

**OCENA WPŁYWU SKŁADU DIETY I JEJ SUPLEMENTACJI
WYBRANYMI WITAMINAMI Z GRUPY B
NA STĘŻENIE LIPIDÓW I LIPOPROTEIN WE KRWI
SAMIC SZCZURA**

**EVALUATION OF INFLUENCE OF DIET CONTENT AND ITS
SUPPLEMENTATION WITH CHOSEN GROUP OF B VITAMINS ON LIPIDS
AND LIPOPROTEINS CONCENTRATION IN FEMALE RAT SERUM**

Mariola Friedrich, Zuzanna Goluch-Koniuszy

Zakład Fizjologii Żywienia Człowieka, Akademia Rolnicza w Szczecinie

Słowa kluczowe: suplementacja, witaminy z grupy B, lipidy, lipoproteiny, szczury

Key words: supplementation, vitamins B groups, lipids, lipoproteins, rats

STRESZCZENIE

Badano wpływ składu diety i jej suplementacji wybranymi witaminami z grupy B na pobieranie paszy, przyrosty, zmiany masy ciała, gromadzenie tkanki tłuszczowej oraz stężenie lipidów i lipoprotein we krwi samic szczura. Zwierzęta, w wieku 5 miesięcy, podzielono na trzy grupy (po 8 osobników) i żywiono ad libitum granulowanymi mieszankami typu Labofeed B. Grupę I mieszanką podstawową zawierającą m.in. pełne ziarna zbóż, grupę II mieszanką zmodyfikowaną, w której pełne ziarna zbóż zastąpiono częściowo mąką pszenną i sacharozą i grupę III mieszanką zmodyfikowaną suplementowaną nadmiarowo wybranymi witaminami z grupy B. Doświadczenie trwało 6 tygodni, na bieżąco obliczano ilość spożytej paszy, a raz na tydzień kontrolowano masę ciała zwierząt. Po zakończeniu doświadczenia w uzyskanej surowicy oznaczano stężenia triacylogliceroli, cholesterolu całkowitego metodami enzymatycznymi oraz zawartość frakcji cholesterolu metodą rozdzielania elektroforetycznego. Przeprowadzono również analizę zawartości tłuszczu w mięśniach i w wątrobie oraz określono ilość tłuszczu okołonarządowego. Stwierdzono, że zmiana składu paszy oraz jej suplementacja wybranymi witaminami z grupy B nie wpływała w sposób istotny na wielkość jej pobierania i przyrosty masy ciała, natomiast istotnie wpłynęła na gromadzenie u zwierząt żywionych paszą zmodyfikowaną tłuszczu okołonarządowego, a u suplementowanych tłuszczu śródmięśniowego. Badania wykazały, że suplementacja diety wybranymi witaminami z grupy B korygując negatywny efekt gromadzenia wisceralnej tkanki tłuszczowej pod wpływem zmiany jej składu, powodowała istotny wzrost stężenia triacylogliceroli, cholesterolu całkowitego, jego frakcji VLDL- i LDL- przy równoczesnym obniżeniu stężenia frakcji HDL – cholesterolu.

ABSTRACT

The influence of diet content and its supplementation with chosen group of B vitamins on the intake of feeding stuff, increase, changes of body mass, accumulation of fat tissue, lipids and lipoproteins concentration in the blood of female rats were under research. The animals, aged 5 months, were divided into three groups (8 persons each) and fed ad libitum with granulated Labofeed B type mix. Group I with the basic mix containing among other things whole grain, Group II with a modified mix, where whole grain was replaced by wheat flour and saccharose and Group III with modified mix supplemented in excess with chosen vitamins of B group. This experiment took 6 weeks during which the amount of consumed feed was currently evaluated, and the body mass was controlled weekly. After finishing the experiment in the obtained serum the concentration of triacylglycerols, complete cholesterol with enzyme method and the content of cholesterol fractions with electrophoretic separation method were determined. Analysis of fat content in muscles and livers was conducted and the amount of round the bodily organ fat was determined. It was ascertained that change of the content of the feed and its supplementation with the chosen B group vitamins did not influence in a substantial way its intake and the increase of body mass, however it had influenced substantially, in animals fed with the modified feed the accumulation of round the organ fat and in supplemented the intramuscular fat. Analysis of the results enabled the ascertainment that the diet supplementation with chosen ingredients of the B group vitamins corrects the negative effect of accumulation of the visceral fat tissue as a result of the change of its contents, caused substantial increase in the concentration of triacylglycerols, complete cholesterol and its fractions VLDL- and LDL- with simultaneous decrease of the concentration of cholesterol HDL- fractions.

Adres do korespondencji: Mariola Friedrich, Zakład Fizjologii Żywienia Człowieka, Akademia Rolnicza w Szczecinie, 71-479 Szczecin, ul. Papieża Pawła VI/3, tel. 091 4250-444, e-mail: Mariola.Friedrich@tz.ar.szczecin.pl

WSTĘP

Pojawiająca się wśród społeczeństwa świadomość nieprawidłowego żywienia, sugestywna reklama, a także moda powodują, że coraz więcej osób zdrowych i we wszystkich przedziałach wiekowych stosuje, jako uzupełnienie codziennej diety, preparaty witaminowe. Z uwagi na powszechną dostępność i często umiarkowaną cenę, ich rodzaj, skład i pobierana ilość rzadko są konsultowane z lekarzem i dostosowywane do aktualnego zapotrzebowania [11]. Szczególnie gdy są to witaminy z grupy B, których nadmiar wydalany jest z moczem i które powszechnie uznawane są za „nieszkodliwe”.

Dlatego postanowiono zbadać, na modelu zwierzęcym, jaki wpływ wywiera zmiana składu diety polegająca na zamianie pełnych ziaren zbóż, na mąkę pszenną i sacharozę oraz suplementacja takiej diety wybranymi witaminami z grupy B, w ilościach 2 - 4x przekraczających powstałe po zamianie składników diety niedobory, co do pewnego stopnia imituje sposób suplementacji u ludzi, na stężenie lipidów i lipoprotein we krwi.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie (po uzyskaniu zgody Lokalnej Komisji Etycznej 2/06) przeprowadzono w wiwarium Zakładu Fizjologii Żywienia Człowieka, na 24 samicach szczura szczepu SPRD/MoLLod, w wieku około 5 miesięcy, które przebywały w indywidualnych klatkach, w klimatyzowanym wiwarium, w temperaturze $21 \pm 1^\circ\text{C}$, cykl jasność/ciemność 12h/12h.

Zwierzęta podzielono na 3 grupy żywieniowe (po 8 osobników w każdej), o średniej masie ciała $223,1\text{g} \pm 10,6\text{g}$ i żywiono *ad libitum* granulowanymi mieszankami typu Labofeed B, wyprodukowanymi z tych samych, poza różnicującymi komponentów, po wdrożeniu procedury 5.14.5 „Czyszczenie maszyn i urządzeń”, przez Wytwórnę Pasz w Kcyni. Grupa I otrzymywała

Tabela 1. Procentowy udział składników w zastosowanych paszach
Percentage of components of fodders

Nazwa komponentu	Pasza podstawowa (%)	Pasza zmodyfikowana (%)
Pszonica	36,4	6
Kukurydza	20	10
Otręby pszenne	20	20
Serwatka suszona	3,0	3,0
Sól pastewna	0,3	0,3
Śruta sojowa 48%	17	17
Kreda pastewna	1,5	1,5
Fosforan 2-CA	0,8	0,8
Premix LRM	1	1
Mąka pszenna typ 500	-	30,4
Sacharoza	-	10

mieszanke podstawową zawierającą między innymi pełne ziarna pszenicy i kukurydzy. Grupa II oraz III mieszanke zmodyfikowaną, w której w stosunku do mieszanki podstawowej, pełne ziarna pszenicy zastąpiono mąką pszenną, a 50% kukurydzy - sacharozą. Pełny skład zastosowanych w doświadczeniu pasz przedstawia tabela 1, a ich skład chemiczny tabela 2.

Tabela 2. Skład chemiczny pasz zastosowanych w doświadczeniu
Chemical composition of fodders used in the experiment

Komponent	Pasza podstawowa	Pasza zmodyfikowana
Białko ogółem (%)	19,1	18,5
Tłuszcz surowy (%)	2,8	2,3
Węglowodany (%)	63,8	65,5
Sucha masa (%)	91,8	92,3
Popiół ogółem (%)	6,1	6,0
Energia brutto		
[kcal/g]	3,99	3,98
[kJ/g]	16,73	16,67
Energia metaboliczna		
[kcal/g]	3,57	3,57
[kJ/g]	14,95	14,94

Do picia zwierzęta grupy I i II otrzymywały czystą, odstanną wodę wodociągową. Zwierzęta grupy III, w porze wzmożonej aktywności, otrzymywały 50 ml wodnego roztworu witamin, w ilościach: B₁ - 0,402 mg, B₂ - 0,057 mg, B₆ - 0,318 mg, PP - 3,366 mg na 100 g paszy, co 2-4 x przekraczało ilości, o które została zubożona pasza w trakcie zamiany składników i do pewnego stopnia imitowało suplementację u ludzi. Po wypiciu witamin zwierzęta dopajano czystą wodą.

Po jednodniowym okresie kondycjonowania, doświadczenie trwało jeszcze 6 tygodni, w trakcie których na bieżąco obliczano ilość spożytej paszy, a w grupie suplementowanej także ilość pobranych witamin oraz raz na tydzień kontrolowano masę ciała zwierząt. Na 12 godzin przed zakończeniem doświadczenia odstawiono paszę a następnie zwierzęta uspięno anestetykiem (Ketanest) i pobrano krew z serca, w której po odwirowaniu skrzepu oznaczono:

- stężenie triacylogliceroli i cholesterolu całkowitego - metodą enzymatyczną przy użyciu zestawów diagnostycznych firmy Biomerieux, na spektrofotokolorymetrze Metertech;
- zawartość frakcji lipoproteinowych: α -lipoproteiny (HDL), pre- β -lipoproteiny (VLDL), β -lipoproteiny (LDL) metodą rozdziału elektroforetycznego na żelu agarozowym Paragon Electrophoresis System Lipo firmy Beckman Coulter na Densytometrze DT-93;
- zawartość tłuszczu śródmięśniowego (w *m. latissimus dorsi*, *m. quadriceps femoris*, *m. biceps femoris*, *m. semimembranosus*, *m. adduktor femoris*) oraz wąż-

Tabela 3. Wpływ składu diety i jej suplementacji witaminami z grupy B na badane parametry u samic szczura ($x \pm SD$, $n = 24$)
The effect of diet type and supplementation with vitamin B group on the examined parameters in female rats ($x \pm SD$, $n = 24$)

Badana cecha	Pasza podstawowa (a)	Pasza zmodyfikowana (Pz) (b)	Pz + suplementacja (c)	Istotność różnic
Spożycie paszy [g]	750,2 ± 52,2	716,1 ± 64,3	677,2 ± 108,9	–
Spożycie paszy g/ 100g masy ciała	312,1 ± 14,0	291,1 ± 13,9	286,2 ± 43,2	–
Przyrost masy ciała [g]	19,4 ± 12,9	22,7 ± 11,0	22,4 ± 9,6	–
Przyrost masy ciała g /100g paszy	2,52 ± 1,5	3,13 ± 1,4	3,35 ± 1,3	–
Tłuszcz okołonarządowy g/100g masy ciała	0,98 ± 0,21	1,3 ± 0,25	0,95 ± 0,22	a - b* b - c*
Tłuszcz okołonarządowy g/100g paszy	0,31 ± 0,06	0,43 ± 0,08	0,34 ± 0,13	a - b*
Tłuszcz śródmięśniowy (%)	2,21 ± 0,2	1,80 ± 0,6	2,69 ± 0,7	b - c*
Tłuszcz wątrobowy (%)	1,42 ± 0,2	1,56 ± 0,1	1,61 ± 0,2	-

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

Tabela 4. Wpływ składu diety i jej suplementacji witaminami z grupy B na stężenie wybranych lipidów i lipoprotein we krwi samic szczura ($x \pm SD$, $n = 32$)
The effect of diet type and supplementation with vitamin B group on selected lipids and lipoproteins levels in female rat serum ($x \pm SD$, $n = 32$)

Badana cecha	Pasza podstawowa (a)	Pasza zmodyfikowana (Pz) (b)	Pz + suplementacja (c)	Istotność różnic
Triacyloglicerole mg/dl	131,4 ± 27,1	137,9 ± 20,3	196,4 ± 28,5	b - c **
Cholesterol całkowity mg/dl	60,0 ± 9,58	52,1 ± 10,9	61,8 ± 4,7	b - c*
Alfa-lipoproteina (HDL-) %	66,0 ± 13,8	78,1 ± 5,2	44,4 ± 7,8	a - b*, c** b - c**
Pre-beta-lipoproteina (VLDL-) %	10,6 ± 6,6	5,3 ± 1,7	13,5 ± 4,5	a - b* b - c**
Beta-lipoproteina (LDL-) %	23,4 ± 13,5	16,6 ± 3,7	41,7 ± 8,8	a - c** b - c**

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

trobowego wg PN-ISO 1444:2000 metodą Soxhlet'a na aparacie Soxtec HT9 firmy Foss Tecator oraz

- zawartość tłuszczu okołojelitowego, którego ilość oznaczano wagowo z dokładnością do 0,001g.
- Uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji, w układzie ortogonalnym, przy użyciu komputerowego programu statystycznego Statistica®, z zastosowaniem testu *Duncana*.

WYNIKI

Analiza uzyskanych wyników pozwoliła na stwierdzenie, że tak zmiana składu diety jak i jej suplementacja, zmniejszając wielkości spożycia zwiększały jednocześnie przyrost masy ciała zwierząt na jednostkę pobranej paszy. Zmiany te nie miały jednak charakteru statystycznie istotnego. Wpływ zmiany składu diety zaznaczył się jednak istotnym gromadzeniem okołonarządowej tkanki tłuszczowej, a zastosowana suplementacja wzrostem zawartości tłuszczu śródmięśniowego. Nie stwierdzono istotnego wpływu w.w. czynników na zawartość tłuszczu wątrobowego (Tab. 3).

Stwierdzono również istotny wpływ zmiany składu diety i jej suplementacji na zawartość lipidów i lipoprotein w krwi badanych zwierząt, który dla diety manifestował się wzrostem zawartości frakcji HDL-cholesterolu i spadkiem frakcji LDL-cholesterolu, a dla jej suplementacji wzrostem stężenia triacylogliceroli, cholesterolu całkowitego, VLDL-cholesterolu, LDL-cholesterolu i spadkiem stężenia frakcji HDL-cholesterolu (Tab. 4).

DYSKUSJA

Analizując uzyskane wyniki stwierdzono, że pomimo braku istotnych różnic w przyrostach masy ciała badanych zwierząt, wpływ zmiany składu diety i zastosowanej suplementacji zaznaczył się istotnym wzrostem gromadzenia lipidów. U zwierząt na paszy zmodyfikowanej w okołonarządowej tkance tłuszczowej, a u suplementowanych w mięśniach. Wydaje się, że mechanizm wpływu gromadzenia tłuszczu wewnątrzbrzusznego związany był nie tylko ze zmianą składu diety, zawierającej łatwo dostępną skrobię i sacharozę [6] ale też ze zmniejszeniem w niej ilości m.in. witamin

z grupy B, których uzupełnienie przez suplementację sprzyjało powrotowi w tym zakresie do stanu pierwotnego. Zastosowana suplementacja poprzez wpływ na wielkość spożycia paszy, pogłębiała jednak powstałe po zamianie składników diety niedobory innych składników regulujących. Sprzyjało to gromadzeniu tłuszczu śródmięśniowego. Zależność taką opisali *Zemel* i wsp. [13], którzy wykazali, że niedobory wapnia w diecie stymulują wyrzut kalcytriolu zwiększającego napływ jonów wapnia do komórek, tempo lipogenezy i gromadzenie tłuszczu w tkance mięśniowej. To gromadzenie tłuszczu w tkance mięśniowej przy niedoborach wapnia, potwierdzają również wyniki badań *Parikha i Yanovskiego* [10].

Niekorzystny wpływ zmiany składu diety i jej suplementacji wybranymi witaminami z grupy B, zaznaczył się również istotnymi zmianami zawartości lipidów i lipoprotein w krwi badanych zwierząt. U suplementowanych samic manifestowało się to wzrostem stężenia triacylogliceroli, cholesterolu całkowitego, jego frakcji VLDL- i LDL-, przy spadku stężenia frakcji HDL-cholesterolu.

Obserwowany wzrost stężenia triacylogliceroli mógł wynikać z obecności wśród suplementowanych witamin tiaminy, która bierze udział w alternatywnej drodze katabolizowania glukozy w cyklu pentozowym, w stosunku do szlaku glikolitycznego skojarzonego z cyklem kwasu cytrynowego. Wiąże się to z wytwarzaniem pentoz niezbędnych do syntezy NADPH, odgrywającego istotną rolę w syntezie kwasów tłuszczowych. Zjawisko to mogła również nasilać zwiększona ilość witaminy B₆ m.in. przez stymulowany przez nią wzrost absorpcji magnezu, odgrywającego istotną rolę w metabolizmie lipidów i lipoprotein [2, 8, 12]. Na wzrost stężenia triacylogliceroli we krwi mogła mieć także wpływ obecna w zmodyfikowanej diecie sacharoza, jako źródło łatwo dostępnej fruktozy. Wskazuje na to również obserwowany istotny wzrost stężenia frakcji VLDL-cholesterolu. Obecność fruktozy w diecie pobudza w wątrobie szlaki metaboliczne prowadzące do wzmożonej syntezy kwasów tłuszczowych, ich estryfikacji, wydzielenia frakcji VLDL oraz wzrostu stężenia triacylogliceroli w surowicy krwi. Połączenie łatwo dostępnego substratu jakim była fruktoza, z witaminami z grupy B, które są koenzymami enzymów biorących udział w tych przemianach, musiało prowadzić do obserwowanego efektu.

Natomiast stwierdzony wzrost stężenia cholesterolu całkowitego i jego frakcji LDL- pod wpływem suplementacji, poza nasiloną przez nią biosyntezą lipidów, mógł wynikać ze stwierdzonego we wcześniejszych badaniach, stymulującego wpływu zastosowanej suplementacji na wzrost natężenia procesów wolnorodnikowych [7]. Obserwowany równoczesny spadek stężenia frakcji HDL-cholesterolu był efektem silnej ujemnej ko-

relacji jaka istnieje pomiędzy stężeniem we krwi frakcji HDL-cholesterolu a stężeniem cholesterolu całkowitego i jego frakcji LDL-. Korelację taką, w wieloosrodkowym badaniu populacyjnym nad wpływem czynników środowiskowych na zdrowie kobiet (SEASED Study), wykazali *Bigazzi* i wsp. [1].

Biorąc pod uwagę dane literaturowe nie można wykluczyć również udziału w tym efekcie wzrostu aktywności lipazy wątrobowej [9] i spadku syntezy apoAI [4, 5], który to efekt obserwowano we wcześniejszych badaniach własnych, jeszcze niepublikowanych.

Obserwowany pod wpływem suplementacji istotny spadek stężenia frakcji HDL-chol. na rzecz istotnego wzrostu stężenia frakcji VLDL- i LDL-chol. u szczura, u którego główną rolę w transporcie cholesterolu spełnia frakcja HDL-chol., a genetyczny niedobór CEPT (cholesteryl ester transfer protein) uniemożliwia wystąpienie miażdżycy [3], zmusza do zastanowienia jak silny musiał być wpływ zastosowanych witamin, które obiegowo uważane są za wysoce bezpieczne.

WNIOSKI

Analiza uzyskanych wyników pozwoliła na stwierdzenie, że suplementacja diety wybranymi witaminami z grupy B korygując negatywny efekt gromadzenia wisceralnej tkanki tłuszczowej pod wpływem zmiany jej składu, powodowała istotny wzrost stężenia triacylogliceroli, cholesterolu całkowitego, jego frakcji VLDL- i LDL- przy równoczesnym obniżeniu stężenia frakcji HDL – cholesterolu.

PIŚMIENNICTWO

1. *Bigazzi F., Pino B.D., Forastiere F., Pistelli R., Rossi G., Simoni M., Baldacci S., Viegi G., Bionda A., Sampietro T.*: HDL and clinical and biochemical correlates in Italian non-smoker woman. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2004, 42, 1408-416.
2. *Bender D.A.*: Novel function of vitamin B6. *Proc. Nutr. Soc.*, 1994, 53, 3, 625-630.
3. *de Grooth G.J., Klerx A.H., Stroes E.S., Anke H. E., Klerx M., Erik S., Stroes G., Anton F. H., Stalenhoef, J. J., Kastelein P., Kuivenhoven J. A.*: A review of CETP and its relation to atherosclerosis. *J. Lip. Res.* 2004, 45, 11, 1967-1974.
4. *Frank P.G., Marcel Y.L.*: Apolipoprotein A-I: structure, function relationship. *J. Lipid. Res.* 2000, 41,6, 853-872.
5. *Fredenrich A., Bayer P.*: Reverse cholesterol transport, high density lipoproteins and HDL cholesterol: recent data. *Diabetes Metab.* 2003, 29, 3, 201-205.
6. *Friedrich M.*: Effect of dietary carbohydrate source and type on the concentrations of lipolysis enhancing

- hormones in rats. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2004, 13/54, 2 209-214.
7. *Friedrich M., Sadowska J., Sawicka A.*: Wpływ suplementacji diety witaminami z grupy B na skład kwasów tłuszczowych okołonarządowej tkanki tłuszczowej i procesy ich peroksydacji u szczura. *Żywność, Nauka, Tech. Jakość* 2005, 4, 45, 139 - 150.
8. *Harripersad R., Burger F.J.*: The effect of a subnormal dose of vitamin B₆ on plasma lipid in the rats. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 1997, 2, 95-101.
9. *Jansen H., Verhoeven A.J., Sijbrands E.J.*: Hepatic lipase: a pro- or anti- atherogenic protein? *J. Lipid. Res.* 2002, 43, 1352-1362.
10. *Parikh S. J., Yanovski J. A.* Calcium intake and adiposity. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003, 77/2, 281-287.
11. *Pietruszka B., Brzozowska A.*: Vitamin and mineral supplement use among adults in Central and Eastern Poland. *Nutr. Res.* 1999, 19, 817-826.
12. *Robles N.R., Escola J.M., Albarran L., Espada R.*: Correlation of serum magnesium and serum lipid levels in hemodialysis patients. *Nephron.* 1998, 78, 1, 118-123.
13. *Zemel M. B.*: Regulation of adiposity and obesity risk by dietary calcium, mechanisms and implications. *J. Am. Coll. Nutr.* 2002, 21/2, 146-151.

Otrzymano: 18.07.2008

Zaakceptowano do druku: 8.12.2008

