

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA
V NITRE**

**FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH
ZDROJOV**

2118762

**VPLYV KYSELINY ASKORBOVEJ NA AKTIVITU
SUPEROXIDDISMUTÁZY A VYBRANÉ PARAMETRE
HOMEOSTÁZY GRANULÓZNYCH BUNIEK NOSNÍC**

2010

Bc. Michala MARJENKOVÁ

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA
V NITRE**

**FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH
ZDROJOV**

**VPLYV KYSELINY ASKORBOVEJ NA AKTIVITU
SUPEROXIDDISMUTÁZY A VYBRANÝCH PARAMETROV
HOMEOSTÁZY GRANULÓZNYCH BUNIEK NOSNÍC**

DIPLOMOVÁ PRÁCA

Študijný program: Výživa ľudí

Študijný odbor: 6. 1. 12 Výživa

Pracovisko (katedra/ústav): Katedra fyziológie živočíchov

Vedúci diplomovej práce: Doc. Ing. Marcela Capcarová, PhD.

Nitra 2010

Bc. Michala MARJENKOVÁ

Čestné prehlásenie

Podpísaná Michala Marjenková vyhlasujem, že som záverečnú prácu na tému „Vplyv kyseliny askorbovej na aktivitu superoxiddismutázy a vybrané parametre homeostázy granulóznych buniek nosníc“ vypracovala samostatne s použitím uvedenej literatúry.

Som si vedomá zákonných dôsledkov v prípade, ak uvedené údaje nie sú pravdivé.

V Nitre 16. apríla 2010

Michala Marjenková

Pod'akovanie

Touto cestou by som sa chcela poďakovať vedúcej diplomovej práce Doc. Ing. Marcele Capcarovej, PhD., za odborné vedenie, poznatky a cenné rady, ktoré som využila pri vytváraní tejto záverečnej práce.

Abstrakt

Kyselina askorbová je hydrofilný vitamín s významnými antioxidantnými vlastnosťami. Cieľom práce bolo skúmať vplyv kyseliny askorbovej na aktivitu enzýmu superoxiddismutázy (SOD) a vybraných biochemických parametrov homeostázy granulóznych buniek nosníc *Isa brown*. Po izolácii granulóznych buniek z folikulov a následnej centrifugácii boli bunky premyté v sterilnom médiu DMEM/F12 (BioWhittaker TM, Verviers, Belgicko) a preložené do rovnakého média s prídavkom fetálneho tel'acieho (10 %, BioWhittaker) a 1 % antimykotika (Sigma, St. Louis, Mo, USA) v konečnej koncentrácii 10^6 /ml buniek. Suspenzia bola rozdelená a inkubovaná v kultivačných well platničkách (Nunc, Roskilde, Denmark, 1 ml/well) pri teplote $38,5^{\circ}\text{C}$ a pri 5 % CO_2 . Po vytvorení súvislej monovrstvy (4 dni) bolo médium odobraté a vymenené za čerstvé s/bez prídavku kyseliny askorbovej. Do kontrolnej skupiny bolo pridané len médium v množstve 1 ml. Do pokusných skupín bola pridaná kyselina askorbová v rôznych množstvách (Max – $1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, A – $0,5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, B – $0,33 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, C – $0,17 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, D – $0,09 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) a dopipetované médium do množstva 1 ml v každej jamke. Po 18 hodinách bolo médium odobrané a uskladnené pre analýzy pri -70°C . Ku granulóznym bunkám v platničkách bol pridaný lyzačný roztok a získali sme intracelulárnu tekutinu, v ktorej bola stanovená aktivita SOD. V lyzáte pokusných skupín MAX a A, ako aj v skupine Max v médiu, bola zaznamenaná preukazne ($P < 0,05$) vyššia aktivita SOD v porovnaní s kontrolnou skupinou. V pokusných skupinách boli zistené preukazne ($P < 0,05$) vyššie koncentrácie sodíka (Max, A, B, D), draslíka (Max, A, B, D), chloridov (A, D) v porovnaní s kontrolnou skupinou. Koncentrácia celkových bielkových a glukózy bola preukazne ($P < 0,05$) nižšia v skupinách Max A, B, C, D oproti kontrolnej skupine.

Kľúčové slová: Kyselina askorbová, granulózne bunky, SOD

Abstract

The ascorbic acid is a hydrophilic vitamin with important antioxidant attributes. The objective of this study was to analyse the effect of ascorbic acid on superoxide dismutase (SOD) activity and release of selected homeostasis parameters of hen's granulosa cells. Ovarian granulosa cells of Isa brown were isolated by centrifugation and followed by washing in sterile medium DMEM/F12 (BioWhittaker TM, Verviers, Belgium) and resuspended in the same medium supplemented with fetal calf serum (10 % BioWhittaker) and 1 % antibiotic-antimycotic solution (Sigma, St. Louis, Mo, USA) at a final concentration of 10^6 cells.ml⁻¹. Portions of the cell suspension were dispensed to 24-well culture plates (Nunc, Roksilde, Denmark, 1ml/well). The plate wells were incubated at 38.5 °C and 5 % CO₂ until confluent monolayer was formed (4 days). At this point the medium (1 ml.well⁻¹) was renewed with/without ascorbic acid. Cells of experimental groups were treated with a range of ascorbic acid concentrations (common well soluble kind of ascorbic acid) as follows: Max – 1 mg.ml⁻¹, A – 0.5 mg.ml⁻¹, B – 0.33 mg.ml⁻¹, C – 0.17 mg.ml⁻¹, D – 0.09 mg.ml⁻¹. Further culture was performed for 18 hrs. Culture media from plate wells were aspirated and kept at -70 °C. In the experimental groups Max and A in lysates, also in Max group in medium significantly higher activity (P<0.05) of SOD in comparison with the control group was found. Higher significant (P<0.05) values of sodium in the experimental groups (Max, A, B, D), potassium (Max, A, B, D), chlorides (A, D) in comparison with the control group were measured. A significant decrease (P<0.05) of total proteins and glucose in the experimental groups Max A, B, C, D in comparison with the control group was determined.

Key words: Ascorbic acid, granulosa cells, superoxide dismutase (SOD)

Obsah

Obsah	7
Zoznam skratiek a značiek	9
Úvod	11
1 Súčasný stav riešenej problematiky doma a v zahraničí	12
1. 1 Vitamíny.....	12
1. 1. 1 Vitamín C	13
1. 1. 1. 1. História vitamínu C	13
1. 1. 1. 2. Charakter vitamínu C	14
1. 1. 1. 3 Účinky vitamínu C	18
1. 1. 1. 4. Potreba vitamínu C	25
1. 1. 1. 5. Zdroje vitamínu C	30
1. 1. 1. 6. Straty vitamínu C	33
1. 2. Homeostáza bunky	37
2 Cieľ	39
3 Metodika	40
3. 1 Príprava, kultivácia a spracovanie granulóznych buniek vaječníkov nosníc	40
3. 2 Stanovenie SOD a vybraných biochemických ukazovateľov kultivačného média a lyzátov buniek	41
3. 3 Štatistické analýzy	41
4 Výsledky	42
4. 1 Vplyv kyseliny askorbovej na aktivitu SOD	43
4. 2 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie vápnika granulóznymi bunkami nosníc.....	45
4.3 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie horčíka granulóznymi bunkami nosníc	46
4.4 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie fosforu granulóznymi bunkami nosníc	47
4.5 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie sodíka granulóznymi bunkami nosníc	48
4. 6 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie draslíka granulóznymi bunkami nosníc	49
4.7 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie chlóru granulóznymi bunkami nosníc	50
4.8 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie glukózy granulóznymi bunkami nosníc	51
4.9 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie triacylglycerolov granulóznymi bunkami nosníc.....	52

4. 10 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie celkových bielkovín granulóznymi bunkami nosníc	53
4. 11. Vplyv kyseliny askorbovej na životaschopnosť granulóznych buniek nosníc.....	54
5 Diskusia	55
6 Záver	58
7 Použitá literatúra	60
Príloha	69

Zoznam skratiek a značiek

dkg	dekagram
g	gram
mg	miligram
µg	mikrogram
mmol	milimol
µmol	mikromol
l	liter
IU	medzinárodná jednotka (international units)
°C	stupeň Celzia
p. n. l.	pred našim letopočtom
st.	storočie
t. j.	to je
o. i.	okrem iného
α	alfa
β	beta
γ	gama
vitamín E	tokoferol
vitamín A	retinol
vitamín B₁	tiamín
vitamín B₂	riboflavín
vitamín B₆	pyridoxín
vitamín B₁₂	kobalamín
vitamín D	kalciferol
LDL	low density lipoprotein
SIDS	syndróm náhlejš smrti dojčiat
DDD	doporučená denná dávka
KA	kyselina askorbová
VKR	voľné kyslíkové radikály
SOD	superoxiddismutáza
EC-SOD	extracelulárna superoxiddismutáza
Na	sodík

K	draslík
Cl	chlór
Mg	horčík
P	fosfor
Ca	vápnik
Glu	glukóza
CB	celkové bielkoviny
TAG	triacylglyceroly
Fe	železo
Fe²⁺	dvojmocný kation železa
Fe³⁺	trojmocný kation železa
Mn	mangán
Cu	meď
Cu²⁺	dvojmocný kation medi
Zn	zinok
e⁻	elektrón
H₂O	voda
O₂	kyslík
H₂O₂	peroxid vodíka
CO₂	oxid uhličitý
H⁺	vodíkový kation
O₂⁻	superoxidový aniónový radikál
HO₂⁻	hydroperoxylový radikál
HOCl	kyselina chlórna
¹O₂	singletový kyslík
NO₂⁻	radikálový oxid dusičitý
GSH	glutathionperoxidáza
Tab.	tabuľka
Obr.	obrázok

Úvod

Vitamíny sú významnou esenciálnou zložkou potravy pre každý živý organizmus, pretože ich nesyntetizuje a ak áno, tak nie vždy v dostatočnom množstve. Jedným z najznámejších vitamínov je kyselina askorbová s bohatými antioxidantnými vlastnosťami. Je to hydrofilný vitamín katalyzujúci množstvo chemických i biologických procesov uskutočňujúcich sa v živej hmote človeka, živočíchov i rastlín.

Cieľom práce je preukázať jej vplyv na aktivitu antioxidantného enzýmu superoxidodismutázy, ktorý chráni bunky pred oxidatívnym pôsobením reaktívnych metabolitov kyslíka, dokázať jej regeneračnú schopnosť a taktiež zistiť jej pôsobenie na uvoľnenie biochemických parametrov homeostázy. Minerálne látky majú nenahraditeľné miesto vo fyziologických a biochemických procesoch živočíchov a do tejto významnej skupiny patria nesporne sodík, draslík, vápnik, horčík, fosfor a chlór. Na udržanie homeostázy v bunkách majú vplyv tiež ďalšie parametre a to glukóza, triacylglyceroly a celkové bielkoviny, ktorých uvoľňovanie z buniek bolo tiež predmetom pokusu. Každý živý organizmus má iba jedno vnútorné prostredie a akákoľvek zmena v jednom z jeho priestorov alebo ukazovateľov nezostáva izolovaná, ale vyvoláva reťaz následkov, pretože na báze vnútorného prostredia prebiehajú všetky životné procesy organizmu. Živá hmota netvorí chemicky jednotnú látku, ani jednotnú zmes látok. Čerpá zo svojho vnútorného prostredia iba tie prvky, ktoré sú pre jej existenciu nevyhnutné. Zloženie živej hmoty však na rôznych častiach organizmu nemusí byť rovnaké a môže sa meniť v závislosti od viacerých faktorov.

Experiment sa previedol na granulóznych bunkách vaječníkov nosníc v podmienkach *in vitro*, nakoľko z biologického a ekonomického hľadiska je dôležité predbežné ohodnotenie významu kyseliny askorbovej na pohlavný systém živočíchov. Zabezpečenie reprodukcie hospodárskych zvierat a udržiavanie pravidelnej plodnosti znamená veľkú rezervu pre nárast ekonomiky celej živočíšnej produkcie, a tým aj predpoklad pre produkciu dostatočného množstva potravín živočíšneho pôvodu. Chov hydiny, ktorý sa nesporne podieľa na stabilizácii trhu s mäsom a mäsovými výrobkami vo svete, sa považuje za rozhodujúce odvetvie živočíšnej produkcie. Avšak ekonomika trhu hydiny závisí vo veľkej miere od reprodukčných výsledkov chovu, pretože faktory vnútorného prostredia zvierat a vytvorené životné podmienky determinujú ich rast a vývoj.

1 Súčasný stav riešenej problematiky doma a v zahraničí

1. 1 Vitamíny

Prijímanie potravy a uspokojenie kalorickej potreby, prívod vyhovujúceho množstva sacharidov, tukov aj bielkovín by nebolo človeku na osoh, keby sa z potravy nemohlo vstrebať a využiť všetko, čo organizmus potrebuje. Vitamíny nie sú stavebnou zložkou buniek ani zdrojom energie, sú katalyzátormi chemických premien, ktoré sa odohrávajú v bunkách a patria medzi ochranné látky (Sečanský, 1954).

Vitamíny sú nazývané mikroživinami, pretože ich množstvo, ktoré telo potrebuje k normálnej činnosti, je minimálne. Živiny (tuky, cukry, bielkoviny) zásobujúce človeka energiou sa nazývajú makroživiny a vstrebávajú sa v oveľa väčších množstvách, ale bez vitamínov by ani makroživiny nemohli byť trávené a štiepené za vzniku energie (Mindell, 1996). Chýbanie vitamínov v potrave alebo ich dlhodobý nedostatok vedie od latentnej karence prejavujúcej sa nešpecifickými príznakmi (hypovitaminóza) až k charakteristickým znakom nedostatku, ktoré môžu v ťažkých prípadoch (avitaminóza) končiť smrteľne (Keller et al., 1993). V našich zemepisných šírkach sa prejavy avitaminózy prakticky nevyskytujú, ale k hypovitaminóze môže dôjsť za niektorých okolností aj pri normálnom príjme vitamínov v potrave (Komínek, 1988).

Názvoslovie vitamínov sa vyvíjalo súčasne s poznatkami o ich účinnosti a štruktúre. Najskôr ich pomenovanie súviselo s ochorením, ktoré vyvolalo nedostatok vitamínu (napr. antiskorbutický) a neskôr sa používali veľké písmená abecedy A, B, C. Po zistení, že určitý fyziologický účinok má viacero látok, bol zavedený číselný index (A₁, A₂, B₁ a pod.) a v súčasnosti sa používajú aj triviálne názvy (Uherová, 2002).

Rozoznávajú sa vitamíny rozpustné v tukoch a vitamíny rozpustné vo vode, ktoré sú znázornené v tabuľke č. 1 (Keller et al., 1993). Väčšina vitamínov rozpustných vo vode sa uvádza v mg a v µg a tie, ktoré sú rozpustné v tukoch, sa uvádzajú v medzinárodných jednotkách IU. Doporučená denná dávka je väčšinou hrubým odhadom požadovaného množstva vitamínov a minerálov, ktorých je potreba pre normálny rast detí a k prevencii nedostatku vo výžive zdravých dospelých, ale neznamená optimálnu dávku. Niektoré vitamíny môžu byť v extrémne vysokých dávkach jedovaté (Mindell, 1996), pretože organizmus dokáže liposolubilné vitamíny skladovať a teda môže mať ich vysoký prívod aj toxické následky (Keller et al., 1993).

Ako uvádza Michalík (1997), okrem vitamínov existujú aj antivitamíny, čo sú prírodné alebo synteticky pripravené látky, ktoré rušia účinok vitamínov. Poznáme tri skupiny antivitamínov:

1. Enzýmy rozkladajúce vitamíny
2. Látky poskytujúce s vitamínmi komplexy
3. Látky svojou štruktúrou podobné vitamínom

Do prvej skupiny možno zaradiť napríklad askorbázu oxidujúcu kyselinu L – askorbovú na kyselinu dehydroaskorbovú (Škárka a Ferenčík, 1992). Do druhej skupiny patrí napríklad aridin, zlúčenina poskytujúca s vitamínmi biologicky neaktívne komplexy a tretia skupina zahŕňa látky svojou štruktúrou podobné vitamínom ako napríklad p-aminobenzén sulfoamid, antagonist kyseliny p-aminobenzoovej (Michalík, 1997).

1. 1. 1 Vitamín C

1. 1. 1. 1 História vitamínu C

Skorbut, ochorenie z nedostatku vitamínu C, pravidelne postihoval námorníkov na dlhých cestách na mori. To bolo obzvlášť nepríjemné pre Britániu, ktorej postavenie stálo na bojaschopnosti námorníctva. James Lind, lekár britského vojenského l'odstva, preto v roku 1747 s 12 námorníkmi postihnutými skorbutom uskutočnil vedecký experiment (Žamboch, 1996). Skúšal bežné roztoky kloktadiel a porovnával ich s pitím nápojov obsahujúcich tanín, čaju s rumom, vody s octom alebo so šťavou z citrusov (Mašek, 1997). Námorníkov, ktorí boli postihnutí skorbutom, rozdelil do 6 dvojíc, pričom každá mala odlišnú, presne určenú stravu. Členovia jednej z dvojíc dostávali denne 2 pomaranče a 1 citrón. Za 6 dní bol jeden námorník opäť schopný služby a druhý sa staral o 10 stále chorých kolegov, ktorých experimentálna strava bola chudobná na vitamín C, ktorý bol vtedy ešte neznámy. Bolo teda jasné, že citrusové plody obsahujú niečo, čo je schopné skorbut vyliečiť (Žamboch, 1996). Preto Lind, potom ako lodný lekár, takto systematicky liečil svojich námorníkov (Mašek, 1997).

Skutočné cielené užívanie vitamínu C v lekárskej praxi sa zaznamenalo na začiatku 20. storočia. Prvý krát bola kyselina askorbová izolovaná v roku 1928 maďarským biochemikom a nositeľom Nobelovej ceny Szent-Györgyim (Zümreoglu-Karan, 2006).

V roku 1932 sa vitamín C izoloval v čistej forme, neskôr sa zistila jeho chemická štruktúra a podarilo sa ho pripraviť aj synteticky (Bučko-Ambrová, 1972). V rokoch 1935 – 1950 došlo k prvej veľkej „vlne“ vedeckých prác, ktoré objasňovali základné fyziologické i klinické vlastnosti (Mašek, 1997).

1. 1. 1. 2 Charakter vitamínu C

Oficiálny názov pre pôvodný antiskorbutický vitamín, bežne označovaný ako vitamín C, je kyselina L-askorbová (Fragner, 1961). Názov kyselina askorbová dal zlúčenine pán Haworth (Sečanský, 1954).

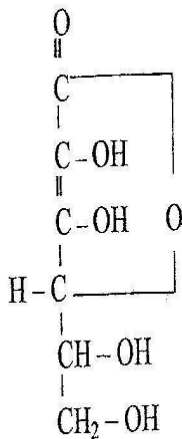
Fyzikálne vlastnosti

V prírode sa kyselina askorbová nachádza v dvoch formách: redukovaná forma (kyselina L-askorbová) a oxidovaná forma (kyselina dehydroaskorbová). Tým, že kyselina L-askorbová má silné redukčné vlastnosti, ľahko sa oxiduje na kyselinu dehydroaskorbovú a vytvára tak v prírode dôležitý vratný oxidoredukčný systém (Uherová, 2002). Obidve kyseliny majú rovnaké vitamínové účinky, diametrálne sa však odlišujú svojím chovaním pri ohrievaní a varení. Kyselina L-askorbová nachádzajúca sa v neporušených rastlinných potravinách je pri bežnej kuchynskej úprave stála i pri 100°C, ale kyselina dehydroaskorbová, na ktorú sa kyselina L-askorbová v prevažnej väčšine pri každom narušení rastlinných buniek mení, už ale tepelne stabilná nie je, pretože zahrievaním či varom sa rozkladá na vitamínovo neúčinné zložky a to kyselinu diketogulónovú, treónovú a oxálovú (Habánová, 2006).

Kyselina L-askorbová kryštalizuje v bielych kryštálikoch, je bez farby a vône, kyslej chuti. Je veľmi dobre rozpustná vo vode, dosť dobre v nižších alkoholoch, málo v acetóne. V éteri, chloroforme, pentáne a benzéne je nerozpustná. Kým kryštalický vitamín C je stály, vo vodnom roztoku je veľmi citlivý voči vzdušnému kyslíku. Oxidáciu neobyčajne katalyzujú stopy niektorých kovov, napr. medi a železa. Vitamín C je citlivý na svetlo, najmä v prítomnosti riboflavínu (Žuffová, 1954).

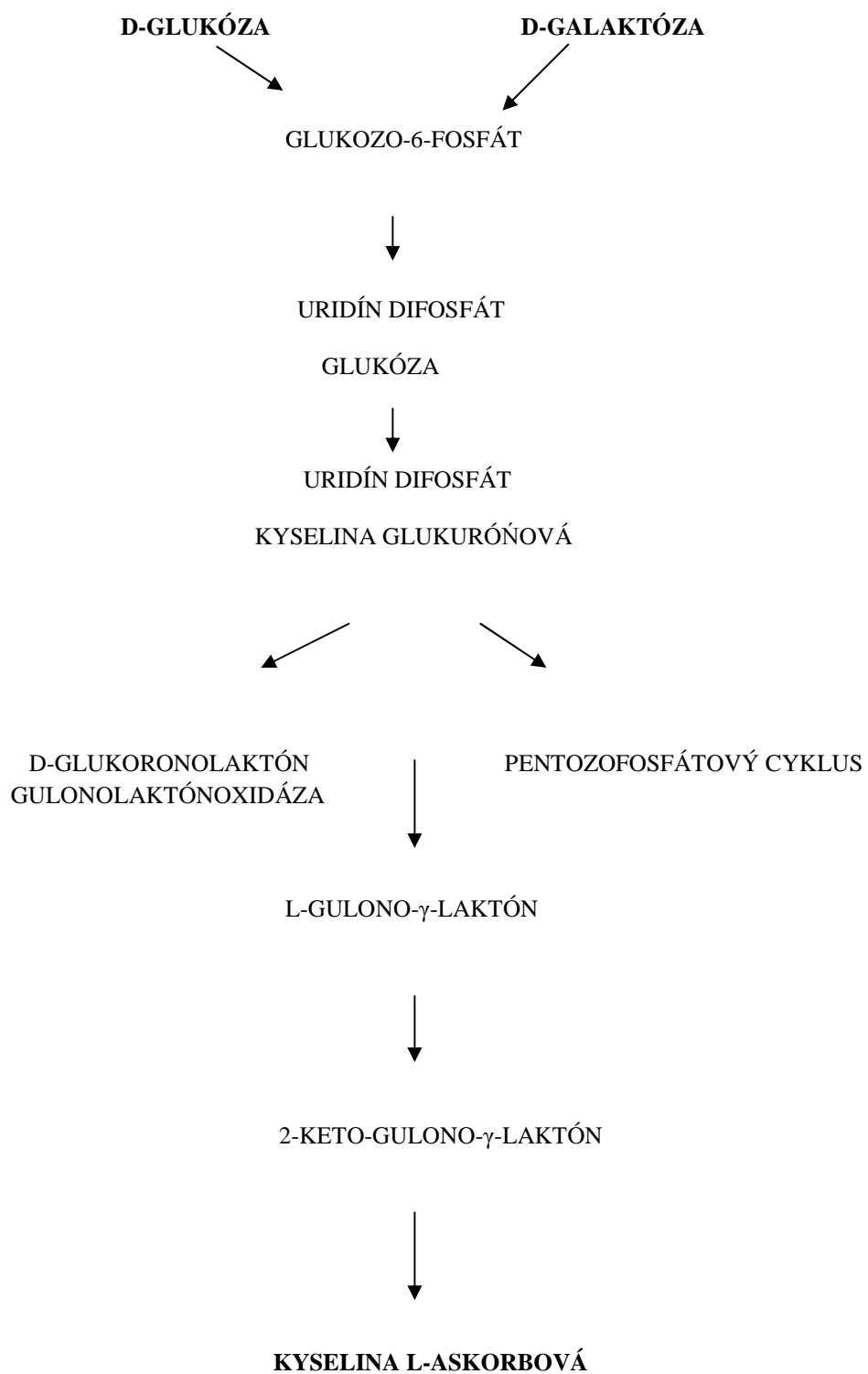
Chemické vlastnosti

Chemická štruktúra vitamínu C je odvodená zo štruktúry D-glukózy, v ktorej tento vitamín vzniká v rastlinných organizmoch (Zachar, 2004). Logicky možno teda odvodiť kyselinu askorbovú od každej hexózy, ktorá má na 4. a 5. uhlíku vitamínu konfiguráciu rovnakú s kyselinou glukónovou (Fragner, 1961). Jej štruktúrny vzorec znázorňuje obr. č. 1 (Halliwell, 1990).



Obr. č. 1: Štruktúrny vzorec kyseliny askorbovej (Halliwell, 1990).

Prvý stupeň oxidácie na kyselinu dehydroaskorbovú je reverzibilný, ale ďalšia oxidácia na kyselinu diketogulónovú je už ireverzibilná. Mnohým druhom zvierat sa kyselina askorbová syntetizuje v pečeni, respektíve v obličkách. Východiskovou látkou je kyselina glukurónová, ktorá sa redukuje na kyselinu L-gulónovú. Z nej sa odštiepením vody tvorí gulóno-laktón, ktorého degradáciou vzniká askorbát (Schenck a Kolb, 1991), čo znázorňuje obrázok č. 2 (Naidu, 2003). Syntéza vyžaduje dostatočné zásobovanie vitamínom A a E (Schenck a Kolb, 1991). Okrem syntézy, organizmy obsahujúce enzým L-gulonolaktón-oxidázu, môže byť KA regenerovaná zo svojej dvoj-elektrónovej oxidovanej formy, kyseliny dehydroaskorbovej, v ktorejkoľvek bunke všetkých živočíšnych druhov (Bánhegyi et al., 1997). Recyklácia KA z jej oxidovanej formy je nevyhnutná z hľadiska zachovania intracelulárnych zásob tohto vitamínu vo väčšine buniek (May et al., 1998). KA vstupuje do bunky v oxidovanej forme cez glukózový transportný systém a v bunke je spätne redukovaný na KA (Rumsey et al., 1997). Doteraz sa preverilo a pripravilo viac ako 60 rozličných chemických derivátov L-askorbovej kyseliny (Zachar, 2004).



Obr. č. 2: Biosyntéza kyseliny L-askorbovej (Naidu, 2003).

Distribúcia vitamínu C v organizme

Obsah jednotlivých antioxidantov je v rôznych orgánoch, tkanivách a živočíšnych druhoch rozdielny. Napríklad očné šošovky ľudí obsahujú málo SOD a veľa kyseliny L-askorbovej (Romero, 1996). Hladiny vitamínu C v tele živočíchov sa zvyšujú tam, kde prebieha intenzívna regenerácia bielkovín. V rastlinách sa nachádza predovšetkým vo výhonkoch a dozrievajúcom ovocí. Z toho sa usudzuje, že vitamín C nejako súvisí s reguláciou rastu (Janek a Muntág, 1992).

V tele zdravého dospelého človeka sa neustále nachádzajú 2-3 g vitamínu C, predovšetkým v nadobličkách, mozgu a slinných žľazách (Žuffová, 1954).

Najväčší obsah kyseliny askorbovej v rezervách tela má mozog (cca 334 mg), koža (248 mg), pečeň (121,5 mg), krv (67 mg), obličky (29,5 mg), srdce a slezina (15 mg) a ostatné vnútornosti (29 mg). Extracelulárna tekutina a ďalšie orgány majú viac ako 0,5 g kyseliny askorbovej (516,5 mg). Nápadná je vysoká koncentrácia v tkanivách mozgu, pričom je nižšia v bielej hmote, vyššia v mozgovej kôre, vysoká v bazálnych gangliách a mozočku a vôbec najvyššia v oku, v *bulbus olfactorius* v hypofýze a časti v hypotalame (Mašek, 1977).

Kyselina L-askorbová (γ -laktón 2 – oxo – L – (-) – gulónová kyselina) je významný vo vode rozpustný antioxidant prítomný v krvnej plazme (Piehl et al., 2005). Koncentrácia askorbátu v krvi sa pohybuje v rozmedzí 2 – 20 mg.l⁻¹ (10 – 100 μ mol.l⁻¹) a v plazme sa jeho koncentrácia pohybuje medzi 40 – 140 μ mol.l⁻¹ (Štípek et al., 2000). Vyššie dávky vitamínu askorbému zvyšujú v celku lineárne až do 1,5 mg, a potom je vzájomná korelácia nelineárna. Vitamín C sa tiež viaže na bielkovinový nosič, ktorý je makromolekulovej povahy (asi zo 40 % na alfabglobulíny, zvyšok na gama a betaglobulíny, ale pre prienik z likvoru do mozgu sa viaže na frakciu prealbumínov).

Vylučovanie kyseliny askorbovej klesá i v moči a pri adaptácií na veľké dávky dochádza postupne k deštrukcii molekuly kyseliny askorbovej, a to ako na oxalát a CO₂, tak na rôzne degradačné produkty. Dlhodobé podávanie vysokých dávok vitamínu C vedie k adaptatívnej deštrukcii, ktorá pri náhlom prerušení môže spôsobiť stav hypovitaminózy. Prívod menších, ale pravidelných dávok je pre organizmus výhodnejší (Mašek, 1977).

1. 1. 1. 3. Účinky vitamínu C

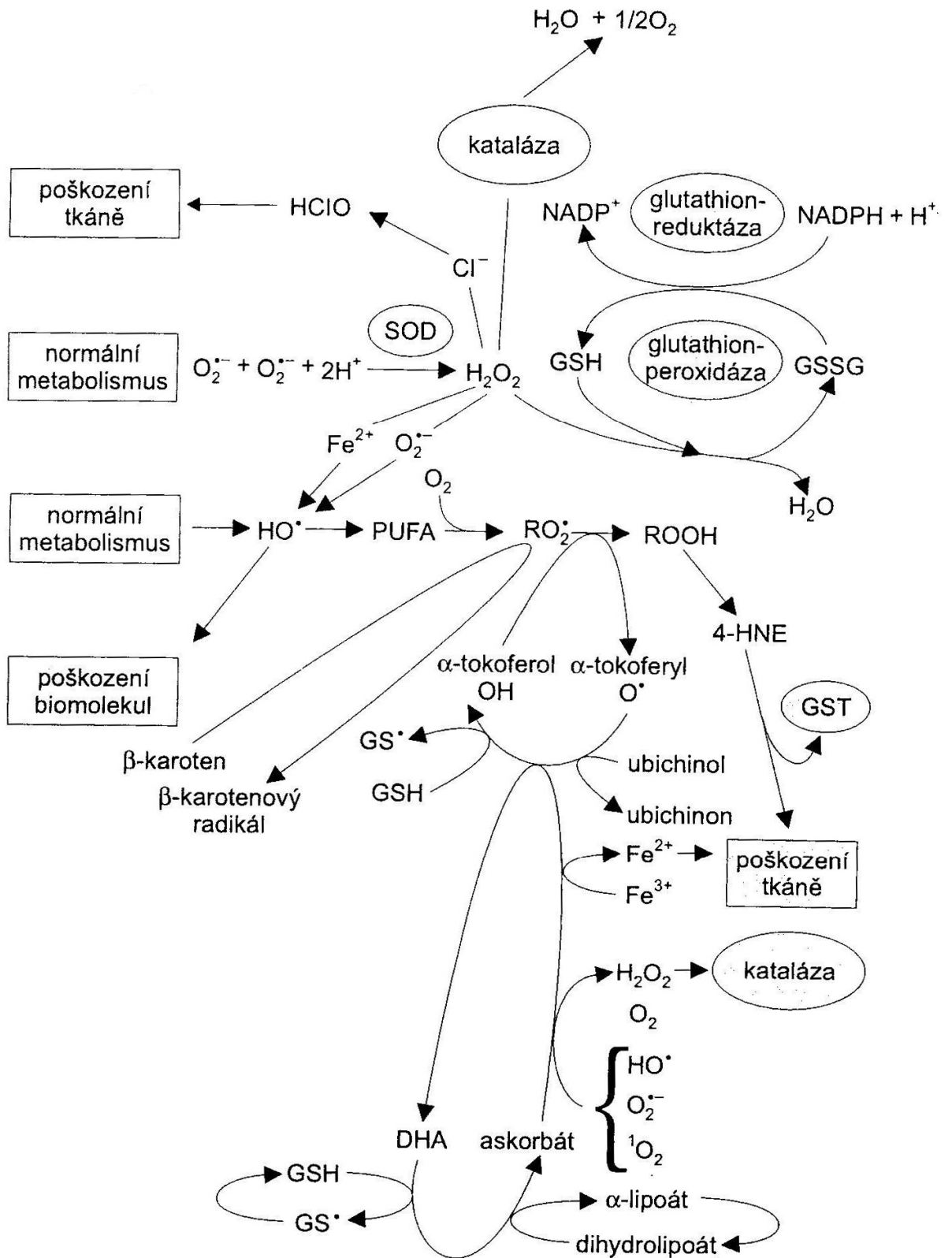
Antioxidačný účinok

Antioxidant je definovaný ako látka, ktorá ak je prítomná v nízkej koncentrácii v porovnaní s oxidovateľným substrátom, významne znižuje alebo inhibuje oxidáciu tohto substrátu. Antioxidanty vo všeobecnosti chránia biologické štruktúry pred účinkom voľných radikálov. Z chemického hľadiska majú antioxidanty charakter fenolových látok (Daniška, 1999).

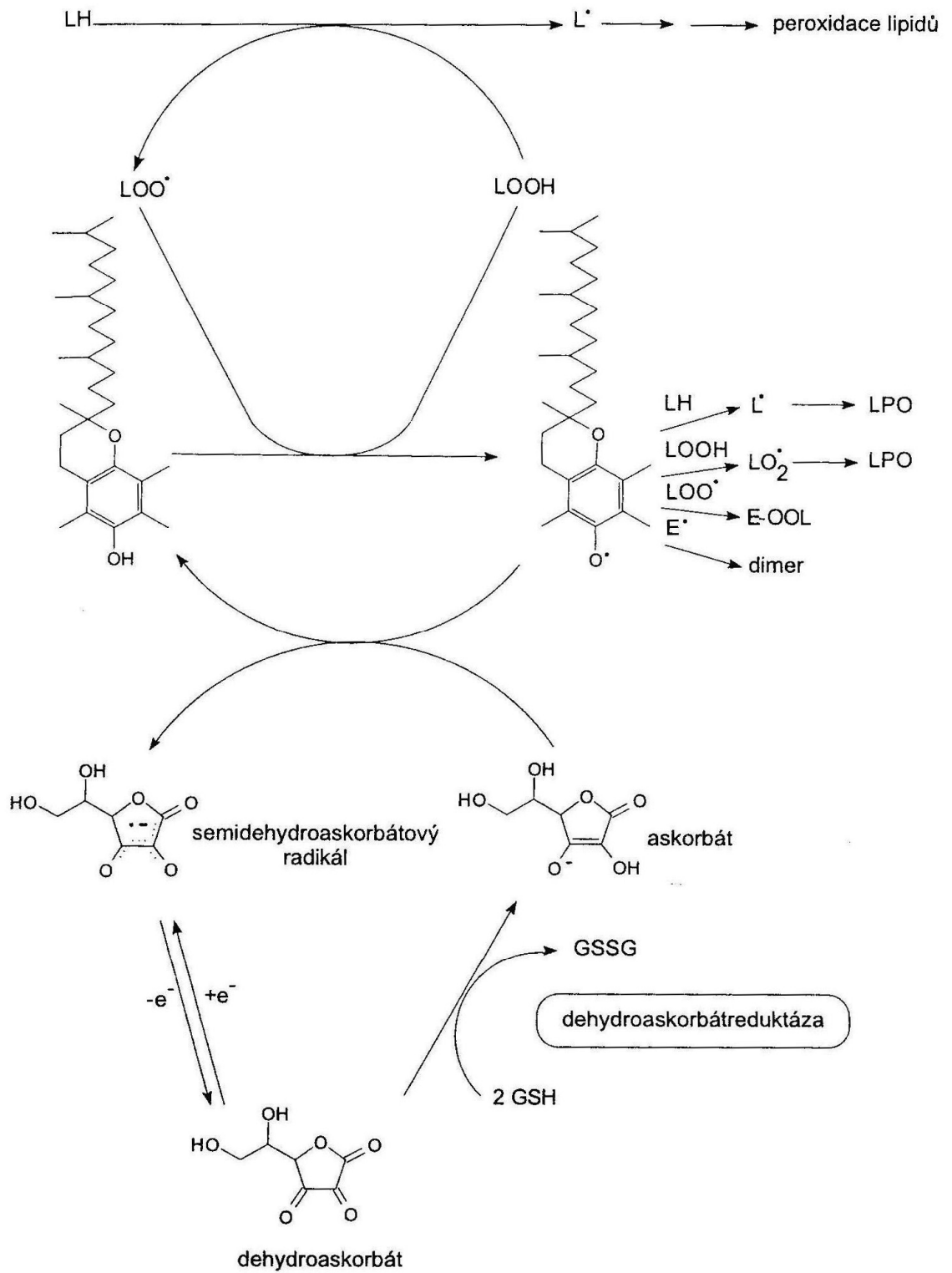
Hlavné dve vlastnosti, ktoré z KA robia ideálny antioxidant, sú jednak nízke redukčné potenciály askorbátu a jeho jedoelektrónový oxidačný produkt, askorbylový radikál a potom stabilita a nízka reaktivita askorbylového radikálu (Bode et al., 1990). Antioxidačný účinok askorbátu spočíva v tom, že redukuje anorganické i organické radikály ako $O_2^{\cdot-}$, HO_2^{\cdot} , HO^{\cdot} , hydrofilné RO_2^{\cdot} , NO_2^{\cdot} a reaguje s 1O_2 a $HClO$. Všeobecne sa uvádza (aj keď to nie celkom dokázané *in vivo*), že askorbát regeneruje tokoferylový radikál (obr. č. 3 a 4). Pri týchto reakciách stratí elektrón a zmení sa na semidehydroaskorbát alebo askorbylový radikál, ktorý je oveľa menej reaktívny ako spomínané radikály. Regeneruje sa špeciálnou dehydrogenázou za účasti NADH naspäť na askorbát alebo dizmutuje na askorbát a dehydroaskorbát. Dehydroaskorbátoreduktáza za účasti GSH regeneruje dehydroaskorbát na askorbát. Avšak GSH je intracelulárny antioxidant, a tak sa pri oxidačnom strese askorbylové radikály môžu hromadiť v extracelulárnej tekutine a ničiť tu biomolekuly (Štípek et al., 2000).

Kyselina askorbová spolu s vitamínom E patria medzi hlavné diétne antioxidanty s veľkou fyziologickou dôležitosťou a navzájom sa vo funkciách dopĺňajú (Hamilton et al., 2000). Interakcia môže byť priama cez „sparing“ efekt vitamínu C, ktorý zabezpečuje zhášanie reaktívnych produktov vo vodnom prostredí, čím zabraňuje oxidácii vitamínu E. Vitamín C má redox – cyklujúci efekt na oxidovaný vitamín E v lipoproteínoch a membránach, pričom je dôležitý pomer vitamínu C ku vitamínu E (Gey, 1998). Riziko oxidačného stresu vo vzťahu ku ochoreniam sa zvyšuje, keď je uvedený pomer vyšší ako 1,0 (Clazada et al., 1997). Tabuľka č. 2 poukazuje na vplyv antioxidačnej terapie askorbátu na niektoré ochorenia (Štípek et al., 2000).

Obr. č. 3: Regenerácia tokoferylového radikálu askorbátom (Štípek et al., 2000).



Obr. č. 4: Vztah mezi tokoferolem a askorbátom (Štípek et al., 2000).



Superoxiddismutáza

Superoxiddismutáza (SOD) je jedným z antioxidačným metaloenzýmom prítomná v tkanivách (Choi et al., 1999). Objav superoxiddismutázy (EC 1.15.1.1, SOD) bol medzníkom pri štúdiu biologického významu superoxidu a iných voľných radikálov. Z dvoch rôznych proteínov sa vyvinuli dve skupiny enzýmov a to SOD 1 a SOD 2.

Cu, Zn – SOD (SOD1) sa skladá z dvoch identických podjednotiek a v každej je jeden atóm medi a jeden atóm zinku. Je to veľmi stabilný enzým, ktorý katalyzuje pri pH 4,5–9,5 (Štípek et al., 2000). Hlavným iónom kovu v štruktúre Cu,Zn-SOD je ión medi (Cu^{2+}) viazaný štyrmi imidazolovými atómami dusíka histidínových zvyškov (Xu a Kuppusamy, 2005; Fukuzumi et al., 2002) a ten uskutočňuje prenos elektrónu z jednej molekuly superoxidu na druhú, pričom sa dvojmocná meď redukuje na jednomocnú a potom sa opäť oxiduje. Dvojmocný zinok má stabilizačnú funkciu a katalýzy sa nezúčastňuje. Mn – SOD (SOD2) a Fe – SOD patria vývojovo a štruktúrne do druhej rodiny superoxiddismutáz. Obe sa vyskytujú u prokaryontov ako diméry. Mn – SOD je enzýmom mitochondriálneho matrixu a prokaryotická Fe – SOD nebola objavená v živočíšnych bunkách a nie sú tak stabilné ako Cu, Zn – SOD (Štípek et al., 2000). Ako posledná bola objavená živočíšna extracelulárna SOD (EC – SOD), ktorej molekula má štyri podjednotky. Dismutáciu katalyzuje ión medi a molekulu stabilizuje atóm zinku (Štípek et al., 2000). Bunky cicavcov produkujú teda mitochondriálnu Mn-SOD, cytoplazmatickú Cu,Zn-SOD, Fe-SOD sa vyskytuje u niektorých baktérií a chloroplastov (Henle a Linn, 1997).

Za podmienok zvýšenej koncentrácie peroxidu vodíka a v prípade denaturovanej SOD dochádza k uvoľňovaniu iónu medi zo štruktúry enzýmu a tiež k tvorbe hydroxylových radikálov podľa klasickej Fentonovej reakcie (Xu a Kuppusamy, 2005). Hlavný význam SOD spočíva v tom, že katalyzuje dismutáciu dvoch molekúl superoxidu na peroxid vodíka a molekulárny kyslík a tým chráni bunky pred oxidatívnym pôsobením týchto reaktívnych metabolitov kyslíka (Xu a Kuppusamy, 2005; Fukuzumi et al., 2002).

Antikarcinogénny účinok vitamínu C

Živiny antioxidantov, ako vitamín A, C, E a minerály, napr. selénu, chránia pred rakovinou, pretože zasahujú do procesu, ktorý spôsobuje rakovinu a súčasne stimulujú imunitný systém, aby zničil napadnuté bunky ešte predtým, ako sa začnú množiť (Briffa, 2000), nakoľko výsledkom pôsobenia voľných radikálov môže byť proliferácia (abnormálne množenie) buniek, ktorá vedie k rakovine, nesprávnej funkcii buniek alebo odumretiu buniek (Pelli a Lyly, 2003). Ondrejčka (1998) uvádza, že vitamín C má mnostranný efekt a ako antioxidant je vysokoúčinný v hydrofilnom prostredí ako odstraňovač aktívnych foriem kyslíka aj ako blokátor rozvíjajúcich sa radikálových reakcií.

Dostatočný príjem tohto vitamínu (300–500 mg) môže chrániť pred vznikom rakoviny a už vzniknutý nádor podávaním vysokých dávok denne (4–5 g) nerastie tak rýchlo ako zvyčajne (Červená a Červený, 1994). Vitamín C blokuje tvorbu karcinogénov z dusičnanov v tráviacom trakte a preto sa niekedy pridáva do potravín obsahujúcich dusičnany (Messina a Messina, 1998). Vitamínu C je pripisovaný ochranný vplyv proti rakovine žalúdka, pažeráka a kľčka maternice. Definitívne to nie je dokázané vzhľadom k tomu, že potraviny obsahujúce vitamín C sú zdrojom taktiež karoténu, kyseliny listovej a ďalších potenciálne ochranných zložiek (Keller et al., 1993).

Boli uskutočnené viaceré výskumy zaoberajúce sa úlohou vitamínu C a potravín bohatých na tento vitamín v boji proti zhubným nádorom. Štúdie vo väčšine potvrdzujú, že vitamín C je jedným z najsilnejších prostriedkov v tomto zápase, ktoré telo má (Mindell, 1996). Mindell (1996) poukazuje na výsledky viacerých štúdií zameraných na účinok vitamínu C v boji proti zhubným nádorom, ktoré sú znázornené v tabuľke č. 3.

Ďalšie účinky vitamínu C

- podieľa sa na významných hydroxylačných reakciách prebiehajúcich v organizme a plní dve hlavné funkcie, a to ako kofaktor niektorých hydrolýz a redukčné činidlo (Velíšek, 2002; Ďuračková, 1998)
- je nutný ako kofaktor enzýmov pri syntéze kolagénu a pri premene dopamínu na noradrenalín (Štípek et al., 2000)
- je schopný redukovať trojmocný ión železa na dvojmocný a má význam pre resorpciu železa v črevách, pretože železo v oxidačnom stupni (III) sa len málo rozpúšťa, ale na druhej strane, v prípade nekontrolovateľného redukčného procesu

a zlyhania kontroly metabolizmu železa, vytvára kyselina L-askorbová potenciálne nebezpečný substrát pre Fentonovu reakciu (Cross et al., 1990)

- tlmí toxicitu rozličných liečiv (arzenobenzoly), ale nemá sa podávať s prídavkami železa, aby nepôsobil opačne-prooxidačne (Béderová, 2000)
- má vplyv na tvorbu medzibunkových tmelových substancií, kde napríklad prispieva k utesneniu cievnych stien a tým znižuje sklon ku krvácaniu a teda pôsobí aj ako faktor zvyšujúci odolnosť proti infekciám (Komínek, 1988)
- pôsobí ako prirodzené prehľadadlo (Mindell, 1995)
- urýchľuje degradáciu cholesterolu na žľčové kyseliny, čím podporuje jeho vylučovanie do žlče (Bučko a Ambrová, 1972)
- aktivuje množstvo enzýmov a hrá dôležitú úlohu pri bunkovom dýchaní ak sa podáva spolu s kyselinou listovou a vitamínom B₁₂, podporuje dozrievanie červených krviniek v kostnej dreni, zvyšuje fyzickú výkonnosť a urýchľuje celkovú regeneráciu organizmu (Farkaš, 1996)
- pozitívnu úlohu zohráva pri niektorých detoxikačných procesoch v organizme vystavenom pôsobeniu chemických škodlivín (Benčej, 1999)
- stimuluje tvorbu interferónu, prirodzeného usmrcovača vírusov a mobilizuje bunky s ochrannou funkciou (Inlander a Moranová, 1994)
- pri vysokých dávkach môže pôsobiť ako prooxidant (Horčín, 2004)
- môže redukovať metmyoglobín, dusičnany, chinóny, hydroperoxydy lipidov a podobne (Takácsová a Príbela, 1996)
- regeneruje fenolické antioxidanty a viaže stopy kovov z prostredia tvorbou chelátových látok (Rosival a Szokolay, 1983)
- svojimi imunitnými vlastnosťami imunitné pomáha taktiež astmatikom, v ktorých krvi je nedostatok kyseliny askorbovej (Jordán a Hemzalová, 2001)
- pri správnom zásobovaní vitamínom C sa urýchľujú nervosvalové reakcie, zvyšuje sa činnosť mozgu a znižuje toxické pôsobenie jedov (Bulková, 1999)
- zvyšuje účinky chemoterapeutík a redukuje nežiadúce účinky cytostatík (Loučka, 2003)
- chráni veľa biologických účinných látok o. i. vitamíny A, E, B₁, B₂, kyselinu listovú, kyselinu pantoténovú a biotín pred zničením pôsobením kyslíka (Ungerová-Göbelová, 1999)

- pôsobí preventívne proti nádche a nachladnutiu, zvyšuje mozgovú činnosť, pôsobí proti únave (Bodlák, 2002)
- niektorí odborníci ho odporúčajú ako preventívny prostriedok pri SIDS (syndróm náhlej smrti dojčiat) (Mindell, 1995)
- má významnú funkciu z hľadiska eterogenézy pri degradácii cholesterolu, kedy prostredníctvom cytochrómu P-450 vnáša do sterolového jadra cholesterolu kyslík a rýchlosť tejto hydroxylačnej reakcie limituje celkovú rýchlosť premeny cholesterolu na žlčové kyseliny, takže pri deficite KA je táto reakcia spomalená a znižuje sa schopnosť pečene odbúravať cholesterol (Enstrom et al., 1992)
- oddiaľuje aterogenézu a to tak, že zabraňuje oxidácií nebezpečných a veľmi aterogénnych malých LDL-častíc vychytávaním VKR pomocou LDL-receptorov a tiež znižuje adhéziu trombocytov na cievny endotel (Ordovas, 2001)
- chráni ľudské spermie pred oxidačným poškodením ich DNA a tým pred vrodenými vývojovými chybami (Mindell, 1996)
- je dôležitým kofaktorom hydrolyzácie lyzínu a prolínu, a tým tvorby kolagénu, ktorý je dôležitý pre rast a obnovu tkanivových buniek (Štěpán, 2001)
- pri vysokých dávkach môže znížiť hladinu histamínu až o 40 %, čo môže viesť k zmierneniu problémov vyvolaných sennou nádchou (Mindell, 1996)
- priamo vychytáva reaktívne metabolity kyslíku a dusíku, ktorými sú hydroxylový radikál, peroxylový radikál, superoxidový aniontový radikál, oxid dusnatý, ale taktiež zlúčeniny neradikálovej povahy, napr. kyselinu chlórnu, ozón, singletový kyslík a peroxynitrit (Carr a Frei, 1999)
- chráni lipidy pred peroxidáciou (Hillstrom et al., 2003) pravdepodobne znemožnením naviazania železa do plazmatických lipoproteinov (Berger et al., 1997)
- má protiinfekčný synergizmus s vitamínom B₁ a B₆, z časti antagonizmus s retinolom, ochranný vplyv na lyzozómy s aktiváciou enzymatickej sekrécie a s účasťou na syntézach dôležitých metabolitov a tak sa urýchľuje reakcia dopamín – noradrenalín a tryptofán – serotonin
- je nevyhnutný pre konverziu kyseliny listovej na redukovanú formu – tetrahydrolistovú. (Mašek, 1977)

- je súčasťou cytochrómového systému (cytochrómu b₅ a P 450) a ako donor vodíka mení za priaznivých podmienok napätie vodíkových mostíkov na povrchu buniek a tým z časti znižuje hydrofóbiu (Mašek, 1977)
- chráni pľúcny surfaktant pred pôsobením kyseliny chlórnej vznikajúcej v makrofágoch (Štípek et al., 2000).

1. 1. 1. 4 Potreba vitamínu C

Fyziologická potreba vitamínu C

Nedostatky v zásobovaní obyvateľstva zeleninou a ovocím v severných pásmach Európy nútili vedcov, aby objasnili, aká je skutočná fyziologická potreba tohto vitamínu (Mašek, 1997). Názory na doporučený denný príjem tohto vitamínu sa líšia aj preto, že sa za určitých podmienok môže chovať ako oxidant a to najmä za prítomnosti redoxne aktívnych iónov prechodných kovov (Halliwell, 1996).

Konzervatívna anglická doporučená dávka, ktorá „bezpečne chráni pred skorbutom“ (t. j. asi 10 mg u dospelého človeka pri bežnom živote) bola zvýšená na 30 mg a táto dávka bola považovaná za antiskorbutickú (Mašek, 1997). Optimálna denná potreba vitamínu C sa odhaduje pre dojčatá a deti na 25 – 30 mg denne, pre dospelých na 70–80 mg (Sečanský, 1954). Niektorí vedci odporúčajú príjem vitamínu C v gramových dávkach, pretože podľa ich názoru len pri naplnení zásobníka tela sa dosiahne optimálne zdravie a výkonnosť. Na to by bolo potrebné prijať denne najmenej 200 mg. Názory na množstvo sa však rôznia, pretože pri takýchto dávkach podiel skutočne vstrebanej kyseliny askorbovej výrazne klesá (Mašek, 1997). Mindell (1996) odporúča 1 000–2 000 mg vitamínu C denne, pričom esterifikovaná, pomaly sa uvoľňujúca forma vitamínu C, je pre žalúdok šetrnejšia.

Nemecká spoločnosť pre výživu (DGE) vypracovala smernicu dennej potreby vitamínov, ktorá je znázornená v tabuľke č. 4, pričom je upravená iba na potrebu vitamínu C (Ungerová-Göbelová, 1999).

Zvýšená potřeba vitamínu C

Potreba vitamínu C může být zvýšená za fyziologického i patologického stavu:

- v gravidite a dojčení, kedy sa zvyšuje na 80 – 120 mg.deň⁻¹ (Mindell, 1995)
- pri strese, aktivácií nadobličiek, infekčnom ochorení, hormonálnej poruche
- pri zvýšenom nároku na nervovú činnosť, ateroskleróze (Mašek, 1977)
- pri užívaní niektorých liekov, napríklad kyseliny acetylosalicylovej (acylpyrín), pretože až trojnásobne urýchľuje odstránenie KA z organizmu (Mindell, 1995)
- pri svalovej práci, horúčkových ochoreniach, zvýšenej činnosti štítnej žľazy, *diabetes mellitus*, Addisonovej chorobe (Sečanský, 1954)
- pri strave bohatej na proteíny (Mašek, 1997) a pri dlhšie trvajúcim diétnom stravovaní akým je napríklad žalúdočno – črevné ochorenie, ktoré skrýva v sebe nebezpečenstvo avitaminózy alebo hypovitaminózy „C“, pretože pri tejto diéte sa obyčajne vylučuje surové ovocie a zelenina a na druhej strane býva pri týchto ochoreniach porušená rezorpcia vitamínov (Sečanský, 1954).

Vyšší príjem je potrebný u starších ľudí, športovcov, ľudí pracujúcich v horúcom prostredí, pacientov podrobujúcich sa dialýze, u tehotných žien a tých, ktoré užívajú antikoncepčné prípravky.

Fajčiari dokážu využiť len 60 % prijatého vitamínu C (Mašek, 1997), a preto je denná odporúčaná dávka zvýšená na 100 mg. Fajčiari by pre udržanie adekvátnej hladiny potrebovali aspoň 200 mg vitamínu C a táto potreba je hradená, ak sa denne skonzumuje 5 porcií ovocia a zeleniny (Mindell, 1996). Fajčiari potrebujú viac vitamínu C aj preto, že vyfajčenie jednej cigarety znehodnotí 25 – 150 mg vitamínu C (Mindell, 1995). Fajčenie je najpodstatnejším faktorom vyvolávajúci pľúcny karcinóm približne u 85-90 % pacientov (Trachtenberg et al., 1992). Spôsobujúce oxidatívny stres, ktorý vyvoláva pokles KA v plazme, ale taktiež v tekutine obsiahnutej v dýchacích cestách (Lykkesfeldt et al., 1997). Fajčiari majú vyššiu koncentráciu produktov lipidovej peroxidácie a nižšiu plazmatickú koncentráciu KA ako nefajčiari (Morrow et al., 1995). Pri pasívnom fajčení chráni zvýšená koncentrácia KA pred rýchlym poklesom antioxidantného obranného systému v plazme (Valkonen a Kuusi, 2000).

Zvýšené nároky na prívod vitamínu C majú tiež diabetici, pretože ich organizmus má problémy s jeho prepúšťaním cez bunkovú membránu, ďalej ľudia s chorobami srdca

a ciev, po operáciách a v rekonvalescencii (Červená a Červený, 1994). V záujme dosiahnutia maximálneho účinku vitamínu C netreba zabúdať, že najlepšie účinkuje spolu s bioflavonoidmi, vápnikom a magnéziom (Mindell, 1995). Spolu so zinkom pomáha chrániť organizmus pred nebezpečným kadmim a škodlivými účinkami exhalátov, preto je vhodné zvýšiť jeho prísun všade tam, kde je silne znečistené ovzdušie (Husárová a Guričanová, 1998). Jednou z možných ciest, ako čiastočne zabrániť vplyvu nepriaznivých faktorov životného prostredia na náš organizmus, je dopriať mu prísun vitamínu C v oveľa väčšom množstve ako kedykoľvek predtým (Smith et al., 1999).

Nedostatok vitamínu C

Hlavnou príčinou jeho nedostatku je nesprávne stravovanie, nedostatočné množstvo čerstvého ovocia a zeleniny a prídlhé varenie a skladovanie potravín. Jeho nedostatok sa prejavuje častým prechladnutím, citlivými sliznicami, sklonom ku kŕčovým žilám a hemoroidom, nadváhou, poruchami spánku a depresiami, katarmi – až po bronchiálnu astmu (Ungerová-Göbelová, 1999). Príznaky pri možnom nedostatku vitamínu C:

- nechutenstvo
- modriny (ľahké alebo malé poranenie spôsobujúce modravé sfarbenie kože)
- únava (vyčerpanie, slabosť, nedostatok chuti k fyzickej práci)
- žalúdočné a črevné ťažkosti (gastritída, vredová choroba žalúdka, žlčníkové a tráviace ťažkosti)
- vypadávanie vlasov
- krvácanie z nosa
- pomaly sa hojace rany a zlomeniny (Mindell, 1995)
- znížená odolnosť proti infekčným chorobám
- poruchy v tvorbe dentínu a kostnej spongiózy, u dospelých častá paradentóza
- krvné výrony pod kožou, do ďasien, do slizníc
- degeneratívne zmeny kostnej drene, ktoré spôsobujú spomalenie erytropoézy a spôsobujú vývin anémie
- spomalené zrážanie krvi (Komínek, 1988)

Janča (1991) uvádza, že nedostatok vitamínu C sa spozná na spodnej časti jazyka. Pri jeho nedostatku sa na tomto mieste vyskytujú zhrubnuté červené žilky. Ďalej sa objavujú malé škvrny a skupiny červených škvŕniiek alebo šupín na ramenách. Neskorším symptómom je krvácanie ďasien pri čistení zubov alebo pri zahryznutí do niečoho tvrdého.

V praxi sa človek najčastejšie stretáva s hypovitaminózou „C“ vo forme jarnej únavy, zvýšenej náklonnosti k infekčným ochoreniam a paradentóz (Sečanský, 1954). Avitaminóza C sa v detskom veku nazýva *morbus Möller – Barlov*, u dospelých *skorbut*. U malých detí je jeho hlavným prejavom krvácanie do rastovej zóny kostí, čo môže mať za následok poruchu rastu. Podobne môžu byť postihnuté aj zubné zárodky, kde potom vznikajú ťažké poruchy formácie. V ústnej dutine je vedúcim príznakom krvácanie slizníc, najmä gingívy. Vzniká ťažká gingivitída hyperplastického charakteru. Najskôr nastáva ulcerózný rozpad, deštrukcia alveolu a uvoľňovanie zubov. V našich podmienkach hygieny a výživy k takto ťažkým prejavom nedochádza. Častejšia je hypovitaminóza C, najmä u detí umelo živých, pretože kravské mlieko je chudobné na vitamín C. Hypovitaminózy môžu vzniknúť aj neskôr, pri dlhotrvajúcich horúčkovitých ochoreniach, kedy pri zvýšenej spotrebe vitamínu jeho prísun viazne. Tento stav sa nazýva *preskorbut* (Komínek, 1988). Jedná sa o chronický latentný deficit vitamínu C a je to prevalentné ochorenie civilizovanej populácie (Mašek, 1977). V ústnej dutine sa prakticky nachádza len gingivitída so sklonom ku krvácaniu. Vzniku hypovitaminózy sa dá predísť vhodnou životosprávou a príjmom potravín na vitamín C bohatých. U ohrozených detí, napríklad pri chrípkových ochoreniach, je vhodné podávať profylakticky vitamín C (Komínek, 1988).

Skorbut

Klasickou chorobou nedostatku vitamínu C je skorbut. Bol opísaný už v roku 1550 p. n. l. a až do 18. st. býval najčastejšou príčinou smrti námorníkov. Jej príznakmi je únava, malátnosť, zníženie počtu červených krviniek a poruchy väzivových tkanív. Historický opis spomína pomalé hojenie rán, krvácanie z nosa a krvné podliatiny, zdurené ďasná, z ktorých sa uvoľňujú zuby a sladkastý zápach z úst (Ungerová-Göbelová, 1999). Najťažšiu formu popísal Jacques Cartier, kapitán lodi, ktorá v roku 1536 skúmala rieku Sv. Vavrinca v Kanade: „Niektorí muži úplne stratili silu a nemohli sa udržať na nohách. Iní mali kožu posiatu purpurovo krvavými škvrnami, ktoré sa šírili od členkov cez kolená, stehná, ramená až na krk. Z úst im zapáchalo, ďasná mali tak mäkké, že z nich všetko mäso opadávalo až na korene zubov, ktoré tiež skoro všetky vypadali“ (Žamboch, 1996). Steny

drobných cievok tvorí z veľkej miery spojivové tkanivo, preto je jedným z najbežnejších príznakov nedostatku vitamínu C krvácanie (Mindell, 1996). Už newfoundlandskí Indiáni vedeli, že čaj zo smrekového ihličia túto chorobu lieči (Ungerová-Göbelová, 1999).

Ku koncu zimy trpeli často miernejšími prejavmi skorbutu ľudia v našich a severnejších zemepisných šírkach, pretože ich hlavným zdrojom vitamínu C bola zelenina a jablká, v ktorých obsah v tomto období nestačil potrebe. Zásadný prelom prinieslo zavedenie zemiakov, ktoré sú schopné poskytovať významné množstvo vitamínu C i na konci zimy. Hospodársky rozmach, vďaka ktorému nikto v Európe a Amerike netrpí nedostatkom potravín, priniesol prakticky likvidáciu skorbutu. Bežná dostupnosť najrôznejších južných plodov a prikláňanie sa ku konzumácii zeleniny šancu skorbutu ešte zmenšili, aj keď sa môže vyskytnúť u starších ľudí, ktorí si samy nevaria a stravujú sa väčšinou chlebom. Taktiež u bezdomovcov je možné prejavy nedostatku vitamínu C očakávať. Prejavmi nedostatku môže trpieť tiež novorodenec, pokiaľ jeho matka počas tehotenstva prijímala vysoké dávky vitamínu C (Žamboch, 1996). Už 15 mg stačí na odstránenie všetkých viditeľných príznakov skorbutu. Ak sa však človek stravuje bez vitamínu C viac ako 4 alebo 5 mesiacov, môže zomrieť (Ungerová-Göbelová, 1999).

Toxicita vitamínu C

Vo všeobecnosti je znášanlivosť vitamínu C veľmi dobrá. Niektorí vedci sú zástancami „megadávok“ a odporúčajú ich vzhľadom na veľmi špecifický liečivý účinok v tele. Skutočnosť, že účinok takýchto dávok nemá už nič spoločné s normálnym účinkom vitamínov, sa môže pritom ľahko prehliadnuť (Ungerová-Göbelová, 1999).

Intoxikácia kyselinou askorbovou je vzácna, skôr sa objavujú vedľajšie účinky ako zníženie hladiny vitamínu B₁₂, známky megaloblastickej anémie, vzostup rizika močových konkrementov a pri megadávkach v gravidite sa u novorodencov môže objaviť skorbut (Štípek et al., 2000). Medzi ďalšie vedľajšie účinky patrí tiež nevoľnosť a zvracanie (Ungerová-Göbelová, 1999). Tvorbe močových kameňov sa dá čiastočne vyhnúť užívaním magnézia, vitamínu B₆ a dostatočným pitným režimom, pričom sa táto suplementácia odporúča osobám, ktoré užívajú KA o množstve viac ako 750 mg denne (Mindell, 1995).

Toxické reakcie pri askorbáte sú veľmi vzácne, ale vyskytli sa pri dávkach nad 4 g.deň⁻¹. Vysoké dávky vitamínov môžu i bez toxických príznakov narušiť rovnováhu antioxidantných systémov, pretože antioxidantné vitamíny sú za určitých podmienok tiež prooxidantmi a teda tvoria radikály (Štípek et al., 2000).

Vitamín C v denných dávkach cez 2 000 mg môže spôsobiť uvoľňovanie antihistaminík, ktoré môžu pomôcť zmierniť alergické problémy. Niektorým ľuďom však môžu takéto dávky vitamínu C spôsobovať žalúdočné kŕče, hnačky či sucho v nose. Riziko nepríjemných vedľajších účinkov je možné znížiť rozdelením tejto dávky vitamínu C na dve dávky po 1 000 mg a jeho užívaním po jedle. Pokiaľ vedľajšie účinky vysokých dávok neprestávajú, je potrebné jeho užívanie prerušiť.

Vysoké dávky vitamínu C môžu zmeniť výsledky niektorých laboratórnych vyšetrení, a preto je potrebné informovať lekára o užívaní, aby sa nestanovila chybná diagnóza. Vitamín C môže napríklad prekryť prítomnosť krvi v stolici. U diabetikov je potrebné myslieť na to, že pri príjme veľkého kvanta vitamínu C sa môže nepresne stanoviť cukor v moči, aj keď existujú metodiky, ktoré nie sú citlivé na kyselinu askorbovú. Taktiež pôsobenie warfarínu, lieku pôvodne určeného proti zrážaniu krvi, sa môže zvrátiť, ak sa konzumuje veľké množstvo vitamínu C (Mindell, 1995).

1. 1. 1. 5 Zdroje vitamínu C

Ľudia, opice, morčatá a netopiere stratili v evolúcií schopnosť syntetizovať kyselinu askorbovú, pretože sa degeneroval gén pre koncový enzým biosyntézy askorbátu a to gulonolaktónoxidáza (Nishikimi a Yagi, 1996). Iba rastliny a väčšina živočíchov dokážu vitamín C syntetizovať z glukózy cez kyselinu glukurónovú (Hijová et al., 2003). U živočíchov, ktorí stratili schopnosť syntézy, musí byť KA prijatá v strave (Carr a Frei, 1999) alebo rôznymi suplementami (Mindell, 1996).

Prírodné zdroje

Jeho najbohatšími zdrojmi sú šípky (až 2000 mg), rakytník (1500 mg), prvosienka (430 mg), žihľava (110 mg.100 g⁻¹ jedlého podielu), ďalej paprika, paradajky, kel, zemiaky, ríbezle, petržlenová vňať, chren, listová zelenina, citrusy, jahody, chren, ružičková kapusta, kiwi, mango, papája, brokolica a podobne (Mindell, 1996).

Ovocie a plody

Vasilievová a Ľubinská (1987) uvádzajú, že na vitamín C sú najbohatšie šípky oranžového sfarbenia s odstávajúcimi zvyškami okvetných lístkov. Druhy šípok s nízkym obsahom vitamínu C majú tieto lístky pevne pritlačené k plodu. Priemerný obsah vitamínu C v šípkach sa pohybuje okolo 354,4 mg.100 g⁻¹ (Muchová et al., 2001). Pritom je zaujímavé, že šípky, citróny, pomaranče a čierne ríbezle neobsahujú enzým askorbinázu, ktorý vitamín C ničí (Mindell, 1996). Vitamín C zo šípok obsahuje bioflavonoidy a rôzne enzýmy, ktoré uľahčia jeho vstrebanie. V tabuľke č. 5. 1 – 5. 3 Sečanský (1954) poukazuje na rôzne zdroje vitamínu C a na jeho obsah v mg v 100 g potravy.

Kiwi je neobyčajne cenný zdroj vitamínu C. V 100 g, ktoré predstavujú jeden väčší plod, sa nachádza 100 až 150 mg tohto vitamínu, ktorý hrá dôležitú úlohu pri zvyšovaní celkovej obranyschopnosti ľudského organizmu (Lichardus, 2000). Jedno kiwi obsahuje 120 % DDD (Mindell, 1996).

Jeden stredne veľký pomaranč obsahuje 70 mg kyseliny askorbovej, čo je o 10 mg viac ako DOD pre nefajčiarov a šálka tejto šťavy obsahuje 124 mg vitamínu C. V polovici graperfrujtu sa nachádza asi 41 mg vitamínu C, čo sú 2/3 dennej odporúčanej dávky pre nefajčiarov a výborným zdrojom sú tiež jahody, pretože jedna šálka obsahuje 82 mg, čo je 120 % dennej odporúčanej dávky (Mindell, 1996).

Zelenina

Obsah vitamínu C kolíše v rámci toho istého druhu zeleniny v závislosti od kultivaru, stupňa zrelosti, termínu zberu a pestovateľskej oblasti. Jeho obsah priaznivo ovplyvňuje dostatok svetla a ultrafialové žiarenie, správna výživa, priemerná vlhkosť pôdy a iné faktory. Rozloženie kyseliny L-askorbovej nie je rovnaké ani v jednotlivých častiach rastliny (Pevná, 1989).

Vitamín C prijímame najmä v rastlinnej potrave. Z tabuľky č. 5. 1. vyplýva, aké pomerne veľké množstvo vitamínu C je v zelenej paprike. Ak je optimálna denná potreba 50 mg pre dospelého človeka, môže toto množstvo kryť 3 – 5 dkg šalátu zo surovej zelenej papriky, 10 dkg surovej kapusty alebo jedným citrónom (Sečanský, 1954). Jedna červená paprika obsahuje viac ako 150 % DOD pre nefajčiarov (Mindell, 1996). Jedna čajová lyžička sušeného petržlenu, ktorý má len 38 kalórií, poskytuje jednu pätinu odporúčanej dávky vitamínu C. Nenachádza sa tu veľa vitamínu C ako v pomarančoch, ale je ho viac

ako v iných jedlách. Petržlen sa však nepovažuje za vhodný zdroj, pretože je veľmi ťažké konzumovať dostatočné množstvo petržlenu, aby to malo významný podiel na celkovom príjme vitamínu C (Messina a Messina, 1998). Vhodným zdrojom je napríklad kaleráb, ktorý sa nazýva citrónom severu, pretože má zhruba rovnaký obsah vitamínu C ako toto citrusové ovocie (Hocman, 2000).

Živočíšne produkty

Živočíšne potraviny majú nízky obsah vitamínu C. Významnejšie z nich sú len nadobličky, prípadne iné žľazové orgány a rybacie ikry. Obsah vitamínu C v živočíšnych produktoch je dôležitý najmä pre Eskimákov, ktorí konzumujú prevažne bielkovinovú a tukovú stravu (Bučko a Ambrová, 1972). V tabuľke č. 5. 3. Sečanský (1954) poukazuje na obsah vitamínu C v 100 g živočíšnych produktoch a v tabuľke č. 6 sú uvedené ďalšie zdroje vitamínu C a percentuálne vyjadrenie krytia dennej odporúčanej dávky (Ungerová-Göbelová, 1999).

Ak nie je k dispozícii čerstvý produkt, ako náhrada je prijateľná mrazená či konzervovaná forma (Mindell, 1996). Vitamíny by sa mali prijímať v celom komplexe látok v prirodzenej forme v potravinách, pretože najlepšie pôsobia s ostatnými látkami (Červená a Červený, 1994). Efektívnosť prírodného, v rastlinách obsiahnutého vitamínu C je 3-5 krát vyššia ako tabletového (Pížl, 1977) a izolované vitamíny (v injekciách, tabletách) majú význam len v radikálnej liečbe niektorých ochorení (Červená a Červený, 1994).

Syntetické zdroje

Na otázku, či majú „prírodné“ alebo „syntetické“ vitamíny rozdielny účinok, sa dá z vedeckého aspektu odpovedať len záporne, pretože z chemickej stránky ide o identické substancie. „Prírodné vitamíny“ sa čo do účinku líšia od „syntetických“ len tým, že v potravinách sa nachádzajú vždy vo väzbe s inými dôležitými látkami a nikdy nie izolovane (Ungerová-Göbelová, 1999).

Vitamín C patrí k najčastejšie využívaným suplementom či už vo forme tradičných tabliet, tabliet s retardovaným účinkom, sirupu, prášku, žuvačky alebo cukríkov. Je dôležité, aby sa v krvi zabezpečila jeho stála vysoká koncentrácia, a preto sa odporúča používať prípravky s predĺženým účinkom (Mindell, 1995). Pížl (1977) uvádza, že

efektívnosť podávania vitamínu C v tabletách závisí od výšky jednorázovej dávky. Z gramovej dávky telo využije 75 %, z dvojgramovej 44 %, z trojgramovej 39 %, štvorgramovej 28 %, päťgramovej len 20 % (Mindell, 1995) a z dávky 12 g sa absorbuje iba 16 % pôvodného množstva vitamínu C (Štípek et al., 2000). Z toho vidieť, že vyššie dávky, ktoré sa niekedy odporúčajú, treba rovnomerne rozdeliť do celého dňa, inak sa väčšina vitamínu vyplaví močom. Maximálny efekt vitamínu C sa dosiahne asi po 5-6 hodinách od konzumácie. Využitelnosť tabletkového vitamínu C sa zvýši, ak ho konzumujeme so surovou zeleninou alebo ovocím. Čistý vitamín C sa vyrába z dextrózy získanej z kukurice. V prípravkoch sa už ani kukurica ani dextróza nenachádza. Najkvalitnejší je prípravok vitamínu C obsahujúci úplný komplex vitamínu C pozostávajúci aj z biologických flavonoidov, hesperidínu a rutínu. V tabletách či tobolkách môže byť až 1 000 mg množstvo vitamínu C, v práškovej forme dokonca 5 000 mg. Najčastejšie užívaná denná dávka sa môže meniť v rozmedzí od 300 mg po 4 g (Mindell, 1995) avšak netreba zabúdať na to, že vitamínové alebo minerálne tabletky sú iba doplnkami a nie náhradou za zdravú stravu (Briffa, 2000).

1. 1. 1. 6 Straty vitamínu C

Prísun vitamínov v základnej potrave môže byť síce dostatočný, ale skladovaním alebo kuchynskou úpravou sa často znehodnocujú, a tým vzniká ich nedostatok (Červená a Červený, 1994). Vitamín C je veľmi citlivý na teplo, kyslík, svetlo, vlhkosť a pridlhé skladovanie (Mindell, 1996).

Straty vitamínu C pred kuchynskou úpravou

Vitamín C je jedným z citlivých ukazovateľov zmien v surovine, či už počas transportu, skladovania alebo spracovania (Velíšek, 2002; Ďuračková, 1998). Jeho zachovanie je kritériom úrovne technológie spracovania ovocia a zeleniny (Balašík, 1975). Doplnenie potravinárskych kyselín a použitie surovín bohatých na kyseliny zvyšuje stupeň uchovateľnosti vitamínu C pri spracovaní, i jeho stálosti pri pôsobení vysokých teplôt. Pri spracovaní kyslých surovín (čierne, červené ríbezle, kyslé odrody jablák) znáša kyselina askorbová zahriatie až 100°C. Pri rozmrazení ovocia sa vitamíny uchovávajú dobre, ale striedanie nízkych teplôt a rozmrazovania sa prejavuje škodlivo na biologickej hodnote potravín (Šapiro, 1988).

Straty vitamínu C v zelenine a zemiakoch počas transportu, uskladňovania a varenia sú rôzne. Počas transportu až po príchod do obchodu sa stráca asi 20–30 % vitamínu C, pri trojdňovom uskladnení v chladničke 17 % a pri normálnej izbovej teplote 50 % (Bučko a Ambrová, 1972).

Podľa odhadu z 80. rokov v USA z celkového množstva prijatého vitamínu C pochádza 20 % zo zemiakov a 18 % z citrusov. U nás sú zemiaky zdrojom asi 30 % vitamínu C (Žamboch, 1996). Obsah vitamínu C v zemiakoch závisí od ročného obdobia, v ktorom sa konzumujú. Straty kyseliny askorbovej môžu dosiahnuť až 80 % (Sečanský, 1954). Značná pozornosť je venovaná vplyvu skladovania na obsah vitamínu C. Za vhodnú teplotu je považované rozmedzie 5 – 10 °C. Ale aj za dobrých podmienok skladovania sa nedá vyhnúť tomu, že ku koncu skladovacieho obdobia sa zachová asi len jedna tretina pôvodného množstva, ale ani to nie je málo, pretože jedna porcia takýchto zemiakov pokryje aspoň štvrtinu doporučenej dennej dávky (Žamboch, 1996). Čím nižšia je teplota miestnosti, v ktorej sú uskladnené, tým viac kyseliny askorbovej ostáva zachovanej, ale nesmú namrznúť (Sečanský, 1954).

Straty vitamínu C počas kuchynskej úpravy

Pri zhotovovaní jedál je potrebné brať do úvahy, že niektoré vitamíny sú veľmi nestále a ľahko sa ničia rozličnými tepelnými a chemickými vplyvmi pri príprave (Sečanský, 1954). Počas varenia, ak sa zelenina a zemiaky vložili do vriacej vody, sa stratí 12 % vitamínu C a ak sa vložili do studenej vody až 33 % (Bučko a Ambrová, 1972). Taktiež prídanie jedlej sódy do vody, aby zelenina ostala zelená, ničí prítomné vitamíny (Sečanský, 1954). Zemiaky strácajú varením alebo pečením 30–70 % kyseliny askorbovej, varením v pare okolo 5 % a roztláčené zemiaky sú ochudobnené o 25–75 % podľa toho, aký čas uplynie od prípravy po konzumáciu. K rýchlym stratám vitamínu C dochádza v zemiakoch, ktoré sú po uvarení udržiavané horúce. Obdobné zásady ako pri varení zemiakov platia i pre prípravu zeleniny, z ktorej pochádza asi 45 % vitamínu C. Z ovocia pochádza asi 15 %, z mlieka 3 % a z mäsa 2 % (Žamboch, 1996).

Veľmi nepriaznivo pôsobí ohrievanie. Zelenina pripravená predchádzajúci deň a na druhý deň zohrievaná nemá prakticky už žiadne vitamíny (Sečanský, 1954). Pri normálnom varení sa stráca asi 13 % vitamínu a pečením asi 30 % (Žamboch, 1996). V tabuľke č. 7 sú uvedené straty vitamínu C v potravinách po kuchynskej úprave (Sečanský, 1954).

Vitamín C sa ďalej stráca okysličovaním vzdušným kyslíkom. Preto rozličné pasírované zemiaky a zemiaková kaša nemajú už skoro žiadne vitamíny (Sečanský, 1954). Straty sú zapríčinené jednak vyššou teplotou, ale hlavnú úlohu hrá prístup vzduchu, takže rozpadnuté zemiaky strácajú za hodinu asi 75 % vitamínu, pri pevnejších kusoch je strata za jednu hodinu asi 35 % (Žamboch, 1996). Zelenina a zemiaky sa majú variť čo najkratšie a vodu pred vložením potravín treba nechať niekoľko minút vriieť, aby z nej unikol kyslík. Dodatočné prihrievanie spôsobuje ďalšiu stratu asi 30 % (Bučko a Ambrová, 1972).

Na vitamíny pôsobí nepriaznivo aj prítomnosť niektorých kovov, najmä železa, medi a zinku (Sečanský, 1954). Preto je dobré ovocie a zeleninu spracovávať nástrojmi z vhodných materiálov, ktorými sú napríklad hliník, umelé hmoty, ale i nerezová oceľ (Žamboch, 1996).

Straty vitamínu C počas konzervovania

1. Zmrazovanie - za hlavnú príčinu úbytku vitamínu C v ovocí sú považované kryštáliky ľadu, ktoré sa tvoria počas zmrazovania, a ktoré poškodzujú steny buniek. Šťava vytekajúca z porušených buniek potom prichádza pri rozmrazovaní do priameho styku so vzdušným kyslíkom a pri regenerácii enzýmov nastáva rýchla oxidácia vitamínu C. Zvlášť nepriaznivo pôsobí zmrazovanie pri kolísavej teplote. Vtedy ovocie i zelenina stráca takmer všetok vitamín C (Cerevitinov, 1952).

2. Sušenie - pri sušení na slnku stráca ovocie a zelenina takmer všetok vitamín C. Napríklad kapusta sušená pri 37 °C a skladovaná pri izbovej teplote 15-20 dní stráca 93 % pôvodného vitamínu C. Pre lepšie uchovanie pôvodného množstva sa odporúča začať sušenie vysokou teplotou (okolo 100 °C), aby sa zničila askorbináza, ktorá ničí tento vitamín. Okrem askorbinázy vplývajú na straty vitamínu C aj iné faktory: pH, rôzne zloženie rastlinného tkaniva a podobne (Cerevitinov, 1952).

3. Sterilizácia - sterilizácia v hermeticky uzatvorených nádobách je jedným z najlepších spôsobov konzervovania pre zachovanie vitamínu C na dlhší čas. Pomarančová šťava stráca sterilizáciou v plechovkách, pri teplote 80-100 °C a trvajúcej 20-30 minút, len málo vitamínu C. Až zahrievanie do 130 °C ničí 50 % vitamínu C. Dôležitá je exhaustácia t. j. odvzdušnenie plechoviek (Cerevitinov, 1952).

4. Kvasenie - kvasená kapusta je veľmi dobrý antiskorbutický prostriedok. Kvasením sa uchová asi 50-70 % pôvodného množstva vitamínu C. Straty vitamínu C možno znížiť:

- úplným odstránením O₂
- použitím čistých kultúr mliečneho kvasenia
- zrýchlením kvasného procesu
- rýchlym zvýšením kyslosti

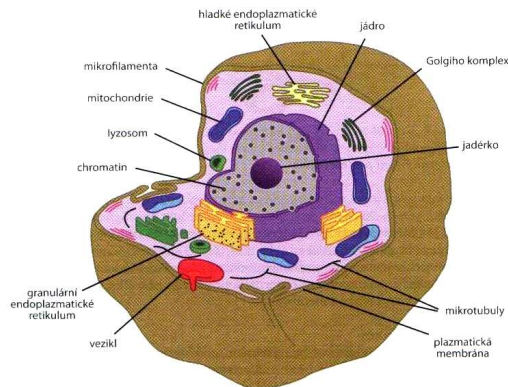
Zmrazením kvasenej kapusty sa znižuje obsah vitamínu C takmer na polovicu. Varením o 40-50 %, t. j. rovnako ako pri varení čerstvej kapusty (Kyzlink, 1988).

Straty vitamínu C v organizme

Vitamín C sa z organizmu odstráni do 2–3 h v závislosti na obsahu jedla v žalúdku (Mindell, 1995). Na jeho využitie majú výrazný vplyv tiež lieky, pretože napríklad užívanie kortikoidov a aspirínu obmedzuje vstrebávanie v tele a aj antibiotiká a lieky na spanie (barbituráty) narušujú látkovú premenu vitamínu C, a preto by sa pri terapiách týmito preparátmi malo užívať o 100 až 200 mg viac vitamínu C (Ungerová-Göbelová, 1999). Vstrebávaniu bráni taktiež alkohol (Mindell, 1996) a zvýšené straty môžu byť spôsobené aj stresom. Je zaujímavé, že pri silných záporných emóciách (hnev, plač), trvajúcich iba niekoľko minút sa dokáže „spáliť“ 2000–3000 mg vitamínu C. Pritom je dôležité si uvedomiť, že vitamín C nie je organizmus schopný skladovať (Červená a Červený, 1994).

1. 2 Homeostáza bunky

Bunka je základná stavebná jednotka živej hmoty. Má všetkých päť známych prejavov života a to: schopnosť rozmnožovania, diferenciácie a rastu, metabolizmu, pohyblivosti a dráždivosti (Massányi, 2008). Počas vývoja sa v bunkách vytvorili funkčné štruktúry, tzv. bunkové organely, ktoré znázorňuje obrázok č. 5 (Langmeier et al., 2009).



Obr. č. 5: Schéma bunky a jej najdôležitejších organel (Langmeier et al., 2009).

Podkladom normálnej, fyziologickej existencie organizmu je stálosť zloženia vnútorného prostredia, ktorá je nevyhnutná pre normálnu činnosť všetkých buniek. Každú bunku obklopuje vrstvička intersticiálnej tekutiny, z ktorej prijíma živiny, a do ktorej odovzdáva splodiny vznikajúce pri ich premene. Vnútorné prostredie musí preto plniť dôležité funkcie zahrňujúce prísun živín, kyslíka a regulačných signálov, odsun katabolitov, oxidu uhličitého a ďalších látok spolu s regulačnými orgánmi, zabezpečuje stálosť osmolarity, iónového zloženia a koncentrácie iónov H^+ (pH). Túto funkčnú dynamickú rovnováhu zloženia vnútorného prostredia organizmu sa označuje termínom homeostáza (Trojan et al., 1992).

Minerálne látky regulujú fyzikálne a chemické procesy telových tekutín, zabezpečujú rovnováhu v hospodárení s kyselinami a zásadami, množstvom tekutín v cievach, bunkách a tkanivách. K minerálnym látkam patria napríklad sodík, chlór, vápnik, magnézium a fosfor. Pretože sa vo voľnej forme vyskytujú ako elektricky nabité častice, nazývajú sa aj elektrolytmi. Normálne hodnoty najdôležitejších minerálnych látok v sére sú uvedené v tabuľke č. 9.

Sodík má veľký význam pri regulácii hospodárenia s vodou v tele (Burkhardtová, 2007). Je hlavným kationom extracelulárnej tekutiny (Langmeier, 2009). Svojou schopnosťou akumulovať vodu zabezpečuje správne rozdelenie tekutín vo vnútri a mimo buniek (Burkhardtová, 2007). Chlorid je hlavným anionom extracelulárnej tekutiny (Langmeier, 2009) a je potrebný na tvorbu kyseliny soľnej v žalúdku (Burkhardtová, 2007). Intracelulárna tekutina je od extracelulárnej oddelená bunkovou membránou, ktorá tvorí takmer nepriepustnú bariéru pre všetky vo vode rozpustné molekuly a hrá tak kľúčovú úlohu v rozdielnom zložení oboch kompartmentov. V intracelulárnej tekutine je veľmi malá koncentrácia Na^+ , naopak je tu vysoká koncentrácia draslíka (K^+), ktorý tak predstavuje hlavný intracelulárny katión (Langmeier, 2009). Draslík zabezpečuje spolu so sodíkom vyrovnanie stavu vody v telových bunkách a je veľmi dôležitý na stimuláciu svalov a nervových buniek, najmä srdcového svalu (Burkhardtová, 2007). Tiež obsah aniónov sa v intracelulárnom priestore líši, pričom hlavnými aniónmi sú fosfáty a organické anióny, predovšetkým proteíny (Langmeier, 2009). Spolu s vápnikom je fosfor, alebo skôr fosfát, soľ kyseliny fosforečnej, hlavnou zložkou kostí. Fosfát sa však vyskytuje aj v takmer každej pluripotentnej kmeňovej bunke, pretože chemicky je zviazaný s mnohými produktmi metabolizmu. Asi 85 % zásob fosfátu v tele je v kostre a zuboch. Z celkového množstva vápnika, prítomného v našom tele, slúži 99 % ako stavebná zložka kostí. Hospodárenie s vápnikom sa spolu s hospodárením s fosfátom riadi komplikovaným mechanizmom, na ktorom spolupôsobí hormón z prištítnych teliesok, parathormón a vitamín D. Ďalšie dôležité úlohy vápnika sú regulácia priepustnosti ciev, acidobázické hospodárenie, zrážanie krvi a elektrický prenos signálov medzi nervami a cievami. Magnézium je popri draslíku dôležitá minerálna látka pre funkcie pluripotentných kmeňových buniek, v ktorých aktivuje množstvo enzýmov (Burkhardtová, 2007).

2 Cieľ

Cieľom predloženej diplomovej práce bolo prispieť ku komplexnejšiemu poznaniu riešenej problematiky, ktorú predstavuje vplyv kyseliny askorbovej na vybrané parametre homeostázy granulóznych buniek nosníc a taktiež spracovať najnovšie poznatky z domácej i zahraničnej literatúry.

Pre splnenie vytýčeného cieľa sme sa zamerali na preukazné rozdiely v aktivite superoxiddismutázy a koncentrácií vybraných biochemických parametrov a minerálnych látok v sledovaných bunkách po pridaní vitamínu C v rôznych dávkach v porovnaní s kontrolnou skupinou, čo prispeje k užšiemu oboznámeniu sa s účinkami tohto vitamínu.

Po aplikácii kyseliny askorbovej do granulóznych buniek nosníc *in vitro* sme analyzovali:

- aktivitu superoxiddismutázy v lyzáte buniek i kultivačnom médiu
- uvoľňovanie vápnika granulóznymi bunkami nosníc v porovnaní s kontrolnou skupinou
- uvoľňovanie horčíka granulóznymi bunkami nosníc v porovnaní s kontrolnou skupinou
- uvoľňovanie fosforu granulóznymi bunkami nosníc v porovnaní s kontrolnou skupinou
- uvoľňovanie sodíka granulóznymi bunkami nosníc v porovnaní s kontrolnou skupinou
- uvoľňovanie draslíka granulóznymi bunkami nosníc v porovnaní s kontrolnou skupinou
- uvoľňovanie glukózy granulóznymi bunkami nosníc v porovnaní s kontrolnou skupinou
- uvoľňovanie triacylglycerolov granulóznymi bunkami nosníc v porovnaní s kontrolnou skupinou
- uvoľňovanie celkových bielkovín granulóznymi bunkami nosníc v porovnaní s kontrolnou skupinou
- vytváranie monovrstvy granulóznych buniek nosníc v porovnaní s kontrolnou skupinou

3 Metodika

3.1 Príprava, kultivácia a spracovanie granulóznych buniek vaječníkov nosníc

Pre štúdium homeostázy a antioxidačnej schopnosti granulóznych buniek po aplikácii rôznych dávok kyseliny askorbovej sme ako experimentálne zvieratá použili nosnice znáškového hybridu White Leghorn. Do pokusu bolo zaradených 12 nosníc vo veku 500 dní s priemernou intenzitou znášky 75 %.

Nosnice boli utratené medzi 9:00 a 11:00 hod., pričom sme izolovali najväčšie folikuly (F1-F2). Z folikulov sme získali granulózne bunky štandardným spôsobom (Sirotkin et al., 2007). Suspenziu granulóznych buniek sme odstredžovali (2000 ot.min.⁻¹, 10 minút) za účelom oddelenia od folikulovej tekutiny s následným premývaním pomocou sterilného kultivačného média DMEM/F12 1:1 (BioWhittaker™, Verviers, Belgium) doplneného 10 % fetálnym teľacím sérom (BioWhittaker™) a 1 % antibiotikom - antimykotikom (Sigma, St. Louis, MO, USA) na finálnu koncentráciu 10⁶ buniek.ml⁻¹ média (určené pomocou hemocytometra). Získanú bunkovú suspenziu sme rozdelili do 24 jamiek v kultivačných platničkách. (Nunc™, Roskilde, Denmark, 1 ml/jamku, obr. č. 11). Kultivácia prebiehala pri 38,5 °C a pri vlhkosti vzduchu 5 % CO₂, po vytvorenie 75 % súvislej monovrstvy (4 dni). Po dosiahnutí tohto bodu sme médium vymenili a kultivácia granulóznych buniek ďalej prebiehala za rovnakých podmienok 18 hodín. Na kultivačnej platničke sme stanovili 6 skupín. Ku granulóznym bunkám kontrolnej skupiny (K) bolo pridané len médium. Ostatné skupiny boli pokusné (Max, A, B, C, D). Pokusným skupinám bola pridaná kyselina askorbová v rôznych koncentráciách nasledovne: Max – 1 mg.ml⁻¹, A – 0,5 mg.ml⁻¹, B – 0,33 mg.ml⁻¹, C – 0,17 mg.ml⁻¹, D – 0,09 mg.ml⁻¹. Po 18 hodinách sme kultivačné médium aspirovali a uskladnili pri -70 °C pre ďalšie stanovenia. Do každej jamky v kultivačných platničkách sme pridali lyzačný roztok s cieľom narušenia bunkovej membrány a získania intracelulárnej tekutiny. Lyzát sme následne 3x centrifugovali a získanú intracelulárnu tekutinu sme aspirovali do endorfiek.

3. 2 Stanovenie SOD a vybraných biochemických ukazovateľov kultivačného média a lyzátoov buniek

Enzým superoxiddismutázu sme stanovili v kultivačnom médiu, ako aj v lyzáte buniek, pomocou spektrofotometra Genesys 10 využitím antioxidant RANDOX kitov (Randox Labs., Crumlin, UK). Vybrané biochemické parametre (vápnik, fosfor, horčík, sodík, draslík, chloridy, celkové bielkoviny, glukóza a triacylglyceroly) v kultivačnom médiu sme stanovili na poloautomatickom spektrofotometre Microlab 300 (Vilaf Scientific, Dieren, The Netherlands, obr. č. 9), mikroprocesorom kontrolovanom prístroji EasyLite (Medica, Bedford, USA, obr. č. 8) a využitím spektrofotometra Genesys 10 (Thermo Fisher Scientific Inc, USA, obr. č. 10).

3. 3 Štatistické analýzy

Hodnoty týkajúce sa vplyvu rôznych dávok kyseliny askorbovej na vybrané parametre homeostázy a antioxidačnú schopnosť granulóznych buniek nosníc sú priemerné hodnoty získané z troch rozličných pokusov vykonaných v rozličných dňoch, použitím rozličných súborov vaječnícov získaných z 10-12 zvierat. Štatistické rozdiely medzi skupinami boli hodnotené one-way ANOVA testom použitím štatistického programu Sigma Plot 11.0 (Jandel, Corte Madera, USA). Uvedené hodnoty sú priemerné hodnoty \pm SD (smerodajná odchýlka, standard deviation). Signifikantnosť rozdielov medzi kontrolnou a experimentálnymi skupinami bola určená na úrovni $p < 0,05$.

4 Výsledky

V experimente sme ku granulóznym bunkám vaječníkov nosníc pridávali rôzne množstvá kyseliny askorbovej a média do pokusných skupín (Max, A, B, C, D), pričom kontrolná skupina (K) obsahovala iba médium (tabuľka č. 8).

Tabuľka č. 8: Koncentrácia kyseliny askorbovej v ml v jednotlivých skupinách.

skupina	granulózne bunky.ml ⁻¹ média	kyselina askorbová (ml)	médium (ml)	pomer
K	10 ⁶	0	1	0:1
Max	10 ⁶	1	0	1:0
A	10 ⁶	0,5	0,5	1:1
B	10 ⁶	0,33	0,67	1:5
C	10 ⁶	0,17	0,83	1:7
D	10 ⁶	0,09	0,91	1:10

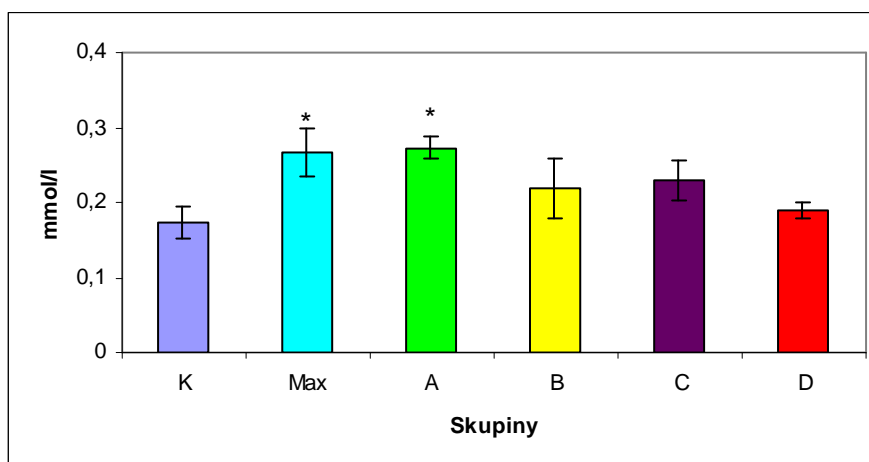
4. 1 Vplyv kyseliny askorbovej na aktivitu superoxiddismutázy v granulóznych bunkách nosníc

V súvislosti s aktivitou antioxidantného enzýmu superoxiddismutázy (SOD) v granulóznych bunkách vaječníkov nosníc po experimentálnom podaní rôznych dávok kyseliny askorbovej, boli zaznamenané preukazné rozdiely medzi kontrolnou skupinou (K) a experimentálnymi skupinami. Aktivita SOD v granulóznych bunkách sa stanovila v lyzáte buniek i kultivačnom médiu, pričom sme dospeli k nasledovným výsledkom:

Aktivita SOD v lyzáte buniek

Aktivita SOD v granulóznych bunkách vaječníkov nosníc bola v kontrolnej skupine (K) stanovená na úrovni $0,173 \pm 0,0208 \text{ mmol.l}^{-1}$ a po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej v rôznych dávkach (tabuľka č. 8) došlo k zmenám uvoľnenia tohto enzýmu, čo je znázornené v grafe č. 1. Najvyšší a preukazný rozdiel ($P < 0,05$) bol zistený v prípade experimentálnej skupiny A ($0,273 \pm 0,0153 \text{ mmol.l}^{-1}$) a Max ($0,267 \pm 0,0321 \text{ mmol.l}^{-1}$) s najvyššími dávkami kyseliny askorbovej použitej v experimente. Pokusné skupiny B ($0,22 \pm 0,04 \text{ mmol.l}^{-1}$), C ($0,23 \pm 0,0265 \text{ mmol.l}^{-1}$), D ($0,19 \pm 0,01 \text{ mmol.l}^{-1}$) vykazovali síce vyššie koncentrácie SOD v porovnaní s kontrolnou skupinou (K), ale výsledky neboli signifikantne významné ($P > 0,05$).

Graf č. 1: Uvoľnenie SOD granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v lyzáte po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej.

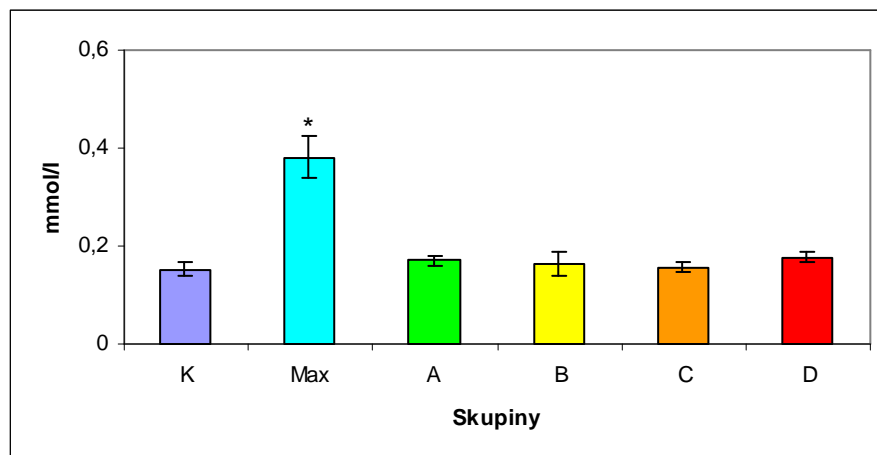


K-kontrolná skupina (0 ml KA), Experimentálne skupiny: Max (1 ml KA), A (0,5 ml), B (0,33 ml), C (0,17 ml), D (0,09 ml), * preukazný rozdiel v uvoľňovaní v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($P < 0,05$)

Aktivita SOD v kultivačnom médiu

Aktivita SOD v granulóznych bunkách vaječníkov bola v kontrolnej skupine (K) stanovená na úrovni $0,153 \pm 0,0126 \text{ mmol.l}^{-1}$ a po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej v rôznych dávkach (tabuľka č. 8) došlo k zmenám uvoľnenia tohto enzýmu, čo je znázornené v grafe č. 2. Najvyšší a preukazný rozdiel ($P < 0,05$) bol zistený v prípade pokusnej skupiny Max ($0,38 \pm 0,0432 \text{ mmol.l}^{-1}$) s najvyššou dávkou kyseliny askorbovej použitej v experimente. Pokusné skupiny A ($0,17 \pm 0,01 \text{ mmol.l}^{-1}$), B ($0,163 \pm 0,0253 \text{ mmol.l}^{-1}$), C ($0,157 \pm 0,00877 \text{ mmol.l}^{-1}$), D ($0,177 \pm 0,00957 \text{ mmol.l}^{-1}$) vykazovali síce vyššie, ale zanedbateľné hodnoty v porovnaní s kontrolnou skupinou (K) ($P > 0,05$).

Graf č. 2: Uvoľnenie SOD granulóznymi bunkami vaječníkov nosíc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej.

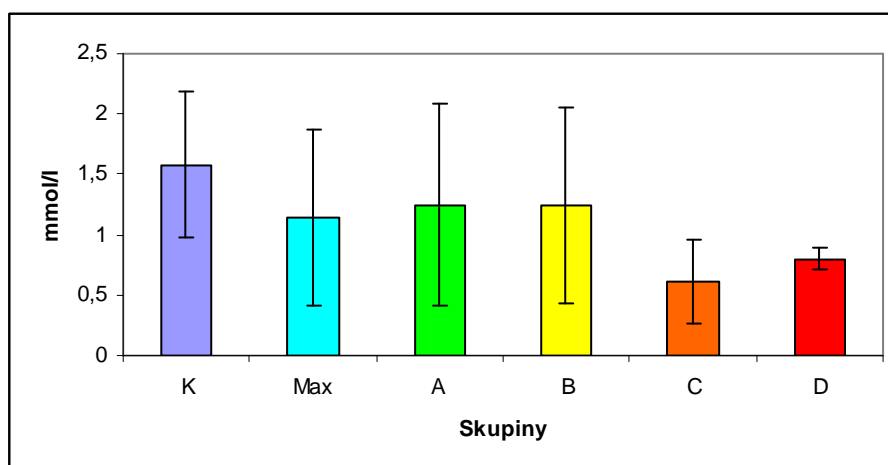


K-kontrolná skupina (0 ml KA), Experimentálne skupiny: Max (1 ml KA), A (0,5 ml), B (0,33 ml), C (0,17 ml), D (0,09 ml), * preukazný rozdiel v uvoľňovaní v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($P < 0,05$)

4. 2 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie vápnika granulóznymi bunkami nosníc

Po aplikácií kyseliny askorbovej v rôznych dávkach (tabuľka č. 8) sme medzi kontrolnou skupinou a pokusnými skupinami nezaznamenali preukazné rozdiely ($P > 0,05$) týkajúce sa uvoľňovania vápnika, čo je znázornené v grafe č. 3. Koncentrácia vápnika v granulóznych bunkách vaječníkov nosníc v kontrolnej skupine (K) bez pridania kyseliny askorbovej bola $1,578 \pm 0,606$ mmol.l⁻¹. V pokusných skupinách Max ($1,143 \pm 0,733$ mmol.l⁻¹), A ($1,25 \pm 0,839$ mmol.l⁻¹), B ($1,242 \pm 0,819$ mmol.l⁻¹), C ($0,613 \pm 0,351$ mmol.l⁻¹), D ($0,802 \pm 0,0884$ mmol.l⁻¹) sme zistili znížené uvoľňovanie vápnika, avšak tieto výsledky neboli štatisticky významné ($P > 0,05$).

Graf č. 3: Uvoľňovanie vápnika granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej.

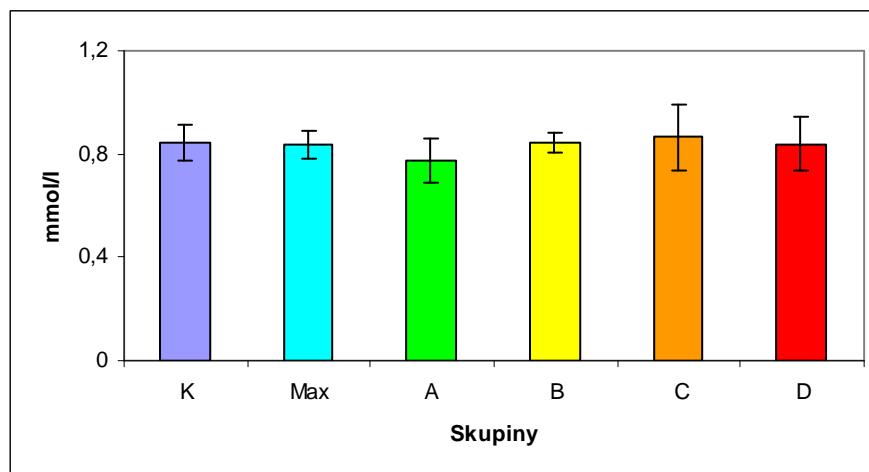


K-kontrolná skupina (0 ml KA), Experimentálne skupiny: Max (1 ml KA), A (0,5 ml), B (0,33 ml), C (0,17 ml), D (0,09 ml), * preukazný rozdiel v uvoľňovaní v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($P < 0,05$)

4. 3 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie horčíka granulóznymi bunkami nosníc

Po aplikácií kyseliny askorbovej v rôznych množstvách (tabuľka č. 8) sme medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami nezaznamenali významné rozdiely pri uvoľňovaní horčíka granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc, čo je znázornené v grafe č. 4. Koncentrácia horčíka v kontrolnej skupine (K) bez kyseliny askorbovej bola stanovená na úrovni $0,845 \pm 0,0705$ mmol.l⁻¹. Uvoľňovanie horčíka granulóznymi bunkami v experimentálnych skupinách Max ($0,833 \pm 0,0544$ mmol.l⁻¹), A ($0,772 \pm 0,085$ mmol.l⁻¹), B ($0,845 \pm 0,0387$ mmol.l⁻¹), C ($0,865 \pm 0,127$ mmol.l⁻¹) a D ($0,84 \pm 0,108$ mmol.l⁻¹) nevykazovalo preukazné rozdiely ($P > 0,05$), pretože bunky uvoľnili podobné koncentrácie horčíka v porovnaní s kontrolnou skupinou (K).

Graf č. 4: Uvoľňovanie horčíka granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej.

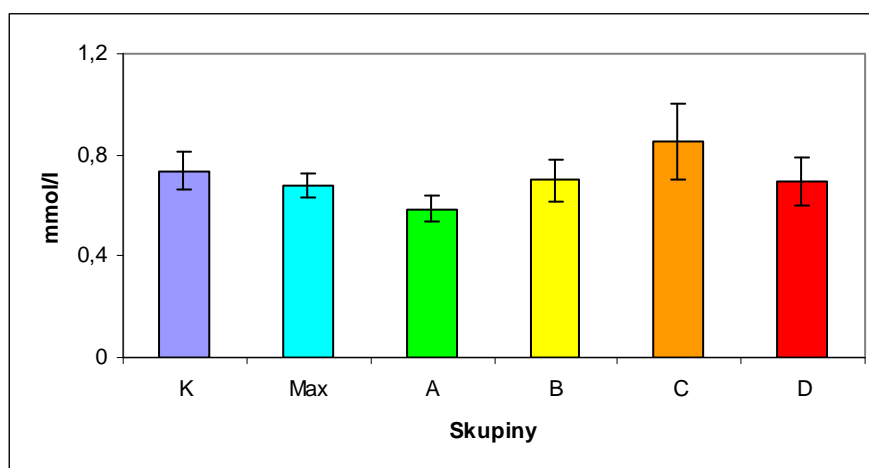


K-kontrolná skupina (0 ml KA), Experimentálne skupiny: Max (1 ml KA), A (0,5 ml), B (0,33 ml), C (0,17 ml), D (0,09 ml), * preukazný rozdiel v uvoľňovaní v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($P < 0,05$)

4. 4 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie fosforu granulóznymi bunkami nosníc

V súvislosti s uvoľňovaním fosforu granulóznymi bunkami vaječníkov po experimentálnom podaní rôznych dávok kyseliny askorbovej (tabuľka č. 8) neboli zaznamenané preukazné rozdiely ($P > 0,05$) medzi kontrolnou skupinou (K) a pokusnými skupinami, čo je znázornené v grafe č. 5. Koncentrácia fosforu v kontrolnej skupine (K) bez kyseliny askorbovej bola na úrovni $0,738 \pm 0,0737$ mmol.l⁻¹, pričom podobné uvoľňovanie bolo zistené v prípade všetkých pokusných skupín: Max ($0,68 \pm 0,0483$ mmol.l⁻¹), A ($0,585 \pm 0,0507$ mmol.l⁻¹), B ($0,7 \pm 0,0837$ mmol.l⁻¹), C ($0,85 \pm 0,151$ mmol.l⁻¹) a D ($0,693 \pm 0,0954$ mmol.l⁻¹).

Graf č. 5: Uvoľňovanie fosforu granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej.

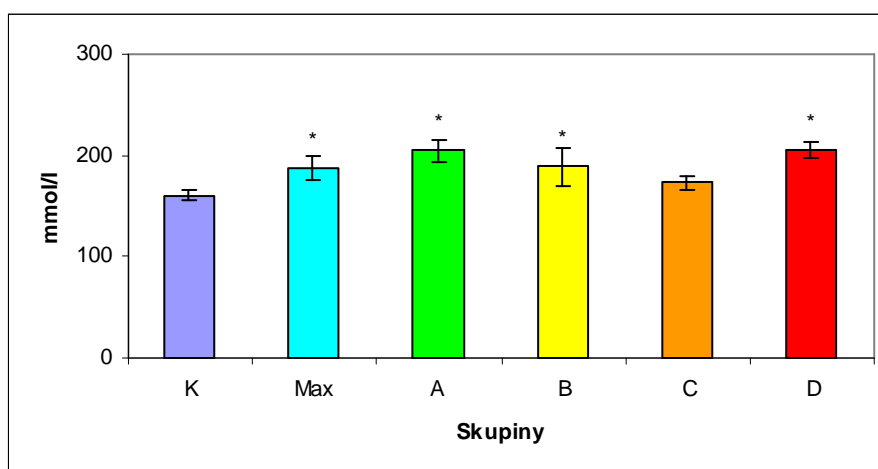


K-kontrolná skupina (0 ml KA), Experimentálne skupiny: Max (1 ml KA), A (0,5 ml), B (0,33 ml), C (0,17 ml), D (0,09 ml), * preukazný rozdiel v uvoľňovaní v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($P < 0,05$)

4. 5 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie sodíka granulóznymi bunkami nosníc

Po aplikácií kyseliny askorbovej v rôznych dávkach (tabuľka č. 8) sme medzi kontrolnou skupinou (K) a experimentálnymi skupinami zaznamenali rozdiely pri uvoľňovaní sodíka granulóznymi bunkami nosníc, čo znázorňuje graf č. 6. Koncentrácia sodíka v bunkách vaječníkov v kontrolnej skupine (K) bez aplikácie kyseliny askorbovej bola na úrovni $160,65 \pm 4,775$ mmol.l⁻¹. Zaznamenali sme preukazné ($P < 0,05$) zvýšenie v uvoľňovaní sodíka bunkami v pokusnej skupine Max ($188,125 \pm 11,996$ mmol.l⁻¹) s najvyššou dávkou kyseliny askorbovej a v skupine A ($204,875 \pm 10,882$ mmol.l⁻¹) s najvyšším rozdielom, v skupine B ($188,775 \pm 18,284$ mmol.l⁻¹) a D ($204,775 \pm 7,704$ mmol.l⁻¹) v porovnaní s kontrolnou skupinou (K). Pokusná skupina C ($173,2 \pm 6,779$ mmol.l⁻¹) vykazovala síce vyššie hodnoty ako kontrolná skupina (K), ale výsledok nebol preukazný ($P > 0,05$).

Graf č. 6: Uvoľňovanie sodíka granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej.

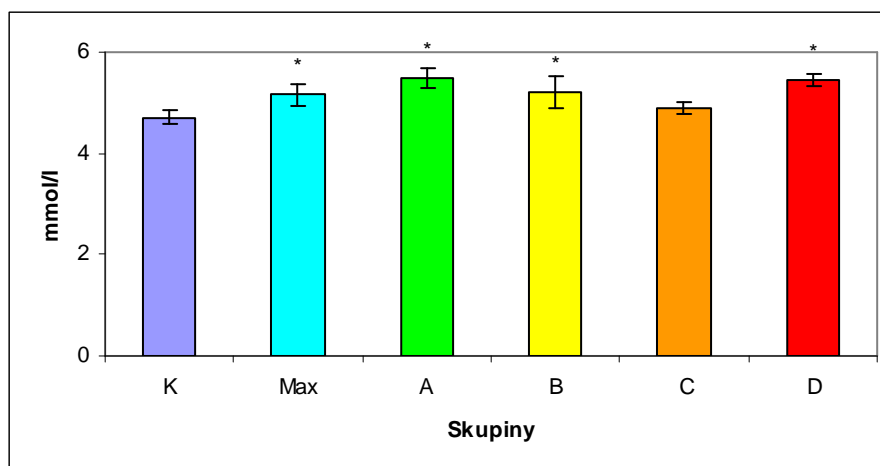


K-kontrolná skupina (0 ml KA), Experimentálne skupiny: Max (1 ml KA), A (0,5 ml), B (0,33 ml), C (0,17 ml), D (0,09 ml), * preukazný rozdiel v uvoľňovaní v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($P < 0,05$)

4. 6 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie draslíka granulóznymi bunkami nosníc

Po aplikácií kyseliny askorbovej v rôznych dávkach (tabuľka č. 8) sme medzi kontrolnou skupinou (K) a experimentálnymi skupinami zaznamenali rozdiely pri uvoľňovaní draslíka, čo vyjadruje graf č. 7. Koncentrácia draslíka v granulóznych bunkách vaječníkov nosníc v kontrolnej skupine (K) bez aplikácie kyseliny askorbovej bola na úrovni $4,705 \pm 0,142$ mmol.l⁻¹. Zaznamenali sme preukazné ($P < 0,05$) zvýšenie v uvoľňovaní draslíka bunkami v pokusnej skupine Max ($5,162 \pm 0,211$ mmol.l⁻¹) s najvyššou dávkou kyseliny askorbovej, ďalej v skupine A ($5,487 \pm 0,187$ mmol.l⁻¹) s najvyšším rozdielom, v skupine B ($5,195 \pm 0,313$ mmol.l⁻¹) a D ($5,438 \pm 0,126$ mmol.l⁻¹) v porovnaní s kontrolnou skupinou (K). Pokusná skupina C ($4,895 \pm 0,111$ mmol.l⁻¹) vykazovala síce vyššie hodnoty ako kontrolná skupina (K), ale výsledok nebol signifikantný ($P > 0,05$).

Graf č. 7: Uvoľňovanie draslíka granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej

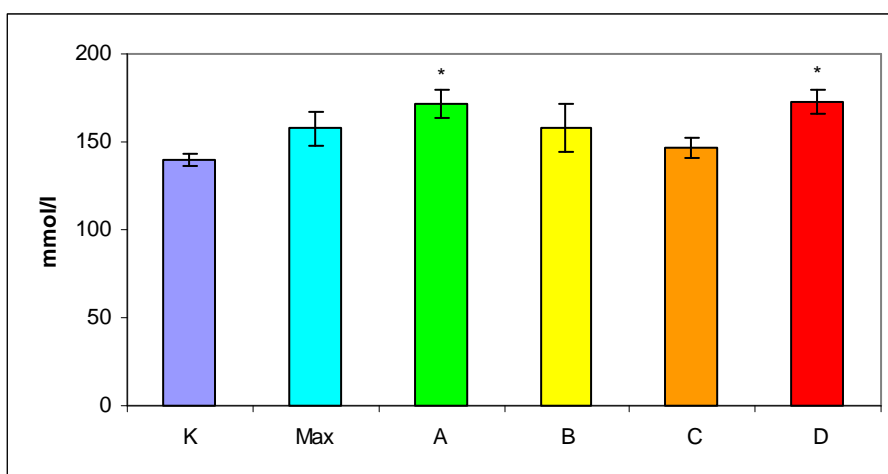


K-kontrolná skupina (0 ml KA), Experimentálne skupiny: Max (1 ml KA), A (0,5 ml), B (0,33 ml), C (0,17 ml), D (0,09 ml), * preukazný rozdiel v uvoľňovaní v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($P < 0,05$)

4. 7 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie chlóru granulóznymi bunkami nosníc

V súvislosti s uvoľňovaním chlóru granulóznymi bunkami vaječníkov po experimentálnom podaní rôznych dávok kyseliny askorbovej (tabuľka č. 8) boli zaznamenané preukazné ($P < 0,05$) rozdiely medzi kontrolnou skupinou (K) a pokusnými skupinami, čo je znázornené v grafe č. 8. Koncentrácia chlóru v kontrolnej skupine (K) bez kyseliny askorbovej bola na úrovni $139,55 \pm 3,523$ mmol.l⁻¹. Najvyšší a preukazný rozdiel v uvoľňovaní chlóru granulóznymi bunkami bol zistený v experimentálnej skupine D ($173,175 \pm 6,881$ mmol.l⁻¹) s najnižšou koncentráciou kyseliny askorbovej. Podobné uvoľňovanie chlóru s preukazným rozdielom sme zaznamenali v pokusnej skupine A ($171,7 \pm 8,301$ mmol.l⁻¹). Experimentálne skupiny Max ($157,55 \pm 9,329$ mmol.l⁻¹), B ($158,05 \pm 14,079$ mmol.l⁻¹) a C ($146,525 \pm 5,184$ mmol.l⁻¹) vykazovali síce vyššie hodnoty v porovnaní s kontrolnou skupinou (K), ale rozdiely neboli signifikantné ($P > 0,05$).

Graf č. 8: Uvoľňovanie chlóru granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej

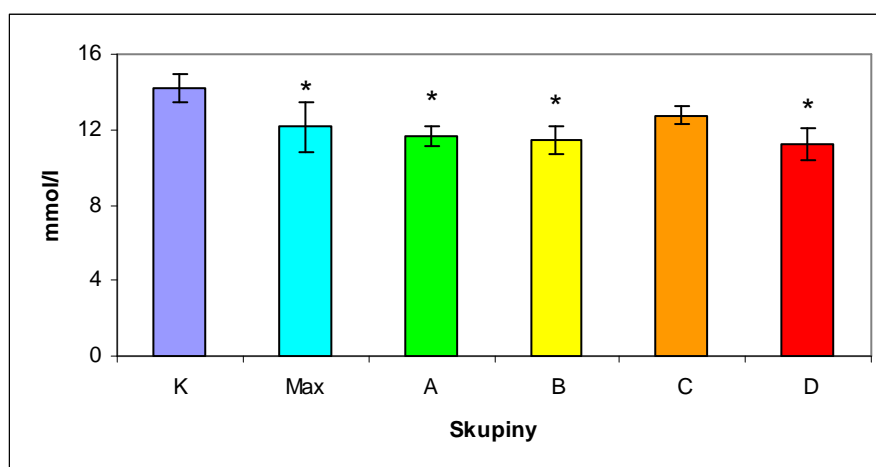


K-kontrolná skupina (0 ml KA), Experimentálne skupiny: Max (1 ml KA), A (0,5 ml), B (0,33 ml), C (0,17 ml), D (0,09 ml), * preukazný rozdiel v uvoľňovaní v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($P < 0,05$)

4. 8 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie glukózy granulóznymi bunkami nosníc

Po aplikácií kyseliny askorbovej v rôznych dávkach (tabuľka č. 8) sme medzi kontrolnou skupinou (K) a experimentálnymi skupinami zaznamenali rozdiely pri uvoľňovaní glukózy, čo vyjadruje graf č. 9. Koncentrácia glukózy v granulóznych bunkách vaječníkov nosníc v kontrolnej skupine (K) bez aplikácie kyseliny askorbovej bola stanovená na úrovni $14,225 \pm 0,732$ mmol.l⁻¹. Najvyšší a preukazný ($P < 0,05$) rozdiel v uvoľňovaní glukózy bunkami sme zaznamenali v pokusnej skupine D ($11,225 \pm 0,892$ mmol.l⁻¹) s najnižšou koncentráciou kyseliny askorbovej použitej v experimente. Podobné preukazné zníženie ($P < 0,05$) sa zistilo v pokusných skupinách Max ($12,15 \pm 1,318$ mmol.l⁻¹), A ($11,675 \pm 0,525$ mmol.l⁻¹) a B ($11,45 \pm 0,723$ mmol.l⁻¹) v porovnaní s kontrolnou skupinou (K). V skupine C ($12,7 \pm 0,5$ mmol.l⁻¹) došlo tiež k zníženému uvoľňovaniu glukózy bunkami, avšak výsledok nebol štatisticky významný ($P > 0,05$).

Graf č. 9: Uvoľňovanie glukózy granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej.

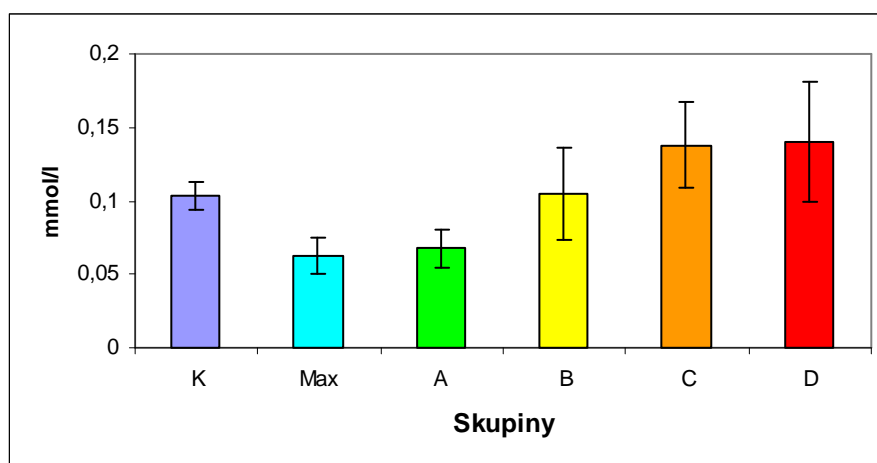


K-kontrolná skupina (0 ml KA), Experimentálne skupiny: Max (1 ml KA), A (0,5 ml), B (0,33 ml), C (0,17 ml), D (0,09 ml), * preukazný rozdiel v uvoľňovaní v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($P < 0,05$)

4. 9 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie triacylglycerolov granulóznymi bunkami nosníc

Po aplikácií kyseliny askorbovej v rôznych dávkach (tabuľka č. 8) sme medzi kontrolnou skupinou a pokusnými skupinami nezaznamenali preukazné rozdiely ($P>0,05$) týkajúce sa uvoľňovania triacylglycerolov, čo je znázornené v grafe č. 10. Koncentrácia triacylglycerolov v granulóznych bunkách vaječníkov v kontrolnej skupine (K) bez pridania kyseliny askorbovej bola na úrovni $0,103\pm 0,00957$ mmol.l⁻¹. V pokusných skupinách Max ($0,0625\pm 0,0126$ mmol.l⁻¹), A ($0,0675\pm 0,0126$ mmol.l⁻¹), B ($0,10\pm 0,0311$ mmol.l⁻¹), C ($0,138\pm 0,0287$ mmol.l⁻¹), D ($0,14\pm 0,0408$ mmol.l⁻¹) sme zistili podobné uvoľňovanie triacylglycerolov v porovnaní s kontrolnou skupinou (K), pričom znížené uvoľňovanie vykazovali skupiny Max a A a zvýšené v skupinách B, C, D, ale tieto výsledky nedosahovali preukazný rozdiel ($P>0,05$).

Graf č. 10: Uvoľňovanie triacylglycerolov granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej

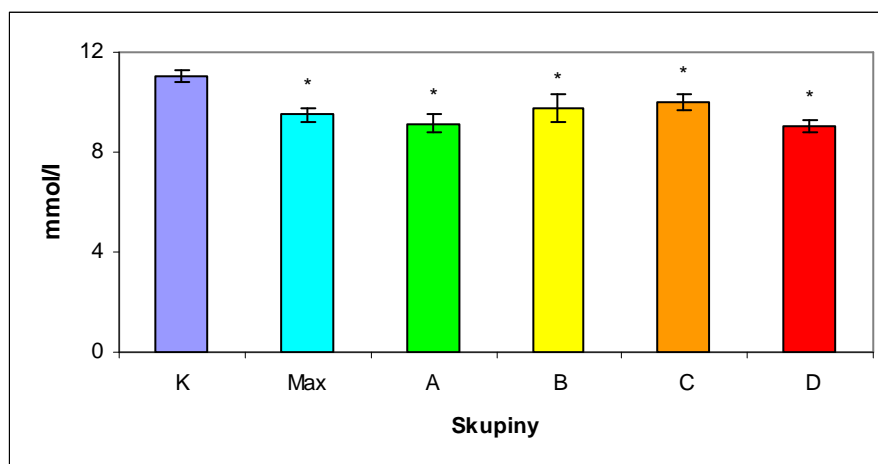


K-kontrolná skupina (0 ml KA), Experimentálne skupiny: Max (1 ml KA), A (0,5 ml), B (0,33 ml), C (0,17 ml), D (0,09 ml), * preukazný rozdiel v uvoľňovaní v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($P<0,05$)

4. 10 Vplyv kyseliny askorbovej na uvoľnenie celkových bielkovín granulóznymi bunkami nosníc

V súvislosti s uvoľňovaním celkových bielkovín granulóznymi bunkami vaječníkov po experimentálnom podaní rôznych dávok kyseliny askorbovej (tabuľka č. 8) boli zaznamenané preukazné rozdiely medzi kontrolnou skupinou (K) a všetkými pokusnými skupinami, pričom sa zistilo ich znížené uvoľňovanie, čo je znázornené v grafe č. 11. Koncentrácia bielkovín v kontrolnej skupine (K) bez kyseliny askorbovej bola na úrovni $11,04 \pm 0,235$ mmol.l⁻¹. Najvyšší a preukazný rozdiel ($P < 0,05$) bol zistený v experimentálnej skupine D ($9,035 \pm 0,268$ mmol.l⁻¹) s najnižšou koncentráciou kyseliny askorbovej a teda tieto bunky uvoľňovali najmenej bielkovín. Podobné uvoľňovanie bielkovín s preukazným rozdielom sme zaznamenali v pokusných skupinách Max ($9,5 \pm 0,281$ mmol.l⁻¹), A ($9,16 \pm 0,33$ mmol.l⁻¹), B ($9,752 \pm 0,559$ mmol.l⁻¹) a C ($9,992 \pm 0,307$ mmol.l⁻¹) v porovnaní s kontrolnou skupinou (K).

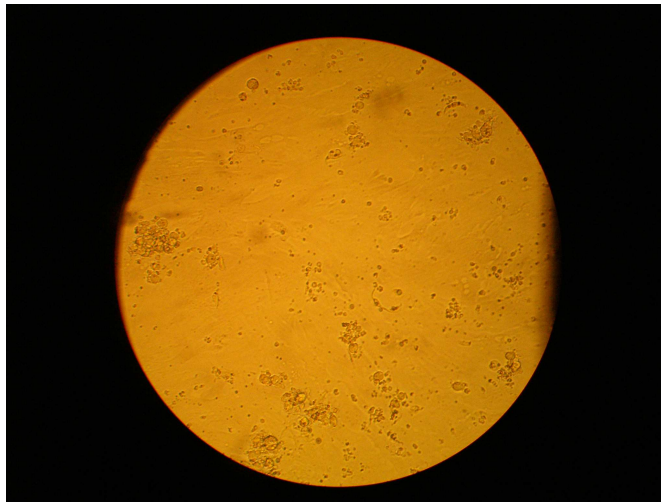
Graf č. 11: Uvoľňovanie celkových bielkovín granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej



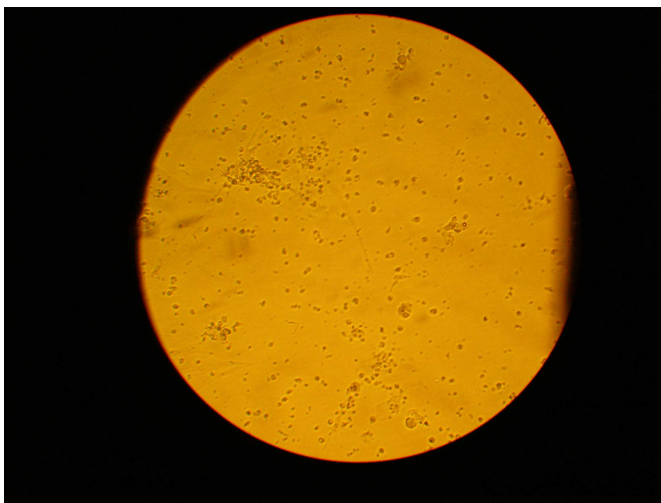
K-kontrolná skupina (0 ml KA), Experimentálne skupiny: Max (1 ml KA), A (0,5 ml), B (0,33 ml), C (0,17 ml), D (0,09 ml), * preukazný rozdiel v uvoľňovaní v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($P < 0,05$)

4. 11. Vplyv kyseliny askorbovej na životaschopnosť granulóznych buniek nosníc

Po aplikácií kyseliny askorbovej v rôznych dávkach (tabuľka č. 8) sme v pokusných skupinách zaznamenali zvýšenie životaschopnosti buniek. V porovnaní s kontrolnou skupinou (obr. 7) sme v pokusných skupinách s prídavkom vitamínu C zaznamenali rýchlejšie vytvorenie monovrstvy buniek v kultivačnej platničke. Ako je zrejmé z obrázku 6., monovrstva buniek bola kompaktnjšia a silnejšia vo všetkých pokusných skupinách. Na obrázku 6 je jasne viditeľná sformovaná monovrstva buniek. V kontrolnej skupine bola monovrstva buniek v tom istom čase slabšia a nie tak viditeľná ako v prvom prípade. Vitamín C podporil rastovú schopnosť buniek a schopnosť vytvárať spojenia medzi nimi resp. pracovať spoločne ako celok, čo je dôležité v rámci organizmu.



Obr. č. 6: Granulózne bunky vaječníkov nosníc experimentálnej skupiny Max (1 ml KA)



Obr. č. 7: Granulózne bunky vaječníkov nosníc kontrolnej skupiny K (0 ml KA)

5 Diskusia

Kyselina L-askorbová (γ -laktón 2 – oxo – L – (-) – gulónová kyselina) je významný vo vode rozpustný antioxidant prítomný v krvnej plazme (Piehl et al., 2005), ktorý spolu s vitamínom E patrí medzi hlavné diétne antioxidanty s veľkou fyziologickou dôležitosťou (Hamilton et al., 2000). V našej práci sme sa zamerali na vplyv kyseliny askorbovej na homeostázu granulóznych buniek nosníc, v ktorých sme skúmali uvoľňovanie vybraných biochemických parametrov a aktivitu SOD.

Vo všeobecnosti môžeme konštatovať, že nie je veľa prác, ktoré by boli zamerané na túto problematiku. Zvýšená pozornosť sa skôr venovala vplyvu ťažkých kovov a fajčenia na hladinu vitamínu C ako antioxidantného faktora. Viacero štúdií poukazuje na vplyv ťažkých kovov na hladinu vitamínu C. Hijová et al. (2003) zaznamenali syntézu vitamínu C u potkanov počas chronickej intoxikácie kadmíom ako výsledok obrannej reakcie k exponovanej noxe, pričom zvýšenie vitamínu C zaznamenali aj po experimentálnej intoxikácii potkanov ortuťou. Ťažké kovy sú rizikovým faktorom životného prostredia, napríklad olovo môže vyvolať reprodukčné toxicity u myší (Shan et al., 2009; Wang et al., 2006), oviec (Bires et al., 1995) a môže mať negatívny vplyv na štruktúru a funkciu semenníkov (Massanyi et al., 2007). Expozíciou humánnych granulóznych buniek kadmíom, ktorý je podobne rizikovým faktorom životného prostredia, boli zaznamenané morfológické zmeny v závislosti od dávky a času expozície (Paksy et al., 1997).

Fajčenie spôsobuje oxidatívny stres, ktorý vyvoláva pokles kyseliny askorbovej v plazme, ale taktiež v tekutine obsiahnutej v dýchacích cestách (Lykkesfeldt et al., 1997). Fajčiari majú vyššiu koncentráciu produktov lipidovej peroxidácie a nižšiu plazmatickú koncentráciu KA ako nefajčiari (Morrow et al., 1995), pričom pri pasívnom fajčení chráni zvýšená koncentrácia KA pred rýchlym poklesom antioxidantného obranného systému v plazme (Valkonen a Kuusi, 2000). Podobný záver bol zistený vo výskumnej práci, ktorá sa zaoberala koncentráciou vitamínu C v skupinách respondentov s vysokým aterogénnym rizikom (celkový cholesterol $> 6,7 \text{ mmol.l}^{-1}$), ktorá bola u fajčiarov nižšia oproti nefajčiarom o 35 – 55 % (Hijová et al., 2002). U chronických fajčiarov sa preukázal pozitívny účinok vitamínu C na endotelové bunky (Heitzer et al., 1996). Koprovičová a Petrášová (2009) prišli taktiež k záveru, že nedostatok vitamínu C vedie k strate kontroly nad tvorbou a propagáciou reaktívnych metabolitov kyslíka, čím je ohrozená integrita cievnej steny, čo znásobuje aterogénne riziko.

Vitamínu C je pripisovaný ochranný vplyv proti rakovine žalúdka, pažeráka a krčka maternice. Definitívne to nie je dokázané vzhľadom k tomu, že potraviny obsahujúce vitamín C sú zdrojom tiež ďalších potenciálne ochranných zložiek (Keller et al., 1993). Pokusom na škrečkoch, ktorým natierali vaky v ústnej dutine silným karcinogénom dimetylbenz-a-antracénom a dostávali v rovnakých hmotnostných dávkach 4 druhy antioxidantov (vitamín C, vitamín E, beta-karotén a glutatión), buď jednotlivito alebo v zmesi všetkých štyroch, sa zistilo, že najvýraznejší protinádorový efekt sa dosiahol v skupine škrečkov, ktorým bola podávaná zmes antioxidantov. Z toho vyplýva, že účinnosť súčasne podaných antioxidantov je podstatne vyššia ako účinnosť izolovane podaných ochranných látok, čím sa podstatne zvyšuje obranyschopnosť organizmu pred rakovinou (Ginter, 1999). Epidemiologické štúdie ukazujú na pozitívnu koreláciu medzi obsahom vitamínu C v plazme alebo tkanivách a znížením výskytu rakoviny žalúdka. Táto korelácia sa nepotvrdila pri kolorektálnej a pľúcnej rakovine (Ferraroni et al., 1994; Ocké et al., 1995).

V našich pokusoch sme sa zamerali na sledovanie zmien parametrov homeostázy po pridaní rôznych dávok kyseliny askorbovej v granulóznych bunkách nosníc, nakoľko je obsah jednotlivých antioxidantov v rôznych orgánoch, tkanivách a živočíšnych druhoch rozdielny: napríklad očné šošovky ľudí obsahujú málo SOD a veľa kyseliny L-askorbovej (Romero, 1996). Sledovali sme aktivitu SOD a uvoľňovanie vybraných parametrov a to sodíka, draslíka, chlóru, vápnika, horčíka, fosforu, glukózy, triacylglycerolov a celkových bielkovín ako ukazovateľov homeostázy bunky. Zaznamenali sme preukazné rozdiely v uvoľňovaní vytýčených parametrov okrem vápnika, horčíka a fosforu, pri ktorých sme síce zaznamenali zmeny, ale výsledky neboli významné.

Aktivitu SOD sme zisťovali v lyzáte buniek a kultivačnom médiu, pričom sme v oboch prípadoch zaznamenali tendenciu zvyšovania aktivity a to najmä pri vyšších dávkach kyseliny askorbovej. K podobnému výsledku dospel tiež experiment, ktorý ale hodnotil vplyv solí ťažkých kovov $HgCl_2$ na parametre antioxidačnej ochrany u potkanov, a ktorý taktiež zaznamenal zvýšenú aktivitu SOD a to najmä pri vyšších dávkach $HgCl_2$ (Cimbaláková et al., 2009). Za podmienok zvýšenej koncentrácie peroxidu vodíka a v prípade denaturovanej SOD dochádza k uvoľňovaniu iónu medi zo štruktúry enzýmu a tiež k tvorbe hydroxylových radikálov podľa klasickej Fentonovej reakcie (Xu a Kuppasamy, 2005). SOD katalyzuje dismutáciu dvoch molekúl superoxidu na peroxid vodíka a molekulárny kyslík a tým chráni bunky pred oxidatívnym pôsobením týchto reaktívnych metabolitov kyslíka (Xu a Kuppasamy, 2005; Fukuzumi et al., 2002). Ďalej sme

zaznamenali tendenciu zvýšeného uvoľňovania sodíka a draslíka granulóznymi bunkami nosníc po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej. Znížené uvoľňovanie sme preukázali v prípade chlóru, glukózy a celkových bielkovín v porovnaní s kontrolnou skupinou. Pokles chlóru v ováriálnych granulóznych bunkách bol záver mikroanalýzy percentuálneho zastúpenia prvkov po pridaní kadmia, pričom bol zaznamenaný aj pokles horčíka, avšak výsledok nebol signifikantný (Massanyi et al., 2000). Stálosť vnútorného prostredia je okrem iného závislá aj od saturácie minerálnymi prvkami a preto sme zisťovali zmeny v uvoľňovaní týchto látok v granulóznych bunkách nosníc.

Môžeme konštatovať, že naša práca rozširuje existujúce nedostatočné poznatky o vplyve kyseliny askorbovej na homeostázu pohlavných buniek. Výsledky potvrdzujú význam vitamínu C ako rastového faktora, nakoľko podporoval rýchlejšie vytvorenie monovrstvy buniek a tá bola stabilnejšia a silnejšia. Taktiež naznačujú, že pri dostatočnom zásobovaní vaječníkov kyselinou askorbovou sa zvýši antioxidačná ochrana v spomínaných bunkách a tým sa môže pozitívne ovplyvniť reprodukcia. Avšak na to, aby sa táto pozitívna korelácia jednoznačne potvrdila je potrebné uskutočniť viacero výskumov, ktoré budú zamerané na danú problematiku.

6 Záver

Z pohľadu biológie a biotechnológií reprodukcie je mimoriadne dôležitý výskum mechanizmov regulácie funkcií gonád. V našich experimentálnych prácach sme sa zamerali na skúmanie úlohy a účasti kyseliny askorbovej na uvoľňovanie vybraných biochemických parametrov a aktivitu SOD v granulóznych bunkách vaječníkov hydiny po jej experimentálnom podaní v rôznych dávkach v podmienkach *in vitro*. Na základe analýzy kultivovaných ovariálnych granulóznych buniek hydiny sme spektrofotometrickou metódou a štatistickou analýzou v súlade s vytýčenými cieľmi dospeli k nasledovným záverom:

- po podaní kyseliny askorbovej sa aktivita SOD v lyzáte granulóznych buniek nosníc preukazne ($P < 0,05$) najviac zvýšila v pokusnej skupine A ($0,273 \pm 0,0153 \text{ mmol.l}^{-1}$) a potom v skupine Max ($0,267 \pm 0,0321 \text{ mmol.l}^{-1}$) v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($0,173 \pm 0,0208 \text{ mmol.l}^{-1}$)
- po aplikácii kyseliny askorbovej sme v granulóznych bunkách nosníc preukazne ($P < 0,05$) dokázali zvýšenú aktivitu SOD v kultivačnom médiu v experimentálnej skupine Max ($0,38 \pm 0,0432 \text{ mmol.l}^{-1}$) v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($0,153 \pm 0,0126 \text{ mmol.l}^{-1}$)
- zvýšené uvoľňovanie granulóznymi bunkami nosníc sme preukázali ($P < 0,05$) aj v prípade sodíka a to v pokusných skupinách Max ($188,125 \pm 11,996 \text{ mmol.l}^{-1}$), B ($188,775 \pm 18,284 \text{ mmol.l}^{-1}$), D ($204,775 \pm 7,704 \text{ mmol.l}^{-1}$) a tiež v skupine A ($204,875 \pm 10,882 \text{ mmol.l}^{-1}$) s najväčším rozdielom v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($160,65 \pm 4,775 \text{ mmol.l}^{-1}$)
- v prípade draslíka došlo taktiež k preukaznému ($P < 0,05$) zvýšenému uvoľňovaniu granulóznymi bunkami nosníc po podaní kyseliny askorbovej s najväčším rozdielom v pokusnej skupine A ($5,487 \pm 0,187 \text{ mmol.l}^{-1}$), ďalej v skupinách Max ($5,162 \pm 0,211 \text{ mmol.l}^{-1}$), B ($5,195 \pm 0,313 \text{ mmol.l}^{-1}$), D ($5,438 \pm 0,126 \text{ mmol.l}^{-1}$) v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($4,705 \pm 0,142 \text{ mmol.l}^{-1}$)
- po aplikácii kyseliny askorbovej sme zaznamenali preukazný ($P < 0,05$) pokles v uvoľňovaní chlóru granulóznymi bunkami nosníc s najväčším rozdielom

v skupine D ($173,175 \pm 8,301 \text{ mmol.l}^{-1}$) a potom v skupine A ($171,7 \pm 6,881 \text{ mmol.l}^{-1}$) v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($139,55 \pm 3,523 \text{ mmol.l}^{-1}$)

- preukazný rozdiel ($P < 0,05$) v súvislosti so zníženým uvoľňovaním granulóznymi bunkami nosníc sme zaznamenali aj v prípade glukózy a to najvýraznejšie v experimentálnej skupine D ($11,225 \pm 0,892 \text{ mmol.l}^{-1}$) a ďalej v skupinách Max ($12,15 \pm 1,318 \text{ mmol.l}^{-1}$), A ($11,675 \pm 0,525 \text{ mmol.l}^{-1}$) a B ($11,45 \pm 0,723 \text{ mmol.l}^{-1}$) v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($14,225 \pm 0,732 \text{ mmol.l}^{-1}$)
- preukazný pokles ($P < 0,05$) v uvoľňovaní granulóznymi bunkami nosníc sme zistili taktiež pri celkových bielkovinách a to vo všetkých pokusných skupinách s najväčším rozdielom v skupine D ($9,035 \pm 0,268 \text{ mmol.l}^{-1}$) a ďalej v Max ($9, \pm 0,281 \text{ mmol.l}^{-1}$), A ($9,16 \pm 0,33 \text{ mmol.l}^{-1}$), B ($9,752 \pm 0,559 \text{ mmol.l}^{-1}$), C ($9,992 \pm 0,307 \text{ mmol.l}^{-1}$) v porovnaní s kontrolnou skupinou K ($11,04 \pm 0,235 \text{ mmol.l}^{-1}$)
- v prípade uvoľňovania vápnika, horčička a fosforu granulóznymi bunkami nosníc sme po aplikácií kyseliny askorbovej v rôznych dávkach nezaznamenali preukazné rozdiely ($P > 0,05$) v porovnaní s kontrolnými skupinami
- po aplikácií kyseliny askorbovej v rôznych dávkach sme zaznamenali rozdiely v rýchlosti vytvárania a pevnosti monovrstvy buniek, pričom vo všetkých pokusných skupinách sa vytvorila rýchlejšie, bola stabilnejšia a pevnejšia a tiež lepšie viditeľná v porovnaní s kontrolnou skupinou (K)

Možno konštatovať, že naša práca prispieva k lepšiemu a užšiemu oboznámeniu sa s účinkami kyseliny askorbovej na homeostázu pohlavných buniek v súvislosti s uvoľňovaním vybraných parametrov a SOD. Taktiež poukazuje na jej významnú antioxidantnú funkciu a rozširuje vedomosti o možnostiach jej využitia ako spolupôsobiacého reprodukčného faktora. Výsledky experimentov naznačujú, že na to, aby sa zvýšila antioxidantná ochrana granulóznych buniek nosníc a bola priaznivo ovplyvnená reprodukcia, je potrebný dostatočný príjem tohto vitamínu. Avšak na to, aby to bolo definitívne potvrdené, je nutné uskutočniť viacero výskumov so zameraním na spomínanú problematiku a tak prispieť k existujúcim nedostatočným poznatkom o vplyve kyseliny askorbovej na reprodukčný systém živých organizmov.

7 Použitá literatúra

1. BALAŠTÍK, J. 1975. Konzervace ovoce a zeleniny. Praha : Nakladatelství technické literatury, 1975. 336 s.
2. BÁNHEGYI, G. - BRAUN, L. - CSALA, M. - PUSKÁS, F. - MANDL, J. 1997. Ascorbate metabolism and its regulation in animals. In *Free Rad Biol Med.*, vol. 23, 1997, p. 793-803.
3. BENČEJ, J. 1999. Koniec mýtu jednej kyseliny. In: *Harmónia*, roč. 7, 1999, č. 3, s. 56–57.
4. BÉDEROVÁ, A. 1998. Prečo vitamíny – antioxidanty. In: *Výživa a zdravie*, roč. 43, 1998, č. 2, s. 31-39.
5. BERGER, T. M. - POLIDORI, M. C. - DABBAGH, A. - EVANS, P. J. - HALLIVELL, B. - MORROW, J. D. - ROBERT, I. I. J. - FREI, B. 1997. Antioxidant activity of vitamin C in iron-overloaded human plasma. In *J Biol Chem.*, vol. 272, 1997, p. 15656-15660.
6. BIRES, J. – MARACER, I. – BARTKO, P. – BIRESOVA, M. – WEISSOVA, T. 1995. Acculuation of trace elements in sheep and the effects upon qualitative and quantitative ovarian changes. In *Veterinary and human toxicology*, vol. 37, 1995, p. 349–356.
7. BODE, A. M. - CUNNINGHAM, L. - ROSE, R. C. 1990. Spontaneous decay oxidized ascorbic acid (dehydro-L-ascorbic acid) evaluated by high pressure liquid chromatography. In *Clin Chem.*, vol. 36, 1990, p. 1807-1809.
8. BODLÁK, J. 2002. Zdraví máme na talíři. 1. vyd. Praha : Granit, 2002. 159 s. ISBN 80-7296-016-4.
9. BOWRY, V. W. – MOHR, D. – CLEARY, J. – STOCKER, R. 1995. Prevention of Tocopherol-mediated Peroxidation in Ubiquinol-10-free Human Low Density Lipoprotein. In *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 270, 1995, p. 5756-5763.
10. BRIFFA, J. 2000. Jedlom k zdraviu. Bratislava : Ikar, 2000. 112 s. ISBN 80-7118-837-9.

11. BRUNO, R. S. - LEONARD, S. W. - ATKINSON, J. - MONTINE, T. J. - RAMAKRISHNANR, R. - BRAY, T. M. - TRABER, M. G. 2006. Faster plasma vitamin E disappearance in smokers is normalized by vitamin C supplementation. In *Free Rad Biol Med.*, vol. 40, 2006, p. 555-556.
12. BUČKO, A. – AMBROVÁ, P. 1972. Praktická dietetika. 1. vyd. Martin : Osveta, 1972. 528 s.
13. BULKOVÁ, V. 1999. Náuka o požívatinách. Brno : Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1999. 204 s. ISBN 80-7013-293-0.
14. BURKHARDTOVÁ, D. 2007. Laboratórne hodnoty. 1. vyd. Bratislava : Noxi, 2007. 159 s. ISBN 978-80-89179-59-6.
15. CARR, A. C. – FREI, B. 1999. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. In *Am J Clin Nutr.*, vol. 69, 1999, p. 1086-1107.
16. CEREVITINOV, F. 1952. Chemické složení a fyzikální vlastnosti ovoce a zeleniny. Praha : Průmyslové vydavatelství, 1952. 317 s.
17. CIMBOLÁKOVÁ, J. – LOVASOVÁ, E. – NOVÁKOVÁ, J. – RÁCZ, O. 2009. Vplyv ortuti na vybrané antioxidačné parametre. In *Antioxidanty 2009* : 1. ročník vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2009, s. 26–29. ISBN 978-80-552-0209-9.
18. CLAZADA, C. et al., 1997. The influence of antioxidant nutrients on platelet function of healthy volunteers. In *Atherosclerosis*, vol. 128, 1997, p. 97–105.
19. CROSS, C. E. et al., 1990. Oxidative stress and abnormal cholesterol-metabolism in patients with adult respiratory distress syndrome. In *J. Lab. Clin. Med.*, roč. 115, 1990, č. 4, s. 396-404.
20. ČERVENÁ, D. – ČERVENÝ, K. 1994. Liečba výživou. Martin : Neografia, 1994. 213 s. ISBN 80-85186-54-3.
21. DANIŠKA, J. 1999. Voľné kyslíkové radikály a antioxidanty. 1999, nepublikované.

22. ĎURAČKOVÁ, Z. 1998. Voľné radikály a antioxidanty v medicíne (I). 1. vyd. Bratislava : SAP, 1998. 285 s. ISBN 80-88908-11-6.
23. ĎURAČKOVÁ, Z. 1999. Voľné radikály a antioxidanty v medicíne (II). 1. vyd. Bratislava : SAP, 1999. 315 s. ISBN 80-88-908-46-9.
24. ENSTROM, J. E. et al., 1992. Vitamin C intake and mortality among a sample of the United States population. In *Epidemiology*, vol. 3, 1992, p. 194-202.
25. FARKAŠ, P. 1996. Vademecum základných vitamínov. In: *Harmonia*, roč. 4, 1996, č. 10, s. 11-13.
26. FERRARONI, M. - LA VECCHIA C. - D'AVANZO, B. - NEGRI, E. - FRANCESCHI, S. - DECARLI, A.: Selected micronutrient intake and the risk of colorectal cancer. In *Brit. J. Cancer*, vol. 6, 1994, p. 1150-1155.
27. FRAGNER, J. 1961. Vitamíny, jejich chemie a biochemie. 1. vyd. Praha : Nakladatelství Československé akademie věd, 1961. 1300 s.
28. FUKUZUMI, S. - OHTSU, H. - OHKUBO, K. - ITOH, S. - IMAHORI, H. 2002. Formation of superoxide-metal ion complexes and the electron transfer catalysis. In *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 226, 2002, p. 71-80.
29. GEY, K. F. 1998. Vitamins E plus C and interacting constituents required for optimal health. A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer. In *Biofactors*, vol. 7, 1998, p. 113 – 174.
30. GINTER, E. 1975. Úloha vitamínu C v katabolizme cholesterolu a v aterogenéze. Bratislava : Veda, 1975. 100 s.
31. HABÁNOVÁ, M. 2006. Úprava potravín a stravovanie. Nitra : SPU, 2006. 194 s. ISBN 80-8069-695-0.
32. HAJDUCH, M. 1995. Vitamíny. Praktická príručka. 1. vyd. Nitra : Basic Science, 1995. 42 s. ISBN 80-967126-4-0.
33. HALIWELL, B. 1990. How to characterize a biological antioxidant. In *Free Radic. Res. Commun.*, roč. 9, 1990, č. 1, s. 1-32.

34. HALLIVELL, B. 1996. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant *in vivo*. In *Free Radic Res.*, vol. 25, 1996, p. 439-54.
35. HALLIVELL, B. 1999. Vitamin C: poison, prophylactic or panacea? In *TIBS*, vol. 24, 1999, p. 255-259.
36. HAMILTON, I. M. J. et al., 2000. Interactions between vitamins C and E in human subjects. In *British Journal of Nutrition*, vol. 84, 2000, p. 261 – 267.
37. HEITZER, T. - JUST, H. - MUNZEL, T. : Antioxidant vitamin C improves endothelial dysfunction in chronic smokers. In *Circulac.*, vol. 94, 1996, p. 6-9.
38. HENLE, E. S. - LINN, S. 1997. Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide. In *J Biol Chem.*, vol. 272, 1997, p. 19095-19098.
39. HIJOVÁ, E. – KUČHTA, M. – PETRÁŠOVÁ, D. 2002. Smokers – vitamin C – hypercholesterolaemia – Centr. In *Eur. J. Publ. Health*, vol. 10, 2002, p. 29–31.
40. HIJOVÁ, E. – NIŠTIAR, F. – LOVÁSOVÁ, E. – ŠÍPULOVÁ, A. 2003. Ascorbic acid malondialdehyde in rats after exposure to mercury. In *Trace Elements and Electrolytes*, vol. 20, 2003, p. 244 – 248.
41. HILLSTROM, R. J. - YACAPIN-AMMONS, A. K. - LYNCH, S. M. 2003. Vitamin C inhibits lipid oxidation in human HDL. In *J Nutr.*, vol. 133, 2003, p. 3047-51.
42. HOCMAN, G. 2000. Kaleráb. In: *Zdravie*, roč. 56, 2000, č. 5, s. 56.
43. HORČIN, V. 2004. Technológia spracovania ovocia a zeleniny. Nitra : SPU, 2004. 142 s. ISBN 80-8069-399-4.
44. HUSÁROVÁ, V. – GURIČANOVÁ, D. 1998. Životne dôležité. In: *Zdravie*, roč. 54, 1998, č. 2, s. 20 – 22.
45. CHOI, S. Y. - KWON, H. Y. - KWON, O. B. - KANG, J. H. 1999. Hydrogen peroxide-mediated Cu, Zn - superoxide dismutase fragmentation: protection by carnosine, homocarnosine and anserine. In *Bioch Biophys Acta*, vol. 1472, 1999, p. 651-657.

46. INLANDER, CH. – MORANOVÁ, C. 1996. 77 spôsobov ako zvíťaziť nad nádchou a chrípkou. 1. vyd. Bratislava : Príroda, 1996. 94 s. ISBN 80-07-00773-3.
47. JANČA, J. 1991. Co nám chybi. Kovy, jiné prvky a vitaminy v lidském těle. 1. vyd. Praha : Eminent, 1991. 127 s. ISBN 80-900302-4-6.
48. JANEK, M. – MUNTÁG, S. 1992. Vitamíny, enzýmy a minerálie v našej strave. 1. vyd. Martin : Vega, 1992. 64 s. ISBN 80-85578-10-7.
49. JORDÁN, V. – HEMZALOVÁ, M. 2001. Antioxidanty-zázračné zbrane. Brno : JOTA, 2001. 153 s. ISBN 80-7217-159-9.
50. KELLER, U. et al. 1993. Klinická výživa. 1. vyd. Praha : Scientia medica, 1993. 240 s. ISBN 80-85526-08-5.
51. KOMÍNEK, J. 1988. Detská stomatológia. 1. vyd. Praha : Avicenum, 1988. 328 s.
52. KOPROVIČOVÁ, J. – PETRÁŠOVÁ, D. 2009. Úloha vitamínu C v lipidovom metabolizme u obéznych mužov. In *Antioxidanty 2009* : 1. ročník vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2009, s. 148 – 151. ISBN 978-80-552-0209-9.
53. KYZLINK, V. 1988. Teoretické základy konzervace potravin. Praha : Alfa, 1988. 512 s.
54. LANGMEIER, M. – KITTNAR, O. – MAREŠOVÁ, D. – POKORNÝ, J. 2009. Základy lékařské fyziologie. 1. vyd. Praha : Grada Publishing, 2009. 320 s. ISBN 978-80-247-2526-0.
55. LICHARDUS, L. 2000. Jahody – Liek nemusí byť vždy horký. In: *Zdravie*, roč. 56, 2000, č. 6, s. 56.
56. LOUČKA, B. 2003. Fyziologický a terapeutický význam vitamínu C. In: *Lekárnik*, roč. 8, 2003, č. 1, s. 33.
57. LYKKESFELDTL, J. - LOFT, S. - NIELSEN, J. B. - POULSEN, H. E. 1997. Ascorbic acid and dehydroascorbic acid as biomarkers of oxidative stress caused by smoking. In *Am J Clin Nutr.*, vol. 65, 1997, p. 959-963.

58. MASSANYI, P. – UHRIN, V. – SIROTKIN, A. V. – KOVÁČIK, J. – TOMAN, R. 2000. Distribúcia niektorých prvkov v ováriálnych granulóznych bunkách po experimentálnom podaní kadmia. Štvrtý celosvetový seminár z fyziológie živočíchov : fyziológia živočíchov : anatómia živočíchov : fyziológia zdravej výživy : Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2000, s. 134 – 135. ISBN 80-7137-746-5.
59. MASSANYI, P. – LUKÁČ, N. – MAKAREVICH, A. V. – CHRENEK, P. – FORGACS, Z. – ZAKRZEWSKI, M. – STAWARZ, R. – TOMAN, R. – LAZOR, P. – FLESAROVÁ, S. 2007. Lead-induced alternations in rat kidneys and testes *in vivo*. In: *Journal of environmental science and health, Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, vol. 42, 2007, p. 671 – 676.
60. MASSANYI, P. - LUKÁČ, N. - TOMAN, R. – KOLESÁROVÁ, A. 2008. Fyziológia bunky : multimediálny výučbový program. Nitra : SPU, 2008.
61. MAŠEK, J. 1977. Novinky v medicíne (16). Fyziologická potreba a liečebné užívanie vitamínu C. Praha : Avicenum, 1977. 112 s.
62. MAY, J. M. - COBB, CH. E. - MENDIRATTA, S. - HILL, K. E. - BURK, R. F. 1998. Reduction of the ascorbyl free radical to ascorbate by thioredoxin reductase. In *J Biol Chem.*, vol. 273, 1998, p. 23039-45.
63. MESSINA, M. - MESSINA, V. 1998. Zdravo jest', dlho žiť. 1. vyd. Bratislava : Motýľ, 1998. 268 s. ISBN 80-88775-67-1.
64. MICHÁLIK, I. 1997. Biochémia. 2. vyd. Nitra : SPU, 1997. 226 s. ISBN 80-7137-342-7.
65. MINDELL, E. 1995. Vitamínová biblia. Glória Kiadó, 1995. 400 s.
66. MINDELL, E. 1996. Jedlo ako liek. 1. vyd. Místek : Alpress, 1996. 364 s. ISBN 80-85975-55-6.
67. MORROW, J. D. - FREI, B. - LONGMIRE, A. W. - GAZIANO, J. M. - LYNCH, S. M. - SHYR, Y. - STRAUSS, W. E. - OATES, J. A. - ROBERTS, L. J. 1995. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F₂- isoprostanes) in smokers. In *N Engl J Med.*, vol. 332, 1995, p. 1198-203.

68. MUCHOVÁ, Z. et al. 2001. Hodnotenie surovín a potravín rastlinného pôvodu. 2. vyd. Nitra : SPU, 2001. 215 s. ISBN 80-7137-886-0.
69. NAIDU, K. A. 2003. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. In *J Nutrition*, vol. 2, 2003, p. 7.
70. NISHIKIMI, M. – YAGI, K. 1996. Biochemistri and molecular biology of ascorbic acid biosynthesis In *Subcel. Biochem.*, vol. 25, 1996, p. 17 – 39.
71. OCKÉ, M. C. - KROMHOUT, D. - MENOTTI, A. - ARAVANIS, C. - BLACKBURN, H. - BUZINA, R. - FIDANZA, F. - JANSEN, A. - NEDELJKOVIC, S. - NISSIENEN, A. 1995. Average intake of antioxidant (pro)vitamins and subsequent cancer mortality in the 16 cohorts of the seven countries study. In *J. Cancer*, vol. 4, 1995, p. 480-484.
72. ONDREJÍČKA, R. et al. 1998. Vzťah hladín vitamínov C, E, A a β karoténu k aktivite antioxidantných enzýmov v krvi. In: *Bratislavské lekárske listy*, roč. 99, 1998, č. 5, s. 250 – 254.
73. ORDOVAS, J. M. 2001. Genetic, postprandial lipemia and obesity. In *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, vol. 11, 2001, p. 118 – 133.
74. PAKSY, K. – KAJCZY, K. – FORGACS, Z. – LÁZÁR, P. – BERNARD, A. – GÁTI, I. – KÁÁLI, G. S. 1997. Effect of cadmium on morphology and steroidogenesis of cultured human ovarian granulosa cells. In: *Journal of Applied Toxicology*, vol. 17, 1997, p. 321 – 327.
75. PELLI, K. – LYLY, M. 2003. Antioxidanty vo výžive. Bratislava : NOI, 2003. 26 s. ISBN 80-89088-12-0.
76. PEVNÁ, V. 1989. Záhradníctvo. Bratislava. 1989, s. 621. ISBN 80-07-0039-9.
77. PIEHL, L. L. et al., 2005. Plazmatic antioxidant capacity due to ascorbate using TEMPO scavenging and electron spin resonance. In: *Clinica Chimica Acta*, vol. 359, 2005, p. 78-88.
78. PÍŽL, J. 1997. Vitamín C – elixír života a zdravia. In: *Harmónia*, roč. 5, 1997, č. 4, s. 82.

79. ROMERO, F. J. 1996. Antioxidants in peripheral nerve. In *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 20, 1996, p. 925-932.
80. ROSIVAL, L., SZOKOLAY, A. 1983. Cudzorodé látky v poživatinách. Martin : Osveta, 1983, s. 293.
81. RUMSEY, S. C. - KWON, O. - XU, G. W. - BURANT, C. F. - SIMSON, I. - LEVINE, M. 1997. Glucose transporter isoforms GLUT1 and GLUT3 transport dehydroascorbic acid. In *J Biol Chem.*, vol. 272, 1997, p. 18982-18989.
82. SEČANSKÝ, I. 1954. Diétne stravovanie v teórii a v praxi. 1. vyd. Bratislava : Slovenské pedagogické nakladateľstvo, 1954. s. 332.
83. SHAN, G. – TANG, T. – ZHANG, X. 2009. The protective effect of ascorbic acid and thiamine supplementation against damage caused by lead in the testes of mice. In *Journal of Huazhong Univerzity of Science and Technology Medical Sciences*, vol. 29, 2009, p. 68 – 72.
84. SCHENCK, M. - KOLB, E. 1991. Základy fyziologickej chémie. Bratislava : Príroda, 1991. 648 s. ISBN 80-07-00418-1.
85. SIROTKIN, A.V. - GROSSMANN, R. 2007. Leptin directly controls proliferation, apoptosis and secretory activity of cultured chicken ovarian cells. In *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.*, vol. 148, 2007, p. 422-9.
86. SMITH-KLINE-BEECHAM: Vitamín C chráni. 1999, Brožúra.
87. SUHAJ, M. 2000. Voľné radikály, antioxidanty a potraviny. In: *Trendy v potravinárstve*, roč. 7, 2000, č. 4, s. 10 – 11.
88. ŠAPIRO, D. et al. 1988. Ovoce a zelenina ve výživě člověka, 1988. 105 s.
89. ŠKÁRKA, B. – FERENČÍK, M. 1992. Biochémia. Bratislava : Vydavateľstvo Alfa, 1992. 848 s. ISBN 80-05-01076-1.
90. ŠTĚPÁN, J. 2001. Význam správnej výživy pro prevenci osteoporozy. In: *Výživa a potraviny*, roč. 56, 2001, č. 1 – 2, s. 23 – 25.
91. ŠTÍPEK, S. et al. 2000. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci. 1. vyd. Praha : Grada Publishing, 2 000. 320 s. ISBN 80-7169-704-4.

92. TROJAN, S. et al. 1992. Fyziológia 1. Martin : Osveta, 1992. 410 s. ISBN 80-217-0452-7.
93. UHEROVÁ, R. 2002. Čo vieme o vitamínoch dnes. Bratislava : Malé centrum, 2002. 143 s. ISBN 80-968737-0-9.
94. UNGEROVÁ - GÖBELOVÁ, U. 1999. Vitamíny účinné látky podporujúce zdravie. Bratislava : Media klub, 1999. 87 s. ISBN 80-88772-96-6.
95. VALKONEN, M. M. - KUUSI, T. 2000. Vitamin C prevents the acute atherogenic effects of passive smoking. In *Free Rad Biol Med.*, vol. 28, 2000, p. 428-436.
96. VASILIEVOVÁ, Z. A. – ĽUBINSKÁ, S. M. 1987. Malá zdravotveda. 1. vyd. Martin : Osveta, 1987. 296 s.
97. VELÍŠEK, J. 2002. Chemie potravín 2. Tábor : Osis, 2002. 320 s. ISBN 80-86659-01-1.
98. WANG, C. – ZHANG, Y. – LIANG, J. – SHAN, G. – WANG, Y. – SHI, Q. 2006. Impact of ascorbic acid and thiamine supplementation at different concentrations on lead toxicity in testis. In *Clinica Chimica Acta*, vol. 370, 2006, p. 82 – 88.
99. XU, K. Y. - KUPPUSAMY, P. 2005. Dual effects of copper-zinc superoxide dismutase. In *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 336, 2005, p. 1190-3.
100. ZACHAR, D. 2004. Humánna výživa II.: živiny. Zvolen : TU, 2004. 218 s. ISBN 80-228-1293-5.
101. ZÜMREOGLU-KARAN, B. 2006. The coordination chemistry of Vitamin C: An overview. In *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 250, 2006, p. 2295-2307.
102. ŽAMBOCH, J. 1996. Vitamíny. Praha : Grada Publishing, 1996. 60 s.
103. ŽUFFOVÁ, D. 1954. Vitamíny v potravinárskom priemysle. Bratislava : Štátne nakladateľstvo technickej literatúry, 1954. 89 s.

Príloha

Tabuľka č. 1: Rozdelenie vitamínov podľa rozpustnosti (Keller et al., 1993)	71
Tabuľka č. 2: Vplyv antioxidačnej terapie askorbátu na vybrané ochorenia (Štípek et al., 2000)	71
Tabuľka č. 3: Účinky vitamínu C na zhubné nádory (Mindell, 1996)	72
Tabuľka č. 4: Potreba vitamínu C v mg pre jednotlivé vekové kategórie (Ungerová a Göbelová, 1999)	73
Tabuľka č. 5. 1.: Obsah vitamínu C v mg v 100 g zeleniny (Sečanský, 1954)	74
Tabuľka č. 5. 2.: Obsah vitamínu C v mg v 100 g ovocia a plodov (Sečanský, 1954)	74
Tabuľka č. 5. 3.: Obsah vitamínu C v mg v 100 g potravy (Sečanský, 1954)	75
Tabuľka č. 6: Zdroje vitamínu C (Ungerová a Göbelová, 1999)	75
Tabuľka č. 7: Straty vitamínu C po kuchynskej úprave (Sečanský, 1954)	76
Tabuľka č. 8: Koncentrácia kyseliny askorbovej v ml v jednotlivých skupinách	42
Tabuľka č. 9: Normálne hodnoty najdôležitejších minerálnych látok v sére (Burkhardtová, 2007)	76
Obr. č. 1: Štruktúrny vzorec kyseliny askorbovej (Hallivell, 1990)	15
Obr. č. 2: Biosyntéza kyseliny L-askorbovej (Naidu, 2003)	16
Obr. č. 3: Regenerácia tokoferolového radikálu askorbátom (Štípek et al., 2000)	19
Obr. č. 4: Vzťah medzi tokoferolom a askorbátom (Štípek et al., 2000)	20
Obr. č. 5: Schéma bunky a jej najdôležitejších organel (Langmeier et al., 2009)	37
Obr. č. 6: Granulózne bunky vaječníkov nosníc experimentálnej skupiny Max (1 ml KA)	54
Obr. č. 7: Granulózne bunky vaječníkov nosníc kontrolnej skupiny K (0 ml KA)	54
Obr. č. 8: Easy Lite (Medica, Bedford, USA)	77
Obr. č. 9: Spektrofotometer Microlab 300 (Vilat Scientific, Dieren, The Netherlands)	77
Obr. č. 10: Spektrofotometer Genesys 10 (Thermo Fisher Scientific Inc, USA)	77
Obr. č. 11: Kultivačné well platničky (Nunc TM , Roskilde, Denmark, 1 ml/jamku)	78
Graf č. 1: Uvoľnenie SOD granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v lyzáte po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej	43
Graf č. 2: Uvoľnenie SOD granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej	44
Graf č. 3: Uvoľňovanie vápnika granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej	45

Graf č. 4: Uvoľňovanie horčíka granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej	46
Graf č. 5: Uvoľňovanie fosforu granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej	47
Graf č. 6: Uvoľňovanie sodíka granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej	48
Graf č. 7: Uvoľňovanie draslíka granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej	49
Graf č. 8: Uvoľňovanie chlóru granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej	50
Graf č. 9: Uvoľňovanie glukózy granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej	51
Graf č. 10: Uvoľňovanie triacylglycerolov granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej	52
Graf č. 11: Uvoľňovanie celkových bielkovín granulóznymi bunkami vaječníkov nosníc v kultivačnom médiu po experimentálnom podaní kyseliny askorbovej	53

Tabuľka č. 1: Rozdelenie vitamínov podľa rozpustnosti (Keller et al., 1993).

Vitamíny rozpustné v tukoch	Vitamíny rozpustné vo vode
Vitamín A (retinol)	Komplex vitamínu B:
Vitamín D (kalciferol)	Vitamín B ₁ (thiamín)
Vitamín E (tokoferol)	Vitamín B ₂ (riboflavín)
Vitamín K (phyllochinón)	Vitamín B ₆ (pyridoxín)
	Vitamín B ₁₂ (kobalamín)
	Niacín (amid kys. nikotínovej, vitamín PP)
	Kyselina listová
	Biotín
	Kyselina pantoténová
	Vitamín C (kyselina askorbová)

Tabuľka č. 2: Vplyv antioxidantnej terapie askorbátu na vybrané ochorenia (Štípek et al., 2000)

Antioxidant	Ochorenie	Úspešnosť
Askorbát	Kardiovaskulárne ochorenia	±
	Bronchopulmanálna dyzplazia	+
	Intravaskulárna hemorágia	+
	Nachladnutie	±

Tabuľka č. 3: Účinky vitamínu C na zhubné nádory (Mindell, 1996).

Druh nádoru	Výsledky štúdií o účinkoch vitamínu C
Zhubné nádory dutiny ústnej, hrtanu a pažeráku	Viaceré štúdie dokázali, že nízky príjem KA presvedčivo zvyšuje riziko vzniku týchto nádorov
Zhubné nádory pľúc	Niektoré práce potvrdili, že ľudia konzumujúci vyššie množstvo KA majú nižší výskyt karcinómov pľúc
Zhubné nádory pankreasu	Ľudia, konzumujúci stravu bohatú na KA majú oproti ostatným nižšie riziko vzniku nádorov <u>pankreasu</u>
Zhubné nádory žalúdka	Niektoré výskumy zamerané na vznik nádorov žalúdka a príjem KA potvrdili nepriamo úmerný vzťah. Ľudia so zhubnými nádormi žalúdka mali jednu spoločnú vlastnosť: oproti ostatným konzumovali výrazne menej ovocia a zeleniny
Zhubné nádory kľčka maternice	Ženy s nízkymi krvnými hladinami KA alebo tie, ktoré ju prijímajú v malom množstve, majú zvýšené riziko rozvoja týchto nádorov. Podľa štúdie uskutočnenej v Latinskej Amerike v spolupráci s Národným ústavom pre výskum zhubných nádorov bol u skúmaných žien spájaný príjem KA vyšší ako 314 mg denne s 31 % znížením rizika vzniku karcinómu kľčka maternice. Kontrolnú skupinu predstavovali ženy, ktoré prijímali len 153 mg denne. U tých k poklesu rizika nedošlo, aj keď táto dávka presahuje viac ako 250 % odporúčanej dennej dávky
Zhubné nádory močového mechúra	Niektoré práce preukázali, že KA bráni tvorbe nitrozoamínov u ľudí i zvierat a tým zabraňuje u zvierat vzniku karcinogén indukovaného nádoru močového mechúra
Nádory mozgu v detskom veku	Výskumy naznačujú, že zhubné nádory mozgu detí sú častejšie v prípadoch, kedy matka mala nízky príjem vitamínu C počas tehotenstva
Zhubné nádory pľs	Zdá sa, že medzi nízkymi krvnými hladinami KA a vznikom tohto nádoru existuje silná väzba

Tabuľka č. 4: Potreba vitamínu C v mg pre jednotlivé vekové kategórie (Ungerová a Göbelová, 1999).

Dávky v hmotnostných jednotkách (podľa pohlavia)	Vitamín C v mg
Dojčatá	
Do 4. mesiaca	40
4. – 12. mesiac	50
Deti	
1 – 4 ročné	55
4 – 7 ročné	60
7 – 10 ročné	65
10 – 13 ročné	70
13 – 15 ročné	75
Mladiství a dospelí	
15 – 19 roční	75
19 – 25 roční	
25 – 51	
51 - 65	
65 a viac	
Tehotné ženy od 4. mesiaca	100
Dojčiace ženy	125

Tabuľka č. 5. 1.: Obsah vitamínu C v mg v 100 g zeleniny (Sečanský, 1954).

100 g zeleniny	Množstvo vitamínu C v mg
Zelená paprika	100 - 200
Petržlen	100 – 150
Kel	75
Ružičkový kel	60
Kapusta, kaleráb	55
Red'kovka	25
Špargľa	20
Rajčiny	20
Zemiaky v októbri	10
Hlávkový šalát, mrkva, špenát	8
Staré zemiaky v máji	4

Tabuľka č. 5. 2.: Obsah vitamínu C v mg v 100 g ovocia a plodov (Sečanský, 1954).

100 g ovocia a plodov	Množstvo vitamínu C v mg
Šípky	500 – 1 000
Čierne ríbezle	150
Lesné jahody	70
Citrón, pomaranč	50 – 100
Maliny, melóny, mandarinky	25
Broskyne, banány, čučoriedky	10
Jablká	2 – 10
Hrušky, d'atle, figy	3 – 5
Hroznové víno	2

Tabuľka č. 5. 3.: Obsah vitamínu C v mg v 100 g potravy (Sečanský, 1954).

100 g živočíšnych produktov	Množstvo vitamínu C v mg
Materské mlieko	50
Surové mäso	1 – 3
Kravske mlieko surové	2 – 5
Maslo	0, 5
Vajce	0, 4

Tabuľka č. 6: Zdroje vitamínu C (Ungerová a Göbelová, 1999).

Potravina	g. porcia⁻¹	Obsah vitamínu C v mg	% dennej odporúčanej dávky
Rakytníková šľava	150 g	399	532
Ríbezle	150 g	265, 5	354
Paprika, dusená	200 g	210	280
Kiwi	150 g	106, 5	142
Ružičkový kel, varený	100 g	85	113
Pomaranč, čerstvý	150 g	74	98, 7

Tabuľka č. 7: Straty vitamínu C po kuchynskej úprave (Sečanský, 1954).

Názov jedla	% vitamínu C v porovnaní s obsahom v surovej potrave
Kapusta varená vo vode, čas varenia 1 h.	50
Kapusta dusená	15
Zemiak na drobno pokrájaný a vyprážaný	35
Zemiak varený v šupe (20 – 30 min.)	75
Zemiak varený bez šupy (20 – 30 min.)	60
Zemiaky ošúpané po 24 hod. stáťia vo vode za normálnej teploty izby	80
Zemiakové pyré	20
Zemiaková polievka po 3 hod. stáťia na platni 70 – 75 ° teplej	30
To isté po 6 hod.	Stopy
Mrkva varená	40

Tabuľka č. 9: Normálne hodnoty najdôležitejších minerálnych látok v sére (Burkhardtová, 2007).

Minerálna látka	Normálna hodnota v sére (mmol.l⁻¹)
Draslík	3,5 – 5,5
Sodík	135 – 150
Vápnik	2,15 – 2,75
Chlorid	98 – 110
Magnézium	0,66 – 1,0
Fosfát	0,8 – 1,5

Obr. č. 8: Easy Lite (Medica, Bedford, USA)



Obr. č. 9: Spektrofotometer Microlab 300 (Vilat Scientific, Dieren, The Netherlands)



Obr. č. 10: Spektrofotometer Genesys 10 (Thermo Fisher Scientific Inc, USA)



Obr. č. 11: Kultivačné well platničky (Nunc™, Roskilde, Denmark, 1 ml/jamku)

