



Antidiabetický účinek ionizované zásadité vody na krysách typu OLETF

Dan JIN,^{1,2} Sung Hoon RYU,³ Hyun Won KIM,³ Eun Ju YANG,⁴ SOO Jung LIM,⁴

Yong Suk RYANG,⁴ Choon Hee CHUNG,⁵ Seung Kyu PARK,⁶ and Kyu Jae LEE⁶

¹ Department of Microbiology, Wonju College of Medicine, Yonsei University, Wonju, Gangwon 220-701, Korea

² Department of Microbiology and Immunology, Yanbian University College of Medicine, Yanji 133000, China

³ Department of Biochemistry, Wonju College of Medicine, Yonsei University, Wonju, Gangwon 220-701, Korea

⁴ Department of Biomedical Laboratory Science and Institute of Health Science, College of Health Science, Yonsei University, Wonju, Gangwon 220-710, Korea

⁵ Department of Internal Medicine, Wonju College of Medicine, Yonsei University, Wonju, Gangwon 220-701, Korea

⁶ Department of Parasitology and Institutes for Basic Medical Science, Wonju College of Medicine, Yonsei University, Wonju, Gangwon 220-701, Korea

Přijato 25.4. 2005; Akceptováno 22.8. 2005

Elektrolyticky redukována zásaditá voda (ARW) je známa několika protirakovinnými účinky a také tím, že odstraňuje reaktivní kyslíkové radikály (ROS) a snižuje hladinu glukózy v krvi. Tato studie byla provedena za účelem zjištění účinků ARW na regulaci spontánního diabetu u krys typu Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF).

Rozdělili jsme 16 samců krys OLETF (stáří 4 týdny) do 2 skupin: na experimentální skupinu, které byla podána redukována zásaditá voda (ARW), a na kontrolní skupinu, která přijímala vodu z vodovodu v laboratoři. Mezi 6. až 32. týdnem byla u těchto krys měřena váha, skladba lipidů, a hladina glukózy v krvi. Hladina glukózy v krvi u obou skupin vykazovala vzrůstající tendenci. Avšak po 12 týdnech byly hladiny glukózy u krys v experimentální skupině s příjmem ARW významně nižší než u těch v kontrolní skupině ($p < 0.05$). Po dobu provádění experimentů bylo zjištěno, že celkové množství cholesterolu a triglyceridů bylo mnohem nižší, než u kontrolní skupiny.

Tyto výsledky naznačují, že ARW urychlila růst OLETF krys v průběhu růstové fáze, a že dlouhodobé požívání ARW vedlo ke snížení hladiny glukózy, triglyceridů a celkového cholesterolu v krvi.

Klíčová slova: zásaditá redukována voda (ARW); krysa Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF); diabetes; cholesterol

Elektrolyticky redukována zásaditá voda (ARW) je vyráběna buď pomocí elektrolýzy, nebo chemickou reakcí s kovy alkalických zemin. V přírodě se nachází množství minerálů včetně Mg, Ca a Li, které vykazují schopnost měnit vodu na zásaditou.

Z hořčíku se stává hydroxid hořečnatý, pokud reaguje s vodou. U zásadité vody bylo zjištěno, že způsobuje

tlumivý účinek na úroveň volných radikálů v živých organismech, což vede na prevenci onemocnění.¹⁾ Zásaditá voda se také projevuje antioxidantními účinky¹⁾, odstraňuje reaktivní kyslíkové radikály (ROS),²⁾ urychluje růst, a podporuje metabolismus.³⁾ Huang (2003) *et al.* již dříve prokázal účinky zásadité redukováne vody na pacientech v koncovém stádiu onemocnění ledvin, u kterých se docílilo snížení oxidačního stresu díky kombinovanému použití elektrolyzované vody během hemodialýzy.⁴⁾

Diabetes je metabolické onemocnění, které je provázáno řadou komplikací, způsobené buď nedostatkem inzulínu, nebo snášenlivostí inzulínu. Abnormální metabolismus lipidů představuje rovněž hlavní příčinu morbidit a mortality, a je známo, že je spouštěcím faktorem mnoha mikrovaskulárních a makrovaskulárních komplikací.^{5,6)} Hyperglykémie je primárním rizikovým faktorem arteriosklerózy, a následně i faktorem koronárních srdečních onemocnění (CHD).^{7,8)} Je důležité regulovat hyperglykémii, protože koronární onemocnění srdce (CHD) spojené s hyperglykemií jsou primární příčinou úmrtí u pacientů s diabetem druhého typu.⁹⁾

Je známo, že hyperglykémie a hyperlipidémie mají souvislost s hladinou reaktivních kyslíkových radikálů v cévách, tkáních a buňkách.¹⁰⁻¹²⁾ Navíc bylo zjištěno, že jak odstraňování reaktivních kyslíkových radikálů, tak i řízení metabolismu lipidů, mají blízký vztah k regulaci diabetu. Z těchto důvodů je výzkum vztahů mezi antioxidanty a řízením metabolismu lipidů důležitou oblastí zkoumání.^{13,14)}

Kim a Yokoyama (1997) již dříve uvedli, že podávání redukováne zásadité vody krysám typu GK (Goto-Kakizaki) vedlo na snížení úrovně glukózy a lipidového peroxidu.¹⁵⁾

* Kontakt na adresáta. Fax: +82-33-731-6953; E-mail: kjlee@wonju.yonsei.ac.kr

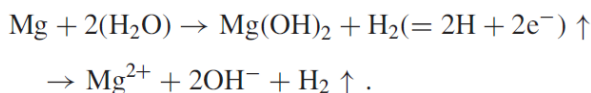
Zkratky: ARW, alkaline-reduced water, zásaditá redukována voda; ROS, reactive oxygen species, reaktivní kyslíkové radikály; OLETF, Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty; VLDL, very-low-density lipoprotein, lipoprotein velmi nízké hustoty; CHD, coronary heart diseases, koronární onemocnění srdce; ORP, oxidation-reduction potential, oxidačně-redukční potenciál; GOT, glutamic oxaloacetic transaminase, Glutamát-oxalacetát transamináza (aspartátaminostransferáza); GPT, glutamic pyruvic transaminase, glutamátpyruvát transamináza

Další vědec rovněž uvedl, že redukovaná zásaditá voda by mohla podstatně zvýšit aktivitu hexokinázy, což je stěžejní enzym vyvolávající snížení hladiny glukózy v krvi.¹⁶⁾

Ačkoliv je redukovaná zásaditá voda pokládána za efektivní antioxidační mechanismus, vědecké přístupy navržené k objasnění těchto funkcí se tradičně ukázaly jako nedostatečné. Na základě předchozích výsledků zkoumání antidiabetických účinků redukované zásadité vody vznikla studie, která měla za cíl ověřit hladiny lipidů a glukózy v krvi krysy Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF). Tyto krysy jsou považovány za základ pro vytvoření použitelného modelu pro diabetes druhého typu u lidí.

Materiály a Metody

ARW. Zásaditá redukovaná voda (ARW) byla vyrobena pomocí trubiček Alkalogen® sticks (HDR, Korea) které obsahují hořčík v plastovém pouzdře. Trubičky byly umístěny do vody v krmných lahvích. Když se hořčík dostane do kontaktu s vodou, reaguje následovně:



Hodnoty pH a oxidačně-redukčního potenciálu (ORP) zásadité redukované vody byly udržovány v rozmezích pH 10.0-10.5 a ORP pod -100 mV (Tabulka 1).

Pokusná zvířata. Samci krysy typu OLETF ve stáří čtyř týdnů byly věnovány společností Otsuka Pharmaceuticals Co. (Japan). Těmto krysám byla podávána strava (Superfeed company, Korea; Tabulka 2) a voda, byly chovány při teplotě 22 °C, vlhkosti 56 ± 5%, a při 12-hodinové fotoperiodě až do konce této studie. Krysy byly po adaptaci rozděleny do kontrolní skupiny (n = 8) a experimentální (ARW) skupiny (n = 8). Krysám v kontrolní skupině byla podávána voda z kohoutku v laboratoři ve složení 6.45 mg/l Ca, 0.66 mg/l Mg, 10.02 mg/l Na, 0.06 mg/l Fe, a 0.68 mg/l K, a krysám v experimentální skupině byla podávána zásaditá redukovaná voda.

Studie byla schválena komisí *Yonsei University*

Tabulka 1. Změny hodnot pH a oxidačně-redukčního potenciálu (ORP)

Čas (hod)	pH		ORP (mV)	
	Experimentální (ARW)	Kontrolní	Experimentální (ARW)	Kontrolní
0	7.38	7.35	531.2	531.2
1	9.17	7.39	-143.7	531.1
2	9.81	7.38	-169.1	531.2
3	9.98	7.38	-175.7	531.2
4	10.12	7.39	-180.5	531.1
5	10.38	7.38	-184.8	531.1
6	10.54	7.38	-197.1	530.9
7	10.55	7.38	-197.3	530.7
12	10.51	7.39	-195.2	530.8
24	10.49	7.37	-194.7	529.4

Tabulka 2. Složení stravy

	Na 100 g
Všeobecné složení	
Vlhkost	11.00 g
Surový protein	22.30 g
Surový tuk	5.90 g
Surový popel	6.70 g
Surová vláknina	3.20 g
Bezdušikaté výtažky	50.90 g
Kalorie	346 kal
Minerální analýza	
Ca	1150 mg
P	750 mg
Mg	200 mg
Na	400 mg
K	880 mg
Fe	14.00 mg
Cu	1.80 mg
Zn	13.00 mg
Co	0.05 mg
Mn	10.00 mg
Cl	0.58 mg
S	0.25 mg
I	0.08 mg
Se	0.04 mg

Animal Committee, a o zvířata bylo postaráno v souladu s předpisy pro péči a používání laboratorních zvířat stanovenými na Wonju College of Medicine, Yonsei University.

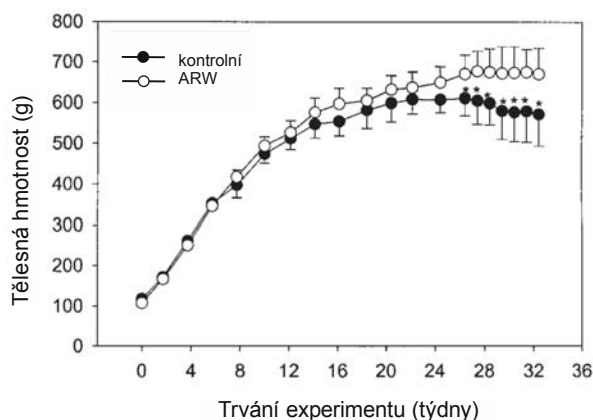
Změny v tělesné hmotnosti a krevním obraze. Změny v tělesné hmotnosti byly měřeny v týdenních intervalech, mezi týdny 6 až 32. Krevní vzorky byly odebírány z ocasní žíly každé krysy ve čtyřtýdenních intervalech, a parametry byly měřeny pomocí systému Cholestech L.D.X.® (Cholestech, U.S.A.). Měřenými krevními parametry byly celkové množství cholesterolu, lipoproteiny velmi nízké hustoty (VLDL), lipoproteiny vysoké hustoty (HDL), lipoproteiny nízké hustoty (LDL) a glukóza. V týdnu 32 jsme také pozorovali glutamát-oxalacetát transaminázu (aspartátamino-transferázu, GOT) a glutamát-pyruvát transaminázu (alaninaminotransferázu, GPT), které jsou oboje důležité transaminázy v krysím krevním séru.

Statistika. Rozdíly mezi těmito dvěma skupinami byly vyhodnoceny Studentovým t-testem, za použití softwarového nástroje Prism verze 3.0 (GraphPad Software, U.S.A.). Každá z datových hodnot je vyjádřena jako střední hodnota ± směrodatná odchylka.

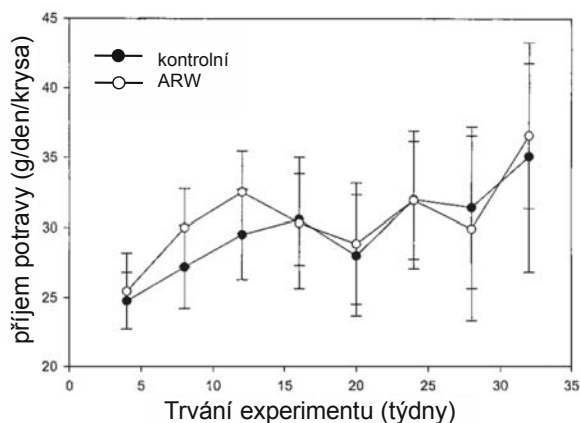
Výsledky

Změna tělesné hmotnosti

Až do 24. týdne se neprojevovala významná změna tělesné hmotnosti v obou skupinách. Experimentální skupina (ARW) poté vykazovala zvýšenou tělesnou hmotnost, zatímco kontrolní skupina vykazovala nezměněnou nebo sníženou tělesnou hmotnost mezi týdny 24 a 32. Pozorovali jsme významný rozdíl průměrné tělesné hmotnosti v obou skupinách mezi týdny 24 a 32 ($p < 0.05$) (Obr. 1).



Obr. 1. Změny v tělesné hmotnosti. Krysám typu OLETF stáří 5 týdnů byla podávána kohoutková voda (n=8) nebo zásaditá redukovaná voda (n=8) během 32 týdnů. Data jsou vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka (* $p < 0.05$).



Obr. 2. Hodnoty příjmu potravy.

Krysám typu OLETF stáří 5 týdnů byla podávána kohoutková voda (n=8) nebo zásaditá redukovaná voda (n=8) během 32 týdnů. Data jsou vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka.

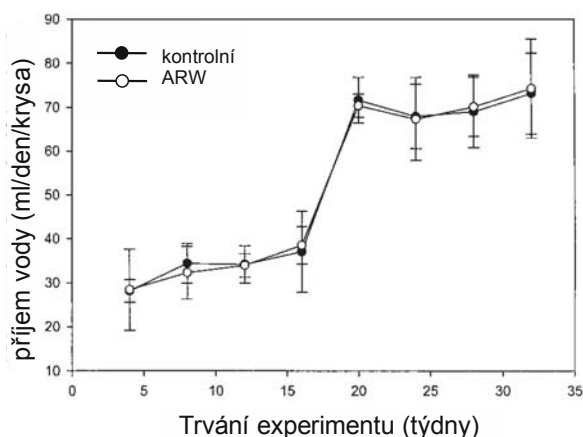
Hodnoty příjmu potravy a spotřeby vody

Až do 32. týdne nebyly pozorovány žádné významné změny příjmu potravy (Obr. 2) ani příjmu vody (Obr. 3) mezi kontrolní a experimentální skupinou.

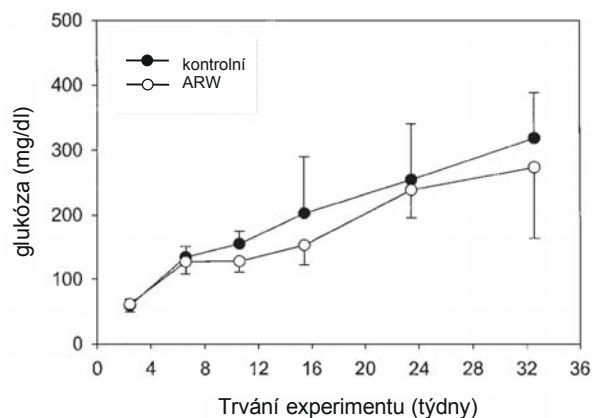
Glukóza, lipidy, a lipoproteiny v krvi. Úroveň glukózy se zvýšila u všech krys mezi týdny 6 až 32. V experimentální skupině došlo ke snížení hladiny glukózy ($p < 0.05$) mezi týdny 12 až 32 (Obr. 4). Celkové hodnoty cholesterolu (Obr. 5) a triglyceridů (Obr. 6) v experimentální skupině byly významně nižší během týdnů 6 až 32 než hladiny těchto látek v kontrolní skupině.

GOT a GPT v krysím krevním séru

Hodnota GOT v experimentální skupině (ARW) byla stanovena jako výrazně nižší, než v kontrolní skupině ($p < 0.05$) během týdne 32 (Obr. 7). Hladina GPT v experimentální skupině byla také nižší, než v kontrolní skupině, ačkoliv tento rozdíl nebyl statisticky významný (Obr. 8).

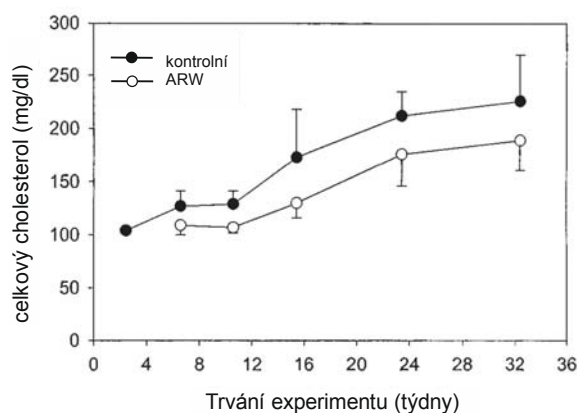


Obr. 3. Hodnoty příjmu vody. Krysám typu OLETF stáří 5 týdnů byla podávána kohoutková voda (n=8) nebo zásaditá redukovaná voda (n=8) během 32 týdnů. Data jsou vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka.



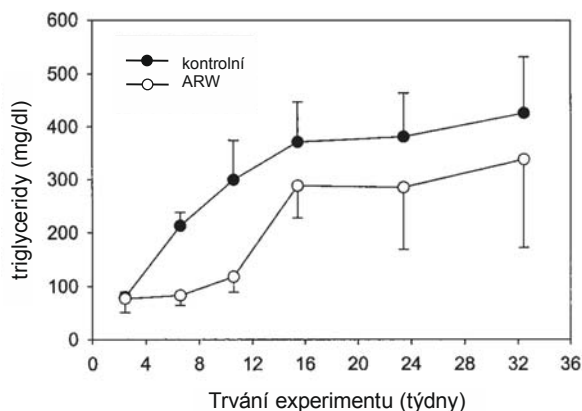
Obr. 4. Změny v hodnotách krevní glukózy.

Krysám typu OLETF stáří 5 týdnů byla podávána kohoutková voda (n=8) nebo zásaditá redukovaná voda (n=8) během 32 týdnů. Hodnoty glukózy byly měřeny ve čtyřtýdenních intervalech, a parametry byly měřeny pomocí systému Cholestech L.D.X.® (Cholestech, U.S.A.) s použitím vzorků odebraných z ocasní žíly. Data jsou vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka.



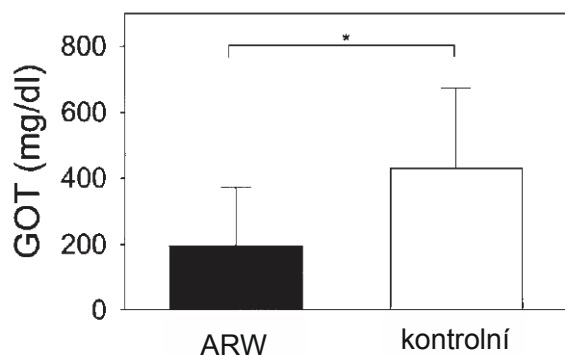
Obr. 5. Změny v celkové hodnotě cholesterolu.

Krysám typu OLETF stáří 5 týdnů byla podávána kohoutková voda (n=8) nebo zásaditá redukovaná voda (n=8) během 32 týdnů. Hodnoty cholesterolu byly měřeny ve čtyřtýdenních intervalech, a parametry byly měřeny pomocí systému Cholestech L.D.X.® (Cholestech, U.S.A.) s použitím vzorků odebraných z ocasní žíly. Data jsou vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka.



Obr. 6. Změny v hodnotách triglyceridů.

Samcům krys typu OLETF stáří 5 týdnů byla podávána kohoutková voda (n=8) nebo zásaditá redukovaná voda (n=8) během 32 týdnů. Hodnoty triglyceridů byly měřeny ve čtyřtýdenních intervalech pomocí systému Cholestech L.D.X.® (U.S.A.) s použitím vzorků odebraných z ocasní žíly. Data jsou vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka.



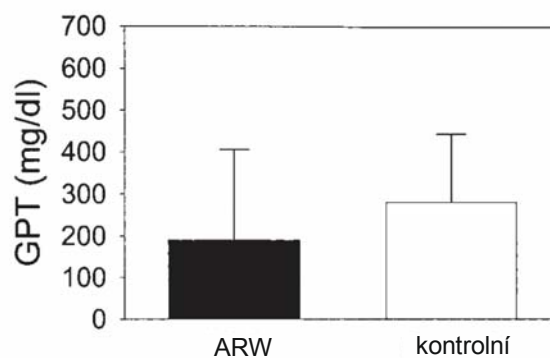
Obr. 7. Koncentrace GOT v krevním séru.

Krysám typu OLETF stáří 5 týdnů byla podávána kohoutková voda (n=8) nebo zásaditá redukovaná voda (n=8) během 32 týdnů. Ve 32. týdnu byla v krevním séru určena hodnota glutamát-oxalacetát transaminázy (GOT). Data jsou vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka ($p < 0.05$).

Diskuse

Diabetes je metabolické onemocnění, které je doprovázeno řadou komplikací, z nichž většina je připisována chronické hyperglykémii. Mezi příčiny onemocnění u diabetických pacientů patří nedostatek inzulínu a snášenlivost inzulínu. Diabetes vyvolává jak akutní, tak i chronické komplikace. Akutní komplikace mohou být vyvolány metabolickými poruchami, včetně ketoacidózy a neketického kómatu a infekcí, ale tyto symptomy mohou být relativně dobře regulovány. Chronické komplikace však mají tendenci se zhoršovat s postupem diabetu. Chronické komplikace spojené s diabetem zahrnují makroangiopatie, jako je ischemická choroba srdeční a cévní onemocnění mozku, dále mikroangiopatie jako je neuropatie, ortostatická hypotenze, retinopatie a nefropatie.

Makroangiopatie je vyvolána více faktory,



Obr. 8. Koncentrace GPT v krevním séru.

Krysám typu OLETF stáří 5 týdnů byla podávána kohoutková voda (n=8) nebo zásaditá redukovaná voda (n=8) během 32 týdnů. Ve 32. týdnu byla v krevním séru určena hodnota glutamát-pyruvát transaminázy (GPT). Data jsou vyjádřena jako průměr ± směrodatná odchylka.

jako je zvýšená hodnota LDL-C, hypertriglyceridémie, a snížená hodnota HDL-C. Dysfunkce kapilárního oběhového systému, abnormální zvýšení metabolismu glukózy, a genetická predispozice také celkově vykazují významný vliv na mikroangiopatie. U těchto komplikovaných patologických příčin se má za to, že mají vztah k hlavnímu mechanismu reaktivních kyslíkových radikálů a oxidačnímu stresu. Zvýšené hodnoty kyslíkových radikálů a lipidového peroxidu kvůli oxidaci monosacharózy vyvolávají oxidační stres v různých tkáních, a také vyvolávají oxidační stres u DNA diabetických pacientů. Oxid dusnatý (NO) produkovaný uvnitř angio-endoteliálních buněk také zpomaluje hromadění a přilnavost krevních destiček, oslabuje adhezní funkci monocytů, a potlačuje proliferaci cévních buněk hladkého svalstva. Hyperglykémie přímo potlačuje aktivaci syntézy oxidu dusnatého. Velká část výzkumu nedávno prokázala, že reaktivní kyslíkové radikály jsou přímo spojeny s diabetickými komplikacemi.

Účinky zásadité redukované vody byly teprve nedávno pozorovány při studiu diabetes. Navíc, teprve nedávno bylo poukázáno na to, že by zásaditá voda mohla mít nějaké účinky na krevní glukózu a metabolismus lipidů.

V této studii jsme pozorovali účinky zásadité redukované vody na krysách typu OLETF. Ty mohou být použity jako živočišný model pro diabetes druhého typu, jehož příznaky také představují hlavní rizikové faktory pro arteriosklerózu, včetně obezity, hyperglykémie, hypertenze, a hyperlipidémie.^{17,18)}

Hladina glukózy v kontrolní skupině byla 202.5 ± 96.5 mmol/dl v týdnu 18, zatímco v experimentální skupině byly dosaženy hodnoty pouze 202.5 ± 96.5 mmol/dl v týdnu 26. Úroveň krevní glukózy v experimentální skupině byla trvale nižší, než v kontrolní skupině. Tyto výsledky naznačují, že zásaditá redukovaná voda vyvolala snížení hodnot krevní glukózy. Předpokládá se, že to lze přičíst up-regulaci aktivity hexokinázy zásaditou vodou.¹¹⁾

Strawn uvádí, že pravděpodobnost jak mikrovaskulárních, tak makrovaskulárních komplikací se zhorší, pokud se vyskytují společně s hypercholesterolemií. Také určil, že reaktivní

kyslíkové radikály byly spouštěčem diabetických a arteriosklerotických komplikací tím, že našel souvislost mezi hyperglykemií a hypercholesterolemií s těmito komplikacemi. Oxidační stres spojený s angiotenzinem II představuje příčinný faktor endoteliální dysfunkce, vyvolávající hyperglykémii a hypercholesterolemii. Endoteliální dysfunkce pak vede na potlačení a inaktivaci produkce oxidu dusnatého v endotelu. Jiní výzkumníci rovněž potvrdili, že angiotenzin II hraje důležitou roli v rozvoji jak arteriosklerózy, tak glomerulosklerózy.¹⁰⁾

Harrison *et al.* uvádějí, že angiotenzin II zvýšil výskyt kardiovaskulárních onemocnění, včetně hypertenze, hypercholesterolemie, arteriosklerózy, ischemické choroby srdeční, hypertrofie levé komory, srdečního selhání, a diabetes.

Angiotenzin II se také podílí na aktivaci NAD(P)H oxidázy, která je jedním z hlavních faktorů při tvorbě reaktivních kyslíkových radikálů v cévních buňkách.¹⁹⁾

Cai *et al.* zdůraznili, že NAD(P)H oxidáza v cévách může být hlavním faktorem při léčbě kardiovaskulárních onemocnění.²⁰⁾ V průběhu několikaletého výzkumu potvrdili existenci nového oxidázového systému NAD(P)H, v současnosti označovaného jako non-fagotický oxidázový NAD(P)H protein. Také potvrdili, že kardiovaskulární onemocnění, včetně arteriosklerózy a hypertenze, jsou výsledkem produkce reaktivních kyslíkových radikálů v krevních cévách způsobené tímto enzymem. Reaktivní kyslíkové radikály generované metabolismem lipidů v krevních cévách jsou považovány za hlavní faktor při regulaci diabetes, což bylo často pozorováno u pacientů s diabetem.

Hladiny celkového cholesterolu a triglyceridů v experimentální skupině stanovené v této studii se významně lišily od úrovně v kontrolní skupině, přičemž tento rozdíl přetrvával po dobu několika týdnů. Předpokládáme, že zásaditá redukovaná voda vyvolala snížení hladiny glukózy v krvi, což zpětně ovlivnilo metabolismus lipidů. Vysoká hladina lipoproteinů velmi nízké hustoty (VLDL) by mohla být korigována po normalizaci hyperglykémie.¹⁸⁾

Hladiny cholesterolu, triglyceridů a glukózy experimentální skupině byly nižší než odpovídající úrovně v kontrolní skupině. I když přesný vnitřní mechanismus, na základě kterého vnikly výsledky v závislosti na experimentálním období, nemůže být potvrzen, jsme přesvědčeni, že zásaditá redukovaná voda fungovala jako antioxidant podílející se na změnách v celkovém metabolismu lipidů, a tím způsobila rozdíl v tělesné hmotnosti mezi těmito dvěma skupinami.

Změny tělesné hmotnosti během experimentu jsou v souladu se zprávou, kterou publikoval Watanabe, tedy že zásaditá redukovaná voda vyvolala zvýšení růstu během růstového období. Watanabe také uvádí, že tento stimulační růstový efekt bylo možno pozorovat na změně tělesné hmotnosti, a v rozvoji různých orgánů krys, které přijímaly zásaditou redukovanou vodu během kojení.³⁾

V této studii jsme potvrdili, že tělesné hmotnosti experimentální skupiny byly vyšší než u kontrolní skupiny. To naznačuje, že zásaditá redukovaná voda měla významný urychlující účinek na růst, a také vyvolala snížení hladiny lipidů v krvi.

Během celé studie jsme také potvrdili, že aplikace zásadité vody by mohla zmírnit krevní parametry u diabetu, včetně hodnoty glukózy, triglyceridů, a cholesterolu. Zejména se potvrdilo, že zásaditá redukovaná voda má účinek na odstraňování reaktivních kyslíkových radikálů.^{2,4)}

Hanaoka oznámil, že antioxidanty rozpuštěné v redukované vodě vykazovaly dismutaci superoxidu (superoxiddismutázu). Navrhl, že zvýšení superoxid-dismutázy, jaké nastává například u donor protonů jako je kyselina L-askorbová, D-katechin a quercetin, lze přičíst zvýšení disociační aktivity vody, zatímco efekt vyplachování pozorovaný ve spojení s peroxidem vodíku byl připisován aktivovanému vodíku rozpuštěnému v redukované vodě. Podle jeho výsledků se disociační konstanta snížené vody zvýšila 1,46-krát.¹⁾

Pacienti s diabetem vykazovali zvýšenou hladinu oxidačního stresu a sníženou hladinu antioxidantů.²¹⁻²³⁾ Navíc bylo u diabetu zjištěno narušení antioxidačního obranného systému: změny v antioxidačních enzymech,²⁴⁾ oslabený metabolismus glutathionu,²⁵⁾ a snížené hodnoty kyseliny askorbové.²⁶⁾ Několik studií uvádí, že některé látky, které mají antioxidační aktivitu, měly vliv na regulaci hladiny glukózy v krvi a komplikací u živočišných modelů, a u pacientů s diabetem.²⁷⁻³⁰⁾ Například, Sreemantula *et al.* poukázali na to, že kyselina L-askorbová coby známý antioxidant, způsobila hypoglykemickou aktivitu v závislosti na dávce při diagnostikovaném diabetu.³⁰⁾ Bylo zdokumentováno mnoho podobných případů antioxidační funkce, kde došlo ke snížení hladiny lipidů krevního séra.^{31,32)} Naše předchozí studie také ukázala, že zásaditá redukovaná voda měla antioxidační chování, a že tato antioxidační aktivita byla podobná jako u kyseliny L-askorbové (nepublikované údaje). Proto považujeme účinky zásadité vody na krysách typu OLETF v této studii za důsledek způsobený díky antioxidační aktivitě.

Aspartátamino-transferáza (GOT) a glutamát-pyruvát transamináza (alaninaminotransferáza, GPT) tvoří nejdůležitější aminotransferázy u lidí. Je-li koronární tepna zablokována kvůli usazeninám lipidů, následuje závažný nedostatek kyslíku, důsledkem čehož se srdeční svaly stávají částečně degenerované. Zároveň jsou GOT a GPT vylučovány z poškozených buněk srdce do krve. V této studii jsme zjistili, že hodnoty GOT a GPT v experimentální skupině byly nižší než u kontrolní skupiny ve 32. týdnu. To naznačuje, že zásaditá redukovaná voda měla významný vliv na profylaxi koronárních onemocnění tepen, jakož i onemocnění srdce způsobené diabetickými komplikacemi. I když rozdíl v koncentraci GOT mezi kontrolní a experimentální skupinou dosáhly statistické významnosti ($p = 0,0325$), v případě koncentrace GPT to neplatilo. To bylo způsobeno tím, že GOT je vylučován do krevního řečiště dříve, než GPT.

Došli jsme k závěru, že zásaditá voda se projevuje významnými účinky v prevenci a kontrole diabetických komplikací, a další vyšetřování jejich mechanismů, zejména v souvislosti s diabetickými onemocněními, si zcela bezpochyby zaslouží pozornost.

Reference:

- 1) Hanaoka, K., Antioxidant effects of reduced water produced by electrolysis of sodium chloride solutions. *J. Appl. Electrochem.*, **31**, 1307-1313 (2001).
- 2) Shirahata, S., Kabayama, S., Nakano, M., Miura, T., Kusumoto, K., Gotoh, M., Hayashi, H., Otsubo, K., Morisawa, S., and Katakura, Y., Electrolyzed-reduced water scavenges active oxygen species and protects DNA from oxidative damage. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **234**, 269-234 (1997).
- 3) Watanabe, T., Effect of alkaline ionized water on reproduction in gestational and lactational rats. *J. Toxicol. Sci.*, **20**, 135-142 (1995).
- 4) Huang, K. C., Yang, C. C., Lee, K. T., and Chien, C. T., Reduced hemodialysis-induced oxidative stress in endstage renal disease patients by electrolyzed reduced water. *Kidney Int.*, **64**, 704-714 (2003).
- 5) Kim, I. S., Relationship of diabetes mellitus to cardiovascular disease risk. *Diabetes (Korean)*, **20**, 83-93 (1996).
- 6) Reaven, G. M., Non-insulin-dependent diabetes mellitus, abnormal lipoprotein metabolism, and atherosclerosis. *Metabolism*, **36**, 1-8 (1987).
- 7) Pyorala, K., Laakso, M., and Uusitupa, M., Diabetes and atherosclerosis: an epidemiologic view. *Diabetes: Metab. Rev.*, **3**, 463-524 (1987).
- 8) Gartda, O. P., Pathogenesis of macrovascular disease in the human diabetic. *Diabetes*, **29**, 931-942 (1980).
- 9) Packard, C., and Olsson, A. G., Management of hypercholesterolaemia in the patient with diabetes. *Int. J. Clin. Pract. Suppl.*, 27-32 (2002).
- 10) Strawn, W. B., Pathophysiological and clinical implications of AT(1) and AT(2) angiotensin II receptors in metabolic disorders: hypercholesterolaemia and diabetes. *Drugs*, **62**(Spec No 1), 31-41 (2002).
- 11) Warnholtz, A., Nickenig, G., Schulz, H., Macharzina, R., Brasen, J. H., Skatchkov, M., Heitzer, T., Stasch, J. P., Griendling, K. K., Harrison, D. G., Bohm, M., Meinertz, T., and Munzel, T., Increased NADH-oxidase-mediated superoxide production in the early stages of atherosclerosis: evidence for involvement of the renin-angiotensin system. *Circulation*, **99**, 2027-2033 (1999).
- 12) Gardner, C. D., Eguchi, S., Reynolds, C. M., Eguchi, K., Frank, G. D., and Motley, E. D., Hydrogen peroxide inhibits insulin signaling in vascular smooth muscle cells. *Exp. Biol. Med.*, **228**, 336-342 (2003).
- 13) Podriguex Villar C, M. J., Casals, E., Perez Heras, A., Zambon, D., Gomis, R., and Ros, E., High-monosaturated fat, olive oil-rich diet has effects similar to a high carbohydrate diet on fasting and postprandial state and metabolic profiles of patients with type 2 diabetes. *Metabolism*, **49**, 1511-1517 (2000).
- 14) Frei, B., On the role of vitamin C and other antioxidants in atherogenesis and vascular dysfunction. *Roc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **222**, 196-204 (1999).
- 15) Kim, J. M., and Yokoyama, K., Effects of alkaline ionized water on spontaneously diabetic GK-rats fed sucrose. *Korean J. Lab. Anim. Sci.*, **13**, 187-190 (1997).
- 16) Watanabe, T., Kishikawa, Y., and Shirai, W., Influence of alkaline ionized water on rat erythrocyte hexokinase activity and myocardium. *J. Toxicol. Sci.*, **22**, 141-152 (1997).
- 17) Kawano, I., Hirashima, T., Mori, S., Saitoh, Y., Kurosumi, M., and Natori, T., Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. Otsuka Long-Hvans Tokushima Fatty (OLETF) strain. *Diabetes*, **41**, 1422-1428 (1992).
- 18) Saito, T., Nakamura, T., Ohyama, Y., Suzuki, T., Iida, A., Shiraki-Iida, T., Kuro-o, M., Nabeshima, Y., Kurabayashi, M., and Nagai, R., In vivo klotho gene delivery protects against endothelial dysfunction in multiple risk factor syndrome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **276**, 767-772 (2000).
- 19) Harrison, D. G., Cai, H., Landmesser, U., and Griendling, K. K., Interactions of angiotensin II with NAD(P)H oxidase, oxidant stress and cardiovascular disease. *J. Renin. Angiotensin. Aldosterone Syst.*, **4**, 51-61 (2003).
- 20) Cail, H., Griendling, K. K., and Harrison, D. G., The vascular NAD(P)H oxidases as therapeutic targets in cardiovascular diseases. *Trends Pharmacol. Sci.*, **24**, 471-478 (2003).
- 21) Jain, S. K., McVie, R., Jaramillo, J. J., Palmer, M., and Smith, T., Effect of modest vitamin E supplementation on blood glycated hemoglobin and triglyceride levels and red cell indices in type I diabetic patients. *J. Am. Coll. Nutr.*, **15**, 453-461 (1996).
- 22) Nourooz-Zadeh, J., Rahinri, A., Tajaddini-Sarmadi, J., Tritschler, H., Rosen, P., Halliwell, H., and Betteridge, D. J., Relationships between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM. *Diabetologia*, **40**, 647-653 (1997).
- 23) Feillet-Coudray, C., Rock, H., Coudray, C., Grzelkowska, K., Azais-Braesco, V., Dardevet, D., and Mazur, A., Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes. *Clin. Chim. Acta*, **284**, 31-43 (1999).
- 24) Strain, J. J., Disturbances of micronutrient and antioxidant status in diabetes. *Proc. Nutr. Soc.*, **50**, 591-604 (1991).
- 25) McLennan, S. V., Heffernan, S., Wright, L., Rae, C., Fisher, Y., Yue, D. K., and Turtle, J. R., Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes. *Diabetes*, **40**, 344-348 (1991).
- 26) Jennings, P. E., Chirico, S., Jones, A. P., Lunec, J., and Barnett, A. H., Vitamin C metabolites and microangiopathy in diabetes mellitus. *Diabetes Res*, **6**, 151-154 (1987).
- 27) Komosinska-Vassev, K., Olczyk, K., Olczyk, P., and Winsz-Szczotka, K., Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **68**, 207-216 (2005).
- 28) Haidara, M. A., Khloussy, H., Ammar, H., and Aal Kassern, L. A., Impact of alpha-tocopherol and vitamin C on endothelial markers in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Med. Sci. Monit.*, **10**, BR41-46 (2004).
- 29) Ananthan, R., Bashtar, C., Narmatha Bai, V., Pari, L., Latha, M., and Rarikumar, K. M., Antidiabetic effect of *Gymnema montanum* leaves: effect on lipid peroxidation-induced oxidative stress in experimental diabetes. *Pharmacol. Res.*, **48**, 551-556 (2003).
- 30) Sreemantula, S., Kilari, E. K., Vardhan, V. A., and Jaladi, R., Influence of antioxidant (L-ascorbic acid) on tolbutamide-induced hypoglycaemia/antihyperglycaemia in normal and diabetic rats. *BMC. Endocr. Disord.*, **5**, 2 (2005).
- 31) Hoyos, M., Guerrero, J. M., Perez-Cano, R., Oliván, J., Fabiani, P., Garcia-Perganeda, A., and Osuna, C., Serum cholesterol and lipid peroxidation are decreased by melatonin in diet-induced hypercholesterolemic rats. *J. Pineal. Res.*, **28**, 150-155 (2000).
- 32) Latha, M., and Pari, L., Modulatory effect of *Scopariadulcis* in oxidative stress-induced lipid peroxidation in streptozotocin diabetic rats. *J. Med. Food*, **6**, 379-386 (2003).