

*Jerzy Jamroz*

*Katedra Biologicznych Podstaw Technologii Żywności i Pasz, Akademia Rolnicza  
w Lublinie*

*Jerzy Rogalski*

*Zakład Biochemii UMCS*

*Jerzy Szpendowski*

*Instytut Technologii Mleczarskiej, Akademia Rolniczo-Techniczna w Olsztynie*

918

## **Właściwości antyrakowe białek serwatkowych**

Badania eksperymentalne i epidemiologiczne związane z wpływem składu żywności na kancerogenezę koncentrują się głównie na roli błonnika pokarmowego oraz tłuszczowców.

Substancje białkowe, jako podstawowe składniki żywności, mało są znane od strony właściwości antykancerogennych. Dlatego wydawało się, że interesujące będzie przedstawienie wyników badań dotyczących wpływu spożywanego pokarmu z udziałem białek mleka na rozwój komórek rakowych.

Badania na gryzoniach wykazały antyrakową aktywność frakcji białkowej produktów mlecznych, a w szczególności drobnocząsteczkowych białek serwatkowych.

Uczeni z ośrodków naukowych Kanady [10], na podstawie własnych eksperymentów oraz danych piśmiennictwa, sugerują, że wzrost biosyntezy glutationu, w wielu tkankach badanych zwierząt, skorelowany jest z zawartością frakcji białek serwatkowych w spożywanych pokarmach.

Białka serwatkowe, w odróżnieniu od frakcji kazeinowej, zawierają znaczną ilość aminokwasów siarkowych [tab. 1], szczególnie cysteiny wykorzystywanej w biosyntezie glutationu. Ograniczenie rozwoju różnych typów komórek rakowych może być następstwem wzrostu stężenia glutationu w tkankach.

Epidemiologiczne badania wykazały, że konsumpcja mleka oraz produktów mlecznych może wpłynąć na ograniczenie rozwoju komórek rakowych [22, 24]. Jacquet i współpracownicy [23] donoszą o redukcji rozwoju komórek *epithelioma* T 8, wyrażonej wskaźnikiem 0,4, u szczurów po spożyciu diety mlecznej. U myszy implantowanych komórkami *Ehrlich ascites*, po żywieniu jogurtem, wykazano zmniejszenie ilości komórek rakowych wyrażonych wskaźnikiem od 0,2 do 0,28 [37]. W innych badaniach wykazano, że białkowa dieta mleczna powoduje zahamowanie rozwoju komórek rakowych, wg wskaźnika od 0,2 do 0,7, u myszy po iniekcji dimetylohydrazyny (DMH) — indukującego rozwój komórek rakowych; pożywienie zawierające inne białka nie dawało redukującego efektu [32]. Różne typy serów i

Tabela 1. Skład aminokwasowy kazeiny i koncentratu białek serwatkowych [15, 42]

Aminokwas [g/16 g N]	Kazeina kwasowa (88,54% białka)	Białka serwatkowe* (90,50%)
Alanina	3,10	5,68
Arginina	3,96	3,28
Cysteina + cystyna	0,48	2,47
Fenylalanina	5,52	3,75
Glicyna	2,07	2,07
Histydyna	3,47	2,28
Kwas asparaginowy	7,61	11,12
Kwas glutaminowy	20,93	14,19
Leucyna	10,44	11,44
Izoleucyna	4,34	5,78
Lizyna	9,63	10,86
Metionina	2,83	2,76
Prolina	11,48	6,36
Seryna	6,75	2,74
Treonina	5,54	6,63
Tryptofan	1,29	1,80
Tyrozyna	6,12	3,51
Walina	6,18	5,37

\* Koncentrat białkowy otrzymano metodą ultrafiltracji.

jogurtów mogą wykazywać zróżnicowany stopień inhibicji komórek rakowych, skorelowany z okresem podawania myszom diety mlecznej.

Obszar kancerogennej biomasy był redukowany wg wskaźnika od 0,17 do 0,70 w zależności od typu raka [43]. Badany typ raka atakuje limfę [34], zespół moczowy, gruczoły wydzielania wewnętrznego [35] oraz zespół trawienny [36]. Antykancerogeny efekt diety białek serwatkowych prawdopodobnie pozostaje w bezpośrednim związku z obniżeniem poziomu zaatakowania wymienionych zespołów. W innych badaniach testowano aktywność biologiczną białek kazeinowych i serwatkowych w stosunku do kontrolnej diety nie zawierającej białek mleka. Indukowane przez DMH komórki kancerogennej biomasy były redukowane wg wskaźnika 0,3 i 0,4 po okresie podawania myszom diety kazeinowej. Natomiast po wprowadzeniu do żywienia białek serwatkowych — uzyskano czterokrotną redukcję komórek kancerogennej biomasy [33]. Białka serwatkowe wywołują większe efekty antykancerogenne w porównaniu do białek frakcji kazeinowej [12].

Około 80% ogólnej ilości białek mleka krowiego stanowi frakcja białek kazeinowych, pozostałe 20% udziału przypada na białka serwatkowe.

Nowoczesna technologia precypitacji, umożliwiająca odzyskanie od 96% do 98% ogólnej ilości białek — stosowana jest na niewielką skalę. Wzbogacenie mleka

natywnego kationami wapnia, w warunkach wysokiej pasteryzacji, powoduje pełniejsze wytrącenie białek.

W temperaturze od 90°C do 95°C, w czasie 15 sekund frakcja  $\beta$ -laktoglobuliny białek serwatkowych ulega denaturacji z jednoczesnym rozwinięciem łańcuchów polipeptydowych. Większa dostępność grup sulfhydrylowych białek serwatkowych ułatwia tworzenie wiązań disulfidowych z micellami kazeiny. Powstawanie kompleksów białek kazeinowo-serwatkowych, indukowane kationami wapnia, prowadzi do prawie całkowitego odzyskania białek serwatkowych [30]. Sery lub twarogi produkowane według omawianej technologii, zwane serwitami, zawierają niemal wszystkie białka serwatkowe zawarte w mleku.

Wdrożenie nowoczesnej technologii koprecypitacji białek umożliwia otrzymanie produktów o około dwukrotnie wyższej zawartości cysteiny + cystyny w porównaniu z klasycznymi odpowiednikami [tab. 2]. Przetestowanie aktywności antykancerogennej serwitów byłoby interesujące w porównaniu do wyników badań produktów otrzymanych dotychczasowymi metodami. Tradycyjne metody precypitacji białek mleka umożliwiają wytrącenie od 40% do 60% ogólnej ilości drobnocząsteczkowych molekuł białek serwatkowych [41, 45].

Obserwowane efekty antyrakowe, wywołane przez frakcję białek kazeinowych, są niewielkie, ponieważ tylko około połowa drobin białka serwatkowego jest obecna w podawanych dietach. Cytowane wyniki badań dowodzą, że antyrakowa aktywność produktów mlecznych jest związana głównie z frakcją białek serwatkowych. Birt i współpracownicy [7] poparli te spostrzeżenia w badaniach długowieczności chomików syryjskich. Chomiki — żywione od czwartego tygodnia dietą białek serwatko-

**Tabela 2.** Zawartość cysteiny + cystyny w serach i twarogach oraz serwitach [16]

Rodzaj produktu	Zawartość cysteiny + cystyny [g/16 g N]
Twaróg kwasowy	0,35
Serwit kwasowy	1,18
Twaróg kwasowo-podpuszczkowy	0,30
Serwit kwasowo-podpuszczkowy	0,89
Ser jeziorański	0,36
Serwit jeziorański	0,88
Ser ementalSKI	0,29
Serwit ementalSKI	0,79
Ser edamski	0,37
Serwit edamski	0,84
Ser rokpol	0,24
Serwit rokpol	0,67

wych — żyły dłużej, odpowiednio do ich udziału w pożywieniu. U samców obserwowano nawet zwiększenie przeżywalności prawie o 50% w porównaniu z populacją, którą żywiono dietą standardową z 20% zawartością białek serwatkowych.

W innych doświadczeniach porównywano przeżywalność chomików żywionych dietą białek serwatkowych w porównaniu do diety kontrolnej z białkiem kazeiny wzbogaconej dodatkiem cysteiny. Po 20 tygodniach żywienia przeżywalność obu płci zwierząt była większa po żywieniu dietą białek serwatkowych w porównaniu do ekwiwalentnego uzupełnienia poziomu cysteiny w diecie kazeinowej [8].

Antykancerogenne działania białek serwatkowych wydają się potwierdzać rezultaty badań epidemiologicznych. W przypadku częstej konsumpcji 2% mleka stwierdzono mniejsze ryzyko zachorowania na raka jamy ustnej, żołądka, odbytu oraz płuc [28].

Wzmocnienie reakcji immunologicznej, po żywieniu myszy białkami serwatkowymi, może być następstwem zwiększonej biosyntezy glutationu w komórkach [9].

Glutation jest trójpeptydem —  $\gamma$ -glutamylcysteinoglicyną [6,38]. Powszechnie występuje w komórkach eukariotycznych w stężeniu wewnątrzkomórkowym od 0,1 do 10 mmol/l.

W normalnych stanach fizjologicznych 99,8% glutationu występuje w formie zredukowanej (GSH), natomiast disulfidowa forma utleniona (GSSG) stanowi znikomą jego frakcję. Reaktywność glutationu uwarunkowana jest obecnością w jego cząsteczce grupy tiolowej. Utlenienie 2 grup tiolowych prowadzi do powstania disulfidu glutationu. Potencjał normalny GSH/GSSG wynosi  $-0,23V$  [17]. Wartość potencjału redoks wskazuje, że układ ten jest dobrym reduktorem nadtlenu wodoru ( $E_0 = + 1,35 H_2O_2 / H_2O$ ), [31] i nadtlenków organicznych.

Zatem, odpowiednie stężenie glutationu w komórkach stanowi obronę przed stresem oksydacyjnym. Wydaje się, że umiarkowane obniżenie stężenia glutationu nie powoduje niekorzystnych następstw, jeśli komórki nie są narażone na stres oksydacyjny. GSH jest substratem dla wielu enzymów, których stała Michalisa jest dużo niższa od wewnątrzkomórkowych stężeń tego trójpeptydu.

Dlatego obniżenie poziomu GSH, nawet od 30% do 70%, może nie mieć wpływu na szybkość katalizowanych reakcji [19, 44]. Niekorzystne skutki zmniejszenia stężenia glutationu w komórkach narażonych na stres oksydacyjny mogą być następstwem spowolnienia reakcji detoksykacyjnych związanych z redukcją nadtlenków oraz sprzęgania aldehydów tworzących się w procesie peroksydacji lipidów [29, 39, 40]. Detoksykacja ksenobiotyków, np. 1-chloro,2,4-dinitrobenzenu, jest możliwa poprzez tworzenie glutationylo-S-koniugantów.

GSH, w przypadku zatruc, jest zużywany w reakcjach tworzenia koniugantów z metabolitami tych ksenobiotyków [4, 38].

Biosynteza GSH jest limitowana zawartością aminokwasów siarkowych, głównie cysteiny, która w komórkach występuje w bardzo małych stężeniach [5, 12]. Brak

dostatecznej zawartości cysteiny może narażać komórki na stres oksydacyjny, objawiający się zmniejszeniem szybkości reakcji detoksykacyjnych [14].

W uodpornionych organizmach myszy, żywionych koncentratami białek serwatkowych, notowano zwiększoną biosyntezę glutationu śledzionowego w odróżnieniu od populacji, której podawano diety mleczne zawierające kazeinę lub białko kazeiny dodatkowo wzbogacone cysteiną [9].

Podwyższone stężenie GSH obserwowano również w sercu oraz w wątrobie starszych wiekiem myszy żywionych białkami serwatkowymi; nie stwierdzono nasilonej biosyntezy trójpeptydu po podaniu gryzoniom białek kazeinowych [11]. Można przypuszczać, że limfocyty myszy wykazują uzdolnienia do potencjalnego eliminowania stresu oksydacyjnego [21].

Podanie *in vitro* lub *in vivo* — L-butionino-sulfoksyminy (BSO), inhibitora syntetazy  $\gamma$ -glutamylcysteinowej, prowadzi do zmniejszenia stężenia GSH w komórkach czy organach zwierząt [18, 27]. Zmniejszenie zaś o 50% zawartości glutationu śledzionowego znacznie zmniejsza humoralną odporność, nawet po podaniu myszom białek serwatkowych [9].

Wyniki cytowanych badań pozwalają wnioskować o podwyższonych efektach immunologicznych w następstwie zwiększonej biosyntezy glutationu, wywołanej wysoką podażą substratów znajdujących się we frakcji białek serwatkowych. Wysoka zawartość cysteiny oraz połączeń glutamylcysteinowych w koncentratkach białek serwatkowych powoduje wzmożone nagromadzenie trójpeptydu. Zwiększona zawartość glutationu komórkowego lub tkankowego (w hodowlach *in vitro* lub *in vivo*) można osiągnąć przez wprowadzenie monoestrów glutationu, otrzymywanych w wyniku estryfikacji grupy karboksylowej glicyny alkoholami. Estry GSH przenikają do komórek, gdzie hydrolizowane są przez wewnątrzkomórkowe esterazy do trójpeptydu i odpowiedniego alkoholu [2]. Większe stężenie glutationu tkankowego notowano również po podaniu gammaglutamylcysteiny [1].

Ugrupowania glutamylcysteinowe niezwykle rzadko występują w jadalnych białkach roślinnych i zwierzęcych; przede wszystkim są zlokalizowane we frakcji albuminy krwi [20].

Uczeni [10] wysuwają hipotezę, że aktywność biologiczna białek serwatkowych oraz produktów mlecznych związana jest ze zwiększoną zawartością połączeń glutamylcysteinowych zlokalizowanych we frakcji albuminy krwi, w  $\beta$ -laktoglobulinie i możliwe, że w immunoglobulinowej G frakcji.

Wzrost biosyntezy glutationu może być następstwem zwiększonej podaży ugrupowań glutamylcysteinowych w czasie procesów trawiennych białek serwatkowych.

Niewątpliwie białka serwatkowe produktów mlecznych wykazują znaczną biologiczną aktywność, która uruchamia mechanizmy prewencji rozwoju raka.

Oprócz funkcji wydalania ksenobiotyków, glutation uczestniczy w detoksykacji jonów metali ciężkich oraz w metabolizmie wielu związków endogennych, jak sterydy lub leukotrieny [25].

Z drugiej strony, znane są połączenia glutationu ze związkami chemicznymi takimi jak chlorowcopochodne alkanów, aminofenole, hydrochinony, których toksyczność zwiększa się w wyniku biochemicznych transformacji [26].

Poznanie czynników i mechanizmów, które umożliwiają sterowanie zmianami stężenia glutationu, ma duże znaczenie praktyczne. Korelacja pomiędzy wzrostem stężenia GSH w komórkach nowotworowych a ich opornością na działanie czynników fizykochemicznych może wskazywać na podjęcie właściwej metody leczenia [3, 13]. Świadome obniżenie stężenia glutationu pozwala uwrażliwić komórki nowotworowe na chemio- i radioterapię.

---

## Wnioski

1. Wyjaśnienie roli glutationu w inhibicji komórek rakowych, na drodze zwiększenia stężenia substratów do syntezy GSH, wymaga dalszych badań.
2. Podjęcie badań naukowych nad oznaczeniem antykancerogennej aktywności serwitów byłoby bardzo interesujące w stosunku do rezultatów cytowanych w retrospektywnym przeglądzie.

---

## Literatura

- [1] Anderson M.E., Meister A. 1983. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **80**. 707–711.
- [2] Anderson M.E., Meister A. 1989. *Anal. Biochem.* **183**. 16–20.
- [3] Arrick B.A., Nathan C.F. 1984. *Cancer Res.* **44**. 4224–4232.
- [4] Bakke J.E. 1990. *Drug Metabolism Rev.* **22**. 637–647.
- [5] Bannai S., Tateishi N. 1986. *J. Membr. Biol.* **89**. 1–8.
- [6] Bartosz G. 1993. *Post. Bioch.* **39**. 32–38.
- [7] Birt D., Baker P.Y., Hruza D.S. 1982. *J.Nutr.* **112**. 2151–2160.
- [8] Birt D.F., Schuldt G.H., Salmasi S. 1982. *Lab. Animal. Sci.* **32**. 363–366.
- [9] Bounous G., Batist G., Gold P. 1989. *Clin. Invest. Med.* **12**. 154–161.
- [10] Bounous G., Batist G., Gold P. 1991. *Cancer Lett.* **57**. 91–94.
- [11] Bounous G., Gervais F., Amer V., Batist G., Gold P. 1989. *Clin. Invest. Med.* **12**. 343–349.
- [12] Bounous G., Papenburg R., Kongshavan P.A.L., Gold P., Fleiszer D. 1988. *Clin. Invest. Med.* **11**. 213–217.
- [13] Bump E.A., Brown J.M. 1990. *Pharmacol. Ther.* **47**. 117–136.
- [14] Cho E.S., Sahyoun N., Stegink L.D. 1981. *J.Nutr.* **111**. 914–922.
- [15] Chojnowski W., 1985. *Acta Acad. Agricult. Techn. Olszt.* **21**.
- [16] Cichoń R., 1979. *Zesz. Nauk. ART Olsztyn* **14**.
- [17] Consise Encyclop. of Biochem. 1988. de Gruyter. Berlin. New York p.529.
- [18] Coursin D.B., Cihla H.P. 1988. *Am. Rev. Respir. Dis.* **138**. 1471–1479.
- [19] Deneke S.M., Fanburg B.L. 1989. *Am. J. Physiol.* **1989**. **257**. L163–L173.
- [20] Eigel W.N., Butler J.E., Ernstrom C.A., Farrel H.M., Harwalkar V.R., Jennes R., Whitney R. 1984. *J. Dairy Sci.* **67**. 1599–1631. **19**
- [21] Fidelus R. K., Tsan M.F. 1986. *Cell. Immunol.* **97**. 155–163.

- [22] Hirayama T. 1966. Abstr. 9th Int. Cancer Congress. Tokyo. Japan. 713.
- [23] Jacquet J., Huynh C.H., Saint S. 1968. C.R. Hbd. Seanc. Acad. Agric. de France. 54. 112–120.
- [24] IARC International Microecology Group. 1977. Lancet, ii, 207–211.
- [25] Kaplowitz N. 1980. *Am. J. Physiol.* 239. G439–G444.
- [26] Koob M., Dekant W. 1991. *Chem-Biol Int.* 77. 107–136.
- [27] Meister A. 1988. *J. Biol. Chem.* 263. 17205–17208.
- [28] Mettlin C.J., Schoenfeld E.R., Natarajan N. 1990. *Nutr. Cancer.* 13. 89–99.
- [29] Michiels C., Remacle J. 1988. *Eur. J. Biochem.* 177. 411–435.
- [30] Moor C.V., 1985. *J. Dairy Sci.* 68. 2773–2781.
- [31] Naqui A., Chance B. 1986. *Ann. Rev. Biochem.* 55. 137–166.
- [32] Nutter R.L., Gridley D.S., Kettering J.D., Andres M.I., Aprecio R.M., Slater J.M. 1983. *Cancer Lett.* 18. 49–62.
- [33] Papenburg R., Bounous G., Fleiszer D., Gold P. 1990. *Tumor Biol.* 11. 129–136.
- [34] Pour P., Mour V., Althoff J., Cardesa T., Kmoch N., 1976. *J. Natl. Cancer Inst.* 56. 963–974.
- [35] Pour P., Mohr V., Althoff J., Cardesa A. and Kmoch N. 1976. *J. Natl. Cancer Inst.* 56. 949–961.
- [36] Pour P. Mohr V., Cardesa A., Althoff J. and Kmoch N. 1976. *J. Natl. Cancer Inst.* 56. 937–948.
- [37] Reddy G.V., Friend B.A., Shahani K.M. and Farmer R.E. 1983. *Food Protect.* 46. 8–11.
- [38] Sies H. 1989. *Naturwissenschaften.* 76. 57–64.
- [39] Spitz D.R., Sullivan S.J., Malcolm R.R., Roberts R.J. 1991. *Free Radical Biol. Med.* 11. 415–423.
- [40] Stein H.J., Oosthuizen M.M.J., Hinder R.A., Lamprechts H. 1991. *J. Surg. Res.* 50. 398–402.
- [41] Swaisgood M.E. 1985. In Food Chemistry p. 796. Editor: O.R. Fennema. Marcel Dekker.
- [42] Szpendowski J., 1991. Acta Acad. Agricult. Techn. Olst., 23.
- [43] Tsuru S., Shinomiya N., Taniguchi M., Shimazaki H., Tanigawa K. and Nomoto K. 1988. *J. Clin Lab. Immunol.* 25. 177–183.
- [44] Uhlig S., Wendel A. 1992. *Life Sci.* 51. 1083–1094.
- [45] Walstra P., Jennes P. 1984. Dairy Chemistry and Physics p. 106. Editor: J. Nitork. Wiley