

OBIECTIV 1 STUDII MULTIDISCIPLINARE PRIVIND PROPRIETĂȚILE MICROELEMENTELOR SI A FITOADITIVILOR DIN PLANTE MEDICINALE

Activitate 1. STUDII MULTIDISCIPLINARE PRIVIND PROPRIETĂȚILE MICROELEMENTELOR

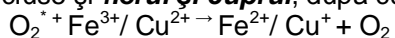
În mod direct ori indirect, fiecare din *metalele descrise în continuare influențează capacitatea de apărare a organismului împotriva radicalilor liberi*. De asemenea, prin participarea în diverse sisteme enzimaticе, *fiecare dintre acestea îndeplinește roluri fiziologice importante, putând afecta pozitiv ori negativ sănătatea organismului*. Nu în ultimul rând, *sunt influențate performanțele bioproductive și calitatea cărnii*.

În organismul animal/uman există trei nivele de apărare împotriva radicalilor liberi (Haliwell and Gutteridge, 1999). Primul sistem are rol în prevenirea formării radicalilor. Acesta include: superoxid dismutaza, glutatation peroxidaza, catalaza, sistemele glutatation și tioredoxin, proteinele chelatoare ale metalelor.

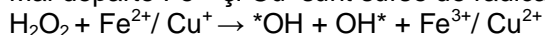
Fierul joacă un rol deosebit de important în organismul uman și animal, fiind un component al hemoglobinei precum și al unor numeroase sisteme enzimaticе din lanțul respirator. Aceste sisteme joacă un rol cheie în respirația celulară. De asemenea, fierul participă în calitate de cofactor la structura a o serie de enzime: aconitaza, **catalaza**, citocromoxidaza, succindehidrogenaza, **peroxidaza** și influențează sinteza ADN-ului (Jianu și Dumbravă, 2001).

Este cel mai abundent dintre microelemente, concentrația fierului în organism putând ajunge până la 4-5 g (Mogos, 1991).

Se știe că radicalul liber superoxid ($O_2^{\cdot-}$), deși este principalul radical produs în sistemele biologice, nu este extrem de periculos prin el însăși. Acesta poate participa însă la producerea unor radicali mult mai puternici, prin donarea unui electron. Într-o astfel de ecuație sunt incluse și **fierul și cuprul**, după cum urmează:



Mai departe Fe^{2+} și Cu^{+} sunt surse de radical hidroxil ($^{\cdot}OH$) în reacția Fenton:



Radicalul hidroxil este cea mai reactivă specie, având o capacitate mare de distrugere a numeroase molecule biologice.

O rație inadecvată și o slabă biodisponibilitate a fierului din hrană sunt considerate ca factori etiologici primari ai anemiei. În ciuda implementării a numeroase programe nutriționale de profilaxie/intervenție, deficiența în fier continuă să fie o problemă de sănătate publică în cele mai dezvoltate țări (Allen and Sabel, 2001). Cercetările au sugerat că biodisponibilitatea fierului din hrană este rezultatul interacțiunii componentelor sale. Componentele rației, oxalații (Chawla, Saxena and Seshadri, 1988), taninurile (Narasinga Rao and Prabhavati 1982) și fitații (Gillooly et al., 1983) sunt cunoscute ca inhibitori ai absorbției fierului, în timp ce acizii organici, cum ar fi acidul ascorbic, acidul citric, acidul malic și acidul lactic sunt cunoscuți ca potențatori ai absorbției fierului (Ballot et al., 1987; Hazell and Johnson, 1987).

Fierul este recunoscut ca unul din cele mai importante microelemente pentru creșterea animalelor (Brock, 1994).

Pentru a preveni și trata deficiențele în fier, aportul de fier anorganic exogen a fost cel mai cunoscut în alimentație. Biodisponibilitatea fierului din diverse surse variază în limite largi. (Rincker et al., 2005a). În ultimele decade, s-a arătat că metalele chelate cu aminoacizi ori proteine au o biodisponibilitate bună (Kegley et al., 2002; Creech et al., 2004). Studiile au arătat că, Fe chelat ori Fe legat de proteine prezintă o disponibilitate de 125-185% comparativ cu sulfatul feros (Henry and Miller, 1995).

Cuprul a fost detectat în toate țesuturile, găsindu-se în organism în proporție de 0,0004%. Este indispensabil vieții celulare și formării oaselor. Condiționează fixarea fierului și concură la formarea hemoglobinei. Se opune la coagularea excesivă a sângelui. De asemenea a fost găsit un paralelism între secreția tiroidiană și procentul de cupru din sânge. Este un element dinamic, antiinfecțios, antiviral, antiinflamator (Mogos, 1991).

Carențele de **cupru** la om sunt excepții rare și nu ar trebui să existe dacă conținutul de cupru în rația zilnică este mai mare de 2 mg/kg.

Conținutul de Cu în hrana păsărilor trebuie să fie de 8 - 10 mg / kg (NRC 1994).

Zincul este componentă a peste 300 de enzime și proteine care participă în toate procesele metabolice importante. Ca microelement esențial poate afecta funcțiile vitale atât prin carență cât și prin exces. Valorile de referință pentru zinc sugerate de diferite surse (WHO-1996) variază de la 9.4 la 11.0 mg/zi pentru bărbați adulți și de la 6.5 la 8.0 mg/zi pentru femei.

Manganul este unul din microelementele esențiale pentru plante, animale și oameni. El este atât constituent cât și activator a numeroase enzime și proteine, având peste 20 de funcții identificate. Crowley et al. (2000) a făcut o trecere în revistă a enzimelor și proteinelor ce conțin mangan ori sunt dependente de mangan, incluzând structura, funcțiile și distribuția lor. La om limita între carență și toxicitate este apropiată. Valorile recomandate pentru adulți variază între 2-5 mg Mn/zi (Schäfer, 2004).

În pofida slabei sale prezențe în organism (0,00005% din masa corporală), manganul este un element capital. Constituent al diferitelor sisteme enzimatice, reglator glandular important în creștere, activ în metabolismul zaharurilor, grăsimilor, proteinelor, el favorizează funcțiile ficatului și rinichilor, accelerează arderile, ajută la fixarea mineralelor, a fierului și a vitaminelor (Jianu și Dumbravă, 2001).

S-a crezut că, cerințele în **seleniu** ale păsărilor, în condiții fiziologice, sunt destul de mici variind de la 0.06 ppm la 0.2 ppm - NRC, 1994. Cerințele NRC ar putea fi crescute substanțial în condițiile de stress ale producției industriale a păsărilor (Surai, 2006).

Se pare, că o soluție optimă pentru nutriționiști este înlocuirea completă în rație a selenitului de sodiu cu seleniu organic (Sel-Plex). O analiză a datelor obținute în diferite țări arată că înlocuirea selenitului de sodiu cu seleniu organic (Sel-Plex), în rația broilerilor, îmbunătățește greutatea la sacrificare, consumul specific și calitatea cărnii.

În Brazilia, Arruda et al., 2004, a făcut cercetări pe 2400 broileri Ross de sex masculin. Utilizarea de 0.1 ppm Sel-Plex în combinație cu 0.2 ppm seleniu, sub formă de selenit de sodiu, a dus la îmbunătățirea sporului în greutate și a consumului specific, comparativ cu nivelul de 0.3 ppm asigurat prin selenit.

În Serbia, broilerii de găina au fost hrăniți de-a lungul întregii perioade de creștere cu nutreturi combinate cu adaos de seleniu organic sau cu seleniu anorganic. S-a demonstrat că seleniul organic mărește performanțele broilerilor (Stolic et al., 2002).

Numeroase experiențe au fost făcute pentru a stabili o legătură între seleniu și calitatea cărnii. Cercetările au fost focalizate către: peroxidarea lipidelor pe durata depozitării cărnii, concentrația de seleniu în mușchii pieptului și ai pulpei, capacitatea antioxidantă și pierderile de apă.

Concentrația de seleniu în mușchii pieptului la broileri a crescut mai mult decât dublu, când seleniul organic a înlocuit seleniul anorganic, în aceeași doză – 0.2 ppm (Krikova, 2003).

Se pare că efectul stabilizator al seleniului este legat de menținerea integrității membranei musculare (Edens, 2001).

Capacitatea cărnii de a lega și reține apa și culoarea sunt considerate printre cele mai importante caracteristici de calitate ale cărnii (Mahan and Kim, 1999). Adiția de seleniu organic în hrana puilor de găină (0,3 ppm prin Sel-Plex) a afectat semnificativ descreșterea pierderilor de apă în mușchii pieptului (Tomović, 2006).

Până în prezent au fost identificate, la mamifere, trei forme distincte ale superoxid dismutazei (Zelko et al., 2002). Superoxid dismutaza 1, sau **Cu, Zn - superoxid dismutaza**, a fost prima enzimă din această familie, fiind caracterizată de conținutul de cupru și zinc și fiind localizată exclusiv în spațiul citoplasmatic intracelular.

Al doilea membru al acestei familii, superoxid dismutaza 2, conține Mn ca și factor, de aceea fiind numită **Mn – SOD**. Este localizată exclusiv la nivelul matricei mitocondriale, locul primar al producerii radicalului superoxid (Haliwell and Gutteridge, 1999).

S-a descoperit și o formă extracelulară a superoxid dismutazei. Și în conținutul acesteia a fost notată prezența cuprului și a zincului.

Activitate 2. STUDII MULTIDISCIPLINARE PRIVIND PROPRIETĂȚILE FITOADITIVILOR DIN PLANTE MEDICINALE

Prezentăm, pe scurt, principalele componente cu rol important în asigurarea stării de sănătate a organismului animal/uman. În prezentarea acestora se face referire atât la capacitatea antioxidantă a principiilor active, cât și la alte modalități prin care este asigurată sănătatea organismului.

Componentele active ale plantelor medicinale acționează îndeosebi la nivelul secund al sistemului de apărare împotriva radicalilor liberi. Acesta include: carotenoide, polifenoli, vitaminele E, A și C, glutatation, etc.

2.1. Carotenoidele

Carotenoidele sunt **un grup de peste 600 pigmenți vegetali** care au culorile **galben, portocaliu și roșu**. Cel mai bine cunoscut carotenoid, ***b-carotenu***, **poate fi transformat în celulele mucoasei intestinale în două molecule identice de retinal (sau vitamina A)**. Majoritatea carotenoidelor nu pot fi transformate în vitamina A, de exemplu licopenul.

Până în prezent în serul uman au fost găsiți 34 de carotenoizi din cei găsiți în alimente.

Structura carotenoidelor (anexa 1a)

Carotenoidele găsite în serul uman au două caracteristici structurale comune:

- un sistem de 9 duble legături conjugate care este responsabil de absorbția luminii în vizibil pentru a da culoarea caracteristică a carotenoidelor;
- gruparea finală a carotenoidelor cu activitate de pro-vitamina A, cu cel puțin un inel nesubstituit de β -iononă la capătul catenei de duble legături conjugate.

Carotenoidele care nu sunt pro-vitamina A pot avea inele de β -iononă substituite (oxigenate) ca în luteină, inelul poate lipsi complet ca în licopen sau pot avea structuri cu duble legături alterate.

Izomerii geometrici ai carotenoizilor pot avea roluri biologice diferite. Majoritatea carotenoidelor naturale sunt în configurație lineară all-trans. Expunerea la lumină și/sau temperatură ridicată poate facilita izomerizarea uneia sau mai multor duble legături, de la forma trans- la forma cis-. Diferențele între izomerii prezenți în alimente și cei prezenți în ser sau țesuturile umane se pot datora unei **absorbții selective sau unei izomerizări in vivo**.

Absorbția intestinală a carotenoidelor din alimente este facilitată de formarea micelilor acizilor biliari, datorită lanțului hidrocarbonat al carotenoidelor care le conferă insolubilitate în apă. Ca și alte lipide nepolare, carotenoidele sunt solubilizate în tractul intestinal când se formează micelul.

Prezența grăsimilor în intestinul subțire stimulează secreția biliară și îmbunătățește absorbția carotenoidelor prin creșterea mărimii și stabilității micelilor, permițând astfel solubilizarea mai multor carotenoide.

Cele mai mari concentrații în serul uman le au β -carotenu, licopenul și luteina. Acestea predomină și în dietă. În afară de acestea în ser se mai găsesc în cantitate semnificativă și α -caroten, zeaxantina și criptoxantina (Boileau and all.1998).

Concentrația serică a carotenoidelor variază în limite foarte largi, în funcție de stilul de viață și de factori fiziologici (Brady and all.1996).

Concentrații serice mai scăzute de β -caroten, α -caroten, β -criptoxantină; luteină și zeaxantină dar nu și de licopen, au fost asociate în general cu sexul masculin, fumatul, vârsta mai tânără, colesterol HDL mai scăzut.

Medicamentele hiperlipemiante scad dramatic concentrația serică de carotenoide (Elinder and all.1995). Scăderea a fost atribuită reducerii absorbției intestinale a lipidelor și reducerii numărului și mărimii particulelor de lipoproteine.

Carotenoidele sunt prezente într-un număr de țesuturi care include țesutul adipos, ficatul, rinichii și glandele suprarenale. Cele mai mari cantități de carotenoide, raportate la greutate substanță umedă, se găsesc în ficat, suprarenale și testicule. În țesuturi concentrațiile cele mai mici le prezintă β -carotenu, licopenul și luteina, dar se mai găsesc și α -carotenul, zeaxantina și criptoxantina.

Se știe că diferiți factori influențează absorbția intestinală a carotenoidelor. Aceștia includ: efectele matricei alimentare, conținutul de fibre și de grăsimi al dietei, alți factori fiziologici (Parker 1997).

Studiile efectuate au demonstrat biodisponibilitatea superioară a comprimatelor hidrosolubile sau a altor surse purificate comparativ cu sursele alimentare pentru aceleași carotenoide.

Biodisponibilitatea carotenoidelor din alimente poate varia foarte mult. Carotenoidele din plante pot fi legate sub formă de carotenoproteine sau pot fi legate de matricea plantei.

Tratamentul termic (fierberea în aburi, coacerea) și procesul de conservare pot afecta în sens pozitiv ori negativ biodisponibilitatea carotenoidelor.

Efectul unei prelucrări termice blânde ca fierberea în aburi poate crește cantitatea de carotenoizi disponibili pentru absorbție. Acest proces denaturează proteinele, eliberând astfel mai multe carotenoide din matricea alimentelor decât sunt distruse prin tratamentul termic. Prin contrast, fierberea la temperaturi mai ridicate și perioade lungi de timp distruge un procent mult mai mare din carotenoidele din alimente și este dăunătoare.

Mare parte din studiile actuale asupra carotenoidelor se concentrează pe rolul lor ca **precursori ai vitaminei A**. Retinoidele sunt cunoscute pentru **capacitatea lor de a induce diferențierea celulară**, reducând astfel capacitatea multor tipuri de celule de a prolifera.

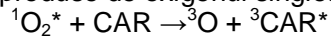
Unele din mecanismele propuse prin care β-carotenul și alte carotenoide pot să scadă riscul de cancer, include capacitatea de a capta oxigenul singlet și alte specii reactive. (Hirayama and all. 1994; Liebler 1993) reglarea pozitivă a comunicării intercelulare prin joncțiunile gap. (Stahl et al. 1997; Bertram 1993; Hanusch and all.1995) creșterea eficienței sistemului imun (Bendich 1989; Hughes and all.1997; Baker and Meydani, 1994) și inducerea enzimelor de detoxifiere (Astrog and all.1997; Gradelet and all. 1996).

Carotenoidele au fost implicate și în **protecția față de bolile cardiovasculare** (Jialal and all. 1991) degenerarea maculei (Handelman and all. 1998; Sedon and all. 1994) și au fost utilizate în tratamentul unor dereglări de fotosensibilitate.

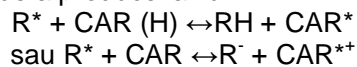
Licopenul este cel mai puternic captator biologic de oxigen singlet, și este capabil să stimuleze comunicarea prin joncțiunile gap " in vitro ". Formarea " in vivo " a produșilor de oxidare a licopenului poate modela unele din funcțiile de protecție ale licopenului (Khachik and all. 1995).

Carotenoidele **sunt cei mai puternici captatori biologici pentru oxigenul singlet**.
Eficiența cu care carotenoidele pot capta oxigenul singlet este legată direct de structura lor chimică. Deoarece captarea oxigenului singlet este reglată direct de lungimea lanțului polienic, licopenul pare să fie cel mai eficient carotenoid în captarea oxigenului singlet.

Astaxantina, β-carotenul și licopenul dar nu și cantaxantina protejează membranele celulelor limfoide umane de leziunile produse de oxigenul singlet (Tinkler and all. 1994).



A fost investigată și acțiunea carotenoidelor ca antioxidanți care întrerup reacția în lanț (Burton 1989). Ca o moleculă să fie un bun antioxidant prin întreruperea reacției în lanț, aceasta trebuie să fie capabilă să formeze un radical stabil prin donarea unui atom de hidrogen radicalului instabil capabil de a produce laziuni.



Reacția β-carotenului cu un radical lipidic determină formarea unui radical intermediar al β-carotenului centrat pe carbon. Această structură intermediară poate acționa ulterior în două moduri:

- 1) poate acționa ca prooxidant prin reacția cu oxigenul molecular
- 2) poate reacționa cu alt radical lipidic pentru a forma produși stabili.

Izomerii cis- ai carotenoidelor pot juca un rol în terminarea reacțiilor radicalice în lanț. Studii *in vivo* și *in vitro* au arătat că 9-cis β-carotenul este un captator mai bun al radicalilor liberi decât forma all-trans (Lavin and Mokady, 1994).

Carotenoidele și răspunsul imun

Multă vreme s-a crezut că obiceiurile alimentare influențează activitatea sistemului imun dar studii recente au demonstrat și mecanismele prin care nutrienții, inclusiv carotenoidele, modulează răspunsul imun. Un studiu al lui Hughes et al. furnizează informații asupra mecanismului prin care β -carotenul poate permite celulelor imune să acționeze mai eficient.

O serie de studii s-au axat pe carotenoidul astaxantină și efectele sale *in vitro* asupra unor parametri ai răspunsului imun. (Jyonouchi and all. 1994; Jyonouchi and all. 1995) În aceste studii s-a arătat că astaxantina este mai eficientă decât β -carotenul în stimularea răspunsului imun dependent de celulele T. De aceea efectele înregistrate nu par a fi mediate de conversia carotenoidelor la retinoide, deoarece astaxantina nu poate fi transformată în vitamina A.

Alte aspecte ale răspunsului imun care par a fi modulate de carotenoide includ creșterea activității celulelor "natural killer" la persoanele în vârstă (Santos and all. 1996) protecția celulelor imune față de producerea propriilor specii reactive cu acțiune bactericidă (Anderson and Theron, 1990) și creșterea leucocitelor totale și a raportului CD₄/CD₈ la subiecții infectați cu HIV (Coodley and all. 1993).

Câteva studii epidemiologice susțin rolul β -carotenului de **a preveni bolile cardiovasculare**. Deoarece carotenoidele sunt transportate în ser prin intermediul lipoproteinelor de mică densitate (LDL) și ele sunt buni neutralizatori ai speciilor reactive, a fost testat rolul lor în prevenirea oxidării LDL și astfel în reducerea riscului de boli cardiovasculare. Studiile *in vitro* asupra oxidării LDL au condus la rezultate echivoce.

Un studiu recent al lui Fuhrman și colab. sugerează că β -carotenul și licopenul pot scădea LDL colesterolul și pot regla pozitiv activitatea receptorului de LDL, independent de proprietățile lor antioxidante (Fuhrman and all. 1997).

Modularea enzimelor de metabolizare a xenobioticelor

Factorii alimentari modulează expresia și/sau activitatea enzimelor de fază I care adaugă un grup polar în molecula xenobioticelor. În multe cazuri din acest mecanism un procarcinogen este activat la un carcinogen. De obicei enzimele de fază II acționează apoi pentru a transforma xenobioticele în forme inactivate și mai ușor de excretat. Teoretic, creșterea activității enzimelor de fază II fără creșterea activității enzimelor de fază I ar permite eliminarea eficientă a xenobioticelor și scăderea riscului reprezentat de potențialii carcinogeni.

Degenerarea maculei legată de vârstă este cauza care conduce la orbirea oamenilor peste 65 de ani. Ea este rezultatul lezării retinei de către radicalii liberi mediată de lumina albastră (Gerstner, 1991).

Studiile epidemiologice au demonstrat existența unei relații între consumul de produse vegetale care conțin luteină și zeaxantină și diminuarea riscului de degenerare a maculei (Sedon and all., 1994).

2.2. Flavone și izoflavone

Flavonele (anexa 1b) sunt larg răspândite în alimentația umană în fructe și legume. **Izoflavonele sunt izomeri de structură ai flavonelor** și datorită acestei asemănări structurale aceste două clase de compuși sunt metabolizate în mod similar și de aceea pot avea efecte biologice asemănătoare.

Acțiunea lor antioxidantă se datorează prezenței grupărilor hidroxil de pe nucleul benzenic care funcționează ca donator de hidrogen în prezența unor oxidanți radicalici - R·, RO·, ROO· (Rice-Evans, 1997).

Izoflavonele și flavonele au acțiune **anticarcinogenă**, sunt **inhibitori ai tirozinkinazei și ai aromatazei**.

Studiile au demonstrat că izoflavonele acționează ca antioxidanți atât *in vitro* cât și *in vivo*. (Wei and all., 1993) Izoflavonele sunt inhibitori ai tirozinkinazei și ai topoizimerazei II (Okura and all., 1988). De asemenea s-au dovedit inhibitori ai angiogenezei (Fotsis and all., 1993). Toate aceste acțiuni pot sta și la baza efectului anticarcinogen al izoflavonelor.

Capacitatea izoflavonelor de a-și manifesta atât efectul anticarcinigen cât și celelalte efecte benefice asupra sănătății depinde de biodisponibilitatea lor.

Structura fenolică a izoflavonelor pare să determine în mare măsură disponibilitatea lor, deoarece astfel de grupări hidroxil sunt ușor metabolizate la conjugați glucuronici. Glucuronații izoflavonelor sunt excretați rapid în bilă și urină.

Excreția biliară pare să fie factorul limitant principal al concentrației de izoflavone disponibile sistemic care reprezintă proporția din doza totală care ajunge în circulația sistemică.

S-au făcut puține studii pe modele animale privind biodisponibilitatea izoflavonelor. Un studiu al farmacocineticii genisteinei pe șoareci a arătat că aproximativ 12% din genisteina administrată oral a fost excretată în urină, iar genisteina a fost rapid eliminată din sânge (Supko and Malspeis, 1995).

Flavonoidele și izoflavonoidele **pot fi degradate de microflora intestinală** în special de tulpinile de *Clostridium*, *Butyrivibrio* și *Eubacterium*. Genisteina este mai susceptibilă la scindarea inelului carbonic datorită grupării – OH de la C₅.

Genisteina s-a dovedit a fi inhibitor al unor tirozinproteinkinaze și al topoizomerazei II. De asemenea, a dovedit **activitate antioxidantă**, activitate estrogenică și efecte antiproliferative și anticancerigene (Polkowski and all., 2000).

Genisteina și equolul funcționează ca antioxidanți, prevenind lezionarea oxidativă a ADN indusă de H₂O₂. Acțiunea antioxidantă preventivă s-a manifestat la concentrații ale izoflavonelor aflate în limite fiziologice (Sierens and all., 2001).

O parte din complicațiile diabetului, de exemplu ateroscleroza, par să se datoreze stresului oxidativ generat de hiperglicemie, prin autooxidarea glucozei și prin produșii de glicare avansată. Este cunoscut rolul oxidării LDL în aterogeneză iar oxidanții generați de glucoză pot peroxida LDL. Genisteina, dar nu și daidzeina a prevenit eficient oxidarea LDL mediată de glucoză (Exner and all., 2001). **Efectul de inhibare a oxidării LDL este intensificat de prezența acidului ascorbic. Această sinergie**, combinată cu reactivitatea scăzută a fitoestrogenilor la radicalii peroxil, sugerează că efectul antioxidant nu se bazează numai pe neutralizarea radicalilor liberi (Hwang and all., 2000).

Măsurarea nivelelor plasmatiche de malodialdehidă, indicator al statusului oxidativ al organismului, a relevat o protecție eficientă realizată de crisină, quercetină, genisteină înoptriva stresului oxidativ indus de 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5β]piridină.

Alt mecanism posibil este capacitatea lor de a stabili membranele prin scăderea fluidității membranare. Acesta conduce la o restricționare a difuziei radicalilor liberi și la o scădere a cineticii reacțiilor radicalilor liberi (Arora and all., 2000).

Genisteina poate induce expresia metalotioneinei într-o manieră timp – și doză dependentă (10 – 100 μM și are un efect sinergic cu zincul în concentrație de 30 μM (Kuo and Leavitt, 1999).

Unii compuși flavonoidici (genisteina, biocamina A, daidzeina și kempferolul) își exercită acțiunea antioxidantă nu numai prin neutralizarea radicalilor liberi ci și prin modularea expresiei genice a unor proteine antioxidante. Tratamentul celulelor Caco-2 din intestinul uman cu 100 μM de genisteină, biocanină A, daidzeină sau kempferol a condus la o creștere de până la 15 ori a ARNm pentru metalotioneină, proteină cu acțiune antioxidantă.

Genisteina atenuează proliferarea celulelor normale și a celor tumorale stimulată de factorii de creștere și de citokine.

2.3. Vitamina E

Vitamina E este un antioxidant primar care întrerupe propagarea reacțiilor radicalilor liberi în organism (Burton and all., 1983). Ea nu poate fi sintetizată în organismul uman, de aceea trebuie furnizată prin alimentație și suplimente.

Termenul de vitamina E se referă de fapt la 8 compuși înrudiți. În natură, moleculele care au activitate de vitamina E includ două grupe de compuși lipo-solubili foarte înrudiți, tocoferoli și tocotrienoli. Membrii fiecărui grup sunt desemnați prin α, β, γ sau δ, în funcție de numărul și poziția grupărilor metil atașate la inelul cromanol (anexa1b).

Numeroase studii au arătat că RRR- α -tocoferolul, dar și RRR- β -tocoferolul, inhibă proliferarea celulelor musculare netede vasculare la șobolani și oameni la concentrații fiziologice. Eficiența de neutralizare a radicalilor liberi a ambilor omologi este foarte asemănătoare (Kaiser and all., 1990).

Aparent cantitatea de vitamină E necesară la adulții sănătoși pentru a preveni deficiențele nutriționale este foarte mică (10-40 mg/zi). (Webwe and all., 1997) Totuși pe perioade lungi pot apărea efecte ale aportului neadecvat de vitamină E și acestea au fost legate de boli degenerative ca ateroscleroza (Davey and all., 1998) și de cancerul de prostată (Heininen and all., 1998).

Rolul major al α -tocoferolului nu este acțiunea sa de antioxidant prin prevenirea oxidării LDL, ci prin reglarea negativă (down regulation) receptorului scavenger conducând la o scădere a preluării LDL oxidat (Ricciarelli and all., 2000).

Vitamina E joacă un rol semnificativ în sănătatea omului pe toată perioada vieții. Nivelele sanguine de α -tocoferol cresc cu vârsta, chiar dacă sunt corelate cu valorile crescătoare ale colesterolului (Ford and all. 1999).

Datele epidemiologice acumulate în ultimii 10 ani au arătat o relație inversă între aportul de vitamină E și incidența bolilor cronice (Rimm and all., 1993).

Alte studii susțin efectele benefice ale suplimentării cu vitamină E în diabet, (Davi and all., 1999) cataractă, (Ouhainen and all., 1996), boala Alzheimer, (Sano and all., 1997) și afectarea funcției imune (Meydani and all., 1997).

2.4. Vitamina C

Acidul ascorbic (anexa 1b) este necesar pentru sinteza colagenului, favorizează absorbția fierului, promovează streoidogeneza și acționează ca antioxidant. Vitamina C (sau acidul L-ascorbic) **este considerată cel mai important antioxidant din lichidele extracelulare** și are multe acțiuni, inclusiv ca antioxidant. S-a demonstrat că vitamina C **neutralizează eficient superoxidul H_2O_2 , HClO, radicalii hidroxil și peroxil și oxigenul singlet.**

Într-un studiu pe lipidele din plasmă umană s-a observat că vitamina C este mult mai eficientă în inhibarea peroxidării lipidelor inițiată de radicalii peroxil decât alți componenți plasmatici cum ar fi tiolii proteici, acidul uric, bilirubină și α -tocoferolul.

Prin neutralizarea eficientă a radicalilor peroxil în faza apoasă, înainte ca ei să poată iniția peroxidarea lipidelor, acidul ascorbic poate proteja biomembranele împotriva leziunilor oxidative.

Acidul ascorbic poate proteja membranele față de peroxidare și prin **creșterea activității a-tocoferolului** (Sies and Stahl, 1995).

Biodisponibilitatea vitaminei C este afectată de administrarea concomitentă de aspirină, aceasta scăzând absorbția intestinală a vitaminei C (Basu, 1982).

2.5. Alți fitoaditivi

a. Coenzima Q

Coenzima Q (CoQ) sau ubiquinona are în structură un inel chinonic legat de un lanț izoprenic (anexa 1c). CoQ este liposolubilă dar devine amfifilă în procesul de translocare a electronilor și protonilor. Numărul unităților izoprenice din lanțul lateral variază cu specia. CoQ umană are 10 unități izoprenice și de aceea este denumită CoQ₁₀.

CoQ se găsește în țesuturile animale și vegetale. La om se găsește în cantități mai mari în inimă, ficat, rinichi și pancreas. Este concentrată în mitocondrii, aparatul golgi, lizozomi și în toate membranele plasmatică.

Cele **două funcții majore** ale CoQ sunt cea **de producere a bioenergiei** și cea **de antioxidant**. CoQ are un rol vital în producerea de energie prin oxidarea glucozei în mitocondrii, cuplând transferul și translocarea e^- cu translocarea protonilor prin membrana mitocondrială. Ca donor de e^- , CoQ are și proprietăți antioxidante. Cele două funcții pot fi cuplate deoarece radicalii liberi sunt produși în mitocondrie în procesul de respirație.

CoQ este concentrată în miocard și s-a sugerat că este esențială pentru funcționarea normală a inimii. Un număr de studii clinice au indicat rolul CoQ în îmbunătățirea funcționării inimii și a capacității de efort.

CoQ se pare că stimulează **sistemul imun** atât la persoanele sănătoase cât și la cele deficiente. SIDA este asociată cu o depresie semnificativă a nivelurilor de CoQ. Persoanele HIV – pozitive fără simptome au nivele normale care scad pe măsura evoluției spre SIDA.

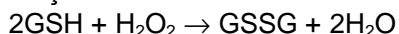
Recent s-a propus ipoteza că bolile **degenerative ale creierului** ca Alzheimer, Parkinson și Huntington sunt legate de defecte mitocondriale și în special ale sistemului citocrom oxidazei (Davis and all., 1997). Aceste trei boli pot fi caracterizate ca "boli ale bioenergiei". Studii preliminare au sugerat că suplimentarea cu CoQ sau vitamina E poate ajuta la încetinirea evoluției acestor boli (Koroshetz and all., 1997).

b. Glutathionul (GSH)

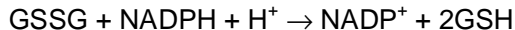
Glutathionul este o **tripeptidă** compusă din cisteină, acid glutamic și glicină (Anexa 1c). Gruparea sa activă este **tiolul** cisteinei. Prin oxidare se formează un dimer legat printr-o punte disulfidică. **GSH și enzimele asociate lui (GPx, GR, GST) se găsesc practic în toate țesuturile plantelor și animalelor.** La om nivelele cele mai înalte se găsesc în ficat, cristalîn, pancreas, splină și rinichi. Spre deosebire de vitamine, GSH poate fi sintetizat intracelular prin câteva reacții enzimatiche, iar nivelele tisulare de GSH sunt supuse unei reglări foarte strânse.

Rolul GSH pentru sănătate și în patologie este **dublu**, ca **antioxidant** și **în detoxifierea xenobioticelor cu potențial toxic.**

GSH acționează ca antioxidant prin participarea la sistemul enzimatic ce conține GSH-oxidază și reductaza. GSH peroxidaza, enzima **Se-dependentă**, îndepărtează H₂O₂ produsă de superoxid dismutază citosolică și mitocondrială.



Reducerea GSSG se realizează cu ajutorul GSH reductazei, enzimă ce are drept cofactor NADPH.



Raportul între GSSG / GSH este utilizat ca o măsură a stresului oxidativ.

GSH **poate funcționa ca antioxidant și independent de enzime**, donând un atom de H pentru repararea ADN lezat.

GSH **este un component al sistemului de detoxifiere**, separat de citP450, metabolizând compușii toxici la forme inactive sau mai puțin nocive. Conjugarea cu GSH este catalizată de glutathion-transferază.

GSH din alimente este doar parțial absorbit deoarece este în mare parte hidrolizat de peptidaze. Totuși, **dieta este un factor important pentru statusul GSH deoarece furnizează cofactori importanți, ca Se, Mn, Zn și** aminoacizii ce conțin S.

Activitate 3. ALEGEREA PLANTELOR MEDICINALE CARE VOR FI STUDIAȚE ÎN COMBINAȚIE CU MICROELEMENTELE

În anexa 2 sunt prezentate un număr de 33 plante medicinale, pentru fiecare dintre acestea fiind subliniate principiile active și evidențindu-se regiunea anatomică folosită în experiment.

Pentru fiecare din aceste plante medicinale s-au determinat capacitatea antioxidantă și conținutul în principalele microelemente. Pe baza rezultatelor obținute s-au făcut clusterizări, așa cum se arată la obiectivul 2, clusterizări care au permis apoi obținerea combinațiilor de plante care vor fi studiate în continuare.

BIBLIOGRAFIE – Anexa 3