

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Jasmina HALILOVIĆ

**VPLIV DODANEGA KOENCIMA Q₁₀ V KRMO PIŠČANCEV NA
NJEGOVO VSEBNOST V DROBOVINI**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**EFFECT OF ADDED COENZYME Q₁₀ IN CHICKEN FEED ON ITS
CONTENT IN ENTRAILS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2008

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Delo je bilo opravljeno na Katedri za tehnologijo mesa in gotovih jedi Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani in Kemijskem inštitutu v Ljubljani.

Študijska komisija oddelka za živilstvo je za mentorico diplomskega dela imenovala doc. dr. Leo Gašperlin, za somentorja dr. Tomaža Polaka in za recenzentko doc. dr. Leo Pogačnik.

Mentor: doc. dr. Lea Gašperlin

Somentor: dr. Tomaž Polak

Recenzentka: doc. dr. Lea Pogačnik

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Jasmina Halilović

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 637.54: 637.66: 577.161.6: 543.635.3 (043) = 163.6
- KG koencimi/koencim Q₁₀/piščanci/drobovina piščancev/piščančja jetra/piščančja srca/krma obogatena s koencimom Q₁₀/holesterol/maščobne kisline
- AV HALILOVIĆ, Jasmina
- SA GAŠPERLIN, Lea (mentorica), POLAK, Tomaž (somentor)/POGAČNIK, Lea (recenzentka)
- KZ SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
- LI 2008
- IN VPLIV DODANEGA KOENCIMA Q₁₀ V KRMO PIŠČANCEV NA NJEGOVO VSEBNOST V DROBOVINI
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP X, 47 str., 9 pregl., 8 sl., 32 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Namen diplomskega dela je bil ugotoviti vpliv dodanega koencima Q₁₀ v krmo piščancev na njegovo vsebnost v njihovih jetrih in srcih. Preveriti smo želeli tudi morebitne spremembe v maščobnokislinski sestavi in vsebnosti holesterola. V poizkus je bilo vključenih 200 piščancev, provenience Ross 308, starih 41 dni. Poskusne skupine so bile oblikovane glede na dolžino krmljenja piščancev z vodotopno obliko koencima Q₁₀ (0 dni, 10 dni, 20 dni, 30 dni in 40 dni). Vsebnost koencima Q₁₀ smo določili s tekočinsko kromatografijo, kot detektor smo uporabili masni spektrometer (LC-MS), vsebnost holesterola s tankoplastno tekočinsko kromatografijo (TLC), maščobnokislinsko sestavo pa z metodo, modificirano po Park in Goinsu (1994). V piščančjih jetrih smo določili značilno več koencima Q₁₀ in holesterola kot v piščančjih srcih (169 mg/kg vs. 137 mg/kg oz. 2100 mg/kg vs. 1460 mg/kg). V krmo piščancev dodani koencim Q₁₀ je statistično vplival le na vsebnost koencima Q₁₀ v srcih ne pa tudi v jetrih. V piščančjih srcih smo določili značilno več koencima Q₁₀ in manj holesterola v poskusnih kot v kontrolni skupini. Dodatek koencima Q₁₀ je značilno vplival na maščobnokislinsko sestavo, izboljšal indeks aterogenosti in P/S indeks, na razmerje *n-6:n-3* ni vplival.

KEY WORDS DOKUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 637.54: 637.66: 577.161.6: 543.635.3 (043) = 163.6
- CX coenzymes/coenzyme Q₁₀/chicken/chicken entrails/chicken livers/ chicken heart/coenzyme Q₁₀ riched feed/cholesterol/fatty acids
- AU HALILOVIĆ, Jasmina
- AA GAŠPERLIN, Lea (supervisor), POLAK, Tomaž (co-advisor)/POGAČNIK, Lea (reviewer)
- PP SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
- PY 2008
- TI EFFECT OF ADDED COENZYME Q₁₀ IN CHICKEN FEED ON ITS CONTENT IN ENTRAILS
- DT Graduation thesis (University studies)
- NO X, 47 p., 9 tab., 8 graph., 32 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB The aim of this study was to investigate the influence of the coenzyme Q₁₀ added to the chicken feed on the content of it in their livers and hearts. The potential changes in the fatty acid composition and in cholesterol content were also investigated. We included 200 chickens, Ross 308 provenience, which were 41 days old. The experimental groups were formed according to how many days these chickens were fed with the water soluble form of coenzyme Q₁₀ (0 days, 10 days, 20 days, 30 days, 40 days). The coenzyme Q₁₀ content was determined by using liquid chromatography and a mass spectrometer as the detector (LC-MS), the cholesterol content by using thin layer chromatography (TLC) and the fatty acid content by using a method modified by Park and Goins (1994). The chicken livers contained more coenzyme Q₁₀ and cholesterol than the chicken hearts (169 mg/kg *vs.* 137 mg/kg or 2100 mg/kg *vs.* 1460 mg/kg). The coenzyme Q₁₀ added to the chicken feed influenced only the content of it in the hearts, but not in the livers. In the hearts, we determined more coenzyme Q₁₀ and less cholesterol in experimental groups compared to the control groups. The coenzyme Q₁₀ addition influenced significantly the fatty acid composition, it improved the aterogenic index and P/S index; it didn't influence the proportion *n-6:n-3*.

KAZALO VSEBINE

| | |
|--|-------------|
| KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA | III |
| KEY WORDS DOKUMENTATION | IV |
| KAZALO VSEBINE | V |
| KAZALO PREGLEDNIC | VII |
| KAZALO SLIK | VIII |
| OKRAJŠAVE IN SIMBOLI | IX |
| | |
| 1 UVOD | 1 |
| 1.1 NAMEN DELA | 2 |
| 1.2 DELOVNE HIPOTEZE | 2 |
| 2 PREGLED OBJAV | 3 |
| 2.1 SPLOŠNO O KOENCIMU Q ₁₀ | 3 |
| 2.2 LASTNOSTI IN VLOGA KOENCIMA Q ₁₀ | 4 |
| 2.2.1 Antioksidativno delovanje koencima Q ₁₀ | 4 |
| 2.2.2 Koencim Q ₁₀ kot prooksidant..... | 7 |
| 2.2.3 Pomen koencima Q ₁₀ pri oksidativnem stresu..... | 7 |
| 2.2.4 Vloga koencima Q ₁₀ v dihalni verigi..... | 8 |
| 2.3 BIOSINTEZA KOENCIMA Q ₁₀ | 10 |
| 2.3.1 Biosinteza koencima Q ₁₀ pri evkariontih..... | 11 |
| 2.3.2 Vpliv različnih bolezni na biosintezo koencima Q ₁₀ | 12 |
| 2.4 VIRI KOENCIMA Q ₁₀ | 15 |
| 2.4.1 Koencim Q ₁₀ v tkivih..... | 15 |
| 2.4.2 Koencim Q ₁₀ v organelih..... | 16 |
| 2.4.3 Vnos koencima Q ₁₀ s hrano..... | 17 |
| 2.4.4 Koencim Q ₁₀ kot dopolnilo k prehrani | 18 |
| 2.5 BIORAZPOLOŽLJIVOST IN ABSORBCIJA KOENCIMA Q ₁₀ | 19 |
| 3 MATERIAL IN METODE DELA..... | 20 |
| 3.1 MATERIAL | 20 |
| 3.1.1 Priprava krme | 20 |
| 3.1.2 Preparat..... | 20 |
| 3.2 METODE | 21 |
| 3.2.1 Določanje vsebnosti koencima Q ₁₀ v piščančjih jetrih in srcih..... | 21 |
| 3.2.2 Določanje vsebnosti holesterola v piščančjih jetrih in srcih..... | 22 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 3.2.3 | Določanje maščobnokislinske sestave piščančjih jeter in src..... | 22 |
| 3.2.4 | Statistična obdelava podatkov | 24 |
| 4 | REZULTATI..... | 26 |
| 4.1 | OSNOVNI STATISTIČNI PARAMETRI | 26 |
| 4.2 | VPLIV DODATKA KOENCIMA Q ₁₀ V KRMO PIŠČANCEV..... | 29 |
| 4.3 | RAZLIKA MED TKIVI PIŠČANČJIH JETER IN SRC | 33 |
| 5 | RAZPRAVA IN SKLEPI..... | 35 |
| 5.1 | RAZPRAVA..... | 35 |
| 5.2 | SKLEPI..... | 41 |
| 6 | POVZETEK..... | 42 |
| 7 | VIRI | 44 |

KAZALO PREGLEDNIC

| | |
|--|----|
| Preglednica 1: Količina koencima Q ₁₀ in odstotek reducirane oblike v človeških tkivih (Bentinger in sod., 2007) | 16 |
| Preglednica 2: Vsebnost koencima Q ₁₀ v korelaciji z vsebnostjo dolihola, holesterola in α-tokoferola (Bentinger in sod., 2007) | 16 |
| Preglednica 3: Vsebnost koencima Q ₁₀ v različnih živilih (Stocker, 2007)..... | 17 |
| Preglednica 4: Vsebnost ubikinola in skupnega koencima Q ₁₀ v različnih živilih (Kubo in sod., 2008) | 18 |
| Preglednica 5: Razporeditev piščancev po skupinah glede na število dni krmljenja | 20 |
| Preglednica 6: Rezultati določanja vsebnosti koencima Q ₁₀ , holesterola in maščobnokislinske sestave v piščančjih jetrih z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri | 26 |
| Preglednica 7: Rezultati določanja koencima Q ₁₀ , holesterola in maščobnokislinske sestave v piščančjih srcih z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri | 28 |
| Preglednica 8: Vpliv dodatka koencima Q ₁₀ (5 mg/dan) v krmo piščancev in vpliv različnih tkiv (piščančja jetra in srca) na vsebnost holesterola in koencima Q ₁₀ ter maščobnokislinsko sestavo (Duncanov test, α = 0,05)..... | 30 |
| Preglednica 9: Primerjava naših podatkov o vsebnosti holesterola in maščobnokislinske sestave piščančjih jeter in src z literaturnimi podatki (Golob in sod., 2006 in Fatty acids, 1998) | 38 |

KAZALO SLIK

| | |
|--|----|
| Slika 1: Koencim Q ₁₀ v treh oksidativnih stanjih (Shinde in sod., 2005)..... | 3 |
| Slika 2: Nastanek kisikovih reaktivnih zvrsti (Žakelj, 2005)..... | 8 |
| Slika 3: Prenos elektronov v dihalni verigi (Boyer, 2005)..... | 9 |
| Slika 4: Q-ciklus (Boyer, 2005) | 10 |
| Slika 5: Biosinteza koencima Q ₁₀ pri evkariontih (Tran in Clarke, 2007) | 12 |
| Slika 6: Mevalonatna pot (Hargreaves in sod., 2007) | 13 |
| Slika 7: Povezava med vsebnostjo koencima Q ₁₀ in holesterola v drobovini (jetra, srca) piščancev..... | 36 |
| Slika 8: Relativna sprememba vsebnosti koencima Q ₁₀ in holesterola v piščančjih jetrih in srcih glede na čas krmljenja. Vsebnost v kontrolni skupini je podana kot 100 %..... | 36 |

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

| | |
|----------------------------------|---|
| 4-HB | 4-hidroksibenzojska kislina |
| ATP | adenozintrifosfat |
| <i>c</i> | cis izomera |
| Coq1 | poliprenil difosfat sintaza |
| CoQ ₁₀ | oksidirana oblika koencima Q ₁₀ (ubikinon) |
| CoQ ₁₀ H [•] | ubisemikinon |
| CoQ ₁₀ ^{•-} | ubisemikinon |
| CoQ ₁₀ H ₂ | reducirana oblika koencima Q ₁₀ (ubikinol) |
| Coq2 | 4-HB poliprenil transferaza |
| Coq3 | 2,3-dihidroksi-5-poliprenilbenzoat metiltransferaza |
| Coq5 | 2-metoksi-6-poliprenil-1,4-benzokinon metiltransferaza |
| DHK | dokozaheksaenojska kislina |
| DNK | deoksiribonukleinska kislina |
| DPK | dokozapentaendiojska kislina |
| ENMK | enkrat nenasičene maščobne kisline |
| EPK | eikozapentaenojska kislina |
| FADH ₂ | flavin adenin dinukleotid |
| GC-FID | plinska kromatografija s plamensko ionizacijsko detekcijo |
| HDL | lipoproteini velike gostote |
| HHB | 4-hidroksi-3-poliprenil benzojska kislina |
| HMG | hidroksimetilglutaril |
| HO [•] | hidroksilni radikal |
| HPTLC | tankoplastna tekočinska kromatografija visoke ločljivosti |
| IA | indeks aterogenosti |
| KV | koeficient variabilnosti |
| LC-MC | tekočinska kromatografija z masno spektrometrično detekcijo |
| LDL | lipoproteini majhne gostote |
| MEMK | metilni estri maščobnih kislin |
| MK | maščobna kislina |
| MVA | mevalonska acidurija |
| NADH | nikotinamid adenin dinukleotid |
| NMK | nasičene maščobne kisline |
| NO [•] | dušikov oksidni radikal |
| O ₂ ^{•-} | superoksidni anionski radikal |
| ONOO ⁻ | peroksinitrit |
| PKU | fenilketonurija |
| P/S | razmerje med vsoto vseh VNMK in vsoto NMK |
| Rf | faktor odzivnosti |
| ROO [•] | peroksilni radikal |

| | |
|---------------------------|--|
| ROOH | hidroperoksid |
| ROS | reaktivne kisikove zvrsti |
| <i>t</i> | trans izomera |
| TLC | tankoplastna tekočinska kromatografija |
| VLDL | lipoproteini zelo majhne gostote |
| VNMK | večkrat nenasičene maščobne kisline |
| α -TO [•] | α -tokoferoksilni radikal |
| α -TOH | α -tokoferol |

1 UVOD

Ubikinon ali koencim Q je v maščobah topna in vitaminom podobna substanca, ki se nahaja v vseh naših celicah. Ime ubikinon izhaja iz besede ubikvitaren, ki pomeni povsod navzoč. Najdemo ga v vseh celicah živih bitij, njegove oblike pa se razlikujejo v številu izoprenskih enot v stranski verigi. V človeškem telesu se sintetizira ubikinon, ki ima deset izoprenskih enot, zato ga imenujemo koencim Q₁₀. Molekula koencima Q₁₀ ima v organizmu dve pomembni vlogi. Sodeluje pri oksidativni fosforilaciji, ki je ključnega pomena za tvorbo visokoenergetskega fosfata, ATP, ki predstavlja energijo za vse celične procese. Koencim Q₁₀ ima tudi antioksidativne lastnosti, kar pomeni, da ima vlogo lovilca prostih radikalov, ki povzročajo škodljive oksidativne spremembe v celici in posledično pospešijo procese staranja.

Koencim Q₁₀ se v majhnih količinah nahaja v raznovrstni hrani, največ ga je v mesu, predvsem v srcu, jetrih in ledvicah. Še posebej velike količine koencima Q₁₀ najdemo v celicah srčne mišice, ker imajo te celice velike potrebe po energiji. S staranjem se koencim Q₁₀ ne sintetizira več v zadostnih količinah. Do nižje koncentracije koencima Q₁₀ v telesu lahko pride zaradi nezadostnega vnosa s hrano, zaradi nekaterih zdravil, predvsem statinov, genske napake pri biosintezi koencima Q₁₀ ali zaradi pomanjkanja vitaminov, elementov v sledovih ali drugih molekul, potrebnih za sintezo koencima Q₁₀. Najpogostejši vzrok znižane vrednosti koencima Q₁₀ v krvi je povečana poraba le-tega pri prevelikem naporu in stresu, torej v stanjih s povečanim metabolizmom.

Literatura navaja mnogo pozitivnih učinkov koencima Q₁₀. Pozitivni učinki so se pokazali pri povišanem krvnem tlaku, pri različnih alergijah, pri boleznih dihal, atrofiji dlesni, diabetesu, srčnem popuščanju, angini pectoris, aterosklerozi, neplodnosti pri moških, migreni, rakavih obolenjih. Koencim Q₁₀ ugodno vpliva tudi na okrepitev imunskega sistema, zato je pomemben pri zdravljenju AIDS-a.

Na trgu so dostopni različni pripravki koencima Q₁₀ na lipofilni osnovi. Raziskovalci ugotavljajo, da se tako raztopljen koencim Q₁₀ z urinom hitro izloči iz telesa in ne dosega želenih učinkov. Da bi povečali biorazpoložljivost, so na Kemijskem inštitutu v Ljubljani razvili kompleks, ki je topen v vodi in se hitreje absorbira v mišicah (Prošek in sod., 2005). Njegovo nadomeščanje je smiselno, saj s starostjo in pri različnih bolezenskih stanjih njegova sinteza v telesu močno upade, pomanjkanja pa običajno ne pokrijemo s prehrano.

1.1 NAMEN DELA

Povpraševanje po koencimu Q₁₀ je čedalje večje, saj številne študije po svetu kažejo mnogo pozitivnih učinkov. Z namenom, da bi povečali absorpcijo koencima Q₁₀ iz gastrointestinalnega trakta, so na Kemijskem inštitutu v Ljubljani razvili eno od vodotopnih oblik. Zastavili smo si vprašanje o možnosti proizvodnje piščančjega mesa s povečano vsebnostjo koencima Q₁₀, ki bi lahko služilo kot funkcionalno živilo.

Cilj naloge je bil raziskati vpliv različno dolgega dodajanja koencima Q₁₀ v krmo piščancev na njegovo vsebnost v drobovini - v jetrih in srcih. Raziskati smo želeli tudi kemijsko sestavo piščančjih jeter in src s poudarkom na lipidih – maščobnokislinsko sestavo in vsebnost holesterola. V raziskavi nas je zanimalo v kakšni korelaciji sta holesterol in koencim Q₁₀, kako dodani koencim Q₁₀ vpliva na posamezne maščobne kisline, skupine maščobnih kislin ter na razmerja med maščobnimi kislinami kot so P/S indeks, razmerje *n*-6:*n*-3 in indeks aterogenosti.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Menili smo, da se s krmljenjem piščancev s koencimom Q₁₀ obogateno krmo v drobovini njegova vsebnost povečuje. Zaradi večje aktivnosti srčne mišice smo pričakovali večjo vsebnost koencima Q₁₀ v srcu kot v jetrih. Pričakovali smo tudi povezavo med vsebnostjo koencima Q₁₀ in holesterola.

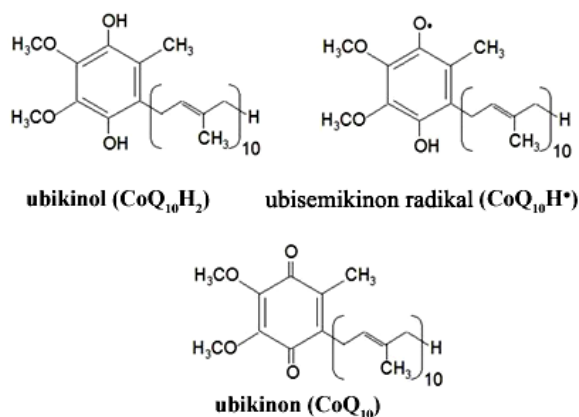
2 PREGLED OBJAV

2.1 SPLOŠNO O KOENCIMU Q₁₀

Prvi je koencim Q₁₀ odkril Fredrick Crane, leta 1957 (Pepe in sod., 2007). Kemijsko ime za koencim Q₁₀, imenovan tudi CoQ₁₀ ali ubikinon, je 2,3-dimetoksi-5-metil-6-poliprenil-1,4-benzokinon (Lenaz in sod., 2007). Struktura je zelo podobna vitaminu K, vendar ga ne uvrščamo med vitamine, saj ga človeški organizem tudi sam izgrajuje (Bhahavan in Chopra, 2007). Molekula ubikinona je sestavljena iz benzenovega obroča in hidrofobne izoprenske verige, pri človeku iz desetih izoprenskih enot (Navas in sod., 2007).

Koencim Q₁₀ najdemo v treh oksidativnih stanjih:

- v oksidirani obliki kot ubikinon (CoQ₁₀),
- kot ubisemikinon (CoQ₁₀H[•] ali CoQ₁₀^{•-}) in
- v reducirani obliki kot ubikinol (CoQ₁₀H₂) (Lenaz in sod., 2007).



Slika 1: Koencim Q₁₀ v treh oksidativnih stanjih (Shinde in sod., 2005)

Ubikinol nastane z redukcijo ubikinona, ko le ta sprejme dva elektrona in dva protona, ubisemikinon pa nastane, ko reducirani ubikinol odda en proton in en elektron (Boyer, 2005). Do izmenjave elektronov lahko pride med koencimom Q₁₀ in ostalimi reducirajočimi komponentami, kot je askorbat. Glavni vir elektronov pa so različne NAD(P)H dehidrogenaze, katere s pomočjo NADH povečujejo reducirano obliko in hkrati zmanjšujejo oksidirano obliko koencima Q₁₀ v membrani. Med CoQ reduktaze uvrščamo številne encime, med drugimi tudi NADH-citokrom b₅ reduktazo in NADP(H) kinon reduktazo I, NQO1. Slednji sta pomembni pri nastanku reducirane oblike koencima Q₁₀ (Navas in sod., 2007).

2.2 LASTNOSTI IN VLOGA KOENCIMA Q₁₀

Koencim Q₁₀ spada med homologne vrste kinonov. Zaradi dolge stranske verige izoprena je zelo lipofilen in se vgrajuje v lipidne dele mitohondrijske membrane. Koencim Q₁₀ je relativno termostabilen, fotostabilen in ni citotoksičen, zato dobiva kot zdravilo in kot dopolnilo k prehrani obetavno mesto pri profilaksi in zdravljenju bolezni pri človeku (Rudan-Tasič, 2000). Čisti koencim Q₁₀ je v obliki kristalov, ki so netopni v vodi in imajo omejeno topnost v lipidih (Bhagavan in Chopra, 2007).

Koencim Q₁₀ je pomemben člen v dihalni verigi, kjer prenaša elektrone iz kompleksa I in kompleksa II na kompleks III. Je pomemben antioksidant, kofaktor termogenina, regulator permeabilnosti membrane, potreben je za sintezo pirimidinov in je nepogrešljiv za stabilizacijo kompleksa III v mitohondriju (Bentinger in sod., 2007; Navas in sod., 2007).

Koencim Q₁₀ in dolihol povečata fluidnost in permeabilnost membrane, medtem ko holesterol stabilizira membrano in zmanjšuje fluidnost. Omenjena funkcija koencima Q₁₀ je posledica metoksi skupin v benzokinonskem obroču in vodikove vezi med kinoni in fosfolipidnimi molekulami. Prevelika ali premajhna količina koencima Q₁₀ lahko negativno vpliva na stabilizacijo membrane ali pa škodljivo vpliva na aktivnost encimov in na permeabilnost (Bentinger in sod., 2007). Povpraševanje po koencimu Q₁₀ se pri človeku s staranjem povečuje, saj je dokazano, da oba, eksogeni kot tudi k prehrani dodani koencim Q₁₀, podpirata in stabilizirata oksidativno fosforilacijo, torej nastajanje energetsko bogate molekule adenzotriposfata (ATP) v dihalni verigi. Poleg tega so dokazali številne pozitivne učinke koencima Q₁₀ pri zdravljenju različnih bolezni (Miles, 2007).

Koencim Q₁₀ lahko deluje kot antioksidant ali pa kot prooksidant. Kot antioksidant je sposoben regenerirati nekatere druge antioksidante npr. α -tokoferol in askorbat (Bhagavan in Chopra, 2007). Koencim Q₁₀ inhibira peroksidacijo lipidov v koraku iniciacije in/ali propagacije, inhibira oksidacijo proteinov in oksidacijo deoksiribonukleinske kisline (DNK) (Pepe in sod., 2007). Med prooksidante pa ga uvrščamo zato, ker pri avtooksidaciji CoQ₁₀^{•-} nastaja superoksidni anionski radikal (O₂^{-•}) (Sohal in Forster, 2007).

2.2.1 Antioksidativno delovanje koencima Q₁₀

Antioksidante delimo po topnosti na vodotopne, med katere uvrščamo askorbinsko kislino, glutation in flavonoide, ter na lipofilne antioksidante, kamor spadajo koencim Q₁₀, vitamin E, karotenoidi, retionidi in kurkumin. Glede na način delovanja pa jih razvrščamo v tri skupine:

- na antioksidante, ki vežejo proste radikale,
- na reducente, ki reducirajo oksidante in
- na sinergiste, ki povečujejo delovanje antioksidantov prve skupine (Korošec, 2000).

Mnoge raziskave na liposomih, mitohondrijih, mikrosomih, v govejem srcu in v lipoproteinih v krvi so pokazale, da reducirana oblika koencima Q₁₀, ubikinol, deluje kot antioksidant in kot takšna inhibira peroksidacijo lipidov (Bentinger in sod., 2007). Reducirana oblika ubikinona je 2-3-krat bolj učinkovit antioksidant kot oksidirani analog (Abram, 2000). Ubikinol je eden najmočnejših antioksidantov, saj ima kot lovilec prostih radikalov celo višji potencial od vitamina E in C (Korošec, 2000).

Antioksidativna lastnost ubikinola se odraža v sposobnosti redukcije:

- peroksilnih radikalov ROO[•] in
- α-tokoferoksilnih radikalov α-TO[•] (Rudan-Tasič, 2000).

V obeh primerih antioksidativnega delovanja gre za prehod CoQ₁₀H₂ v CoQ₁₀^{•-} (Rudan-Tasič, 2000). Dokazano je, da je med maščobno topnimi antioksidanti v krvni plazmi koencim Q₁₀ najbolj učinkovita snov, ki preprečuje LDL oksidacijo. Koencim Q₁₀ je edini v maščobah topni antioksidant, ki se sintetizira v človeškem telesu (Bentinger in sod., 2007).

Ubikinoli reagirajo s kisikovimi radikali in preprečujejo nastanek poškodb in začetek peroksidacije lipidov. Ubikinol uspešno pobira singlete kisika (¹O₂). Izkazalo se je, da na hitrost pobiranja radikalov v raztopinah dolžina izoprenoidne verige nima vpliva, so pa dolgoverižni ubikinoni v mitohondrijskih membranah bolj aktivni (Abram, 2000).

Koencim Q₁₀ nima aktivnega vodikovega atoma, zato ne preseneča, da ta spojina ne kaže takega antioksidativnega delovanja kot npr. fenoli ali amini, ki so tipični primarni živilski antioksidanti. Raziskave so pokazale, da je koencim Q₁₀ potencialni antioksidant le v prisotnosti substance, ki ga lahko reducira, npr. vitamina C in sicer dispergirane v lipidni fazi s pomočjo emulgatorja. Primerna mešanica mora vsebovati od 2,5 % do 10 % koencima Q₁₀ in 2,5 % do 20 % askorbinske kisline, glede na maso emulgatorja. Mešanica koencima Q₁₀ in askorbinske kisline je primerna, če je koencim Q₁₀ prisoten v koncentraciji od 0,1 % do 5,0 % glede na vsebnost maščobe v živilu. Koncentracije koencima Q₁₀ pod 0,1 % so se izkazale kot neučinkovite, koncentracije večje od 5 % pa so tudi brez pomena, saj ne doprinesejo k znatno večji zaščiti maščobe pred oksidacijo (Rudan-Tasič, 2000).

Sinergistično delovanje vitamina C na CoQ₁₀ je razumljivo, saj nastali ubikinol, vsebuje fenolni –OH skupini in lahko reagira z peroksilnimi radikali ob nastanku hidroperoksidov (ROOH) (Rudan-Tasič, 2000):



Nastali ubisemikinon lahko dalje disproporcionira



ali pa reagira z drugim peroksilnim radikalom



Možna je tudi avtooksidacija ubikinola in ubisemikinona



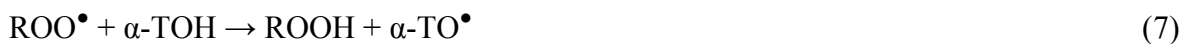
Superoksidni anionski radikali, ki nastajajo v teh reakcijah, lahko dalje oksidirajo ubikinol



Reakciji (1) in (3) izražata antioksidativno delovanje, medtem ko reakcije (4-6) predstavljajo porabo ubikinola in s tem zmanjšanje njegove antioksidativne učinkovitosti. Zaradi težnje k spontani avtooksidaciji ubikinola v neaktivni ubikinon na zraku, ubikinol dejansko ni tako močan antioksidant, kot bi pričakovali na osnovi njegove fenolne strukture. Pri temperaturah nad 50 °C pa tudi prisotnost askorbata dodatno zmanjšuje antioksidativno moč ubikinola. Nastopi namreč znatna avtooksidacija askorbata ($\text{A}^{2-} + \text{O}_2 \rightarrow \text{A}^{\bullet-} + \text{O}_2^{\bullet-}$), nastali $\text{O}_2^{\bullet-}$ pa nato oksidirajo $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$ (Rudan-Tasič, 2000).

2.2.1.1 Interakcije koencima Q₁₀ in α-tokoferola

α-tokoferol, α-TOH, nevtralizira proste radikale, npr. peroksilni radikal, sam pa postane oksidiran in preide v obliko α-TO[•], ki pospeši oksidacijo lipoproteinov (Higdon, 2003):



Ubikinol reagira z α-tokoferoksilnim radikalom in ga pretvori nazaj v prvotno obliko α-TOH, ubikinol pa preide v ubisemikinon



Ubisemikinon lahko reagira z molekularnim kisikom, ki preide v superoksidni anionski radikal, sam pa preide v oksidirano obliko



Ubisemikinon lahko reagira z α -tokoferoksilnim radikalom in ga reducira nazaj do prvotne oblike α -TOH, sam pa preide nazaj v oksidirano obliko. V tem primeru ne reagira s kisikom in tako ne pride do nastanka O₂^{-•}



2.2.2 Koencim Q₁₀ kot prooksidant

Pri avtooksidaciji ubikinola v ubisemikinon nastajajo toksični produkti. To sta O₂^{-•} in vodikov peroksid. Slednja imata vlogo prooksidanta v celici (Linnane in sod., 2007). Študije so pokazale, da je nastanek O₂^{-•} v mitohondriju v korelaciji z vsebnostjo koencima Q₉ v mitohondriju in v obratni korelaciji z nastankom koencima Q₁₀, še posebej pa je v korelaciji s koencimom Q₁₀, vezanim na proteine v membrani mitohondrija (Sohal in Forster, 2007). Redukcija kisika predstavlja prooksidativno delovanje in je povezana s prehodom ubisemikinona v ubikinon (Rudan-Tasič, 2000). Nastanek toksičnih produktov prikazujejo reakcije 4-6.

2.2.3 Pomen koencima Q₁₀ pri oksidativnem stresu

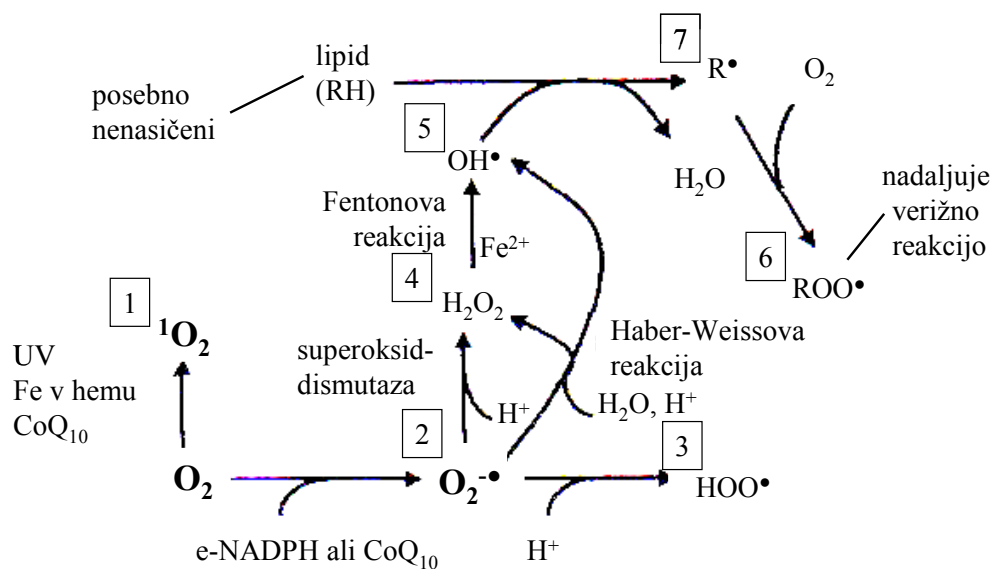
V telesu so prosti radikali v stalnem ravnotežju z antioksidanti. Kadar se ravnotežje poruši, govorimo o oksidativnem stresu. Takrat pride do poškodb celičnih struktur, kar pa je najpogostejši vzrok za staranje, degenerativne bolezni, raka in različne bolezni. Oksidativni stres preprečujejo antioksidanti na različne načine:

- z lovljenjem prostih radikalov,
- s keliranjem kovinskih ionov,
- z odstranjevanjem in/ali popravilom oksidativno poškodovanih biomolekul (Korošec, 2000).

V procese staranja je koencim Q₁₀ vključen na eni strani kot proizvajalec, na drugi strani pa kot uničevalec kisikovih reaktivnih zvrsti (ROS) in kot prenašalec elektronov v procesu oksidativne fosforilacije (Sohal in Foster, 2007).

Glavni vzrok za nastale poškodbe na mitohondrijih, ki vodijo do različnih bolezni so ROS, nastale v mitohondriju. Med ROS uvrščamo O₂^{-•}, vodikov peroksid, hidroksilni radikal (HO[•]) in dušikov oksidni radikal (NO[•]). Sam O₂^{-•} ne reagira z biomolekulami temveč je skupaj z encimi odgovoren za nastajanje vodikovega peroksida in odcepljanje železovega atoma, kar nadalje vodi do zelo reaktivnega HO[•]. O₂^{-•} reagira tudi z NO[•] kar privede do nastanka, celici škodljivega, peroksinitrita (ONOO⁻). Številni antioksidanti v mitohondriju služijo kot obramba pred ROS in pred oksidacijskimi poškodbami. Prekomerne količine ROS in pomanjkanje antioksidantov lahko vodijo do poškodb proteinov, lipidov in DNK

molekule. Mnoge študije so pokazale, da koencim Q₁₀ zavira prehod ROS, predvsem vodikov peroksid, iz mitohondrija v citoplazmo (Cocheme in sod., 2007).



1 – singletni kisik, 2 – superoksidni anionski radikal, 3 – peroksilni radikal,
4 – vodikov peroksid, 5 – hidroksilni radikal, 6 – lipidni peroksilni radikal,
7 - lipidni radikal

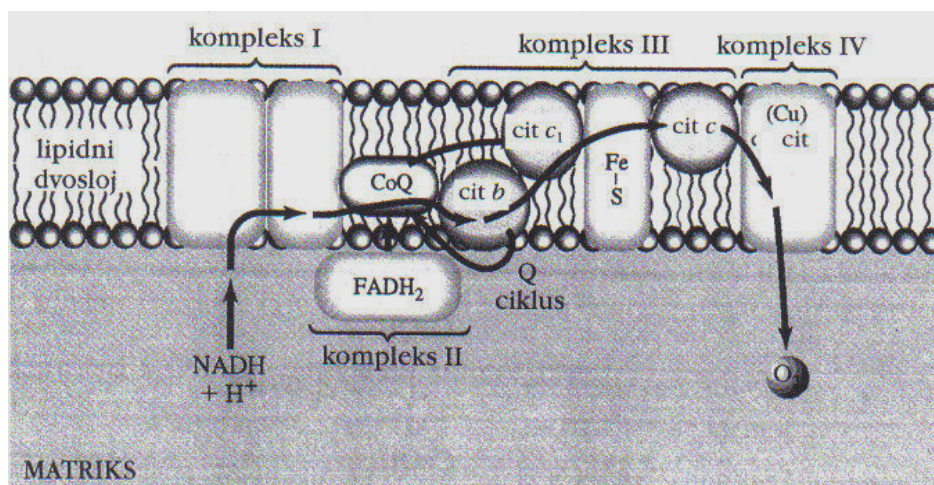
Slika 2: Nastanek kisikovih reaktivnih zvrsti (Žakelj, 2005)

2.2.4 Vloga koencima Q₁₀ v dihalni verigi

Elektroni iz različnih substratov se zbirajo v obliki NADH ali FADH₂, od tu naprej pa se prenašajo na kisik, ki je končni akceptor elektronov, preko vrste prenašalcev elektronov. Skupaj sestavljajo verigo za prenos elektronov (Boyer, 2005). Verigo prenosa elektronov sestavljajo kompleks I, imenovan NADH-CoQ reduktaza, kompleks II, imenovan sukcinat CoQ reduktaza, kompleks III, znan pod imenom ubikinol citokrom c reduktaza in kompleks IV ali citokrom c oksidaza (Lenaz in sod., 2007). Večina prenašalcev v teh kompleksih je integralnih membranskih proteinov z različnimi prostetičnimi skupinami, ki lahko sprejemajo in oddajajo elektrone. Prenášalci so v verigi nameščeni tako, da njihova afiniteta do elektronov vzdolž verige narašča in zato ne potrebujejo dodatne energije (Boyer, 2005).

Elektroni, vezani v NADH, so med vsemi prenašalnimi členi v verigi na najvišji energijski ravni, kar pomeni da je NADH najmočnejši reducent. Elektroni z NADH potujejo na kompleks I, ki ga sestavljajo proteini, ki vsebujejo prostetično skupino FMN in železo – žveplove komplekse. FADH₂ oksidirajo Fe-S kompleksi, ki so del kompleksa II in CoA-dehidrogenaze. Elektroni iz NADH in FADH₂ potujejo na ubikinon. Ubikinon je

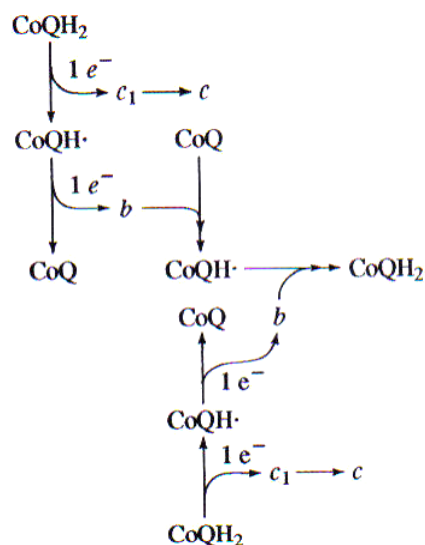
najmanjši in najbolj hidrofoben od vseh prenašalcev. Njegova dolga alifatska veriga je trdno ujeta v nepolarni del notranje mitohondrijske membrane. Ko ubikinon sprejme dva elektrona in dva protona, se reducira v ubikinol. Elektroni z reducirane oblike potujejo na kompleks III, od tu pa se naprej prenesejo na citokrom c. Ta jih posreduje kompleksu IV, preko katerega se nato prenesejo na končni akceptor – kisik, ki se tako reducira v vodo (Boyer, 2005). Slika 3 prikazuje prenos elektronov v dihalni verigi.



Slika 3: Prenos elektronov v dihalni verigi (Boyer, 2005)

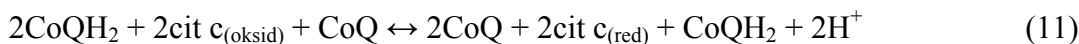
2.2.4.1 Q-ciklus v dihalni verigi

Pri prenosu elektronov iz ubikinola pride do zapletov, saj lahko ubikinol odda dva elektrona hkrati, citokromi pa lahko naenkrat sprejmejo le en elektron. Zaradi tega se elektroni, ki preko ubikinola vstopajo v kompleks III, razdelijo na dve ločeni, a povezani poti, ki sestavljata Q-ciklus. Del elektronov iz ubikinola, se porabi za redukcijo citokroma c, preko citokroma c₁. Vsaka od dveh molekul ubikinola posreduje po en elektron na citokrom c. Pri tem nastane ubisemikinona, ki posreduje preostala elektrona na citokrom b. Elektrona se porabita za redukcijo ubisemikinona, pri čemer nastane ubikinola. Q-ciklus je prikazan na sliki 4. Menijo, da Q-ciklus sodeluje tudi pri vzdrževanju protonskega gradienta, ki je nujen za sintezo ATP (Boyer, 2005).



Slika 4: Q-ciklus (Boyer, 2005)

Končni rezultat reakcij v Q-ciklusu je, da se dve molekuli ubikinola, ki imata vezane štiri elektrone, popolnoma oksidirata do oksidirane oblike ubikinona. Dva elektrona se porabita za redukcijo dveh molekul citokroma c, preostala dva elektrona pa se preneseta na eno molekulo ubisemikinona, ki se reducira do ubikinola (Boyer, 2005).



Koencim Q na eni strani prejema elektrone in jih prenaša na akceptorje, istočasno pa prenaša protone skozi notranjo mitohondrijsko membrano. Nastali protonski gradient zagotavlja potrebno energijo za sintezo energetsko bogate molekule ATP (Stocker, 2007).

2.3 BIOSINTEZA KOENCIMA Q₁₀

Biosinteza koencima Q₁₀ je precej zapletena, saj so vključeni številni vitamini kot so B₂, B₃, B₆, folna kislina, vitamin C, itn. (Korošec, 2000).

Biosinteza vključuje tri glavne stopnje:

- sinteza benzokinona preko tirozina in fenilalanina,
- sinteza izoprenske stranske verige preko acetil-koencima A v mevalonatni poti ter
- vezava oz. kondenzacija ubikinona in izoprenske verige (Stocker, 2007).

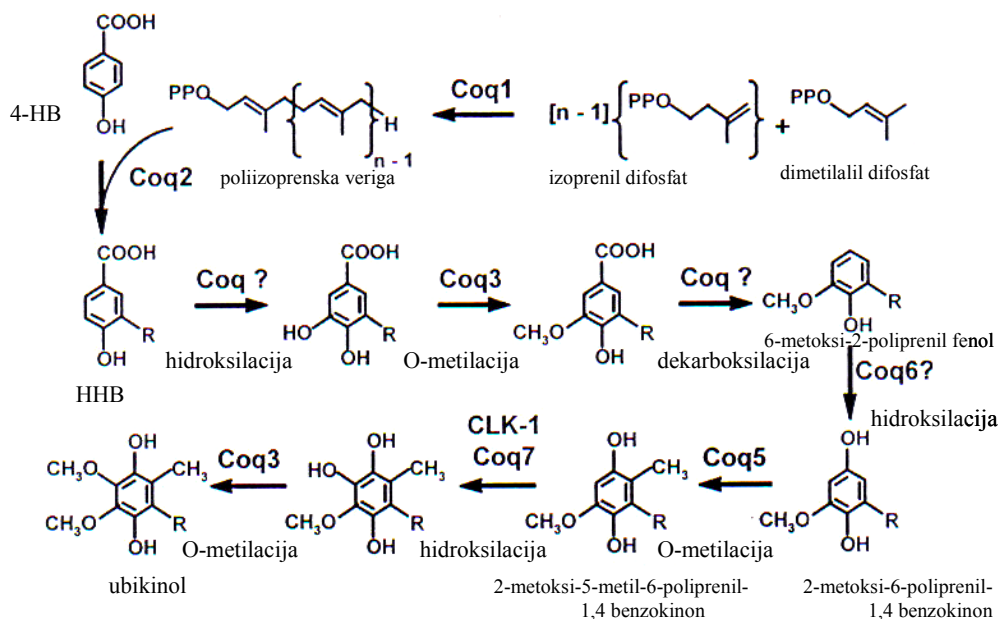
Biosintezo koencima Q₁₀ regulira encim hidrosimetilglutaril (HMG)-CoA reduktaza, ki sodeluje tudi pri biosintezi holesterola (Stocker, 2007). Do prevelike ali pa premajhne biosintetizirane količine koencima Q₁₀ lahko pride iz različnih vzrokov, bodisi je to

genetska napaka ali pa kakšna bolezen (Bettinger in sod., 2007). Znano je, da je količina sintetiziranega koencima Q₁₀ v pozitivni korelaciji z razpoložljivostjo kisika. V aerobnih celicah se sintetizira mnogo več koencima Q₁₀ kot pa v anaerobnih. Količina sintetiziranega koencima Q₁₀ je odvisna tudi od vira ogljika, ki ga imajo celice na razpolago. Visoka koncentracija glukoze inhibira sintezo, medtem ko ima ista količina galaktoze, ki nima sposobnosti fermentacije, manjši vpliv na biosintezo (Tran in Clarke, 2007).

2.3.1 Biosinteza koencima Q₁₀ pri evkariontih

Fiziološka pomembnost koencima Q₁₀ je obsežno preiskana pri evkariontih, biosinteza pa je najbolj preučena na kvasovki *Saccharomyces cerevisiae*. Raziskave so pokazale, da je deset genov, COq1-COq10, potrebnih za biosintezo ubikinona. Biosinteza koencima Q₁₀ se začne z oblikovanjem hidroksibenzojske kisline in oblikovanjem lipofilnega poliiizoprenskega repa. Aromatski prekursor benzokinonskega obroča je 4-hidroksibenzojska kislina (4-HB) nastala iz tirozina, esencialne aminokislina. Pri kvasovkah, pa se lahko 4-HB sintetizira preko korizmata po poti šikimske kisline (Tran in Clarke, 2007). Za sintezo benzokinona je potreben vitamin B₆ (piridoksal 5-fosfat). Študije so dokazale pozitivno korelacijo med vsebnostjo koencima Q₁₀ v krvi in izmerjeno vrednostjo vitamina B₆, ki je esencialen za biosintezo koencima Q₁₀ (Stocker, 2007). Sinteza poliiizoprenske verige poteka preko dimetilalilnega difosfata in izoprenil difosfata. C5 prekursorji izhajajo iz acetil-koencim A po mevalonatni poti (Tran in Clarke, 2007).

Pri nastajanju poliiizoprenskega repa sodeluje poliprenil difosfat sintaza (Coq1), ki določi število izoprenskih enot, kar je označeno s črko n, dolžina izoprenske verige pa je odvisna od vrste. Pri kvasovkah *S. cerevisiae* je n = 6, *C. elegans* je n = 9, pri *H. sapiens* pa je n = 10 (Tran in Clarke, 2007). V manjših količinah, 2-7%, se v človeškem telesu sintetizira tudi Q₉ (Rötig in sod., 2007). 4-HB poliprenil transferaza (Coq2) katalizira oblikovanje kovalentne vezi med benzokinonom in izoprenskim repom, medtem pa nastaja intermediat 4-hidroksi-3-poliprenil benzojska kislina (HHB). Modifikacija aromatskega obroča se začne s hidroksilacijo, nadaljuje se z O-metilacijo (Tran in Clarke, 2007). Med biosintezo potekata dve O-metilaciji, obe pa katalizira isti encim imenovan 2,3-dihidroksi-5-poliprenilbenzoat metiltransferaza (Coq3) (Turunen in sod., 2004). Modifikacija se nadaljuje z dekarboksilacijo, sledita hidroksilaciji, C-metilacija, O-metilacija. C-metilacijo katalizira 2-metoksi-6-poliprenil-1,4-benzokinon metiltransferaza (Coq5). Donor hidroksi skupine je molekularni kisik, donor metilne skupine pa adenozilmetionin (Tran in Clarke, 2007). Biosintezo koencima Q₁₀ pri evkariontih prikazuje slika 5.



Slika 5: Biosinteza koencima Q₁₀ pri evkariontih (Tran in Clarke, 2007)

Pri dobro raziskani kvasovki *S. cerevisiae*, uporabljeni kot model, je potrebnih 9 Coq proteinov za sintezo reducirane oblike koencima Q₁₀ iz prekurzorjev dimetilalil difosfat in izoprenil difosfat. Encimska funkcija Coq4, Coq6, Coq8 in Coq9 polipeptidov še ni karakterizirana. Vsi omenjeni proteini se nahajajo v notranji membrani mitohondrija. Coq1, Coq2, Coq3 in Coq7 proteini pri kvasovkah so komplementarni človeškim homologom (Tran in Clarke, 2007).

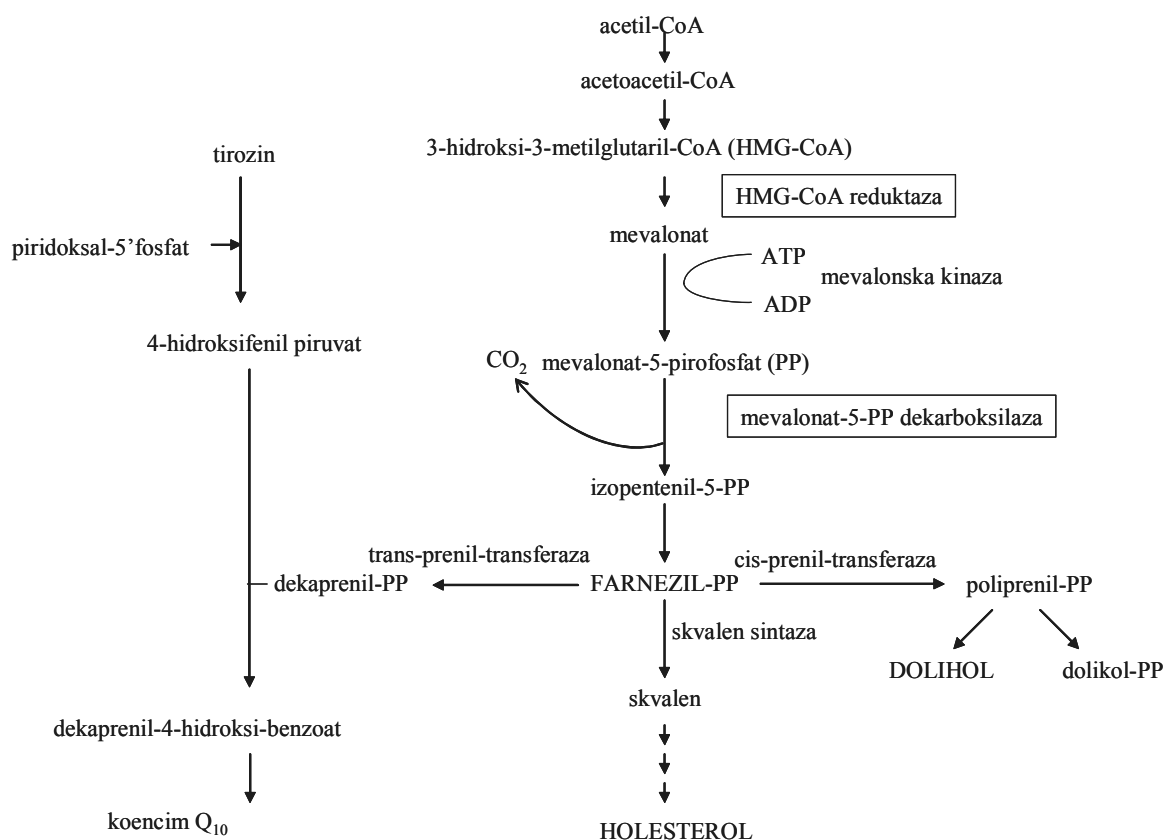
2.3.2 Vpliv različnih boleznih na biosintezo koencima Q₁₀

2.3.2.1 Vpliv hiperholesterolemije na biosintezo koencima Q₁₀

Pri zdravljenju hiperholesterolemije, povišane koncentracije holesterola v krvi, se uporabljajo zdravila imenovana statini, ki vsebujejo inhibitor za encim hidroksimetilglutaril (HMG)-CoA reduktazo. Prve študije o vplivu HMG-CoA reduktaze na vsebnost holesterola so vključevale tudi vpliv na biosintezo koencima Q₁₀ in dolihola. Številne študije dokazujejo, da različne vrste statinov povzročajo sočasno zmanjšanje holesterola in koencima Q₁₀ v plazmi. Znižanje je lahko povezano z dejstvom, da statini zmanjšujejo koncentracijo lipoproteinov majhne gostote (LDL), preko katerih se koencim Q₁₀ prenaša (Littarru in Langsjoen, 2007). Statini vplivajo na nivo farnezil pirofosfata, ki je potreben za sintezo koencima Q₁₀ (Haas, 2007). Statini predstavljajo pomemben uspeh pri zdravljenju hiperholesterolemije zaradi hitrega učinkovanja. Slaba stran zdravljenja s statini pa so morebitne bolečine v mišicah, katere pojasnjujejo s tremi možnimi mehanizmi:

- zmanjšanje vsebnosti holesterola v membranah skeletnih mišic,
- zmanjšanje farnezil pirofosfata, intermediata pri biosintezi koencima Q₁₀,
- zmanjšanje nivoja koencima Q₁₀ (Littarru in Langsjoen, 2007).

Raziskovalca (Littarru in Langsjoen, 2007) navajata zmanjšanje nivoja koencima Q₁₀ pri sočasnem uživanju statinov predvsem pri višjem doziranju in pri starejših ljudeh. Pri zdravljenju z različnimi vrstami statinov, kot so simvastatin, atorvastatin, pravastatin, so ugotovili, da so vplivali na koncentracijo holesterola in koencima Q₁₀, niso pa vplivali na ostale lipofilne in hidrofilne antioksidante. Strokovnjaki menijo, da se je koncentracija koencima Q₁₀ zmanjšala na račun zmanjšanja LDL, s katerim se koencim Q₁₀ prenaša. Ugotovili so, da uporaba simvastatina, pri doziranju 10 mg/dan in 20 mg/dan, ne vpliva na količino koencima Q₁₀, medtem ko atorvastatin in pravastatin inhibirata sintezo koencima Q₁₀ in sicer, višje kot je bilo doziranje, večji je bil učinek inhibicije. Navajajo tudi, da so prve študije na pacientih, ki so uživali statine, spremljale zmanjšanje koncentracije koencima Q₁₀ na račun povečanja le-tega v mišicah. Na istih pacientih s hiperholesterolemijo so nedavno ugotovili, da uživanje simvastatina, v količini 80 mg/dan, vodi do 30 % zmanjšanja koencima Q₁₀ v mišicah, medtem ko atorvastatini ne vplivajo na raven koencima Q₁₀ v mišicah (Littarru in Langsjoen, 2007).



Slika 6: Mevalonatna pot (Hargreaves in sod., 2007)

Začetni del mevalonatne poti je zaporedje reakcij, kjer iz acetyl-CoA nastaja farnezil pirofosfat, skupen substrat za biosintezo številnih produktov, vključno s koencimom Q₁₀ (slika 6). Različni encimi imajo različno afiniteto do farnezil pirofosfata. Trans in cis prenilttransferaze imajo višjo afiniteto kot skvalen sintaza, zato ima HMG-CoA reduktaza višjo afiniteto kot skvalen sintaza, posledica pa je inhibicija sinteze holesterola (Littarru in Langsjoen, 2007).

2.3.2.2 Vpliv diabetesa na biosintezo koencima Q₁₀

HMG-CoA reduktaza deluje zaviralno tudi na biosintezo inzulina, hormona, ki uravnava nivo glukoze v krvi. Diabetiki imajo manj koencima Q₁₀ v krvi, dokazano pa je tudi, da zdravila proti diabetesu znižujejo nivo koencima Q₁₀ v krvi. Diabetes povezujejo z nastankom ROS, oksidativnim stresom, zmanjšanjem antioksidantov in nastajanjem prostih radikalov (Bliznakov, 2002).

2.3.2.3 Vpliv fenilketonurije in mevalonske acidurije na biosintezo koencima Q₁₀

Mevalonska acidurija (MVA) in fenilketonurija (PKU) sta prirojene bolezni presnove, katerih vzrok je pomanjkanje encima mevalonska kinaza in fenilalanin 4-hidroksilaza. Pri bolnikih z MVA in PKU so ugotovili manjšo koncentracijo koencima Q₁₀ kot pri zdravih ljudeh. Pomanjkanje koencima Q₁₀ pri MVA bi lahko povezali s pomanjkanjem encima mevalonske kinaze, ki je nujno potreben za biosintezo koencima Q₁₀ in holesterola. Mevalonska kinaza katalizira od ATP odvisno pretvorbo mevalonske kisline do 5-fosfomevalonske kisline. Pomanjkanje encima pri bolnikih vodi do povečane količine mevalonske kisline v plazmi in urinu. LDL so mnogo bolj dovzetni na oksidativne spremembe med napadom bolezni. Količina α -tokoferola se med napadom bolezni močno zmanjša, prav tako količina koencima Q₁₀, kljub dodatnemu uživanju le-tega v prehranskih nadomestkih (Hargreaves, 2007).

Nižje koncentracije koencima Q₁₀ pri bolnikih s PKU povezujejo z dejstvom, da se kopiči fenilalanin, ki inhibira delovanje obeh encimov: 3-HMG-CoA reduktaze in mevalonat 5-pirofosfat dekarboksilaze, torej encima, ki sta nujno potrebna za sintezo koencima Q₁₀ in za sintezo holesterola. Fenilalanin 4-hidroksilaza katalizira hidroksilacijo fenilalanina, ki vodi do nastanka tirozina. Pomanjkanje omenjenega encima pri bolnikih vodi do kopičenja fenilalanina v tkivih in plazmi. Manjša aktivnost glutacion oksidaze je povezana z manjšo vsebnostjo selena zaradi omejevalne diete. Selen pa je kofaktor temu encimu. Omejevalna dieta pri PKU vodi do manjše količine koencima Q₁₀ v plazmi, prav tako imajo bolniki zmanjšan nivo vitamina B₆. Aktivna oblika vitamina B₆ je piridoksal 5-fosfat in je potrebna za transaminacijo tirozina do 4-hidroksifenilpiruvske kisline pri biosintezi koencima Q₁₀. Dieta pri tej bolezni vključuje živila, ki so bogat vir koencima Q₁₀ in vitamina B₆ –

perutnina, meso, sojini izdelki in orehi. Bolniki, ki med zdravljenjem uživajo vitamin B₆, nimajo zmanjšane koncentracije koencima Q₁₀ v plazmi (Hargreaves, 2007).

2.4 VIRI KOENCIMA Q₁₀

Količina koencima Q₁₀ v različnih tkivih in organelih zelo variira (Bentinger in sod., 2007). Največ koencima Q₁₀ je v srcu, ledvicah, jetrih, možganih in pljučih (Korošec, 2000). Koencim Q₁₀ se iz gastrointestinalnega trakta s hilomikroni transportira do jeter, kjer se vključi v lipoproteine zelo majhne gostote, VLDL. Od tu naprej pa se transportira v druga tkiva. Analize so pokazale, da se 60 % koencima Q₁₀ transportira s pomočjo LDL in 30 % skupaj z lipoproteini velike gostote, HDL (Pepe in sod., 2007). Miles (2007) navaja, da je doziranje koencima Q₁₀ pri odraslih do 1200 mg/dan in pri otrocih do 10 mg/kg/dan znano kot varno in da te količine dobro prenašajo. S spremljanjem koncentracije koencima Q₁₀ v plazmi po 3-4 tednih konstantnega doziranja pri 'steady-state' pogojih so se vrednosti gibale od 5 do 10 µg/ml (Miles, 2007).

2.4.1 Koencim Q₁₀ v tkivih

Pri ljudeh se koencim Q₁₀ nahaja v vseh tkivih in celicah, toda njegova vsebnost v tkivih je zelo različna. Razpon je nekje od 8 µg/g v pljučih do 114 µg/g v srcu (Rötig in sod., 2007). Na količino koencima Q₁₀ v srcu, jetrih in ledvicah vpliva količina selena, na vsebnost v mišicah pa selen nima vpliva. Raziskave so pokazale, da pomanjkanje selena zmanjša količino koencima Q₁₀ za 50 % v jetrih, v manjši meri pa zmanjša količino koencima Q₁₀ v srcu in ledvicah (preglednica 1; Bentinger in sod., 2007). V srčni mišici, ledvicah in jetrih je 70 %-100 % koencima Q₁₀ v reducirani obliki, nasprotno pa je okrog 80 % koencima Q₁₀ v oksidirani obliki v možganih in pljučih (Abram, 2000).

Običajne vrednosti koencima Q₁₀ v krvi se gibljejo od 0,7 µg/ml-1,0 µg/ml (Shinde in sod., 2005). Vsebnost koencima Q₁₀ je v korelaciji z vsebnostjo dolihola, α-tokoferola in holesterola (preglednica 2). V vseh tkivih je količina koencima Q₁₀ 6-krat do 10-krat višja kot pa količina vitamina E, le v krvni plazmi je količina koencima Q₁₀ za eno desetino vitamina E (Bentinger in sod., 2007). Zanimiva je ugotovitev, da sočasno uživanje tokoferola in koencima Q₁₀ zmanjša nivo koencima Q₁₀ v krvni plazmi. Na vsebnost koencima Q₁₀ v krvni plazmi vplivajo tudi serumski holesterol, trigliceridi v krvi, spol, alkohol, starost, količina zaužitega koencima Q₁₀. Večja kot je količina zaužitega koencima Q₁₀, več koencima Q₁₀ se nahaja v krvi, vendar pa telo večje zaužite količine slabše absorbira (Bhagavan in Chopra, 2007). Miles (2007) poroča, da so pri neki raziskavi prostovoljci dnevno zaužili različne koncentracije koencima Q₁₀, 90 mg oziroma 300 mg. Ugotovljena količina ubikinola je bila v plazmi v prvem primeru 2,27 µg/ml, v drugem pa višja in sicer 6,62 µg/ml.

Preglednica 1: Količina koencima Q₁₀ in odstotek reducirane oblike v človeških tkivih (Bentinger in sod., 2007)

| Tkivo | koencim Q ₁₀ (mg/g tkiva) | % reducirane oblike koencima Q ₁₀ |
|-----------|---|---|
| srce | 114 | 47 |
| ledvice | 67 | 73 |
| jetra | 55 | 95 |
| mišice | 40 | 60 |
| možgani | 13 | 23 |
| pankreas | 33 | 100 |
| vranica | 25 | 87 |
| pljuča | 8 | 24 |
| ščitnica | 25 | 68 |
| testis | 11 | 78 |
| črevo | 12 | 93 |
| kolon | 11 | 83 |
| ventrikel | 12 | 59 |

2.4.2 Koencim Q₁₀ v organelih

Preglednica 2: Vsebnost koencima Q₁₀ v korelaciji z vsebnostjo dolihola, holesterola in α-tokoferola (Bentinger in sod., 2007)

| Organel | koencim Q ₁₀ (μg/mg proteina) | dolihol (μg/mg proteina) | holesterol (μg/mg proteina) | α-tokoferol (μg/mg proteina) |
|---------------------|---|-----------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| jedrna ovojnica | 0,2 | 0,2 | 37,5 | 0,01 |
| mitohondrij | 1,4 | 0,09 | 2,3 | 0,04 |
| - zunanja membrana | 2,2 | 0,25 | 30,0 | 0,06 |
| - notranja membrana | 1,9 | 0,009 | 5,0 | 0,04 |
| mikrosomi | 0,2 | 0,4 | 28,0 | 0,07 |
| - naguban | 0,2 | 0,5 | 16,0 | 0,04 |
| - gladek | 0,3 | 0,3 | 31,0 | 0,09 |
| lizosom | 1,9 | 4,7 | 38,0 | 0,18 |
| membrana lizosoma | 0,4 | 0,6 | 6,1 | |
| golgijev aparat | 2,6 | 1,7 | 71,0 | 0,48 |
| peroksisom | 0,3 | 0,8 | 6,4 | 0,02 |
| plazmalema | 0,7 | 0,8 | 128,0 | 0,008 |

V celicah se 40 %-50 % koencima Q₁₀ nahaja v membranah mitohondrijev, 25 %-30 % v celičnem jedru, 15 %-20 % v endoplazemskem retikulumu in 5 %-10 % v citosolu (Abram, 2000). V plazmi je koencim Q₁₀ skoraj v celoti združen z lipoproteini (Miles, 2007). Nahaja se v VLDL, LDL in HDL v vrednosti 1,2, 1,0, 0,1 nmol/mg proteina. Pričakovano pa se količina koencima Q₁₀ poveča po prehranjevanju z maščobno hrano in sicer na vrednosti 3,2, 3,5, 0,3 nmol/proteina (Bentinger in sod., 2007). Lizosomi in golgijev aparat imata relativno višjo koncentracijo koencima Q₁₀ kot pa membrane mitohondrijev ali mikrosomi (Sohal in Foster, 2007). Analize koencima Q₁₀ v celični membrani so pokazale, da se v membrani nahajata obe obliki koencima Q₁₀ – reducirana in oksidirana, prav tako pa so zaznali tudi ubisemikinon (Navas in sod., 2007).

2.4.3 Vnos koencima Q₁₀ s hrano

Koencim Q₁₀ je v majhnih količinah prisoten v raznoliki hrani, posebej veliko ga je v mišicah organov kot so srce, ledvice, jetra. Koencim Q₁₀ se nahaja v mesu, zelenjavi, žitnih jedeh, mlečnih izdelkih in oreških (Mattila in Kumpulainen, 2001). Največ koencima Q₁₀ zaužijemo z mesom, ribami, sojo in špinajo (Korošec, 2000).

Preglednica 3: Vsebnost koencima Q₁₀ v različnih živilih (Stocker, 2007)

| Živilo | količina živila | koencim Q ₁₀ (mg) |
|---------------------------|-----------------|------------------------------|
| ocvrta govedina | 93 g | 2,6 |
| mariniran slanik | 93 g | 2,3 |
| ocvrt piščanec | 93 g | 1,4 |
| sojino olje | 15 ml | 1,3 |
| kanolino olje | 15 ml | 1,0 |
| dušena šarenka | 93 g | 0,9 |
| praženi arašidi | 31 g | 0,8 |
| pražena sezamova semena | 31 g | 0,7 |
| pražena pistacija | 31 g | 0,6 |
| sesekljan kuhan brokoli | 125 ml | 0,5 |
| sesekljana kuhana cvetača | 125 ml | 0,4 |
| pomaranča | 1 kom | 0,3 |
| kuhano jajce | 1 kom | 0,1 |

Kubo in sodelavci (2008) poročajo, da so na Japonskem pri analizi različnih živil določili vsebnost koencima Q₁₀. Določili so količino reducirane oblike koencima Q₁₀ in celotno količino koencima Q₁₀ – reducirano in oksidirano obliko. V analizo je bilo vključeno meso, ribe in lupinarji, zelenjava, sadje, krompir, stročnice in ostala hrana, ki je vključevala

semena, jajce, mlečne izdelke in sojo. Podatki so prikazani v preglednici 4. Svinjsko pleče, goveja jetra, piščančja srca in sojino olje so vsebovali več kot 20 µg ubikinola/g.

Preglednica 4: Vsebnost ubikinola in skupnega koencima Q₁₀ v različnih živilih (Kubo in sod., 2008)

| Živilo | ubikinol (µg/g) | skupen koencim Q₁₀ (µg/g) |
|-------------------|------------------------|---|
| meso | 2,63-84,8 | 13,8-192 |
| piščančja srca | 84,8 | 192 |
| ribe in lupinarji | 0,38-23,8 | 1,25-130 |
| zelenjava | 0,17-5,91 | 0,08-7,47 |
| sadje | 0,22-3,14 | 0,51-9,48 |
| krompir | 0,68-1,82 | 1,05-3,01 |
| stročnice | 0,72-4,3 | 2,31-6,82 |
| ostala hrana | 0,18-33,3 | 0,26-53,8 |

2.4.4 Koencim Q₁₀ kot dopnilo k prehrani

Na tržišču najdemo koencim Q₁₀ v obliki tablet, žvečljivih tablet, kapsul napolnjenih s prahom (Bhagavan in Chopra, 2007). Shinde in sodelavci (2005) navajajo, da se doziranje koencima Q₁₀ v obliki dopnil giblje od 30-100 mg/dan, kar je mnogo več, kot bi ga zaužili z normalnim obrokom. V ZDA zaužijejo bolniki s Parkinsonovo boleznijo pod zdravniškim nadzorom več kot 3000 mg koencima Q₁₀ v enem dnevu. Pri doziranju več kot 100 mg/dan količine zaužitega koencima Q₁₀ razdelijo na dva do tri obroke na dan.

Študije so pokazale številne koristi uporabe koencima Q₁₀ kot dopnila k prehrani. Pozitivno deluje pri zdravljenju nevrodegenerativnih bolezni, kot sta Parkinsonova in Huntingtonova bolezen. Pozitivno učinkovanje koencima Q₁₀ razlagajo z njegovo temeljno nalogo pri nastajanju energije v mitohondriju (Bhagavan in Chopra, 2007). Uporaba koencima Q₁₀ je učinkovita pri zdravljenju kardiovaskularnih bolezni, kot so srčno popuščanje, ishemične bolezni srca in hipertenzija. Pri neki raziskavi so ugotovili, da lahko koencim Q₁₀ zmanjša sistolični krvni tlak za 17 mmHg in diastolični krvni tlak za 10 mmHg (Pepe in sod., 2007). Dodatek koencima Q₁₀ v prehrani vpliva tudi na znižanje ravni krvnega sladkorja, kar pojasnjujejo s porabo ogljikovih hidratov v telesu za tvorbo energije (Stocker, 2002). Dolgoročno uživanje koencima Q₁₀ pri doziranju 0,7 mg/kg je privedlo do povišanega nivoja koencima Q₁₀ v krvni plazmi, α-tokoferola in retinola (Haas, 2007).

Koencim Q₁₀ kot dopolnilo k prehrani:

- zmanjša učinek inhibicije statinov na biosintezo koencima Q₁₀,
- poveča količino koencima Q₁₀ v LDL,
- zmanjša oksidacijo LDL in
- ne ovira delovanje statinov na nižanje holesterola v krvi (Littarru in Langsjoen, 2007).

2.5 BIORAZPOLOŽLJIVOST IN ABSORPCIJA KOENCIMA Q₁₀

Na biorazpoložljivost koencima Q₁₀ močno vpliva oblika koencima Q₁₀. Študije so pokazale, da je reducirana oblika za telo veliko boljše razpoložljiva od oksidirane. Nekatere študije so pokazale tudi, da telo težko absorbira koencim Q₁₀, ki se nahaja v plazmi (Miles, 2007). Koencim Q₁₀ je v maščobah topna molekula, zato se največja absorpcija doseže, če je zaužit skupaj z maščobami, npr. v mesu. Običajno je absorpcija koencima Q₁₀ pri ljudeh manjša od 10 % in se z višanjem zaužite količine koencima Q₁₀ zmanjšuje (Shinde in sod., 2005).

Biorazpoložljivost koencima Q₁₀ v prehranskih dopolnilih, ki temeljijo na oljni suspenziji, je slaba, samo 2 %-4 %. Največja biorazpoložljivost je v preparatih, ki temeljijo na vodni suspenziji (Pepe in sod., 2007). Absorpcija eksogenega koencima Q₁₀ v črevesju je zelo nizka, saj se samo 10 % koencima Q₁₀ absorbira. Koencim Q₁₀ se počasi absorbira iz gastrointestinalnega trakta zaradi visoke molekulske mase in majhne topnosti v vodi (Pepe in sod., 2007).

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 MATERIAL

Na razpolago smo imeli 200 piščancev, provenience Ross 308, ki so bili razporejeni v pet skupin in sicer glede na čas krmljenja s krmo, obogateno z vodotopnim koencimom Q₁₀ (inkluzijski kompleks β -ciklodekstrina in koencima Q₁₀). Piščanci so bili zaklani pri starosti 41 dni. Vzorci so bili pakirani posamično, ustrezno označeni in shranjeni pri temperaturi -20 °C do analize.

V vsaki skupini smo na šestih piščančjih srcih in jetrih določili vsebnost koencima Q₁₀, vsebnost holesterola in maščobnokislinsko sestavo v dveh paralelkah.

Preglednica 5: Razporeditev piščancev po skupinah glede na število dni krmljenja

| Skupina | doza (mg/dan) | čas krmljenja (dni) | število piščancev |
|-------------------|---------------|---------------------|-------------------|
| S 40 | 5 | 40 | 25 |
| S 30 | 5 | 30 | 25 |
| S 20 | 5 | 20 | 25 |
| S 10 | 5 | 10 | 25 |
| kontrolna skupina | - | - | 100 |

3.1.1 Priprava krme

Priprava krme je potekala večstopenjsko. Upoštevan je bil režim hranjenja piščancev med samo vzrejo. Izračun je izhajal iz predpostavke, da bodo piščanci ves čas krmljenja prejeli približno 5 mg koencima Q₁₀ dnevno. Pripravljena je bila predmešanica, ki se je redčila z dodatkom krmila tako, da je končna mešanica vsebovala 0,0042 % koencima Q₁₀. S tako pripravljeno krmo so bili piščanci krmljeni ustrezno število dni v skladu s protokolom. Pripravljeno je bilo 325 kg krmila BRO-G in 175 kg BRO-F2, kar je zadostovalo za izvedbo poizkusa. V poizkusu je bilo uporabljeno 288 g vodotopnega koencima Q₁₀, kar ustreza 21,0 g čistega koencima Q₁₀.

3.1.2 Preparat

Vodotopni koencim Q₁₀ (inkluzijski kompleks β -ciklodekstrina in koencima Q₁₀) z ustreznimi analiznimi certifikati, ki potrjujejo 7,3 % vsebnost koencima Q₁₀ v preparatu, je priskrbel Laboratorij za prehrabeno kemijo na Kemijskem inštitutu v Ljubljani. Do uporabe je bil preparat hranjen v temnem in hladnem prostoru (T < 6 °C).

3.2 METODE

3.2.1 Določanje vsebnosti koencima Q₁₀ v piščančjih jetrih in srcih

Vsebnost koencima Q₁₀ v piščančjih jetrih in srcih smo določali z enako metodo.

V dimetrijevo seteklenico smo zatehtali sesekljana piščančja jetra oz. srce in dodali destilirano vodo v razmerju 1:1 pri jetrih oz. 1:2 pri srcih ter homogenizirali z ultraturaxom (Ultra-turax T25 in nastavkom S25N-18G; IKA, Nemčija) 1 minuto pri 15000 min⁻¹. V 50 ml centrifugirko (Sarstedt, 62.548.004) smo v paralelkah zatehtali ($3 \pm 0,001$) g homogeniziranega vzorca ter dodali 15 ml tople destilirane vode (40 °C). Nato smo 5 minut intenzivno ročno stresali in pustili 15 minut na ultrazvočni kopeli (Bransonic 3510E-DTH, Branson, Nemčija). V vsako centrifugirko (Sarstedt, 62.548.004) smo nato s polnilno pipeto dodali ($20,0 \pm 0,1$) ml topila kloroform (Merck, 1.02445) : metanol (Merck, 1.06007) v razmerju 2:1 in močno ročno stresali 5 min ter pustili na ultrazvočni kopeli (Bransonic 3510E-DTH, Branson, Nemčija) 15 minut. Sledilo je 6 min centrifugiranje (Eppendorf, centrifuge 5810) pri 1750 × g. 10 ml organske faze, v kateri se nahaja koencim Q₁₀, smo prenesli s polnilno pipeto v 100 ml bučke z okroglim dnom (Lenz, 3.0014.37). Ekstrakcijo smo še enkrat ponovili po istem postopku. 20 ml organske faze, v 100 ml bučki z okroglim dnom (Lenz, 3.0014.37), smo odparili z vakuumskim rotavaporjem (Büchi, Rotvapor R-114 z Vac® V-500, Švica), preostanek pa raztopili z 2 ml heksana (Merck, 1.04371). Vse skupaj smo dobro premešali na stresalniku (IKA minshaker MS2) in prelili v temne vialke. Topilo smo odparili do suhega s prepihanjem z dušikom in shranili do analiz v zamrzovalniku pri (-30 ± 1) °C. Pred analizo na LC-MS smo k suhemu preostanku dodali 5 ml 2-propanola (Merck, 1.00998) in dobro premešali na stresalniku (IKA minshaker MS2). Vzorec smo nato 50-krat razredčili in 10 µl le-tega injicirali v LC-MS sistem.

3.2.1.1 Pogoji določanja vsebnosti koencima Q₁₀ z LC-MS

Vsebnost koencima Q₁₀ smo določili s HPLC sistemom Finigan Surveyor, sestavljenem iz kvarterne gradientne črpalke, vakuumskega razplinjevalnika, avtomatskega podajalnika in termostata za kolono. Uporabili smo kolono Gemini C18 (3 µm, 150 mm × 4 mm) proizvajalca Phenomenex (Torrance, CA, ZDA). Kromatografija je potekala z gradientom mobilne faze pri pretoku 1,00 ml/min in temperaturi 45 °C. Volumen injiciranja je bil 10 µl. Za gradientno kromatografijo smo uporabili mobilni fazi: A etanol:metanol:1,4-dioksan:ocetna kislina (65:30:5:0,1; v/v/v/v) in B acetonitril. Gradient je bil naslednji: 30 % A, 0-1 min; 30-95 % A, 1-11 min; 95 % A, 11-14 min; 95-30 % A, 14-15 min; 30 % A, 15-17 min. Retenziski čas koencima Q₁₀ je bil 10,4 min. Vsebnost koencima Q₁₀ smo določili s primerjavo retenzijskega časa in m/z ([M+H]⁺ = 864,4) standarda koencima Q₁₀ (Sigma, C9538).

Kot detektor smo uporabili masni spektrometer (Finningan LCQ ion-trap, Finningan, ZDA) s kemijsko ionizacijo pri atmosferskem tlaku (atmospheric-pressure chemical ionisation – APCI), ki je deloval pri naslednjih pogojih: napetost vhodne leče 63 V, temperatura izvora 250 °C in napetost kapilare 3,0 kV v pozitivnem načinu ionizacije (APCI+). Razpršilni plin dušik je imel temperaturo 450 °C in pretok 400 l/h. Plin vhodne leče dušik je imel pretok 50 l/h. Detekcija na masnem detektorju je potekala v SIM (Selected Ion Monitoring) načinu pri $m/z = 864,4 [M+H]$.

Vzorci so bili analizirani v Laboratoriju za prehrabeno kemijo Kemijskega inštituta v Ljubljani.

3.2.2 Določanje vsebnosti holesterola v piščančjih jetrih in srcih

V vzorcih, ki so bili pripravljene za določevanje koencima Q₁₀ na LC-MS, smo določili tudi vsebnost holesterola s tankoplastno tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPTLC). Vzorci so bili analizirani v Laboratoriju za prehrabeno kemijo Kemijskega inštituta v Ljubljani.

Vzorci so bili 10-krat razredčeni z 2-propanolom in nanešeni na aktivirane HPTLC plošče (Kieselgel 10 cm × 10 cm, Merck, Nemčija). Aktivacija plošč je potekala pri temperaturi 105 °C 5 min v TLC sušilniku (PIO, Slovenija). Na tako aktivirane plošče so bili nanešeni vzorci in standardne raztopine holesterola z avtomatskim vzorčevalnikom (Camag Avto Sampler 4, Švica). Na eni HPTLC plošči je bilo nanešenih 12 vzorcev po 5 µl in 5 standardov holesterola (0,25 µg, 0,50 µg, 1,00 µg, 2,00 µg, 3,00 µg). Sestava mobilne faze za razvijanje plošč je bila naslednja: petrol eter : dietil eter : očetna kislina (170 : 30 : 2). Dolžina topila, po 30 min razvijanja je bila 8,0 cm. Po razvijanju so bile plošče postavljene za 5 min v TLC sušilnik pri 105 °C. Za detekcijo holesterola je bilo potrebno plošče pomočiti za 10 s v 10 % etanolno raztopino fosfomolibdenske kisline. Sledilo je 10 min segrevanje pri 110 °C. Vsi lipidi so se obarvali modro na rumeni podlagi. Kvantitativno ovrednotenje je potekalo s TLC video sistemom in Videoscan programom (Camag, Švica) pri vidni svetlobi.

3.2.3 Določanje maščobnokislinske sestave piščančjih jeter in src

Maščobnokislinsko sestavo jeter in src smo določili z metodo, modificirano po Park in Goinsu (1994).

Odehtali smo ($0,4 \pm 0,001$) g predhodno homogeniziranega vzorca jeter oziroma src v epruvete s pokrovčki na navoj (Assistent, 976). Sledil je dodatek 300 µl metilen klorida (CH₂Cl₂; Merck, 1.06044) in 3 ml 0,5 M sveže pripravljenega natrijevega hidroksida (NaOH; Merck, 1.06498) v metanolu (Merck, 1.06007). Epruvete smo tesno zaprli s teflonskim pokrovčkom in jih dobro premešali. Vzorce smo segrevali v termobloku (VLM EC1) 10 minut pri 90 °C in jih vmes večkrat premešali. Po segrevanju je sledilo hitro

hlajenje v ledeni vodi (0 °C). Ohlajeni zmesi smo dodali 3 ml 14 % BF₃ (Sigma, B1252) v metanolu (Merck, 1.06007), dobro premešali in ponovno segrevali v termobloku (VLM EC1) 10 minut pri 90 °C. Sledilo je hlajenje na sobno temperaturo (23 °C), dodatek 3 ml 10 % NaCl (Merck, 1.06404) v vodi in 2 ml heksana (Merck, 1.04371). Epruvete smo nato 1 minuto močno stresali, da je prišlo do čim boljše ekstrakcije metilnih estrov maščobnih kislin (MEMK) iz vodne v nepolaro, heksansko fazo. Sledilo je centrifugiranje 10 minut pri 2000 × g (Eppendorf, centrifuge 5810). Po centrifugiranju smo previdno odpipetirali zgornjo heksansko fazo v temne penicilinke in 1 µl injicirali v plinski kromatograf s plamensko ionizacijskim detektorjem (GC-FID).

Plinska kromatografija

Vsebnost in deleže posameznih maščobnih kislin smo določili s plinsko kromatografijo na plinskem kromatografu Agilent Technologies 6890, s plamensko ionizacijskim detektorjem (FID). Uporabili smo kapilarno kolono SPTM-2380 (Supelco, 24111) (60 m × 0,25 mm × 0,2 µm).

Temperaturni program za ločevanje in detekcijo: 150 °C (4 min); 4 °C/min do 180 °C (5 min), 3 °C/min do 240 °C (2 min); temperatura injektorja 250 °C; injektor: split:splitless = 1:30, volumen 0,5 µl; temperatura detektorja FID 280 °C; nosilni plin: He (čistost 6) 2,3 ml/min; maskirni plin: N₂ (čistost 6) 45 ml/min; plina detektorja: H₂ (čistost 6) 40 ml/min; sintetični zrak (čistost 6) (21 % O₂) 450 ml/min.

Za ovrednotenje rezultatov smo uporabili naslednje standarde MEMK: standardno mešanico NuChehk 85 Prep. Inc, standardno mešanico NuChehk 68 D Prep. Inc. ter standardno mešanico FAME Mix C4-C24 (Supelco, 18919-1AMP).

Določanje faktorja odzivnosti (Rf) plamensko ionizacijskega detektorja (FID)

Za natančno kvantitativno ovrednotenje kromatogramov je potrebno določiti faktor odzivnosti detektorja (Rf). Določimo ga s standardno mešanico (Nu Check 85 Prep. Inc), kjer so znani utežni % posameznih maščobnih kislin (MK).

Račun:

$$Rf = \frac{ut.\%_{posam.MEMK} \times \sum_{i=1}^n A_i}{A_i \times 100 ut.\%}$$

A_i = površina posameznega MEMK-standarda

ut. % posameznih MEMK v Nu Check 85 Prep. Inc znaša 3,03, razen za metilne estre heksadekanojske (palmitinske) kisline, kjer znaša 6,06

Določanje konverzijskega faktorja (FA_i) za posamezno MK

Faktor za pretvorbo MEMK v MK (FA_i) smo določili po naslednji formuli:

Račun:

$$FA_i = \frac{MrMK_i}{MrMEMK_i} = \frac{MrMK_i}{MrMK_i + 14}$$

MrMK_i = molska masa posamezne MK

MrMEMK_i = molska masa posameznega MEMK, ki se od MrMK_i razlikuje za Mr (CH₂) skupine = 14

Izračun utežnih deležev MK (ut %)

Utežni delež MK v vzorcu smo izračunali iz relativne površine vrha posamezne MK na kromatogramu (A_i) in z upoštevanjem faktorja odzivnosti detektorja (Rf_i) ter konverzijskega faktorja (FA_i) pretvorbe MEMK v MK.

Račun:

$$ut. \% MK = \frac{(Rf_i \times FA_i \times A_i)}{\sum_{i=1}^n (Rf_i \times FA_i \times A_i)} \times 100$$

A_i = površina posamezne MK

Rf_i = faktor odzivnosti detektorja za posamezno MK

FA_i = konverzijski faktor za posamezno MK

3.2.4 Statistična obdelava podatkov

V poskusu zbrane podatke smo pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Tako urejene podatke smo statistično obdelali z računalniškim programom SAS (SAS Software. Version 8.01, 1999) z multiplo analizo variance – postopkom GLM (General Linear Models).

Statistični model za vsebnost koencima Q₁₀ in holesterola ter maščobnokislinsko sestavo v piščančjih tkivih je vključeval vpliv različnega dodatka koencima Q₁₀, vpliv tkiva in njuno interakcijo:

$$y_{ijk} = \mu + D_i + T_j + D*T_{ij} + e_{ijk}$$

kjer je y_{ijk} = ijk -to opazovanje, μ = povprečna vrednost, D_i – vpliv dodatka Q_{10} (kontrolna skupina, 10, 20, 30 in 40 dni), T_j – vpliv tkiva (piščančja jetra in srce), $D*T_{ij}$ – vpliv interakcije i -tega dodatka koencima Q_{10} in j -tega tkiva, in e_{ijk} = ostanek.

Pričakovane povprečne vrednosti za eksperimentalne skupine so bile izračunane z uporabo Duncanovega testa in so primerjane pri 5 % tveganju. Pearsonovi korelacijski koeficienti med merjenimi parametri so bili izračunani s postopkom PROC CORR (SAS Software, 1999).

4 REZULTATI

4.1 OSNOVNI STATISTIČNI PARAMETRI

Iz preglednice 6 je razvidno, da imajo piščančja jetra v povprečju (170 ± 30) mg koencima Q₁₀/kg tkiva, kar (2200 ± 400) mg holesterola/kg tkiva, od MK pa imajo jetra največ večkrat nenasičenih maščobnih kislin – VNMK (43 %), sledijo nasičene maščobne kisline – NMK (36 %), najmanj pa je enkrat nenasičenih maščobnih kislin – ENMK (21 %).

Preglednica 6: Rezultati določanja vsebnosti koencima Q₁₀, holesterola in maščobnokislinske sestave v piščančjih jetrih z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri

| Parameter | n | \bar{x} | min | max | so | KV (%) |
|---------------------------------|----|-----------|---------|---------|--------|--------|
| koencim Q ₁₀ (mg/kg) | 60 | 172,54 | 106,31 | 268,38 | 30,86 | 17,89 |
| holesterol (mg/kg) | 62 | 2245,78 | 1679,54 | 2954,07 | 377,15 | 16,79 |
| MK (ut. % od skupnih MK) | | | | | | |
| C14:0 | 47 | 0,25 | 0,11 | 0,74 | 0,12 | 47,73 |
| C14:1c-9 | 47 | 0,01 | 0,00 | 0,18 | 0,04 | 397,95 |
| C15:0 | 47 | 0,02 | 0,00 | 0,37 | 0,06 | 361,10 |
| C15:1c-5 | 47 | 0,23 | 0,16 | 0,31 | 0,03 | 14,59 |
| C16:0 | 47 | 18,65 | 16,36 | 23,00 | 1,42 | 7,60 |
| C16:1t-5 | 47 | 0,28 | 0,00 | 0,51 | 0,10 | 37,14 |
| C16:1c-9 | 47 | 1,51 | 0,83 | 3,52 | 0,57 | 37,49 |
| C17:0 | 47 | 0,17 | 0,00 | 0,23 | 0,05 | 26,16 |
| C17:1t-10 | 47 | 0,37 | 0,19 | 1,05 | 0,12 | 33,59 |
| C17:1c-10 | 47 | 0,09 | 0,00 | 0,36 | 0,12 | 124,91 |
| iC18:0 | 47 | 0,01 | 0,00 | 0,10 | 0,03 | 275,86 |
| C18:0 | 47 | 16,67 | 11,49 | 20,31 | 2,51 | 15,08 |
| C18:1t-9 | 47 | 0,05 | 0,00 | 0,16 | 0,06 | 119,55 |
| C18:1c-9 | 47 | 17,38 | 12,38 | 23,74 | 3,13 | 17,99 |
| C18:2c-9,12 | 47 | 24,81 | 20,77 | 30,34 | 2,46 | 9,93 |
| C20:0 | 47 | 0,39 | 0,00 | 1,03 | 0,31 | 78,98 |
| C18:3c-9,12,15 | 47 | 1,45 | 0,90 | 2,73 | 0,48 | 32,79 |
| C20:1c-9 | 47 | 0,26 | 0,00 | 0,44 | 0,08 | 32,22 |
| C20:2c-11,14 | 47 | 0,55 | 0,35 | 0,71 | 0,08 | 15,43 |

nadaljevanje preglednice 6

| Parameter | n | \bar{x} | min | max | so | KV (%) |
|------------------------|----|-----------|-------|-------|------|--------|
| C20:3c-8,11,14 | 47 | 0,31 | 0,18 | 0,93 | 0,17 | 55,72 |
| C20:3c-11,14,17 | 47 | 0,75 | 0,09 | 1,27 | 0,29 | 38,20 |
| C20:4c-5,8,11,14 | 47 | 10,34 | 5,85 | 13,74 | 2,23 | 21,59 |
| C22:2c-13,16 | 47 | 0,07 | 0,00 | 0,74 | 0,17 | 250,12 |
| C20:5c-5,8,11,14,17 | 47 | 0,41 | 0,00 | 0,65 | 0,15 | 37,03 |
| C24:0 | 47 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | - |
| C24:1c-15 | 47 | 1,13 | 0,73 | 1,47 | 0,20 | 17,23 |
| C22:3c-10,13,16 | 47 | 0,65 | 0,25 | 0,97 | 0,17 | 26,25 |
| C22:5c-7,10,13,16,19 | 47 | 1,00 | 0,55 | 1,62 | 0,26 | 26,37 |
| C22:6c-4,7,10,13,16,19 | 47 | 2,05 | 0,58 | 3,72 | 0,65 | 31,70 |
| NMK | 47 | 36,16 | 31,39 | 41,45 | 2,09 | 5,78 |
| ENMK | 47 | 21,05 | 15,51 | 29,23 | 3,56 | 16,91 |
| VN MK | 47 | 42,79 | 34,15 | 48,30 | 3,07 | 7,18 |
| P/S | 47 | 1,19 | 0,93 | 1,40 | 0,11 | 9,53 |
| n-6 | 47 | 36,66 | 30,48 | 40,75 | 2,24 | 6,10 |
| n-3 | 47 | 5,66 | 4,13 | 7,41 | 0,64 | 11,24 |
| n-6:n-3 | 47 | 6,53 | 5,25 | 8,18 | 0,65 | 9,92 |
| IA | 47 | 0,31 | 0,26 | 0,41 | 0,03 | 10,72 |

n – število opazovanj, \bar{x} – povprečna vrednost, min – minimalna vrednost, max – maksimalna vrednost, so – standardni odklon, KV (%) – koeficient variabilnosti, NMK: C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, iC18:0, C18:0, C20:0, C24:0; ENMK: C14:1c-9, C15:1c-5, C16:1t-5, C16:1c-9, C17:1t-10, C17:1c-10, C18:1t-9, C18:1c-9, C20:1c-9, C24:1c-15; VNMK: C18:2c-9,12, C18:3c-9,12,15, C20:2c-11,14, C20:3c-8,11,14, C20:3c-11,14,17, C20:4c-5,8,11,14, C22:2c-13,16, C20:5c-5,8,11,14,17, C22:3c-10,13,16, C22:5c-7,10,13,16,19, C22:6c-4,7,10,13,16,19; P/S – VNMK/NMK; n-3 – C18:3c-9,12,15, C20:3c-11,14,17, C20:5c-5,8,11,14,17, C22:5c-7,10,13,16,19, C22:6c-4,7,10,13,16,19; n-6 – C18:2c-9,12, C20:2c-11,14, C20:3c-8,11,14, C20:4c-5,8,11,14, C22:3c-10,13,16, indeks aterogenosti – IA = (C12:0 + 4 × C14:0 + C16:0)/(n-6 + n-3 + C18:1c-9 + druge ENMK) (Ulbricht in Southgate, 1991).

Na prvem mestu po zastopanosti je bila linolna kislina (C18:2c-9,12) – 25 % in predstavlja večino VNMK v analiziranih piščančjih jetrih. Sledijo palmitinska (C16:0) – 19 % in stearinska kislina (C18:0) – 17 %, ki predstavljata večino NMK in oleinska kislina (C18:1c-9) – 17 %, katera predstavlja večino ENMK. Od VNMK je pomembna tudi arahidonska kislina (C20:4c-5,8,11,14) – 10 %.

VNMK lahko razdelimo v dve skupini, v n-3 in n-6 MK. n-3 MK predstavljajo 6 % od vseh MK in manj kot 13 % VNMK. Nasprotno pa n-6 MK prevladajo med VNMK, saj jih je kar 86 %. Odraž teh razlik je prikazan v razmerju med n-6 in n-3 MK, ki je visoko – 6,6. Iz preglednice 6 je razvidno tudi, da imajo nekatere MK zelo velik KV (C14:1c-9, C15:0, iC18, C22:2, C17:1c-10, C18:1t-9; KV > 120).

Preglednica 7: Rezultati določanja koencima Q₁₀, holesterola in maščobnokislinske sestave v piščančjih srcih z izračunanimi osnovnimi statističnimi parametri

| parameter | n | \bar{x} | min | max | so | KV (%) |
|---------------------------------|----|-----------|--------|---------|--------|--------|
| koencim Q ₁₀ (mg/kg) | 64 | 152,80 | 111,12 | 209,03 | 25,89 | 16,94 |
| holesterol (mg/kg) | 65 | 1300,56 | 678,31 | 1787,89 | 216,86 | 16,67 |
| MK (ut. % od skupnih MK) | | | | | | |
| C14:0 | 57 | 0,35 | 0,23 | 0,47 | 0,05 | 15,37 |
| C14:1c-9 | 57 | 0,10 | 0,06 | 0,23 | 0,02 | 24,89 |
| C15:0 | 57 | 0,07 | 0,04 | 0,11 | 0,01 | 19,29 |
| C15:1c-5 | 57 | 0,73 | 0,41 | 1,18 | 0,21 | 29,60 |
| C16:0 | 57 | 18,94 | 15,99 | 21,96 | 1,07 | 5,66 |
| C16:1t-5 | 57 | 0,19 | 0,07 | 0,34 | 0,06 | 33,07 |
| C16:1c-9 | 57 | 3,38 | 2,29 | 5,17 | 0,62 | 18,33 |
| C17:0 | 57 | 0,11 | 0,00 | 0,18 | 0,04 | 32,86 |
| C17:1t-10 | 57 | 0,39 | 0,11 | 0,77 | 0,17 | 42,39 |
| C17:1c-10 | 57 | 0,25 | 0,12 | 0,43 | 0,07 | 28,61 |
| iC18:0 | 57 | 0,07 | 0,00 | 0,24 | 0,04 | 60,15 |
| C18:0 | 57 | 8,14 | 6,27 | 11,06 | 1,12 | 13,75 |
| C18:1t-9 | 57 | 0,05 | 0,00 | 0,12 | 0,04 | 88,84 |
| C18:1c-9 | 57 | 29,17 | 23,61 | 33,59 | 2,29 | 7,86 |
| C18:2c-9,12 | 57 | 30,96 | 24,54 | 36,15 | 1,99 | 6,43 |
| C20:0 | 57 | 0,11 | 0,00 | 0,38 | 0,08 | 69,46 |
| C18:3c-9,12,15 | 57 | 2,25 | 1,39 | 2,93 | 0,30 | 13,14 |
| C20:1c-9 | 57 | 0,21 | 0,00 | 0,63 | 0,17 | 80,68 |
| C20:2c-11,14 | 57 | 0,39 | 0,00 | 0,77 | 0,13 | 33,77 |
| C20:3c-8,11,14 | 57 | 0,10 | 0,00 | 0,44 | 0,10 | 104,74 |
| C20:3c-11,14,17 | 57 | 0,30 | 0,00 | 0,61 | 0,15 | 49,13 |
| C20:4c-5,8,11,14 | 57 | 4,44 | 1,63 | 8,00 | 1,52 | 34,28 |
| C22:2c-11,14 | 57 | 0,03 | 0,00 | 0,12 | 0,04 | 132,36 |
| C20:5c-5,8,11,14,17 | 57 | 0,07 | 0,00 | 0,79 | 0,14 | 201,77 |
| C24:0 | 57 | 0,05 | 0,00 | 0,75 | 0,14 | 258,99 |
| C24:1c-15 | 57 | 0,47 | 0,18 | 0,87 | 0,16 | 33,86 |
| C22:3c-10,13,16 | 57 | 0,12 | 0,00 | 0,34 | 0,09 | 73,02 |
| C22:5c-7,10,13,16,19 | 57 | 0,26 | 0,10 | 0,55 | 0,08 | 30,57 |
| C22:6c-4,7,10,13,16,19 | 57 | 0,11 | 0,00 | 0,33 | 0,07 | 68,24 |

nadaljevanje preglednice 7

| parameter | n | \bar{x} | min | max | so | KV (%) |
|--------------------------|----|-----------|-------|-------|------|--------|
| NMK | 57 | 27,85 | 25,24 | 33,86 | 1,59 | 5,71 |
| ENMK | 57 | 34,73 | 28,86 | 39,48 | 2,30 | 6,62 |
| VNMK | 57 | 37,42 | 30,77 | 43,60 | 2,58 | 6,88 |
| P/S | 57 | 1,35 | 0,91 | 1,59 | 0,14 | 10,11 |
| <i>n</i> -6 | 57 | 36,01 | 26,92 | 41,72 | 2,80 | 7,76 |
| <i>n</i> -3 | 57 | 2,99 | 2,45 | 3,47 | 0,24 | 7,95 |
| <i>n</i> -6: <i>n</i> -3 | 57 | 12,08 | 10,75 | 14,40 | 0,83 | 6,87 |
| IA | 57 | 0,28 | 0,23 | 0,36 | 0,02 | 7,75 |

Legenda: glej preglednico 6.

Iz preglednice 7 je razvidno, da imajo piščančja srca v povprečju (150 ± 30) mg koencima Q₁₀/kg tkiva, (1300 ± 200) mg holesterola/kg tkiva, od MK pa imajo srca največ VNMK (37 %), sledijo ENMK (35 %), najmanj pa je NMK (28 %).

Na prvem mestu po zastopanosti je bila linolna kislina (C 18:2*c*-9,12) – 31 %, ki predstavlja večino VNMK v analiziranih piščančjih srcih. Sledijo oleinska (C18:1*c*-9) – 29 %, katera predstavlja večino ENMK, sledita še palmitinska (C16:0) – 19 % in stearinska kislina (C18:0) – 8 %, ki predstavljata večino NMK. Od VNMK je pomembna tudi arahidonska kislina (C20:4*c*-5,8,11,14) – 4 %.

n-3 MK predstavljajo 3 % od vseh MK in manj kot 8 % od VNMK. Nasprotno pa *n*-6 MK prevladajo med VNMK, saj jih je kar 96 %. Odras teh razlik je prikazan v razmerju med *n*-6 in *n*-3 MK, ki je visoko – 12,1. Iz preglednice 7 je razvidno tudi, da imajo nekatere MK zelo velik KV (C24:0, C20:5*c*-5,8,11,14,17, C22:2*c*-11,14, C20:3*c*-8,11,14; KV > 105).

4.2 VPLIV DODATKA KOENCIMA Q₁₀ V KRMO PIŠČANCEV

V preglednici 8 so prikazane razlike v vsebnosti holesterola, koencima Q₁₀ in maščobnokislinski sestavi piščančjih jeter in src štirih poskusnih in kontrolne skupine piščancev. Na splošno lahko rečemo, da **vsebnost koencima Q₁₀** v piščančjih jetrih in srcih ni odvisna od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev ($p > 0,05$). Podrobnejša analiza pa je pokazala, da je vseh pet skupin piščancev res imelo v **jetrih** statistično enako vsebnost koencima Q₁₀, da pa sta skupini piščancev, krmljenih s koencimom Q₁₀ 30 in 40 dni imele v **srčnih tkivih** značilno večjo vsebnost koencima Q₁₀ kot srca piščancev kontrolne skupine in skupine, krmljene z dodatkom koencima Q₁₀ 10 dni. Tudi **vsebnost holesterola** v piščančji drobovini na splošno ni odvisna od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev ($p > 0,05$). Podrobnejša analiza pa je pokazala, da je v **jetrih** piščancev skupin, krmljenih s koencimom Q₁₀ 20-40 dni, značilno več holesterola kot v kontrolni skupini in skupini piščancev, krmljenih z dodatkom koencima Q₁₀ 10 dni. V **srcih** smo določili statistično značilno manj holesterola v srčnih tkivih skupin, krmljenih z dodatkom koencima Q₁₀ 20-40 dni kot v kontrolni skupini in skupini piščancev, krmljenih z dodatkom koencima Q₁₀ 10 dni.

Preglednica 8: Vpliv dodatka koencima Q₁₀ (5 mg/dan) v krmo piščancev in vpliv različnih tkiv (piščančja jetra in srca) na vsebnost holesterola in koencima Q₁₀ ter maščobnokislinsko sestavo (Duncanov test, $\alpha = 0,05$)

| Parameter ($\bar{x} \pm so$) | tkivo | dodatek koencima Q ₁₀ v dnevih (skupina) | | | | | vpliv | | |
|------------------------------------|-------|---|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|------------------------------|-------|-----|-----|
| | | kontrola | 10 (S 10) | 20 (S 20) | 30 (S 30) | 40 (S 40) | T | D | T*D |
| koencim Q ₁₀ (mg/kg) | jetra | 168,95±6,12 ^{ax} | 173,12±13,16 ^{ax} | 173,14±27,69 ^{ax} | 183,04±48,88 ^{ax} | 164,04±41,02 ^{ax} | *** | | |
| | srce | 136,72±25,54 ^{by} | 152,09±16,03 ^{aby} | 156,13±20,74 ^{abx} | 165,10±33,82 ^{ax} | 164,05±22,26 ^{ax} | | nz | nz |
| holesterol (mg/kg) | jetra | 2087,2±332,8 ^{cx} | 2160,1±133,0 ^{bxc} | 2341,3±317,6 ^{abx} | 2418,1±481,9 ^{ax} | 2248,7±474,1 ^{abcx} | *** | | *** |
| | srce | 1456,6±179,4 ^{ay} | 1358,3±153,0 ^{aby} | 1105,6±207,4 ^{cy} | 1240,9±205,9 ^{by} | 1268,1±166,0 ^{by} | | nz | |
| MK (ut. % od skupnih MK) | | | | | | | | | |
| C14:0 | jetra | 0,37±0,25 ^{ax} | 0,22±0,08 ^{by} | 0,21±0,06 ^{by} | 0,23±0,05 ^{by} | 0,28±0,11 ^{abx} | *** | *** | |
| | srce | 0,41±0,05 ^{ax} | 0,32±0,04 ^{bx} | 0,33±0,04 ^{bx} | 0,34±0,05 ^{bx} | 0,33±0,05 ^{bx} | | | nz |
| C14:1c-9 | jetra | 0,05±0,09 ^a | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,01±0,03 ^{by} | *** | *** | *** |
| | srce | 0,10±0,02 ^{ab} | 0,08±0,02 ^{bx} | 0,11±0,04 ^{ax} | 0,09±0,01 ^{bx} | 0,10±0,02 ^{abx} | | | |
| C15:0 | jetra | 0,00±0,00 | 0,01±0,03 ^{ay} | 0,00±0,01 ^{ay} | 0,05±0,12 ^{ax} | 0,01±0,02 ^{ay} | *** | | nz |
| | srce | 0,08±0,01 ^{ax} | 0,08±0,01 ^{ax} | 0,07±0,01 ^{ax} | 0,07±0,02 ^{ax} | 0,06±0,01 ^{bx} | | | nz |
| C15:1c-5 | jetra | 0,23±0,02 ^{ay} | 0,23±0,02 ^{ay} | 0,24±0,04 ^{ay} | 0,21±0,04 ^{ay} | 0,21±0,04 ^{ay} | *** | | nz |
| | srce | 0,81±0,24 ^{abx} | 0,72±0,21 ^{abx} | 0,73±0,25 ^{abx} | 0,76±0,22 ^{bx} | 0,62±0,15 ^{ax} | | | nz |
| C16:0 | jetra | 18,69±1,81 ^{aby} | 18,13±1,29 ^{bx} | 18,22±1,04 ^{by} | 18,74±0,85 ^{abx} | 19,66±1,89 ^{ax} | | nz | ** |
| | srce | 19,91±1,00 ^{ax} | 18,20±1,19 ^{bx} | 18,85±0,99 ^{bx} | 18,51±0,49 ^{bx} | 18,84±0,89 ^{by} | | | nz |
| C16:1t-5 | jetra | 0,18±0,03 ^{by} | 0,28±0,15 ^{abx} | 0,29±0,08 ^{abx} | 0,26±0,10 ^{abx} | 0,36±0,05 ^{ax} | *** | * | |
| | srce | 0,19±0,05 ^{ax} | 0,21±0,06 ^{ax} | 0,20±0,05 ^{ay} | 0,16±0,06 ^{ay} | 0,19±0,10 ^{ay} | | | nz |
| C16:1c-9 | jetra | 1,37±0,32 ^{by} | 1,34±0,50 ^{by} | 1,54±0,54 ^{aby} | 1,30±0,20 ^{by} | 2,00±0,82 ^{ay} | *** | ** | |
| | srce | 3,45±0,46 ^{abx} | 2,93±0,70 ^{bx} | 3,29±0,64 ^{abx} | 3,36±0,40 ^{abx} | 3,77±0,75 ^{ax} | | | nz |
| C17:0 | jetra | 0,17±0,04 ^{ax} | 0,17±0,06 ^{ax} | 0,17±0,02 ^{ax} | 0,20±0,02 ^{ax} | 0,16±0,06 ^{ax} | *** | | nz |
| | srce | 0,13±0,03 ^{ay} | 0,13±0,02 ^{ax} | 0,11±0,02 ^{aby} | 0,11±0,04 ^{aby} | 0,09±0,05 ^{by} | | | nz |
| C17:1t-10 | jetra | 0,34±0,02 ^{aby} | 0,37±0,07 ^{abx} | 0,41±0,05 ^{ax} | 0,42±0,23 ^{ax} | 0,28±0,08 ^{bx} | | nz | ** |
| | srce | 0,48±0,19 ^{ax} | 0,48±0,24 ^{ax} | 0,38±0,09 ^{bx} | 0,32±0,12 ^{bx} | 0,31±0,09 ^{bx} | | | nz |
| C17:1c-10 | jetra | 0,00±0,00 | 0,11±0,14 ^{aby} | 0,09±0,10 ^{aby} | 0,09±0,14 ^{aby} | 0,14±0,11 ^{ay} | *** | * | |
| | srce | 0,21±0,05 ^{bx} | 0,25±0,08 ^{abx} | 0,26±0,08 ^{ax} | 0,26±0,08 ^{ax} | 0,25±0,06 ^{abx} | | | nz |
| iC18:0 | jetra | 0,00±0,00 | 0,01±0,03 ^{ay} | 0,01±0,02 ^{ay} | 0,02±0,03 ^{ay} | 0,01±0,03 ^{ay} | *** | | nz |
| | srce | 0,10±0,06 ^{ax} | 0,06±0,05 ^{bx} | 0,07±0,03 ^{abx} | 0,06±0,03 ^{bx} | 0,07±0,04 ^{bx} | | | nz |
| C18:0 | jetra | 18,55±0,75 ^{ax} | 17,18±3,26 ^{abx} | 16,55±2,14 ^{abx} | 16,97±2,54 ^{abx} | 14,68±1,70 ^{bx} | *** | * | |
| | srce | 8,43±1,20 ^{ay} | 8,54±1,78 ^{ay} | 8,21±1,07 ^{ay} | 7,78±0,82 ^{ay} | 7,78±0,64 ^{ay} | | | nz |
| C18:1t-9 | jetra | 0,03±0,05 ^{ay} | 0,05±0,06 ^{ax} | 0,07±0,06 ^{ax} | 0,04±0,06 ^{ax} | 0,04±0,06 ^{ax} | | | nz |
| | srce | 0,07±0,04 ^{ax} | 0,05±0,04 ^{bx} | 0,04±0,04 ^{by} | 0,04±0,04 ^{bx} | 0,03±0,04 ^{bx} | | nz | nz |

nadaljevanje preglednice 8

| Parameter ($\bar{x} \pm so$) | tkivo | dodatek koencima Q ₁₀ v dnevih (skupina) | | | | vpliv | |
|-----------------------------------|-------|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------|
| | | kontrola | 10 (S 10) | 20 (S 20) | 30 (S 30) | 40 (S 40) | T D T* D |
| C18:1c-9 | jetra | 15,22±1,42 ^{by} | 16,17±3,99 ^{by} | 17,25±2,86 ^{by} | 17,25±1,98 ^{by} | 20,48±2,28 ^{ay} | *** * |
| | srce | 28,99±2,05 ^{ax} | 28,98±3,24 ^{ax} | 29,13±2,94 ^{ax} | 29,52±1,51 ^{ax} | 29,22±2,10 ^{ax} | |
| C18:2c-9,12 | jetra | 23,71±2,24 ^{ay} | 24,66±3,04 ^{ay} | 24,85±2,35 ^{ay} | 24,95±3,18 ^{ay} | 25,49±0,93 ^{ay} | *** * |
| | srce | 30,05±2,80 ^{bx} | 31,41±1,83 ^{abx} | 30,57±1,77 ^{bx} | 32,17±1,49 ^{ax} | 30,93±0,74 ^{abx} | |
| C20:0 | jetra | 0,10±0,16 ^{bx} | 0,37±0,27 ^{abx} | 0,47±0,30 ^{ax} | 0,38±0,41 ^{abx} | 0,53±0,22 ^{ax} | *** * |
| | srce | 0,09±0,08 ^{bx} | 0,10±0,05 ^{by} | 0,09±0,05 ^{by} | 0,11±0,06 ^{aby} | 0,17±0,11 ^{ay} | |
| C18:3c-9,12,15 | jetra | 1,12±0,16 ^{by} | 1,44±0,64 ^{aby} | 1,42±0,42 ^{aby} | 1,44±0,56 ^{aby} | 1,75±0,20 ^{ay} | *** * |
| | srce | 2,09±0,34 ^{bx} | 2,24±0,22 ^{abx} | 2,19±0,28 ^{bx} | 2,46±0,27 ^{ax} | 2,28±0,21 ^{abx} | |
| C20:1c-9 | jetra | 0,27±0,04 ^{ax} | 0,24±0,11 ^{ax} | 0,28±0,05 ^{ax} | 0,25±0,10 ^{ax} | 0,26±0,10 ^{ax} | *** nz |
| | srce | 0,23±0,13 ^{aby} | 0,29±0,21 ^{ax} | 0,23±0,18 ^{abx} | 0,16±0,16 ^{by} | 0,14±0,17 ^{bx} | |
| C20:2c-11,14 | jetra | 0,56±0,09 ^{abx} | 0,55±0,09 ^{abx} | 0,57±0,03 ^{ax} | 0,57±0,07 ^{ax} | 0,48±0,11 ^{bx} | *** nz |
| | srce | 0,42±0,17 ^{ay} | 0,45±0,11 ^{ax} | 0,42±0,07 ^{ay} | 0,30±0,15 ^{by} | 0,36±0,06 ^{aby} | |
| C20:3c-8,11,14 | jetra | 0,24±0,04 ^{ax} | 0,33±0,22 ^{ax} | 0,37±0,23 ^{ax} | 0,30±0,16 ^{ax} | 0,26±0,05 ^{ax} | *** nz |
| | srce | 0,05±0,04 ^{by} | 0,14±0,12 ^{abx} | 0,08±0,03 ^{aby} | 0,09±0,13 ^{aby} | 0,16±0,13 ^{ay} | |
| C20:3c-11,14,17 | jetra | 1,04±0,18 ^{ax} | 0,70±0,30 ^{bx} | 0,76±0,33 ^{bx} | 0,70±0,31 ^{bx} | 0,67±0,13 ^{bx} | *** nz |
| | srce | 0,27±0,10 ^{ay} | 0,33±0,14 ^{ay} | 0,36±0,12 ^{ay} | 0,25±0,18 ^{ay} | 0,32±0,18 ^{ay} | |
| C20:4c-5,8,11,14 | jetra | 11,21±0,86 ^{ax} | 11,43±2,99 ^{ax} | 10,57±1,99 ^{abx} | 10,03±1,92 ^{abx} | 8,59±1,68 ^{bx} | *** * |
| | srce | 3,87±1,29 ^{by} | 4,57±1,58 ^{aby} | 5,13±1,74 ^{ay} | 4,18±1,43 ^{aby} | 4,60±1,54 ^{aby} | |
| C22:2c-13,16 | jetra | 0,03±0,05 ^{bx} | 0,25±0,32 ^{ax} | 0,02±0,04 ^{bx} | 0,03±0,06 ^{bx} | 0,00±0,00 | *** ** |
| | srce | 0,02±0,04 ^{abx} | 0,05±0,04 ^{ax} | 0,03±0,03 ^{abx} | 0,01±0,02 ^{bx} | 0,04±0,04 ^{abx} | nz |
| C20:5c-5,8,11,14,17 | jetra | 0,50±0,06 ^{ax} | 0,32±0,27 ^{bx} | 0,42±0,10 ^{abx} | 0,44±0,12 ^{abx} | 0,43±0,06 ^{abx} | *** ** |
| | srce | 0,17±0,25 ^{ay} | 0,05±0,04 ^{by} | 0,02±0,03 ^{by} | 0,04±0,06 ^{by} | 0,04±0,04 ^{by} | |
| C24:0 | jetra | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 ^{ax} | 0,00±0,00 ^{ay} | 0,00±0,00 | * nz |
| | srce | 0,12±0,26 ^{ax} | 0,05±0,06 ^{ax} | 0,01±0,02 ^{ax} | 0,04±0,06 ^{ax} | 0,03±0,04 ^{ax} | |
| C24:1c-15 | jetra | 1,17±0,22 ^{ax} | 1,20±0,24 ^{ax} | 1,16±0,14 ^{ax} | 1,09±0,17 ^{ax} | 1,05±0,22 ^{ax} | *** * |
| | srce | 0,40±0,13 ^{cy} | 0,52±0,15 ^{aby} | 0,55±0,18 ^{ay} | 0,42±0,13 ^{bcy} | 0,51±0,17 ^{aby} | |
| C22:3c-10,13,16 | jetra | 0,57±0,18 ^{ax} | 0,66±0,19 ^{ax} | 0,70±0,09 ^{ax} | 0,71±0,10 ^{ax} | 0,56±0,25 ^{ax} | *** ** |
| | srce | 0,06±0,03 ^{cy} | 0,11±0,06 ^{by} | 0,12±0,07 ^{by} | 0,19±0,12 ^{ay} | 0,13±0,08 ^{by} | |
| C22:5c-7,10,13,16,19 | jetra | 1,16±0,08 ^{ax} | 1,17±0,34 ^{ax} | 0,93±0,24 ^{abx} | 0,94±0,21 ^{abx} | 0,85±0,20 ^{bx} | *** * |
| | srce | 0,25±0,08 ^{ay} | 0,28±0,08 ^{ay} | 0,30±0,10 ^{ay} | 0,24±0,08 ^{ay} | 0,26±0,07 ^{ay} | |
| C22:6c-4,7,10,13,16,19 | jetra | 2,27±0,32 ^{ax} | 2,25±0,84 ^{ax} | 2,13±0,65 ^{ax} | 2,16±0,40 ^{ax} | 1,44±0,52 ^{bx} | *** ** |
| | srce | 0,06±0,03 ^{cy} | 0,12±0,07 ^{by} | 0,17±0,11 ^{ay} | 0,11±0,05 ^{by} | 0,08±0,03 ^{bcy} | |

nadaljevanje preglednice 8

| Parameter ($\bar{x} \pm so$) | tkivo | dodatek koencima Q ₁₀ v dnevih (skupina) | | | | vpliv | |
|-----------------------------------|-------|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------|
| | | kontrola | 10 (S 10) | 20 (S 20) | 30 (S 30) | 40 (S 40) | T D T*D |
| NMK | jetra | 37,89±2,56 ^{ax} | 36,09±2,60 ^{abx} | 35,62±1,84 ^{bx} | 36,59±1,77 ^{abx} | 35,32±1,26 ^{bx} | **** * * |
| | srce | 29,26±1,99 ^{ay} | 27,49±1,83 ^{by} | 27,73±0,98 ^{by} | 27,02±0,95 ^{by} | 27,36±0,79 ^{by} | |
| ENMK | jetra | 18,61±1,51 ^{by} | 19,74±4,38 ^{by} | 21,05±3,37 ^{by} | 20,66±2,14 ^{by} | 24,57±2,88 ^{ay} | *** ** nz |
| | srce | 34,61±1,91 ^{ax} | 34,23±3,38 ^{ax} | 34,72±3,12 ^{ax} | 34,79±1,58 ^{ax} | 35,19±1,71 ^{ax} | |
| VNMK | jetra | 43,51±2,95 ^{ax} | 44,17±3,32 ^{ax} | 43,34±2,62 ^{ax} | 42,75±1,55 ^{abx} | 40,11±3,60 ^{bx} | *** ** nz |
| | srce | 36,13±2,87 ^{ay} | 38,29±2,86 ^{ay} | 37,55±3,16 ^{ay} | 38,19±1,53 ^{ay} | 37,44±1,88 ^{ay} | |
| P/S | jetra | 1,16±0,15 ^{ay} | 1,23±0,12 ^{ay} | 1,22±0,09 ^{ay} | 1,17±0,08 ^{ay} | 1,14±0,13 ^{ay} | **** * * |
| | srce | 1,24±0,16 ^{bx} | 1,40±0,14 ^{ax} | 1,36±0,13 ^{ax} | 1,42±0,08 ^{ax} | 1,37±0,09 ^{ax} | |
| n-6 | jetra | 36,29±2,63 ^{ax} | 37,63±2,07 ^{ax} | 37,05±1,98 ^{ax} | 36,57±1,61 ^{ax} | 35,39±2,83 ^{ax} | nz ** nz |
| | srce | 34,45±3,59 ^{by} | 36,69±2,96 ^{ax} | 36,32±3,03 ^{abx} | 36,93±1,40 ^{ax} | 36,17±1,93 ^{abx} | |
| n-3 | jetra | 6,09±0,40 ^{ax} | 5,89±0,70 ^{ax} | 5,65±0,70 ^{abx} | 5,67±0,32 ^{abx} | 5,14±0,60 ^{bx} | *** nz nz |
| | srce | 2,83±0,19 ^{by} | 3,03±0,20 ^{aby} | 3,03±0,26 ^{aby} | 3,09±0,29 ^{ay} | 2,98±0,16 ^{aby} | |
| n-6:n-3 | jetra | 5,96±0,25 ^{by} | 6,45±0,68 ^{aby} | 6,64±0,82 ^{ay} | 6,47±0,59 ^{aby} | 6,92±0,31 ^{ay} | *** nz nz |
| | srce | 12,13±0,65 ^{ax} | 12,11±0,73 ^{ax} | 12,02±0,91 ^{ax} | 12,00±0,90 ^{ax} | 12,17±1,05 ^{ax} | |
| IA | jetra | 0,33±0,06 ^{ax} | 0,30±0,03 ^{ax} | 0,30±0,02 ^{ax} | 0,31±0,01 ^{ax} | 0,32±0,04 ^{ax} | **** * * |
| | srce | 0,30±0,02 ^{ay} | 0,27±0,02 ^{by} | 0,28±0,02 ^{by} | 0,27±0,01 ^{by} | 0,28±0,02 ^{by} | nz |

Legenda: glej preglednico 6; T – vrsta tkiva, D – dodatek koencima Q₁₀ v krmo, T*D – interakcija vrste tkiva in dodatka koencima Q₁₀, *** $p \leq 0,001$ statistično zelo visoko značilen vpliv, ** $p \leq 0,01$ statistično visoko značilen vpliv, * $p \leq 0,05$ statistično značilen vpliv, nz – $p > 0,05$ statistično neznačilen vpliv, ^{x,y} vrednosti z enako nadpisano črko znotraj stolpca se med seboj statistično značilno ne razlikujeta, ^{a,b,c} vrednosti z enako nadpisano črko znotraj vrstice se med seboj statistično značilno ne razlikujejo.

Preglednica 8 prikazuje tudi, kako dodani koencim Q₁₀ v krmo piščancev vpliva na maščobnokislinsko sestavo. **Vsebnost NMK** je na splošno statistično značilno ($p < 0,001$) odvisna od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev. Podrobnejša analiza je pokazala, da je **v jetrih** piščancev značilno več NMK v kontrolni skupini piščancev in v skupinah, ki so bile krmljene z dodatkom koencima Q₁₀ 10 in 30 dni, kot v skupinah, krmljenih z dodatkom koencima Q₁₀ 20 in 40 dni. **V srcih** smo določili statistično značilno manj NMK v vseh skupinah piščancev, krmljenih z obogateno krmo kot v kontrolni skupini piščancev. **Vsebnost ENMK** je na splošno statistično značilno ($p < 0,01$) odvisna od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev. Podrobnejša analiza je pokazala, da je **v jetrih** piščancev značilno manj ENMK v kontrolni skupini in skupinah, krmljenih z dodatkom koencima Q₁₀ 10-30 dni kot v skupini piščancev, krmljenih z dodatkom koencima Q₁₀ 40 dni. **V srcih** je vseh pet skupin piščancev imelo enako vsebnost ENMK. Tudi **vsebnost VNMK** je na splošno statistično značilno ($p < 0,01$) odvisna od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev. Podrobnejša analiza je pokazala, da je **v jetrih** piščancev značilno manj VNMK v skupini, z najdaljšim dodatkom koencima Q₁₀ (40 dni) v primerjavi z vsemi

ostalimi skupinami piščancev. V **srcih** je vseh pet skupin piščancev imelo statistično enako vsebnost VNMK. **P/S indeks** je na splošno statistično značilno ($p < 0,001$) odvisen od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev. Podrobnejša analiza je pokazala, da je vseh pet skupin piščancev imelo v **jetrih** statistično enak P/S indeks, medtem ko so skupine, krmljene s koencimom Q₁₀ obogateno krmo 10-40 dni imele v **srčnih tkivih** značilno večji P/S indeks kot srca piščancev kontrolne skupine.

Vsebnost n-6 MK je na splošno statistično značilno ($p < 0,01$) odvisna od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev. Vseh pet skupin piščancev je imelo v **jetrih** statistično enako vsebnost n-6 MK. Skupine piščancev krmljene s koencimom Q₁₀ obogateno krmo 10-40 dni je imela v **srčnih tkivih** značilno večjo vsebnost n-6 MK kot srca piščancev kontrolne skupine. **Vsebnost n-3 MK** je na splošno statistično neodvisna ($p > 0,05$) od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev. V **jetrih** piščancev smo v skupini krmljeni z dodatkom koencima Q₁₀ 40 dni določili statistično značilno manj n-3 MK kot v preostalih skupinah. V **srcih** pa smo določili značilno največ n-3 MK v skupini krmljeni 30 dni, najmanj pa v kontrolni skupini. Na splošno lahko rečemo, da **razmerje n-3:n-6** v piščančjih jetrih in srcih ni odvisno ($p > 0,05$) od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev. Podrobnejša analiza je pokazala, da je v **jetrih** piščancev statistično značilno večje razmerje n-3:n-6 v skupinah krmljenih z dodatkom koencima Q₁₀ 10-40 dni kot v kontrolni skupini, medtem ko je vseh pet skupin piščancev imelo v **srcih** statistično enako razmerje n-3:n-6. **IA** je na splošno statistično značilno ($p < 0,001$) odvisen od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev. Podrobnejša analiza je pokazala, da je vseh pet skupin piščancev imelo v **jetrih** statistično enak IA. V **srčnih tkivih** piščancev smo v skupinah krmljenih z dodatkom koencima Q₁₀ 10-40 dni določili značilno večji IA kot v kontrolni skupini piščancev.

4.3 RAZLIKA MED TKIVI PIŠČANČJIH JETER IN SRC

Iz preglednice 8 je razvidna razlika v vsebnosti koencima Q₁₀ in holesterola ter maščobnokislinskim profilom med piščančjimi jetri in srci. Povzamemo lahko, da piščančja jetra kontrolne skupine piščancev vsebujejo statistično značilno več **koencima Q₁₀** in **holesterola** kot srčno tkivo (za 32 mg koencima Q₁₀/kg oz. 630 mg holesterola/kg).

Jetra kontrolne skupine piščancev v primerjavi s srci vsebujejo značilno več **NMK** (38 % vs. 29 %) in **VNMK** (43 % vs. 36 %) ter manj **ENMK** (19 % vs. 35 %). **Od NMK** v jetrih in srcih prevladujeta palmitinska (C16:0) in stearinska kislina (C18:0), le da je v jetrih stearinske kisline bistveno več (19 % vs. 8 %), delež palmitinske kisline pa je v jetrih malo nižji kot v srcih (19 % vs. 20 %). **Med ENMK** v jetrih in srcih prevladujejo oleinska (C18:1c-9), palmitooleinska (C16:1c-9) in nevronska kislina (C24:1c-15), ostale ENMK so v količinah pod 1%. V jetrih je manj oleinske (15 % vs. 29 %) in palmitooleinske kisline (1

% vs. 3 %) ter več nevronske kisline (1 % vs. 0,4 %) v primerjavi s srci. **Med VNMK** je tako v jetrih kot v srcih največ linolne (C18:2c-9,12), arahidonske kisline (C20:4c-5,8,11,14), DPK – dokozapentaendiojske kisline (C22:5c-7,10,13,16,19) in DHK – dokozaheksaenojske kislina (C22:6c-4,7,10,13,16,19), α -linolenske (C18:3c-9,12,15) in eikozatrienojske kisline (C20:3c-11,14,17). V jetrih je več arahidonske kisline (11 % vs. 4 %), DPK (1 % vs. 0,3 %), DHP (2 % vs. 0,1 %) in eikozatrienojske kisline (1 % vs. 0,3 %) ter manj linolne (24 % vs. 30 %) in α -linolenske kisline (1 % vs. 2 %) v primerjavi s srci.

P/S indeks je v jetrih značilno manjši kot v srcih (1,16 vs. 1,24). Iz vsebnosti *n*-6 in *n*-3 MK izračunano razmerje *n*-6:*n*-3 je v jetrih bistveno, kar za dvakrat, nižje kot v srčnih tkivih (6 vs. 12). Ugodno razmerje v jetrih je posledica višje vsebnosti *n*-3 MK, kot so DHK (C22:6c-4,7,10,13,16,19), DPK (C22:5c-7,10,13,16,19), α -linolenska (C18:3c-9,12,15), eikozatrienojska kislina (C20:3c-11,14,17) in v manjši meri EPK – eikozapentaenojska kislina (C20:5c-5,8,11,14,17).

V poskusnih skupinah z dodanim koencimom Q₁₀ se razmerja med opazovanimi parametri in iz njih izračunanimi indeksi praktično v vseh primerih ohranjajo. Izjemi sta samo palmitinska kislina (C16:0) in vsebnost *n*-6 MK. Vsebnost palmitinske kisline se v skupinah piščancev, krmljenih 10 in 30 dni med tkivi statistično ne razlikuje, medtem ko je v skupini piščancev, krmljenih 40 dni vsebnost palmitinske kisline malo višja v jetrih kot v srcih. V kontrolni skupini in skupini z 20-dnevnim dodatkom koencima Q₁₀ je večja vsebnost palmitinske kisline v srcih. Vsebnost *n*-6 MK se v vseh poskusnih skupinah med tkivi ne razlikuje, v kontrolni skupini pa je večja vsebnost *n*-6 MK v jetrih kot v srcih.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

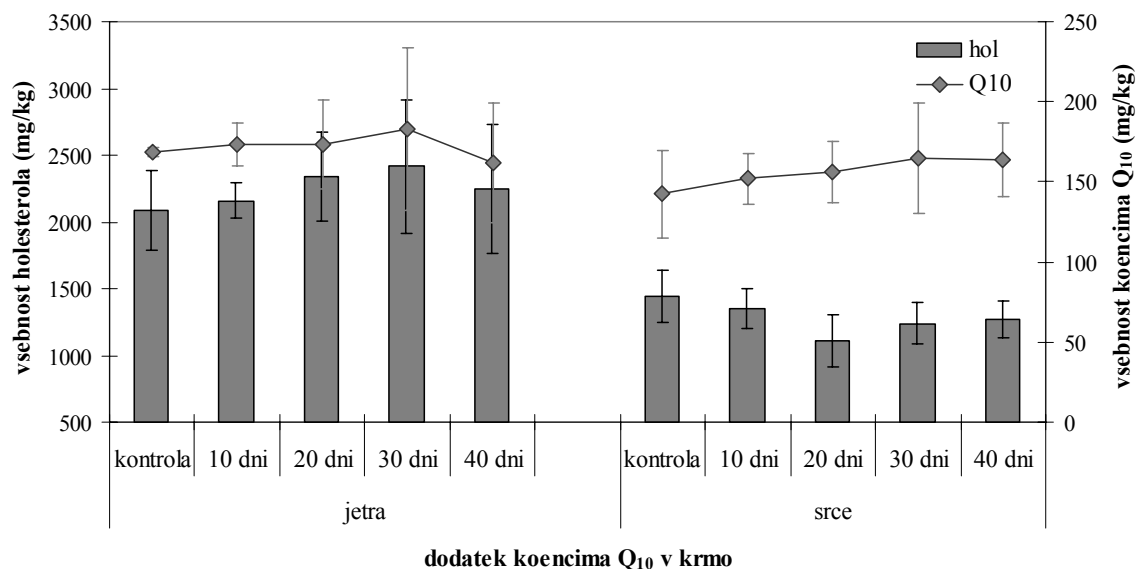
V piščančji drobovini, natančneje v srcih in jetrih, smo želeli raziskati vpliv različno dolgega dodajanja vodotopnega koencima Q₁₀ v krmo piščancev. Vzorci so bili razporejeni v pet skupin glede na čas krmljenja piščancev z dodanim vodotopnim koencimom Q₁₀, ki so ga pripravili na Kemijskem inštitutu v Ljubljani. V vsaki skupini smo v šestih piščančjih jetrih in srcih določili vsebnost koencima Q₁₀ in holesterola ter maščobnokislinsko sestavo.

Pričakovali smo, da se s krmljenjem piščancev s koencimom Q₁₀ obogateno krmo v drobovini njegova vsebnost povečuje. Vendar so rezultati pokazali, da se vsebnost koencima Q₁₀ v jetrih piščancev ne spreminja statistično značilno. V piščančjih srcih smo določili statistično značilno višje vsebnosti koencima Q₁₀ pri 30-ih in 40-ih dnevih krmljenja. Iz navedenega lahko sklepamo, da organizmu uspe po določenem času (v jetrih takoj, v srcih sklepamo, da šele pri 40-ih dneh) vzpostaviti ravnotežje med endogenim in eksogenim koencimom Q₁₀. V kontrolni skupini smo določili (169 ± 6) mg Q₁₀ na 1 kg jeter in (137 ± 25) mg Q₁₀ na 1 kg src. Največ koencima Q₁₀ smo določili pri 30-ih dnevih krmljenja in sicer (180 ± 50) mg/kg v jetrih in (165 ± 30) mg/kg v srcih. V literaturi je malo podatkov o vsebnosti koencima Q₁₀ v piščančji drobovini. Kubo in sod. (2008) poročajo, da so določili 192 mg koencima Q₁₀ na kg piščančjih src. V literaturi največkrat zasledimo podatke o vsebnosti koencima Q₁₀ v govejih jetrih, srcih ali pa v piščancih, ni pa definirano v katerih tkivih. Različni avtorji navajajo, da je v govejem, podganjem in človeškem srcu več koencima Q₁₀ kot v jetrih, mi pa smo dokazali, da piščančja jetra vsebujejo več koencima Q₁₀ kot piščančja srca. Predvidevali smo, da bo v piščančjih srcih več koencima Q₁₀ kot v jetrih, saj je srčna mišica bolj aktivna, vsebuje več mitohondrijev, ki so bogat vir koencima Q₁₀. Bentinger s sodelavci (2007) ugotavlja, da je v človeškem srcu 114 µg koencima Q₁₀/g in 55 µg koencima Q₁₀/g v jetrih. Stocker (2007) pa navaja, da je v 93 g ocvrtega piščanca 1,4 mg koencima Q₁₀.

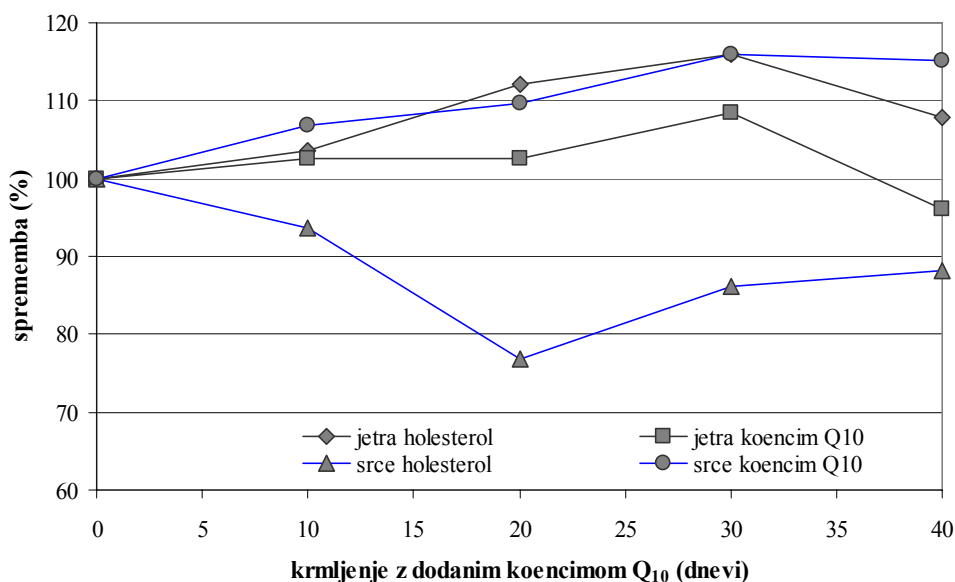
V raziskavi nas je zanimalo tudi, v kakšni povezavi sta holesterol in koencim Q₁₀, saj sta njuni biosintezni poti prepleteni, obe spojini namreč nastaneta iz skupnega prekursorja. Pričakovali smo, da bi lahko povečana vsebnost koencima Q₁₀ v drobovini vplivala na zmanjšanje holesterola v njej. Rezultati pa so pokazali, da je v jetrih piščancev, krmljenih 20-40 dni z dodanim koencimom Q₁₀, več holesterola kot v kontrolni skupini in skupini z 10-dnevnim dodatkom koencima Q₁₀. Obratno smo v piščančjih srcih skupin z 20-40 dnevnim dodatkom koencima Q₁₀ določili manj holesterola kot v srcih piščancev kontrolne skupine in skupine z 10-dnevnim dodatkom koencima Q₁₀.

Naša osnovna predpostavka, da se s podaljšanim dodajanjem koencima Q₁₀ v krmo vsebnost koencima Q₁₀ poveča v tkivih, ni bila potrjena. Tudi pričakovanega zmanjšanja

holesterola v jetrih nismo dokazali. V piščančjih srcih pa smo določili značilno več koencima Q₁₀ v poskusnih skupinah kot v kontrolni skupini in tudi posledično statistično značilno znižanje vsebnosti holesterola v njih (sliki 7 in 8). Pri 40-ih dnevih krmljenja s koencimom Q₁₀ se v srcih vzpostavi ravnotežje med endogenim in eksogenim koencimom Q₁₀.



Slika 7: Povezava med vsebnostjo koencima Q₁₀ in holesterola v drobovini (jetra, srca) piščancev



Slika 8: Relativna sprememba vsebnosti koencima Q₁₀ in holesterola v piščančjih jetrih in srcih glede na čas krmljenja. Vsebnost v kontrolni skupini je podana kot 100 %

V jetrih smo v vseh skupinah piščancev določili več holesterola v primerjavi s srci. To ugotovitev lahko razložimo z dejstvom, da se večje količine holesterola sintetizirajo v jetrih. V prehranskih tablicah (Golob in sod., 2006) najdemo podatek, da je vsebnost holesterola v piščančjih jetrih 492 mg/100 g, v piščančjih srcih pa manj, in sicer 170 mg/100 g. Mi smo v kontrolni skupini piščancev določili (210 ± 30) mg holesterola/100 g v jetrih in (150 ± 20) mg/100 g v srcih. Najmanj holesterola v jetrih smo določili v kontrolni skupini, največ pa pri 30-ih dnevih krmljenja z dodatkom koencima Q₁₀, in sicer (240 ± 50) mg/100 g. Najmanj holesterola v srcih smo določili pri 20-ih dnevih krmljenja z dodatkom koencima Q₁₀, največ pa v kontrolni skupini.

Zanimalo nas je tudi, kako dodani koencim Q₁₀ vpliva na morebitne spremembe maščobnokislinske sestave. Ugotovili smo, da dodani koencim Q₁₀ zmanjšuje vsebnost NMK tako v jetrih kot v srcih, zvišuje vsebnost ENMK v jetrih, v srcih pa praktično ni sprememb. Dodani koencim Q₁₀ znižuje vsebnost VNMK v jetrih, medtem ko se le-te v srcih ne spreminjajo. V vseh skupinah smo v jetrih določili več NMK, več VNMK in manj ENMK v primerjavi s srci.

V kontrolni skupini smo določili veliko raven palmitinske kisline (C16:0) – 19 % v jetrih in 20 % v srcih ter veliko raven stearinske kisline (C18:0) – 19 % v jetrih in 8 % v srcih. Delež stearinske kisline (C18:0) se je sorazmerno z dolžino trajanja krmljenja v jetrih zmanjševal, pri 40-ih dnevih krmljenja s koencimom Q₁₀ je delež padel iz 19 % na 15 %. V prehranskih tablicah (Golob in sod., 2006) so podane vrednosti za palmitinsko kislino (C16:0) – 19 % v jetrih in 16 % v srcih. V isti literaturi navajajo 14 % stearinske kisline (C18:0) v jetrih in 8 % v srcih. V literaturi Fatty acids (1998) zasledimo, da je v jetrih 19 % palmitinske (C16:0) in 13 % stearinske kisline (C18:0).

Delež oleinske kisline (C18:1c-9) se je sorazmerno z dolžino trajanja krmljenja v jetrih večal. Pri 40-ih dnevih krmljenja s koencimom Q₁₀ je delež narasel iz 15 % na 20 %. Delež arahidonske kisline (C20:4c-5,8,11,14) se je sorazmerno z dolžino trajanja krmljenja v jetrih zmanjševal, pri 40-ih dnevih krmljenja s koencimom Q₁₀ se je zmanjšal iz 11 % na 9 %. V prehranskih tablicah (Golob in sod., 2006) najdemo vrednosti za oleinsko kislino (C18:1c-9) – 21 % v jetrih in 22 % v srcih ter vrednosti za vsebnost arahidonske kisline (C20:4n-6) v jetrih – 4 %. V literaturi Fatty acids (1998) zasledimo, da je v jetrih 20 % oleinske (C18:1c-9) in 4 % arahidonske kisline (C20:4n-6).

S prehranskega stališča so pomembna razmerja med MK, in sicer P/S indeks, razmerje *n*-6:*n*-3 in IA. IA, višji od 0,5, ni zaželen (Ulbricht in Southgate, 1991). Povprečen IA naših vzorcev je bil 0,3, kar je zelo ugodno. IA je na splošno statistično zelo visoko značilno odvisen od dodatka koencima Q₁₀. IA je v poskusnih skupinah nižji kot v kontrolni skupini. V prehranskih tablicah (Golob in sod., 2006) najdemo podatek, da IA v piščančjih jetrih znaša 0,49 v srcih pa 0,38.

Preglednica 9: Primerjava naših podatkov o vsebnosti holesterola in maščobnokislinske sestave piščančjih jeter in src z literaturnimi podatki (Golob in sod., 2006 in Fatty acids, 1998)

| maščobna kislina | tkivo | naši podatki za kontrolno skupino | Golob in sod. (2006) | Fatty acids (1998) |
|-------------------------|-------|-----------------------------------|----------------------|--------------------|
| holesterol (mg/100 g) | srce | 150 | 170 | - |
| | jetra | 210 | 492 | - |
| MK (ut.% od skupnih MK) | | | | |
| C14:0 | srce | 0,41 | 0,64 | - |
| | jetra | 0,37 | 0,25 | 0,43 |
| C15:0 | srce | 0,08 | - | - |
| | jetra | 0 | - | 0 |
| C15:1c-5 | srce | 0,81 | - | - |
| | jetra | 0,23 | - | 0 |
| C16:0 | srce | 20 | 15,69 | - |
| | jetra | 19 | 18,94 | 18,69 |
| C16:1c-9 | srce | 3,5 | 4,14 | - |
| | jetra | 1,4 | 2,85 | 2,61 |
| C17:0 | srce | 0,13 | - | - |
| | jetra | 0,17 | - | 0 |
| C17:1c-10 | srce | 0,21 | - | - |
| | jetra | 0 | - | 0 |
| C18:0 | srce | 8,4 | 8,45 | - |
| | jetra | 19 | 14,47 | 12,60 |
| C18:1c-9 | srce | 29 | 22,07 | - |
| | jetra | 15 | 21,49 | 19,56 |
| C18:2c-9,12 | srce | 30 | 20,52 | - |
| | jetra | 24 | 10,42 | 11,30 |
| C20:0 | srce | 0,09 | - | - |
| | jetra | 0,10 | - | 0 |
| C20:1c-9 | srce | 0,23 | - | - |
| | jetra | 0,27 | - | 0 |
| C20:3c-9,11,14 | srce | 0,05 | - | - |
| | jetra | 0,24 | - | 0,43 |
| C20:4c-5,8,11,14 | srce | 3,9 | - | - |
| | jetra | 11 | 3,91 | 4,35 |
| C20:5c-5,8,11,14,17 | srce | 0,17 | - | - |
| | jetra | 0,50 | 0,51 | 0 |

nadaljevanje preglednice 9

| maščobna kislina | tkivo | naši podatki za kontrolno skupino | Slovenske prehranske tabele (2006) | Fatty acids (1998) |
|------------------------|-------|-----------------------------------|------------------------------------|--------------------|
| C24:0 | srce | 0,12 | - | - |
| | jetra | 0 | - | 0 |
| C22:5c-7,10,13,16,19 | srce | 0,25 | - | - |
| | jetra | 1,2 | 0,26 | 0,43 |
| C22:6c-4,7,10,13,16,19 | srce | 0,06 | - | - |
| | jetra | 2,3 | 1,30 | 3,48 |
| NMK | srce | 29 | 24,78 | - |
| | jetra | 38 | 33,66 | 31,30 |
| ENMK | srce | 35 | 26,21 | - |
| | jetra | 19 | 24,60 | - |
| VNMK | srce | 36 | 21,26 | - |
| | jetra | 44 | 15,94 | - |
| P/S | srce | 1,2 | 0,86 | - |
| | jetra | 1,2 | 0,47 | - |
| n-6 | srce | 34 | 20,52 | - |
| | jetra | 36 | 13,62 | 15,65 |
| n-3 | srce | 6,1 | 0,74 | - |
| | jetra | 6,1 | 2,32 | 4,78 |
| n-6:n-3 | srce | 12 | 27,7 | - |
| | jetra | 6,0 | 5,9 | 5,87 |
| IA | srce | 0,30 | - | - |
| | jetra | 0,33 | 0,49 | - |

Zaželeno je, da je razmerje med VNMK in NMK (P/S indeks) višje od 0,5 (Wood in sod., 2003). V kontrolni skupini src je bil P/S indeks višji kot v kontrolni skupini jeter (1,24 vs. 1,16). P/S indeks je na splošno statistično zelo visoko značilno odvisen od dodatka koencima Q₁₀ v krmo. P/S indeks se je v jetrih med krmljenjem s koencimom Q₁₀ zniževal, a je bil ves čas večji kot v kontrolni skupini. Izjema je skupina s 40-dnevnim krmljenjem s koencimom Q₁₀, kjer je P/S indeks manjši kot v kontrolni skupini, kar je logično, saj smo ravno v tej skupini določili najmanj VNMK in najmanj NMK. V srcih je P/S indeks v vseh poskusnih skupinah višji kot v kontrolni skupini. Tudi v prehranskih tablicah (Golob in sod., 2006) zasledimo, da je P/S indeks višji v piščančjih srcih kot v jetrih (0,86 vs. 0,49).

Ugodno razmerje med n-6:n-3 MK je 5:1 do 10:1 (Salobir, 2001). V kontrolni skupini je bilo razmerje 6:1 v jetrih in 12:1 v srcih. Dodatek koencima Q₁₀ v krmo piščancev ne

vpliva na $n-6:n-3$ razmerje. V prehranskih tablicah (Golob in sod., 2006) najdemo podatek, da je razmerje 5,9:1 v piščančjih jetrih in 27,7:1 v piščančjih srcih.

Opazimo, da so razlike med našimi rezultati in podatki iz literature precejšnje. Do razlik prihaja zato, ker je vsebnost MK močno odvisna od prehrane, zdravstvenega stanja in pasme živali.

5.2 SKLEPI

Na podlagi rezultatov lahko oblikujemo naslednje sklepe:

- piščančja jetra kontrolne skupine vsebujejo več koencima Q₁₀ kot piščančja srca: (169 ± 6) mg/kg vs. (137 ± 25) mg/kg;
- 40-dnevno krmljenje piščancev z dodatkom koencima Q₁₀ ne vpliva na vsebnost koencima Q₁₀ v jetrih ($p > 0,05$);
- v srcih je vsebnost koencima Q₁₀ največja pri 30-ih in 40-ih dnevih krmljenja s koencimom Q₁₀ (165 ± 30) mg/kg, najmanjša pa v kontrolni skupini;
- piščančja jetra kontrolne skupine vsebujejo več holesterola kot piščančja srca (2100 ± 300) mg/kg vs. (1400 ± 200) mg/kg;
- 40-dnevno krmljenje piščancev s koencimom Q₁₀ različno vpliva na vsebnost holesterola v jetrih in srcih;
- v piščančjih jetrih je vsebnost holesterola največja pri 30-ih dneh krmljenja s koencimom Q₁₀, najmanjša pa v kontrolni skupini;
- v piščančjih srcih je vsebnost holesterola statistično značilno manjša v vseh skupinah piščancev, krmljenih s koencimom Q₁₀, v primerjavi s kontrolno skupino;
- pričakovanega zmanjšanja vsebnosti holesterola v jetrih nismo dokazali;
- piščančja jetra vsebujejo več NMK kot piščančja srca;
- vsebnost NMK je odvisna ($p < 0,001$) od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev; dodan koencim Q₁₀ v krmo le v majhni meri zmanjšuje delež NMK;
- piščančja jetra vsebujejo manj ENMK kot piščančja srca;
- vsebnost ENMK je odvisna ($p < 0,01$) od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev;
- največjo vsebnost ENMK v jetrih smo določili pri 40-dnevem krmljenju s koencimom Q₁₀, najmanjšo pa v kontrolni skupini; v srcih je imelo vseh pet skupin enako vsebnost VNMK;
- piščančja jetra vsebujejo več VNMK kot piščančja srca;
- vsebnost VNMK je odvisna ($p < 0,01$) od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev;
- največjo vsebnost VNMK v jetrih smo določili pri 10-ih dnevih krmljenja s koencimom Q₁₀, najnižjo pri 40-ih; v srcih je imelo vseh pet skupin enako vsebnost VNMK;
- IA je v jetrih in srcih ugoden; V srcih je odvisen ($p < 0,001$) od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev, v jetrih pa ne;
- IA je v srcih statistično značilno manjši v vseh skupinah piščancev, krmljenih s koencimom Q₁₀, v primerjavi s kontrolno skupino;
- P/S indeks je tako v jetrih kot v srcih ugoden; v srcih je odvisen ($p < 0,001$) od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev, v jetrih pa ne;
- P/S indeks je v srcih statistično značilno večji v vseh skupinah piščancev, krmljenih s koencimom Q₁₀, v primerjavi s kontrolno skupino;
- razmerje $n-6:n-3$ je v jetrih s prehranskega vidika ugodnejše kot v srcih; v srcih ni odvisno ($p > 0,05$) od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev, v jetrih pa je.

6 POVZETEK

Koencim Q₁₀ ima v organizmu dve pomembni vlogi. Sodeluje pri oksidativni fosforilaciji, ki je ključnega pomena za tvorbo ATP. Druga pomembna lastnost je antioksidativno delovanje in posledično zaviranje procesa staranja in nastanek bolezni. Najbolj pomembna in učinkovita oblika koencima Q₁₀ je reducirana oblika, imenovana ubiquinol. Koencim Q₁₀ se v majhnih količinah nahaja v raznovrstni hrani, največ ga je v mesu, predvsem v srcu, jetrih in ledvicah.

Številne študije kažejo mnogo pozitivnih učinkov koencima Q₁₀, vendar ga s staranjem človeški organizem ne sintetizira več v zadostnih količinah. Zaradi slabe topnosti v vodi se koencim Q₁₀ slabo in počasi absorbira iz gastrointestinalnega trakta, zato so na Kemijskem inštitutu v Ljubljani razvili eno od vodotopnih oblik koencima Q₁₀, ki ima boljšo biorazpoložljivost. Vodotopna oblika temelji na mikroenkapsulaciji koencima Q₁₀ v β-ciklodekstrinu. Pojavilo se je vprašanje o možnosti proizvodnje piščančjega mesa s povečano vsebnostjo koencima Q₁₀, ki bi lahko služilo kot funkcionalno živilo. V ta namen je bila izbrana skupina 200 piščancev, provenience Ross 308, ki so bili razporejeni v pet skupin glede na čas krmljenja le-teh s krmo, obogateno z vodotopnim koencimom Q₁₀ (0, 10, 20, 30 in 40 dni). Piščanci so bili zaklani pri starosti 41 dni.

Cilj naloge je bil raziskati vpliv različno dolgega dodajanja koencima Q₁₀ v krmo piščancev na njegovo vsebnost v drobovini. Menili smo, da se s krmljenjem piščancev s koencimom Q₁₀ obogateno krmo v drobovini njegova vsebnost povečuje. V srcih smo pričakovali večjo vsebnost koencima Q₁₀ kot v jetrih. Biosintezni poti holesterola in koencima Q₁₀ se prepletata, zato smo pričakovali, da se bo z dodajanjem koencima Q₁₀ v krmo piščancev v njihovi drobovini vsebnost holesterola lahko celo zmanjšala. Hkrati pa nas je zanimalo tudi, kaj se v primeru različno dolgega dodajanja koencima Q₁₀ v krmo dogaja z maščobnokislinsko sestavo drobovine.

Presenetljivo smo ugotovili, da piščančja jetra vsebujejo več koencima Q₁₀ kot piščančja srca. 40-dnevno krmljenje piščancev z vodotopnim koencimom Q₁₀ statistično ne vpliva na vsebnost koencima Q₁₀ v jetrih, v srcih pa je njegova vsebnost največja pri 30-ih in 40-ih dnevih krmljenja s koencimom Q₁₀, najmanjša pa v kontrolni skupini. Ugotovili smo tudi, da piščančja jetra vsebujejo več holesterola kot piščančja srca. Krmljenje piščancev s koencimom Q₁₀ različno vpliva na vsebnost holesterola v jetrih in srcih. V piščančjih jetrih je vsebnost holesterola največja pri 30-ih dnevih krmljenja s koencimom Q₁₀, najmanjša pa v kontrolni skupini. V piščančjih srcih je vsebnost holesterola statistično značilno manjša v vseh skupinah piščancev, krmljenih s koencimom Q₁₀, v primerjavi s kontrolno skupino.

Ugotovili smo, da so vsebnosti NMK, ENMK in VNMK odvisni od dodatka koencima Q₁₀ v krmo piščancev. IA in P/S indeks sta tako v jetrih kot v srcih ugodna, dodatek koencima

Q₁₀ v krmo piščancev pa ju še dodatno izboljša. Povprečno je v obeh tkivih IA 0,3, P/S indeks pa 1,2. Razmerje *n-6:n-3* je v jetrih ugodno – 6:1, v srcih pa neugodno – 12:1. Z dodatkom koencima Q₁₀ v krmo piščancev na razmerje *n-6:n-3* ne moremo vplivati.

S prehranskega stališča so pomembna razmerja med MK, in sicer indeks aterogenosti, P/S indeks in razmerje *n-6:n-3*. Že v kontrolni skupini smo v piščančji drobovini dokazali, da so ta razmerja ugodna, zato nima smisla, da bi jih izboljševali na račun dodanega koencima Q₁₀. Menimo, da so piščančja jetra in srca, kljub dodajanju koencima Q₁₀ v krmo, s prehranskega stališča nezanimiva, saj so bogat vir holesterola, ki neugodno vpliva na naše zdravje.

7 VIRI

- Abram V. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23-32
- Bentinger M., Brismar K., Dallner G. 2007. The antioxidant role of coenzyme Q. Mitochondrion, 7, Suppl. 1: S41-S50
- Bhagavan H.N., Chopra R.K. 2007. Plasma coenzyme Q₁₀ response to oral ingestion of coenzyme Q₁₀ formulations. Mitochondrion, 7, Suppl. 1: S78-S88
- Bliznakov E.G. 2002. Diabetes and the role of isoprenoid biosynthesis. FEBS Letters, 525: 169-170
- Boyer R. 2005. Temelji biokemije. Ljubljana, Študentska založba: 450-460
- Cochemé H.M., Kelso G.F., James A.M., Ross M.F., Trnka J., Mahendiran T., Asin-Cayuela J., Blaikie F.H., Manas A.R.B., Porteous C.M., Adlam V.J., Smith R.A.J., Murphy M.P. 2007. Mitochondrial targeting of quinones: Therapeutic implications. Mitochondrion, 7, Suppl. 1: S94-S102
- Fatty acids. 1998. Seventh supplement of the fifth edition of McCance and Widdowson's. The composition of foods. London, The Royal Society of Chemistry: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food: 98-101
- Golob T., Stibilj V., Žlender B., Doberšek U., Jamnik M., Polak T., Salobir J., Čandek-Potokar M. 2006. Slovenske prehranske tabele - meso in mesni izdelki. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 159-163
- Haas R.H. 2007. The evidence basis for coenzyme Q therapy in oxidative phosphorylation disease. Mitochondrion, 7, Suppl. 1: S136-S145
- Hargreaves I.P. 2007. Coenzyme Q₁₀ in phenylketonuria and mevalonic aciduria. Mitochondrion, 7, Suppl. 1: S175-S180
- Korošec L. 2000. Prosti radikali in vloga antioksidantov v bioloških sistemih. V: Antioksidanti v živilstvu. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 11-21
- Kubo H., Fujii K., Kawabe T., Matsumoto S., Kishida H., Hosoe K. 2008. Food content of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 in the Japanese diet. Journal of Food Composition and Analysis, 21, 3: 199-210
- Lenaz G., Fato R., Formigginia G., Genova M.L. 2007. The role of coenzyme Q in mitochondrial electron transport. Mitochondrion, 7, Suppl. 1: S8-S33

- Linnane A.W., Kios M., Vitetta L. 2007. Coenzyme Q₁₀ – Its role as a prooxidant in the formation of superoxide anion/hydrogen peroxide and the regulation of the metabolome. *Mitochondrion*, 7, Suppl. 1: S51-S61
- Littarru G.P., Langsjoen P. 2007. Coenzyme Q₁₀ and statins: Biochemical and clinical implications. *Mitochondrion*, 7, Suppl. 1: S168-S174
- Mattila P., Kumpulainen J. 2001. Coenzymes Q₉ and Q₁₀: Contents in foods and dietary intake. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14: 409-417
- Miles M.V. 2007. The uptake and distribution of coenzyme Q₁₀. *Mitochondrion*, 7, Suppl. 1: S72-S77
- Navas P., Villalba J.M., Cabo R. 2007. The importance of plasma membrane coenzyme Q in aging and stress responses. *Mitochondrion*, 7, Suppl. 1: S34-S40
- Pepe S., Marasco S.F., Haas S.J., Sheeran F.L., Krum H., Rosenfeldt F.L. 2007. Coenzyme Q₁₀ in cardiovascular disease. *Mitochondrion*, 7, Suppl. 1: S154-S167
- Prošek M., Šmidovnik A., Fir Milivojevič M., Stražičar M., Golc-Wondra A., Andrenšek S., Žmitek J. 2005. New water-soluble form of coenzyme Q₁₀ in the form of an inclusion complex with [beta]-cyclodextrin, process of preparing, and use thereof : international publication no. WO2005111224, international publication date 24 November 2005 (24.11.2005) : international patent application no. PCT/SI2005/000013, date of filing 10 May 2005. [S. l.]: PCTO: WIPO, 2005: 20
- Rötig A., Mollet J., Rio M., Munnich A. 2007. Infantile and pediatric quinone deficiency diseases. *Mitochondrion*, 7, Suppl. 1: S112-S121
- Rudan-Tasič D. 2000. Vitamin C, vitamin E in koencim Q₁₀. V: *Antioksidanti v živilstvu*. 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000, Portorož, 26. in 27. oktober 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 48 – 51
- Salobir K. 2001. Prehransko fiziološka funkcionalnost maščob. V: *Funkcionalna hrana*. 21. Bitenčevi živilski dnevi 2001, Portorož, 8. in 9. november 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 121-135
- SAS Software. Version 8.01. 1999. Cary, SAS Institute Inc.: software
- Shinde S., Patil N., Tendolkar A. 2005. Coenzyme Q₁₀: A review of essential functions. *Internet Journal of Nutrition and Wellness*, 1, 2 <http://www.ispub.com/ostia/index.php?xmlFilePath=journals/ijnw/vol1n2/q10.xml> (17. april 2008): 1-14
- Sohal R.S., Forster M.J. 2007. Coenzyme Q, oxidative stress and aging. *Mitochondrion*, 7, Suppl. 1: S103-S111

- Stocker R. 2007. Coenzyme Q₁₀. Oregon, Micronutrient Information Center, Linus Pauling Institute
<http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/othernuts/coq10/> (15. april 2008): 1-10
- Tran U.C., Clarke C.F. 2007. Endogenous synthesis of coenzyme Q in eukaryotes. Mitochondrion, 7, Suppl. 1: S62-S71
- Turunen M, Olsson J., Dallner G. 2004. Metabolism and function of coenzyme Q. Biochimica et Biophysica Acta, 1660: 171-199
- Ulbricht, T.L.V., Southgate D.A.T. 1991. Coronary heart-disease – 7 dietary factors. Lancet, 338: 985-992
- Wood J.D., Richardson R.I., Nute G.R., Fisher A.V., Campo M.M., Kasapidou E., Sheard P.R., Enser M. 2003. Effects of fatty acids on meat quality: a review. Meat Science, 66: 21-32
- Žakelj M. 2005. Biokemija II_oksigenaze, ROS, fosfoglukonatna pot. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta: 3-3
<http://www2.mf.uni-lj.si/~zakeljm/P450.pdf> (11.april 2008)

ZAHVALA

Zahvaljujem se vsem, ki so mi tekom študija stali ob strani in mi na kakršen koli način pomagali.

Hvala mentorici doc. dr. Lei Gašperlin za pomoč pri statistični obdelavi podatkov in oblikovanju diplomskega dela.

Posebej se zahvaljujem somentorju dr. Tomažu Polaku za strokovno pomoč, požrtvovalnost, nasvete in moralno podporo ter prijetno delovno vzdušje.

Zahvaljujem se recenzentki doc. dr. Lei Pogačnik za pregled diplomskega dela.

Prav tako se za pregled diplomskega dela zahvaljujem Ivici Hočevnar, univ. dipl. inž. živ. tehnol.

Hvala dr. Mirku Prošek, Andreju Šmidovniku in Maji Fir za sodelovanje pri projektu in za opravljene analize.

Zahvala gre tudi Mateji, Ani in Poloni za spodbudne besede in pomoč pri delu.

Največja zahvala gre mojim staršem, ki so mi ves čas stali ob strani, me spodbujali skozi vsa študijska leta in me finančno podpirali. HVALA!

Iskrena hvala tudi fantu Sebastianu za vso ljubezen, potrpežljivost, moralno podporo in vzpodbudne besede.

Hvala sestri Svetlani in Petri, prijateljici Alenki, prijatelju Kristjanu, stari mami Erni, Danilu in Tatjani za moralno podporo in potrpljenje.

Iskrena hvala Urošu za vso potrpežljivost in razumevanje!