

„Wpływ diety wzbogaconej w *Fragaria ananassa* na aktywność paraoksonazy oraz profil lipidowy osocza zdrowych osób”

lek. Anna Zasowska-Nowak

Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych

Promotor: prof. dr hab. n. med. Jacek Rysz

Wprowadzenie: Paraoksonaza 1 (PON1) jest enzymem produkowanym w wątrobie, wykazującym aktywność hydrolazową względem substancji takich jak laktony, estry oraz związki fosforoorganiczne. Obecna w osoczu krwi obwodowej PON1 występuje głównie w postaci związanej z cząstkami HDL, będąc enzymem odpowiedzialnym za ich antyoksydacyjne i przeciwmiażdżycowe właściwości. W warunkach *in vitro* PON1 chroni cząstki LDL i HDL przed oksydacyjną modyfikacją, a także wykazuje zdolność do rozkładu nadtlenu wodoru i nadtlenków lipidów. U myszy doświadczalnych pozbawionych genu PON1 obserwowano istotnie wyższe stężenia tlenków lipidów, a pochodzące od nich cząstki LDL wykazywały zwiększoną wrażliwość na działanie oksydantów. Natomiast w badaniach epidemiologicznych wykazano związek pomiędzy niską aktywnością PON1 a zwiększonym ryzykiem wystąpienia choroby niedokrwiennej serca i miażdżycy u ludzi. Spośród wielu czynników wpływających na aktywność i stężenie PON1 w osoczu krwi istotne znaczenie mają zawarte w codziennej diecie związki o właściwościach antyoksydacyjnych. Wykazano m.in. wpływ owoców granatu oraz czarnej porzeczki, a także leków normalizujących stężenie frakcji lipoprotein osocza na wzrost aktywności PON1. Z drugiej strony, związki o właściwościach oksydacyjnych hamują aktywność enzymu w warunkach *in vitro*, a zwierzęta doświadczalne poddawane działaniu stresu oksydacyjnego charakteryzują się niską aktywnością krążącej PON1. Truskawki są owocami bogatymi w związki polifenolowe takie jak antocyjany, kwas elagowy i elagotaniny. Mają one właściwości antyoksydacyjne i przeciwzapalne, dlatego też mogą być jednym z czynników modulujących aktywność PON1. Truskawki wykazują zdolność hamowania procesów pro-oksydacyjnych (a tym samym zmniejszają ryzyko stresu oksydacyjnego) poprzez zwiększenie zdolności antyoksydacyjnej osocza oraz redukcję spoczynkowej produkcji ROS przez fagocyty krwi obwodowej. Ponadto, wprowadzenie truskawek do codziennej diety obniżało stężenie T-Chol i LDL-Chol oraz ograniczało procesy oksydacyjnej modyfikacji cząstek LDL u osób z zespołem metabolicznym. Co więcej, truskawki dodane jednorazowo do posiłku istotnie redukowały poposiłkowy wzrost stężenia TG i ox-LDL u osób z nadwagą i dyslipidemią. A zatem, truskawki włączone do codziennej diety mogą wpływać na aktywność PON1 oraz stężenia

poszczególnych frakcji lipoprotein krwi obwodowej, redukując ryzyko wystąpienia chorób układu sercowo-naczyniowego. Nie zbadano dotychczas wpływu ich regularnej konsumpcji na aktywność PON1 w osoczu, natomiast nieliczne badania oceniające zmiany zachodzące w profilu lipidowym zdrowych konsumentów truskawek dostarczają sprzecznych danych lub nie są w pełni wiarygodne.

Cele pracy: Ocena wpływu regularnej konsumpcji 500 g truskawek dziennie przez okres 30 dni na aktywność paraoksonazową i aryloesterazową osoczowej PON1 oraz stężenie cholesterolu całkowitego (T-Chol) i związanego z poszczególnymi frakcjami lipoprotein (LDL-Chol, HDL-Chol) oraz stężenie triglicerydów (TG) w surowicy krwi obwodowej zdrowych osób

Materiały i metody: Do badania włączono zdrowych, niepalących ochotników w wieku 20-60 lat. Badanie ukończyło 31 osób z grupy doświadczalnej – konsumenci truskawek (16 mężczyzn, średni wiek 36.3 ± 11.1 lat, średnia masa ciała 75.2 ± 16.3 kg, średni wskaźnik masy ciała BMI 24.4 ± 4.0 kg/m²) oraz 16 osób z grupy kontrolnej – które nie jadły truskawek (11 mężczyzn, średni wiek 38.8 ± 9.7 lat, średnia masa ciała 76.0 ± 22.3 kg, BMI 25.9 ± 3.5 kg/m²). Materiał doświadczalny stanowiły truskawki odmiany Honeoye, pochodzące z dwóch plantacji: prowadzonej zgodnie z zasadami produkcji ekologicznej oraz owoce hodowane zgodnie z zasadami zintegrowanej ochrony roślin. Trwające 90 dni doświadczenie (10 dniowy okres wstępny, 30 dni konsumpcji truskawek, 10 dniowy okres wypłukiwania, 30 dni konsumpcji truskawek i 10 dniowy okres wypłukiwania) obejmowało dwa 30-dniowe okresy konsumpcji truskawek, podczas których uczestnicy spożywali dzienną porcję 500 g truskawek w postaci puree. W czasie badania wszyscy uczestnicy byli na swojej „codziennej diecie” i ponadto nie stosowali żadnych preparatów witaminowych ani suplementów o właściwościach antyoksydacyjnych i modyfikujących gospodarkę lipidową. W dniach 0, 10, 25, 40, 50, 65, 80 i 90-tym od uczestników badania będących na czczo pobierano krew z żyły odłokciowej w celu oznaczenia aktywności paraoksonazowej i aryloesterazowej PON1, stężeń cholesterolu całkowitego (T-Chol) i związanego z cząstkami HDL (HDL-Chol) oraz triglicerydów (TG) w surowicy. W celu oceny przestrzegania zaleceń regularnej konsumpcji truskawek, dokonywano analizy stężeń kwasu kawowego i homovanilinowego w osoczu oraz kwasu 4-hydroksyhipurowego i urolityny A w porannej próbce moczu z wykorzystaniem metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją elektrochemiczną (HPLC-ECD) oraz spektrofotometryczną (HPLC-UV-Vis). Aktywność paraoksonazową i aryloesterazową PON1 w osoczu krwi oznaczano spektrofotometrycznie wykorzystując procedurę opisaną przez

Nakanishi i wsp. [Nakanishi i wsp, 2003], wykorzystując zdolność enzymu do hydrolizy paraoksonu i octanu fenylu. Stężenia T-Chol, HDL-Chol oraz TG w surowicy uczestników doświadczenia oznaczono metodą enzymatycznego testu kolorymetrycznego. Stężenie LDL-Chol obliczano za pomocą wzoru Friedewalda. Analizę polimorfizmu PON1 Q192R wykonano wykorzystując metodę opisaną przez Nakanishi i wsp. [Nakanishi i wsp, 2003].

Wyniki: Regularna konsumpcja truskawek hamowała aktywność paraoksonazową PON1, jednak nie miała wpływu na jej aktywność aryloesterazową. Spadek aktywności paraoksonazowej PON1 był większy podczas drugiego okresu jedzenia owoców i utrzymywał się jeszcze 10 dni po wyłączeniu truskawek z diety. Nie wykazano wpływu polimorfizmu genu PON1 w pozycji 192 A/G na zmiany aktywności enzymu związane z regularną konsumpcją truskawek. U osób z hipercholesterolemią zmiany aktywności PON1 wywołane regularną konsumpcją truskawek były bardziej wyrażone niż w grupie osób z prawidłowym profilem lipidowym. Redukcji aktywności PON1 towarzyszył wzrost stężenia kwasu homowanilinowego w osoczu oraz urolityny A i kwasu 4-hydrokshipurowego w moczu jednakże nie zaobserwowano istotnych korelacji między tymi zmiennymi. Stężenie T-Chol ulegało jedynie przejściowemu obniżeniu podczas pierwszego okresu konsumpcji truskawek. Pomimo wzrostu stężenia HDL-Chol w 50 dniu doświadczenia (10 dni po zakończeniu pierwszego cyklu truskawek) wartości HDL-Chol przed i po zakończeniu interwencji dietetycznej (dzień 0 i 90) nie różniły się istotnie. Stężenia LDL-Chol i TG w surowicy nie zmieniały się pod wpływem konsumpcji truskawek. Jednakże pomimo niewielkiego wpływu na profil lipidowy, u konsumentów truskawek obserwowano istotną redukcję aterogennego wskaźnika Castelliego (T-Chol/HDL-Chol ratio).

Wnioski:

1. Regularna konsumpcja truskawek w dawce 500 g dziennie hamuje aktywność paraoksonazową osoczowej PON 1, nie wpływając na jej aktywność aryloesterazową u zdrowych osób.
2. Polimorfizm genu PON1 w pozycji 192 A/G nie ma wpływu na hamowanie aktywności paraoksonazowej związane z konsumpcją truskawek.
3. Regularna konsumpcja truskawek wywiera umiarkowany, korzystny ale krótkotrwały wpływ na profil lipidowy (redukcja cholesterolu całkowitego) u zdrowych osób

KIEROWNIK KLINYKI
Nefrologii, Nadciśnienia Tętniczego
i Medycyny Rodzinnej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
prof. dr hab. n. med. Jacek Rysz

okazale non