.E.*: Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxide nanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties. *ACS Nano*, 2008; 2: 2121-2134. doi: 10.1021/nl800511k.

Beata Paszczyk, Joanna Łuczyńska

SERY I PRODUKTY SEROPODOBNE JAKO ŹRÓDŁO SPRZĘŻONEGO KWASU LINOLOWEGO (CLA) ORAZ IZOMERÓW *TRANS* W NASZEJ DIECIE

Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik: prof. dr hab. inż. *E. Gujska*

Przedmiotem badań była ocena zawartości sprzężonego kwasu linolowego cis9trans11 C18:2 (CLA) oraz izomerów trans kwasu C18:1 i C18:2 w serach handlowych oraz produktach seropodobnych.

Ocenie poddano handlowe sery oraz produkty seropodobne pochodzące od różnych producentów (po 10 produktów). Oznaczenie przeprowadzono metodą GC-FID.

Przeprowadzone badania wykazały, że sery stanowią lepsze źródło sprzężonego kwasu linolowego (CLA) w naszej diecie niż produkty seropodobne. Wszystkie badane sery zawierały CLA, w ilości od 0,18 do 0,24 g/100 g produktu. Sprzężony kwas linolowy obecny był tylko w sześciu z dziesięciu badanych produktach seropodobnych. Zawartość CLA w tych produktach kształtowała się od 0,004 do 0,016 g/100 g produktu. W tłuszczu wszystkich badanych serów i produktów seropodobnych stwierdzono obecność izomerów trans kwasu C18:1 i C18:2. Sery odznaczały się wyższą niż produkty seropodobne zawartością tych izomerów.

Słowa kluczowe: sery, produkty seropodobne, CLA, izomery *trans*.
Key words: cheeses, cheese-like products, CLA, *trans* isomers.

Spośród wielonienasyconych kwasów tłuszczowych występujących w tłuszczu mlekowym, ważne z punktu widzenia zdrowia konsumenta są sprzężone dieny kwasu linolowego (C18:2). W tej grupie związków zidentyfikowano 20 izomerów, a najbardziej aktywnym biologicznie jest sprzężony kwas linolowy o konfiguracji *cis9trans11*, który w mleku i produktach mleczarskich stanowi od 80 do 90% wszystkich izomerów CLA (1, 2). Kwas ten wykazuje szereg prozdrowotnych właściwości m.in.: antynowotworowe, przeciwmiażdżycowe, przeciwcukrzycowe i immunomodulacyjne (3, 4). Tłuszcz mlekowy jest najbogatszym, naturalnym źródłem CLA w naszej diecie i zawiera przeciętnie 4,5 mg CLA/g tłuszczu (5).

Sery stanowią ważny składnik naszej diety, a ich asortyment na naszym rynku jest bardzo szeroki. Na naszym rynku jest też duży asortyment produktów seropodobnych. Produkty seropodobne pod względem składu chemicznego niewiele różnią się od oryginalnych serów dojrzewających. Z uwagi na substytucję tłuszczu mlekowego tłuszczem roślinnym różna jest ich wartość biologiczna (6). Producenci do produkcji wyrobów seropodobnych mogą używać utwardzonych tłuszczów ro-

ślinnych, które są głównym źródłem izomerów *trans* w naszej diecie. Według danych literaturowych, niektóre z tych izomerów mogą niekorzystnie wpływać na nasz organizm (7, 8).

Celem pracy była ocena zawartości sprzężonego kwasu linolowego *cis9trans11* C18:2 oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 w serach handlowych oraz produktach seropodobnych.

MATERIAŁ I METODY

Ocenie poddano handlowe sery oraz handlowe produkty seropodobne pochodzące od różnych producentów (po 10 produktów). Objęte badaniem produkty zostały zakupione w sklepach na terenie Olsztyna w okresie od września do listopada 2015 r.

Zawartość tłuszczu w objętych badaniem serach i produktach seropodobnych oznaczono metodą *Schmidta-Bądzińskiego-Ratzlaffa* (9).

W celu oznaczenia zawartości sprzężonego kwasu linolowego oraz izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 tłuszcz z serów i produktów seropodobnych wydzielono metodą *Folcha* i współpr. (10).

Z wydzielonego tłuszczu przygotowywano estry metylowe kwasów tłuszczowych wg metody IDF 182:2002 (11).

Skład kwasów tłuszczowych oznaczono metodą chromatografii gazowej, wykorzystując chromatograf gazowy Hewlett Packard 6890 GC System z detektorem płomieniowo jonizacyjnym (FID), kolumną kapilarną (producent Varian, USA) o długości 100 m z fazą stacjonarną CP Sil 88. Średnica kolumny – 0,25 mm, grubość filmu – 0,20 μm . Oznaczenia przeprowadzono w następujących warunkach: temp. kolumny – 60°C (przez 1 min) do 180°C, $\Delta t = 5^\circ\text{C}/\text{min}$., temp. detektora – 250°C, temp. dozownika – 225°C, gaz nośny hel, przepływ gazu 1,5 cm^3/min . Wszystkie oznaczenia przeprowadzono w dwóch równoległych powtórzeniach.

Kontrolę dokładności metody przeprowadzono wykorzystując certyfikowany materiał odniesienia, referencyjny tłuszcz mlekowy. Granica oznaczalności zastosowanej metody wynosiła $\text{LOQ} = 0,01 \text{ mg/g}$ tłuszczu. Zawartość wszystkich oznaczonych izomerów w analizowanych próbkach serów i wyrobów seropodobnych były powyżej granicy oznaczalności.

Do identyfikacji piku kwasu *cis9trans11* C18:2 wykorzystano wzorcową mieszaninę estrów metylowych *cis* i *trans* 9,11 oraz 10,12, firmy Sigma-Aldrich. Do identyfikacji izomerów *trans* kwasu C18:1 użyto wzorców firmy Sigma-Aldrich. Identyfikacja izomerów *trans* kwasu C18:2 została przeprowadzona przez porównanie z czasami retencji mieszaniny wzorców izomerów kwasu C18:2 firmy Supelco.

Zawartość kwasu *cis9trans11* C18:2 oraz zawartość oznaczonych izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 w $\text{mg}/1 \text{ g}$ tłuszczu obliczono względem wprowadzonego standardu (estru metylowego kwasu C21:0, firmy Sigma-Aldrich).

Średnie zawartości CLA i oznaczonych izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 w tłuszczu serów i produktów seropodobnych oraz odchylenia standardowe obliczono w programie Excel.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Objęte badaniem sery i produkty seropodobne odznaczały się zróżnicowaną zawartością tłuszczu. W serach handlowych zawartości tłuszczu kształtowały się w przedziale od 22,40 do 25,30%. Większe zróżnicowanie w zawartości tłuszczu w handlowych serach stwierdzili Tokarz i współpr. (12). Według badań Rutkowskiej i współpr. (13) zawartość tłuszczu w handlowych serach dojrzewających z północno-wschodniego rejonu Polski kształtowała się od 20,30 do 28,68%. W objętych badaniem produktach seropodobnych zawartość tłuszczu kształtowała się w przedziale od 19,90 do 26,95%. Zawartość tłuszczu w wyrobach seropodobnych zakupionych w sklepach na terenie Olsztyna badanych w 2013 r. była na zbliżonym poziomie (14). Wyroby seropodobne zakupione w Finlandii, badane przez Ritvanen i współpr. (15) odznaczały się zawartością tłuszczu mieszczącą się w przedziale od 12,3 do 19,3%.

W tłuszczu wydzielonym ze wszystkich objętych badaniem serów handlowych stwierdzono zawartość kwasu linolowego o wiązaniach sprzężonych (*cis9trans11* C18:2, CLA). Zawartość CLA w mleku zależy od wielu czynników, z których istotnym jest sposób żywienia zwierząt związany z porą roku. Udział kwasu *cis9trans11* C18:2 w mleku z okresu żywienia pastwiskowego jest prawie czterokrotnie wyższy niż w mleku z okresu żywienia oborowego (16). Na zawartość CLA w produktach mleczarskich, wg danych literaturowych ma wpływ wiele czynników, do najistotniejszych należą: jakość surowca stosowanego do ich produkcji, rodzaj bakterii zastosowanych w procesie produkcyjnym, długość okresu dojrzewania i warunki oraz stosowane dodatki (17, 18, 19, 20).

Przeprowadzone badania wykazały, że zawartość izomeru *cis9trans11* C18:2 w tłuszczu wydzielonym z objętych badaniem serów handlowych kształtowała się od 7,98 do 9,65 mg/g tłuszczu (w przeliczeniu na 100 g produktu od 0,18 g do 0,24 g) (tab. I). Zawartość CLA w serach podpuszczkowych badanych przez Białek i Tokarz (19) była w przedziale od 0,50 do 6,25 mg/g tłuszczu (od 7,21 do 166,24 mg/100 g produktu). Zawartość sprzężonego kwasu linolowego w serach badanych przez Rutkowską i współpr. (13) była bardzo zróżnicowana, wahała się od 51,7 do 332,4 mg/100 g produktu. Zlatanov i współpr. (20) podają, że w serach twardych zakupionych w Grecji CLA występował w ilości od 4,91 do 19,0 mg/g tłuszczu w serach o długim czasie dojrzewania i od 5,1 do 11,0 mg/g tłuszczu w serach o krótkim czasie dojrzewania.

Nie wszystkie badane produkty seropodobne zawierały w swoim składzie sprzężony kwas linolowy. Obecność tego kwasu stwierdzono w sześciu z dziesięciu badanych produktach seropodobnych. Zawartość CLA w tłuszczu tych produktów była bardzo niska, kształtowała się w przedziale od 0,14 do 0,62 mg/g tłuszczu (w przeliczeniu na 100 g produktu wynosiła od 0,004 do 0,016 g) (tab. I). Niskie zawartości sprzężonego kwasu linolowego w badanych produktach seropodobnych mogą świadczyć o tym, że wyroby te zawierały w swoim składzie niewielki dodatek tłuszczu mlekowego. Ritvanen i współpr. (15) nie stwierdzili obecności CLA w badanych przez siebie wyrobach seropodobnych.

Łączne zawartości oznaczonych izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 w tłuszczu wydzielonym z badanych serów kształtowały się na zbliżonych poziomach (tab. I).

Table 1. Zawartość kwasu *cis9trans11* C18:2 (CLA) i izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 w tłuszczu serów i produktów seropodobnych
 Table 1. The content of *cis9trans11* C18:2 acid (CLA) and *trans* isomers of C18:1 and C18:2 acid in fat from cheeses and cheese-like products

Produkty	Sery handlowe (n = 10)			Produkty seropodobne (n = 10)		
	mg/g tłuszczu		g/100 g produktu	mg/g tłuszczu		g/100 g produktu
	min – max	$\bar{x} \pm SD$	min – max	$\bar{x} \pm SD$	min – max	$\bar{x} \pm SD$
<i>cis9trans11</i> C18:2 (CLA)	7,98 – 9,65	8,39 ± 0,50	0,18 – 0,24	0,20 ± 0,02	0,00* – 0,62	0,30 ± 0,17
Σ <i>trans</i> C18:1	36,84 – 44,37	39,18 ± 2,24	0,89 – 1,10	0,94 ± 0,07	0,36 – 23,09	9,80 ± 8,74
Σ <i>trans</i> C18:2	6,99 – 8,15	7,55 ± 0,47	0,16 – 0,20	0,18 ± 0,02	0,72 – 3,56	2,59 ± 0,83

* poniżej granicy oznaczalności (<0,01)

Zawartość tych izomerów w objętych badaniem produktach seropodobnych była bardzo zróżnicowana. Zawartości izomerów *trans* kwasu C18:1 kształtowały się w przedziale od 0,36 do 23,09 mg/g tłuszczu (w przeliczeniu na 100 g produktu wynosiły od 0,009 do 0,529 g). Zawartości izomerów *trans* kwasu C18:2 w objętych badaniem produktach seropodobnych były na poziomie od 0,72 do 3,56 mg/g tłuszczu (od 0,019 do 0,098 g/100 g produktu) (tab. I). Na tak duże zróżnicowanie w zawartości izomerów *trans* w produktach seropodobnych może wpływać rodzaj tłuszczu stosowanego do ich produkcji. Niskie zawartości tych izomerów mogą wskazywać na to, że producenci stosowali w procesie produkcyjnym oleje przeestryfikowane, a nie uwodornione. Oleje przeestryfikowane odznaczają się bardzo niską zawartością izomerów *trans*.

PODSUMOWANIE

Przeprowadzone badania wykazały, że sery stanowią lepsze źródło sprzężonego kwasu linolowego w naszej diecie niż produkty seropodobne. Wszystkie badane sery zawierały CLA w ilości od 0,18 do 0,24 g/100 g produktu. Sprzężony kwas linolowy obecny był tylko w sześciu z dziesięciu badanych produktach seropodobnych. Zawartość CLA w tych produktach kształtowała się od 0,004 do 0,016 g/100 g produktu.

W tłuszczu wszystkich badanych serów i produktów seropodobnych stwierdzono obecność izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2. Sery odznaczały się wyższą niż produkty seropodobne zawartością tych izomerów. W badanych produktach seropodobnych zawartość izomerów *trans* była zróżnicowana.

B. Paszczyk, J. Łuczyńska

CHEESES AND CHEESE-LIKE PRODUCTS AS A SOURCE OF CONJUGATED LINOLEIC ACID (CLA) AND *TRANS* ISOMERS IN OUR DIET

Summary

The objective of the research study was to assess the content of conjugated linoleic acid *cis9trans11* C18:2 and *trans* isomers of C18:1 and C18:2 fatty acids in cheeses and cheese-like products available in the market.

The study evaluated commercial cheeses and cheese-like products from different manufacturers (10 products each). Analysis was performed by GC-FID.

The results show that the cheeses are a better source of conjugated linoleic acid (CLA) in our diet than cheese-like products. The contents of CLA in all tested cheeses ranged from 0.18 to 0.24 g/100g of product. Conjugated linoleic acid was present in only six out of ten studied cheese-like products. CLA content in these products ranged from 0.004 to 0.016 g/100g of product. *Trans* isomers of C18:1 and C18:2 acid were detected in the fat of all tested cheeses and cheese-like products. Cheeses were characterised by a higher content of these isomers than cheese-like products. In the tested cheese-like products, the content of *trans* isomers varied.

PIŚMIENICTWO

1. *Nalęcz-Tarwacka T., Kuczyńska B., Grodzki H., Słószarz J.*: Wpływ wybranych czynników na zawartość skoniugowanego kwasu linolowego w mleku krów. *Medycyna Wet.*, 2009; 65(5): 326-329. –
2. *Chin S.F., Liu W., Storkson J.M., Ha Y.L., Pariza M.W.*: Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Compos. Anal.*, 1992; 5: 185-197. –
3. *Przybojewska B., Rafalski H.*: Kwasy tłuszczowe występujące w mleku a zdrowie człowieka. Sprzężony kwas linolowy (CLA), *Przegl. Mlecz.*, 2003; 5: 173-175. –
4. *Ciołkowska A., Koziol, Gustaw W.*: Sprzężony kwas linolowy (CLA) – bioaktywny składnik tłuszczu mlekowego. *Przegl. Mlecz.*, 2012; 8: 11-15. –
5. *Barłowska J., Florek, Litwińczuk Z.*: Mleko i mięso zwierząt przeżuwających jako źródło substancji biologicznie czynnych. Cz. I. Mleko. *Przegl. Hod.*, 2016; 2: 1-4. –
6. *Aljewicz M., Kowalska M., Cichosz G.*: Wartość odżywcza i biologiczna wyrobów seropodobnych i analogów serów. *Przegl. Mlecz.*, 2012; 12: 4-10. –
7. *Kochan Z., Karbowska J., Babicz-Zielińska E.*: *Trans* kwasy tłuszczowe w diecie – rola w rozwoju zespołu metabolicznego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 650-658. –
8. *Dhaka V., Gulia N., Singh Ahlawat K., Singh Khatkar B.*: *Trans* fat – sources, health risks and alternative approach – A review. *J. Food Sci. Technol.*, 2011; 48(5): 534-541. –
9. PN-73/A-86232 Mleko i przetwory mleczne. Sery. Metody badań. –
10. *Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H.*: A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 1957; 226: 497-509.
11. ISO 15884:2002 (IDF 182:2002), Milkfat: Preparation of fatty acid methyl esters. –
12. *Tokarz A., Bialek A., Krasowska M.*: Ocena zawartości kwasu żwaczowego (*cis*-9,*trans*-11 CLA) w wybranych gatunkach serów. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2008; 41(3): 580-584. –
13. *Rutkowska J., Sadowska A., Tabaszewska M., Stołyhwo A.*: Skład kwasów tłuszczowych serów podpuszczkowych pochodzących z rejonu Polski: północnego, wschodniego i centralnego. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009; 42(3): 263-269. –
14. *Paszczyk B.*: Skład kwasów tłuszczowych i udział izomerów *trans* w wyrobach seropodobnych. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2014; 1: 17-21. –
15. *Ritvanen T., Putkonen T., Peltonen.*: A comparative study of the fatty acid composition of dairy products and margarines with reduced or substituted fat content. *Food Nutr. Sci.*, 2012; 3: 1189-1196. –
16. *Żegarska Z., Paszczyk B., Rafalowski R., Borejszo Z.*: Annual changes in the content of unsaturated fatty acids with 18 carbon atoms, including *cis*9*trans*11 C18:2 (CLA) acid, in milk fat. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2006; 15/56(4): 409-414. –
17. *Jiang J., Björck L., Fondén R.*: Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. *J. Appl. Microbiol.*, 1998; 85: 98-102. –
18. *Kim, J.H., Kwon, O-J., Choi, N-J, Oh, S.J., Jeong, H-Y., Song, M-K, Jeong, I., Kim, Y.J.*: Variations in conjugated linoleic acid (CLA) content of processed cheese by lactation time, feeding regimen, and ripening. *J. Agric. Food Chem.*, 2009; 57(8): 3235-3239. –
19. *Bialek A., Tokarz A.*: Źródła pokarmowe oraz efekty prozdrowotne sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA), *Biul. Wydz. Farm. WUM*, 2009; 1: 1-24. –
20. *Zlatanov S., Laskaridis L., Feist Ch., Sagredos A.*: CLA content and fatty acid composition of Greek Feta and hard cheeses. *Food Chem.*, 2002; 78: 471-477.

Adres: 10-726 Olsztyn, Plac Cieszyński 1

*Adam Daragó, Marzenna Nasiadek, Andrzej Sapota¹⁾,
Elżbieta Bruchajzer, Anna Kilanowicz*

OCENA POZIOMÓW WAPNIA I MAGNEZU W WYBRANYCH WODACH MINERALNYCH, ŹRÓDLANYCH I UZDROWISKOWYCH W ODNIESIENIU DO ZALECANEGO DZIENNEGO SPOŻYCIA (RDA)*

Pracownia Toksykologii Żywności, Zakładu Toksykologii,
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik Zakładu: dr hab. A. Kilanowicz, prof. UM

¹⁾ Społeczna Akademia Nauk w Łodzi

Celem pracy była ocena poziomów wapnia i magnezu (metodą F-AAS) w ogólnodostępnych w handlu wybranych wodach mineralnych, źródłanych i uzdrowiskowych w odniesieniu do zalecanego dziennego spożycia. Przeanalizowano piętnaście różnych wód, w których stężenia tych składników mineralnych mieściły się w zakresie wymaganych poziomów ($\pm 20\%$), zadeklarowanych przez producentów. Analizując stężenie tych pierwiastków w wodach i porównując z normami zalecanego spożycia (RDA) stwierdzono, że wybrane wody lecznicze mogą pokryć zapotrzebowanie dobowe na Ca i Mg, ale należy zwrócić szczególną uwagę na małe dzieci, u których spożycie tych wód powinno być kontrolowane.

Hasła kluczowe: wapń, magnez, wody lecznicze, wody mineralne, wody źródlane, zalecane dzienne spożycie (RDA).

Key words: calcium, magnesium, therapeutic water, mineral water, spring water, recommended dietary allowances (RDA).

Poziomy pierwiastków niezbędnych bezpośrednio związane są z problemem prawidłowego odżywiania i dostarczania mikro- i makroelementów w ilościach odpowiednich do stanu organizmu w poszczególnych okresach życia. Istotną częścią diety człowieka, o której często się zapomina, jest woda stanowiąca ważne źródło elementów dostarczanych organizmowi. Woda pitna powinna zawierać przede wszystkim magnez i wapń, które są niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania ustroju. Pierwiastki te, są ważne w wielu różnych procesach fizjologicznych, głównie w hematopoezie, prawidłowym funkcjonowaniu serca i układu nerwowego (1). Ich niedobory, stanowiące nawet 30% dziennego zapotrzebowania, mogą prowadzić do rozwoju m.in. chorób sercowo-naczyniowych. Potwierdzają to liczne doniesienia wskazujące, że u ludzi żyjących na terenach o niskiej zawartości wapnia i magnezu w wodzie występuje większa zapadalność na udary mózgu oraz zawały serca (2, 3, 4).

* Praca finansowana z działalności statutowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (Nr 503/3-045-01/503-31-001)

Już od początku lat 60. XX wieku stwierdzono znaczne niedobory magnezu w pożywieniu. W zależności od regionu świata wahały się one od 7 do 65% poniżej zalecanego dziennego spożycia (RDA) (5). W ostatnich latach udowodniono także istotną korelację pomiędzy niedoborem wapnia i magnezu a wiekiem (6). Również w populacji polskiej, szczególnie wśród Polek w wieku 20–49 lat, stwierdzono nieprawidłowości w jakości diety, wskazujące m.in. na znaczące ograniczenia w niej ilości wapnia i magnezu (7). Dodatkowo styl życia (stres, stosowanie używek, itp.) może niedobory te pogłębiać. Należy także pamiętać, że wiele związków obecnych w diecie, takich jak np. kwas fitynowy (obecny w zbożach, otrębach, roślinach strączkowych) czy fosforany (obecne m.in. w napojach typu cola) może negatywnie wpływać na biodostępność magnezu (8).

Do głównych efektów niedoboru wapnia należą: osteoporoza, zaburzenia koagulacji krwi i przesyłania sygnałów nerwowych, nieprawidłowa praca serca. Deficyt magnezu może powodować bolesne skurcze mięśni (najczęściej łydek), drżenia powiek, nadciśnienie, rozdrażnienie, apatię, migrenę, zaburzenie pracy układu sercowo-naczyniowego (1).

Suplementacja magnezem i wapniem jest często zalecana dla uzupełnienia tych pierwiastków. W związku z tym rośnie zainteresowanie dostępnymi na rynku wodami zawierającymi mikroelementy, co pociąga za sobą znaczny wzrost dostępnych produktów. Istnieje zatem potrzeba kontrolowania jakości i monitorowania zawartości składników mineralnych w wodach spożywanych przez ludzi. Podział na wody mineralne, źródlane i lecznicze (uzdrowiskowe) oraz normy zawartości w nich składników mineralnych regulowane są prawnie na podstawie odpowiednich ustaw i rozporządzeń (8, 9).

Pierwszym źródłem informacji o wodzie powinna być etykieta zawierająca: (a) nazwę handlową (wymyśloną) wody w opakowaniu, (b) nazwę producenta wody i miejsca produkcji wraz z adresem, (c) dodatkowe informacje, takie jak: wzbogacanie w ozon, informacje o całkowitym lub częściowym odgazowaniu wody (fizycznym) czy też informacje o dodatkowych właściwościach fizjologicznych potwierdzonych odpowiednimi badaniami, (d) zawartość charakterystycznych składników mineralnych w litrze wody oraz (e) ogólną zawartość rozpuszczonych składników mineralnych (9).

Zawartość składników mineralnych podana przez producenta może się różnić, pod warunkiem, że odchylenia stężeń charakterystycznych składników wynoszą nie więcej niż $\pm 20\%$ (9).

Celem pracy jest ocena poziomów wapnia i magnezu metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej w wersji z atomizacją w płomieniu (F-AAS) w ogólnodostępnych w handlu wybranych wodach mineralnych, źródłanych i uzdrowiskowych w odniesieniu do zalecanego dziennego spożycia wapnia i magnezu (RDA).

MATERIAŁ I METODY

Do badań wybrano łącznie 15 wód o różnym stopniu zmineralizowania, w tym: trzy wody uzdrowiskowe, osiem naturalnych wód mineralnych oraz cztery wody źródlane znajdujące się na polskim rynku (tab. I).

Tabela I. Naturalne wody mineralne, wody źródłane i wody uzdrowiskowe poddane analizie
 Table I. Analysed natural mineral water, spring water and spa water

Lp.	Nazwa wody	Producent
Wody uzdrowiskowe (lecznicze)		
1	Jan	Uzdrowisko Krynica-Żegiestów
2	Słotwinka	Uzdrowisko Krynica-Żegiestów
3	Zuber	Uzdrowisko Krynica-Żegiestów
Wody źródłane		
4	Żywiec Zdrój	Żywiec Zdrój S.A.
5	Muszyna	Produkt TESCO
6	Primavera	Polska Woda Sp. z o.o.
7	Perła Mazowska	Produkt TESCO
Wody mineralne		
8	Cisowianka Classique	ZL Nałęczów Zdrój
9	Wielka Pieniawa	Zespół Uzdrowisk Kłodzkich S.A.
10	Kinga Pienińska	GFT Goldfruct Sp. z o.o.
11	Nałęczowianka	Nestlé Waters Polska
12	Staropolanka	Uzdrowiska Kłodzkie S.A. – Grupa PGU
13	Cisowianka	ZL Nałęczów Zdrój
14	Muszynianka	Spółdzielnia Pracy „Muszynianka”
15	San Pellegrino	SanPellegrino S.A.

Stężenia wapnia i magnezu w wodach oznaczono za pomocą atomowego spektrometru absorpcyjnego w wersji z atomizacją w płomieniu (F-AAS) – GBC, Avanta PM.

Parametry pomiarów oznaczanych kationów przedstawiono w tabeli II.

Tabela II. Parametry pomiarów kationu wapniowego i magnezowego metodą F-AAS
 Table II. F-AAS measurement parameters for calcium and magnesium cation

Parametry	Wapń	Magnez
Metoda oznaczania	Płomieniowa	Płomieniowa
Typ płomienia	powietrze – acetylen (stechiometryczny)	acetylen – powietrze (utleniający)
Prąd lampy	12 mA	3,00 mA
Długość fali	422,70 nm	202,60 nm

Próbki wody były analizowane po uprzednim zakwaszeniu i dodatku odpowiednich modyfikatorów.

Równania krzywych oraz współczynniki korelacji liniowej (R^2) dla przygotowanych krzywych wynosiły odpowiednio:

$$\begin{aligned} \text{Ca: } & y = 35,241x - 0,1912 & R^2 = 0,9987 \\ \text{Mg: } & y = 4,2849x - 0,9857 & R^2 = 0,9414 \end{aligned}$$

Wybrane parametry walidacji metody dla wapnia i magnezu przedstawiono w tabeli III.

Wyniki opracowano za pomocą programu statystycznego Statistica 9.0 (StatSoft).

Tabela III. Wybrane parametry walidacyjne krzywych kalibracji

Table III. Evaluation of selected validation parameters of calibration curves

Precyzja (%)	Czułość (cm ³ /μg)	Czułość odwrotna (μg/cm ³)	Granica wykrywalności (μg/cm ³)
Wapń			
3,17	0,0296	0,1450	0,29
Magnez			
8,10	0,3550	0,0088	0,02

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zawartość Ca i Mg w wybranych wodach wykonano zvalidowaną metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej w wersji płomieniowej z zastosowaniem modyfikatorów matrycy, a uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli IV. Wartości te porównano do deklarowanych przez producentów poziomów wapnia i magnezu.

Tabela IV. Stężenia wapnia i magnezu podane przez producentów i oznaczone metodą F-AAS

Table IV. Concentrations of calcium and magnesium given by manufacturers and measured using F-AAS method

Lp.	Nazwa wody	Wapń		Magnez	
		Stężenia podane przez producenta (mg/dm ³)	Stężenia oznaczone (mg/dm ³)	Stężenia podane przez producenta (mg/dm ³)	Stężenia oznaczone (mg/dm ³)
Wody uzdrowiskowe					
1	Jan	123,30	141,10 ± 4,51	18,67	20,11 ± 1,54
2	Słotwinka	221,60	237,11 ± 6,34	244,00	210,16 ± 10,96
3	Zuber	77,43	63,58 ± 3,78	363,80	331,45 ± 21,69
Wody źródlane					
4	Żywiec Zdrój	41,69	46,64 ± 1,88	5,64	6,41 ± 0,84
5	Muszyna	320,90	289,69 ± 9,55	51,89	52,14 ± 1,55
6	Primavera	50,10	60,05 ± 4,53	6,70	7,43 ± 0,84
7	Perła Mazowska	brak danych	62,11 ± 3,33	brak danych	8,09 ± 1,28
Wody mineralne					
8	Cisowianka Classique	130,30	144,50 ± 6,62	21,90	26,21 ± 3,21
9	Wielka Pieniawa	251,00	261,08 ± 2,88	23,60	26,83 ± 2,45
10	Kinga Pienińska	86,97	100,11 ± 2,25	12,82	14,55 ± 1,96
11	Nałęczowianka	114,20	129,14 ± 3,05	20,00	22,67 ± 1,58
12	Staropolanka	309,00	299,00 ± 6,78	59,80	56,65 ± 1,69
13	Cisowianka	130,30	148,69 ± 5,29	21,90	25,76 ± 2,87
14	Muszynianka	240,00	260,55 ± 2,89	120,00	119,16 ± 5,44
15	San Pellegrino	174,00	194,23 ± 8,45	51,40	57,93 ± 2,11

Analizując powyższe dane można stwierdzić, że otrzymane wyniki nieznacznie różnią się od wartości podanych przez producenta. Występujące różnice w zawartości wapnia i magnezu mieszczą się w granicach dopuszczalnego odchylenia ($\pm 20\%$) od wartości deklarowanych.

Do wód zawierających znaczne ilości wapnia należą: Słotwinka, Muszyna, Wielka Pieniawa, Staropolanka oraz Muszynianka, w których ilości tego pierwiastka były w granicach 237–299 mg/dm³ (221–320 mg/dm³ wg zadeklarowanych przez producenta). Bardzo wysokie wartości magnezu odnotowano w wodach uzdrowiskowych Słotwinka i Zuber – odpowiednio 210 i 331 mg/dm³ (wg producentów: 244 oraz 364 mg/dm³). Wysokie poziomy magnezu oznaczono także w Muszyniance (120 mg/dm³).

Woda mineralna, która skutecznie uzupełnia niedobory w dziennym spożyciu powinna zawierać co najmniej 150 mg/dm³ wapnia i 50 mg/dm³ magnezu (10). Spośród analizowanych w pracy wód naturalnych kryteria te spełniają: Słotwianka, Muszyna, Staropolanka, Muszynianka i San Pellegrino.

Zalecana do spożycia dzienna ilość wapnia i magnezu uzależniona jest od wielu czynników, takich jak: wiek, płeć oraz w przypadku kobiet okres ciąży, laktacji i menopauzy. Normy żywieniowe, w których zamieszczone zostały ilości zalecanego dziennego spożycia wapnia i magnezu przedstawiono w tabeli V (11).

Tabela V. Zalecane dzienne spożycie (RDA) wapnia i magnezu (11)

Table V. Recommended daily allowance (RDA) for calcium and magnesium (11)

Grupa wiekowa	Wiek	Wapń (mg/dobę)	Magnez (mg/dobę)
Dzieci	1–3 r. ż.	700	80
	4–9 r. ż.	1000	130
Chłopcy	10–12 r. ż.	1300	240
	13–18 r. ż.	1300	410
Dziewczęta	10–18 r. ż.	1300	360 (240 w 10–12 r.ż.)
Mężczyźni	19–65 r. ż.	1000	420
	>66 r. ż.	1200	420
Kobiety	19–50 r. ż.	1000	320 (310 w 19–30 r.ż.)
	>51 r. ż.	1200	320
Ciąża	<19 r. ż.	1300	400
	>19 r. ż.	1000	360
Laktacja	<19 r. ż.	1300	360
	>19 r. ż.	1000	320

r.ż. – rok życia

W oparciu o oznaczone średnie stężenia wapnia i magnezu w badanych wodach obliczono odsetek zalecanego dziennego spożycia (RDA) po przyjęciu 1 dm³ wody, w zależności od wieku, płci oraz w przypadku kobiet w okresie ciąży i laktacji dla wapnia (tab. VI) i magnezu (tab. VII).

Table VI. Odsetek zalecanego spożycia (% RDA) wapnia dostarczanego po spożyciu 1 dm³ wody w zależności od wieku i stanu fizjologicznego
 Table VI. Percentage of recommended daily allowance (% RDA) of calcium delivered in drinking 1 dm³ of water depending on age and physiological state

Lp.	Nazwa wody	Dzieci			Chłopcy			Dziewczęta			Mężczyźni			Kobiety		
		wiek (lata)						wiek (lata)			wiek (lata)			laktacja		
		1-3	4-9	10-12	13-18	10-12	10-18	10-12	10-18	19-65	>66	19-50	>51	<19	>19	<19
Wody uzdrowiskowe																
1	Jan	20,1	14,1	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	14,1	11,8	14,1	11,8	10,9	14,1	10,9	14,1
2	Słotwinka	33,9	23,7	18,2	18,2	18,2	18,2	23,7	23,7	19,8	23,7	19,8	18,2	23,7	18,2	23,7
3	Zuber	9,1	6,4	4,9	4,9	4,9	4,9	6,4	6,4	5,3	6,4	5,3	4,9	6,4	4,9	6,4
Wody źródlane																
4	Żywiec Zdrój	6,7	4,7	3,6	3,6	3,6	3,6	4,7	4,7	3,9	4,7	3,9	3,6	4,7	3,6	4,7
5	Muszyna	41,4	29,0	22,3	22,3	22,3	22,3	29,0	29,0	24,1	29,0	24,1	22,3	29,0	22,3	29,0
6	Primavera	8,6	6,0	4,6	4,6	4,6	4,6	6,0	6,0	5,0	6,0	5,0	4,6	6,0	4,6	6,0
7	Perła Mazowska	8,9	6,2	4,8	4,8	4,8	4,8	6,2	6,2	5,2	6,2	5,2	4,8	6,2	4,8	6,2
Wody mineralne																
8	Cisowianka Classique	20,6	14,5	11,1	11,1	11,1	11,1	14,5	14,5	12,0	14,5	12,0	11,1	14,5	11,1	14,5
9	Wielka Pieniawa	37,3	26,1	20,1	20,1	20,1	20,1	26,1	26,1	21,8	26,1	21,8	20,1	26,1	20,1	26,1
10	Kinga Pienińska	14,3	10,0	7,7	7,7	7,7	7,7	10,0	10,0	8,3	10,0	8,3	7,7	10,0	7,7	10,0
11	Nalęczowianka	18,4	12,9	9,9	9,9	9,9	9,9	12,9	12,9	10,8	12,9	10,8	9,9	12,9	9,9	12,9
12	Staropolanka	42,7	29,9	23,0	23,0	23,0	23,0	29,9	29,9	24,9	29,9	24,9	23,0	29,9	23,0	29,9
13	Cisowianka	21,2	14,9	11,4	11,4	11,4	11,4	14,9	14,9	12,4	14,9	12,4	11,4	14,9	11,4	14,9
14	Muszynianka	37,2	26,1	20,0	20,0	20,0	20,0	26,1	26,1	21,7	26,1	21,7	20,0	26,1	20,0	26,1
15	San Pellegrino	27,7	19,4	14,9	14,9	14,9	14,9	19,4	19,4	16,2	19,4	16,2	14,9	19,4	14,9	19,4

Table VII. Odsetek zalecanego spożycia (% RDA) magnezu dostarczanego po spożyciu 1 dm³ wody w zależności od wieku i stanu fizjologicznego
 Table VII. Percentage of recommended daily allowance (% RDA) of magnesium delivered in drinking 1 dm³ of water depending on age and physiological state

Lp.	Nazwa wody	Dzieci			Chłopcy			Dziewczęta			Mężczyźni			Kobiety					
		wiek (lata)						wiek (lata)						ciąża			laktacja		
		1-3	4-9	10-12	13-18	10-12	10-18	10-12	10-18	19-65	>66	19-30	31-50	>51	<19	19-30	>30	>19	>19
Wody uzdrowiskowe																			
1	Jan	25,1	15,5	8,4	4,9	8,4	5,6	4,8	4,8	4,8	6,5	6,3	6,3	5,0	5,6	5,6	5,6	6,3	
2	Słotwinka	262,7	161,7	87,6	51,3	87,6	58,4	50,0	50,0	50,0	67,8	65,7	65,7	52,5	58,4	58,4	58,4	65,7	
3	Zuber	414,3	255,0	138,1	80,8	138,1	92,1	78,9	78,9	78,9	106,9	103,6	103,6	82,9	92,1	92,1	92,1	103,6	
Wody źródłane																			
4	Żywiec Zdrój	8,0	4,9	2,7	1,6	2,7	1,8	1,5	1,5	1,5	2,1	2,0	2,0	1,6	1,8	1,8	1,8	2,0	
5	Muszyna	65,2	40,1	21,7	12,7	21,7	14,5	12,4	12,4	12,4	16,8	16,3	16,3	13,0	14,5	14,5	14,5	16,3	
6	Primavera	9,3	5,7	3,1	1,8	3,1	2,1	1,8	1,8	1,8	2,4	2,3	2,3	1,9	2,1	2,1	2,1	2,3	
7	Perła Mazowska	10,1	6,2	3,4	2,0	3,4	2,2	1,9	1,9	1,9	2,6	2,5	2,5	2,0	2,2	2,2	2,2	2,5	
Wody mineralne																			
8	Cisowianka Classique	32,8	20,2	10,9	6,4	10,9	7,3	6,2	6,2	6,2	8,5	8,2	8,2	6,6	7,3	7,3	7,3	8,2	
9	Wielka Pieniawa	33,5	20,6	11,2	6,5	11,2	7,5	6,4	6,4	6,4	8,7	8,4	8,4	6,7	7,5	7,5	7,5	8,4	
10	Kinga Pienińska	18,2	11,2	6,1	3,5	6,1	4,0	3,5	3,5	3,5	4,7	4,5	4,5	3,6	4,0	4,0	4,0	4,5	
11	Nalęczowianka	28,3	17,4	9,4	5,5	9,4	6,3	5,4	5,4	5,4	7,3	7,1	7,1	5,7	6,3	6,3	6,3	7,1	
12	Staropolanka	70,8	43,6	23,6	13,8	23,6	15,7	13,5	13,5	13,5	18,3	17,7	17,7	14,2	15,7	15,7	15,7	17,7	
13	Cisowianka	32,2	19,8	10,7	6,28	10,7	7,2	6,1	6,1	6,1	8,3	8,1	8,1	6,4	7,2	7,2	7,2	8,1	
14	Muszynianka	149,0	91,7	49,7	29,1	49,7	33,1	28,4	28,4	28,4	38,4	37,2	37,2	29,8	33,1	33,1	33,1	37,2	
15	San Pellegrino	72,4	44,6	24,1	14,1	24,1	16,1	13,8	13,8	13,8	18,7	18,1	18,1	14,5	16,1	16,1	16,1	18,1	

Aby wodę można było stosować w celach dodatkowej suplementacji powinna dostarczać co najmniej 15% zalecanej dziennej dawki pierwiastka w litrze (12). Jak wynika z przedstawionych tabel do wód spełniających to kryterium należą: Słotwianka i Zuber (wody uzdrowiskowe), Muszyna (woda źródłana) oraz Staropolanka, Muszynianka i San Pellegrino (wody mineralne).

Szczególną uwagę należy jednak zwrócić na grupę najmłodszych dzieci (1–3 lata), ponieważ zalecane spożycie wapnia i magnezu nie powinno u nich przekraczać RDA. Wynika to z faktu, że są one karmione zbilansowanym pokarmem, stąd dodatkowa suplementacja wodą może prowadzić do przekroczeń zalecanego RDA, szczególnie w przypadku magnezu (13). Udział wody w odniesieniu do dziennego zapotrzebowania na magnez u najmłodszych dzieci (1–3 lata) w analizowanych wodach źródłanych i mineralnych mieścił się w zakresie od 7 do blisko 150% RDA, a w przypadku dzieci starszych (4–9 lat) od 4 do 90% RDA.

Bardzo istotnym wydaje się fakt, że biodostępność wapnia z wód mineralnych może stanowić alternatywę dla innych źródeł wapnia (14). Mimo to, trzeba pamiętać, że nie należy traktować wód mineralnych jako jedyne źródło wapnia. Mleko i produkty mleczne zawierają również inne składniki mineralne i substancje (poza wapniem) niezbędne do zachowania w prawidłowej kondycji kości i ogólnego zdrowia (15). Biodostępność magnezu, podobnie jak wapnia, jest znacznie wyższa w przypadku dostarczania tego biopierwiastka z wodą. Należy jednak pamiętać, że w przypadku twardej wody pitnej poziomy magnezu mogą wynosić nawet do 150 mg/dm³ (16).

WNIOSKI

Badania stężeń wapnia i magnezu w naturalnych wodach mineralnych, źródłanych i uzdrowiskowych wykazały, że poziomy tych składników mineralnych mieściły się w zakresie wymaganych poziomów ($\pm 20\%$), zadeklarowanych przez producentów.

Wykonane analizy stężeń magnezu w wodach leczniczych (Zuber, Słotwianka) wskazują na całkowite zapewnienie dobowego zapotrzebowania na ten biopierwiastek. W przypadku małych dzieci spożycie tych wód powinno być jednak kontrolowane.

A. Daragó, M. Nasiadek, A. Sapota, E. Bruchajzer, A. Kilanowicz
ASSESSMENT OF CALCIUM AND MAGNESIUM LEVELS IN SELECTED MINERAL, SPRING
AND THERAPEUTIC WATERS IN RELATION TO RECOMMENDED DAILY ALLOWANCE
(RDA).

Summary

The aim of the study was to evaluate the levels of calcium and magnesium (by F-AAS method) in the commercially available selected mineral, spring and therapeutic waters in relation to the recommended daily allowance (RDA). Concentrations of these minerals in fifteen brands of water were within the required levels ($\pm 20\%$) declared by the manufacturers. Comparing the result with RDA, it was found that selected therapeutic waters could cover the daily requirement for both calcium and magnesium. Still, special attention should be paid to young children, whose intake of therapeutic water ought to be controlled.

PIŚMIENNICTWO

1. *Rosborg I.* (ed.): Drinking water minerals and mineral balance importance, health significance, safety precautions. Springer, Cham, Switzerland, 2015: 140. – 2. *Catling L.A., Abubakar I., Lake I.R., Swift L., Hunter P.R.*: A systematic review of analytical observational studies investigating the association between cardiovascular disease and drinking water hardness. *J. Water Health*, 2008; 6: 433-442. – 3. *Maksimoć Z., Ršumović M., Djordjević M.*: Magnesium and calcium in drinking water in relation to cardiovascular mortality in Serbia. *Bulletin T. CXL de l'Académie serbe des sciences et des arts – 2010. Classes des sciences mathématiques et naturelles, Sciences naturelles N° 46*: 131-140. – 4. *Nerbrand C., Agréus L., Lenner R.A., Nyberg P., Svärdsudd K.*: The influence of calcium and magnesium in drinking water and diet on cardiovascular risk factors in individuals living in hard and soft areas with differences in cardiovascular mortality. *BMC Public Health*, 2003; 3: 21-29. – 5. *Ashe J.R., Schofield F.A., Gram M.R.*: The retention of calcium, iron, phosphorus, and magnesium during pregnancy: the adequacy of prenatal diets with and without supplementation. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1979; 32: 286-291. – 6. *Rosanof, A., Weaver C.M., Rude R.K.*: Suboptimal magnesium status in the United States: are the health consequences underestimated? *Nutr. Rev.*, 2012; 70: 153-164. – 7. *Waškiewicz A., Sygnowska E.*: Wartość odżywcza diety kobiet w wieku rozrodczym zamieszkałych na terenie Polski. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2011; 44(3): 252-256. – 8. Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia. (Dz. U. 2006, Nr 171, poz. 1225). – 9. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 31 marca 2011r. w sprawie naturalnych wód mineralnych, wód źródłanych i wód stołowych. (Dz. U. Nr 85, poz. 466). – 10. *Wojtaszek T.*: Prawda o wodach mineralnych i innych wodach butelkowanych. *Aura*, 2004; 9: 10-12.
11. *Wojtasik A., Jarosz M., Stoś K.*: Składniki mineralne, W: Normy żywienia dla populacji polskiej. M. Jarosz (ed.), Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2012. – 12. *Pieniak M.*: Czego szukać w wodach mineralnych? <http://www.wodadlzdrowia.pl/pl/816/0/czego-szukac-w-wodach-mineralnych.html>. – 13. *Gątorska A., Tońska E., Ciborska J.*: Natural mineral bottled waters available on the Polish market as a source of minerals for the consumers. Part 1. Calcium and magnesium. *Roczn. PZH*. 2016; 67(1): 1-8. – 14. *Böhmer H., Müller H., Resch K.L.*: Calcium supplementation with calcium-rich mineral waters: a systematic review and meta-analysis of its bioavailability. *Osteoporos. Int.* 2000; 11(11): 938-943. – 15. *Heaney R.P.*: Absorbability and utility of calcium in mineral waters. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2006; 84(2): 371-374. – 16. *Ziemiański Ś* (ed.): Normy żywienia człowieka. Fizjologiczne podstawy. Warszawa, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2001: 314-336, 349-358.

Adres: 90-151 Łódź, ul. Muszyńskiego 1

Aleksandra Karmańska, Jolanta Florczak, Bolesław Karwowski

BADANIE ZAWARTOŚCI ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH ORAZ AKTYWNOŚCI PRZECIWIUTLENIAJĄCEJ RÓŻNYCH ODMIAN PIECZAREK*

Zakład Bromatologii, Katedry Bromatologii
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik: dr hab. prof. nadzw. *B. Karwowski*

Oznaczono zawartość związków polifenolowych oraz aktywność przeciwutleniającą różnych odmian pieczarek (biała, brązowa, Portobello, A blazei, A campestris). Związki polifenolowe oznaczono za pomocą odczynnika Folina-Ciocalteu'a w przeliczeniu na kwas galusowy, a aktywność antyoksydacyjną grzybów z odczynnikiem DPPH.

Hasła kluczowe: grzyby, polifenole, aktywność przeciwutleniająca – DPPH.
Key words: mushrooms, polyphenols, antioxidant activity – DPPH.

Grzyby jadalne stanowią wartościowy składnik diety ze względu na zawartość wielu cennych składników odżywczych, takich jak: błonnik, sole mineralne, witaminy oraz atrakcyjny smak i aromat. Od niedawna znalazły się w grupie określonej jako żywność funkcjonalna, tzn. są one produktami wykazującymi korzystny wpływ na zdrowie. Badania wykazały obecność w grzybach związków biologicznie aktywnych o potwierdzonych właściwościach terapeutycznych (1).

Do tzw. żywności funkcjonalnej zaliczono również pieczarki, ze względu na wyjątkowe właściwości prozdrowotne. Oprócz wartościowego białka (zawierają prawie wszystkie aminokwasy), dobrze przyswajalnych węglowodanów i tłuszczów (w tym korzystnych dla zdrowia wielonienasyconych kwasów tłuszczowych), pieczarki są dobrym źródłem potasu, miedzi, selenu, zawierają jod, błonnik, witaminy A, E, witaminy z grupy B (w tym kwas foliowy), a nawet witaminę D. W pieczarkach stwierdzono również obecność beta glukanu polisacharydu zaliczanego do rozpuszczalnej frakcji błonnika pokarmowego. Związek ten obniża poziom cholesterolu, ma modulujący i stymulujący wpływ na układ odpornościowy, działa przeciwnowotworowo poprzez aktywację komórek NK (natural killers) oraz czynnika martwicy nowotworów TNF- α . Ostatnie badania wykazały, że pieczarka zawiera również inne substancje o właściwościach antynowotworowych, takie jak: tyrozylnaza, inhibitor aromatazy (1, 2).

Pieczarki oprócz tego są źródłem związków fenolowych (polifenoli) oraz sprzężonego kwasu linolowego – CLA. Historia uprawy pieczarek sięga kilku

* Praca finansowana z działalności statutowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (Nr 503/3-045-02/503-01)

tysięcy lat, a jej pionierami byli Chińczycy. W Europie uprawę pieczarek rozpoczęto we Francji w XVI wieku. Obecnie na terenie Europy można spotkać ok. 60 rodzajów pieczarek, ale najbardziej popularna jest odmiana biała – pieczarka dwuzarodnikowa (*Agaricus bisporus*) oraz coraz większe zainteresowanie zdobywa pieczarka brązowa. Od klasycznych białych pieczarek różni się nie tylko mocniejszym kolorem, ale i aromatem. Pieczarki brązowe mają bardziej ziemisty smak niż pieczarki białe, znacznie więcej witaminy D i B₂, dzięki czemu wykazują działanie antystresowe i wzmacniające. Kolejna odmiana – Portobello – to pieczarki o bardzo dużym kapeluszu sięgającym nawet do 10 cm średnicy. Różni się stopniem dojrzałości, a przez to wielkością, kolorem, mięsistością i smakiem. Pieczarki Portobello mają wielkie, ciemnobrązowe kapelusze z aksamitnymi, brązowymi blaszkami. *Agaricus blazei* Murill (Pieczarka blazei, ABM) – występowała kiedyś jedynie w brazylijskich lasach tropikalnych (3–5). Potem ze względu na wyjątkowe zdolności lecznicze zaczęto ją uprawiać na dużą skalę. Obok witamin i składników mineralnych grzyb ABM zawiera przede wszystkim największą ilość polisacharydów ze wszystkich znanych grzybów witalnych, a przede wszystkim beta-D-glukan. Liczne badania wskazują na możliwość wykorzystania polisacharydów ABM w leczeniu nowotworów (6). Związane jest to ze zwiększeniem aktywności i efektywności tzw. makrofagów („żarłocznych” komórek układu fagocytarnego). Makrofagi odgrywają największą rolę przy stymulowaniu sił obronnych organizmu ludzkiego oraz tworzeniu interferonu, który działa hamująco na komórki nowotworowe. Oprócz właściwości przeciwnowotworowych *A. blazei* wykazuje właściwości przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe i antyalergiczne. Ponadto, obniża poziom cholesterolu we krwi, stymuluje układ odpornościowy, a także jest skuteczny w leczeniu AIDS. Może być także stosowany w cukrzycy, nadciśnieniu tętniczymi wirusowym zapaleniu wątroby. Pieczarka brazylijska jest bardzo smacznym grzybem o migdałowym aromacie, który związany jest z obecnością kwasu benzoesowego oraz benzaldehydu. Owocniki zawierają glutaminian sodu, który jest odpowiedzialny za specyficzny pikantny smak (6, 7).

Celem pracy było oznaczenie w różnych odmianach pieczarek: białej, brązowej, Portobello, *A. blazei* i łąkowej całkowitej zawartości polifenoli z odczynnikiem *Folina-Ciocalteu*'a w przeliczeniu na kwas galusowy oraz aktywności antyoksydacyjnej grzybów za pomocą odczynnika DPPH.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły pieczarki białe (*Agaricus bisporus*) zakupione w handlu detalicznym na terenie Łodzi (Auchan, Tesco, Lidl), brązowe, Portobello (Lidl), *A. blazei* (zakupione przez Internet) oraz pieczarki łąkowe – *Agaricus campestris* zebrane jesienią 2015 r. w miejskim parku łódzkiego osiedla Retkinia.

W badaniach korzystano z suszu grzybowego z którego przygotowano ekstrakty wodne i etanolowe wg Gan i współpr. (8). Zawartość związków fenolowych oznaczano z zastosowaniem odczynnika *Folina-Ciocalteu*'a wg Singelton i współpr. (9, 10).

Wyniki wyrażono jako mg równoważnika kwasu galusowego w przeliczeniu na 100 g suszu. W obliczeniach statystycznych korzystano z programu STATISTICA 9,0, stosując test Studenta. Różnice istotne pomiędzy ekstraktami wodnymi i etanolowymi w obrębie jednej odmiany weryfikowano przy poziomie istotności $p \leq 0,001$. Dla wykazania różnic pomiędzy poszczególnymi odmianami wykonano test Anova przy poziomie istotności $p < 0,01$. Odmienne litery występujące w tabeli wskazują na różnice pomiędzy ekstraktami w obrębie jednej odmiany (A,a) oraz pomiędzy poszczególnymi odmianami (A, B, C, D, E, F,G).

Oznaczanie pojemności przeciwutleniającej prowadzono metodą pomiaru zdolności wygaszania rodnika DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl, Sigma) (10–14).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Większość publikacji na temat aktywności przeciwutleniającej grzybów pochodzi z dalekiego wschodu (Japonia, Korea, Chiny, Tajwan, Indie). Grzyby badanych gatunków wykazywały zdolności przeciwutleniające bardzo zróżnicowane w zależności od gatunku (13–16).

Tab e l a I. Zawartość polifenoli w wyciągach wodnych i etanolowych badanych grzybów

Tab l e I. Contents of total phenols in ethanolic and water extracts of mushroom species

Gatunek grzyba/miejsce zakupu	Zawartość polifenoli mg GAE/100 g suszu	
	wyciągi wodne	wyciągi etanolowe
Pieczarka dwuzarodnikowa LIDL	183,00±1,46 ^A	117,81±2,50 ^a
Pieczarka dwuzarodnikowa TESCO	136,00±0,52 ^B	102,19±0,35 ^b
Pieczarka dwuzarodnikowa AUCHAN	167,50±1,15 ^C	119,30±0,53 ^c
Agaricus blazei Internet	168,20±2,44 ^D	111,75±0,89 ^d
Pieczarka Portobello LIDL	223,33±2,66 ^E	128,12±1,46 ^e
Pieczarka brązowa LIDL	248,57±2,84 ^F	133,40±1,58 ^f
Pieczarka łąkowa Kapelusze + trzony	162,67±4,01 ^G	109,82±3,60 ^g
Pieczarka łąkowa Kapelusze	220,50±1,87 ^{G₁}	122,50±1,92 ^{g₁}
Pieczarka łąkowa Trzony	121,50±0,89 ^{G₂}	90,30±1,05 ^{g₂}

(A,a); (B,b); (C,c); (D,d); (E,e); (F,f); (G,g) – *** różnice statystycznie istotne w obrębie jednej odmiany;

(a,b,c,d,e,f,g) – różnice istotne (**) pomiędzy ekstraktami etanolowymi, oprócz (d i g) oraz (a i c);

(A,B,C,D,E,F,G) – różnice statystycznie istotne między ekstraktami wodnymi poszczególnych odmian (**), oprócz C i D.

Table II. Procent inhibicji rodnika DPPH przez etanolowe ekstrakty badanych grzybów

Table II. DPPH scavering (%) by ethanol extracts of the mushroom species

Gatunek grzyba	% INHIBICJI									
	stężenie wyciągu grzybowego w próbce mg/0,1 cm ³									
	0,8	1,6	2,0	2,4	3,2	4,0	8,0	12,0	16,0	
Pieczarka LIDL	9,08±0,50	30,59±0,8	35,67±0,6	39,29±1,1	47,28±1,2	62,15±1,89				
Pieczarka Tesco	11,83±0,40	18,05±0,5	27,19±0,7	37,19±0,8	50,73±0,7	69,27±0,90				
Pieczarka Auchan	13,96±0,40	20,28±0,8	24,28±0,9	27,32±1,9	50,93±0,6	51,19±0,80				
Agaricus blazei	8,29±0,81	15,00±0,6	17,46±1,2	20,95±1,3	27,11±1,5	33,16±1,50	48,37±2,1	55,90±1,8	59,30±2,2	
Pieczarka łąkowa	10,21±0,90	20,10±0,7	25,18±0,6	30,50±1,1	39,51±0,7	50,07±1,10				
Pieczarka łąkowa kapelusze	18,22±0,60	25,33±0,9	32,22±0,9	54,20±1,2	60,18±1,3	69,14±1,60				
Pieczarka łąkowa trzony	9,32±0,80	12,48±0,7	18,43±1,1	27,43±1,3	30,22±1,6	40,27±1,80				

Table III. Procent inhibicji rodnika DPPH przez wodne ekstrakty badanych grzybów

Table III. DPPH scavering (%) by water extracts of the mushroom species

Gatunek grzyba	% INHIBICJI									
	stężenie wyciągu grzybowego w próbce mg/0,1 cm ³									
	0,8	1,6	2,0	2,4	3,2	4,0	8,0	12,0	16,0	
Pieczarka LIDL	27,84±0,6	35,24±0,8	40,74±0,7	51,61±1,4	65,35±1,9	74,43±2,01				
Pieczarka Tesco	16,83±0,5	32,93±0,5	40,24±0,7	49,14±0,9	53,17±0,7	56,09±0,90				
Pieczarka Auchan	20,28±0,4	32,48±0,0	39,50±0,9	42,89±1,9	45,91±1,3	55,00±1,60				
Agaricus blazei	8,16±0,8	20,27±0,6	25,34±1,1	27,62±1,9	31,47±1,5	37,51±0,90	50,55±1,6	52,89±1,9	61,13±1,2	
Pieczarka łąkowa	14,66±0,2	26,28±0,5	30,51±0,8	33,58 ± 1,7	46,28±0,9	59,29±1,20				
Pieczarka łąkowa kapelusze	27,05±0,6	34,06±0,9	46,01±0,7	55,24±1,1	68,44±1,4	76,43±1,10				
Pieczarka łąkowa trzony	13,46±0,5	15,22±0,8	24,28±0,8	32,07±0,5	37,63±1,3	45,91±1,90				

Potencjał przeciwutleniający, istotny pod względem żywieniowym związany jest przede wszystkim z zawartością związków fenolowych (5, 14, 15, 16). W badanych pieczarkach stwierdzono od 130 do 250 mg tych związków w 100 g suszu (w przeliczeniu na kwas galusowy) (tab. I).

Zaobserwowano, że rodzaj rozpuszczalnika ma wpływ na właściwości przeciwutleniające i ogólną zawartość związków polifenolowych w ekstraktach. Większą ilość polifenoli oznaczono w wodnych ekstraktach. Najwięcej polifenoli oznaczono w ekstrakcie wodnym pieczarki brązowej 248,57 mg/100 g suszu, mniej w Portobello – 223,33 mg/100 g suszu. Podobne ilości polifenoli stwierdzono w *A. blazei* 168,12 i pieczarce łąkowej (*A. campestris*) 162,67 mg/100 g suszu. W pieczarkach białych w zależności od miejsca zakup stwierdzono różnice od 136,00 mg/100 g suszu w pieczarkach zakupionych w Tesco do 183,0 mg/100 g suszu w grzybach z Lidla. Zaobserwowane różnice mogą wynikać z odmiennych warunków wzrostu, uprawy, przechowywania grzybów. W wyciągach etanolowych poziom związków polifenolowych jest niższy od 102,19 mg/100 g suszu w pieczarkach zakupionych w Tesco do 119,3 mg (Auchan). Między badanymi odmianami pieczarek występują różnice istotne statystycznie (przy poziomie istotności $p \leq 0,001$).

Przeprowadzono również badania zawartości związków polifenolowych z uwzględnieniem części morfologicznej owocników (trzonów i kapeluszy) pieczarki łąkowej. Stwierdzono, że związki fenolowe nie są rozmieszczone w grzybach równomiernie i ich zawartość w poszczególnych częściach owocników różni się, kapelusze zawierają ich więcej – 220 mg/100 g suszu, zaś trzony 121,5 mg/100 g suszu. Występują różnice statystycznie istotne między zawartością polifenoli w kapeluszach i trzonach (zarówno w ekstraktach wodnych, jak i etanolowych).

Właściwości przeciwutleniające określono na podstawie zdolności do wygaszania rodnika DPPH. Wyniki oznaczonej aktywności antyoksydacyjnej z użyciem syntetycznego rodnika DPPH• wyrażono jako liczbę mg suszu grzybowego w 0,1 cm³ wyciągu wodnego lub etanolowego, który redukuje 50% rodnika DPPH• (obliczono parametr IC₅₀) (tab. II, tab. III). Siła działania wyciągów wodnych była wyższa niż etanolowych, co koreluje z większą zawartością związków polifenolowych. Najsilniejsze właściwości oksydacyjne stwierdzono w wyciągu wodnym pieczarki zakupionej w Lidlu i Auchan IC₅₀ = 2,4 mg/0,1 cm³. Siła działania wyciągów etanolowych i wodnych pieczarki *blazei* była niższa IC₅₀ (wyciąg etanolowy 10 mg, wodny 8 mg/0,1 cm³). Kapelusze pieczarki łąkowej wykazują wyższą aktywność przeciwutleniającą w porównaniu do trzonów.

Porównując ogólną zawartość związków fenolowych w badanych grzybach dzikorosnących (11) i uprawowych, zaobserwowano większą ich ilość w pieczarkach.

Podsumowując należy stwierdzić, że badane odmiany pieczarek mogą być źródłem związków polifenolowych. Na uwagę zasługuje wysoki poziom polifenoli w pieczarce brązowej.

WNIOSKI

1. Badane odmiany pieczarek odznaczają się zróżnicowaną zawartością związków fenolowych ogółem oraz różnymi właściwościami przeciwutleniającymi.

2. Zawartość polifenoli jest większa w ekstraktach wodnych niż etanolowych.
3. Pieczarka brązowa zawiera największą ilość związków polifenolowych, pieczarka dwuzarodnikowa zakupiona w marketach ma wyższy poziom polifenoli i większą aktywność przeciwutleniającą niż zakupiona przez Internet pieczarka blazei.
4. Stwierdzono zależność pomiędzy całkowitą zawartością związków polifenolowych, a zdolnością do inaktywacji rodnika DPPH●.
5. Badane pieczarki mogą stanowić źródło polifenoli w diecie.

A. Karmańska, J. Florczak, B. Karwowski

DETERMINATION OF THE CONTENTS OF POLYPHENOL COMPOUNDS IN SEVERAL VARIETIES OF CHAMPIGNONS AND THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY

Summary

Total contents of polyphenols, in terms of gallic acid, were determined in various varieties of champignons (*Agaricus bisporus*, *A.portobello*, *A.blazei* and *A.campestris*) with Folina-Ciocalteu reagent, and the antioxidant activity of the mushrooms was determined by DPPH reagent. The levels of polyphenolic compounds in the water extracts were higher than in ethanol. The highest content of polyphenols was 248.57 mg/100g in the *A.portobello* water extract, while the lowest value of 136 mg/100g was recorded in water extract for dried champignons purchased from Tesco. In ethanol extracts, the level of polyphenol compounds was lower and ranged from 102.19 mg/100g of dried mushrooms purchased in Tesco to 119.3 mg (Auchan). The observed differences may be due to different conditions of mushroom growth and storage. The antioxidant properties were determined from the ability to scavenge the DPPH radical. The strongest oxidative properties were found for the water extract of the mushroom purchased at Lidl and Auchan, IC₅₀ = 2.4mg/0.1cm³. The antioxidant potential of *A.blazei* ethanol and aqueous extracts was lower, IC₅₀ for ethanol extract 10 mg, for aqueous 8 mg/0.1 ml. The studied champignons may serve as a dietary source of polyphenol compounds. *A.portobello* variety is notable for its high levels of polyphenols.

PIŚMIENNICTWO

1. Kalbarczyk J., Radzki W.: Uprawiane grzyby wyższe jako cenny składnik diety oraz źródło substancji aktywnych. Herba Polonica, 2009; 55(4): 224-232. – 2. Siwulski M., Sobieralski K., Sas-Golak I. Wartość odżywcza i prozdrowotna grzybów. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. 2014; 1(92): 16-28. – 3. Turlo J.: Grzyby wielkoowocnikowe – niedoceniane źródło substancji leczniczych. Studia i Materiały CEPL w Rogowie, 2015; 17(44). – 4. Largeteau M.L., Llarena-Hernandez R.C., Regnauly-Roger C., Savoie J.M.: The medicinal *Agaricus* mushroom cultivated in Brazil, biology, cultivation and non-medicinal valorization. Appl.Microbiol. Biotechnol. 2011; 92(5): 3630-7. – 5. Mizuno T.: *Agaricus blazei* Murrill medicinal and dietary effects. Food Rev. Int. 1995; 11: 167-172. – 6. Kimura Y., Kido T., Takaku T., Sumiyoshi M., Baba K.: Isolation of an antiangiogenic substances from *Agaricus blazei* Murrill, its antitumor and antimetastatic actions. Cancer Sci. 2004; 95(9): 758-64. – 7. Menoli RCNL, Mantovani M.S., Ribeiro L.R., Speit G., Jordao B.Q., Antimutagenic effects of the mushroom *Agaricus blazei* Murrill extracts on V79 cells. Mutation Res. 2001; 496: 5-13. – 8. Gan, C. H., Nurul Amira, B. and Asmah, R. Antioxidant analysis of different types of edible mushrooms (*Agaricus bisporous* and *Agaricus brasiliensis*). International Food Research Journal 2013; 20(3): 1095-1102. – 9. Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phospho-molybdenicphosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult. 1965; 16: 144-158. – 10. Florczak J, Karmańska A., Karwowski B.: Badanie zawartości związków polifenolowych oraz aktywności przeciwutleniającej niektórych jadalnych gatunków grzybów dziko rosnących. Bromat. Chem. Toksykol. 2016; 49(4): 719-724.

11. *Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C.*: Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology* 1995; 28: 25-30. – 12. *Polak J., Bartoszek M., Stanimirova I.*: A study of the antioxidant properties of beers using electron paramagnetic resonance. *Food Chemistry* 2013; 141(3): 3042-3049. – 13. *Molyneux P.*: The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J. Scitechnol*, 2004; 26(2): 211-19. – 14. *Cheung L.M., Cheung P.C.K., Ooi V.E.C.*: Antioxidant activity and total phenolics of edible mushrooms extracts. *Food Chem.*, 2003, 81, 249-255. – 15. *Choi W.S., Sapers G.M.*: Effects of washing on polyphenols and polyphenol oxidase in commercial mushrooms (*Agaricus bisporus*), *Agaric. Food. Chem.* 1994, 42 (10): 2286-2290. – 16. *Dubost N.J., Ou B., Beelman R.B.*: Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. *Food Chem.*, 2007, 105: 727-735.

Adres: 90-151 Łódź, ul. Muszyńskiego 1

Marta Bożym, Małgorzata Wzorek¹, Iwona Kłosok-Bazan²

STOPIEŃ NARAŻENIA KORZYSTAJĄCYCH Z PŁYWALNI NA DZIAŁANIE WYBRANYCH TOKSYCZNYCH PRODUKTÓW DEZYNFEKCJI WODY

Katedra Inżynierii Środowiska
Wydziału Mechanicznego Politechniki Opolskiej
Kierownik: dr hab. inż. *N. Szmolke* prof. PO

¹ Katedra Inżynierii Procesowej
Wydziału Mechanicznego Politechniki Opolskiej
Kierownik: prof. dr hab. inż. *S. Witzak*

² Katedra Techniki Ciepłej i Aparatury Przemysłowej
Wydziału Mechanicznego Politechniki Opolskiej
Kierownik: dr hab. inż. *B. Dobrowolski* prof. PO

Słowa kluczowe: woda, basen, produkty dezynfekcji wody, trihalometany.
Keywords: water, swimming pool, disinfection by-product, trihalomethans.

Wstęp

Podczas dezynfekcji wody przy wykorzystaniu związków chloru powstają związki chemiczne będące produktami reakcji chloru z materią organiczną. Niektóre z tych związków są obojętne dla ludzi, jednak wiele z nich stwarza poważne zagrożenie zdrowotne. Związki te nazywane są ogólnie: ubocznymi produktami dezynfekcji wody (*DBP – Disinfection By-Products*). Już w 1974 r. stwierdzono ich obecność w wodzie pitnej (1). Okazało się, że DBP powstają także w wodzie basenowej. Do tego w znacznie większych ilościach niż w wodzie pitnej, z uwagi na wyższy stopień chlorowania oraz zwiększoną zawartość materii organicznej. Pierwsze informacje na temat DBP w wodzie basenowej pojawiły się w roku 1980 w badaniach niemieckich i amerykańskich (2). Zidentyfikowano już ponad 600 rodzajów tych związków i wciąż odkrywano nowe. Wśród produktów dezynfekcji wody wyróżnia się trzy najważniejsze grupy:

1. trihalometany (THM), w tym: chloroform (TCM, trichlorometan), dichlorobromometan (DCBM), chlorodibromometan (CDBM) i bromoform (TBM, tribromometan),
2. kwasy halogenooctowe (HAAs, halogenated acetic acids), takie jak: kwas mono-, di-, tri- chlorooctowy lub bromooctowy i inne,
3. chloraminy (CAM), w tym monochloramina (MCAM), dichloroaminy (DCAM) i trichloroaminy (TCAM) (3).

Do grupy THM zalicza się czasem tak zwane trihaloetany (THE), ale ich stężenie w wodzie jest znacznie mniejsze (3). Wszystkie trzy grupy różnią się właści-

wościami fizykochemicznymi oraz toksycznością. W przeciwieństwie do kwasów halogenooctowych, trihalogenometany łatwo uwalniają się z wody do powietrza, ze względu na dużą lotność (4). Lotnymi substancjami są także chloroaminy, odpowiedzialne za charakterystyczny zapach „chloru”. Są to związki szkodliwe dla ludzi. Do związków toksycznych obecnych w chlorowanej wodzie zalicza się także 3-chloro-4-dichlorometylo-5-hydrokso-2(5H)-furanon (MX). Związek ten został po raz pierwszy zidentyfikowany w latach 80. XX wieku. Prekursorami MX są głównie kwasy organiczne oraz aldehydy. Są one również prekursorami innego toksycznego związku obecnego w wodzie basenowej, czyli chlorku 2-chloro-5-okso-3-heksen diacylu (COHC) o mutagenności podobnej do MX.

Aby doszło do powstania DPB w chlorowanej wodzie, oprócz związków chloru muszą być obecne substancje organiczne, czyli prekursorzy tych związków. Nie wszystkie związki organiczne zawarte w wodzie są zdolne do reakcji z chlorem. Stwierdzono, że reakcji najłatwiej ulegają związki węgla rozpuszczalne w wodzie, tak zwane DOC (*Dissolved Organic Carbon*) (2). Na rodzaj powstających związków w wodzie poddawanej chemicznej dezynfekcji wpływa rodzaj stosowanego środka dezynfekującego. Do tego celu wykorzystuje się najczęściej związki chloru, ale także alternatywne metody: ozonowanie połączone z chlorowaniem, promieniowanie UV, metody elektrochemiczne czy też inne związki niezawierające chloru (bromowanie, jodowanie). Jednak w badaniach toksyczności wykazano, że związki bromowane wykazują wyższą toksyczność od chlorowanych (2). W literaturze opisuje się także próby wykorzystania do dezynfekcji wody nanocząstek metali (Ag, Cu) (5). Z badań wynika, że niektóre z alternatywnych metod dezynfekcji nie redukują ilości powstających DPB, a wręcz ją zwiększają (6). Na ilość i rodzaj powstających DPB w wodzie basenowej wpływa wiele więcej czynników. Dla przykładu niskie pH zmniejsza tworzenie THM, ale jednocześnie powoduje znaczny wzrost powstawania kwasów halogenooctowych (HAAs) (2). Na ilość DPB w wodzie basenowej wpływają także sami pływacy. Użytkownicy basenów wprowadzają do wody różne zanieczyszczenia (np. cząstki naskórka, pot, mocz), a także mikroorganizmy. Według *Wyczarskiej-Kokot* (7) jedna osoba może wprowadzić do wody basenowej nawet do miliarda bakterii, w tym również chorobotwórczych, co przy znacznej frekwencji może prowadzić do bardzo szybkiego rozprzestrzenienia się infekcji. Głównym prekursorem DPB jest mocznik. Ludzie wprowadzają go do wody wraz z potem. Związek ten jest prekursorem tworzenia mutagennych chloroamin, przyczyny alergii i podrażnień oczu, błon śluzowych nosa, górnych dróg oddechowych oraz układu pokarmowego u pływających (7). Korzystający z basenów powinni mieć świadomość, że przyczyniają się do powstawania toksycznych związków w wodzie, w której pływają.

W 2015 r. weszła w życie nowelizacja przepisów dotyczących jakości wody w pływalniach (8). Nakazują monitorowanie stężenia trihalometanów, należących do DPB, w wodzie basenowej oraz określają ich graniczne wartości ($100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$). Nie są normowane natomiast pozostałe grupy należące do DPB, czyli chloroaminy i kwasy halogenooctowe. W wielu krajach europejskich konieczność badania stężenia THM w wodzie basenowej obowiązuje już od wielu lat. Normowana jest suma THM, która wynosi np. w Portugalii $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$, w Niemczech $20 \mu\text{g}/\text{dm}^3$, w Danii $50 \mu\text{g}/\text{dm}^3$, w USA (wg EPA) $80 \mu\text{g}/\text{dm}^3$, w Kanadzie $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ (oraz 16

$\mu\text{g}/\text{dm}^3$ BDCM (bromodichlorometanu)). Natomiast WHO ogranicza stężenia poszczególnych związków należących do trihalometanów na poziomach: $300 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ dla TCM, $60 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ dla BDCM oraz $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ zarówno dla CDBM, jak i TBM (9). Z powodu konieczności badania tych związków również w krajowych kąpieliskach, w dalszej części pracy skupiono się na toksyczności oraz ograniczeniu negatywnego wpływu trihalometanów zawartych w wodzie basenowej.

Toksyczność produktów dezynfekcji wody basenowej

Już w latach 70. XX w. stwierdzono potencjalnie rakotwórcze działanie chloroformu, należącego do THM (10). Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) klasyfikuje chloroform i bromodichlorometan, do związków przypuszczalnie rakotwórczych dla ludzi (grupa 2B), mających negatywny wpływ na układ nerwowy, wątrobę oraz nerki (11, 12). Sugeruje się, że picie chlorowanej wody może zwiększyć częstość występowania raka pęcherza, odbytnicy oraz raka jelita grubego (10). Niezależnie od drogi ich wchłonięcia, trihalometany wraz z krwią przemieszczają się do narządów wewnętrznych, a wydalanie następuje głównie z moczem. U ssaków, w tym u ludzi, THM są dobrze wchłaniane i metabolizowane, ale też szybko eliminowane (13). Na szkodliwość trihalometanów wpływa droga ich wchłonięcia. W badaniach naukowych nie stwierdzono jednoznacznie, które ze źródeł narażenia są najbardziej niebezpieczne dla korzystających z basenów. Według niektórych autorów THM z wody basenowej wchłaniane są głównie przez skórę (5). W innych doniesieniach jako główną drogę narażenia pływaków na THM wskazuje się drogę oddechową, gdyż są to związki bardzo lotne, a ich najwyższe stężenie stwierdza się nad taflą wody (4). Sugeruje się jednak, że trihalometany pobrane drogą oddechową w większości zostają usunięte wraz z wydychanym powietrzem, a niewielka ilość przedostaje się do krwi, a następnie mocz (10, 12). Wielu autorów zwraca też uwagę, że niewłaściwie działająca wentylacja wpływa bezpośrednio na stopień narażenia pływaków. Sprawny system wentylacji w hali basenowej nie jest jedynym rozwiązaniem w kwestii wchłaniania trihalometanów drogą oddechową. Na ich nagromadzenie w powietrzu hali basenowych wpływa stopień chlorowania wody, jej temperatura, ale także liczba pływaków oraz intensywność ich pływania (5). Stwierdzono, że pływacy wyczynowi są bardziej narażeni na występowanie chorób górnych dróg oddechowych, w tym astmy, w porównaniu do sportowców uprawiających inne dyscypliny sportowe (12, 14). Okazuje się, że na stopień wchłonięcia THM przez osoby przebywające na basenach wpływa ich aktywność fizyczna. W badaniach hiszpańskich stwierdzono wyższy poziom tych związków w wydychanym powietrzu u osób pływających w porównaniu do ratowników czy osób pracujących na danym obiekcie (15). Wykazano, że poziom THM we krwi pływaków jest skorelowany z poziomem tych substancji w powietrzu pływalni, natomiast nie zależy od ich stężenia w wodzie (12).

Przypuszcza się, że pewne objawy występujące u pływaków i obsługi pływalni, takie jak podrażnienie oczu i skóry, czy problemy z oddychaniem, mogą być spowodowane działaniem chloroamin obecnych w powietrzu pływalni, nie zaś trihalometanów. Potwierdzają to badania *Thicketta* i wspólr. (16), którzy opisali trzy przypadki wystąpienia astmy i alergii skórnych u ratowników wskutek dzia-

łania trichloroaminy. *Massin* i współpr. (17) stwierdzili, że trichloroamina obecna w powietrzu francuskich basenów była przyczyną podrażnienia oczu i nosa wśród 334 badanych ratowników. Podobne wyniki uzyskali *Jacobs* i współpr. (18), którzy przeprowadzili badania 624 pracowników basenów w Holandii. Stwierdzili u nich podrażnienia skóry i górnych dróg oddechowych, bez zwiększonej zachorowalności na astmę. Obecnie wiele badań skierowanych jest na bezpieczeństwo zdrowotne dzieci korzystających z basenów (12, 19). Należy tutaj zaznaczyć, że astma to najczęściej występująca choroba przewlekła u dzieci (12). W badaniach przeprowadzonych w Hiszpanii wśród dzieci korzystających z basenów nie stwierdzono jednoznacznie wpływu DBP na zwiększone ryzyko astmy czy też pogorszenia stanu zdrowia. Natomiast zauważono negatywny wpływ wody basenowej na skórę i zwiększenie występowania skórnych zmian atopowych (12). W innej publikacji (20) przeprowadzono badania dotyczące narażenia dzieci w wieku 9-12 lat na działanie trihalometanów pochodzących z wody pitnej oraz basenowej. Okazało się, że dzieci uczęszczające na baseny miały cztery razy większy wychwyty THM w porównaniu do dzieci nieumiejących pływać. W przypadku dzieci niekorzystających z pływalni, głównym źródłem narażenia na działanie THM był kontakt z wodą podczas kąpieli pod prysznicem. Podobne badania prowadzone były we Włoszech, Niemczech, Irlandii czy Belgii. Efektem badań belgijskich było stworzenie raportu, w którym odradza się korzystanie z basenów przez dzieci do 1. roku życia, zwłaszcza u których rodzice chorowali na astmę lub atopowe zapalenie skóry.

Grupą szczególnie narażoną na działanie substancji toksycznych są kobiety ciężarne. Podejrzewa się, że związki z grupy trihalometanów pobrane przez matkę podczas korzystania z basenu, mogą przenikać przez łożysko. Jednak nie uzyskano jednoznacznych dowodów na to, że związki szkodliwe z wody basenowej mają jakikolwiek wpływ na zdrowie kobiet ciężarnych, a także na powstawanie wad rozwojowych płodów lub niską masę urodzeniową dzieci. Nie stwierdzono także bezpośredniego wpływu THM pochodzących z wody basenowej na rozrodność kobiet (11).

Z uwagi na możliwość rakotwórczego działania niektórych trihalometanów, w badaniach pływaków ocenia się także obecność biomarkerów genotoksyczności. Tego typu badania przeprowadzili *Villanueva* i współpr. (21), którzy potwierdzili wpływ tych związków na zwiększenie ryzyka zachorowania na raka pęcherza wśród osób korzystających z basenów. Podobnie *Kogevinas* i współpr. (22) oznaczyli obecność biomarkerów w moczu pływaków i potwierdzili tym samym potencjalnie genotoksyczne skutki ekspozycji na THM przez korzystających z basenów. Autorzy ci zwracają jednak uwagę, że pozytywne skutki pływania są nieocenione, a zagrożenia ze strony toksycznych substancji powinny być minimalizowane poprzez właściwie stosowane zabiegi techniczne w oczyszczaniu wody oraz sprawne działanie systemu wentylacji.

Jak zmniejszyć narażenie?

Według danych Ministerstwa Sportu i Rekreacji z 2015 r. (23) w Polsce funkcjonuje 736 krytych pływalni, w tym 12 pływalni olimpijskich, 66 pływalni typu sportowego, 489 pływalni długości 25 m i 169 pływalni szkoleniowo-rekreacyj-

nych. Łączna liczba niecek basenowych we wszystkich 736 pływalniach w kraju to 849 obiektów. Największa liczba krytych pływalni znajduje się w województwie śląskim (120 obiektów), następnie w województwie mazowieckim (84 obiekty) i pomorskim (62 obiektów). Na terenie Opolszczyzny funkcjonuje 18 krytych pływalni. Ministerstwo nie podaje liczby użytkowników tych obiektów. Według szacunków *Zwienera* i współpr. (2) w Niemczech z krytych pływalni korzysta 250–300 milionów osób, a w USA aż 400 milionów. W Stanach Zjednoczonych funkcjonuje 250 000 basenów publicznych i ok. 10 milionów basenów prywatnych. Natomiast w Europie najwięcej basenów znajduje się we Francji (773 000), Niemczech (625 000), Wielkiej Brytanii (155 000) i Włoszech (94 000). W Wielkiej Brytanii jedna trzecia dzieci i prawie połowa dorosłych korzysta z basenów co najmniej raz w tygodniu (2). Wszyscy korzystający z basenów są narażeni na szkodliwe działanie ubocznych produktów dezynfekcji wody. Na stężenie tych związków w wodzie basenowej wpływa między innymi rodzaj czynnika stosowanego do dezynfekcji. **Chlorowanie** wody polega na dodaniu do wody basenowej podchlorynu wapnia lub sodu, rzadziej w postaci gazowego chloru lub przez elektrolityczną syntezę podchlorynu sodu (5). W badaniach *Righi* i współpr. (11) stwierdzono największe stężenie trihalometanów w wodzie basenowej chlorowanej przy wykorzystaniu dichloroizocyanuranu sodu, następnie podchlorynu sodu, kwasu trichloroizocyanurowego, najmniej tych związków powstawało przy dezynfekcji podchlorynem wapnia. Coraz częściej w celu zmniejszenia ilości DBP w wodzie stosuje się alternatywne metody dezynfekcji, np. **bromowanie**. Okazuje się jednak, że związki bromoorganiczne są dla ludzi bardziej toksyczne (cytotoksyczne i mutagenne) niż chlorowane. Udowodniono, że związek bromu wykorzystywany do dezynfekcji wody (HBrO) jest bardziej reaktywny niż HClO i ma większy potencjał do tworzenia THM (15). Poza tym stwierdza się liczniejsze występowanie podrażnień skóry u osób korzystających z basenów poddawanych bromowaniu (24). Obecność bromowanych THM oznacza się także w wodzie dezynfekowanej metodą **elektrochemiczną** (*EGMO – Electrochemically Generated Mixed Oxidants*). W metodzie tej wykorzystuje się między innymi sole bromkowe, stąd podwyższone stężenie bromowanych THM w wodzie poddawanej tej metodzie dezynfekcji (5). Do alternatywnych metod dezynfekcji, które mają obniżyć potencjał tworzenia DBP w wodzie basenowej należy wykorzystanie ozonowania czy **promieniowania UV**. Okazuje się jednak, że promieniowanie UV zmniejsza ilość powstającej chloroaminy w wodzie basenowej, ale jednocześnie zwiększa stężenie trihalometanów (6, 25). Promieniowanie UV zmienia strukturę związków organicznych zawartych w wodzie, powodując wzrost udziału frakcji o mniejszej masie cząsteczkowej, które łatwo reagują z chlorem i azotem. Jak podaje *Włodyka-Bergier* i *Bergier* (26) tak zmienione substancje doprowadzają do powstawania związków toksycznych na przykład halonitrometanów. Autorzy stwierdzili największy przyrost potencjału tworzenia DBP w wodzie, gdzie dawka promieniowania UV była największa.

Ozonowanie jest kolejną alternatywną metodą dezynfekcji wody, jednak o krótkim czasie działania (20–30 min.). Dlatego stosuje się je zwykle łącznie z chlorowaniem. Ozonowanie wody może powodować powstawanie w niej szkodliwych substancji, np. aldehydów, w tym toksycznego formaldehydu (3). Innymi związkami powstającymi podczas ozonowania wody są kwasy karboksylowe. Kolejną

metodą dezynfekcji wody basenowej, obecnie testowaną w USA, jest stosowanie **nanocząstek** srebra lub miedzi. Wstępne badania potwierdzają zmniejszenie ilości powstających w wodzie THM oraz minimalizację efektów podrażnienia oczu czy skóry (5). Przy ocenie tej metody dezynfekcji, należy zachować ostrożność, gdyż do tej pory jest jeszcze zbyt mało danych na temat toksyczności nanocząstek i oddziaływania na ludzki organizm.

Innym zagadnieniem dotyczącym problemu produktów dezynfekcji wody basenowej jest ilość materii organicznej zawartej w wodzie. Rodzaj i ilość substancji organicznych wprowadzanych do wody wraz z użytkownikami jest trudna do oszacowania. Człowiek wnosi na skórę mocznik, kreatyniny, aminokwasy, części naskórka, będące prekursorami tworzenia DBP, w tym chloroamin i trihalometanów. Szacuje się, że na skórę człowieka znajduje się około 100–160 mg mocznika. Zatem im więcej osób korzysta z basenów, tym więcej mocznika znajduje się w wodzie. Zwiększa to ilość ubocznych produktów dezynfekcji. Zmniejszenie ilości mocznika i innych zanieczyszczeń wprowadzanych przez ludzi można osiągnąć dzięki obowiązkowi kąpeli pod prysznicem przed wejściem do basenu. Sugeruje się nawet kąpiel z użyciem mydła, co może zredukować ilość wprowadzanego mocznika nawet o ponad 90%. Oprócz kąpeli przed wejściem do basenu warto również zwrócić uwagę na zalecenia dotyczące zakładania czepków, gdyż włosy uznaje się za najbardziej zanieczyszczoną część ciała (5).

Kolejnym zagadnieniem związanym z redukcją DBP w wodzie basenowej jest oczyszczanie wody. Normy jakości wody, określone w przepisach prawnych, muszą być zachowane przez eksploatatora basenów. Priorytetem jest czystość mikrobiologiczna, na drugim miejscu jest stężenie niebezpiecznych związków (12). Zarządzający obiektem są zobowiązani nie tylko do utrzymania poziomu mikroorganizmów czy chloru na odpowiednim poziomie, ale także produktów dezynfekcji takich jak THM, co wpływa na konieczność zastosowania odpowiednich metod oczyszczania wody. W większości krajowych basenów stosuje się filtrację na złożach piaskowych czy krzemkowych oraz flokulację. Droższą metodą, ale dającą lepsze efekty, jest połączenie filtracji membranowej i intensywnego utleniania, które eliminują większość DOC (o 60%) oraz mikroorganizmów, w porównaniu do metod tradycyjnych (2). Proponowane są także nowe technologie w poprawieniu czystości wody basenowej, np. poprzez zastąpienie kwasów nieorganicznych stosowanych do korekacji pH wody przez gazowy CO₂ (27). Jednym z najważniejszych czynników wpływających na zdrowie pływaków jest sprawnie działający system wentylacji krytych pływalni. Zaleca się, żeby system wentylacyjny pracował tylko w oparciu o świeże powietrze, co ma zapewnić odpowiednie usuwanie ubocznych produktów dezynfekcji wody z powietrza. Jest to jednak rozwiązanie niekorzystne z uwagi na zużywanie dużych ilości energii do jego podgrzania. Dlatego można zastosować zdecentralizowany system wentylacji, dzięki czemu poprawia się jakość powietrza i zmniejsza zużycie energii elektrycznej i ciepła (5).

Podsumowując, toksyczność ubocznych produktów dezynfekcji wody dla pływaków zależy od stężenia tych związków w wodzie oraz powietrzu pływalni, na co z kolei ma wpływ temperatura i sposób dezynfekcji wody, efektywność jej oczyszczania oraz sprawność systemu wentylacji. Niebagatelny wpływ mają także sami pływacy, ich liczba, intensywność pływania oraz czas korzystania z basenu. W celu

minimalizacji narażenia warto sprawdzić jaki rodzaj dezynfekcji jest stosowany w danym obiekcie, czy parametry wody spełniają normy jakości, jaki zastosowano system wentylacji. Ważnym też jest aby każdy korzystający z basenu miał świadomość, że biorąc prysznic przed wejściem, wpływa bezpośrednio na jakość wody.

Zawartość trihalometanów w polskich basenach

Do niedawna nie było konieczności oznaczania trihalometanów w wodzie basenowej. Limitowane było stężenie chloru wolnego, chloru całkowitego i węgla organicznego (TOC). W 2015 roku w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia (8) ustalono graniczne wartości nie tylko dla sumy trihalometanów (Σ THM), ale także chloroformu. Ustalono wartości graniczne dla tych związków: stężenie sumy THM nie powinno przekraczać $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$, a chloroformu $30 \mu\text{g}/\text{dm}^3$, za wyjątkiem wody w nieckach basenowych dla dzieci, gdzie stężenie chloroformu nie może przekroczyć wartości $20 \mu\text{g}/\text{dm}^3$. W krajowej literaturze można znaleźć niewiele wyników badań dotyczących stężenia THM w wodzie basenowej, inaczej niż w przypadku wody pitnej. W tabeli I przedstawiono przykładowe wyniki badań jakości wody pochodzącej z krajowych pływalni i stężenia trihalometanów w kilku nieckach basenowych. Każda niecka miała niezależny system oczyszczania wody. Autorzy (28) zbadali sumę THM na dopływie i odpływie z każdej niecki. W wodzie zasilającej kompleks oznaczyli stężenie tych związków na bardzo niskim poziomie: $1,2 \mu\text{g}/\text{dm}^3$. Natomiast na w wodzie z poszczególnych niecek od 17 do $28 \mu\text{g}/\text{dm}^3$. Niepokojąco wysokie stężenie autorzy uzyskali dla wody pobranej z brodzika dla dzieci. Jest to prawdopodobnie związane z wyższym udziałem węgla organicznego w wodzie w tej niecce. W badaniach *Czajki* i współpr. (29) oceniono wpływ chlorowania solanki w basenie leczniczym na zawartość w niej trihalometanów. Sumę THM autorzy oznaczyli w granicach $42\text{--}68 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ w świeżej wodzie oraz $72\text{--}101 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ po dwóch miesiącach eksploatacji, co tłumaczą zwiększeniem ilości węgla organicznego w wodzie. Uzyskane przez w/w autorów wyniki mieszczą się w granicach ustalonych w Rozporządzeniu (8). W badaniach własnych przeprowadzonych w 2015 r. na pięciu krytych oraz pięciu odkrytych basenach Opolszczyzny, oznaczono THM w bardzo szerokich granicach: od 27 do $279 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ dla basenów krytych oraz od 15 do aż $551 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ dla odkrytych (tab. I) (30).

Tabela I. Stężenie trihalometanów (THM) w wodzie krajowych pływalni

Table I. Concentration of trihalomethans (THMs) in Polish swimming pools

Kompleks basenowy (28)	Solanka uzdrowskowego basenu leczniczego (29)	Badania własne 2015 r. (30)
$(\mu\text{g}/\text{dm}^3)$		
Woda zasilająca 1, 2 Niecka sportowa 24–25 Niecka rekreacyjna 19–23 Wanny spa 17–22 Brodzik dla dzieci 25–28	Przed eksploatacją 42–68 Po 2 mies. eksploatacji 72–101	Baseny kryte 27–279* Baseny odkryte 15–551*

* – w badaniach stwierdzono liczne przekroczenia dopuszczalnych wartości dla trihalometanów ($100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$) (8) w wodzie pobranej z pływalni Opolszczyzny

Stwierdzono, że po wymianie wody w nieckach basenowych udział THM zmniejszył się. Natomiast w trakcie eksploatacji stężenie tych związków rosło w czasie. Może to świadczyć o niskiej sprawności systemu oczyszczania wody z materii organicznej. W badanych basenach stosowano proste systemy oczyszczania wody, bazujące głównie na złożach filtracyjnych różnego typu. We wszystkich basenach stosowano chlorowanie wody, w jednym przypadku zastosowano dodatkowo promieniowanie UV. Najmniej korzystny okazał się system bazujący na złożu żwirowo-piaskowo-antracytowym. Pozostałe obiekty posiadały filtry na bazie ziemi okrzemkowej. Nieco inaczej sytuacja wyglądała w przypadku obiektów otwartych. Niektóre z nich funkcjonują od ponad 80 lat. Większość nie posiadała systemu recyrkulacji i filtracji wody, poza jednym wyjątkiem. Ich eksploatacja polega głównie na napełnieniu niecki basenowej wodą podziemną, ręcznym dozowaniu związków chloru i monitorowaniu jakości wody. Przy znaczącym jej pogorszeniu, niecka była opróżniana i po oczyszczeniu, napełniana świeżą wodą. Wyższy udział THM w wodzie z basenów odkrytych wiąże się najprawdopodobniej z wyższym stopniem chlorowania wody oraz zwiększonym udziałem materii organicznej w stosunku do wód z krytych pływalni. Jednak narażenie ze strony trihalometanów w basenach odkrytych jest mniejsza, gdyż ograniczone jest ich wchłanianie drogą oddechową. W badaniach stwierdzono, że dominującym związkiem z grupy THM był chloroform i bromoform. Planuje się rozszerzenie badań o większą liczbę obiektów oraz ocenę jakości powietrza w basenach krytych, w celu identyfikacji potencjalnych źródeł tworzenia się tych związków oraz ich eliminacji.

Podsumowanie

Korzyści zdrowotne wynikające z pływania przewyższają potencjalne ryzyko dla zdrowia ze strony zanieczyszczeń chemicznych obecnych w wodzie basenowej. Zapewnienie bezpieczeństwa sanitarnego, ale także chemicznego wody powinno być priorytetem dla właścicieli basenów. Jako korzystający z basenów, nie mamy większego wpływu na stosowany rodzaj dezynfekcji, system oczyszczania wody czy wentylacji na danym obiekcie. Warto jednak wiedzieć jaki rodzaj dezynfekcji stosuje się w basenie, z którego korzystamy, jak często wymieniana jest woda w niecce, czy zachowane są normy jakości wody oraz jaki system wentylacji jest stosowany. Dla pływaków ważne jest także uświadomienie sobie, że bezpośrednio wpływają na czystość wody basenowej. Wcześniejsze wzięcie prysznicu powoduje zmycie mikroorganizmów, drobin naskórka i zanieczyszczeń, które zwiększają ilość toksycznych produktów dezynfekcji wody, co bezpośrednio wpływa na nasze zdrowie.

PIŚMIENNICTWO

1. *Rook, J. J.*: Formation of haloforms during chlorination of natural waters. *Water Treat. Exam.*, 1974; 23: 351-357. – 2. *Zwiener C., Richardson S.D., DeMarini D.M., Grummt T., Glauner T., Frimmel F.*: Drowning in disinfection byproducts? Assessing swimming pool water. *Environ. Sci. Techn.*, 2007; 41: 363-372. – 3. *Nawrocki J.*: Uboczne produkty utleniania i dezynfekcji wody – doświadczenia ostatnich 30 lat. *Ochrona Środowiska*, 2005; 27(4): 3-12. – 4. *Catto C., Simard S., Charest-Tardif G., Rodriguez M., Tardif R.*: Occurrence and spatial and temporal variations of disinfection by-products in the water and air of two indoor swimming pools. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2012; 9: 2562-2586. – 5. *Bożym M., Klosok-Bazan I., Wzorek M.*: Problem powstawania i toksyczności trihalometanów w wodach basenowych. *Instal*, 2016; 11: 57-61. – 6. *Biń A.K.*: Uboczne produkty dezynfekcji wody w basenach pływackich. *Instal*, 2009; 2: 30-36. – 7. *Wyczarska-Kokot J.*: Wpływ metody dezynfekcji na zawartość chloramin w wodzie basenowej. *Ochr. Środ.*, 2014; 36(2): 37-42. – 8. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13 listopada 2015 roku w sprawie wymagań, jakim powinna odpowiadać woda na pływalniach, Dz.U. 2015 poz. 2016. – 9. *Maia R., Correia M., Brás Pereira I.M., Beleza V.M.*: Optimization of HS-SPME analytical conditions using factorial design for trihalomethanes determination in swimming pool water samples. *Microchem. J.*, 2014; 112: 164-171. – 10. *Pentamwa P., Sukton B., Wongklom T., Pentamwa S.*: Cancer risk assessment from trihalomethanes. *Int. J. Environ. Sci. Develop.*, 2013; 4(5): 538-544.
11. *Righi E., Fantuzzi G., Predieri G., Aggazzotti G.*: Bromate, chlorite, haloacetic acids, and trihalomethanes occurrence in indoor swimming pool waters in Italy. *Microchem. J.*, 2014; 113: 23-29. – 12. *Villanueva C.M., Font-Ribera L.*: Health impact of disinfection by-products in swimming pools. *Ann. Ist Super Sanita*, 2012; 48(4): 387-396. – 13. IPCS: Disinfectants and disinfectant by-products. International programme on chemical safety. Environmental Health Criteria Geneva, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2000; 23-26. – 14. *Fisk M.Z., Steigerwald M.D., Smoliga J.M., Rundell K.W.*: Asthma in swimmers: A review of the current literature. *Phys. Sportsmed.*, 2010; 38(4): 28-34. – 15. *Lourencetti C., Grimalt J.O., Marco E., Fernandez P., Font-Ribera L., Villanueva C.M., Kogevinas M.*: Trihalomethanes in chlorine and bromine disinfected swimming pools: Air-water distributions and human exposure. *Environ. Int.*, 2012; 45: 59-67. – 16. *Thickett K.M., McCoach J.S., Gerber J.M., Sadhra S., Burge P.S.*: Occupational asthma caused by chloramines in indoorswimming-pool air. *Eur. Respir. J.*, 2002; 19(5): 827-832. – 17. *Massin N., Bohadana A.B., Wild P., Hery M., Toamain J.P., Hubert G.*: Respiratory symptoms and bronchial responsiveness in lifeguards exposed to nitrogen trichloride in indoor swimming pools. *Occup. Environ. Med.*, 1998; 55(4): 258-263. – 18. *Jacobs J.H., Spaan S., van Rooy G.B., Meliefste C., Zaat V.A., Rooyackers J.M., Heederik D.*: Exposure to trichloramine and respiratory symptoms in indoor swimming pool workers. *Eur. Respir. J.*, 2007; 29(4): 690-698. – 19. *Weisel C.P., Richardson S.D., Nemery B., Aggazzotti G., Baraldi E., Blatchley E.R. III, Blount B.C., Carlsen K.H., Eggleston P.A., Frimmel F.H.*: Childhood asthma and environmental exposures at swimming pools: state of the science and research recommendations. *Environ. Health Perspect.*, 2009; 117: 500-507. – 20. *Font-Ribera L., Kogevinas M., Nieuwenhuijsen M.J., Grimalt J.O., Villanueva C.M.*: Patterns of water use and exposure to trihalomethanes among children in Spain. *Environ. Res.*, 2010; 110: 571-579.
21. *Villanueva C.M., Cantor K.P., Cordier S., Jaakkola J.J., King W.D., Lynch C.F., Porru S., Kogevinas M.*: Disinfection byproducts and bladder cancer: a pooled analysis. *Epidemiology*, 2004; 15(3): 357-67. – 22. *Kogevinas M., Villanueva C.M., Font-Ribera L., Liviach D., Bustamante M., Espinosa F., Nieuwenhuijsen M.J., Espinosa A., Fernandez P., DeMarini D.M., Grimalt J.O., Grummt T., Marcos R.*: Genotoxic effects in swimmers exposed to disinfection by-products in indoor swimming pools. *Environ. Health Perspect.*, 2010; 118: 1531-1537. – 23. Raport Ministerstwa Sportu i Turystyki „Pływalnie kryte w Polsce. Inwentaryzacja bazy sportowej”, Warszawa, kwiecień 2015 r. <http://www.msport.gov.pl/badania-i-analizy/infrastruktura>. – 24. *Pardo A., Nevo K., Vigiser D., Lazarov A.*: The effect of physical and chemical properties of swimming pool water and its close environment on the development of contact dermatitis in hydrotherapists. *Am. J. Ind. Med.*, 2007; 50: 122-126. – 25. *Cassan, D., Mercier, B., Castex, F., Rambaud, A.*: Effects of medium-pressure UV lamps radiation on water quality in a chlorinated indoor swimming pool. *Chemosphere*, 2006; 62: 1507-1513. – 26. *Włodyka-Bergier A., Bergier T.*: Wpływ dezynfekcji wody promieniami nadfioletowymi na potencjał tworzenia halogenowych produktów chlorowania w sieci wodociągowej. *Ochr. Środ.*, 2013; 35(3): 53-57. – 27. *Gomra A., Guisasola A., Tayr C., Baeza J.A., Baeza M., Bartroli A., Lafuente J., Bartroli J.*: Benefits of carbon dioxide as pH reducer in chlorinated indoor swimming pools. *Chemosphere*, 2010; 80: 428-432. – 28. *Szczygłowska R., Chyc M., Burzala*

B., Kołwzan B.: Ocena jakości bakteriologicznej i fizyczno-chemicznej wody basenowej w wybranym krytym obiekcie rekreacyjnym. *Ochr. Środ.*, 2012, 34(4): 51-56. – 29. *Czajka K., Sziwa D., Latour T., Adamczewska M.*: Badania zawartości trihalometanów w solance uzdrowiskowego basenu leczniczego i powietrza hali basenowej. *Roczn. PZH*, 2003; 54(1): 109-117. – 30. *Kłosok-Bazan I., Wzorek M. Bożym M.*: Projekt Politechniki Opolskiej pt. „Identyfikacja THM i THE w wodach basenowych województwa opolskiego.” dofinansowanego z Wojewódzkiego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej w Opolu w 2015 roku (nr 4/2015/G-41/BN-PO/D).

Adres: 45-271 Opole, ul. Mikołajczyka 5

Anna Kozieł, Bolesław Karwowski

PRZEGLĄD BADAŃ NAD PAPIEROSAMI ELEKTRONICZNYMI W KONTEKŚCIE ANALIZY LITERATURY I ZAINTERESOWANIA SPOŁECZNEGO*

Zakład Bromatologii, Katedry Bromatologii
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik: dr hab. prof. nadzw. *B. Karwowski*

Celem pracy była analiza najnowszych publikacji dotyczących papierosów elektronicznych oraz związanych z nimi tematów badawczych dotyczących e-papierosów dla wskazania obszarów, w których prace naukowe mogą służyć rozwojowi i zmianie polityki w zakresie zdrowia publicznego. Przeprowadzona analiza ilościowa wskazuje na rosnące zainteresowanie papierosami elektronicznymi w ciągu ostatnich kilku lat. Analiza jakościowa nie daje jednak jednoznacznych wyników. Bezpieczeństwo, wpływ używania czy rola, jaką mogą odgrywać papierosy elektroniczne w rzucaniu palenia tytoniu, nie są wciąż do końca określone. Ankieta przeprowadzona wśród instytucji zajmujących się zdrowiem publicznym i badaniami nie wskazuje, aby prowadzone analizy i badania były na bieżąco wykorzystywane w kształtowaniu polityki w zakresie zdrowia publicznego.

Hasła kluczowe: papieros elektroniczny.

Key words: electronic cigarette.

Używanie tytoniu jest jedną z przyczyn występowania chorób niezakaźnych i powoduje na świecie ponad 6 milionów zgonów rocznie. Zauważalne są coraz częstsze działania państw mające na celu ograniczenie używania produktów tytoniowych. Sto osiemdziesiąt krajów stanowi stroną Ramowej Konwencji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO – World Health Organization) (1) ds. Zwalczania Używania Tytoniu (WHO FCTC Framework Convention on Tobacco Control) przyjętej przez Światowe Zgromadzenie Zdrowia (World Health Assembly) w 2003 r. Jednocześnie, już ponad 10 lat temu pojawiły się elektroniczne papierosy (e-papierosy). W piśmiennictwie angielskojęzycznym można spotkać także skrót – ENDS (ang. Electronic Nicotine Delivery System). Patent na alternatywne formy dostarczania nikotyny do organizmu zarejestrowano w 1963 r. (stworzył go Herbert A. Gilbert) (2), ale narzędzie, które znamy dziś, wynalezione zostało w 2003 r. w Chinach przez Hon Lik i z założenia miało być alternatywną formą dostarczenia nikotyny do organizmu. W 2014 r. na prośbę sygnatariuszy FCTC, WHO przygotowało raport na temat elektronicznego sposobu dostarczania nikotyny do organizmu czło-

* Praca finansowana z działalności statutowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (Nr 503/3-045-02/503-01)

wieka (3). Tak zwane elektroniczne papierosy działają na zasadzie płynnej nikotyny dostarczanej wraz z parą wodną drogą wziewną do organizmu. Dyskusja na temat papierosów elektronicznych dotyczy kilku aspektów. Najważniejszym z nich jest znalezienie odpowiedzi na podstawowe kwestie: czy są one bezpieczne, czy mogą pomagać w rzucaniu palenia tradycyjnych papierosów i czy mogą je całkowicie zastąpić?

Badania nad nową formą przyjmowania nikotyny trwają w wielu krajach świata, jednakże WHO informowało w 2014 r. (4), że nie ma niezależnych badań wskazujących jednoznacznie, jakie są skutki zdrowotne używania elektronicznych papierosów. Jednocześnie rynek tych papierosów podlega wzrostowi z roku na rok. Według Amerykańskiej Agencji Kontroli Chorób (CDC – Centers for Disease Control), używanie papierosów elektronicznych tylko wśród młodzieży wzrosło od 2011 do 2014 r. ośmiokrotnie. Analitycy biznesowi zakładają nawet, że do 2020 r. sprzedaż papierosów elektronicznych w Stanach Zjednoczonych może przewyższyć sprzedaż tradycyjnych produktów tytoniowych.

Celem pracy było zidentyfikowanie głównych kierunków badawczych związanych z papierosami elektronicznymi w celu wskazania obszarów, w których badania naukowe mogą służyć rozwojowi i zmianie polityki w zakresie szeroko pojętego zdrowia publicznego.

MATERIAŁ I METODY

W ramach przeprowadzonej krytycznej analizy badań nad e-papierosami szczególnie istotne były zagadnienia dotyczące używania e-papierosów jako substytutów tradycyjnych wyrobów tytoniowych, przedstawione w tab. I.

Tab e l a I. Główne zagadnienia odnoszące się do papierosów elektronicznych, ujęte w literaturze naukowej
Tab l e I. The main problems relating to electronic cigarettes in the relevant scientific literature

Rozpowszechnienie używania e-papierosów (electronic cigarette prevalence)
Bezpieczeństwo/ szkodliwość/ skutki zdrowotne używania papierosów elektronicznych (w tym skład chemiczny). (electronic cigarette safety, chemical composition, health threats)
Reklamy, działania marketingowe mające na celu zwiększenie rozpowszechnienia (electronic cigarette marketing and advertising)
Regulacje prawne, w tym opodatkowanie papierosów elektronicznych (electronic cigarette regulations)
Rola elektronicznych papierosów w rzucaniu/ rozpoczynaniu palenia tytoniu (the role of electronic cigarette in quiting tobacco use, stating using tobacco products).

W celu dokonania analizy poddano weryfikacji specjalistyczne bazy medyczne i naukowe jak PubMed CINAHL, Web of Science, EMBASE w poszukiwaniu artykułów dot. papierosów elektronicznych, od stycznia 2006 r. (kiedy stały się one dostępne w Europie (5) do lutego 2016 r. Dokonano także analizy typowych przeglądarek internetowych (pierwsze 5 stron wyświetlenia) w celu znalezienia dokumentów odpowiadających zapytaniom wymienionym powyżej. Analiza wyników pochodzących z w/w narzędzi internetowych pozwala zweryfikować pośrednio zainteresowanie społeczne związane z e-papierosami i ich stosowaniem.

W przeglądzie artykułów jednym z kryteriów analizy było zdefiniowanie/ujawnienie informacji na temat źródła finansowania przedstawianego badania. Inne kryteria to: lata 2010–2016 powstania artykułu, streszczenie dostępne w języku angielskim oraz zawartość wskazująca na opis jednego z wymienionych powyżej kryteriów. Artykuły podlegające weryfikacji zawierały zarówno oryginalne dane na podstawie badań własnych jak również analizy wcześniejszych badań. Ze względu na globalizację przepływu i dostępności informacji o charakterze ogólnospołecznym nie eliminowano prac nieoryginalnych. Ocena analizowanego materiału polegała na ocenie czynników zewnętrznych omawianego badania czy opracowania (np. wielkość próby) oraz czynników wewnętrznych (np. metodologii badań). Nie dokonywano próby punktowania i oceny jakości prezentowanych artykułów, ponieważ różniły się one tak znacząco, że niemożliwa była ich wspólna klasyfikacja metodologiczna.

W analizie zwrócono również uwagę na badania i opracowania zarówno konsumenckie, jak i przemysłowe w celu zidentyfikowania znaczących różnic w prezentowanych wynikach. Sklasyfikowano je pod względem obszaru przeprowadzonych badań, odpowiadającego zagadnieniom zdefiniowanym w tab. I. W związku z bardzo niewielką liczbą badań, w których podane jest źródło finansowania, niemożliwa była ocena, czy konkretne wyniki badań są skorelowane ze źródłem ich finansowania. W związku z bardzo dużą liczbą artykułów zajmujących się papierosami elektronicznymi, zawężono także analizę do tych dotyczących Polski. Drugą część pracy stanowi analiza jakościowa badań prowadzonych przez instytucje badawcze, dotyczących papierosów elektronicznych. W tym celu stworzono formularz składający się z 12 pytań. Zastosowano pytania zarówno zamknięte, jak i otwarte. Ankieta miała odpowiedzieć na pytania: a) czy instytucje naukowe prowadzące badania dotyczące tytoniu, b) czy interesują się także problemem papierosów elektronicznych, c) czy finansują badania w tym zakresie oraz d) czego dotyczą prowadzone badania.

Formularz przygotowany na platformie gmail został rozesłany do 20 międzynarodowych instytucji zajmujących się zdrowiem publicznym i związanymi z nim badaniami. Dodatkowo, w celu zwiększenia responsywności, formularz udostępniono na platformach elektronicznych, z których korzystają działacze instytucji prozdrowotnych na całym świecie, w tym zamknięte grupy na platformie facebook, zajmujące się problematyką palenia wyrobów tytoniowych. Na pytania zawarte w rozesłanej ankiecie odpowiedzi udzieliło 9 osób z całego świata zajmujących się problemami zdrowia publicznego.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W trakcie prowadzonych badań odnaleziono w bazach danych dotyczących opracowań naukowych następujące ilości rekordów – zostały one zaprezentowane w tabeli II.

Dla porównania, hasło „cigarette” w wyszukiwarce PubMed wyświetlane jest 52 636 razy, „tobacco” aż 100 358 razy, „cigarettes advertising” – 1104 razy a, „tobacco advertising” – 2616, natomiast „water pipe smoking” – tylko 237 razy. Już

po wstępnej analizie można przyjąć, że liczba artykułów poświęconych papierosom elektronicznym jest znacząco niższa, niż ta poświęcona papierosom tradycyjnym czy innym wyrobom tytoniowym. Jest to spowodowane zarówno okresem, w jakim analizowano oba zjawiska jak i innymi proporcjami badań poświęconych poszczególnym obszarom. Należy zwrócić uwagę, iż papierosy tradycyjne badane są znacznie dłużej – od 1925 r., natomiast e-papierosy od 2007 r. Warto także zauważyć, że częstotliwość publikowania artykułów naukowych na temat papierosów elektronicznych znacząco wzrosła w ciągu 2015 roku. Z 2649 artykułów dostępnych w bazie PubMed, aż 1131 zostało opublikowanych w 2015 r.

Tab e l a II. Liczba opracowań naukowych – analiza ilościowa

Tab l e II. The number of scientific studies

electronic cigarette – 2649
e cigarette – artykułów 1721 (znaczną część tożsamy z e-cigarette)
e cigarette smoking – artykułów 1283 (znaczną część tożsamy z e-cigarette)
e cigarette prevalence – artykułów 514
e cigarette cancer artykułów 257
e cigarettes regulation – artykułów 223
e cigarette harm/safety – artykułów 197
e cig- safety – artykułów 193
e cigarette review – artykułów 188
e cigarette legislation – artykułów 150
vapor cigarettes – artykułów 136 (znaczną część tożsamy z e-cigarette)
e cigarette advertising – artykułów 118
e cigarette toxicity – artykułów 84
e cigarette cardiovascular – artykułów 74

Analiza danych uzyskanych za pomocą wyszukiwarki internetowej ujawniła ponad 9 milionów odnośników dotyczących sformułowania „electronic cigarette”; dla porównania hasło „tobacco” odnotowano 142 miliony. Porównanie to wskazuje na dwie główne tendencje:

- duże zainteresowanie prasy codziennej papierosami elektronicznymi;
- stosunkowo niewielkie zasoby „wiedzy” wśród instytucji publicznych (rządy, samorządy, instytucje medyczne) w stosunku do ilości informacji na temat papierosów elektronicznych umieszczanych przez firmy i osoby prywatne.

Z ponad 2000 wyników w bazie PubMed wybrane zostały badania opublikowane w ciągu ostatnich czternastu miesięcy, stanowiące 60% wszystkich dostępnych badań, obejmujące zarówno pojedyncze kraje jak i szersze analizy o charakterze globalnym. Ważnym elementem prowadzonej analizy miało być źródło finansowania badania. Zarówno przy analizie badań, jak i doniesień google, analizę wyników próbowano skorelować ze źródłami finansowania. Ze względu jednak na ograniczoną liczbę dostępnych na ten temat informacji, korelacja wciąż jest niejasna. Szczegółowa analiza korelacji wyników badań z danymi na temat źródła finansowania powinna być dokonana w oddzielnym opracowaniu.

Analiza dokonana na bazie naukowej pomiędzy rokiem 2006 a 2014 pokazuje jednocześnie trendy lat poprzednich, dotyczące papierosów elektronicznych. *Paper i Brewer* (6), analizując bazę naukową pierwszych lat funkcjonowania papierosów elektronicznych, sformułowali w 2014 roku wniosek, że bezpieczeństwo używania papierosów nie jest udowodnione. Z 1148 prac dotyczących omawianego zagadnienia wyselekcjonowano do analizy wszystkie artykuły z roku 2015 oraz z pierwszych dwóch miesięcy 2016 r. prace anglojęzyczne, zawierające w streszczeniu i/lub w swoim tytule „electronic cigarette”, „e-cigarette”. Sto siedemdziesiąt osiem artykułów z 2015 r. i osiemdziesiąt pięć z 2016 r. spełniało te kryteria. Artykułów dotyczących Polski i opisujących zagadnienia związane z papierosami elektronicznymi znaleziono 19. Wyselekcjonowano je na podstawie następujących kryteriów: zostały opublikowane w ciągu ostatnich pięciu lat, dotyczyły Polski i były poświęcone obszarom wskazanym w tab. III.

Tabela III. Skrócona analiza ilościowa prac dotyczących Polski

Table III. Abbreviated quantitative analysis of Polish scientific publications on electronic cigarettes

Obszar tematyczny	Konkluzje	Liczba artykułów łącznie
Rozpowszechnienie/ używanie	<ul style="list-style-type: none"> • Wzrost rozpowszechnienia używania e papierosów jest podobny jak w innych krajach Europy i wymaga intensywnych działań zaradczych (7). • Częstotliwość używania zarówno papierosów jak i e-papierosów była wyższa niż używania tylko jednego produktu (wśród dorosłych). Wśród młodzieży używającej obu typów produktu, częstotliwość nie jest niższa niż ta wśród palaczy tytoniu (8). • Obserwowany wzrost rozpowszechnienia e-papierosów i tytoniu nie potwierdza tezy, że e-papierosy wypierają papierosy tradycyjne w badanej populacji. • Odnotowuje się wzrost używania papierosów elektronicznych (9). • Osoby przechodzące z papierosów tradycyjnych na elektroniczne zaczynają dłużej wydychać dym, niż te wydychające parę. • Korzystanie z e-papierosów w pomieszczeniach zamkniętych może mimowolnie wystawiać nieużywających na wyziewy nikotyny. Potrzebne są dalsze badania w celu oceny skutków zdrowotnych biernego narażenia na działanie nikotyny, zwłaszcza wśród niektórych grup społecznych – dzieci , kobiet w ciąży i osób z chorobami układu krążenia (10). • Około jednej piątej polskiej młodzieży próbowała e-papierosy; większość z nich nie miało wcześniej styczności z papierosami Nie jest jasne, czy e- papierosy są traktowane jako nowość i młodzi ludzie próbują ich tylko raz , czy też mają one potencjał do konkurowania na rynku z tradycyjnymi papierosami (11). 	5
Bezpieczeństwo/ smaki, skutki zdrowotne	<ul style="list-style-type: none"> • Istnieją przesłanki dla stwierdzenia, że chroniczne używanie alkoholu może wzmocnić metabolizm nikotyny (12). • Zatrucia nikotyną z e-papierosów (13). • Wdychanie wymaga większej siły, powoduje głębsze zaciągnięcie się, co prowadzi do konkluzji, że ten system przyjmowania nikotyny nie jest najbardziej optymalny (14). • Wyziewy z e-papierosów zawierają toksyczne karcynogenne związki karbonylowe. Papierosy elektroniczne mogą narażać użytkowników na wyższe stężenia związków karbonylowych (15). 	4

Tabela III. Skrócona analiza ilościowa prac dotyczących Polski (cd.)

Table III. Abbreviated quantitative analysis of Polish scientific publications on electronic cigarettes (cont.)

Obszar tematyczny	Konkluzje	Liczba artykułów łącznie
Regulacje prawne	<p>Potrzebne są regulacje dotyczące e–papierosów: zasad marketingu, bezpieczeństwa, zakazu sprzedaży nieletnim, etc. (16).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Po wprowadzeniu legislacji antytytoniowej w Polsce w roku 2010, nastąpił tylko chwilowy wzrost zainteresowania elektronicznymi papierosami kupowanymi w sieci – potem nastąpił spadek zainteresowania (17). 	2
Pomoc w walce z uzależnieniem od tradycyjnych papierosów	<ul style="list-style-type: none"> • Analiza dostępnych danych wskazała na konieczność dalszych badań i sprawdzenia, czy elektroniczne papierosy mogą pomóc w rzucaniu palenia (18). • E-papierosy mogą być stosowane jako pomoc w rzucaniu palenia lub jako alternatywa dla tradycyjnych papierosów. Konieczne są dalsze badania dotyczące ich skuteczności w redukcji szkód i zaprzestanie palenia tytoniu (19). 	2
Zawartość substancji w e-papierosach	<ul style="list-style-type: none"> • Zawartość e-papierosów, wdychanie benzaldehydu występującego najczęściej w papierosach o smaku wiśniowych, powinno być sygnałem dla lekarzy o wzrastającym ryzyku (20). • Większość badanej zawartości opakowań e-papierosów była zgodna z opisem na opakowaniu. Odnotowano jednak również niezgodności. Powinny zostać wprowadzone standardy jakości dla e-papierosów (15). • Celem badania było opracowanie prostego, niezawodnego sposobu oznaczania sacharozy w cieczy elektronicznych papierosów. Istnieje wiele kontrowersji na temat bezpieczeństwa e-papierosów, a opracowana metoda może być pomocna w kontroli jakości lub badań (21). • Papierosy elektroniczne generują areozol który zawiera nikotynę, ale marki i modele e-papierosów różnią się pod względem skuteczności i spójności parowania nikotyny. Niektóre zawierają parę, która mniej lub bardziej skutecznie odparowuje nikotynę, mniej się jej także wdycha w porównaniu z tradycyjnymi papierosami (18). 	4

Badania ankietowe:

Analiza dotychczasowych badań dotyczących papierosów elektronicznych miała na celu wskazanie możliwości dla działań w obszarze zdrowia publicznego. Z ankiety przeprowadzonej wśród instytucji zajmujących się badaniami naukowymi i zagadnieniami zdrowia publicznego na świecie wynika, że element połączenia najnowszych badań i polityki zdrowotnej wymaga stałego wsparcia.

Ankieta zawierała pytania sprawdzające czy instytucje:

- prowadziły badania dotyczące papierosów elektronicznych w ciągu ostatnich 10 lat?
- jeżeli tak, to na jaką skalę?
- finansowały badania dotyczące papierosów elektronicznych w ciągu ostatnich 10 lat?
- jeżeli tak, to na jaką kwotę łączną?

– tematyka, której dotyczyły badania:

- Rozpowszechnienie używania e-papierosów (Electronic cigarette prevalence);
- Bezpieczeństwo/szkodliwość/skutki zdrowotne używania papierosów elektronicznych (w tym skład chemiczny). (Electronic cigarette safety, chemical composition, health threats);
- Reklamy, działania marketingowe mające na celu zwiększenie rozpowszechnienia (Electronic cigarette marketing and advertising);
- Regulacje prawne, w tym opodatkowanie papierosów elektronicznych (Electronic cigarette regulations);
- Rola elektronicznych papierosów w rzucaniu/ rozpoczynaniu palenia tytoniu (The role of electronic cigarette in quitting tobacco use, stating using tobacco products).

Inne kryteria:

- obszar geograficzny objęty badaniem;
- rodzaj populacji objętej badaniem;
- czy badanie zakończyło się rekomendacjami systemowymi (na poziomie którego ono dotyczyło);
- czy te rekomendacje zostały wdrożone/zaadresowane? Tak, nie, w trakcie.

Z 35 rozesyłanych ankiet oraz udostępnionych internetowo nie udało się uzyskać znaczącej liczby odpowiedzi. Z uzyskanych odpowiedzi wynika jednak, że istnieje niedobór badań i wiedzy na temat papierosów elektronicznych. Nie widać także związku między znanymi wynikami badań a decyzjami podejmowanymi w obszarze zdrowia publicznego. Na pytanie, czy organizacja, w której pracuje uczestnik ankiety prowadziła badania dotyczące papierosów elektronicznych, na 9 odpowiedzi 6 było twierdzących.

Jedna z instytucji przeprowadziła 10 badań w ciągu ostatnich dziesięciu lat, pozostałe dwie przeprowadziły odpowiednio cztery i dwa badania. We wszystkich przypadkach, dla których potwierdzono przeprowadzenie badania, uzyskane wyniki zostały opublikowane w ciągu ostatnich sześciu lat. Zarówno analiza jakościowa, jak i ilościowa dotycząca wiedzy na temat papierosów elektronicznych wskazuje na znaczny wzrost zainteresowania tą tematyką środowiska naukowego. Widoczny jest znaczący wzrost liczby badań nad papierosem elektronicznym w ciągu ostatnich sześciu lat.

Z analizy literatury naukowej wyłania się także obraz niewielu działań podejmowanych przez instytucje zdrowia publicznego za to odpowiedzialne. Wniosek ten może jednak wynikać z niedostatecznego opisanie ich w literaturze naukowej.

Z dziewięciu ankietowanych instytucji trzy odpowiedziały, że finansowały badania na temat papierosów elektronicznych, z czego dwie zrobiły to na prośbę partnerów z krajów, z którymi współpracują (policy makers). Na pytanie dotyczące zakresu przeprowadzonych badań dwie osoby odpowiedziały, że dotyczyły one: rozpowszechniania używania e-papierosów, marketingu, regulacji prawnych, kwestii politycznych oraz roli papierosów elektronicznych w rzucaniu palenia. Jedna osoba odpowiedziała, że badania dotyczyły szkodliwości używania, bezpieczeństwa i reklamy papierosów elektronicznych. Organizacje finansujące badania dotyczące papierosów elektronicznych uwzględniały następującą tematykę: rozpowszechnienie, szkodliwość i skutki zdrowotne, legislacja, tematy związane

z systemami ochrony zdrowia oraz wpływ e-papierosów na rzucanie palenia tradycyjnych papierosów (po jednej odpowiedzi). Marketing e-papierosów uzyskał dwie odpowiedzi. Zakres badań, o które pytano w kwestionariuszu był bardzo różny. Od wyselekcjonowanej wiekowo populacji danego kraju, wyselekcjonowanej grupy użytkowników e-papierosów, poprzez dane dotyczące cen z całego świata, do przebadanej populacji 345 oraz 1500 osób. Trzy z przeprowadzonych badań miały zasięg międzynarodowy, pozostałe były krajowe. Na pytanie dotyczące zakresu tematycznego finansowanych badań, uzyskano odpowiedzi, że były to głównie granty badawcze dotyczące dodatków smakowych, papierosów elektronicznych oraz systemu dostarczania nikotyny. Były to wnioski o granty z uniwersytetów i sieci badawczych niezwiązanych z przemysłem tytoniowym, o różnej wartości – jeden poniżej 50 tys. USD, jeden pomiędzy 50, a 250 tys. USD i jeden powyżej 500 tys. USD. Na pytanie dotyczące wykorzystania wyników badań, czterech ankietowanych odpowiedziało negatywnie a trzech twierdząco. Wskazano także, że dotychczas prezentowane wyniki badań przyczyniły się do uwzględniania przez Komisję Europejską zagadnień związanych z podatkami na elektroniczne papierosy na spotkaniu COP 6 w 2014 r. czy też wsparły procesy legislacyjne na poziomie krajowym. Jedna osoba odpowiedziała, że obecnie nie widać skutków publikacji badania.

Na pytanie dotyczące wiedzy, czy inne instytucje wykorzystują badania naukowe, większość respondentów odpowiedziało twierdząco, a jedna odpowiedź była negatywna. Pozytywne przykłady to wykorzystanie badań przez Amerykańską Agencję Leków i Żywności (FDA) oraz zaostrożenie prawa unijnego w zakresie e-papierosów przez Komisję Europejską. Na poziomie krajowym nie wskazano zależności pomiędzy działaniami badawczymi a podejmowanymi działaniami systemowymi.

WNIOSKI

1. Istnieje niewystarczająca liczba badań wskazujących na bezpieczeństwo używania wyrobów typu papieros elektroniczny.
2. Niewystarczające są dowody wskazujące na to, że papierosy elektroniczne mogą znacząco pomóc w trwałym rzuceniu palenia.
3. Regulacje dotyczące funkcjonowania e-papierosów w wielu krajach dopiero powstają;
4. Informacje dotyczące papierosów elektronicznych są zazwyczaj finansowane przez środowiska producentów i sprzedawców, a nie niezależne instytucje naukowe o szeroko rozumianym charakterze medycznym;
5. Widoczny jest drastyczny wzrost rozpowszechnienia elektronicznych papierosów na całym świecie, zarówno wśród młodzieży, jak i osób dorosłych;
6. Liczba badań dotyczących papierosów elektronicznych znacząco wzrosła w ciągu ostatnich pięciu lat;
7. Przeprowadzona analiza danych dotyczących e-papierosów może sugerować iż istnieje związek między używaniem papierosów elektronicznych a późniejszą skłonnością do używania tradycyjnych wyrobów tytoniowych;

8. Należy zwrócić uwagę na konieczność szybkiego reagowania instytucji na tak dynamicznie rozwijające się zjawisko, aby zapewnić odpowiednie badania oraz informacje na temat bezpieczeństwa i skutków zdrowotnych używania papierosów elektronicznych;

9. Regulacje dotyczące papierosów elektronicznych powinny opierać się na dowodach naukowych. Szerszy zakres badań w tym zakresie jest konieczny, ponieważ wydaje się, że działania w zakresie zdrowia publicznego nie zawsze są zbieżne z najnowszą myślą naukową. Należałoby więc promować, wspierać i w pełni wykorzystywać badania naukowe w zakresie papierosów elektronicznych.

A. Kozieł, B. Karwowski

CRITICAL ANALYSES OF THE ELECTRONIC CIGARETTE RESEARCH IN THE LIGHT OF THE RECENT SCIENTIFIC LITERATURE

Summary

The aim of this work was to analyse the latest trends in the scientific literature regarding electronic cigarette. Quantitative analyses indicates a clear increasing trend in the number of publications on electronic cigarettes in the last few years. Qualitative analyses, however, do not point to any clear trend in the reviewed results of the research. The safety, patterns of use, or the role of electronic cigarettes in cessation of tobacco smoking still require to be clearly determined. At the same time, a survey conducted amongst public health institutions does not indicate that the health policy is based on the recent scientific evidence.

PIŚMIENNICTWO

1. Kraje sygnatariusze FCTC: http://www.who.int/fctc/signatories_parties/en/ – 2. Opatentowane mechanizmy działania papierosów elektronicznych: <http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?CC=US&NR=3200819A&KC=A&FT=D>; <http://www.google.com/patents/US3200819>. – 3. Conference of the Parties to the *WHO Framework Convention on Tobacco Control*; Sixth session, Moscow, Russian Federation, 13–18 October 2014. – 4. Conference of the Parties to the WHO Framework Convention on Tobacco Control; Sixth session, Moscow, Russian Federation, 13–18 October 2014, http://apps.who.int/gb/fctc/PDF/cop6/FCTC_COP6_10Rev1-en.pdf?ua=1. – 5. Stowarzyszenie alternatywnych form miejsc wolnych od dymu, http://casaa.org/E-cigarette_History.html. – 6. *Pepper J., Brewer N.* Electronic nicotine delivery system (electronic cigarette) awareness, use, reactions and beliefs: a systematic review, *Tob. Control*, 2013; 0: 1-10. – 7. *Zarobkiewicz M.K., Wawryk-Gawda E., Woźniakowski M.M., Sławiński M.A., Jodłowska-Jędrzych B.*: Tobacco smokers and electronic cigarettes users among Polish universities students. *Roczn. PZH*. 2016; 67(1): 75-80. – 8. *Goniewicz M., Leigh N., Gawron M., Nadolska J., Balwicki L., McGuire C., Sobczak A.*: Dual use of electronic and tobacco cigarettes among adolescents: across-sectional study in Poland. *Int. J. Public. Health* 2016; 61(2): 189-97. – 9. *Goniewicz M., Leigh N., Gawron M., Nadolska J., Balwicki L., McGuire C., Sobczak A.*: Rise in electronic cigarette use among adolescents in Poland. *J. Adolesc Health*. 2014; 55(5): 713-715. – 10. *Czogala J., Goniewicz M., Fidelus B., Zielinska-Danch W., Travers M., Sobczak A.*: Secondhand exposure to vapors from electronic cigarettes. *Nicotine Tob. Res.* 2013; 16(6): 655-662.
11. *Goniewicz M., Zielinska-Danch W.*: Electronic cigarette use among teenagers and young adults in Poland. *Pediatrics*. 2012; 130(4): 879-885. – 12. *Kozar-Konieczna A., Szoltysek-Boldys I., Słodczyk-Mankowska E., Goniewicz J., Sobczak A., Jacob P., Benowitz N., Goniewicz M.*: Cessation of alcohol consumption decreases rate of nicotine metabolism in male alcohol-dependent smokers. *Gubner NR., Drug Alcohol Depend.* 2016; 163(1): 157-64. – 13. *Sommerfeld K., Łukasik-Głębocka K., M. Kulza M., M. Drużdż M., Paniński P., Florek E., Zielińska-Psujka B.*: Intravenous and oral suicidal e-liquid poisonings with confirmed nicotine and cotinine concentrations. *Forensic Sci. Int.* 2016; 262(19): 15-20. – 14. *Sosnowski*

T., Kramek-Romanowska K.: Predicted Deposition of E-Cigarette Aerosol in the Human Lungs. *Aerosol Med. Pulm. Drug Deliv.* 2016; 62(19): 15-20. – 15. *Goniewicz M., Gupta R., Lee Y., Reinhardt S., S.Kim, B.Kim, L.Kosmider, A.Sobczak*: Nicotine levels in electronic cigarette refill solutions: A comparative analysis of products from the U.S., Korea, and Poland. *Int. J. Drug Policy.* 2015; 26(6): 583-588. – 16. *Wasowicz A., Feleszko W., Goniewicz M.*: E-Cigarette use among children and young people: the need for regulation. *Expert Rev. Respir. Med.* 2015; 9(5): 507-509. – 17. *Goniewicz M., Kosmider L., Delijewski M., Knysak J., Ochota P., Sobczak A.*: The impact of the 2010 Polish smoke-free legislation on the popularity and sales of electronic cigarettes. *Eur. J. Public. Health.* 2014; 24(3): 471-473. – 18. *Kosmider L., J. Knysak J., Goniewicz M., Sobczak A.*: Electronic cigarette--a safe substitute for tobacco cigarette or a new threat?. *Przegl. Lek.* 2012; 69(10): 1084-1089. – 19. *Goniewicz M., Lingas E., Hajek P.* Patterns of electronic cigarette use and user beliefs about their safety and benefits: an internet survey. *Drug Alcohol Rev.* 2013; 32(2): 133-140. – 20. *Kosmider L., A. Sobczak A., Prokopowicz A., Kurek J., Zaciera M., Knysak J., Smith D., Goniewicz M.*; Cherryflavoured electronic cigarettes expose users to the inhalation irritant, benzaldehyde. *Thorax.* 2016; 0(0): 1-2.

21. *Kubica P, Wasik A., Kot-Wasik A., J. Namieśnik J.*: An evaluation of sucrose as a possible contaminant in e-liquids for electronic cigarettes by hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 2014; 406(13): 3013-8.

Adres: 90-151 Łódź, ul. Muszyńskiego 1

Dorota Skrajnowska, Barbara Bobrowska-Korczak, Andrzej Tokarz

WPLYW ZASTOSOWANYCH DIET NA ZMIANY W ZAWARTOŚCI MIEDZI W KOŚCI UDOWEJ I SIERŚCI SZCZURÓW Z RAKIEM SUTKA

Zakład Bromatologii
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. dr hab. *A. Tokarz*

Celem pracy było zbadanie wpływu suplementacji diety cynkiem oraz cynkiem razem ze związkami polifenolowymi na zawartość miedzi w kości udowej oraz sierści szczurów z rakiem sutka. Przewlekły proces nowotworowy i zastosowana suplementacja diety wywołały istotne zmiany ilości miedzi w kości udowej.

Hasła kluczowe: cynk, miedź, resweratrol, genisteina, kość udowa, sierść, szczury.
Key words: zinc, copper, resveratrol, genistein, femur, hair, rats.

Nowotworowe przerzuty osteolityczne stwierdza się u 70–80% kobiet z zaawansowanym rakiem gruczołu sutkowego (1, 2). Obecność komórek nowotworowych w tkance kostnej doprowadza do obniżenia wytrzymałości mechanicznej kości oraz zwiększonej podatności na złamania (2). Resorpcja kostna z powodu przerzutów może być również jedną z przyczyn bardzo niebezpiecznej dla życia hiperkalcemii (1, 2). Stosunkowo niewiele jest badań dotyczących wpływu jonów cynku i fitoestrogenów oraz współistniejącej choroby nowotworowej na stan mineralny kośćca. A przecież związki te odgrywają bardzo ważną rolę zarówno w prawidłowym tworzeniu się kości, sprawnym obrocie metabolicznym tej tkanki, jak i w niezwykle złożonym procesie nowotworzenia (3–5). W licznych badaniach wykazano, że do oceny stanu przemiany mineralnej w organizmie można wykorzystać analizę mikro- i makroelementów we włosach (3, 6–8). Po pierwsze, pierwiastki występują we włosach w dużo większym stężeniu niż we krwi, w przypadku cynku różnica jest stukrotna. Ponadto, możliwe jest uzyskanie informacji odnośnie zawartości pierwiastków w dłuższym okresie takim jak dwa, trzy miesiące. Inną korzyścią przemawiającą za analizą włosów jest fakt, iż stężenia mikro- i makroelementów we krwi mogą ulegać zmianom np. pod wpływem emocji. Takich wahań nie obserwuje się analizując próbki włosów. W badaniach wykazano, że zachodzi korelacja między stężeniem pierwiastków we włosach a ich ilością w narządach wewnętrznych organizmu (7, 8). Wykazano, że poziom miedzi we włosach koreluje znacząco z jej zawartością w wątrobie, sercu i nerkach, natomiast nie koreluje z ilością tego pierwiastka w surowicy. Podobnie, poziom cynku we włosach odpowiada zawartości w kościach i w jądrach, a poziom selenu w tym materiale biologicznym korelował z ilością tego składnika

w wątrobie i płucach (7, 8). Dodatkowymi korzyściami wynikającymi z analizy pierwiastkowej włosów jest to, iż próbki włosów mogą być bezinwazyjnie pobrane od dawcy i wysyłane do laboratorium.

Celem pracy była ocena wpływu suplementacji diety cynkiem oraz cynkiem w połączeniu z resweratrolelem i genisteiną, na zmiany w zawartości miedzi w kości udowej i sierści szczurów w przebiegu raka gruczołu sutkowego.

MATERIAŁ I METODY

W pracy użyto samice szczurów szczepu Sprague-Dawley o początkowej masie ciała 100 ± 20 g. Dietę standardową (Labofeed H) (77 mg Zn/kg paszy) – podawano zwierzętom bez ograniczeń. Dodatkowo, wybranym grupom szczurów podawano cynk (jako $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ w wodnym roztworze) w dawce stanowiącej 231 mg Zn/kg paszy oraz cynk razem z resweratrolelem lub genisteiną (w dawkach po 0,2 mg poli-fenoli/kg mc.) w ilości 0,4 mL, za pomocą zgłębnika dożołądkowo, od 40. dnia do 20. tygodnia życia. W celu wywołania nowotworu gruczołu sutkowego, szczurom z grup badanych podano w 50. i 80. dniu życia 7,12-dimetylobenzo[*a*]antracen (DMBA) w ilości 80 mg/kg masy ciała. Po dekapitacji zwierząt, izolowano kości udowe oraz sierść. Próbki odpowiednio oczyszczono, suszono, ważono a następnie mineralizowano i oznaczano stężenie miedzi za pomocą płomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej (PU-9100).

Wartość odzysku określono dla certyfikowanego materiału referencyjnego: NCS ZC 71001, Beef Liver i był on następujący: Cu – 94% oraz DC73347 (GSH-1) Hair: Cu – 91%.

Do oceny istotności statystycznej różnic między badanymi grupami zastosowano test t-Studenta, dla $p \leq 0,05$.

Przeprowadzone badania uzyskały pozytywną opinię Komisji Etycznej ds. Badań nad zwierzętami WUM (numer 12 z dnia 18 marca 2008).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zastosowane diety oraz zaawansowany nowotwór gruczołu sutkowego w małym stopniu wpłynęły na poziom miedzi w sierści szczurów ale wystąpiło silnie oddziaływanie na zawartość tego pierwiastka w kości udowej (tab. I, II).

Miedź odgrywa istotną rolę w procesie angiogenezy nowotworowej. Jest niezbędnym czynnikiem do aktywacji komórek śródbłonka (9, 10). W przeprowadzonym badaniu nie stwierdzono istotnych statystycznie zmian w poziomie miedzi w sierści szczurów badanych otrzymujących dietę standardową i dietę wzbogaconą cynkiem oraz cynkiem i resweratrolelem (tab. I), w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Dopiero, zastosowanie diety z cynkiem i genisteiną wywołało wzrost poziomu miedzi o 18% (tab. I). Istotny wzrost poziomu miedzi stwierdzili *Pasha* i współprac. (7) oceniając zawartość tego pierwiastka we włosach pacjentów cierpiących na różne typy nowotworów. Podobny kierunek zmian wykazali w swojej pracy *Guo* i współprac. (11) w badaniach nad nowotworem prostaty.

Tabela I. Porównanie stężenia miedzi w sierści szczurów z rakiem sutka w stosunku do grup kontrolnych na tej samej diecie.

Table I. A comparison of the copper level in the femur of the rats from the study groups and the control groups fed the same diet

Dieta ↓	Grupa badana (n=8)				Grupa kontrolna (n=6)				p
	min.	maks.	\bar{x}	SD	min.	maks.	\bar{x}	SD	
Standard	11,96	14,38	12,67	0,74	10,12	14,34	12,27	1,56	NS
Cynk	11,06	13,70	12,10	0,96	10,62	12,66	11,89	0,76	NS
Cynk + resweratrol	6,98	16,74	12,71	3,75	8,17	14,12	11,70	2,69	NS
Cynk + genisteina	12,96	16,03	14,44	1,00	10,29	13,69	12,19	1,18	p < 0,002

* – różnice istotne statystycznie pomiędzy grupą badaną a kontrolną; n – liczba próbek, \bar{x} – średnia arytmetyczna, SD – odchylenie standardowe

* – statistically significant results of the comparison between study and control group; (n) – test number; \bar{x} – mean value; SD – standard deviation

Tabela II. Porównanie stężenia miedzi w kości udowej szczurów z rakiem sutka w stosunku do grup kontrolnych na tej samej diecie

Table II. A comparison of the differences between the copper level in the femur of the rats from the study groups and the control groups on the same diet

Dieta ↓	Grupa badana (n=8)				Grupa kontrolna (n=5)				p
	min.	maks.	\bar{x}	SD	min.	maks.	\bar{x}	SD	
Standard	3,249	3,840	3,603	0,178	3,453	5,357	4,335	0,679	p < 0,02
Cynk	3,272	3,817	3,512	0,168	3,199	3,602	3,328	0,162	NS
Cynk + resweratrol	4,628	4,971	4,753	0,125	4,286	4,541	4,365	0,107	p < 0,001
Cynk + genisteina	3,508	3,952	3,758	0,169	3,177	3,721	3,515	0,220	p < 0,05

* – różnice istotne statystycznie pomiędzy grupą badaną a kontrolną; n – liczba próbek, \bar{x} – średnia arytmetyczna, SD – odchylenie standardowe

* – statistically significant results of the comparison between study and control group; (n) – test number; \bar{x} – mean value; SD – standard deviation

Przeprowadzone w ostatnich latach badania świadczą, że nie tylko wapń jest ważnym pierwiastkiem dla wzrostu i wytrzymałości szkieletu, ale również pierwiastki śladowe, w tym cynk i miedź, wywierają istotny wpływ na metabolizm tkanki kostnej (12). Rola cynku w tkance kostnej wynika po pierwsze z faktu, że będąc składnikiem macierzy kości pełni funkcję strukturalną. Hydroksyapatyt kości zawiera jony tego pierwiastka w postaci połączeń z fluorem i fosforanami. Po drugie, cynk bierze aktywny udział w procesie tworzenia się kości poprzez stymulację osteoblastów i inhibicję resorpcji kości przez osteoklasty. Oddziaływanie to jest możliwe przede wszystkim ze względu na to, że jony cynku wchodzą w skład enzymów: fosfatazy alkalicznej, anhydryzy węglanowej, polimerazy DNA i RNA oraz aktywują syntetazę aminoacetylo-tRNA w osteoblastach, stymulując syntezę białek i procesy kościotwórcze (13). Miedź z kolei, będąc kofaktorem oksydazy

lizyny jest niezbędna do syntezy kolagenu, co warunkuje prawidłową strukturę i wytrzymałość tkanki kostnej (14).

W prezentowanej pracy stwierdzono, że szczury z zaawansowaną chorobą nowotworową, otrzymujące jedynie paszę standardową, wykazywały obniżoną ilość miedzi w kości udowej, w stosunku do grupy kontrolnej na tej samej diecie. Zastosowana suplementacja diety szczurów cynkiem nie wywołała deficytu miedzi, objawiającego się jej ubytkiem z tkanki kostnej (tab. II), pomimo, że nadmierne spożycie cynku często wiąże się z wtórnie wywołanym niedoborem miedzi (15). Cynk działa bowiem antagonizycznie w stosunku do miedzi, gdyż w komórkach jelita stymuluje syntezę metalotioneiny – enzymu, który wiążąc miedź uniemożliwia jej wchłonięcie do układu krwionośnego.

Natomiast zastosowanie suplementacji cynku w połączeniu z resweratrolom lub z genisteiną w istotny sposób zwiększało poziom miedzi w kości udowej szczurów badanych (z wyindukowanym rakiem sutka), o odpowiednio 12% i 13% w stosunku do szczurów kontrolnych analogicznie suplementowanych (tab. II). W innych pracach potwierdzono, że efekt anaboliczny genisteiny na metabolizm kości zwiększa się w wyniku podawania jej łącznie z cynkiem (m.in. poprzez stymulowanie aktywności fosfatazy alkalicznej, wzrost zawartości wapnia, wzrost ekspresji genów w osteoblastach, indukcję apoptozy osteoklastów) (16, 17). Tym samym, wydaje się, że połączenie tych związków wspomaga hamujący wpływ na resorpcję kości. Mechanizm, dzięki któremu substancje te działają synergistycznie nie został w pełni wyjaśniony. Wykluczono jednak najprostszą możliwość, czyli zwiększenie absorpcji jelitowej cynku przez genisteinę (16).

WNIOSKI

Chemicznie indukowana kancerogeneza gruczołu sutkowego wpłynęła na zmniejszenie ilości miedzi w tkance kostnej szczurów. Zastosowana suplementacja diety cynkiem i związkami polifenolowymi wydaje się w pewnym stopniu niwelować te niekorzystne zmiany.

D. Skrajnowska, B. Bobrowska-Korczak, A. Tokarz

THE EFFECT OF APPLIED DIETS ON CHANGES IN COPPER LEVEL IN THE FEMUR AND HAIR OF RATS WITH BREAST CANCER

Summary

In this work we examined the effect of dietary supplementation with zinc or zinc in combination with resveratrol or genistein on the copper levels in the hair and femur of rats with the chemically induced mammary carcinogenesis compared to the control rats.

Female Sprague-Dawley rats were divided into groups which, apart from the standard diet, were treated by gavage with zinc ions ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) or zinc with resveratrol or genistein. The study was conducted for 14. weeks (from 40 days until 20 weeks of age). To induce mammary tumorigenesis, the rats from the study group were administered by gavage DMBA (7,12-dimethyl-1,2-benz[*a*]anthracene) in rapeseed oil at a dose of 80 mg/kg body weight at 50 and 80 days of age.

The copper content was determined after wet microwave mineralization of the samples with flame atomic absorption spectrometry (FAAS).

The applied supplementation with zinc ions and polyphenols (resveratrol, genistein) had a significant effect on the concentrations of copper in the femur of study rats.

PIŚMIENNICTWO

1. *Chen Y.C., Sosnoski D.M., Mastro A.M.*: Breast cancer metastasis to the bone: mechanisms of bone loss. *Breast Cancer Res.*, 2010; 12(6): 215-226. – 2. *Rolski W., Kawecki A.*: Przerzuty do kości. Obraz kliniczny. Możliwości terapeutyczne w opiece paliatywnej. *Medycyna paliatywna*, 2010; 4: 190-197. – 3. *Memon A.U., Kazi T.G., Afridi H.I., Jamali M.K., Arain M.B., Jalbani N., Syed N.*: Evaluation of zinc status in whole blood and scalp hair of female cancer patients. *Clin. Chem. Acta.*, 2007; 379(1-2): 66-70. – 4. *Uchiyama S., Yamaguchi M.*: Genistein and zinc synergistically stimulate apoptotic cell death and suppress RANKL signaling-related gene expression in osteoclastic cells. *J. Cell. Biochem.*, 2007; 101(3): 529-542. – 5. *Sinha D., Sarkara N., Biswas J., Bishavee A.*: Resveratrol for breast cancer prevention and therapy: Preclinical evidence and molecular mechanisms. *Semin. Cancer Biol.*, 2016; 40-41: 209-232. – 6. *Park H.S., Shin K.O., Kim J.S.*: Assessment of reference values for hair minerals of Korean preschool children, *Biol. Trace Elem. Res.*, 2007; 116(2): 119-130. – 7. *Pasha Q., Malik S.A., Iqbal J., Shah M.H.*: Characterization and distribution of the selected metals in the scalp hair of cancer patients in comparison with normal donors, *Biol. Trace Elem. Res.*, 2007; 118(3): 207-216. – 8. *Klevay L.M., Christopherson D.M., Shuler T.R.*: Hair as a biopsy material: trace element data on one man over two decades. *Eur. J. Clin. Nutri.*, 2004; 58(10): 1359-1364. – 9. *Nasulewicz A., Opolski A.*: Rola miedzi w procesie angiogenezy nowotworowej – implikacje kliniczne. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2002; 56(6): 691-705. – 10. *Karimi G., Shahar S., Homayouni N., Rajikan R., Abu Bakar N.F., Othman M.S.*: Association between trace element and heavy metal levels in hair and nail with prostate cancer. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 2012; 3(9): 4249-4253.
11. *Guo J., Deng W., Zhang L., Li C., Wu P., Mao P.*: Prediction of prostate cancer using hair trace element concentration and support vector machine method. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2007; 116(3): 257-271. – 12. *Yamaguchi M.*: Role of nutritional zinc in the prevention of osteoporosis. *Mole Cell Bioch.*, 2010; 338(1-2): 241-254. – 13. *Mazurek-Mochol M., Machoy-Mokrzyńska A.*: Zawartość cynku we krwi, moczu, kościach oraz w zębach szczurów po doustnym podaniu tego pierwiastka. *Czas. Stomat.*, 2005; 58(3): 194-200. – 14. *Mir E., Hossein-nezhad A., Bahrami A., Bekheirina M.R., Javadi E., Askar Naderi A., Larijani B.*: Adequate serum copper concentration could improve bone density, postpone bone loss and protect osteoporosis in women. A supplementary issue on osteoporosis. *Iranian J. Publ. Health*, 2007; 24-29. – 15. *Nielsen F.H., Milne D.B.*: A moderately high intake compared to a low intake of zinc depresses magnesium balance and alters indices of bone turnover in postmenopausal women. *Eur. J. Clin. Nutri.*, 2004; 58(5): 703-710. – 16. *Yamaguchi M., Gao Y.H., Ma Z.J.*: Synergetic effect of genistein and zinc on bone components in the femoral-metaphyseal tissues of female rats. *J. Bone Miner. Metab.*, 2000; 18(2): 77-83. – 17. *Uchiyama S., Yamaguchi M.*: Anabolic effect of betacyptoxanthin in osteoblastic MC3T3-E1 cells is enhanced with 17beta-estradiol, genistein, or zinc sulfate in vitro: the unique effect with zinc on Runx2 and alpha1(I) collagen mRNA expressions. *Mol. Cell Biochem.* 2008; 307: 209-219.

Adres: 02-097 Warszawa, ul. Banacha 1

*Adam Daragó, Andrzej Sapota¹, Marzenna Nasiadek, Michał Klimczak,
Elżbieta Bruchajzer, Anna Kilanowicz*

WPŁYW PODPRZEWLEKŁEJ SUPLEMENTACJI CYNKIEM I/LUB SELENEM SAMCÓW SZCZURÓW WISTAR NA HOMEOSTAZĘ TYCH BIOPIERWIASTÓW W NERCIE*

Zakład Toksykologii
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik Zakładu: dr hab. *A. Kilanowicz*, prof. UM

¹ Społeczna Akademia Nauk w Łodzi

Celem pracy było sprawdzenie, czy podprzewlekła suplementacja samców szczurów rasy Wistar cynkiem i/lub selenem podawanych razem lub osobno wpływa na homeostazę tych biopierwiastków w nerkach oraz wybrane parametry stresu oksydacyjnego w tym narządzie.

Hasła kluczowe: cynk, selen, suplementacja, nerka, glutation, dialdehyd malonowy, triglicerydy, cholesterol, szczury.

Key words: zinc, selenium, supplementation, kidney, glutathione, malondialdehyde, triglycerides, cholesterol, rats.

Zainteresowanie suplementacją cynkiem i/lub selenem w kontekście ochrony organizmu przed chorobami, w tym także nowotworem gruczołu krokowego (PCa) (szczególnie mężczyzn po 65. roku życia) trwa nieprzerwanie już od kilkudziesięciu lat (1). Wynika to z faktu, iż wiele badań wprost sugeruje, że obniżone poziomy cynku w prostatie mogą odgrywać istotną rolę w etiologii nowotworu prostaty (2). Świadczy o tym pośrednio fakt, że u większości pacjentów z rakiem gruczołu krokowego, stężenia cynku są istotnie niższe w porównaniu z tkanką zdrową (grupa kontrolna) (3). Również wyniki wielu badań epidemiologicznych, zarówno retrospektywnych, jak i prospektywnych (choć należy podkreślić, że nie wszystkie) (4) wskazują, że suplementacja cynkiem ma potencjał terapeutyczny, np. w łagodnym rozroście prostaty (BPH) i raku gruczołu krokowego (PCa) (2).

Podobne wyniki badań opublikowano dla selenu. W różnych doniesieniach opisywano, że wysoki status selenu w diecie przyczynia się do istotnego obniżenia zapadalności na różne nowotwory, w tym także na raka prostaty (5). Zmniejszone ryzyko zachorowania na raka prostaty przedstawiono także w badaniach amerykańskich (NPC), które przeprowadzono w grupie 1312 osób z niskim stężeniem Se we krwi, których przez 4,5 roku suplementowano selenem w formie drożdży sele-

* Praca finansowana z działalności statutowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (Nr 503/3-045-01/503-31-001)

nowych w wysokiej dawce 200 µg/dzień (6). U mieszkańców Qidong w Chinach – uważanych za populację wysokiego ryzyka zapadalności na pierwotnego raka wątroby – poddanych suplementacji selenem przez 8 lat to ryzyko istotnie się obniżyło (7). Doniesienia te wskazują, że selen, mimo potencjalnej toksyczności, uznaje się za czynnik antykancerogeny. Chemoprotekcyjne właściwości selenu u ludzi jako pierwsi opisali *Shamberger* i *Frost* już w 1969 r. (8). Od tego czasu opisano wiele badań przeprowadzonych *in vivo*, w których udowodniono, że suplementacja tym pierwiastkiem skutecznie chroni zwierzęta doświadczalne przed nowotworami indukowanymi przez kancerogeny chemiczne (9). Wielu badaczy sugeruje, że selen zapobiega złośliwej proliferacji komórek oraz działa jako „przełącznik redoks”, aktywujący lub inaktywujący komórkowe czynniki wzrostu, głównie na drodze utleniania lub redukcji zewnętrznych grup tiolowych (–SH) i mostków disiarczkowych, co zależy m.in. od stężenia wewnątrzkomórkowego zredukowanego glutationu (GSH) i dostępności tlenu (10). Za antyproliferacyjne działanie selenu może także odpowiadać bezpośrednio selenodiglutation, powstający w reakcji zredukowanego glutationu z seleninem (11).

Na potrzebę suplementacji, zarówno selenem, jak i cynkiem (szczególnie u ludzi starszych) wydają się wskazywać także liczne badania przeprowadzone w różnych krajach Europy. Dość jednoznacznie wynika z nich, że u Europejczyków (niezależnie od kraju), często występują niedobory cynku i selenu (12, 13). Dane pochodzące z badania NHANES III wskazują m.in., że u osób dorosłych w wieku 60 lat lub starszych niedobory cynku mogą być znaczące – często poniżej 50% RDA (zalecanego dziennego spożycia) (14). Przyjmuje się, że referencyjne spożycie cynku dla populacji europejskiej (15) dla dorosłych mężczyzn i kobiet wynosi odpowiednio: 9,5 mg/dobę i 7,0 mg/dobę. Z kolei zalecane dzienne spożycie selenu (wg różnych źródeł) powinno wynosić 55–60 µg/dobę dla kobiet i 60–70 µg/dobę dla mężczyzn, stąd optymalna dzienna dawka dla osób dorosłych (a zwłaszcza w podeszłym wieku) została oszacowana na 100 µg/dobę (16).

Przytoczone powyżej badania potwierdzają potrzebę suplementacji pierwiastkami niezbędnymi osób starszych. Należy jednak pamiętać, że wraz z wiekiem starzeniu ulegają także nerki. Starzenie nerek obejmuje zmniejszenie nerkowego przepływu krwi oraz filtracji kłębuszkowej. W konsekwencji zmian w obrębie cewek nerkowych zmniejsza się m. in. zdolność nerek do zagęszczania i rozcieńczania moczu (17). Oznacza to, że z wiekiem będzie m.in. wydłużał się czas potrzebny na wydalanie substancji dostarczanych do organizmu, np. w drodze suplementacji. W przypadku takich pierwiastków jak selen, który odznacza się stosunkowo wąskim indeksem terapeutycznym zawsze istnieje potencjalne ryzyko niekorzystnego wpływu suplementacji na nerki. Przyjmuje się, że bezpieczna dawka Se stosowana w suplementacji wynosi 200 µg/dobę (11).

Ponieważ często zalecana u ludzi suplementacja cynkiem i selenem jest prowadzona łącznie, celem tej pracy jest sprawdzenie, czy podprzewlekle podawanie drogą dożołądkową samcom szczurów rasy Wistar cynku i/lub selenu podawanych razem wpływa na ich homeostazę w nerkach oraz na wybrane parametry stresu oksydacyjnego w tym narządzie. Dodatkowo w pracy dokonano oceny profilu gospodarki lipidowej: oznaczono poziom triglicerydów, cholesterolu i lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) w osoczu.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia przeprowadzono na 180 samcach szczurów Wistar, w wieku 16 tygodni (w dniu rozpoczęcia eksperymentu), o masie ciała 290–320 g. Zwierzęta pochodziły z hodowli Zwierzętarni Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Szczury karmione były paszą standardową „Murigran” i otrzymywały wodę *ad libitum*. Eksperyment prowadzono zgodnie z procedurami i obowiązującym w Polsce prawem (18), po uzyskaniu wcześniej zgody Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach (Uchwała nr 43/LB479/2009). Praca była finansowana przez Narodowe Centrum Nauki w ramach grantu NN 405 6118 38.

Zwierzęta podzielono na 5 grup badawczych i 1 grupę kontrolną, po 30 samców w każdej grupie. Badanym zwierzętom podawano wodne roztwory: glukonianu cynku (Alfa Aesar GmbH & Co KG) i/lub związki selenu (selenin sodu, Sigma-Aldrich Co. lub selenometioninę, Sigma-Aldrich Co.). Podawane dawki dobowe biopierwiastków w poszczególnych grupach wynosiły: (I) 5,0 mg Zn/kg m.c. (w postaci glukonianu cynku), (II) 2,8 µg Se/kg m.c. – w postaci seleninu sodu, (III) 2,8 µg Se/kg m.c. – w postaci selenometioniny. Pozostałe dwie grupy badawcze otrzymywały oba pierwiastki: 5,0 mg Zn/kg m.c. (w postaci glukonianu cynku) i 2,8 µg Se/kg m.c. – w postaci seleninu sodu (grupa IV) oraz 5,0 mg Zn/kg m.c. (w postaci glukonianu cynku) i 2,8 µg Se/kg m.c. – w postaci selenometioniny (grupa V).

Szczury z grup badawczych otrzymywały w/w roztwory codziennie drogą dożołądkową (*intragastrically, i.g.*) za pomocą sondy. Grupie kontrolnej podawano analogicznie *vehiculum* (wodę wodociągową, *i.g.*). Zastosowane dawki selenu u szczurów odpowiadają średnim poziomom zalecanej dawki do suplementacji u ludzi (tj. 200 µg/dobę).

Po 30, 60 i 90 dniach ekspozycji oraz po 3 i 6 miesiącach obserwacji, czyli po 90 i 180 dniach od zakończenia podawania związków, wybrane losowo zwierzęta z grup badanych i z grupy kontrolnej (po 6 zwierząt z każdej grupy) poddawano eutanazji przez skrwawienie punkcją dosercową w lekkiej narkozie CO₂.

Do oznaczeń pobierano krew i nerki. W osoczu krwi oznaczano poziom triglicerydów, cholesterolu i lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) za pomocą testów: TRIGS TR-210, CHOL CH201 i HDL CH203 (Randox Laboratories). W nerkach oznaczono stężenie cynku i miedzi metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej w wersji płomieniowej (GBC, Avanta PM). Oznaczenie selenu wykonano zmodyfikowaną metodą wg *Dancha* i *Drożdża* (19) za pomocą spektrofluorymetru (Hitachi, F-4500). Ponadto, w homogenatach nerek oznaczono: stężenie zredukowanego glutationu (GSH) metodą wg *Sedlaka* i *Lindsaya* (20) oraz stężenie dialdehydu malonowego (MDA – wskaźnika peroksydacji lipidów) metodą *Mihara* i *Uchiyama* (21).

W oznaczeniach stężeń biopierwiastków w materiale biologicznym zastosowano wewnętrzną laboratoryjną kontrolę jakości, która była oparta na liofilizowanej wątrobie wołowej – SRM 1577b (National Institute of Standards & Technology, Gaithersburg, USA). Materiał odniesienia zawierał cynk, miedź i selen w stężeniach odpowiednio 127±16, 160±8 i 0,73±0,06 µg/g. Względne odchylenia standardowe uzyskane w oznaczeniach materiałów referencyjnych wynosiły: 0,3% dla cynku, 8,3% dla miedzi i 3,5% dla selenu.

Statystyczne opracowanie wyników przeprowadzono za pomocą programu STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., USA). Istotność różnic ($p \leq 0,05$) dla wybranych parametrów wyliczono stosując test Tukey'a, po sprawdzeniu jednorodności wariancji testem Bartlett'a.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Z uwagi na istotną biologicznie rolę pierwiastków niezbędnych w organizmie, ich poziomy w poszczególnych narządach są bardzo ważne dla utrzymania homeostazy. Należy jednak pamiętać, że suplementacja biopierwiastkami może prowadzić do zachwiania równowagi i wystąpienia interakcji między nimi. Długotrwała suplementacja cynkiem może być m.in. przyczyną zaburzonego wchłaniania miedzi, prowadząc do niedoboru tego pierwiastka – udowodniono bowiem, że miedź i cynk konkurują ze sobą.

W przeprowadzonych badaniach nie zaobserwowano istotnego statystycznie wpływu suplementacji cynkiem i/lub selenem na stężenia miedzi w nerkach (tab. I). Po podawaniu cynku (niezależnie czy samego, czy też łącznie z selenem), istotny wzrost stężenia tego pierwiastka w nerkach stwierdzono jedynie po pierwszym miesiącu podawania. Natomiast efektu takiego nie obserwowano zarówno po 2 i 3 miesiącach suplementacji, jak i w późniejszym okresie 6-miesięcznej obserwacji (tab. I). Z kolei istotny wzrost stężenia selenu zaobserwowano dopiero po 2 i 3 miesiącach podawania tego pierwiastka. Efekt taki stwierdzono u wszystkich grup suplementowanych selenem (zarówno oddzielnie, jak i łącznie z cynkiem). W okresie 6-miesięcznej obserwacji poziomy cynku i selenu nie różniły się w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie stwierdzono także znaczących różnic w poziomach selenu w nerkach po podaniu tego pierwiastka zarówno w postaci połączenia organicznego, jak i nieorganicznego. Istnieją jednak dane, z których wynika, że działanie selenu na organizmy żywe może być uzależnione nie tylko od jego ilości/dawki, ale także od postaci chemicznej, w jakiej jest do organizmu dostarczany, co wynika ze zróżnicowanej biodostępności (10).

Wiadomo także, że selen podawany w wysokich dawkach może powodować np. nasilenie stresu oksydacyjnego, natomiast w dawkach terapeutycznych obserwuje się efekt odwrotny. W przedstawionych badaniach, analiza parametrów stresu oksydacyjnego – w tym GSH i MDA – nie wykazała wpływu długotrwałej suplementacji szczurów selenem podawanym oddzielnie lub łącznie z cynkiem na te parametry w nerce (ryc. 1). Dobrana do suplementacji dawka selenu była zatem dawką bezpieczną.

Suplementacja cynkiem może m.in. prowadzić do interakcji z miedzią. Jak wynika z piśmiennictwa, zaburzona proporcja między miedzią a cynkiem w diecie na korzyść miedzi może prowadzić do hipercholesterolemii (22). U ludzi starszych, u których stwierdza się zaburzony stosunek Cu/Zn (wzrost) obserwuje się zwiększenie zapadalności na różne choroby, w tym układu krążenia. Dlatego też w obecnej pracy oprócz poziomów Zn i Se w nerce zmierzono także stężenia Cu. W przeprowadzonym doświadczeniu nie stwierdzono istotnych różnic w stosunkach Cu/Zn w nerce (tab. I).

Tab e l a I. Poziomy cynku, miedzi i seleniu w nerkach szczura po podaniu glukonianu cynku „Zn” i/lub różnych form seleniu (selenianu sodu „Se” lub selenometioniny „SeMet”) po 30, 60 i 90 dniach podawania oraz po 90 i 180 dniach od zakończenia podawania

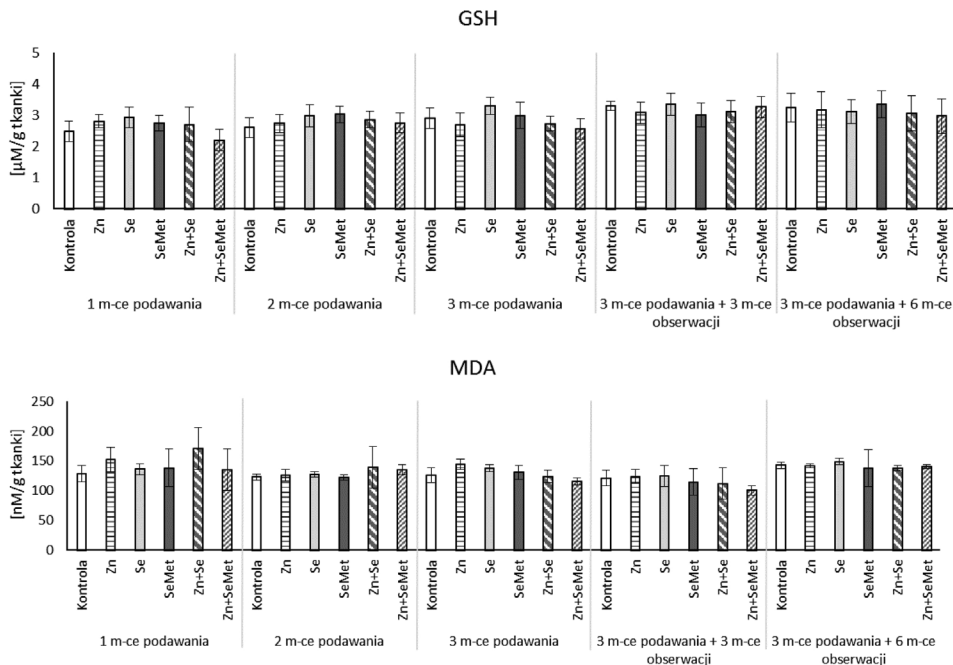
Table I. Zinc, copper and selenium level in kidney of rats following zinc gluconate (Zn) and different form of selenium (sodium selenite (Se) or selenomethionine (SeMet) administration given jointly or separately for 30, 60 and 90 days and then after 90 and 180 days post administration

	Zn	Cu	Se	Cu/Zn
(µg/g mokrej tkanki)				
Okres podawania				
30 dni				
Kontrola	31,18±1,61	15,42±2,99	2,07±0,06	0,49
Zn	35,33±2,10*	15,93±2,99	2,14±0,07	0,45
Se	33,38±3,42	14,10±2,98	2,16±0,10	0,42
SeMet	32,98±3,89	16,31±3,13	2,27±0,24	0,49
Zn+Se	35,99±2,46*	13,49±2,47	2,19±0,13	0,37
Zn+SeMet	35,44±2,94*	15,75±3,49	2,24±0,08	0,44
60 dni				
Kontrola	30,50±2,19	15,43±2,97	2,13±0,06	0,51
Zn	30,27±2,14	17,00±2,82	2,24±0,08	0,56
Se	31,43±3,59	20,22±2,52	2,44±0,16*	0,64
SeMet	25,67±3,79	17,64±1,60	2,59±0,10*	0,69
Zn+Se	25,79±2,34	15,50±6,19	2,53±0,27*	0,60
Zn+SeMet	24,24±2,57	15,89±3,56	2,51±0,24*	0,66
90 dni				
Kontrola	28,62±1,81	17,32±2,89	2,04±0,16	0,57
Zn	26,59±1,53	14,29±2,17	2,18±0,13	0,54
Se	24,09±1,26	14,51±1,63	2,38±0,09*	0,60
SeMet	25,61±2,59	13,89±1,24	2,39±0,03*	0,54
Zn+Se	30,47±2,94	13,48±2,69	2,31±0,09*	0,44
Zn+SeMet	31,00±3,14	12,95±2,77	2,33±0,10*	0,42
Okres obserwacji				
90 dni				
Kontrola	31,83±3,11	18,66±1,22	2,05±0,16	0,59
Zn	30,10±3,96	18,22±2,41	2,00±0,15	0,61
Se	34,09±2,04	18,15±2,04	2,29±0,27	0,53
SeMet	35,86±6,21	19,19±2,10	2,08±0,16	0,54
Zn+Se	34,44±2,65	17,15±2,91	2,25±0,19	0,50
Zn+SeMet	34,94±4,37	16,89±2,81	2,11±0,12	0,48
180 dni				
Kontrola	31,04±4,27	16,53±2,18	2,02±0,11	0,53
Zn	27,15±4,04	15,90±1,82	2,08±0,17	0,59
Se	28,33±3,76	14,50±1,17	2,20±0,10	0,51
SeMet	27,87±4,33	14,24±1,88	2,25±0,18	0,51
Zn+Se	24,63±2,91	14,88±1,15	2,11±0,04	0,60
Zn+SeMet	27,02±2,15	15,46±1,55	2,28±0,26	0,57

* Wynik znamieny względem kontroli, dla przedziału ufności (CI): 95%

Table II. Poziomy triglicerydów, HDL i cholesterolu całkowitego oraz stosunek HDL do cholesterolu całkowitego w osoczu szczura po podaniu glukonianu cynku „Zn” i/lub różnych form selenu (selenianu sodu „Se” lub selenometioniny „SeMet”) po 30, 60 i 90 dniach podawania oraz po 90 i 180 dniach od zakończenia podawania
 Table II. Levels of triglycerides, HDL and total cholesterol, and the ratio of HDL to total cholesterol in rat plasma following zinc gluconate (Zn) and different form of selenium (sodium selenite (Se) or selenomethionine (SeMet)) administration given jointly or separately for 30, 60 and 90 days and then after 90 and 180 days post administration

	Triglicerydy (mmol/dm ³)	HDL (mmol/dm ³)	Cholesterol całkowity (mmol/dm ³)	HDL/Cholesterol całkowity
Okres podawania				
30 dni				
Kontrola	0,73±0,12	1,25±0,26	1,60±0,45	0,78±0,08
Zn	0,98±0,17	0,93±0,08	1,40±0,17	0,67±0,09
Se	1,07±0,29	1,00±0,11	2,05±0,33	0,66±0,05
SeMet	1,12±0,21	1,22±0,11	2,48±0,49	0,64±0,08
Zn+Se	0,86±0,30	1,24±0,15	2,69±0,75	0,59±0,11
Zn+SeMet	0,87±0,35	1,26±0,12	2,46±0,46	0,58±0,09
60 dni				
Kontrola	0,78±0,11	1,40±0,32	1,71±0,50	0,79±0,16
Zn	0,98±0,18	1,05±0,31	1,78±0,23	0,57±0,15
Se	1,07±0,24	0,95±0,17	2,33±0,41	0,50±0,14
SeMet	1,02±0,07	0,94±0,17	2,41±0,52	0,58±0,15
Zn+Se	0,84±0,32	0,99±0,12	2,22±0,43	0,60±0,09
Zn+SeMet	1,16±0,11	0,95±0,18	2,21±0,24	0,58±0,12
90 dni				
Kontrola	0,74±0,11	1,48±0,23	1,99±0,34	0,73±0,11
Zn	1,00±0,34	1,73±0,17	1,62±0,26	0,60±0,06
Se	0,94±0,30	1,78±0,19	2,40±0,24	0,75±0,09
SeMet	0,88±0,34	1,59±0,22	2,54±0,49	0,65±0,10
Zn+Se	0,74±0,32	1,41±0,09	2,71±0,41	0,59±0,09
Zn+SeMet	0,75±0,22	1,31±0,19	2,68±0,52	0,58±0,12
Okres obserwacji				
90 dni				
Kontrola	1,70±0,22	1,30±0,26	1,70±0,17	0,77±0,03
Zn	1,44±0,22	1,21±0,36	1,47±0,70	0,74±0,09
Se	1,59±0,22	0,98±0,18	1,37±0,35	0,61±0,08
SeMet	1,39±0,45	0,99±0,16	1,50±0,30	0,73±0,12
Zn+Se	1,46±0,42	1,09±0,40	1,65±0,58	0,65±0,11
Zn+SeMet	1,37±0,20	0,99±0,13	1,68±0,40	0,65±0,11
180 dni				
Kontrola	1,14±0,24	1,18±0,15	1,37±0,36	0,76±0,10
Zn	1,13±0,29	1,17±0,26	1,80±0,35	0,61±0,11
Se	1,15±0,17	1,12±0,13	1,61±0,31	0,67±0,14
SeMet	1,33±0,22	1,06±0,17	1,67±0,35	0,65±0,11
Zn+Se	1,18±0,27	1,08±0,10	1,44±0,35	0,77±0,14
Zn+SeMet	1,12±0,13	1,36±0,16	1,87±0,41	0,71±0,13



Ryc. 1. Stężenia GSH i MDA w nerkach szczurów po podaniu glukonianu cynku „Zn” i/lub różnych form seleniu (sodianu selenitu „Se” lub selenometioniny „SeMet”) po 30, 60 i 90 dniach podawania oraz po 90 i 180 dniach od zakończenia podawania.

Fig. 1. Concentrations of GSH and MDA in rats' kidneys following zinc gluconate (Zn) and different form of selenium (sodium selenite (Se) or selenomethionine (SeMet)) administration given jointly or separately for 30, 60 and 90 days and then after 90 and 180 days post administration.

Podprzewlekła suplementacja szczurów cynkiem i/lub selenem nie spowodowała także zaburzeń w parametrach biochemicznych we krwi, które świadczyłyby o hipercholesterolemii (tab. II). Niemniej jednak z danych literaturowych wynika, że podanie szczurom Se i Zn w wyższych dawkach może działać korzystnie na gospodarkę lipidową poprzez obniżenie całkowitego cholesterolu oraz wzrost frakcji HDL (23, 24).

WNIOSKI

Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że nawet długotrwała suplementacja szczurów selenem i/lub cynkiem w zastosowanych dawkach (zbliżonych do dziennego zapotrzebowania ludzi na te pierwiastki) nie zaburza ich homeostazy w nerkach.

Zastosowane modele suplementacji nie indukują stresu oksydacyjnego, wyrażonego stężeniem GSH i MDA w nerkach.

Suplementacja szczurów selenem i/lub cynkiem nie spowodowała zaburzeń w gospodarce lipidowej.

A. Daragó, A. Sapota, M. Nasiadek, M. Klimczak,
E. Bruchajzer, A. Kilanowicz

THE INFLUENCE OF SUBCHRONIC ZINC AND/OR SELENIUM SUPPLEMENTATION IN
WISTAR RATS ON HOMEOSTASIS OF THESE BIOELEMENTS IN THE KIDNEY.

Summary

An interest in a protective supplementation with zinc and selenium in cancer diseases (including prostate cancer) and cardiovascular diseases lasts from many years. The purpose of the study was to determine whether subchronic supplementation of male Wistar rats with zinc and/or selenium, administered together or separately, influence on the homeostasis of these elements in kidney and selected oxidative stress parameters in this organ. The results show that the supplementation of zinc and/or selenium lasting up to three months in rats at doses used in this study, which were similar to daily human demand for these elements does not affect the homeostasis of these elements in the kidney as well as does not interfere with selected parameters of renal oxidative stress and does not lead to disturbances in the lipid profile.

PIŚMIENNICTWO

1. *Kolenko V., Teper E., Kutikov A., Uzzo R.*: Zinc and zinc transporters in prostate carcinogenesis. *Nat. Rev. Urol.*, 2013; 10: 219-226. – 2. *Franklin R.B., Costello L.C.*: Zinc as an anti-tumor agent in prostate cancer and in other cancers. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2007; 463: 211-217. – 3. *Sapota A., Darago A., Taczalski J., Kilanowicz A.*: Disturbed homeostasis of zinc and other essential elements in the prostate gland dependent on the character of pathological lesions. *Biometals*, 2009; 22: 1041-1049. – 4. *Kristal A.R., Arnold K.B., Schenk J.M., Neuhouser M.L., Weiss N., Goodman P., Antvelink C.M., Penson D.F., Thompson I.M.*: Race/ethnicity, obesity, health related behaviors and the risk of symptomatic benign prostatic hyperplasia: results from the prostate cancer prevention trial. *J. Urol.*, 2007; 177(4): 1395-1400. – 5. *Dennert G., Zwahlen M., Brinkman M., Vinceti M., Zeegers M.P., Horneber M.*: Selenium for preventing cancer. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2011; 11: CD005195. – 6. *Yang L., Pascal M., Wu X.H.*: Review of selenium and prostate cancer prevention. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 2013; 14(4): 2181-2184. – 7. *Yu S.Y., Zhu Y.J., Li W.G.*: Protective role of selenium against hepatitis B virus and primary liver cancer in Qidong. *Biol. Trace Elem. Res.*, 1997; 56(1): 117-124. – 8. *Shamberger R.J., Frost D.V.*: Possible protective effect of selenium against human cancer. *Can. Med. Assoc. J.*, 1969; 100(14): 682. – 9. *El-Bayoumy K., Sinha R.*: Mechanisms of mammary cancer chemoprevention by organoselenium compounds. *Mutat. Res.*, 2004; 551(1-2): 181-197. – 10. *Misra S., Boylan M., Selvam A., Spallholz J.E., Björnstedt M.*: Redox-active selenium compounds-from toxicity and cell death to cancer treatment. *Nutrients*, 2015; 7(5): 3536-3556. – 11. *Fernandes A.P., Gandin V.*: Selenium compounds as therapeutic agents in cancer. *Biochim. Biophys. Acta*, 2015; 1850(8): 1642-1660. – 12. *Kanoni S., Dedoussis G.V., Herbein G., Fulop T., Varin A., Jajte J., Rink L., Monti D., Mariani E., Malavolta M., Giacconi R., Marcellini F., Mocchegiani E.*: Assessment of gene-nutrient interactions on inflammatory status of the elderly with the use of a zinc diet score-ZINCAGE study. *J. Nutr. Biochem.*, 2010; 21(6): 526-531. – 13. *González S., Huerta J.M., Fernández S., Patterson E.M., Lasheras C.*: Food intake and serum selenium concentration in elderly people. *Ann. Nutr. Metab.*, 2006; 50(2): 126-131. – 14. *Dixon L.B., Winkleby M.A., Radimer K.L.*: Dietary intakes and serum nutrients differ between adults from food-insufficient and food-sufficient families: Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. *J. Nutr.*, 2001; 131: 1232-1246. – 15. European Commission, Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Zinc. SCF/CS/NUT/UPPLEV/62 Final 19 March 2003. – 16. *Wąsowicz W., Pytlińska E., Gromadzińska J., Bertrand J., Klos A., Skibniewska K., Daragó A.*: Daily selenium, zinc and copper intake in two populations of healthy individuals in Poland Preliminary study. *Pol. J. Environ. Study*, 2006; 15(2a): 529-532. – 17. *Wieczorowska-Tobis K.*: Zmiany narządowe w procesie starzenia. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2008; 118: 63-69. – 18. *Dziennik Ustaw*, Nr 33, poz. 289. Ustawa z dnia 21 stycznia 2005 r. o doświadczeniach na zwierzętach, 2005. – 19. *Danch A., Drozd M.*: A simplified technique of fluorometric selenium assay in biological material. *Diagn. Lab.*, 1996; 32: 529-534. – 20. *Sedlak I., Lindsay R.H.*: Estimation of total protein bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.*, 1968; 25: 192-205.

21. *Uchiyama M., Mihara M.*: Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.*, 1978; 86: 271-278. – 22. *Muhammad S.A., Bilbis L.S., Saidu Y., Adamu Y.*: Effect of antioxidant mineral elements supplementation in the treatment of hypertension in albino rats. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2012; 2012: 134723. – 23. *Myśliwiec, Z., Machoy-Mokrzynska, A., Juzyszyn, Z., Czerny, B., Put, A.*: Effects of selenium on serum lipids and enzyme activities in fluoride-intoxicated rats. *Fluoride*, 2002; 3(35): 168-175. – 24. *Ranasinghe P., Wathurapatha W.S., Ishara M.H., Jayawardana R., Galappathy P., Katulanda P., Constantine G.R.*: Effects of Zinc supplementation on serum lipids: a systematic review and meta-analysis. *Nutr. Metab.*, 2015; 12: 26-42.

Adres: 90-151 Łódź, ul. Muszyńskiego 1

BROMATOLOGIA I CHEMIA TOKSYKOLOGICZNA

Journal of health and environmental
research

The online version of the published magazine is a primal version

VOL. L

2017

No. 1

CONTENS

<i>B. Kulczyński, A. Gramza-Michałowska, M. Grdeń: Amaranth – nutritional value and health benefits</i>	1
<i>Z. Goluch-Koniuszy, M. Salmanowicz: Significance of nutrition in physiological insulin resistance in youths during the pubertal period</i>	8
<i>B. Bobrowska-Korczak, D. Skrajnowska, A. Tokarz: Telomeres, telomerase activity and diet</i>	17
<i>K. Miranowicz-Dzierżawska: Comparison of the cytotoxic effect of nano- and micro-ZnO in the consecutive passages of senescent cells <i>in vitro</i></i>	25
<i>B. Paszczyk, J. Luczyńska: Cheeses and cheese-like products as a source of conjugated linoleic acid (CLA) and <i>trans</i> isomers in our diet</i>	33
<i>A. Daragó, M. Nasiadek, A. Sapota, E. Bruchajzer, A. Kilanowicz: Assessment of calcium and magnesium levels in selected mineral, spring and therapeutic waters in relation to recommended daily allowance (RDA)</i>	39
<i>A. Karmańska, J. Florczak, B. Karwowski: Determination of the contents of polyphenol compounds in several varieties of champignons and their antioxidant activity</i>	48
<i>M. Bożym, M. Wzorek, I. Kłosok-Bazan: Swimmers' exposure to the toxic water disinfection products</i>	55
<i>A. Kozieł, B. Karwowski: Critical analyses of the electronic cigarette research in the light of the recent scientific literature</i>	65
<i>D. Skrajnowska, B. Bobrowska-Korczak, A. Tokarz: The effect of applied diets on changes in copper level in the femur and hair of rats with breast cancer</i>	75
<i>A. Daragó, A. Sapota, M. Nasiadek, M. Klimczak, E. Bruchajzer, A. Kilanowicz: The influence of subchronic zinc and/or selenium supplementation in Wistar rats on homeostasis of these bioelements in the kidney</i>	80