

MARIOLA FRIEDRICH, JOANNA SADOWSKA,
ZUZANNA GOLUCH-KONIUSZY

OCENA WPLYWU SKŁADU DIETY I JEJ UZUPEŁNIANIA WITAMINAMI Z GRUPY B NA STĘŻENIE INSULINY I WYBRANYCH WSKAŹNIKÓW PRZEMIAN BIAŁKOWYCH U SAMIC SZCZURA

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu suplementacji diety, w której pełne ziarna zbóż zamieniono na białą mąkę i sacharozę, witaminami z grupy B, na stężenie insuliny i wybranych wskaźników przemian białkowych u samic szczura.

Analiza uzyskanych wyników pozwoliła na stwierdzenie, że zmiana składu diety powodowała wzrost stężenia insuliny w surowicy krwi badanych samic, a zastosowana suplementacja nasilała obserwowane zmiany. Stwierdzono także istotny wpływ zmiany składu diety i zastosowanej suplementacji na wybrane wskaźniki przemian białkowych u badanych zwierząt. Zamiana składu diety powodowała statystycznie istotny wzrost stężenia białka ogólnego w surowicy krwi badanych samic, natomiast zastosowana suplementacja obniżała jego stężenie do wartości obserwowanych u samic na paszy podstawowej. Obserwowanym zmianom towarzyszył wzrost stężenia AspAT oraz spadek stężenia AlAT i mocznika w surowicy krwi samic żywionych paszą zmodyfikowaną, tak niesuplementowaną jak i suplementowaną, w porównaniu do zwierząt na paszy podstawowej. W grupach zwierząt żywionych paszą zmodyfikowaną mniejsza była także zawartość białka w mięśniach.

Słowa kluczowe: szczury, suplementacja, witaminy, insulina, przemiany białkowe

Wprowadzenie

Powodem podjęcia badań były obserwacje Friedrich i Sadowskiej [1], które stwierdziły, że stosowanie suplementacji witaminami z grupy B sprzyja zwiększonemu gromadzeniu wisceralnej tkanki tłuszczowej.

Dowiedziano już, że tkanka ta jest bardzo aktywna metabolicznie, i że jej nadmiar sprzyja m. in. rozwojowi insulinooporności [8]. Oddziaływanie tłuszczu trzewnego

Prof. dr hab. M. Friedrich, dr inż. J. Sadowska, dr inż. Z. Goluch-Koniuszy, Zakład Fizjologii Żywienia Człowieka, Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI 3, 71-459 Szczecin

wynika z uwalniania wolnych kwasów tłuszczowych (WKT), glicerolu i adipokin bezpośrednio do krążenia wrotnego. W wątrobie WKT nasilają glukoneogenezę, prowadząc do wzrostu stężenia glukozy we krwi. Natomiast kwasy tłuszczowe uwolnione do krążenia ogólnego, zmniejszają powinowactwo receptorów insulinowych błon komórkowych i interferują z przekaznictwem wewnątrzkomórkowych sygnałów insuliny [7]. Zarówno wzrost stężenia glukozy we krwi jak i insulinooporność prowadzą do hiperinsulinemii. Jednak insulina jest hormonem biorącym udział nie tylko w metabolizmie węglowodanowo-lipidowy, ale także białkowym. Dlatego postanowiono zbadać, jaki wpływ wywiera suplementacja diety witaminami z grupy B na stężenie insuliny i wybranych wskaźników przemian białkowych u samic szczura.

Material i metody badań

Badania, po uzyskaniu zgody Lokalnej Komisji Etycznej (nr zgody 7/2005), przeprowadzono na 36 samicach szczura szczepu SPRD/MoLLod, w wieku 5-6 miesięcy, o wyjściowej masie ciała $232 \pm 19,8$ g. Zwierzęta podzielono na trzy równoliczne grupy żywieniowe, które żywiono *ad libitum* granulowanymi mieszankami wyprodukowanymi w Wytwórni Pasz i Koncentratów w Kcyni. Grupa I otrzymywała mieszankę podstawową, która zawierała m. in. pełne ziarna pszenicy i kukurydzy, grupy II i III mieszankę zmodyfikowaną, w której, w stosunku do mieszanki podstawowej, część pełnych ziaren zastąpiono mąką pszenną i sacharozą (tab. 1). Pasze były izokaloryczne (tab. 2).

Do picia zwierzęta grupy I i II otrzymywały odstaną wodę wodociągową. Zwierzęta grupy III, w porze wzmożonej aktywności, otrzymywały 30 cm^3 wodnego roztworu witamin, w ilościach: tiamina – $0,133 \text{ mg}/30 \text{ cm}^3$, ryboflawina – $0,038 \text{ mg}/30 \text{ cm}^3$, pirydoksyna – $0,106 \text{ mg}/30 \text{ cm}^3$ i niacyna – $0,374 \text{ mg}/30 \text{ cm}^3$. Ilość podawanych witamin, wyliczana w stosunku do ilości spożywanej przez zwierzęta paszy, trzykrotnie przewyższała różnicę pomiędzy zawartością tych składników w paszy podstawowej i w paszy zmodyfikowanej, co do pewnego stopnia imitowało sposób suplementacji u ludzi. Po wypiciu roztworu witamin zwierzęta dopajano czystą, odstaną wodą wodociągową.

Doświadczenie, po tygodniowym kondycjonowaniu zwierząt, trwało 6 tygodni, w trakcie, których na bieżąco określano ilość spożytej paszy, a raz na tydzień kontrolowano masę ciała zwierząt.

Po zakończeniu doświadczenia zwierzęta uśpiono anestetykiem Ketanest i pobrano krew z serca. Wypreparowano także tkankę mięśniową (*m. quadriceps femoris*) i wątrobę. W uzyskanej surowicy krwi oznaczono stężenia: insuliny (metodą radioimmunologiczną), białka całkowitego (metodą biuretową), albumin (metodą elektroforetyczną), aminotransferazy asparaginowej (AspAT) i alaninowej (AlAT) (metodą kinetyczną, enzymatyczną) oraz mocznika (metodą kinetyczną, enzymatyczną). W wypre-

parowanej tkance mięśniowej i wątrobie oznaczono zawartości białka ogólnego według PN-A-04018:1975 [6].

Tabela 1

Skład surowcowy pasz zastosowanych w doświadczeniu [g/100 g]
Component composition of feeds used in the experiment [g/100 g]

Nazwa komponentu Component	Pasza podstawowa Basic feed	Pasza zmodyfikowana Modified feed
Pszenvica / Wheat	36,4	6
Kukurydza / Corn grain	20	10
Otręby pszenne / Wheat bran	20	20
Serwatka suszona / Dry whey	3	3
Sól pastewna / Fodder salt	0,3	0,3
Śruta sojowa 48% / Soya-bean grain 48%	17	17
Kreda pastewna / Fodder chalk	1,5	1,5
Fosforan 2-CA	0,8	0,8
Premiks LRM	1	1
Mąka pszenna / Wheat flour	-	30,4
Sacharoza / Saccharose	-	10

Tabela 2

Skład chemiczny pasz zastosowanych w doświadczeniu
Chemical composition of feeds used in the experiment

Składnik Component	Pasza podstawowa Basic feed	Pasza zmodyfikowana Modified feed
Białko ogólne / Total protein	18,1	17,5
Tłuszcz surowy / Crude fat	2,10	2,19
Węglowodany / Carbohydrates	65,8	66,2
Sucha masa / Dry matter	92,1	91,6
Popiół ogólny / Total ash	6,08	5,69
Energia brutto / Brutto energy		
[kcal/g]	3,95	3,94
[kJ/g]	16,5	16,5
Energia metaboliczna / Metabolic energy		
[kcal/g]	3,54	3,54
[kJ/g]	14,8	14,8

Uzyskane wyniki poddano obliczeniom statystycznym przy użyciu komputerowego programu statystycznego Statistica 8.0 z zastosowaniem testu Duncana przy poziomach istotności $\alpha=0,05$ i $\alpha=0,01$, aby uzyskać wyższy poziom wiarygodności hipotezy alternatywnej.

Wyniki i dyskusja

Analiza uzyskanych wyników pozwoliła na stwierdzenie, że zmiana składu diety powodowała wzrost stężenia insuliny w surowicy krwi badanych samic, jednak zmiany te nie były statystycznie istotne. Zastosowana suplementacja nasilała ten wzrost, co spowodowało, że stężenie insuliny w surowicy krwi samic żywionych paszą zmodyfikowaną suplementowaną witaminami było statystycznie istotnie wyższe w porównaniu do obserwowanego u zwierząt na paszy podstawowej (tab. 3).

Tabela 3

Wpływ składu diety i jej suplementacji witaminami z grupy B na stężenie insuliny i wybranych wskaźników przemian białkowych u samic szczura, ($\bar{x} \pm SD$, n=36)

The influence of diet type and its supplementation of B vitamins on blood concentration of insulin and chosen indicators of protein transmutation at female rats ($\bar{x} \pm SD$, n=36)

Cecha Trait	Pasza podstawowa Basic feed a	Pasza zmodyfikowana Modified feed b	Pasza zmodyfikowana + suplementacja Modified feed + supplementation c	Istotność różnic Statistical significant
Insulina / Insulin [μ U/ml]	2,22 \pm 0,52	2,56 \pm 0,39	3,01 \pm 0,75	a-c**
Białko całkowite / Total protein [g/l]	61,9 \pm 2,90	65,4 \pm 0,40	60,0 \pm 2,90	a-b*, b-c*-
Albuminy / Albumin [g/l]	29,7 \pm 1,9	30,8 \pm 2,3	28,5 \pm 1,5	a-c*, b-c*
AspAT [U/l]	48,1 \pm 4,0	57,6 \pm 8,2	61,9 \pm 10,4	a-b,c*
AlAT [U/l]	27,7 \pm 7,6	21,8 \pm 4,8	21,4 \pm 4,8	a-b,c**
Mocznik / Urea [mg/dl]	46,2 \pm 5,6	21,0 \pm 2,8	17,8 \pm 3,4	a-b,c**
Białko w mięśniach / Protein in muscle [%]	22,0 \pm 0,21	21,1 \pm 0,05	21,1 \pm 0,10	a-b,c**
Białko w wątrobie / Protein in liver [%]	18,2 \pm 0,48	18,1 \pm 0,40	18,1 \pm 0,4	-
Spożycie białka/ Protein consumption [g/100 g m.c./6 tyg.]	48,9 \pm 2,3	45,1 \pm 1,2	43,9 \pm 2,4	a-b*, a-c**

*, ** - różnica statystycznie istotna, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$

*, ** - statistically significant difference, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$

Stwierdzono, że zamiana składu diety powodowała statystycznie istotny wzrost stężenia białka ogólnego w surowicy krwi badanych samic, natomiast zastosowana suplementacja tej diety obniżała jego stężenie do wartości obserwowanych u samic na paszy podstawowej. W przypadku albumin istotny wpływ zaznaczył się tylko przy

suplementacji, która obniżała ich stężenie w porównaniu do stężeń obserwowanych w grupach zwierząt bez suplementacji (tab. 3).

Obserwowanym zmianom towarzyszył wzrost stężenia AspAT oraz spadek stężenia AlAT i mocznika w surowicy krwi samic żywionych paszą zmodyfikowaną, tak niesuplementowaną jak i suplementowaną, w porównaniu do zwierząt na paszy podstawowej. W grupach zwierząt żywionych paszą zmodyfikowaną mniejsza była także zawartość białka w mięśniach. Nie stwierdzono wpływu badanych czynników na zawartość białka w tkance wątrobowej (tab. 3).

Prawidłowe stężenie białka całkowitego we krwi zależy głównie od równowagi między syntezą a degradacją dwóch głównych frakcji białkowych – albumin i gamma-globulin. W przeprowadzonym doświadczeniu stwierdzono, że pomimo zmniejszonego spożycia białka przez samice będące na paszy zmodyfikowanej niesuplementowanej, stężenie tego składnika we krwi istotnie wzrosło i, częściowo, związane było to ze wzrostem stężenia frakcji albumin. Zjawisku temu towarzyszyło nieznaczące ale statystycznie istotne zmniejszenie zawartości białka w mięśniach.

Analizując stężenie albumin, pełniących rolę niespecyficznego systemu transportowego, można przypuszczać, że ich wzrost mógł być związany m.in. ze wzrostem stężenia wolnych kwasów tłuszczowych w osoczu krwi, wynikającym z natężenia przemian lipidowych pod wpływem składu diety [5].

Biorąc natomiast pod uwagę skład zastosowanej w doświadczeniu paszy, zawierającej łatwo trawione i szybko wchłaniane węglowodany oraz związany z tym wzrost stężenia insuliny, która zwiększa m.in. wchłanianie aminokwasów do komórek, obserwowane w tkance mięśniowej zmiany zawartości białka powinny mieć odmienny charakter, szczególnie w grupie samic suplementowanych.

Z wcześniejszych badań własnych wynika jednak, że zastosowana zmiana składu diety, pozbawiająca ją pewnej części błonnika pokarmowego oraz chromu wchodzącego w skład czynnika tolerancji glukozy, sprzyja u samic szczura insulinooporności, na co wskazywał również obserwowany przez nas istotny wzrost stężenia glukozy we krwi badanych zwierząt [3] i co potwierdzają wyniki badań innych autorów [4]. Taki mechanizm wpływu zmiany składu diety mógłby tłumaczyć obserwowane zjawisko, wskazując dodatkowo na brak normalizującego wpływu, w tym zakresie, zastosowanej suplementacji. Pogląd ten mogłyby też potwierdzać obserwowane, pod wpływem zmiany składu diety i jej suplementacji, wzrost aktywności AspAT i spadek aktywności AlAT oraz spadek stężenia mocznika, wskazujące na wzrost tempa przemian aminokwasów w komórce, przy bardzo zmniejszonym ich katabolizmie.

Oceniając zaistniałe zmiany należy jednak zdawać sobie sprawę, że mogą one wynikać również ze zmiany ilości spożywanego przez zwierzęta białka. Sugeruje to spadek aktywności AlAT, która jest enzymem odpowiedzialnym za kierowanie amino-

kwasów na szlaki kataboliczne oraz spadek stężenia głównego końcowego produktu metabolizmu białka – mocznika.

Przy analizie obserwowanych zmian, nie można wykluczyć również wpływu samego faktu zmiany diety i jej suplementacji, które poprzez wymuszanie odmiennej aktywności enzymatycznej i metabolicznej, mogą być odbierane przez organizm jako czynniki agresji środowiskowej, co manifestuje się m. in. zmianami stężenia glikokortykoidów we krwi [2], uważanych za wybitnie nasilające katabolizm białek ustrojowych. Jedną z ich funkcji jest zapewnienie puli wolnych aminokwasów do adaptacyjnej syntezy białka, co wiąże się z indukcją syntezy enzymów różnych torów przemian aminokwasów. W przeprowadzonym doświadczeniu mógłby na to wskazywać wzrost aktywności AspAT.

Reasumując można stwierdzić, że obserwowane zmiany badanych parametrów wskazują na istotny wpływ tak zastosowanej zmiany składu diety jak i jej suplementacji witaminami z grupy B na metabolizm białkowy.

Wnioski

1. Obserwowany, pod wpływem zmiany składu diety i jej suplementacji witaminami z grupy B, wzrost stężenia insuliny nie przekładał się na inkorporację aminokwasów w badane tkanki - mięśniową i wątroby, co może sugerować insulino oporność.
2. Obserwowane zmiany aktywności AlAT, AspAT i stężenia mocznika mogą wskazywać na istotny wpływ samego faktu zmiany składu diety i jej suplementacji oraz wynikającego stąd zmniejszonego spożycia białka, na jego metabolizm w organizmie szczura.

Literatura

- [1] Friedrich M., Sadowska J.: Effects of diet supplementation with B-complex vitamins on fatty tissue accumulation in rats. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, 14 (55), 189-194.
- [2] Wajchenberg B.L.: Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr. Rev.*, 2000, 21 (6), 697-738.
- [3] Unger R.M.: Minireview: weapons of lean body mass destruction: the role of ectopic lipids in the metabolic syndrome. *Endocr.*, 2003, 144, 5159-5165.
- [4] PN-75/A-04018. Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- [5] Mateńczuk C.: Wpływ izokalorycznej zamiany rodzaju i źródła węglowodanów w diecie na metabolizm węglowodanowo-lipidowy i odkładanie się tkanki tłuszczowej u szczura. Rozprawa doktorska, AR Szczecin, 2001.
- [6] Friedrich M.: Effects of dietary carbohydrate source and type on the concentrations of lipolysis-enhancing hormones in rats. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2004, 13 (54), 209-214.
- [7] Kim J.Y., Nolte L.A., Hansen P.A., Han D.H., Ferguson K., Thompson P.A., Holloszy J.L.: High fat diet induced muscle insulin resistance: relationship to visceral fat mass. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2000, 279 (6), R2057-R2065.

- [8] Friedrich M.: Effects of diet enrichment with glucose and casein on blood cortisol concentration of calves in early postnatal period. Arch. Vet. Pol., 1995, 35, 117-125.

**THE ESTIMATION OF THE EFFECT OF DIET COMPOSITION AND
ITS SUPPLEMENTATION WITH B VITAMINS ON THE LEVEL OF INSULINE
AND CHOSEN INDICATORS OF PROTEIN TRANSMUTATION AT FEMALE RATS**

S u m m a r y

The study was aimed at assessing effects of diet composition and its vitamin B supplementation on the level of insuline and chosen indicators of protein transmutation at female rats.

Analysis of the results allowed to conclude that the change in diet composition enhanced the serum insulin concentration in the females, and that the supplementation applied intensified the changes observed. Moreover, the change in diet composition and the supplementation were found to have significantly affected the selected indicators of protein metabolism in the animals studied. The change in diet composition resulted in a statistically significant increase in the serum crude protein content in the females, the supplementation reducing the crude protein content down to the values shown by the females kept on the basic diet. The changes observed were accompanied by an increased AspAT concentration and by a reduction in the serum AlAT and urea concentrations in those females fed the modified diet, both supplemented and not supplemented, compared to the animals fed the basic diet. The females fed the modified diet showed a lower muscle protein content.

Key words: rats, supplementation, vitamins, insulin, protein transmutation 