

PAWEŁ PAŚKO¹, HENRYK BARTOŃ¹, MARIA FOŁTA¹, MIROSLAW KROŚNIAK¹, ZOFIA ZACHWIEJA¹, SHELA GORINSTEIN²

WŁAŚCIWOŚCI ŻYWIENIOWE I ZDROWOTNE SZARŁATU I KOMOSY. CZĘŚĆ II: WPLYW DODATKU NASION SZARŁATU I KOMOSY DO PASZ SZCZURÓW NA WYBRANE WSKAŹNIKI BIOCHEMICZNE TYCH ZWIERZĄT KARMIONYCH DIETĄ WYSOKO FRUKTOZO WĄ.

RESEARCH ON NUTRITIONAL AND HEALTH-ENHANCING PROPERTIES OF THE AMARANTHUS AND QUINOA. PART 2: INFLUENCE OF THE AMARANTHUS QUINOA SEEDS ADDITIVE TO RAT FODDER ON SELECTED BIOCHEMICAL INDICATORS OF THE ANIMALS WHEN FED WITH HIGH-FRUCTOSE DIET

¹ Zakład Bromatologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego p.o.
kierownika: dr Paweł Zagrodzki

*Celem pracy była ocena wpływu dodatku nasion arnanantusa (*Amaranthus cruentus*) i komosy ryżowej (*Chenopodium quinoa*) do pasz szczurów na parametry biochemiczne krwi tych zwierząt. W badaniach zastosowano wysokofruktozowy model stresu oksydacyjnego. Ocenie poddano takie parametry jak: profil lipidowy (cholesterol całkowity, HDL, LDL, triglicerydy), stężenie glukozy, mocznika, kwasu moczowego, kreatyniny, albumin, białka całkowitego, aktywność fosfatazy alkalicznej. Oznaczono również następujące pierwiastki: Na, K, Mg, Ca, Cl. Dodatek ziaren arnanantusa i komosy do pasz szczurów karmionych dietą, z 31% fruktozy powodował korzystny choć nieznaczny wpływ ochronny przed szkodliwym działaniem fruktozy. Dotyczyło to głównie gospodarki lipidowej i było istotne w przypadku triglicerydów i LDL, a nieistotne choć zauważalne w przypadku HDL.*

SŁOWA KLUCZOWE: wybrane wskaźniki biochemiczne, wysoko fruktozowa dieta,
KEYWORDS: selected biochemical indicators, high - fructose diet,

Podawanie szczurom pasz wzbogacanych w fruktozę powoduje u nich indukcję stresu oksydacyjnego [6], wynikającego m. in. z narastającej insulinooporności tkanek, hipertriglicydemii i otyłości. Busserolles i wsp [5] stwierdzili w badaniach na szczurach, którym podawali fruktozę, niższy poziom witaminy E w osoczu, co mogło być przyczyną zmniejszonej obrony ustroju przed wolnymi rodnikami. Wykazali również, że stężenie wolnych rodników było 3 razy wyższe w grupie szczurów spożywających dietę z fruktozą niż w grupach bez fruktozy. Lipoproteiny bogate w triglicerydy były bardziej narażone na utlenianie niż te o obniżonej zawartości triglicerydów. Busserolles i in. [5] dodawał do paszy 34 % fruktozy podczas gdy większość dotychczasowych badań skupiała się głównie na efektach, jakie wywoływała dieta o bardzo wysokiej zawartości fruktozy: w badaniach na zwierzętach 45-66% wartości energetycznej diety pochodziło z fruktozy, a w badaniach na

ludziach nawet 90% energii stanowiła fruktoza [7]. Zawartość fruktozy w tych dietach nie była adekwatna do ilości spożywanej w przeciętnej diecie. Określono, że fruktoza stanowi średnio 10%-20% wartości kalorycznej posiłków przeciętnej Amerykanina, czyli znacznie mniej niż w przeprowadzanych eksperymentach naukowych [3]. Zauważono, że długotrwałe podawanie fruktozy może prowadzić do zmian adaptacyjnych u zdrowych zwierząt, przez co nie obserwuje się u nich zaburzeń gospodarki lipidowej [11]. Dlatego w niniejszym doświadczeniu wybrano krótszy (5 tygodniowy) okres prowadzenia badań.

Celem pracy była ocena wpływu dodatku nasion szarłat i komosy do pasz na parametry biochemiczne krwi. W badaniach zastosowano „wysokofruktozowy” model stresu oksydacyjnego. Ocenie poddano takie parametry jak: profil lipidowy (cholesterol całkowity, HDL, LDL, triglicerydy); stężenie glukozy, mocznika, kwasu moczowego, kreatyniny, albumin, białka całkowitego, aktywność fosfatazy alkalicznej. Oznaczono również następujące pierwiastki: Na, K, Mg, Ca, Cl.

Materiał do badań stanowiło osocze szczurów. Szczury rasy Wistar (samce), hodowane były w grupach po 6 sztuk przez okres 5 tygodni. Grupy stanowiły pary: pierwsza grupa żywiona była karmą wzbogaconą w ziarna szarłat (*Amaranthus cruentus*) i komosy (*Chenopodium quinoa*), bez fruktozy, zaś druga grupa - karmą wzbogaconą w te ziarna, w której 31% skrobi zamieniono na fruktozę. W badaniu była również uwzględniona grupa kontrolna żywiona paszą z fruktozą i paszą standardową. Skład karm podano w Tab. 1.

Metodyka.

Parametry biochemiczne osocza szczurów zostały oznaczone przy pomocy automatycznego analizatora KONELAB 30.

Analizę statystyczną wyników badań wykonano przy użyciu programu Statistica 5,1 Pl. Dla badanych zmiennych sprawdzono typ rozkładu, stosując test Chi-kwadrat. W celu porównania wartości średnich użyto testu Kołmogorowa Smirnova. Jako krytyczny poziom istotności przyjęto $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja.

Wyniki badań zebrano w Tabeli 2. W niniejszej pracy stwierdzono, iż zastosowane warunki eksperymentu wpłynęły głównie na profil lipidowy osocza szczurów.

Dodatek fruktozy powodował nieistotne podwyższenie cholesterolu całkowitego w badanych grupach.

We wszystkich grupach szczurów „fruktozowych” karmionych paszą z dodatkiem szarłat i komosy stwierdzono spadek stężenia LDL w porównaniu do grup „bezfruktozowych”. Nasze wyniki różnią się od wyników innych autorów. Benado i in. [3] wykazali, że stężenie cholesterolu frakcji LDL wzrastało wraz z procentowym udziałem fruktozy w diecie. Lewis i in. [9] stwierdzili u szczurów karmionych przez 5 tygodni dietą zawierającą 60% fruktozy istotne podwyższenie LDL w porównaniu z grupą kontrolną zwierząt, otrzymującą standardową dietę.

Dodatek nasion szarłat i komosy do pasz z fruktozą zapobiegł obniżeniu stężenia HDL, do którego doszło w grupie kontrolnej (N, NF) ($p < 0,05$). Lewis i in. [9] stwierdzili wyższe stężenie HDL w grupie szczurów spożywających dietę fruktozową w odniesieniu do grupy kontrolnej. Wyniki takie uzyskał również Benado i in. [3].

We wszystkich grupach „fruktozowych” wzrastało istotnie stężenie triglicerydów w porównaniu do grup „bezfruktozowych”. Wskazuje to na brak ochronnego działania dodatku szarłat i komosy na ten czynnik. Buserolles i in. [5] po 2 tygodniach eksperymentu z dodatkiem, podobnie jak u nas, 34% fruktozy, stwierdzili u szczurów hipertriglicerydemię. Stężenie triglicerydów w osoczu wzrosło podobnie jak w naszej pracy dwukrotnie. Lewis i in. [9], w badaniach na szczurach żywionych dietą wysokofruktozową (60%) zaobserwował również wzrost stężenia triglicerydów w porównaniu z grupą kontrolną. Wzrost stężenia triglicerydów we krwi szczurów karmionych dietą zawierającą fruktozę może być

spowodowany nadprodukcją triglicerydów w hepatocytach, a więc zwiększoną lipogenezą i nadmiernym tworzeniem lipoprotein VLDL. U szczurów z hipertriglicydemią zaobserwowano też powiększoną masę wątroby wskutek nagromadzenia w niej tłuszczu, co jest zgodne z obserwacjami innych autorów [4].

Skład pasz [g/kg].
Fodder ingredients [g/kg].

GRUPA GROUP	NAZWA GRUPY NAME:GROUP	kazeina casein	olej rzepakowy rapeseed oil	skrobia kukurydziana, corn starch	Fruktoza Fructose	material budany material	Kreda Chalk	Monosfor an wapnia Calcium monophosph hate	Lecytyna Lecithin	NaCl	Celuloza Cellulose	mx	razem (g/kg) total
AM1	Amarantus-1, Amaranthus-1	200	50	310	0	310	28	29	10	3	50	10	1000
AM1F	Amarantus1+fruktoza Amaranthus1+fructose	200	50	0	310	310	28	29	10	3	50	10	1000
AM2	Amarantus-2 Amaranthus-2	200	50	465	0	155	28	29	10	3	50	10	1000
AM2F	Amarantus2+fruktoza Amaranthus2+fructose	200	50	155	310	155	28	29	10	3	50	10	1000
Q	Komosa Quinoa	200	50	310	0	310	28	29	10	3	50	10	1000
QF	Komosa + fruktoza Quinoa + fructose	200	50	0	310	310	28	29	10	3	50	10	1000
N	Grupa kontrolna, control group	200	50	620	0	0	28	29	10	3	50*	10	1000
NF	Grupa kontrolna + fruktoza Control group + fructose	200	50	310	310	0	28	29	10	3	50*	10	1000

mix- witaminy i składniki mineralne, vitamins and minerals
* - celuloza, cellulose 45,3 g + MgO 0,7 g + K₂SO₄ 3,5 g

Wartości parametrów biochemicznych osocza szczurów.
Values of biochemical parameters of rat plasma

	AM1	AM1F	AM2	AM2F	Q	QF	N	NF
Cholesterol całkowity [mmol/L]	1,67±0,22	1,81±0,18	1,74±0,23	1,79±0,16	1,61±0,13	1,72±0,18	2,19±0,17	2,00±0,11
Total cholesterol								
LDL [mmol/L]	0,6±0,1	0,49±0,16	0,61±0,07	0,48±0,09	0,58±0,08	0,51±0,1	0,74±0,09	0,43±0,08
HDL [mmol/L]	0,81±0,11	0,8±0,12	0,9±0,15	0,88±0,1	0,73±0,06	0,74±0,1	1,11±0,13	0,94±0,04
Triglicerydy [mmol/L]	1,24±0,33	2,63±0,87	1,11±0,14	2,11±0,26	1,49±0,18	2,33±0,52	1,68±0,4	3,12±0,79
Tryglicerydyde								
Glukoza [mmol/L]	8,3±0,44	9,2±0,7	8,7±0,33	9,6±0,5	7,97±0,68	8,37±0,43	8,98±0,41	9,42±0,84
Glucose								
Kwas moczowy [mmol/L]	29,67±3,83	35,6±12,58	24,67±2,16	34,17±9,62	26,5±3,21	34,67±7,84	24,4±4,39	33,8±2,95
Uric acid								
Mocznik [mmol/L]	8,8±1,45	7,77±0,96	9,08±1,59	7,78±1,44	9,38±1,92	8,75±1,56	10,77±0,6	10,85±1,42
Urea								
Kreatynina [μmol/L]	36,5±2,51	32,5±3,27	39,5±3,94	35,33±2,16	32,33±5,01	28,67±6,02	32,17±3,37	29,5±3,83
Creatinine								
Albuminy [g/dl]	32±0,89	32,83±0,75	32,17±1,33	32±1,55	31,33±0,82	31,33±1,97	34,4±0,89	34,17±1,17
Albumin								
Białko całkowite [g/L]	56,87±1,77	61,03±3,26	59,73±1,72	61,18±3,2	52,52±1,27	51,38±3,13	62,3±1,22	62,57±2,33
Total protein								
Fosforan alkaliczna [U/L]	242,5±37	219,8±28	240,3±23	193,5±15	228,8±25	192,8±14	239,5±26	190,5±13
Alkaline phosphatase								
Sód [mmol/L]	138,83±0,75	139±1,1	139±0,63	139,5±0,82	138,83±1,17	136,67±2,16	139,5±0,84	140±1,55
Sodium								
Potasj [mmol/L]	3,6±0,26	3,42±0,15	3,48±0,1	3,45±0,33	3,6±0,2	3,53±0,1	3,48±0,1	3,53±0,21
Kalium								
Magnez [mmol/L]	0,83±0,03	0,86±0,08	0,74±0,05	0,86±0,06	0,74±0,04	0,74±0,05	0,77±0,14	0,77±0,06
Magnesium								
Wapń [mmol/L]	2,5±0,05	2,49±0,02	2,52±0,03	2,59±0,06	2,59±0,32	2,38±0,08	2,5±0,04	2,47±0,07
Calcium								
Chlorki [mmol/L]	99,58±0,98	100,67±1,67	101,65±0,9	101,48±0,57	100,88±0,92	98,23±2,09	102,58±1,16	103,33±1,39
Chlorides								

Średnia, mean (n=6) ± SD (standard deviation)

* AM1 nasiona amarantusa, amaranth seed (310 g/kg paszy, fodder) * AM1F - nasiona amarantusa amaranth seed (310 g/kg paszy, fodder)+ fruktoza, fructose * AM2 - nasiona amarantusa, amaranth seed (155 g/kg paszy, fodder) * AM2F - nasiona amarantusa, amaranth seed (155 g/kg paszy, fodder)+ fruktoza, fructose * Q – nasiona komosy, quinoa seed (310 g/kg paszy, fodder) * QF – nasiona komosy, quinoa seed (310 g/kg paszy, fodder) + fruktoza, fructose * N – grupa kontrolna, control group * NF – grupa kontrolna, control group + fruktoza, fructose

Stężenie glukozy nieznacznie wzrastało we wszystkich grupach „fruktozowych”, ale różnice te nie były istotne statystycznie poza grupą AM2 i AM2F. Bayru [2] wykazał, że dieta z fruktozą powodowała znaczący wzrost glukozy we krwi. Jednak według innych autorów fruktoza nie wpływała na poziom glukozy we krwi szczurów [10] albo wywoływała tylko przejściowy [12] lub umiarkowany wzrost glikemii [1]. Tak odmienne wyniki badań autorów mogą być spowodowane różnicami w ilości podawanej fruktozy oraz w czasie trwania eksperymentów. W niniejszej pracy stwierdzono, że dodatek komosy nieznacznie zmniejszał wzrost glikemii. Natomiast nasiona szarłatu nie wykazały tego efektu. Prawdopodobnie wynika to z wysokiego indeksu glikemicznego szarłatu.

Stężenie kwasu moczowego pod wpływem fruktozy dodanej do pożywienia wzrastało w grupie kontrolnej oraz nieco mniej we wszystkich grupach żywionych paszami z dodatkiem szarłatu i komosy. Wzrost stężenia kwasu moczowego w osoczu można tłumaczyć tym, że przemiany fruktozy w nerkach zachodzą przy użyciu zapasów ATP jako źródła fosforanów do procesów fosforylacji, co prowadzi do degradacji nukleotydów purynowych i pirymidynowych. W badaniach na ludziach po dożylnym podaniu 10% roztworu fruktozy (0,7g fruktozy/kg masy ciała) stwierdzono znaczący wzrost stężenia we krwi zasad purynowych (ksantyny i kwasu moczowego) oraz mocznika [14]. Wzrost stężenia kwasu moczowego, na skutek niekorzystnego działania fruktozy, jako jednego z silniejszych przeciwutleniaczy fazy wodnej, można tłumaczyć również jako wzrost ochrony przeciwutleniającej organizmu. Jednak nie jest pewne, czy nie mamy w tych badaniach do czynienia z działaniem utleniającym tego kwasu [13].

Dodatek fruktozy powodował spadek kreatyniny i mocznika we wszystkich badanych grupach oraz w grupie kontrolnej, różnice te nie były jednak istotne statystycznie. Podobne wyniki otrzymał Kizhner i in. [8]. Kreatynina powstaje jako produkt degradacji fosfokreatyny i jest wydzielana do moczu. Jeśli nerki nie są zdolne do wydzielania zbędnych azotowych produktów przemiany materii, wówczas stężenie kreatyniny we krwi rośnie. Przypuszcza się więc, że nerki badanych zwierząt były zdolne do przemian azotowych związków i nie prowadziło to do istotnych zmian w stężeniu kreatyniny.

Dodatek fruktozy do pasz spowodował istotny (poza grupą AMI i AM1F) spadek aktywności fosfatazy alkalicznej.

Stężenie białka całkowitego, albumin, sodu, potasu, magnezu, wapnia i chlorków w osoczu pozostawało bez zmian niezależnie od sposobu żywienia zwierząt.

WNIOSEK

Dodatek ziaren szarłatu i komosy do pasz szczurów karmionych dietą zawierającą 31% fruktozy powodował korzystny choć nieznaczny wpływ ochronny przed szkodliwym działaniem fruktozy. Dotyczyło to głównie gospodarki lipidowej i było istotne w przypadku LDL, a nieistotne choć zauważalne w przypadku HDL.

P. Paśko, H. Bartoń, M. Fołta, M. Krośniak, Z. Zachwieja, S. Gorinstein

RESEARCH ON NUTRITIONAL AND HEALTH-ENHANCING PROPERTIES OF THE AMARANTHUS AND QUINOA.

PART 2: INFLUENCE OF THE AMARANTHUS AND QUINOA SEEDS ADDITIVE TO RAT FODDER ON SELECTED BIOCHEMICAL INDICATORS OF THE ANIMALS WHEN FED WITH HIGH-FRUCTOSE DIET

The aim of the work was to assess the influence of the amaranthus (*Amaranthus emeritus*) and quinoa (*Chenopodium quinoa*) seed additive to rat fodder on biochemical parameters of the animals blood. The high-fructose model of oxidative stress has been used in the study. The following parameters were assessed: total cholesterol, HDL, LDL, trygliceryde, concentration of glucose, urea, uric acid, creatinine, albumin, total protein,

and the activity of alkaline phosphatase. The content of the following elements was analysed too: Na, K, Mg, Ca, Cl. The adding of amarantus and komosa seeds to the fodder of rats fed with the diet comprising 31 % of fructose resulted in a slight beneficial change in the level of protection against harmful fructose activity. This concerned mainly the lipids and was significant in the case of LDL, and insignificant, although noticeable in the case of HDL.

PIŚMIENICTWO

- 1. Anurag P., Anuradha CV. Metformin improves lipid metabolism and attenuates lipid peroxidation in high fructose-fed rats. *Diabetes Obes. Metab.*, 2002 4, 36;
- 2. Bayru M. Modulation pharmacologique de l'insulino-secretion et de la sensibilite a l'insuline chez le rat nourri au fructose. *BI Sciences, Montpellier* 2003, 6;
- 3. Benado M., Alcantara C, De la Rosa R., Ambrose M., Mosier K., Kern M. Effects of various levels of dietary fructose on blood lipids of rats. *Nutr. Res.* 2004, 24, 565;
- 4. Busserolles J., Gueux E., Rock E., Demigne Ch., Mazur A., Rayssiguier Y. Oligofructose protects against the hypertriglyceridemic and pro-oxidative effects of a high fructose diet in rats. *J. Nutr.* 2003, 1903;
- 5. Busserolles J., Gueux E., Rock E., Mazur A., Rayssiguier Y. Substituting honey for refined carbohydrates protects rats from hypertriglyceridemic and prooxidative effects of fructose. *J. Nutr.* 2002, 132 (11), 3379;
- 6. Girard A., Madani S., Boukourt F., Cherkaoui-Malki M., Belleville J., Prost J. Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition*, 2006, 22 (7-8), 758;
- 7. Hellerstein M.K. Carbohydrate-induced hypertriglyceridemia: modifying factors and implications for cardiovascular risk. *Curr. Opin. Lipidol.* 2002, 13, 33;
- 8. Kizhner T., Werman MJ. Long-term fructose intake: biochemical consequences and altered renal histology in the male rat. *Metabolism*, 2002, 51 (12), 1538;
- 9. Lewis G. F., Murdoch S., Uffelmann K., Naples M., Szeto L., Albers A., Adeli K., Brunzell J. D. Hepatic lipase mRNA, protein, and plasma enzyme activity is increased in the insulin-resistant, fructose-fed Syrian Golden Hamster and is partially normalized by the insulin sensitizer rosiglitazone. *Diabetes*, 2004, 53, 2893;
- 10. Nakamura K., Yamagishi S., Matsui T., Inoue H. Acarbose, an alpha-glucosidase inhibitor, improves insulin resistance in fructose-fed rats. *Drugs Exp. Clin. Res.* 2005, 31(4), 155;
- 11. Stark A.H., Timar B., Madar Z. Adaptation of Sprague Dawley rats to long-term feeding of high fat or high fructose diets. *Euro. J. Nutr.* 2000, 39, 229;
- 12. Thorburn A.W., Crapo P., Beltz W., Wallace P., Wilztium J., Henry R. Lipid metabolism in non-insulin-dependent-diabetes: effects of long term treatment with fructose-supplemented mixed meals. *Am. J. Clin. Nutr.* 1989, 50, 1015;
- 13. Watanabe S., Kang D.H., Feng L., Nakagawa j., Kanellis J., Lan H., Mazzali M., Johnson R.J. Uric acid, hominoid evolution, and the pathogenesis of salt - sensitivity. *Hypertension*, 2002, 40 (3): 355;
- 14. Yamamoto T., Moriwaki Y., Takahashi S., Tsutsumi Z., Yamakita J.I., Higashino K.. Effects of fructose and xylitol on the urinary excretion of adenosine, uridine, and purine bases. *Metabolism*, 1999, 48 (4), 5.