

ANTIOKSIDANTNA SVOJSTVA SURUTKE I NJENA PRIMENA U ZAŠTITI JETRE

AUTORI

Radić Ivan
Medicinski fakultet Univerziteta u Prištini, Kosovska Mitrovica, Srbija

KORESPONDENT

IVAN RADIĆ
Medicinski fakultet Priština,
Kosovska Mitrovica, Srbija
✉ iradicn@yahoo.co.uk

SAŽETAK

Oksidativni stres predstavlja stanje u kome postoji neravnoteža između stvaranja slobodnih radikala i njihovog uklanjanja. Mnogi faktori rizika, uključujući alkohol, lekove, zagađivače životne sredine, radijaciju, infektivne agense, mogu indukovati oksidativni stres u jetri koji dovodi do poremećaja funkcije jetrinih ćelija. U cilju smanjenja oksidativnog stresa, moderna medicina se ponovo vraća supstancama iz prirode, koje sve više postaju popularne kako u prevenciji tako i u terapiji mnogih bolesti. Brojne hepatoprotektivne supstance kao što su silimarin, spirulina, tikvino ulje i surutka se koriste u tradicionalnoj ishrani mnogih naroda. U nekim eksperimentalnim studijama na životinjama kao i praćenjem efekata kod primene na ljudima, surutka se pokazala kao značajan antioksidans u lečenju bolesti jetre. Nova saznanja dobijena na osnovu kontrolisanih eksperimentalnih i kliničkih studija o njenim efektima u smislu protekcije ili saniranja već nastalih promena na jetrinom tkivu, doprinose svakako i konkretnijem definisanju mogućnosti potencijalne primene u terapijskim postupcima, bilo kao suplementa ili izdavanjem konkretnih lekovitih sastojaka.

Ključne reči: surutka, oksidativni stres, jetra

UVOD

OKSIDATIVNI STRES

Oksidativni se može definisati kao disbalans između prooksidanasa i antioksidanasa. U normalnim okolnostima, fiziološki važni intracelularni nivoi slobodnih radikala se održavaju na niskim vrednostima raznim enzimskim sistemima koji učestvuju u homeostazi [1]. Slobodni radikali su atomi ili molekuli koji imaju nesparene elektrone i često su nestabilni i veoma reaktivni [2]. U biološkom sistemu postoje kiseonične i azotne reaktivne vrste (ROS- reactive oxygene species) i (RNS- reactive nitrogen species) [2]. Kiseonični slobodni radikali, kao što su superoksid i hidroksi radikal su kiseoničke reaktivne vrste i stvaraju se u metaboličkim procesima [3]. U reaktivne azotne vrste spadaju azot dioksid, azot oksid - radikali, i peroksinitriti koji nastaju u procesu sinteze azot oksida pomoću inducibilne azot oksid sintetaze (iNOS- inducible nitric oxide synthase) i nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH- nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) oksidaze [3]. Slobodni radikali su aktivni u fiziološkim i patofiziološkim procesima, a odgovorni su za sintezu prostaglandina, fagocitozu i reakcije hidroksilacije [2]. Zbog svojih specifičnih hemijskih karakteristika, ROS/RNS dovode do oštećenja makromolekula, kao što su proteini, nukleinske kiseline i lipidi i pokreću lipidnu peroksidaciju. Lipidna peroksidacija je proces u kojem slobodni radikali oštećuju polinezasićene masne kiseline ćelijskih membrana i pritom stvaraju veoma destruktivne radikale polinezasićenih masnih kiselina, kao što su lipidni hidroperoksi radikali i hidroperoksidi [4].

U fiziološkim uslovima stvoreni slobodni radikali se neutrališu delovanjem antioksidativnog sistema, koji po svojoj prirodi može biti enzimski i neenzimski [5].

Zbog specifične uloge koju ima u procesima detoksikacije, kao i u metabolizmu belančevina, masti i ugljenih hidrata, jetra pokazuje povećanu osetljivost na slobodne radikale i predstavlja jedno od glavnih mesta njihovog dejstva [6]. Mnogi citokini, kao što je faktor nekroze tumora (TNF-alfa- tumor necrosis factor alpha), se produkuju od strane Kupferovih ćelija kao posledica uticaja produkata oksidativnog stresa i dovode do inflamacije i apoptoze, takođe, kao posledica lipidne peroksidacije dolazi do proliferacije zvezdastih (Ito) hepatičkih ćelija i povećane sinteze kolagena. Kada je produkcija slobodnih radikala povećana homeostaza će se poremetiti i rezultovaće povećanjem oksidativnog stresa, koji igra važnu ulogu u pojavi bolesti jetre i drugih degenerativnih oboljenja [7]. Oksidativni stres ne učestvuje samo u oštećenju hepatocita tako što dovodi do destrukcije molekula lipida, DNK (dezoksiribonukleinska kiselina), i proteina, već učestvuje u poremećaju puteva koji imaju važnu ulogu u kontroli bioloških procesa. Kako ovi putevi regulišu transkripciju gena, ekspersiju proteina, apoptozu, aktivaciju zvezdastih (Ito) ćelija, oksidativni stres se smatra patološkim mehanizmom koji doprinosi inicijaciji i progresiji različitih bolesti jetre, kao što su hronični virusni hepatitis, alkoholna bolest jetre i nealkoholni steatohepatitis [8, 9].

Enzimski i ne-enzimski sistemi antioksidativne odbrane su esencijalni u ćelijskom odgovoru na oksidativni stres. Ključna uloga antioksidativnih enzima ogleda se u regulaciji količine redukovano oblika kiseonika [2]. An-

tioksidantni enzimi kao što su katalaza (CAT- catalase), superoksid-dizmutaza (SOD -superoxide-dismutase), glutathion peroksidaza (GSH-Px- glutathione peroxidase) i neenzimski akceptor elektrona kao što je glutathion (GSH- glutathione) su važni parametri antioksidativne odbrane i njihova aktivnost je bitna za procenu nivoa oksidativnog stresa [10].

Imajući u vidu ulogu oksidativnog stresa u lancu nastanka bolesti jetre, različiti antioksidansi su predlagani u prevenciji i lečenju bolesti jetre [7, 10]. Serije studija, izvedene in vivo i in vitro na animalnim modelima bavile su se procenjivanjem efikasnosti različitih antioksidanata u terapiji pacijenata sa različitim bolestima jetre [3].

U tretmanu bolesti jetre, pozitivne efekte pokazali su i vitamin E i C, mitokinin, N- acetilcistein, silimarin, silibinin. Vitamin C i mokraćna kiselina su važni antioksidansi i deluju tako što smanjuju reaktivnost slobodnih radikala i blokiraju reakcije u kojima se oni stvaraju [11]. Kao značajan antioksidans, askorbinska kiselina ima važnu ulogu u prevenciji i ublažavanju posledica oksidacionog stresa [12]. Prirodni antioksidansi prisutni su u mnogim namirnicama kao što su cerealijske, voće, povrće i čajevi [3]. U tradicionalnoj ishrani mnogih naroda, prisutne su brojne hepatoprotektivne supstance, koje još uvek nisu dovoljno eksperimentalno ispitane, tako da ne znamo da li su zaista efiksne ili je to tradicionalna zabluda. Cilj ovog rada je da se na osnovu objavljenih eksperimentalnih i kliničkih studija proceni antioksidantno i protektivno delovanje surutke na oksidaciona oštećenja jetre.

SURUTKA

Surutka je providni tečni deo mleka koji ostaje tokom procesa pravljenja sira. Surutka čini 20% proteina mleka, a 80 % otpada na kazein [13]. U novijim istraživanjima nalazimo da je surutka bogata aminokiselinama kao što su leucin, izoleucin i Valerijanska amonijska kiselina [14]. Ove aminokiseline imaju pozitivne efekte, uključujući supresiju apetita, čime se postiže i značajan gubitak telesne mase. Leucin npr. može da stimuliše hipotalamus da produkuje receptore pokrenute rapamicinom, koji dovode do smanjene potrebe za unošenjem hrane [15]. Proteini surutke imaju antioksidativne efekte i dovode do regulacije nivoa lipida u krvi, a koriste se i u tretmanu nealkoholne masne bolesti jetre [16, 17]. Surutka sve više postaje popularni dijetetski suplement, koji zbog svojih bioloških sastojaka, kao što su: laktoferin, beta laktoglobulin, alfa-laktalbumin, glukomakropeptid imunoglobulini, laktoza, vitamini i minerali, pokazuje niz svojstava koji podstiču imunitet.

Istraživanja pokazuju da surutka takođe ima sposobnost da deluje kao antihipertenzivni, antitumorski, antiviralni, antibakterijski i reparativni faktor. Aktivni polipeptidi i bioaktivne sekvence aminokiselina, koji nastaju degradacijom proteina surutke igraju važnu ulogu u raznovrsnosti njihovih fizioloških funkcija [18, 19]. Koncentrat proteina surutke, izolat proteina surutke, surutka sa smanjenom laktozom, demineralizovana surutka i hidrolizovana surutka su danas dostupne komercijalno.

EFEKTI SURUTKE NA JETRU

Broj studija, koje su se bavile istraživanjem uticaja surutke na poremećene regulatorne sposobnosti jetre i drugih organa nije toliko zastupljen u literaturi. U jednoj

naučnoj studiji ispitivan je hepatoprotektivan efekat proteina surutke na miševima kojima su hronično konzumirali etanol da bi se izazvalo oštećenje jetre. Fermentovana tečnost proteina surutke pripremljena je inokulacijom 4% (vol/vol) bakterija *Lactobacillus Casei*, inkubirana osam sati na 41°C, pa data oralno u tri doze tokom pet nedelja. Uočeno je da hronični dnevni unos surutke dovodi do značajnog smanjenja nivoa alanin i aspartat aminotransferaza (AST- aspartate aminotransferase) i (ALT- alanine aminotransferase), koji su povećani dejstvom etanola, inače bitnih biohemijskih pokazatelja oštećenja hepatocita. Sugerise se da surutka ima protektivni efekat na jetru tako što inhibiše povećanje aktivnosti aminotransferaza u serumu, i štiti ćelijske i mitohondrijalne membrane hepatocita od oštećenja. Pored alanin i aspartat aminotransferaze koji su pokazatelji oštećenja jetre, u ovoj studiji mereni su takođe nivoi antioksidativnih enzima, a uočeno je da aktivnost hepatičke superoksid dizmutaze (SOD), glutathiona (GSH), i glutathion peroksidaze (GPx) kod miševa sa alkoholnom bolešću jetre (ALD- alcoholic liver disease) značajno redukovana u poređenju sa kontrolnom grupom. Međutim, aktivnost SOD-a, GSH-a i GPx-a u svim grupama koje su tretirane proteinima surutke je značajno povećana i ovi rezultati nam ukazuju da proteini surutke povećavaju antioksidativnu odbranu i smanjuju lipidnu peroksidaciju. Alkohol konvertuje enzim ksantin dehidrogenazu (XDH- xanthine dehydrogenase) u formu kasantin oksidaze (XOD- xanthine oxidase), koja pak podstiče sintezu reaktivnih kiseoničnih vrsta [20]. Ova povećana sinteza ROS svakako može uticati na smanjenje aktivnosti nivoa antioksidativnih enzima. Kao značajan faktor u detoksikaciji i metaboličkim procesima u jetri, citohrom p450E1 pokazivao je povećanje u ekspresiji nakon konzumiranja alkohola i doveo do povećanja oksidativnog stresa. Takođe, povišena vrednost citohroma p450E1 u Kupferovim ćelijama jetre izaziva povećanu osetljivost hepatocita na endotoksin i pojavu imunog odgovora sa posledičnom apoptozom. Surutka je izazvala inhibiciju u ekspresiji citohroma p450E1, što nam pokazuje na značaj merenja nivoa ovog pokazatelja pri proceni oksidativnog stresa u jetri [13].

U studiji efekta proteina surutke na nealkoholnu bolest jetre pacova [21], uočeno je da kod grupe pacova koji su tretirani alfa-laktalbuminom (0.15g/dan u trajanju od 28 dana) zabeležen najveći pad holesterola u odnosu na ostale grupe (izolat proteina surutke (WPI- whey proteine isolate), hidrolizat proteina surutke (WPH- whey proteine hydrolysate), beta-laktoglobulin (beta LG- beta-lactoglobulin) glikomakropeptid (GMP- glycomacropeptide) [21]. Svi proteini surutke testirani u ovoj studiji doveli su do značajnog pada sadržaja triglicerida u jetri, a najveći pad izazvao je hidrolizat proteina surutke WPH [21]. Pored triglicerida, oralno uzimanje proteina surutke dovelo je do pada alanin i aspartat aminotransferaze. Najniža vrednost ALT-a zabeležena je kod primene alfa laktalbumina, dok je najniža vrednost AST-a zabeležena kod primene izolata proteina surutke WPI [21]. Hranjenje pacova proteinima surutke dovelo je do smanjenja nivoa malondialdehida (MDA- malondialdehyde) ($P < 0.05$), značajnog pokazatelja lipidne peroksidacije. Oralna administracija WPI, WPH i beta LG u dozi od 0.15g/dan u trajanju od 28 dana dovela je do značajnog ($P < 0.05$) povećanja nivoa glutathiona (GSH), koji je neenzimski protektor od oksidativnog stresa [21].

U studijama koje su sprovedene na ljudima uočeno je da kod pacijenata sa masnom jetrom, nakon 12 nedelja korišćenja kolostruma koji je bogat proteinima surutke, dovodi do značajnog smanjenja nivoa AST-a i ALT-a [22].

U Studiji efekta proteina surutke na oštećenje jetre izazvanim ugljenik tetrahloridom (CCl₄) u dozi 100 mg/kg telesne mase u trajanju od 30 dana [23], rezultati pokazuju da CCl₄ izaziva značajno povećanje aktivnosti ALT-a, AST-a i alkalne fosfataze (ALP- alkaline phosphatase), kao i povećanje nivoa holesterola. Nakon oralne primene proteina surutke, u dozi od 0.5 ml/danu u trajanju od 30 dana došlo je do povećanja totalnog antioksidativnog kapaciteta (TAC- total antioxidative capacity), koji je praćen padom u nivou malondialdehida ($P < 0.05$). Ovi rezultati nam sugerišu da je cistein iz surutke odgovoran za povećanje TAC-a, tako što povećava sintezu GSH-a. Mnogi proteini surutke su bogati cisteinom uključujući alfa-laktalbumin, beta- laktoglobulin i goveđi serumski albumin. Poznato je da cistein dovodi do regulacije nivoa GSH-a in vivo. Suplementacija proteinima surutke bogatih cisteinom stimuliše produkciju GSH-a i dovodi do smanjenja malondialdehida. Iz ove studije zaključujemo da je jedan od mehanizama kojim proteini surutke smanjuju oksidativni stres upravo povećanje nivoa glutathiona [23]. U ovoj studiji, in vitro, procenjavani su efekti uklanjanja superoksid slobodnih radikala primenom Spiruline i koncentrata proteina surutke u DPPH radikal esej (DPPH- diphenyl-1-picrylhydrazyl). Spirulina platensis je plavo-zelena alga koja je u raznim studijama pokazala stimulativni efekat na imuni sistem, antikancerogeni efekat kao i uticaj na smanjenje nivoa holesterola u krvi. Ovaj esej se koristi za procenu antioksidativnog efekta tako što u reakciji sa antioksidansom, DPPH koji je inače tamnoljubičaste boje menja boju u žutu. Diskoloracija ovog molekula omogućava procenu efekta uklanjanja slobodnih radikala antioksidativnim agensima. U grupi pacova tretiranih spirulinom i surutkom zabeležen je efekat uklanjanja slobodnih radikala i to najviše u grupi pacova koji su konzumirali spirulinu, zatim u grupi koji su konzumirali spirulinu i koncentrat proteina surutke, a potom u grupi koji su konzumirali samo koncentrat proteina surutke. Međutim, in vivo studija nam pokazuje da je grupa gde je korišćena kombinacija spiruline i koncentrata proteina surutke pokazala promene u markerima oksidativnog oštećenja, enzimima jetre, i histopatološkoj slici, sa uočenim poboljšanjem nakon oštećenja izazvanim ugljenik-tetrahloridom (CCl₄). Grupa koja je hranjena samo spirulinom nije pokazala poboljšanje u navedenim promenama, u odnosu na prethodno pomenutu grupu [23].

U studiji efekta proteina surutke na hepatotoksičnost izazvanom dejstvom alkohola i paracetamola u dozi od 500 mg/kg paracetamola i 5 ml/kg alkohola, u trajanju od dve i četiri nedelje [24], uočeno je da oralna primena proteina surutke 100 i 200 mg/kg u trajanju od dve i četiri nedelje dovodi do smanjenja lipidne peroksidacije kod pacova. Lipidna peroksidacija dovodi do generisanja nuz - produkata, koji su uključeni u aktivaciju inflamatornog odgovora i oštećenja ćelije, tako da protektivni efekat proteina surutke (alfa laktalbumina (α -LA) i beta laktoglobulina (β -LG)) na oksidativni stres može da smanji i inflamaciju [21]. Proteini surutke mogu da modeluju ekspresiju enzima uključenih u sintezu GSH, kao što je gama - glutamil cistein sintetaza (gama-GCS), za koji se veruje da je ključan enzim u sintezi GSH [25,

26]. Neki preliminarni podaci pokazuju da se u bazalnim uslovima, kod pacova koji su hranjeni proteinima surutke, uočava umereno smanjena ekspresija teške sub-jedinice gama-GCS (gGCS-HS) (do 20%). Ovo smanjenje može biti rezultat povećanog nivoa GSH-a, kao posledica visokog unosa cisteina. Novo uravnoteženo stanje može se postići kod pacova koji su hranjeni proteinima surutke, gde su viši nivoi cisteina i GSH praćeni blago redukovanim nivoima gGCS-HS [24]. Uprkos potentnom dejstvu izolata proteina surutke alfa-laktalbumina i beta-laktoglobulina na oksidativni stres indukovani alkoholom i poboljšanjima kod oštećenja jetre, mogućnost njihove kliničke primene i dalje zahteva dodatna ispitivanja [24].

U jednoj studiji sprovedenoj na pacovima, procenjivala se efikasnost produkata proteina surutke alfa-10 i beta laktoglobulina (LAC i beta-LG) i njihove kombinacije sa L-metioninom u supresiji i prevenciji tioacetamidom (TAA) indukovane hepatičke fibroze [27]. Fibroza jetre bila je indukovana intraperitonealnim injekcijama tioacetamida (TAA) u dozi od 100 mg/kg dva puta sedmično u trajanju od sedam nedelja, a istovremeno je davano LAC i beta-LG oralno u dve doze (100 i 200 mg/kg) i njihova kombinacija sa L-metioninom. TAA je izazvao stvaranje kiseoničnih reaktivnih vrsta (ROS), promene u nivoima biomarkera oksidativnog stresa kao što je redukovani glutathion, produkti hepatičke lipidne peroksidacije izražene kroz nivo malondialdehida, nivoa hepatičkog azot (II) oksida (NO), kao i hepatičke superoksid dismutaze (SOD). Ovi pokazatelji su se ispitivali radi otkrivanja izazvane hepatičke fibroze i procene antioksidativnih efekata produkata proteina surutke i njihove kombinacije sa L- metioninom. Radi procene oštećenja hepatocita izazvanim TAA i mogućim terapijskim efektima proteina surutke i njihove kombinacije koristili su se i testovi funkcije jetre kao što su ALT, AST, ukupni bilirubin u serumu, alkalna fosfataza. Radi procene morfoloških pokazatelja fibroze jetre kao i procene efekta primenjenih agenasa, rađena je histopatološka analiza tkiva jetre. Rezultati ove studije nam pokazuju da istovremena primena TAA (100 mg/kg) i LAC i beta- LG (100 mg/kg) i njihova kombinacija u dozi od (50 mg/kg) sa L- metioninom (40 mg/kg) dovodi do redukcije depolimerizacije glutathiona koji se u tretiranim grupama održava blizu normalnog nivoa. Nivo MDA opada u odnosu na TAA- intoksikovanu grupu. Nivo NO se održao u normalnom rasponu kod grupe gde su primenjeni proteini surutke sami i u kombinaciji sa L- metioninom. Hepatička aktivnost antioksidativnog enzima SOD povećana je u svim tretiranim grupama. Enzimi značajni za procenu oštećenja hepatocita pokazali su da u svim grupama tretiranim proteinima surutke nivo ALT-a se zadržao u normalnom rasponu izuzev u grupi gde se davao samo beta-LG, gde je nivo ALT-a bio povišen, ali i dalje niži u odnosu na grupu intoksikovanu tioacetamidom (TAA). AST je u svim grupama održan u normalnom opsegu izuzev u grupi sa TAA. ALP je pokazao normalne vrednosti u svim tretiranim grupama. Histopatološki nalazi su pokazali da je kombinacija LAC, beta- LG i L- metionina najbolje predupredila razvoj fibroze u odnosu na ostale grupe. U ovoj studiji se zaključuje da navedeni proteini surutke imaju protektivan efekat na razvoj fibroze jetre kada se primene samostalno, međutim njihov efekat je mnogo izraženiji kada se primene u kombinaciji sa L- metioninom [27].

Hepatoprotektivni efekti proteina surutke ispitivani su i kod pacova kojima je galaktozaminom izazivan raz-

voj fibroze jetre. Nakon dve injekcije d-galaktozamina 300mg/kg, i.p.[28] pacovi su hranjeni modifikovanom dijetom koja je podrazumevala kazein 20g/100g, kukuruzni skrob 56.07g/100g, sukroza 10g/100g, sojino ulje 4g/100g, celuloza 5g/100g, mineralni miks (AIN-93) 3.5g/100g, vitaminski miks (AIN-93) 1g/100g, L-cistin 0.18g/100g, holin bitartrat 0.25g/100g. Životinje su podeljene u dve grupe gde je u jednoj korišćena veća količina proteina surutke, a u drugoj veća količina kazeina u trajanju od 16 dana. Dijeta sa proteinima surutke jasno smanjuje povećanje aktivnosti AST, ALT, LDH i bilirubina koji su markeri hepatitisa i hijaluronske kiseline koja je marker fibroze. Proteini surutke su uticali na smanjenje histopatoloških znakova portalne skleroze, proliferacije bilijarnih kanala i perivenularne skleroze. Merenje nivoa TNF-alfa, IL-1-beta, i IL-6 nakon druge injekcije d-galaktozamina pokazalo je povećanje njihove aktivnosti. Ovo povećanje može da nastane tako što galaktozamin aktivira endotoksine kao što su lipopolisaharidi, koji dovode do indukcije Kupferovih ćelija i makrofaga na proizvodnju pomenutih citokina. Nakon primenjene dijetе sa proteinima surutke, došlo je do smanjenja ovih citokina. U ovom istraživanju zaključeno je da proteini surutke mogu da deluju preventivno na razvoj hepatitisa i portalne skleroze [28].

Proteini surutke pokazali su značajne efekte na hepatotoksičnost izazvanu istovremenom primenom ugljenik-tetrahlorida (CCl₄) i fluvastatina[29]. Hepatotoksičnost je u ovoj studiji izazvana fluvastatinom u dozi od 4 or 8 mg/kg, p.o. i CCl₄ 0.8 mg/kg, i.p, dva puta nedeljno u trajanju od 30 dana. Silimarin (50mg/kg, p.o.) ili proteini surutke (100, 200 mg/kg, p.o.) davani su takođe trideset dana. Hepatotoksičnost je procenjena alteracijom ALT-a, AST-a, ukupnih triglicerida (TG- triglycerides), ukupnog holesterola (TC- total cholesterol) kao i alteracijom malondialdehida (MDA) u jetri, azot oksida (NO), redukovano glutaciona (GSH), totalnog antioksidativnog kapaciteta (TAC), aktivnosti superoksid dizmutaze (SOD), sadržaja hidroksiprolina (HIP- hydroxyproline) kao i alteracijom arhitektonike tkiva jetre. Istovremena primena CCl₄ i fluvastatina povećala je serumske nivoe ALT, AST, TG, TC kao i sadržaj MDA i NO u homogenatu jetre, ali je došlo do redukcije aktivnosti SOD, GSH, HIP i TAC. Mikroskopski pregled pokazao je ozbiljnu vakuolarnu degeneraciju hepatocita, fokalnu ćelijsku infiltraciju, kompletno narušen izgled arhitektonike tkiva jetre, aberaciju molekula DNK, i fibrozu. Na osnovu rezultata dobijenih u ovoj studiji zaključeno je da su proteini surutke izvršili reverziju deterioracije izazvane kombinacijom CCl₄ i fluvastatina, kao i da proteini surutke poboljšavaju antioksidativni status hepatocita i imaju antifibrotički efekat [29].

Primena proteina surutke u humanoј medicini demonstrira nam metaboličko i biohemijsko poboljšanje nealkoholnog steatohepatitisa u jednoј pilot studiji u kojoj je pacijentima primenjivan oralno 20 g dnevno, izolat proteina surutke bogat cisteinom, u trajanju od 12 nedelja [22]. U studiji je učestvovalo 38 pacijenata sa dokazanim nealkoholnim hepatitisom preko biohemijskih pokazatelja i kompjuterizovane tomografije (CT). Nakon 12 nedelja suplementacije izolatом proteina surutke 66% pacijenata imalo je poboljšanje nivoa enzima jetre u serumu, a 63 % pacijenata imalo je poboljšanje steatoze. Nedenaturisani cisteinom bogati proteini surutke su neprekidan izvor cisteina koji se doprema ćelijama za normalne metaboličke puteve i sintezu glutaciona. Oksida-

tivni stres je važan faktor u patogenezi nealkoholnog steatohepatitisa tako da su nivoi glutaciona i totalnog antioksidativnog kapaciteta procenjivani kao važni markeri oksidativnog stresa. Kod pacijenata sa nealkoholnim steatohepatitisom koji su uzimali izolat surutke došlo je do povećanja aktivnosti glutaciona, smanjenja nivoa ALT i AST i jasnog povlačenja steatoze na CT-u, pa se u ovoj studiji navodi da proteini surutke bogati cisteinom imaju značaj kao suplement u terapiji ove bolesti [22].

U humanoј medicini, proteini surutke ispitivani su i u prevenciji i terapiji karcinoma. Smatralo se da je stimulacija glutationom primarni imunomodulišući mehanizam. Aminokiseline kao prekursori glutaciona dostupne su u surutki i mogu povećati njegov nivo u tkivima, mogu da stimulišu imuni sistem, i mogu da detoksikuju potencijalne karcinogene. Neki autori smatraju da sposobnost proteina surutke da vezuju gvožđe ima antikancerogeni efekat, jer gvožđe može da ima mutageni efekat izazivajući oksidativno oštećenje u tkivima. U jednoј kliničkoј studiji koja je sprovedena na pet pacijenata sa metastatskim karcinomima dojke, na jednim sa karcinomom pankreasa i jednim sa karcinomom jetre dato je 30 g dnevno koncentrata proteina surutke šest meseci. Kod šest pacijenata glutation (GSH) limfocita u krvi je inicijalno bio povećan sugerišući na visok nivo glutaciona u tumoru. Nakon sprovedene studije, dva pacijenta pokazala su znake tumorske regresije i vraćanje nivoa GSH u limfocitima na normalan nivo, dva pacijenta pokazala su stabilizaciju tumora bez normalizacije nivoa GSH, dok je kod ostala tri pacijenta nastala progresija bolesti sa povećanjem nivoa GSH u limfocitima u odnosu na inicijalne vrednosti [30].

Nažalost, kod većine kliničkih studija, ne navodi se kom nivou kliničkih istraživanja pripadaju na osnovu kojih bismo mogli da odredimo veću relevantnost podataka.

Kolika je mogućnost terapijske širine proteina surutke pokazuje i njihova moguća primena u terapiji psihijatrijskih bolesti. Naime, u jednoј studiji na miševima ispitivao se antidepresivni efekat izolata proteina surutke na miševima kod kojih je izazivan stres fizičkim stresorima u trajanju od 24 dana. Izolat proteina surutke primenjivan je miševima svakodnevno pre izlaganja fizičkom stresoru u dozama od 75, 150 i 300mg/kg zajedno sa fluoksetinom u dozi od 10mg/kg. Metod ove studije bio je procena promene ponašanja kod miševa usled stresa u grupi gde su primenjeni proteini surutke i fluoksetin u odnosu na grupu gde je primenjivan samo fluoksetin pre izlaganja stresoru. Rezultati nam pokazuju da izolat proteina surutke u dozi od 300 mg/kg dovodi do značajnog povećanja nivoa monoamina i glutamata u mozgu i smanjenja u oslobađanju gama-aminobuterne kiseline (GABA-gamma-aminobutyric acid). Na osnovu ovih rezultata zaključeno je da izolat proteina surutke utiče na poboljšanje depresivnih simptoma [31].

ZAKLJUČAK

Na osnovu dosadašnjih literaturnih podataka o istraživanjima vezanim za efikasnost uzimanja surutke u različitim indikacijama, nameće se odgovor da proteini surutke imaju antioksidativan efekat, odnosno da dovode do smanjenja oksidativnog stresa na sledeći način: povećanjem aktivnosti enzima superoksid dizmutaze (SOD), katalaze (CAT), redukovano glutaciona (GSH) i totalnog antioksidativnog kapaciteta (TAC) kao i smanjenjem u

ekspresiji citohroma p4502E1, nivou aktivnosti malondialdehida (MDA), azot oksida (NO) citokina TNF-alfa, IL-1-beta, i IL-6, i sadržaju hidroksiprolina (HYP) .

LITERATURA

1. Radić I. Uticaj akutnog fizičkog opterećenja na oksidacioni stres i antioksidacioni status zamoraca. Magistarski rad, Univerzitet u Prištini, Kosovska Mitrovica, decembar 2010.
2. Popovic Lj., Mitic N., Radic I. The Effect of Exhaustive Exercise on Oxidative Stress Generation and Antioxidant Defense in Guinea Pigs. *Adv Clin Exp Med* 2012;21(3): 313-320.
3. Li S., Yue Tan H., Wang N. ,Jin Zhang Z.,Lao L.,Woon Wongand Yibin Feng C. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases.*Int. J.Mol. Sci.*2015;16:26087-26124;
4. Popović M.Lj. Mitić N.R.,Mirić M.,Radić I. Mehanizmi nastanka oksidativnog stresa izazvanog intenzivnom fizičkom aktivnošću. *Praxis medica* 2008;36(1-2):89-93.
5. Popovic Lj., Radic I, et al. The role of xanthine oxidase in oxidative stress induced by exercise to exhaustion. *Healthmed* 2012;6(5):1718-1724.
6. Sanchez-Valle, V. Chavez-Tapia, N.C. Uribe, M. Mendez-Sanchez, N. Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis: Areview. *Curr. Med. Chem.* 2012;19:4850-4860.
7. Li, A.N.; Li, S.; Zhang, Y.J.; Xu, X.R.; Chen, Y.M.; Li, H.B. Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients* 2014;6:6020-6047.
8. Feng,Y.;Wang,N.;Ye,X.;Li,H.;Feng,Y.;Cheung,F.;Nagamatsu,T.Hepatoprotective effect and its possible mechanism of Coptidisrhizoma aqueous extracton carbontetrachloride induced chronic liver hepatotoxicity in rats. *J.Ethnopharmacol.* 2011; 138:683-690.
9. Singal, A.K.; Jampana, S.C.; Weinman, S.A. Antioxidants as therapeutic agents for liver disease. *Liver Int.* 2011; 31:1432-1448.
10. Medina, J.; Moreno-Otero, R. Pathophysiological basis for antioxidant therapy in chronic liver disease. *Drugs* 2005, 65,2445-2461.
11. Miric M. Mitic N. Popovic M.Lj. Influence of Vitamin C Supplementation on Oxidative Stress and Neutrophil Inflammatory Response in Acute and Regular Exercise. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2015; 1-7
12. Popović M.Lj., Mitić N.R.,Mirić M.,Radić I. Antioksidaciono dejstvo vitamina C u oksidacionom stresu izazvanim intenzivnom fizičkom aktivnošću. *Praxis medica* 2011;39(1-2):1-6.
13. Zhao W. Z. et al. Antialcoholic liver activity of whey fermented by *Lactobacillus casei* isolated from koumiss. *American Dairy Science Association*, 2014 ; 97 :4062-4071.
14. Ha E. and Zeme M. B. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people (review). *J. Nutr. Biochem* 2003 ; 14:251-258.
15. Brody E. P. Biological activities of bovine glycomacropeptide. *Br. J. Nutr.* 2000; 84:539-546.
16. Frid A. H., Nilsson M., Holst J. J. and Björck I. M. E. Effect of whey on blood glucose and insulin response to composite breakfast and lunch meals in type 2 diabetic subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*2005; 82:69-75.
17. Gholam, P. M. L., Flancbaum, J. T., Machan, D. A et al. Nonalcoholic fatty liver disease in severely obese subjects. *Am. J. Gastroenterol.* 2007; 102:399-408.
18. Korhonen, H., and A. Pihlanto. Bioactive peptides: Production and functionality. *Int. Dairy J.* 2006; 16:945-960.
19. Hartmann, R. and Meisel H. Food-derived peptides with biological activity: From research to food applications. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2007; 18:163-169.
20. Janićijević- Hudomal S. Rašić J. Efekat azitromicina na razvoj stres ulkusnih lezija pacova izloženih alkoholnom stresu. *Praxis medica.* 2012 ; 41 (3-4) 39-44.
21. Hamad M. E. Protective effect of whey proteins against nonalcoholic fatty liver in rats. *Lipids in Health and Disease* 2011, 10:57
22. Chitapanarux T., Tienboon P., Suwalee P., Donrawee L. Open-labeled pilot study of cysteine-rich whey protein isolate supplementation for nonalcoholic steatohepatitis patients. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2009; 24:1045-1050.
23. Gad. A et al. Antioxidant activity and hepatoprotective effects of whey protein and Spirulina in rats. *Jurnal of nutrition and intermediary metabolism* 2011; 27(5): 582-589.
24. Eliwa. A. H. Evaluation of the therapeutic effect of whey proteins on the hepatotoxicity induced by paracetamol and alcohol co-administration in rats. *IJPRBS*, 2014; 3(2): 295-314.
25. Balbis E., Patriarca S., Furfaro A., Millanta S., Sukkar GS., Marinari MU., Pronzato AM., Cottalasso D., Traverso N. Whey proteins influence hepatic glutathione after CCl4 intoxication. *Toxicology and Industrial Health* 2009; 25:325-328.
26. Lu, S. C., Y. Bao, Z. Z. Huang, V. P. Sarthy and R. Kannan. "Regulation of gamma-glutamylcysteine synthetase subunit gene expression in retinal Muller cells by oxidative stress." *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40(8): 1776-82.

27. Hassan F. N. A Study on the possible therapeutic effects of whey protein products against hepatic fibrosis in experimental rats. Thesis Submitted as a partial fulfillment For the Master Degree In Pharmaceutical Sciences. Faculty of Pharmacy, Cairo University 2015.
28. Kume H., Okazaki K., Sasaki H. Hepatoprotective Effects of Whey Protein on D-Galactosamine-Induced Hepatitis and Liver Fibrosis in Rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2006; 70 (5): 1281-1285.
29. Eldenshary S. E. Effect of whey protein against fluvastatin and carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats *Der Pharmacia Lettre*, 2015; 7 (11):9-23.
30. Marshall K. Therapeutic Applications of Whey Protein. *Alternative Medicine Review* 2004;9(2): 136-156.
31. Ahmed F. R., Nada A. S., Asaad G F. Et al. Pharmacological Study of the Possible Antidepressant Activity of Whey Protein Isolate in Mice. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2011; 5(12): 2649-2659.

ENGLISH

ANTIOXIDATIVE FEATURES OF WHEY AND ITS APPLICATION IN LIVER PROTECTION

Radić Ivan

Faculty of medicine, University of Pristina, Serbia

SUMMARY

Oxidative stress represents a condition in which there is an imbalance between the production of free radicals and their removal. Many risk factors, including alcohol, drugs, environmental pollutants, radiation, infective agents can induce oxidative stress in the liver leading to the functional disturbance of the liver cells. In order to reduce oxidative stress, modern medicine goes back to the natural substances, which are becoming increasingly popular both in prevention and in treatment of many diseases. Numerous hepatoprotective substances such as silymarin, spirulina, pumpkin oil and whey are used in traditional diets by many people. Some experimental studies on animals and the monitoring of the effects on humans showed that whey can be estimated as an important antioxidant in the treatment of liver diseases.

New information obtained on the basis of controlled experimental and clinical studies of its effects in terms of protection or treatment of already existing changes in the liver tissue, certainly contribute to defining the concrete possibilities of potential use in therapeutic methods, either as a supplement or extrication of specific medicinal ingredients.

Key words: whey, oxidative stress, liver