

## ***9.STRESZCZENIE***

Stres oksydacyjny (SO) to zjawisko patofizjologiczne polegające na nadprodukcji w organizmie reaktywnych form tlenu (RFT) podczas utleniania związków z udziałem cytochromu P-450, transportu elektronów w łańcuchu oddechowym czy wybuchu tlenowego. SO jest jednym z inicjatorów apoptozy komórek prowadząc do osłabienia funkcji skóry i przedwczesnego jej starzenia. RFT są fizjologicznie źródłem energii w komórkach tlenowych. Parametrem wskazującym na procesy oksydacji zachodzące w komórce jest całkowity status oksydacyjny (TOS). Gdy dochodzi w komórkach do nadprodukcji anionorodnika ponadtlenkowego, powstają duże ilości nadtlenu wodoru, który nie może ulec zredukowaniu, a może powodować szereg łańcuchowych reakcji rodnikowych prowadzących do oksydacyjnego uszkodzenia białek, lipidów i DNA.

Skóra jest narządem łączącym organizm ze środowiskiem zewnętrznym. Pod wpływem czynników wewnętrznych i środowiskowych podlega ona stałym procesom przebudowy. Spowolnienie mechanizmów regeneracji, wynikające ze starzenia się organizmu, daje objawy w postaci zmniejszenia jędrności i elastyczności skóry. Istotnym elementem odpowiadającym za wygląd i prawidłowe funkcje skóry jest właściwa dieta. Nawyki żywieniowe panujące przez ostatnie kilkadziesiąt lat w społeczeństwie w dużej mierze odbiegały od zaleceń dietetyków. W tym czasie odnotowano zwiększone spożycie węglowodanów oraz tłuszczów zwierzęcych. Obecnie, od kilku lat, obserwowany jest trend zdrowego odżywiania się i życia „fit”. Bardzo istotnym elementem zrównoważonej diety jest właściwa ilość białka dostarczanego z pokarmem, a szczególnie aminokwasów egzogennych, których bogatym i wartościowym źródłem jest serwatka. Koncentrat białek serwatkowych (preparat WPC-80) zawiera niezbędne, egzogenne aminokwasy w postaci leucyny, izoleucyny i waliny oraz czynniki wzrostu i cytokiny. Badania naukowe wykazały, iż koncentraty białek serwatkowych mają bardzo szerokie spektrum działania (antyoksydacyjne, przeciwnowotworowe, hipotensyjne, ośrodkowe, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, immunomodulujące, anaboliczne, naprawcze). Brak jest jednak dostępnych informacji na temat wpływu diet wzbogaconych aminokwasami na parametry biochemiczne i zachowanie się procesów oksydacyjnych uszkadzających białka, lipidy i DNA w skórze.

Dlatego celem eksperymentu było podjęcie badań oceniających wpływ różnych wariantów diety wzbogaconej aminokwasami na wybrane produkty oksydacji białek, lipidów i materiału genetycznego nieuszkodzonej skóry starych szczurów.

Materiał do badań został pobrany w ramach wcześniejszego projektu realizowanego w UMB, który uzyskał zgodę IKE. Materiałem do badań będzie ogolona skóra grzbietu

pobrana od 40 szczurów rasy Wistar o masie ciała 350-450 g, podzielonych na 5 grup po 8 osobników każda:

grupa I – kontrola,

grupa II – preparat WPC-80 w dawce 0,3 mg/kg mc przez 7 dni,

grupa III – preparat WPC-80 w dawce 0,5mg/kg mc przez 7 dni,

grupa IV – preparat WPC-80 w dawce 0,3 mg/kg mc przez 14 dni,

grupa V – preparat WPC-80 w dawce 0,5 mg/kg mc przez 14 dni.

Po pobraniu materiał został umieszczony w głębokim zamrożeniu w ciekłym azocie, a po 24 godzinach umieszczony w zamrażarce niskotemperaturowej w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  do dnia wykonania oznaczeń. W dniu wykonywania oznaczeń biochemicznych próbki będą przemyte lodowatym zimnym PBS, a następnie zważone. Próbki zostaną pokrojone na mniejsze fragmenty, zawieszone w PBS, umieszczone w łaźni lodowej i zhomogenizowane w homogenizatorze nożowym. Otrzymana zawiesina zostanie poddana sonifikacji. Homogenaty będą odwirowane, a do badań wykorzystany zostanie otrzymany płyn nadosadowy.

#### Metody

Przy wykorzystaniu kitów immunoenzymatycznych zostaną wykonane następujące oznaczenia:

1. całkowitego statusu oksydacyjnego (TOS),
2. stężenia produktów peroksydacji lipidów: kompleksów 4-hydroksynonenalu z białkami (4-HNE protein adduct) i 8-izoprostanów (8-izoP),
3. stężenia produktów oksydacji białek: zaawansowanych produktów oksydacji białek (AOPP),
4. stężenia produktów oksydacji DNA: 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyny (8-OHdG) oraz
5. stężenie wszystkich białek skórnych (BC).

Oznaczenia będą przeprowadzone w duplikatach. Po wykonaniu doświadczeń na podstawie otrzymanych wyników zostanie dokonany dobór testów w celu wykonania analizy statystycznej w programie Statistica.

#### Wnioski

1. Różne stężenia WPC-80 i różny czas jego podania nie wpływają na całkowity status oksydacyjny zdrowej skóry szczurów.
2. Występowanie w tkance skórnej produktów oksydacji białek lipidów i DNA wskazuje na indukowanie stresu oksydacyjnego w trakcie życia zwierząt w laboratorium badawczym.

3. Suplementacja diety za pomocą WPC-80 (0,5mg/kg mc. przez 14 dni) zmniejsza ilość produktów oksydacji białek lipidów i DNA.
4. Zastosowanie w diecie dawki 0,5 przez 14 dni mogłoby zabezpieczyć przed stresem związanym z naturalnym, codziennym funkcjonowaniem organizmu.