

EDYTA MAŚLAK, RENATA B. KOSTOGRYS,
MAGDALENA FRAN CZYK-ŻARÓW, PAWEŁ M. PISULEWSKI¹

W PŁY W DIETY Z DODATKIEM FRUKTOZY I SPRZĘŻONYCH DIENÓ W KWASU LINOŁOWEGO (CLA) NA MASĘ CIAŁA I WĄTROBY ORAZ STĘŻENIE AMINOTRANSFERAZY ALANINOWEJ (ALT) U SZCZURÓ W

Streszczenie

W ostatnich latach zwraca się uwagę na fakt, że zwiększone spożycie fruktozy wywołuje negatywne skutki dla zdrowia tj przerost i stłuszczenie wątroby. Jednocześnie literatura donosi o korzystnych właściwościach sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA) tj. redukcja odłożonego w wątrobie tłuszczu.

Z tego względu celem pracy było określenie wpływu diety z dodatkiem fruktozy oraz sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA) na przyrost masy ciała, masę wątroby oraz poziom aminotransferazy alaninowej u szczurów rasy Wistar.

Stwierdzono, że dodatek fruktozy do diety zwierząt, istotnie statystycznie zwiększa masę wątroby, przy braku wpływu na masę ciała oraz stężenie aminotransferazy alaninowej (ALT). Natomiast dodatek do diety CLA nie ma wpływu na badane parametry.

Słowa kluczowe: fruktoza, CLA, aminotransferaza alaninowa, szczury

Wprowadzenie

Sposób żywienia ma fundamentalne znaczenie dla rozwoju i funkcjonowania organizmu. W okresie ostatnich 20 lat zwraca się uwagę na rosnące spożycie środków słodzących, w tym fruktozy. Fruktaza jest cukrem prostym występującym głównie w owocach i miodzie. Wraz z glukozą wchodzi w skład cukru spożywczego-sacharozy. W związku z tym, że fruktoza charakteryzuje się większą siłą słodzącą niż sacharoza, związek ten znalazł szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym. Fruktazę słodzi się napoje, soki owocowe, mleczne napoje fermentowane. Stosowana jest również do wyrobu lodów, dżemów, galaretek, słodczy oraz produktów o obniżonej ilości kalorii

Mgr inż. Edyta Maślak, dr inż. Magdalena Franczyk-Żarów, dr Renata Kostogrys, prof. dr hab. Paweł Pisulewski, Katedra Żywienia Człowieka Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

[7]. Obecnie notuje się wysokie spożycie fruktozy, które negatywnie wpływa na organizm żywy.

Metabolizm fruktozy zachodzi w wątrobie, jednak jest on odmienny od metabolizmu glukozy. Fruktaza omija bowiem etap glikolizy regulowany fosfofruktokinazą podczas którego glukoza może zostać przekształcona w glikogen zamiast ulec dalej glikolizie. Rezultatem tego jest zwiększona produkcja kwasu pirogronowego oraz synteza triacylogliceroli [7].

Liczne badania z udziałem ludzi i zwierząt doświadczalnych potwierdzają, że zwiększone spożycie fruktozy, skutkuje obniżeniem wrażliwości organizmu na insulinę, hipertriglicerydemią oraz stłuszczeniem wątroby [2, 3, 14]. Najnowsze wytyczne żywieniowe zalecają więc redukcję spożycia cukrów prostych do wartości < 10%. Dodatkowo wskazują również, aby do większości posiłków stosować oleje roślinne [22]. Stanowią one bowiem doskonałe źródło niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT), do których zaliczamy m.in. kwasy omega-6 [6]. Głównym przedstawicielem rodziny tych kwasów, jest kwas linolowy, będący prekursorem CLA (sprzężonych dienów kwasu linolowego). CLA obejmuje grupę izomerów pozycyjnych i geometrycznych kwasu linolowego, z których najbardziej aktywne biologicznie są izomery: *cis*-9, *trans*-11 oraz *trans*-10, *cis*-12. Wykazują one istotne, korzystne oddziaływanie na zdrowie, obserwowane przede wszystkim w badaniach na zwierzętach doświadczalnych oraz w mniejszym stopniu na ludziach. Badania dowodzą, że CLA działa przeciwkancerogennie [3,10] i przeciwaterogennie [13, 20], a także przeciwdziała rozwojowi cukrzycy typu II [15, 19] oraz otyłości [8, 15]. Najnowsze doniesienia wskazują również na korzystny wpływ CLA w przypadku takich chorób jak zwłóknienie (23) czy niealkoholowe stłuszczenie wątroby (NAFLD) [16,18].

Biorąc pod uwagę wymienione aspekty, celem doświadczenia było określenie wpływu fruktozy i mieszaniny izomerów CLA na masę ciała oraz wątroby, a także na stężenie aminotransferazy alaninowej u szczurów.

Material i metody badań

W doświadczeniu wykorzystano 36 szczurów, samców rasy Wistar, o początkowej średniej masie ciała ok. 100 g. Doświadczenie przeprowadzono po pozytywnym zaopiniowaniu badań przez Lokalną Komisję Etyczną nr I w Krakowie. Zwierzęta podzielono na 4 grupy (po 9 szczurów w każdej) i umieszczono w klatkach z trocinami oraz nieograniczonym dostępem do diety i wody. Doświadczenie prowadzono w pomieszczeniu o temperaturze 22 - 25°C, w którym zachowywano 12 godzinny cykl światła i ciemności. Zwierzęta żywiono przez 3 miesiące standardową dietą AIN-93G wg Reeves (1993) (K) oraz jej modyfikacjami: dietą wysokofruktozową (F), dietą wzbogaconą w CLA (K + CLA) oraz dietą wysokofruktozową z dodatkiem CLA (F + CLA). Skład diet doświadczalnych przedstawiono w Tabeli 1. Dietę wysokofruktozo-

wą przygotowano kosztem sacharozy i skrobi kukurydzianej, natomiast diety wzbogacone preparatem CLA kosztem oleju sojowego (tab. 1). Po upływie czasu żywienia, zwierzęta zważono i poddano eutanazji metodą dootrzewnowej iniekcji (Thiopental; 25 mg/100g m.c.). Od szczurów pobrano krew z serca i wycięto wątroby. We krwi oznaczono stężenie aminotransferazy alaninowej (ALT) wykorzystując aparat Cobas Integraf 400/800 firmy Roche, natomiast wątroby zważono na wadze technicznej w celu określenia wpływu diety na masę narządu.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej, stosując dwuczynnikową analizę wariancji; istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi określono testem Dun-cana wykorzystując program komputerowy STATISTICA 8.0.

Tabela 1

Skład diet eksperymentalnych.
Composition of experimental diets.

SKŁADNIKI INGREDIENTS	K	F	K + CLA	F + CLA
	AIN-93G	AIN-93G + 60% Fruktozy	AIN-93G + 1% CLA	AIN-93G + 60% Fruktozy + 1% CLA
	g/kg			
Skrobia kukurydziana Cornstarch	532,486	-	532,486	-
Kazeina Casein	200	200	200	200
Sacharoza Sucrose	100	-	100	-
Olej sojowy Soybean oil	70	70	53,33	53,33
Błonnik pokarmowy Fibre	50	50	50	50
Mieszanka mineralna Mineral mix	35	35	35	35
Mieszanka witaminowa Vitamin mix	10	10	10	10
Cholina Choline bitartrate	2,5	2,5	2,5	2,5
Tert- butylohydrochinon Tert-butylhydroquinone	0,014	0,014	0,014	0,014
Fruktoza Fructose	-	632,486	-	632,486
CLA Conjugated Linoleic Acid	-	-	16,67	16,67

Wyniki i dyskusja

Analiza statystyczna uzyskanych wyników nie wykazała istotnych różnic w masie ciała oraz aktywności aminotransferazy alaninowej pomiędzy grupami. Stwierdzono natomiast, że dodatek do diety fruktozy, zwiększa przyrost masy wątroby, przy braku wpływu izomerów CLA na ten parametr (tab. 2).

Tabela 2

Wpływ rodzaju diety na masę ciała, masę wątroby oraz stężenie aminotransferazy alaninowej u szczurów ($X \pm SD$, $n=9$).

Effects of different types of diets on body weight, liver weight and alanine aminotransferase concentration in rats ($X \pm SD$, $n=9$).

Dieta Diet	K	F	K + CLA	F + CLA
Parametr Parameter				
Masa Ciała [g] Body Weight [g]	559,33 ± 72,72	526,33 ± 31,2	565,66 ± 91,6	527,44 ± 46,6
Masa Wątroby [g] Liver Weight [g]	2,87 ± 0,6 ^a	3,42 ± 0,3 ^b	2,82 ± 0,2 ^a	3,29 ± 0,2 ^b
Aminotransferaza alaninowa [U/l] Alanine aminotransferase [U/l]	34,33 ± 13,9	52,33 ± 48,1	25,77 ± 3,4	50,77 ± 55,4

a, b – różnica istotna statystycznie $p \leq 0,05$

a, b – significant difference $p \leq 0,05$

We wszystkich grupach fruktozowych odnotowano istotny przyrost masy wątroby oraz nieistotny wzrost poziomu ALT. Równocześnie, grupy te charakteryzowały się nieistotnie niższą masą ciała od pozostałych. Obniżoną masę ciała oraz wzrost masy wątroby u szczurów rasy Sprague-Dawley, po podaniu diety fruktozowej, zaobserwowali również Koo H.-Y. i wsp. [11]. Stwierdzili oni, że przyrost masy wątroby u zwierząt był skutkiem przerostu tego gruczołu. Przyczyną hepatomegalii może być m. in. stłuszczenie wątroby objawiające się nadmierną kumulacją tłuszczu w hepatocytach oraz zwiększonym poziomem triacylogliceroli w surowicy. Benado i wsp. [4] odnotowali tendencyjny przyrost masy wątroby oraz istotny statystycznie wzrost poziomu triacylogliceroli w surowicy na skutek rosnącego udziału fruktozy w diecie zwierząt. Także Ackerman i wsp. [1] wykazali tendencję wzrostową w masie wątroby u szczurów na skutek podaży diety wysokofruktozowej. Odnotowali oni ponadto nieistotny wzrost poziomu ALT w surowicy krwi oraz istotnie większą kumulację tłuszczu w wątrobie zwierząt z tej grupy żywieniowej. ALT należy do grupy enzymów wskaźnikowych uszkodzenia komórki wątrobowej związanego np. ze stłuszczeniem. Jego wysoki poziom, w przypadku wykluczenia toksycznego działania alkoholu na organizm, wskazuje na niealkoholowe stłuszczenie wątroby (NAFLD) [5, 12, 21]. Jednym

z objawów NAFLD jest przerost wątroby (hepatomegalia) związany z kumulacją w niej tłuszczu. W większości przypadków odkładane są głównie triacyloglicerole, których wątrobowa synteza pobudzana jest m.in. przez podaż fruktozy [7, 12, 14]. Fakt ten, obserwowany również w badaniach Akerman i wsp. [1], może tłumaczyć, wykazany przez nas, wzrost masy wątroby szczurów żywionych dietą wysokofruktozową. Dodatkowo wzrost poziomu ALT w surowicy, choć nieistotny może sugerować początek niekorzystnych zmian chorobowych u szczurów.

Badanie nie wykazało wpływu mieszaniny izomerów CLA na masę ciała oraz wątroby. Dodatek CLA nie miał również istotnego wpływu na poziom ALT. Odnotowano jedynie tendencyjny spadek stężenia tego enzymu w surowicy krwi zwierząt żywionych dietą AIN-93 G wzbogaconą w izomery CLA. Otrzymane wyniki nie są zgodne z uzyskanymi w badaniach innych naukowców. W doświadczeniu Nagao i wsp. [16] odnotowano bowiem istotny spadek masy wątroby oraz aktywności ALT po podaniu szczurom mieszaniny izomerów CLA, natomiast badania Ferramosca i wsp. [9] wykazały istotny wzrost masy wątroby przy znaczącym spadku masy ciała myszy. Ponadto, dodatek do diety fruktozowej, mieszaniny izomerów CLA, nie korygował negatywnych skutków wywołanych fruktozą, co może wskazywać na różne mechanizmy działania tych związków lub zbyt małą podaż z dietą mieszaniny izomerów CLA. Brak jest jednak, badań dotyczących wpływu fruktozy i CLA, podanych równocześnie, na żywy organizm. Dlatego też, niezbędne jest przeprowadzenie dalszych badań nad współdziałaniem fruktozy oraz CLA jako składników żywności odgrywających ważną rolę dla zdrowia człowieka.

Wnioski

1. Analiza uzyskanych wyników pozwoliła na stwierdzenie, że dodatek do diety fruktozy spowodował przyrost masy wątroby, nieistotny wzrost poziomu aminotransferazy alaninowej oraz nieistotny spadek masy ciała szczurów.
2. Może to wskazywać na rozwój zmian chorobowych tj. stłuszczenie wątroby.
3. Jednocześnie CLA nie korygowało negatywnych skutków wywołanych fruktozą.
4. Zaobserwowano natomiast jego wpływ na poziom ALT, który uwidaczniał się nieistotnym spadkiem poziomu tego enzymu w surowicy krwi szczurów.

Literatura

- [1] Ackerman Z., Oron-Herman M., Grozovski M. i wsp.: Fructose-Induced Fatty Liver Disease. Hepatic Effects of Blood Pressure and Plasma Triglyceride Reduction. *Hypertension*. 2005; 45, 1012-1018.
- [2] Armutcu F., Kanter M., Gurela A. i wsp.: Excessive Dietary Fructose is Responsible for Lipid Peroxidation and Steatosis in the Rat Liver Tissues. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*. 2007, 27:164-169.
- [3] Belury M.A.: Inhibition of carcinogenesis by conjugated linoleic acid: Potential mechanisms of action. *J. Nutr.* 2002; 132(10):2995-2998.

- [4] Benado M., Alcantara C., De la Rosa R. i wsp.: Effects of various levels of dietary fructose on blood lipids of rats. *Nutrition Research*. 2004; 24, 565-571.
- [5] Białek P., Kocylowski R., Libudziec M.: Wpływ zagrożenia życia płodu podczas porodu na obecność i stężenie aminotransferazy alaninowej, asparaginowej oraz troponiny I we krwi pępowinowej po urodzeniu. *Perinatologia, Neonatologia i Ginekologia*. 2008; tom 1, zeszyt 3, 193-196.
- [6] Ciborowska H., Rudnicka A.: *Dietetyka, Żywnienie Zdrowego i Chorego Człowieka*. Warszawa, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2004.
- [7] Ciok J., Talikowski T., Wyrobek I.: Fruktaza jako czynnik ryzyka przewlekłych chorób metabolicznych. *Żywnienie Człowieka i Metabolizm*. 2004; XXXI, nr 1, 88-96.
- [8] Evans M., Brown J.M., McIntosh M.K.: Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *J. Nutr. Biochem*. 2002; 13(9):508-516.
- [9] Ferramosca A., Savy V., Conte L. i wsp.: Conjugated linoleic acid and hepatic lipogenesis in mouse: role of the mitochondrial citrate carrier. *J. Lipid Res*. 2006, 47: 1994-2003.
- [10] Kemp M.Q., Jeffy BD, Romagnolo D.F.: Conjugated linoleic acid inhibits cell proliferation through a p53-dependent mechanism: Effects on the expression of G1-restriction points in breast and colon cancer cells. *J. Nutr*. 2003; 133(11):3670-3677.
- [11] Koo H.-Y., Wallig M.A., Chung B.H.: Dietary fructose induces a wide range of genes with distinct shift in carbohydrate and lipid metabolism in fed and fasted rat liver. *Biochim Biophys Acta*. 2008; 1782 (5):341-348.
- [12] Kozłowska-Wojciechowska M.: Niealkoholowa choroba stłuszczeniowa wątroby- zwiastun czy konsekwencja zespołu metabolicznego? *Czynniki Ryzyka*. 2007; nr 3, 19.
- [13] Kritchevsky D., Tepper S.A., Wright S. i wsp.: Influence of conjugated linoleic acid (CLA) on establishment and progression of atherosclerosis in rabbits. *J. Am. Coll. Nutr*. 2000; 19:472S-477S.
- [14] Lee O., Bruce W.R., Dong Q.: Fructose and carbonyl metabolites as endogenous toxins. *Chem Biol Interact*. 2009; Mar 16 ;178 (1-3):332-339.
- [15] Mersmann H.J. :Mechanism for conjugated linoleic acid-mediated reduction in fat deposition. *J. Anim. Sci*. 2002; 80 (E. Suppl. 2):E126-E134.
- [16] Nagao K., Inoue N., Wang Y.: Dietary Conjugated Linoleic Acid Alleviates Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Zucker (fa/fa) Rats. *J. Nutr*. 2005; 135:9-13.
- [17] Noto A., Zahradka P., Ryz N.R. i wsp.: Dietary conjugated linoleic acid preserves pancreatic function and reduces inflammatory markers in obese, insulin-resistant rats. *Metab. Clin. Experimental*, 2007; 56(1):142-151.
- [18] Purushotham A., Shrode G., Wendel A., i wsp.: Conjugated linoleic acid does not reduce body fat but decreases hepatic steatosis in adult Wistar rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2007; 18 (10): 676-684.
- [19] Ryder J.W., Portocarrero C.P., Song X.M. i wsp.: Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid - Improved glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression. *Diabetes*. 2001; 50:1149-1157.
- [20] Toomey S., Harhen B., Roche H.M. i wsp.: Profound resolution of early atherosclerosis with conjugated linoleic acid. *Atherosclerosis*. 2006; 187(1):40-49.
- [21] Wegwu M.O., Ayalogu E.O., Sule O.J.: Anti-Oxidant Protective Effects of Cassia Alata in Rats Exposed to Carbon Tetrachloride, *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*. 2005; 9 (3):77-80.
- [22] Willett W.C., Stampfer M.J. : *Rebuilding the Food Pyramid*. *Scientific American Magazine*. 2003; 288, 164-169.
- [23] Yun H-S., Do S-H., Jeong W-I. i wsp.: Cytotoxic effects of the conjugated linoleic acid isomers t10c12, c9t1 1-CLA and mixed form on rat hepatic stellate cells and CCl4-induced hepatic fibrosis. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2008; 19, 175-183.

**EFFECT OF FRUCTOSE AND CONJUGATED LINOLEIC ACID (CLA) SUPPLEMENTATION
ON BODY WEIGHT, LIVER WEIGHT AND ALANINE AMINOTRANSFERASE
(ALT) CONCENTRATION IN RATS**

S u m m a r y

It is noticed that increase amount in consumed fructose, especially during last 20 years, have negative effects on our health such as hepatomegaly and liver steatosis. Simultaneously, data indicates that conjugated linoleic acid has beneficial biological effects in reducing liver fat.

The aim of this study was to evaluate the effect of dietary fructose and conjugated linoleic acid (CLA) on body weight, liver weight and alanine aminotransferase concentration in rats.

In conclusion, high-fructose diet (60%) significantly increased liver weight, but had no effects on body weight and on alanine aminotransferase concentration. The diet supplement with 1% of CLA had no effects on the investigated parameters.

Key words: fructose, CLA, alanine aminotransferase, rats ☒