

Wpływ suplementacji luteiną na wybrane elementy obrony antyoksydacyjnej erytrocytów u ludzi zdrowych – doniesienie wstępne

Impact of lutein supplementation on selected elements of erythrocyte antioxidant defense in healthy individuals – a preliminary report

KAROLINA JĘDRZEJCZAK-POSPIECH^{1/}, MICHAŁ KOWALSKI^{2/}, ANNA BIELECKA-KOWALSKA^{2/}, IZABELA DUDEK^{1/}, JAN BŁASZCZYK^{1/}

^{1/} Zakład Fizjologii Człowieka Katedry Nauk Podstawowych i Przedklinicznych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

^{2/} NZOZ Akoria w Łodzi

Wstęp. Wykształcone w organizmie antyoksydacyjne systemy enzymatyczne i nieenzymatyczne stanowią linię obrony przed szkodliwym działaniem reaktywnych form tlenowych (RFT). Luteina jest przedstawicielem nieenzymatycznych mechanizmów obronnych i odgrywa ważną rolę w ochronie siatkówki.

Cel. Ocena enzymatycznej skuteczności obrony antyoksydacyjnej krwinek czerwonych u osób suplementujących luteinę.

Materiał i metody. W badaniu udział wzięły 54 osoby zdrowe w wieku 20-77 lat, które przez okres trzech miesięcy przyjmowały różne dawki luteiny. Badanych podzielono na trzy grupy. Pierwszą grupę stanowiły osoby przyjmujące luteinę w dawce 8 mg/dobę, drugą – osoby suplementujące 10 mg/dobę. W trzeciej grupie znalazły się osoby spożywające 12 mg/dobę. Przed suplementacją oraz po okresie trzech miesięcy oznaczono aktywność enzymów antyoksydacyjnych w krwi: katalazy CAT (metodą Beersa i Sizera), peroksydazy glutationowej GPx (metodą Little i O'Brien) oraz dysmutazy nadadtlenkowej SOD (metodą Mirsa i Fridovich).

Wyniki. Zastosowane dawki luteiny po okresie 3-miesięcznej suplementacji spowodowały wzrost badanych enzymów antyoksydacyjnych: katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej (GPx) oraz dysmutazy nadadtlenkowej (SOD).

Wnioski. Suplementacja luteiną u ludzi zdrowych w zależności od dawki wywołała istotne zmiany w aktywnościach enzymów obrony antyoksydacyjnej. Największy wzrost aktywności katalazy zaobserwowano po zastosowaniu dawki luteiny w dawce 10 mg/dobę. Największy aktywności wzrost peroksydazy glutationowej oraz dysmutazy nadadtlenkowej obserwowano po zastosowaniu najniższej dawki luteiny (8 mg/dobę).

Słowa kluczowe: luteina, erytrocyty, obrona antyoksydacyjna

Introduction. Antioxidant enzymatic and non-enzymatic systems developed in the organism are a line of defense against the damaging effects of reactive oxygen species (ROS). Lutein is one of the non-enzymatic defense mechanisms and plays an important role in protecting the retina.

Aim. The evaluation of the enzymatic efficiency of the antioxidant defense of red blood cells in case of individuals supplemented with lutein.

Material & methods. The study covered 54 healthy persons aged 20-77 years who took different doses of lutein for a period of three months. The patients were divided into three groups. The first group consisted of patients taking the lutein dose of 8 mg/day, the second group – the dose of 10 mg/day. The third group consumed 12 mg/day. Before and after the supplementation period the activity of antioxidant enzymes in blood was determined: catalase CAT (the Beers and Sizer method), glutathione peroxidase GPx (the Little and O'Brien method) and superoxide dismutase SOD (the Mirsa and Fridovich method).

Results. The applied doses of lutein after the three-month supplementation resulted in an increase of activity of antioxidant enzymes: catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD).

Conclusions. The lutein supplementation in case of healthy individuals, depending on the dose, caused significant changes in the activity of antioxidant defense enzymes. The most significant increase of the activity of catalase was observed after using dose of lutein 10 mg/day. The most significant increase of the activity of glutathione peroxidase and superoxide dismutase were observed after using the lowest dose of lutein (8 mg/day).

Key words: lutein, erythrocytes, antioxidant defense

© Probl Hig Epidemiol 2013, 94(3): 522-526

www.phie.pl

Nadesłano: 19.06.2013

Zakwalifikowano do druku: 16.07.2013

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Lek. Karolina Jędrzejczak-Pospiech
Zakład Fizjologii Człowieka Katedry Nauk Podstawowych
i Przedklinicznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
pl. Hallera 1, 90-647 Łódź
tel. 42 639 33 10, e-mail: carolina-83@wp.pl

Wprowadzenie

W warunkach fizjologicznych podczas procesów oddychania komórki organizmów żywych wytwarzają niewielkie ilości reaktywnych form tlenowych.

Stanowią one produkty reakcji redukcji bądź wzbudzenia cząsteczki tlenu, do których należą: rodnik wodoronadtlenkowy HO₂[•], anion rodnika nadadtlenkowego O₂^{•-}, tlen sigletowy O₂, ozon O₃, nadtlenek

wodoru H_2O_2 oraz tlenek azotu $NO\cdot$ i ditlenek azotu $NO_2\cdot$ [1, 2]. Uczestniczą one w wielu fizjologicznych procesach komórkowych. W warunkach prawidłowych istnieje równowaga między powstawaniem reaktywnych form tlenu, a ich unieczynnianiem. Przewaga procesów prooksydacyjnych wywołuje stan określany jako stres oksydacyjny. Produkowane w nadmiernych ilościach reaktywne formy tlenowe są przyczyną procesów naruszających strukturę białek, lipidów, cukrów oraz kwasów nukleinowych. Przyczynia się to do rozwoju chorób cywilizacyjnych m. in.: miażdżycy, choroby niedokrwiennej serca, nadciśnienia tętniczego, chorób immunologicznych, procesów starzenia, nowotworów oraz schorzeń okulistycznych, wśród których wymienić należy m.in.: jaskrę, zaćmę czy zwyrodnienie plamki żółtej związanej z wiekiem (*age-related macular degeneration* – AMD). Powodem takiego stanu w dużej mierze jest zanieczyszczenie środowiska, promieniowanie UV oraz farmaceutyki. W obronie przed szkodliwym działaniem wolnych rodników komórki organizmu wykształciły odpowiednie mechanizmy, do których należą systemy enzymatyczne z peroksydazą glutationową, katalazą, stojącą najwyżej w hierarchii dysmutazą ponadtlenkową oraz nieenzymatyczne, do których zaliczamy m.in.: witaminy A, C, E, jony metali manganu, magnezu, cynku, zredukowaną formę koenzymu Q10, flawonoidy, karotenoidy (luteinę i zeaksantynę) [3].

W celu zredukowania ryzyka wystąpienia schorzeń okulistycznych, których podłożem jest negatywny wpływ wolnych rodników tlenowych, duże nadzieje pokłada się w suplementacji składników, które gromadzą się w siatkówce i tym samym opóźniają występowanie szkodliwych efektów stresu oksydacyjnego. Należą do nich karotenoidy, wśród których wymienić pochodne ksantofilowe; zeaksantynę, luteinę oraz powstającą z luteiny mezozeaksantynę, barwniki naturalnie gromadzące się w plamce żółtej. Zeaksantyna występuje głównie w centrum plamki a luteina bardziej obwodowo [6-13, 16]. Ich antyoksydacyjne działanie opiera się głównie na unieczynnieniu tlenu sigletowego oraz przeciwdziałaniu fotooksydacji lipofuscyny [4, 14-16]. Ponadto barwniki te absorbują krótkofalowe promieniowanie elektromagnetyczne w zakresie długości fali odpowiadającej barwie niebieskiej.

Cel badania

Ocena enzymatycznej skuteczności obrony antyoksydacyjnej krwinek czerwonych po suplementacji różnymi dawkami luteiny u ludzi zdrowych.

Materiał i metody

W badaniu wzięły udział 54 osoby zdrowe w wieku od 20-77 lat, u których przeprowadzono wcześniej kompleksowe badanie okulistyczne, w tym badanie OCT – optyczną koherentną tomografię. Do badania nie zakwalifikowano osób z poważnymi chorobami oczu (jaskra, zaćma, retinopatia cukrzycowa), nadużywających alkoholu, palących papierosy oraz spożywających inne suplementy diety o działaniu antyoksydacyjnym. Uczestnicy badania przez okres trzech miesięcy przyjmowali jeden z 3 preparatów w dawce 1 tabletka dziennie. Zostały one podzielone na 3 grupy, z których każda przez okres 3 miesięcy przyjmowała inną dawkę luteiny. Pierwszą grupę stanowiły osoby, które przyjmowały preparat zawierający 8 mg luteiny, drugą – 10 mg oraz trzecią – 12 mg luteiny. Przed suplementacją oraz po 3 miesiącach oznaczono aktywność enzymów antyoksydacyjnych w krwi: katalazy CAT (metodą Beersa i Sizera) [30], peroksydazy glutationowej GPx (metodą Little i O'Brien) [31] oraz dysmutazy ponadtlenkowej SOD (metodą Mirsa i Fridovich) [32]. Materiał do badań stanowiła krew żylna pobrana z żyły odłokciowej, jednorazowym sprzętem do pobierania krwi w ilości 2 x 5 ml. Z pobranej krwi po odwirowaniu uzyskano osocze oraz sporządzono hemolizat.

Na badania uzyskano zgodę Komisji Bioetyki UM w Łodzi nr RNN/483/11/KB.

Opracowanie statystyczne i graficzne wykonano przy użyciu programów Statistica 5.1 PL oraz Office 97. Do opracowania statystycznego wykorzystano test T Studenta oraz test Manna-Whitneya dla niezależnych wykonanych dla porównania średnich uzyskanych między grupami i dla grup zależnych dla porównania średnich uzyskanych wewnątrz grup. Dla wszystkich testów przyjęto poziom istotności $p=0,05$.

Wyniki i omówienie

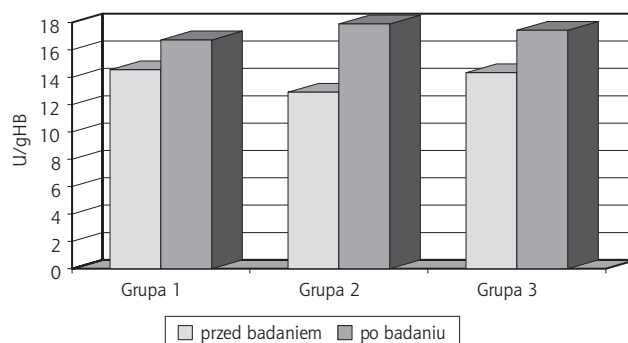
Wyniki wszystkich badań przedstawiono w tabelach I, II, III oraz na rycinach 1, 2, 3.

We wszystkich trzech badanych grupach po suplementacji luteiną stwierdzono istotny statystycznie wzrost wszystkich badanych enzymów antyoksydacyjnych. Po podaniu wszystkich trzech dawek luteiny aktywność badanych enzymów antyoksydacyjnych uległa wzrostowi (ryc. 1, 2 i 3).

W zakresie mierzonej aktywności katalazy największy wzrost średniej sprzed badania wykazuje grupa 2 przyjmująca 10 mg luteiny (ryc. 1). Średnia aktywność peroksydazy glutationowej wzrosła w grupie 1 po podaniu 8 mg luteiny (ryc. 2). Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej największy wzrost uzyskała w grupie 1, która przyjmowała 8 mg luteiny (ryc. 3).

Z dotychczasowych badań wynika, że luteina neutralizuje szkodliwe działanie wolnych rodników tlenowych, które przyczyniają się do powstania stresu oksydacyjnego, a w konsekwencji wielu schorzeń w tym chorób oczu. Spożywanie luteiny wspomaga prawidłowe funkcjonowanie plamki żółtej i tym samym może zapobiegać schorzeniom narządu wzroku. Barwnik ten nie jest wytwarzany w organizmie dlatego należy dostarczać go z pożywieniem. Na rynku farmaceutycznym dostępne są różne rodzaje preparatów z luteiną w składzie. Odpowiednia suplementacja wpływa korzystnie przeciwdziałając negatywnym skutkom zaburzenia równowagi oksydacyjno-redukcyjnej wywołanej szkodliwą działalnością reaktywnych form tlenowych. Szczególnie wrażliwa na szkodliwe działanie wolnych rodników jest siatkówka oka i plamka żółta. Uszkodzeniu ulegają komórki fotoreceptorowe, co sprzyja powstawaniu m. in.: zwyrodnienia plamki żółtej związanej z wiekiem – AMD. Po zastosowaniu odpowiednich dawek luteiny wzrasta antyoksydacyjna ochrona delikatnych struktur siatkówki. Różne publikacje, w których donoszono o zastosowaniu luteiny w leczeniu chorób plamki potwierdzają zasadność suplementacji tym składnikiem. Jak dotąd nie opracowano norm codziennego zapotrzebowania, gdyż

posiadana wiedza na temat karotenoidów jest jeszcze zbyt mała. Według dostępnych badań Harvard University przyjmowanie minimum 6 mg luteiny dziennie niweluje ryzyko uszkodzeń plamki żółtej i siatkówki oka o około 43%. Dzięki badaniom klinicznym wiadomo, że już 6-14 mg luteiny dziennie pomaga o połowę zmniejszyć ryzyko wystąpienia AMD [5]. Istnieje jednak duża rozbieżność między badaniami a rzeczywistym spożywaniem karotenoidów. Wyniki



Ryc. 1. Średnie wartości aktywności katalazy (CAT) przed i po suplementacji luteiną w badanych grupach

Fig. 1. Average values of catalase (CAT) activity before and after supplementation with lutein in the examined groups

Tabela I. Aktywność katalazy (CAT) przed suplementacją i po okresie 3-miesięcznej suplementacji luteiną

Table I. Activity of catalase (CAT) before and after 3 months of supplementation with lutein

	Grupa 1, 8 mg luteiny /Group 1, 8 mg of lutein		Grupa 2, 10 mg luteiny /Group 2, 10 mg of lutein		Grupa 3, 12 mg luteiny /Group 3, 12 mg of lutein	
	przed supl. /before suppl.	po supl. /after suppl.	przed supl. /before suppl.	po supl. /after suppl.	przed supl. /before suppl.	po supl. /after suppl.
Min-max	7,79 – 21,20	10,70 – 21,00	7,30 – 18,61	8,41 – 26,20	5,74 – 22,81	13,12 – 25,30
Mediana /Median	14,55	16,59	13,18	17,51	13,96	17,65
Średnia arytmetyczna $\pm$ SD /Arithmetic average $\pm$ SD	14,55 $\pm$ 3,69	16,73 $\pm$ 3,49	12,91 $\pm$ 3,40	17,89 $\pm$ 4,32	14,33 $\pm$ 4,34	17,43 $\pm$ 3,12

Tabela II. Aktywność peroksydazy glutationowej (GPx) przed suplementacją i po 3-miesięcznej suplementacji luteiną

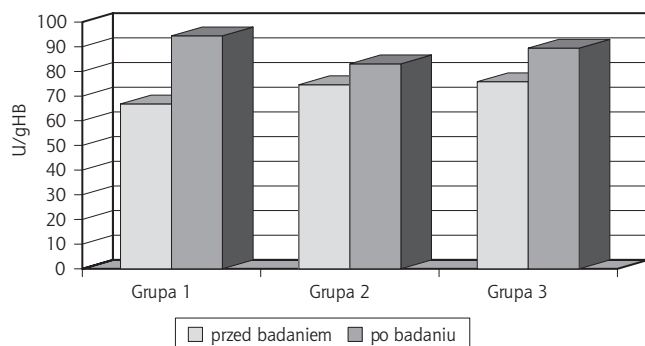
Table II. Activity of glutathione peroxidase (GPx) before and after 3 months of supplementation with lutein

	Grupa 1, 8 mg luteiny /Group 1, 8 mg of lutein		Grupa 2, 10 mg luteiny /Group 2, 10 mg of lutein		Grupa 3, 12 mg luteiny /Group 3, 12 mg of lutein	
	przed supl. /before suppl.	po supl. /after suppl.	przed supl. /before suppl.	po supl. /after suppl.	przed supl. /before suppl.	po supl. /after suppl.
Min-max	25,49 – 94,51	58,31 – 160,53	40,54 – 113,26	60,03 – 136,39	38,81 – 117,39	63,08 – 130,88
Mediana /Median	65,13	86,40	75,54	75,49	77,29	82,38
Średnia arytmetyczna $\pm$ SD /Arithmetic average $\pm$ SD	66,81 $\pm$ 17,39	94,40 $\pm$ 28,45	74,61 $\pm$ 19,24	83,04 $\pm$ 21,85	75,81 $\pm$ 22,56	89,43 $\pm$ 22,33

Tabela III. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) przed suplementacją i po 3-miesięcznej suplementacji luteiną

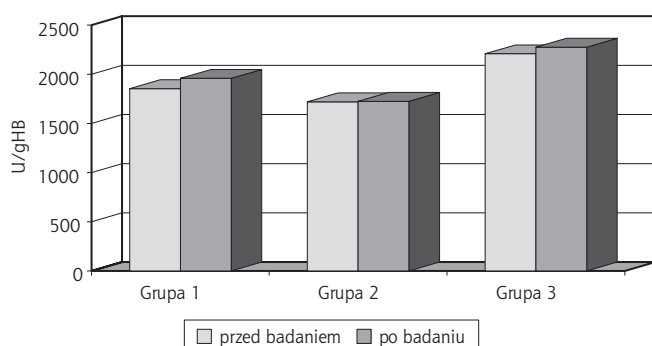
Table III. Activity of superoxide dismutase (SOD) before and after 3 months of supplementation with lutein

	Grupa 1, 8 mg luteiny /Group 1, 8 mg of lutein		Grupa 2, 10 mg luteiny /Group 2, 10 mg of lutein		Grupa 3, 12 mg luteiny /Group 3, 12 mg of lutein	
	przed supl. /before suppl.	po supl. /after suppl.	przed supl. /before suppl.	po supl. /after suppl.	przed supl. /before suppl.	po supl. /after suppl.
Min-max	769,79 – 2825,75	504,08 – 2844,90	595,84 – 2888,63	139,26 – 2537,67	843,25 – 4083,12	1235,33 – 3507,89
Mediana /Median	1791,71	2109,47	1752,51	1965,70	2216,10	2367,94
Średnia arytmetyczna $\pm$ SD /Arithmetic average $\pm$ SD	1853,24 $\pm$ 621,36	1958,22 $\pm$ 659,75	1720,27 $\pm$ 743,53	1724,19 $\pm$ 705,52	2207,68 $\pm$ 744,30	2275,58 $\pm$ 602,91



Ryc. 2. Średnie wartości peroksydazy glutationowej (GPx) przed i po suplementacji w badanych grupach

Fig. 2. Average values of glutathione peroxidase (GPx) before and after supplementation in the examined groups



Ryc. 3. Średnie wartości dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) przed i po suplementacji luteiną w badanych grupach

Fig. 3. Average values of superoxide dismutase (SOD) before and after supplementation with lutein in the examined groups

z amerykańskich i europejskich instytutów żywienia donoszą, że zawartość tych barwników roślinnych w diecie populacji amerykańskiej wynosi odpowiednio 1,7 mg a w populacji europejskiej 2,2 mg [20].

Zastosowane w przeprowadzonym przez nas badaniu dawki luteiny spowodowały wzrost aktywności wszystkich oznaczanych enzymów antyoksydacyjnych, stanowiących pierwszą linię obrony przed szkodliwym wpływem stresu oksydacyjnego. Z powyższych wyników można wysnuć wniosek, iż aktywność niektórych enzymów jest zależna od ilości suplementowanej luteiny. Uzyskane wyniki badań sugerują również, że aktywności oznaczanych enzymów zależne są od dawki luteiny, która była zastosowana w suplementacji. Największe różnice w aktywności enzymów wywołała dawka 8 mg co sugeruje, że jest to wystarczająca ilość dla poprawy obrony antyoksydacyjnej erytrocytów i tym samym ochrony narządu wzroku przed szkodliwym działaniem stresu oksydacyjnego.

Wnioski

1. Suplementacja luteiną u ludzi zdrowych powoduje wzrost aktywności katalazy, peroksydazy glutationowej oraz dysmutazy ponadtlenkowej zależny od dawki luteiny.
2. Największy wzrost aktywności katalazy zaobserwowano po zastosowaniu luteiny w dawce 10 mg/dobę.
3. Największy wzrost peroksydazy glutationowej oraz dysmutazy ponadtlenkowej obserwowano po zastosowaniu najniższej dawki luteiny (8 mg).

Praca finansowana przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi z zadania badawczego Nr 502-03/5-108-01/502-54-053.

Piśmiennictwo / References

1. Kalisz O i wsp. Reaktywne formy tlenu (RTF) oraz ich rola w patogenezie niektórych chorób. Ann UMCS Lublin – Polonia 2007, LXII(1) sectio DD.
2. Rutkowski R i wsp. Znaczenie reaktywnych form tlenu i azotu w patomechanizmie procesu zapalnego. Pol Merk Lek 2007, XXIII, 134, 131.
3. Nowak JZ, Bienias W. Zwyródnienie plamki związane z wiekiem (AMD): etiopatogeneza i strategie terapeutyczne. Post Hig Med Dośw 2007, 61:83-94.
4. Anderson DH, et al. A role for local inflammation in the formation of drusen in the aging eye. Am J Ophthalmol 2002, 134: 411-431.
5. Szostak WB, Szostak-Węgierek D. Żywnienie w profilaktyce zwyródnienia plamki żółtej. Prz Lek 2008, 65: 6.
6. Pratt S. What do we know about AMD and nutrition? Rev Ophthalmol 1998, 42.
7. Bone RA, et al. Lutein and zeaxanthin in the eyes, serum and diet of human subjects. Exp Eye Res 2000, 71: 239-245.
8. Bone RA, et al. Analysis of the macular pigment by HPLC: retinal distribution and age study. Invest Ophthalmol Vis Sci 1988, 29: 843-849.
9. Bone RA, et al. Distribution of lutein and zeaxanthin stereoisomers in the human retina. Exp Eye Res 1997, 64: 211-218.
10. Bone RA, et al. Macular pigment in donor eyes with and without AMD: a case-control study. Invest Ophthalmol Vis Sci 2001, 42, 235-240.
11. Carroll YL, Corridan BM, Morrissey PA. Carotenoids in young and elderly healthy humans: dietary intakes, biochemical status, and diet-plasma relationships. Eur J Clin Nutr 1999, 53: 644-653.
12. Handelman GJ, et al. Carotenoids in the human macula and whole retina. Invest Ophthalmol Vis Sci 1988, 29: 850-855.
13. Landrum JT, Bone RA. Lutein, zeaxanthin, and macular pigment. Arch Biochem Biophys 2001, 385: 28-40.

14. Davies NP, Morland AB. Macular pigments: their characteristic and putative role. *Prog Retin Eye Res* 2004, 23: 533-559.
15. Matgrain TH, et al. Do blue light filter confer protection against age-related macular degeneration? *Prog Retin Eye Res* 2004, 23: 523-531.
16. Drobek-Słowik M, Karczewicz D, Safranow K. Potencjalny udział stresu oksydacyjnego w patogenezie zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem (AMD). *Post Hig Med Dosw* 2007, 61: 28-37.
17. Beers R, Sizer JW. Spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem* 1952, 195: 133-140.
18. Little C, O'Brien PJ. An intracellular GSH-peroxidase with a lipid peroxide substrate. *Bioch Biophys Res Comm* 1968, 31: 145-150.
19. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1972, 247: 3170-3175.
20. Alves-Rodrigues A, Shao A. The science behind lutein. *Toxicol Lett* 2004, 150-57.