

Antioksidanti v prehrani: varnost, zdravje in potencialna tveganja

Borut Poljšak¹, Tomaž Lampe¹, Iztok Ostan², Peter Raspor³

¹Univerza v Ljubljani, Visoka šola za zdravstvo, Oddelek za sanitarno inženirstvo

²Univerza v Ljubljani, Fakulteta za pomorstvo in promet

³Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Katedra za biotehnologijo

IZVLEČEK

Izsledki številnih študij promovirajo uporabo antioksidantov za preprečevanje znotrajcelične oksidacije in zniževanja oksidativnega stresa organizma. Vendar pa vse več novejših raziskav opozarja na zmožnost pro-oksidativnega delovanja sintetičnih antioksidantov, tako *In vivo* kot *In vitro*. Pomen tega področja prehrane raste in zato smo zastavili tako kvalitativen pregled, kot tudi kvantitativno eksperimentalno preverbo najbolj razširjenega dodatka v živilih, vitamina C. Ugotavljali smo kako se obnaša v prisotnosti nekaterih ionov v svoji okolici. Opravili smo tudi raziskavo na 408 naključno izbranih osebah glede uporabe vitaminskih in mineralnih dopolnil v prehrani. Z anketnim vprašalnikom smo poskušali ugotoviti kako razširjena je uporaba vitaminskih in mineralnih dopolnil, kolikšen delež anketiranih uživa vitaminsko mineralna dopolnila, kako pogosto jih uživajo in katera vrsta dopolnil je najpogostejša. Antioksidanti lahko zaradi lastne avtooksidacije in sposobnosti redukcije redoks aktivnih kovinskih ionov pospešijo nastajanje hidroksilnih radikalov. Zato smo izvedli študijo, kjer smo *In vitro* spremljali reakcijo vitamina C ob prisotnosti redoks aktivnih kovin, določali znotrajcelično oksidacijo, DNK poškodbe in aktivnosti antioksidativnih encimov na modelnem organizmu *Saccharomyces cerevisiae*. Dobljene podatke smo poskusili podkrepiti s študijami, ki raziskujejo vpliv antioksidantov pri ljudeh. Omenjena celovita študija pokaže da so prehranski dodatki prisotni v prehrani Slovencev in da se ne zavedajo celovito njihovih prednosti in slabosti, ob tem da jih ne jemljejo kot zamenjavo za raznoliko prehranjevanje. Ekperimentalna študija pa pokaže, da nekatere kovine povzročijo pro-oksidativno delovanje vitamina C.

IZHODIŠČA

V tem sestavku bomo spregovorili o vlogi antioksidantov pri preprečevanju nastajanja reaktivnih kisikovih zvrsti oz pri njihovem odstranjevanju v kolikor nastanejo. Reaktivne kisikove zvrsti (RKZ), prosti radikali in posledično oksidativni stres so zaradi svoje kompleksnosti področje raziskovanja tako nutricionistov, biologov, kemikov, zdravnikov, tehnologov in občasno tudi zanesenjakov, ki v tem področju vidijo možnost za nekaj več. Tako to področje dela zahteva se bolj poglobljeno in celovito razumevanje dogajanja v smislu metabolizma, kot tudi v smislu tehnoloških postopkov, ki sooblikujejo značilnosti živila od njive do žlice.

Številne študije navajajo, da bi lahko z uporabo antioksidantov preprečevali nastanek oksidativnega stresa. Vendar pa vse več raziskav dokazuje tudi nezaželene učinke

antioksidantov, njihovo t.i. pro-oksidativno delovanje. Rezultati bazičnih raziskav ugotavljajo pomembno vlogo vitaminov v patofiziologiji bolezni povezanih z oksidativnim stresom (Abbey in sod., 1993; Emmert in Kirchner, 1999) kot so: ateroskleroza, hipertenzija, katarakta, revmatoidni artritis, maligna obolenja, Parkinsonova in Alzheimerjeva bolezen (Brown in sod., 1999; Love in Jenner, 1999; Halliwell in Gutteridge 1999). Vzporedno z bazičnimi raziskavami potekajo tudi epidemiološke raziskave, ki so ugotovile znižano pojavnost bolezni srca in ožilja in raka pri osebah, ki so s hrano zaužile večje količine vitaminov C, E in β -karotena. Pri teh osebah se je zvišala serumska raven omenjenih vitaminov (Carr in Frei, 1999; Gey 1993; Gey in Puska, 1989). Do sedaj je raziskovalcem uspelo dokazati znižano pojavnost raka in bolezni srca in ožilja le pri ljudeh, ki zaužijejo dovolj veliko količino sadja in zelenjave, ne pa pri osebah, ki uživajo dopolnila vitaminov (Halliwell, 2000). Uživanje sadja in zelenjave zniža nastanek prostih radikalov v telesu in s tem povzročene oksidativne poškodbe DNK, medtem ko veliko študij dokazuje, da le dopolnila vitaminov C, E in beta karotena DNK poškodb ne znižajo (Deng in sod., 1998, Rehman in sod. 1998; Prieme in sod., 1997; Beatty in sod., 1999; Rehman in sod., 1999).

Poleg tega multivitaminska dopolnila številne institucije, ki regulirajo to področje (npr. FDA, Urad za zdravila), klasificirajo kot nutriente, zato niso deležni sistemskih bioabsorpcijskih in toksikoloških preizkusov pred široko uporabo na trgu, kot jih opravljajo na zdravilih. V ZDA se vitaminski pripravki, ki vsebujejo tudi 10 krat večje vrednosti od RDA (Recommended daily intake), ne smatrajo kot zdravila, zato niso pod kontrolo Food and Drug Administration (FDA), ki spremlja bioabsorpcijske in toksikološke teste zdravil pred prihodom na tržišče. Evropska komisija ima skoraj desetletje v pripravi predlog regulative za področje vitaminskih in mineralnih dopolnil (VMD), ki niso regulirana s predpisi za področje zdravil, kar je s harmonizacijo zakonodaje prevzela tudi Slovenija. V Sloveniji področje vitaminskih in mineralnih dopolnil le delno ureja Pravilnik o razvrstitvi vitaminskih in mineralnih izdelkov za peroralno uporabo, ki so v farmacevtskih oblikah, in so dostopni na tržišču kot zdravila. Vitaminska in mineralna dopolnila za peroralno uporabo, ki so v farmacevtskih oblikah, se štejejo za zdravila, če dnevni odmerki vitaminov, mineralov in oligoelementov, ki jih vsebujejo, presegajo določene vrednosti, navedene v tabelah pravilnika (Ur.l. RS, št. 83/2003).

Neupoštevanje tega danes omogoča nekontrolirano uživanje tudi velikih odmerkov vitaminov in mineralov pri prebivalstvu. S tem namenom smo opravili študijo glede uporabe vitaminskih in mineralnih dopolnilih v prehrani. Z anketnim vprašalnikom smo poskušali ugotoviti kako razširjena je uporaba vitaminskih in mineralnih dopolnil, kolikšen delež anketiranih uživa vitaminsko mineralna dopolnila, kako pogosto jih uživajo in katera vrsta dopolnil je najpogostejša. S študijo študijo *In vitro* smo spremljali reakcijo vitamina C ob prisotnosti redoks aktivnih kovin, določali znotrajcelično oksidacijo, DNK poškodbe in aktivnosti antioksidativnih encimov na modelnem organizmu *Saccharomyces cerevisiae*. Dobljene podatke smo poskusili podkrepiti s študijami, ki raziskujejo vpliv antioksidantov pri ljudeh.

METODE

Izvedba ankete

Študija je zasnovana na opisno - presečni metodi, po načinu izvedbe gre za anketo na terenu. Merski instrument je bil vprašalnik, ki je vseboval 31 vprašanj zaprtega tipa, z več

možnimi odgovori. Vprašalnik je bil sestavljen tako, da se je obkroževalo podane trditve, v posameznih primerih pa je bilo potrebno dopisati enega ali več možnih odgovorov. Da bi bil vprašalnik razumljiv in optimalno sestavljen, smo opravili najprej pilotsko študijo na 50 naključno izbranih oseb. Želeli smo, da bi vprašalnik omogočil pridobiti kar največ potrebnih informacij s področja VMD. Vsa vprašanja v anketnem vprašalniku smo oblikovali sami. Za sodelovanje je bilo zaprosenih 800 oseb. Ankete je izpolnilo 408 oseb, sodelovanje je zavrnilo 392 oseb. Dosežena stopnja sodelovanja v anketi je 40.8%. Anketiranje je potekalo v maju in juniju 2004.

In vitro spremljanje pro-oksidativnega delovanja vitamina C

In vitro spremljanje EPR spektrov: spektri so bili posneti 5 minut po dodatku 2 mM $K_2Cr_2O_7$ k različnim koncentracijam vitamina C v 0.1 M PBN in 10 mM Na-HEPES pufru (pH = 7.2). Uporabljali smo metodo, ki jo je vpeljal Pesti in sod. (2002) z naslednjimi nastavitvami spektrometra: receiver gain, 1.0×10^3 ; modulation amplitude, 1.6 G; scan time, 400 seconds; field, 3482 ± 50 G; field scan, 100 G. Metoda je podrobneje opisana v Poljšak in sod., 2005.

Metode za spremljanje celičnega odgovora *S. cerevisiae* na izpostavljenost vitaminu C so podrobneje opisane v študiji Poljšak in sod., 2005.

REZULTATI

1. Rezultati ankete

Raziskava je pokazala, da po vitaminskih in mineralnih dopolnilih dnevno posega 12% anketirancev, pri tedenski uporabi pa se ta delež povzpne na 27%. 28,3% anketirancev dopolnil ne uporablja, kar 38% anketirancev pa jih uporablja le v izrednih primerih, kot je npr. pojav bolezni. Med tistimi, ki dopolnil ne uživajo, ali pa jih uživajo le v izrednih primerih, jih je kar 36% kot razlog za neuporabo navedlo, da ob redni mešani prehrani to ni potrebno. Drugi najpomembnejši razlog za neuporabo so navajali dejstvo, da dopolnila niso naravne sestavine (11,7%). Naša raziskava je pokazala, da so najpogosteje uporabljena dopolnila multivitaminski dodatki (28,7%) in preparat vitamina A+C+E (28,3%). Sledijo mešani multivitaminsko-multimineralni preparati (16,5%) in preparati posameznega minerala (13,5%). Med rednimi uživalci je 63% takšnih, ki preparate uživajo že več let, dobrih 9% jih preparate uživa eno leto, 17% pa je takih, ki so dopolnila pričeli uživati pred kratkim oz. jih uživajo manj kot eno leto. Pri ugotavljanju vzrokov za uživanje vitaminskih in mineralnih pripravkov z 42,3% odstotki prevladuje mnenje, da VMD vplivajo na zvečanje odpornosti. S precej nižjimi vrednostmi sledijo premagovanje fizičnih naporov (12,8%), izboljšanje storilnosti in koncentracije (11,4%) ter izboljšanje razpoloženja (9,4%). Preprečevanje raka (3%) in kardiovaskularnih obolenj (5,3%) se med vzroki za jemanje pojavita v relativno nizkem odstotku glede na dejstvo, da je frekvenca uporabe vitaminov A+C+E velika (28,3%) in da se omenjene antioksidante oglašuje tudi v preventivi kardiovaskularnih in malignih obolenj. Dobrih 22% anketirancev se v celoti strinja z izjavo (ocena od 1-5), da kupljenim živilom zaradi sodobnega načina pridelave manjka vitaminov in mineralov (ocena 5), le nekaj več kot 6 odstotkov anketirancev pa se s tako izjavo v celoti ne strinja (ocena 1). Največji je odstotek anketirancev (40,1%), ki se z izjavo delno strinjajo (ocena 3). Če nekdo meni, da s hrano ne dobi dovolj hranil oz. da je le-ta oslABLJENA vitaminov in mineralov, se zdi uživanje vitaminskih in mineralnih dopolnil

najbolj preprosta rešitev. Dosedanje raziskave na tem področju so pokazale, da se kljub široki razporejenosti po vseh virih naše hrane veliko hranil izgubi zaradi izčrpanosti zemlje, shranjevanja, predelave in priprave hrane (Mindell, 1991; Buhač, Bradamante, 2002.; Plestenjak, Požrl, 2000). Še vedno pa vitaminov in mineralov ostane dovolj, da zaradi njih uravnavanje prehrane zasluži vso pozornost. Dopolnilni pripravki ne morejo učinkovati brez uživanja običajne hrane (Mindell, 1991). Večina vprašanih se strinja s trditvijo, da neustrezna priprava živil zmanjšuje vsebnost vitaminov. Dejstvo je, da so vitamini občutljivi na različne dejavnike: na vodo, kisik, toploto, svetlobo, na redoks aktivne kovine pa so najbolj občutljivejši antioksidanti (Halliwell, Gutteridge, 1999).

Pri oceni vpliva vitaminov in mineralov na izboljšanje zdravja, je med petimi stopnjami (kjer 1 pomeni ničel vpliv in 5 zelo velik vpliv), skoraj 50% vprašanih obkrožilo 4. in 5. stopnjo, 38% pa vitaminom in mineralom pripisuje srednje velik vpliv na izboljšanje ravni njihovega zdravja. Gledano v celoti, vitaminom in mineralom anketirani pripisujejo velik vpliv na krepitev zdravja. Ne glede na uporabo dopolnil, je skoraj 80% vseh anketirancev svoje zdravstveno stanje ocenilo kot dobro. Zanimivo je dejstvo, da pri dojetju lastnega zdravja in počutja ni odstopanj med uživalci in neúživalci VMD. Pozitivno je dejstvo, da se 86% vprašanih zaveda, da je kljub rednemu uživanju vitaminskih in mineralnih dopolnil potrebno uživati tudi sadje in zelenjavo. Kljub prepričanju o nujnosti uživanja vitaminskih in mineralnih dopolnil, se anketiranci zavedajo, da sta sadje in zelenjava še vedno pomemben gradnik zdrave in polnovredne prehrane, česar ne moremo nadomestiti zgolj s sintetičnimi pripravki. Slednje dejstvo je pri informiranju uporabnikov premalokrat poudarjeno.

2. *In vitro* rezultati: Vloga redoks aktivnih kovinskih ionov v pro-oksidativnem delovanju vitaminov – praktični primeri na vitaminu C

Znano je, da se lahko antioksidativno delovanje antioksidantov (npr. vitamina C, E, beta karotena) ob prisotnosti redoks aktivnih kovinskih ionov spreobrne v pro-oksidativno delovanje (Halliwell in Gutteridge 1999).

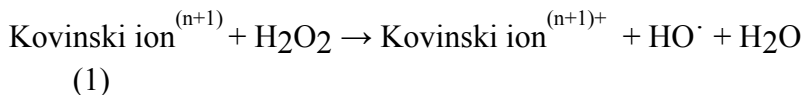
Vitamin C reducira redoks aktivne kovinske ione, ti pa vstopajo v Fentonovo reakcijo in ob prisotnosti vodikovega peroksida (normalno prisoten v celici v 10^{-7} do 10^{-8} M) tvorijo hidroksilni radikal (OH^\cdot). Avtooksidacija vitamina C povzroči nastanek H_2O_2 (Clement in sod., 2001) in posledično nastane 8-hidroksigvanozin (8-OHdG). Avtooksidacija vitamina C in z njo povezan nastanek H_2O_2 je večinoma eksogene izvora (Clement in sod. 2001). Ker je 8-OHdG substrat za popravljalne encime DNK (Kasai 1997; Spencer, 1996), je lahko prooksidativno delovanje vitamina C v zmernih količinah za celico celo koristno, saj povzroči blag stres in s tem aktivira endogene antioksidativne obrambne sisteme celice.

Vsako povišanje v količini superoksidnega aniona, vodikovega peroksida ali redoks aktivnih kovinskih ionov vodi do nastanka hidroksilnih radikalov in posledično do celičnih poškodb.

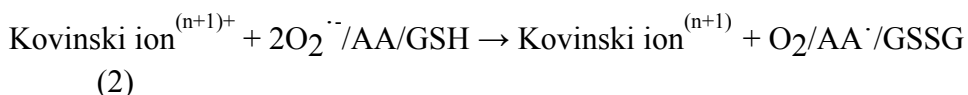
Pro-oksidativno delovanje vitamina C smo dokazali z elektronsko paramagnetno resonanco (EPR). Kot redoks aktivno kovino smo uporabili Cr(VI) in z EPR meritvami potrdili, da v reakciji med vitaminom C in Cr(VI) nastane hidroksilni radikal, Cr(V) in askorbilni radikal. Koncentracija nastalih radikalov je odvisna od razmerja Cr(VI) : vitamin C. Pri nizkih koncentracijah vitamina C ob prisotnosti Cr(VI) slednji deluje prooksidativno in povzroči nastanek reaktivnega hidroksilnega radikala, medtem ko ima vitamin C pri

visokih koncentracijah antioksidativne lastnosti in polovi proste radikale, ki nastanejo v reakciji s kovinskim ionom oziroma se spremeni v askorbilni radikal, ki ni dovolj reaktiven da bi poškodoval celične komponente.

Fentonova reakcija:



Haber-Weissova reakcija:



Legenda:

- AA askorbinska kislina (vitamin C)
- AA \cdot askorbilni radikal
- GSH reducirana oblika glutationa
- GSSG oksidirana oblika glutationa

Preglednica 1: EPR spektri posneti 5 minut po dodatku 2 mM K₂Cr₂O₇ k različnim koncentracijam vitamina C v 0,1 M PBN in 10 mM Na-HEPES pufru (pH = 7,2).

	Koncentracija (μM)		
	Cr(V)	PBN-OH	Askorbilni radikal
0,5 mM AA + 2 mM Cr(VI)	0,183	2,022	ND
2 mM AA + 2 mM Cr(VI)	0,517	5,323	ND
5 mM AA + 2 mM Cr(VI)	ND	1,214	0,645
10 mM AA + 2 mM Cr(VI)	ND	ND	0,07

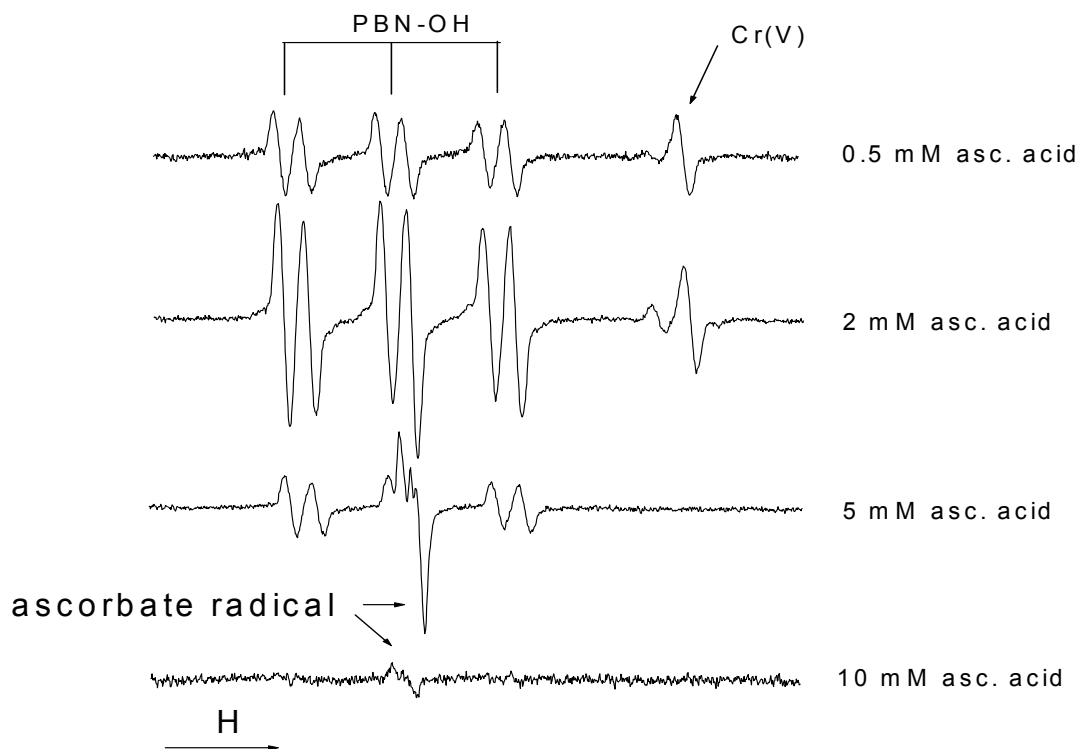
(Poljšak in sod., 2005)

Legenda:

- AA ...askorbinska kislina
- PBN-OH ...hidroksilni radikal ulovljen na spinskem lovilcu
- ND ... ni določeno

Antioksidativno delovanje vitamina C se izrazi ob odsotnosti redoks aktivnih kovinskih ionov (Poljšak in sod., 2005).

Rezultati izpostavljenosti celic *S. cerevisiae* vitaminu C so pokazali da se je znotrajcelična oksidacija občutno znižala, aktivnost superoksid dismutaze, katalaze in glutation peroksidaze se je povečala, koncentracija superoksidnega aniona in H₂O₂ se je znižala. Zaznali smo nižji delež fragmentirane DNK. Na podlagi rezultatov lahko sklepamo, da vitamin C (ob odsotnosti dodanih kovinskih ionov) zniža znotrajcelično oksidacijo, odstranjuje prekursorje reakcije po Fentonu (O₂^{·-}, H₂O₂) in aktivira endogene obrambne sisteme (Poljšak in sod., 2005).



Slika 1: EPR spektri posneti 5 minut po dodatku 2 mM $K_2Cr_2O_7$ in 0,1 M PBN v 10 mM Na-HEPES pufru (pH = 7,2) z različnimi koncentracijami askorbinske kisline (Poljšak in sod., 2005).

Ob prisotnosti redoks aktivnih kovinskih ionov smo zaznali znižanje H_2O_2 , povečanje $OH\cdot$ v celičnem ekstraktu in temu posledično povečanje 8-OHdG na jedrni DNK ter znižanje GSH. Povečano znotrajcelično oksidacijo smo dodatno potrdili z barvilom diklorofluorescein .

Preglednica 2: Odgovor celic *S. cerevisiae* na izpostavljenost vitaminu C

	Vitamin C	Vitamin C + kovinski ioni
Superoksidni radikal	↓	↓
H_2O_2	↓	↓
8-OHdG	↑	↑↑
GPx	↑	-
SOD	↑	-
Katalaza	↑	-
GSH	↓	↓↓
Delež fragmentirane DNK	↓	-
Spremljanje znotraj celične oksidacije z DCF	↓	↑
Nastanek $OH\cdot$ v celičnem ekstraktu	-	↑

(Poljšak in sod., 2005)

Legenda:

- ni izmerjeno

↓ aktivnost se zniža glede na kontrolo

↑ aktivnost se poveča glede na kontrolo

3. Sistematski pregled rezultatov študij na ljudeh

Rezultati epidemioloških študij so si nasprotujoči, od dokazane korelacije, dokazanega ne-učinkovanja vitaminov, do dokazanega škodljivega učinkovanja vitaminov (Halliwell in Gutteridge, 1999; Rowe, 1996).

Sistematični pregled literature z metaanalizo izbranih raziskav, ki ga je izpeljala skupina The Cochrane Hepato-Biliary Group (Bjelakovic in sod., 2004), je prinesel trdne dokaze, da jemanje pripravkov, ki vsebujejo antioksidante ne štiti pred pojavom raka prebavil. Skupina je ugotovila, da dodatki beta-karotena, vitamina A, vitamina C, vitamina E in selena, bodisi posamezno, bodisi v kombinaciji, v primerjavi s placebom niso pomembneje zmanjšali.

Rezultati metaanalize randomiziranih kontrolnih raziskav so dokaz, da jemanje nekaterih antioksidativnih vitaminov lahko poveča tveganje za smrt zaradi bolezni srca in ožilja (Vivekananthan in sod., 2003). Analiza raziskav z beta karotenom je pokazala, da je bilo le-to povezano z majhnim, vendar statistično pomembnim povečanjem tveganja za smrt zaradi vseh vzrokov oziroma za smrt zaradi bolezni srca in ožilja ter rakom pljuč (Hennekens in sod., 1996; Omenn in sod., 1996; Miller in sod., 2005). Avtorji raziskave so mnenja, da bi morali glede na ugotovitve raziskav odsvetovati uporabo pripravkov, ki vsebujejo β -karoten ali njegov aktivni presnovek vitamin A. Avtorji zaključujejo, da izsledki raziskav ne kažejo, da bi imel vitamin E *in vivo* pomemben antioksidativni učinek, zato preprečevalnega zdravljenja z njim ne priporočajo in odsvetujejo njegovo uporabo (Miller in sod., 2005).

Rezultati večine randomiziranih in s placebom kontroliranih raziskav, v katerih so proučevali učinek dodajanja vitamina E, niso pokazali statistično pomembnega povečanja povprečne umrljivosti v povezavi z jemanjem vitamina E. Vendar pa so med rezultati posameznih raziskav odkrili precejšnjo spremenljivost in sorazmerno naraščanje umrljivosti zaradi vseh vzrokov sorazmerno s povečevanjem odmerka vitamina E (Miller in sod., 2005). Medtem ko je študija CHAOS (Stephens in sod., 1996) dokazala protektiven učinek dodatkov vitamina E, ga študija GISSI-Prevenzione (1999) ni. Študija "US Nurses Health Study" (Stampfer in sod., 1993), kjer so osem let spremljali 87000 oseb brez simptomov bolezni srca in študija "Health Professionals Follow-up study" (Rimm in sod., 1993) na 39000 osebah moškega spola nakazujeta, da ima samo vsakodnevno uživanje večjega odmerka vitamina E (100IU) dlje časa (2 leti in več) preventivni učinek na razvoj bolezni srca in ožilja.

Tudi rezultati epidemioloških študij na osebah, ki so prejemale dodatke vitamina C, so nasprotujoči. Dve študiji sta potrdili vlogo vitamina C kot antioksidanta pri preprečevanju oksidacije DNK. Raziskava (Duthie in sod., 1996), ki je z uporabo kometnega testa zaznala oksidirane pirimidinske baze, je tako pri kadilcih kot tudi pri nekadilcih, ki so prejemali dnevne dodatke vitamina C, ugotovila znatno znižanje poškodovanih baz na limfocitni DNK. Fraga in sod. (1991) so ugotovili, da vitamin C varuje spermije pred endogeno tvorbo reaktivnih kisikovih zvrsti. Anderson in sod. (1997) niso uspeli dokazati korelacije med nekadilci, ki so prejemali vitamin C, in oksidativnimi poškodbami DNK določene s kometnim testom.

O pro-oksidativnih učinkih dodatkov vitamina C poročata dve študiji. Podmore in sod. (1998) so 6 tednov spremljali 30 oseb, ki so prejemale dodatke vitamina C. Ugotovili so

povišano koncentracijo hidroksilnega radikala vezanega na adeninu (8-oxoAde) in znižano oksidacijo na gvaninu (8-oxoGua). Sorodno raziskavo so opravili Rehman in sod. (1998). Iskali so povezavo med sočasnimi dodatki vitamina C in železa na oksidacijo jedrne DNK. Določali so 13 produktov, kot rezultat delovanja reaktivnih kisikovih zvrsti na DNK. Po 6 tednih so imele osebe, ki so prejemale dodatke vitamina C, statistično značilne povečane poškodbe na DNK. Po 12 tedenskem prejetanju vitamina C pa je bil nivo poškodovane DNK enak kot pri kontrolni skupini. Na podlagi teh rezultatov avtorji zaključujejo, da lahko vitamin C deluje znotraj celice pro-oksidativno in oksidira jedrno DNK.

Razlaga pro-oksidativnega delovanja bi lahko bila sledeča: celice imajo lastne endogene antioksidativne obrambne sisteme (superoksid dizmutaza, katalaza, glutation, itd.), ki se inducirajo pri povečani produkciji reaktivnih kisikovih zvrsti. Jemanje dodatkov poveča redukcijski potencial v celicah, kar posledično prepreči indukcijo lastnih antioksidativnih sistemov, ki so zaradi lokalnega delovanja v celicah bolj učinkoviti. Umetno inducirani anti-oksidacijski celični potencial vpliva na signalne poti v celicah ter izzove povečano proliferacijo in prepreči apoptozo (Halliwell, 2000), kar lahko vpliva na promocijo in progresijo malignih bolezni. To bi lahko podkrepili s študijo The alpha tocopherol, beta carotene cancer prevention (1994) in (Virtamo in sod., 1998), kjer je bila večja pojavnost karcinoma pljuč pri osebah, ki so prejemale β -karoten v primerjavi z osebami, ki so prejemale placebo.

RAZPRAVA

Zdrav odrasel posameznik ob uživanju pestre mešane hrane ob primeru zadostnega energijskega vnosa dodatnega uživanja VMD ne potrebuje. Vendar je današnji način pridelave hrane privedel do tega, da so živila osiromašena z minerali in vitamini. Zaradi intenzivnega kmetijstva zemlji primanjkuje mineralov, zaradi transporta sadja le-tega poberejo nezrelega, znano pa je, da se antioksidanti sintetizirajo šele ob dozorevanju (Halliwell in Gutteridge, 1999), ker se z njimi rastline branijo pred vplivi okolja (UV-sevanje), boleznimi, škodljivci in drugimi stresnimi dejavniki (Kreft in sod., 2000). Vrednost mineralov in vitaminov se je od leta 1914 do 1992 v sadju znižala (npr. od 7% do 84 % za posamezni vitamin ali mineral v jabolkih in paradižniku (Buhač in Bradamante 2002; National Health Information Centre, 2005). Ugotovitve Buhača (2002) bi lahko razložili tudi z dejstvom, da je do razlik prišlo zaradi različnih metod analitike danes in pred osemdesetimi leti. Poleg tega je sadje škropljeno s pesticidi, ki lahko izničijo blagodejno delovanje zaščitnih snovi v sadju. Neprimerna mehanska priprava in termična obdelava lahko bistveno zmanjšata prehransko vrednost živila in vplivata na spremembo anti-oksidativnega potenciala živila (Hribar in Simčič, 2000). Večina Slovencev ne zaužije petih porcij sadja in zelenjave dnevno. Vse to govori v prid dodatnemu vnosu mineralov in vitaminov, ki ga dosežemo ob povečanem rednem uživanju svežega in surovega sadja in zelenjave.

Prooksidativno delovanje antioksidantov je verjetno vezano na prisotnost redoks aktivnih kovinskih ionov. Nižja koncentracija antioksidantov v celici ob relativno višjih koncentracijah redoks aktivnih kovinskih ionov sproži Fentonovo reakcijo, katere produkt OH^\cdot lahko poškoduje lipidne membrane, proteine in DNK. Višja koncentracija antioksidantov ob prisotnosti redoks aktivnih kovinskih ionov pa hkrati polovi nastale proste radikale. To nakazujejo tudi Fraga in sod. (1991), ki so ugotovili, da šele visoka doza prejetega vitamina C zniža s hidroksilnim radikalom povzročene poškodbe na DNK

spermijev. Zastavlja se vprašanje, kakšen je učinek različnih zaužitih količin antioksidantov kot funkcionalnih dodatkov hrani na celice in kdaj dobrodejni učinek preide v škodljivega ter obratno. Nekateri transkripcijski faktorji so občutljivi na redoks spremembe v celici. Zato je tudi prevelika koncentracija antioksidantov lahko škodljiva, ker nizek redoks potencial stimulira proliferacijo celic, kar pa je lahko nezaželeno v primeru, če je bila celična DNK predhodno poškodovana. Vse te nasprotujoče si trditve v študijah, ki praviloma ne izhajajo iz enakih eksperimentalnih in metodoloških predpostavk in dejstev ne dajejo celovitega in enoznačnega odgovora o vplivu in interferenci dodanih antioksidantov tako v živilih kot še posebej potem v prebavi in v celici, kjer se končno ta snov pojavi in opravi svojo biološko oz nebiološko funkcijo. Glede na skromnost znanja in raznoterost pristopov bo potrebno opraviti še vrsto zelo usmerjenih študij na modelnih organizmih, kar gotovo ni človek. Bo pa seveda koristno vključiti v te študije izbrane celične linije in pogledati v takih sistemih kompleksen genomski, proteomski in metabolomski odziv celice, ko se sreča z pripravki ki jih ponuja trg, kot lahko vidimo ne vedno najboljše poučenemu potrošniku .

SKLEP

Zavedati se moramo, da uporaba sintetičnih vitaminskih dodatkov ni alternativa rednemu uživanju sadja in zelenjave. V sadju je več tisoč spojin, katerih vplivov na zdravje še ne poznamo. Zelo verjetno veliko antioksidantov še ni odkritih, poleg tega je kombinacija antioksidantov v sadju in zelenjavi optimalna, saj povzroči njihovo medsebojno regeneracijo in s tem potencira njihovo obrambo pred prostimi radikali.

Izhajajoč iz stanja znanja danes, lahko zaključimo, da je zmernost se vedno tista pot, ki človeka lahko ohrani zdravega, zato je potrebno v praktičnem življenju to upoštevati. Prav tako velja omeniti, da sta kakovostno dozorjeno sadje in zelenjava lahko dovolj šnja za oskrbo z vitamini, minerali in antioksidanti in to govori v prid sezonskemu prehranjevanju s sadjem in zelenjavo, ki je plod določene regije. To pa že vstopa v poglede, ki so si nasprotni z globalnimi vidiki gledanja oskrbe človeštva z živil. Da ne omenjamo pogleda nutricevtikov, ki pa vidijo svojo nišo prav v globalnem prehranjevanju, saj lahko zapolnijo vrzeli v živilih, ki so plod prisiljenih tehnologij pridelave, predelave, dodelave in priprave živil.

LITERATURA

1. Abbey M, Nestel PJ, Bahurst PA(1993). Antioxidant vitamins and low-density-lipoprotein oxidation. *Am J Clin Nutr* 58: 525-32.
2. Beatty ER, England TG, Geissler CA, Aruoma OI, Halliwell B (1999). Effects of antioxidant vitamin supplementation on markers of DNA damage and plasma antioxidants. *Proc Nutr Soc* 58: 44.
3. Bjelakovic G, Nikolova D, Simonetti RG, Gluud C (2004). Antioxidant supplements for prevention of gastrointestinal cancers. *Lancet* 36: 1219-28.
4. Brown SE, Ferrante RJ, Flint Beal M (1999). Oxidative stress in Huntington disease. *Brain Pathol* 9: 147-63.

5. Buhač I, Bradamante V (2002). Vitamini i minerali; istine i predrasude. Zagreb: Hoffman La Roche, cit. Bradamante V (2002). Mjesto i uloga vitamina u životu suvremenog čovjeka. *Medicus* 11: 101-111.
6. Carr AC, Frei B (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and death in humans. *Am J Clin Nutr* 69: 1086-107.
7. Clement MV, Ramalingam J, Long LH, Halliwell B (2001). The in vitro cytotoxicity of ascorbate depends on the culture medium used to perform the assay and involves H₂O₂. *Antioxid Redox Signal* 3:157-63.
8. Deng XS, Tuo J, Poulsen HE, Loft S (1998). Prevention of oxidative DNA damage in rats by Brussels sprouts. *Free Radic Res* 25: 323-33.
9. Duthie SJ, Ma A, Ross MA, Collins AR (1996). Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Cancer Res* 56: 1291-95.
10. Emmert DK, Kirchner JT (1999). The role of vitamin E in the prevention of heart disease. *Arch Fam Med* 8: 537-42.
11. Fraga CG, Motchnik PA, Shigenaga MK, Helbock HJ, Jacob RA, Ames BN (1991). Ascorbic acid protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88: 11003-6.
12. Gey KF (1993). Prospects for the prevention of free radical disease, regarding cancer and cardiovascular disease. *Br Med Bull* 49: 679-99.
13. Gey KF, Puska P (1989). Plasma vitamins E and A inversely correlated to mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Ann N Y Acad Sci* 570: 268-82.
14. Halliwell B (2000). The antioxidant paradox. *Lancet* 355: 1179-80.
15. Halliwell B, Gutteridge J (1999). Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. Oxford: Clarendon Press.
16. Hennekens CH, Buring JE, Stampfer M, Rosner B, Cook NR, Belanger C, LaMotte F, Gaziano JM, Ridker PM, Willett W, Peto R (1996). Lack of effect of long-term supplementaton with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 334: 1145-9.
17. Hribar J, Simčič M (2000). Antioksidanti v sadju in vrtninah. Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B, Gašperlin L, Hočevar I (ur.). Ljubljana: Biotehnična fakulteta, Oddelek za živilstvo.
18. Kasai H (1997). Analysis of a form of oxidative DNA damage 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutat Res* 387 (3): 147-63.
19. Kreft I, Škrabanja V, Bonafaccia G. (2000). Temelji prehranskih in biotskih vplivov antioksidantov. Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B, Gašperlin L, Hočevar I (ur.). Ljubljana: Biotehnična fakulteta, Oddelek za živilstvo.
20. Love S, Jenner P (1999). Oxidative stress in neurological disease. *Brain Pathol* 9: 119-31.
21. Mindell E (1991). Vitaminska biblija. Ljubljana: Mladinska knjiga, 30-139.

22. Miller ER, Pastor-Barriuso R, Dalal D, Riemersma R, Appel LJ, Guallar E (2005). Meta-Analysis; High-Dosage Vitamin E Supplementation May Increase All-Cause Mortality. *Ann Intern Med* 142: 37-46.
23. National Health Information Centre, <http://www.health.gov> . <10.9.2007>
24. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, Keogh JP, Meyskens FL, Valanis B, Williams JH, Barnhart S, Hammar S (1996). Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *New Engl J Med* 334: 1150-5.
25. Plestenjak A, Požrl T (2001). Pakiranje in materiali za preprečevanje oksidacije živil. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi dnevi, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B, Gašperlin L, Hočevar I (ur.). Ljubljana: Biotehnična fakulteta, Oddelek za živilstvo.
26. Podmore ID, Griffiths HR, Herbert KE, Mistry N, Mistry P, Lunec J (1998). Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. *Nature* 392: 559.
27. Poljšak B, Gazdag Z, Jenko-Brinovec Š, Fujs Š, Pesti M, Belagy J, Plesničar S, Raspor P (2005). Pro-oxidative vs. antioxidative properties of ascorbic acid in chromium(VI)-induced damage. *J Appl Toxicol* 25: 535-48.
28. Pravilnik o razvrstitvi vitaminskih in mineralnih izdelkov za peroralno uporabo, ki so v farmacevtskih oblikah, in so dostopni na tržišču kot zdravila (2003). *Ur List RS* 83.
29. Prieme H, Loft S, Nyssonen K, Salonen JT, Poulsen HE (1997). No effect of supplementation with vitamin E, ascorbic acid or coenzyme Q on oxidative DNA damage estimated by 8-oxo-7,8-dihydro-2-deoxyguanosine excretion in smokers. *Am J Clin Nutr* 65: 503-7.
30. Rehman A, Bourne LC, Halliwell B, Rice-Evans CA (1999). Tomato consumption modulates oxidative DNA damage in humans. *Biochem Biophys Res Commun* 262: 828-31.
31. Rehman A, Collins SS, Yang M, Kelly M, Diplock AT, Halliwell B, Rice-Evans C (1998). The effects of iron and vitamin C co-supplementation on oxidative damage to DNA in healthy volunteers. *Biochem Biophys Res Commun* 246: 293-8.
32. Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, Giovannucci E, Colditz GA, Willett WC (1993). Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in men. *N Engl J Med* 328: 1450-6.
33. Rowe PM (1996). Beta-carotene takes a collective beating. *Lancet* 347: 249.
34. Spencer JP, Jenner A, Aruoma OI, Cross CE, Wu R, Halliwell B (1996). Oxidative DNA damage in human respiratory tract epithelial cells. Time course in relation to DNA strand breakage. *Biochem Biophys Res Commun* 224 (1): 17-22.
35. Stampfer MJ, Hennekens CH, Manson JE, Colditz GA, Rosner B, Willett WC (1993). Vitamin E consumption and risk of coronary disease in women. *N Engl J Med* 328: 1444-9.
36. Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ (1996). Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). *Lancet* 347: 781-6.

37. Virtamo J, Rapola JM, Ripatti S, Heinonen OP, Taylor PR, Albanes D, Huttunen JK (1998). Effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of primary nonfatal myocardial and fatal coronary disease. *Arch Intern Med* 158: 668-75.
38. Vivekananthan DP, Penn MS, Sapp SK, Hsu A, Topol EJ (2003). Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease. *Lancet* 361 (9374): 2017-23.