

Onesnažila v zraku, vodi in hrani, oksidativni stres in antioksidanti

Pollutants in air, water and food, oxidative stress and antioxidants

Uroš **GLAVAN**, Rok **FINK**, Nevenka **FERFILA**,
Borut **POLJŠAK**, Gregor **JEREB***

POVZETEK

Prosti radikali oz. reaktivne kisikove zvrsti (RKZ) endogenega izvora so stranski produkt oksidativne fosforilacije, kjer se energija iz hrane in kisik pretvarjata v ogljikov dioksid, vodo in energijo. V mitohondrijih poteka redukcija molekule kisika v vodo v verigi prenosa štirih elektronov. Ta proces ni idealen, ker med procesom elektronskega verižnega transporta pri oksidativni fosforilaciji iz mitohondrijev "uhajajo" stranski produkti v citosol. Na ta proces žal nimamo vpliva. Drugi vzrok izpostavljenosti organizma RKZ pa je okolje v katerem živimo. Neprestano smo izpostavljeni oksidantom iz okolja, kot so: ozon, dušikovi oksidi, ionizirajoče in UV- sevanje, pesticidi, alkoholi, stranski produkti dezinfekcije vode s klorom, tobačni dim, itd. Na eksogeno izpostavljenost RKZ imamo delni vpliv: (i) lahko se umaknemo v okolje, kjer je manjša koncentracija okoljskih onesnažil, (ii) zaščitimo se lahko s povečanim vnosom antioksidantov. V prispevku bomo predstavili ali se je smiselno z antioksidanti zaščititi pred tistimi okoljskimi onesnažili, ki vplivajo na povečan oksidativni stres organizma.

Ključne besede: Reaktivne kisikove zvrsti, okoljska onesnažila, antioksidanti

ABSTRACT

Free radicals and other reactive oxygen species (ROS) are mainly formed endogenously during oxidative phosphorylation inside our cells. During this process, energy in the form of ATP is obtained from ingested food. Compounds from the food react with oxygen and carbon dioxide, water and energy are released. More precisely, each molecule of oxygen is reduced in 4 step reaction into water. However, the mentioned reaction is not 100 % efficient due to partial reduction of oxygen which leads to the formation of ROS. Due to their reactivity ROS molecules cause damage to the cell macromolecules. Unfortunately, there is little we can do regarding the formation of ROS from the endogenous source. The second source of ROS-causing damage to human cells originates from the environment we are living in. We are constantly exposed to diverse oxidizing products like: ozone, nitrogen oxides, ionizing and non-ionizing radiation (e.g., UV-radiation), various pesticides, alcohol, disinfection by-products, cigarette smoke, etc. In the case of exogenous ROS exposure we have partial influence:

Received: 2. 10. 2014

Accepted: 5. 11. 2014

Univerza v Ljubljani,
Zdravstvena fakulteta,
Oddelek za sanitarno inženirstvo,
Zdravstvena pot 5, 1000 Ljubljana,
Slovenija

* *Corresponding author*

mag. Gregor Jereb
Univerza v Ljubljani,
Zdravstvena fakulteta,
Oddelek za sanitarno inženirstvo,
Zdravstvena pot 5, 1000 Ljubljana,
Slovenija
gregor.jereb@zf.uni-lj.si

we can either move to the environment with less ROS-sources or we can protect ourselves with ingestion of antioxidants. In the article, data will be discussed, whether it is reasonable to increase our defense against environmentally-induced oxidative stress with antioxidants or not.

Key words: reactive oxygen species, environmental pollutants, antioxidants

UVOD

Ljudje smo neprestano izpostavljeni škodljivim vplivom iz okolja. Onesnažila najdemo tako v zraku, vodi in hrani, v našem okolju pa se pojavljajo bodisi kot naravne kemikalije iz okolja, večkrat pa kot posledica (namernih in nenamernih) izpustov v okolje in namenske rabe različnih spojin v tehnoloških procesih. V pitno vodo in hrano tako nemalokrat vnašamo različne kemikalije predvsem z namenom zadostiti tehnološkemu postopku in/ali varovanju opreme in naprav (nižanje stroškov pri vzdrževanju in obnovi naprav), ne pa tudi potencialnega tveganja za zdravje.

Zdravo okolje brez oksidantov in prostih radikalov je predpogoj za naše zdravje. Skoraj vsa okoljska onesnažila (ozon, dušikovi oksidi, žvepovi oksidi, pesticidi, klor, cigaretni dim itd.) so hkrati močni oksidanti [1]. V naše telo vstopajo z uživanjem hrane, z vdihavanjem in preko kože. V našem telesu sprožajo reakcije oksidacije, kar poškoduje naše celice in pospešuje procese staranja. Na področju zdravstvene ekologije se intenzivno preučuje vloga okoljskih onesnažil (npr., ozon, dušikovi oksidi, UV in radioaktivno sevanje, CCl_4 , bromoform, benzen, smog, cigaretni dim, nekateri pesticidi), ki s povzročanjem oksidativnega stresa povzročajo škodo na celičnih komponentah v različnem obsegu, v odvisnosti od ekstrinzičnih in intrinzičnih faktorjev [2].

REAKTIVNE KISIŠKOVE ZVRSTI

Izraz reaktivne kisikove zvrsti zajema molekule kisika v različnih redukcijskih in/ali vzbujenih stanjih in spojine kisika z vodikom, klorom in dušikom [3]. Primarne reaktivne kisikove zvrsti, kamor sodijo superoksidni anion, vodikov peroksid, hidroksilni radiakal in singletni kisik, reagirajo s celičnimi makromolekulami (lipidi, proteini, DNK) in tako nastanejo sekundarne kisikove zvrsti (hidroperoksidi, alkoksilni in peroksilni radikali, epoksidi ali aldehidi), ki povzročijo še dodatne poškodbe celičnih organelov (mitohondriji, jedro), celičnih membran in encimov [3, 4].

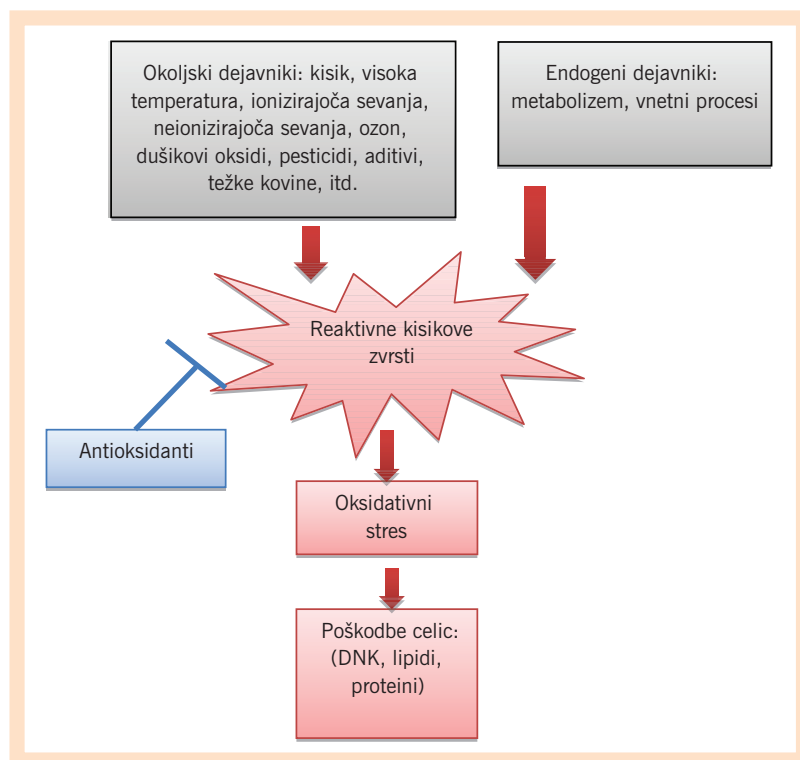
Tabela 1: Najpogostejši kisikovi radikali in njihova življenjska doba

Prosti radikal	Ime	Življenjska doba (37°C)
HO^\cdot	Hidroksilni radikal	1 nanosekunda
HO_2^\cdot	Hidroperoksilni radikal	nestabilen
RO^\cdot	Alkoksilni radikal	1 mikrosekunda
ROO^\cdot	Peroksilni radikal	7 sekund
NO^\cdot	Dušikov oksidni radikal	1^{-10} sekund
$^1\text{O}_2$	Singletni kisik	1 mikrosekunda

Povzeto po Poljšak in sod. [2]

OKSIDATIVNI STRES

Ko reaktivnih kisikovih zvrsti (v nadaljevanju RKZ) nastane več, kot jih lahko antioksidanti nevtralizirajo, govorimo o stanju oksidativnega stresa, ki se kaže kot oksidativne poškodbe DNK, lipidov in proteinov v celicah (shema 1). Škoda, nastala v celicah zaradi delovanja RKZ se kopiči in z leti lahko privede do nastanka degenerativnih starostnih bolezni, kot so rak, bolezni srca in ožilja, upad imunskega sistema, disfunkcije možganov in staranje organizma. Biomedicinska literatura navaja številne korelacije med reaktivnimi kisikovimi zvrstmi in etiologijo preko 100 bolezenskih stanj [5].



Shema 1:

Nastanek RKZ, nastanek oksidativnih poškodb in potencialna obramba z antioksidanti

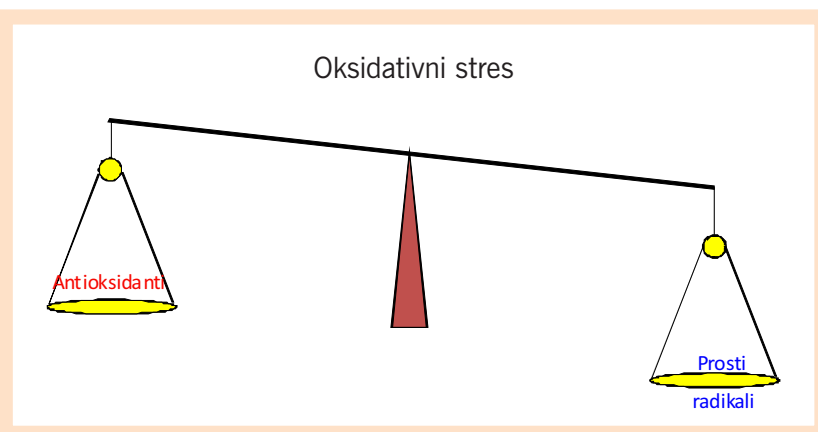
ANTIOKSIDATIVNI OBRAMBNI SISTEMI

Ljudje in ostali aerobni organizmi lahko živimo ob prisotnosti kisika, ker smo tekom evolucije razvili encimske in neencimske antioksidativne obrambne sisteme za nevtralizacijo RKZ. Antioksidant je vsaka snov, ki je sposobna že v nizki koncentraciji (v primerjavi s koncentracijo substrata, ki je tarča radikalov) zadržati ali zavreti oksidacijo substrata [5]. Antioksidanti zaščitijo celico pred RKZ na več načinov, kot so vezava kovinskih ionov, encimska odstranitev oksidantov ali pa sami neposredno reagirajo z RKZ [6]. Antioksidativne obrambne sisteme tako razdelimo na primarne in sekundarne. Primarni sistemi preprečijo iniciacijske in/ali propagacijske reakcije radikalov/oksidantov s celičnimi komponentami. Sem se uvrščajo tako encimski (katalaza, superoksid dismutaza, glutation peroksidaza, itd.) kot tudi neencimski (glutation, tioredoksin, itd.) obrambni sistemi. Ti obrambni sistemi so večinoma endogenega izvora in jih celice lahko sintetizirajo same. Eksogene antioksidante zaužijemo s hrano. Mednje sodijo tokoferoli in karotenoidi, ki ščitijo celične membrane, askorbinska kislina, ki ščiti citosol, in ostali.

RKZ v celicah igrajo tudi pozitivno vlogo. Sodelujejo pri signalnih poteh in v obrambi pred patogenimi mikroorganizmi. Ravnotežje med oksidanti in antioksidanti je pri normalnih pogojih v celicah nagnjeno v stran nastajanja RKZ, tako v celicah neprestano nastaja nizka raven škode. Ta ustvari potrebo po sekundarnih obrambnih sistemih, ki prevzamejo vlogo, ko raven oksidantov naraste do take mere, da primarni sistemi niso več zadostni in nastopijo poškodbe celičnih komponent. Med sekundarne obrambne sisteme štejemo lipolitične encime, proteolitične sisteme in popravljalne sisteme DNK [7].

Shema 2:

Porušeno ravnotežje med deležem antioksidantov in prostih radikalov v celici privede do oksidativnega stresa.



IZPOSTAVLJENOST OKOLJSKIM ONESNAŽILOM KOT VZROK ZA NASTANEK OKSIDATIVNEGA STRESA

Okoljska onesnažila povzročajo različne toksične učinke na celičnem nivoju. Oksidativni stres, ki vodi v oksidativne poškodbe celične DNK, lipidov in proteinov ter sproži endogeni antioksidativni obrambni celični mehanizem, je skupni imenovalec toksičnega delovanja velike skupine okoljskih onesnažil [8]. Večina onesnažil v zraku deluje škodljivo tako, da generira nastajanje prostih radikalov in s tem povečuje oksidativni stres [9, 10]. Naj naštejemo le nekaj najpogostejših: žveplovi oksidi, dušikovi oksidi, izpušni plini iz avtomobilov, prašni delci, ozon, cigaretni dim, pa tudi pesticidi (aldrin, dieldrin, organofosfati itd.) in sredstva, ki se uporabljajo pri dezinfekciji vode [11].

ONESNAŽILA V ZRAKU

Onesnažila, ki so prisotna v vdihanem zraku povzročajo številne neugodne vplive na zdravje, npr. draženje zgornjih in spodnjih dihal, pojav kroničnih respiratornih obolenj, pljučnega raka, povečajo incidenco srčno-žilnih obolenj, itd [11]. Številne študije povezujejo povečan oksidativni stres povzročen zaradi izpostavljenosti onesnažilom iz zraku in blagodejni učinek specifičnega antioksidanta [12, 13, 14, 15].

Kisik

Kisik je nedvomno nujno potrebna molekula za obstoj aerobnega življenja, vendar je tudi glavni "krivec" za nastanek reaktivnih kisikovih zvrsti, predvsem pri endogenem metabolizmu znotraj celice. Prosti radikali so stranski produkt oksidativne fosforilacije (elektronska transportna veri-

ga), kjer se energija iz hrane in kisik pretvarjata v ogljikov dioksid, vodo in energijo. Še prej se energija iz hrane pretvori v proste elektrone. Elektroni se v elektronski transportni verigi spajajo s kisikom, pri čemer nastaja voda. Vendar ta reakcija ne poteka 100 % učinkovito. Ocenjuje se, da se 97 % kisika reducira v vodo, 3 % pa sodelujejo v nastanku kisikovih prostih radikalov. Prenos elektronov iz hrane na kisik je pravzaprav glavni razlog, da kisik potrebujemo. Ob medsebojnem podajanju sproščenih elektronov jih nekaj redno ubeži kontroli; le-te ujamejo molekule kisika, ki so zelo dober oksidant ("jemalec" elektronov). Tako se molekula kisika (O_2), obogatena z dodatnim elektronom, spremeni v prosti radikal, imenovan superoksidni anion ali superoksidni radikal ($O_2^{\cdot-}$). To je, kot bi lahko rekli, izvorni prosti radikal, saj se iz njega običajno razvije množica drugih, mnogo bolj nevarnih. Aerobni organizmi se nenehno soočajo s toksičnimi stranskimi učinki molekularnega kisika, t.i. RKZ. Človeška celica metabolizira na uro v povprečju 10^{12} molekul kisika, pri tem proizvede 3×10^4 molekul vodikovega peroksida [16]. Nastanek vodikovega peroksida in njegovih metabolitov povzroči 2×10^4 oksidativnih poškodb na molekulah DNK [17]. RKZ lahko zaradi svoje reaktivnosti poškodujejo vse celične komponente (lipide, proteine in DNK).

Kajenje

Svetovna zdravstvena organizacija ocenjuje, da tobak povzroči kar šest milijonov smrti letno. Kajenje je v obdobju 20. stoletja povzročilo sto milijonov prezgodnjih smrti [18]. Znanstveniki ocenjujejo, da cigareta vsebuje kar 4.000 različnih snovi [5]. Večina teh je strupenih in povzroča poškodbe na naših celicah. Naštejmo samo nekaj teh snovi: nikotin, ogljikov monoksid, acetaldehid, aceton, akrolein, benzen, benzo(a)piren, amonijak, kadmij, krom, nikelj, formaldehid, vodikov cianid, svinec, dušikovi oksidi, stiren, toluen, polonij, vinilklorid, katran. Katran vsebuje številne strupene snovi (policiklični aromatski ogljikovodiki, aromatični amini, nitrozamini). V cigaretnem dimu je tudi veliko rakotvornih (kancerogenih) snovi. Cigaretni dim aktivira nevtrofilce (prve vnetne celice, ki potujejo v vnetišče), ki povzročajo ali pospešujejo vnetne procese, s čimer aktivirajo tudi nastajanje prostih radikalov [19]. Med kajenjem nastaja veliko število prostih radikalov, prisotni so v cigaretnem dimu in katranu. En sam vdih cigaretnega dima vsebuje kar 10^{15} lebdečih prostih radikalov; dodatnih 10^{14} prostih radikalov ob enem samem vdihu v telo vstopa še s katranom [5]. Ker nas antioksidanti varujejo pred prostimi radikali tako, da jih nevtralizirajo in se sami ob tem porabijo, kadilcem kronično primanjkuje vitaminov A, C in E. Poleg tega kadilci običajno zaužijejo tudi manj sadja in zelenjave [20], še posebej tistega, bogatega z vitaminom C in karotenom [21]. Kadilci imajo tako bistveno več oksidativnih poškodb v svojih (ne le pljučnih) celicah in zmanjšan nivo eksogenih antioksidantov [22, 23, 24]. Že ena sama pokajena cigareta zmanjša nivo vitamina C [25]. Že eno leto po prenehanju kajenja se vrednosti antioksidantov normalizirajo [24]. Številne študije tako nakazujejo na protektivno delovanje različnih antioksidantov kot lovilcev prostih radikalov, ki nastajajo v cigaretnem dimu [20, 22, 24, 25, 26, 27].

Dušikovi oksidi (NO_x)

V Evropi je kar 90 % mestnega prebivalstva izpostavljenega prekomernim vrednostim prašnih delcev, dušikovim oksidom (NO_x), ozonu (O₃) in benzenu v zunanjem zraku. Dušikovi oksidi so skupina onesnaževalcev zraka, ki nastajajo pri izgorevanju goriv in pri reakcijah v ozračju po izgorevanju. S skupnim imenom jih imenujemo NO_x. Onesnaženi mestni zrak je najbolj pomemben izvor dušikovih oksidov. Koncentracija v mestih običajno narašča v dopoldanskih urah, ko je količina avtomobilskih izpuhov največja, sončna svetloba pa omogoči fotokemične reakcije. Količine dušikovih oksidov so v mestnem zraku stokrat večje kakor v zraku na podeželju. Tudi onesnaženje v poslopih je pomemben izvor dušikovih oksidov. Poslopja brez prezračevalnih naprav, ki jih ogrevamo s pečmi na kurilno olje, imajo največje koncentracije NO_x. Zrak v poslopih je bolj onesnažen v zimskih kakor v poletnih mesecih, ker pozimi prostore ogrevamo in manj zračimo. Električne centrale, tovarne in prometna sredstva, ki delujejo na osnovi izgorevanja fosilnih goriv, so glavni viri dušikovih oksidov.

Številne študije dokazujejo protektivno delovanje antioksidantov pred oksidativnim stresom povzročenim zaradi izpostavljenosti NO_x [28, 29, 30].

Ozon

Tudi ozon je zelo reaktiven plin. Njegova molekula je zgrajena iz treh atomov kisika (O₃). Zaradi dodatnega atoma v primerjavi z najbolj pogostim dvoatomskim kisikom je manj stabilen in zato hitreje reagira z drugimi snovmi in jih oksidira. Ozon prizadene predvsem dihala, novejša raziskava pa so pokazale tudi njegovo škodljivo delovanje na obtočila (motnje srčnega ritma, pojav ateroskleroze), ki so posledica njegovih sistemskih učinkov [31, 32, 33]. Ozon akutno poveča obolevnost. Potrjena je tudi povezava med onesnaženostjo zraka z ozonom in umrljivostjo. V zraku se poleti poveča koncentracija ozona. Pri nas je najbolj onesnaženo območje Primorska, in sicer tudi zaradi vdora prekursorjev ozona iz Padske nižine. Sočasno vdihavanje ozona in kancerogenih izpustov iz dizelskih motorjev ali kajenje potencira učinek oksidativnega stresa [34, 35].

Prašni delci

Eden od mehanizmov kvarnega delovanja prašnih delcev PM₁₀, PM_{2,5} in UFP (ultrafinih delcev) predstavlja oksidativni stres, ki povzroča lokalno in sistemsko vnetje telesa [1]. Manjši delci namreč lažje prodirajo vse do alveol in skozi kapilare v krvni obtok [36] ter nemoteno potujejo po telesu, zato povzročajo nastanek vnetnih reakcij in oksidativni stres [37, 38] v posameznih organih in celicah.

Dolgotrajna izpostavljenost onesnaženemu zraku z ozonom, dušikovimi oksidi, delci in žveplovimi oksidi je povezana s povečano umrljivost zaradi srčno-žilnih obolenj. Ocenjuje se, da v Evropi za posledicami izpostavljenosti onesnaženemu zraku, katerega vzrok je promet, letno umre od 40.000 do 130.000 ljudi. Najboljši ukrep za znižanje izpostavljenosti onesnaževalom v zraku je izogibanje prometnim cestam in zapiranje

oken v poletnem času, ko je koncentracija ozona najvišja. Tudi prašni delci povečujejo oksidativni stres v organizmu in študije dokazujejo, da bi se ta lahko znižal tudi z uporabo antioksidantov [39].

SEVANJA

Ionizirna kot tudi neionizirna sevanja ob stiku z našimi celicami generirajo proste radikale in pospešujejo nastanek oksidativnega stresa [40, 41, 42, 43]. Sevanje je oblika energije, ki se kot elektromagnetno valovanje ali v obliki delcev širi skozi prostor in snov. Sevanje, ki ga določata frekvenca ter pripadajoča energija, je prisotno povsod v našem okolju ter človeka spremlja že ves čas njegovega razvoja [44]. Človek se danes ne more izogniti nizkofrekvenčnim elektromagnetnim poljem, saj so prisotna povsod, kjer po daljnovodu ali v električnih napravah teče izmenični tok. Električna magnetna polja vdirajo v telo in pri tem inducirajo drobne električne tokove ter v celicah povzročajo oksidativne spremembe. Nekatere epidemiološke raziskave nakazujejo, da je incidenca raka večja pri otrocih, ki živijo blizu daljnovodov z visoko napetostjo [1]. Najpogostejši izvori elektromagnetnih sevanj so električno omrežje (nizko-, srednje- in visokonapetostni vodi, povezani s transformatorji), električni motorji, gospodinjske naprave, industrijske naprave za obdelavo različnih materialov, računalniki, telekomunikacijske naprave, sistem mobilne telefonije, radijski in televizijski oddajniki, medicinske naprave in radarji [44]. Izsledki raziskav glede škodljivosti elektromagnetnih sevanj si nasprotujejo in v nekaterih primerih jih težko pojasnimo zaradi pomanjkljivosti raziskovalnih metod in statističnih obdelav. Zato mora vsakdo iz previdnostnega načela poskrbeti, da ni dalj časa izpostavljen elektromagnetnim valovanjem daljnovodov z visoko napetostjo, velikih motorjev, električnih blazin, da omeji uporabo mobilnih telefonov in izpostavljenost električnim gospodinjskim aparatom [44].

Prav tako se ne moremo v celoti izogniti radioaktivnemu ionizirajočemu sevanju. Le-to je lahko naravnega izvora (sevanje sonca, sevanje iz vesolja, radon v zemlji) ali iz umetnih virov (atomske bombe, medicinske naprave za diagnostiko, radioaktivni odpadki). Radioaktivnost je naravni pojav in je v našem okolju prisoten povsod. Živi organizmi so nenehno izpostavljeni ionizirnemu sevanju iz naravnih virov, kot so kozmični žarki in radionuklidi, prisotni v zraku in zemlji. Poizkusi z jedrskim orožjem so povzročili sprostitve skoraj 10^{18} bekerelov radioaktivnega cezija v ozračje [44]. Nesreča v Černobilu leta 1986 je povzročila približno 4×10^{16} becquerelov sevanja zaradi Cs^{137} in Cs^{134} [44]. Ionizirno sevanje ima, ne glede na svoj izvor, neposreden škodljiv vpliv na celice kot najmanjšo biološko enoto. Radioaktivno sevanje škodljivo deluje na naše celice zato, ker razbije molekulo vode na dva hidroksilna radikala. Vemo pa, da naše telo vsebuje kar 70 % vode. Sevanje lahko zaradi okvare genetskega materiala (DNK), ki ga vsebujejo telesne celice, povzroči raka in poškodbe na plodu [45].

Ionizirna sevanja dokazano povečujejo oksidativne poškodbe DNK, lipidov in proteinov [46, 47, 48]. Številni antioksidanti lahko ublažijo oksidativne poškodbe povzročene zaradi izpostavljenosti sevanjem: npr.,

ebesen, N-acetilcistein, kvercetin in ekstrakti zelenega čaja, kurkumina in številni drugi [11 ter reference iz tega članka]. Antioksidanti, kot so hormon melatonin, kofeinska kislina, Ginkgo biloba, vitamin C in E, ublažijo poškodbe celic, povzročene zaradi uporabe sevanj mobilnih telefonov [11 in reference iz tega članka].

VODA

Voda je vir življenja, nemalokrat jo opisujemo kot eliksir mladosti. Na žalost pa je voda, ki jo pijemo v razvitem svetu, navadno vse prej kot eliksir mladosti. Pitna voda je različne kakovosti, problem predstavlja tako kemijsko kot mikrobiološko onesnaženje. Omeniti je potrebno klor, ki ga človek v pitno vodo namenoma dodaja zaradi njegove sposobnosti uničevanja mikroorganizmov. Klor je močan oksidant, ki poveča oksidacijsko redukcijsko kapaciteto vode in uničuje njen antioksidativni potencial [1].

Dezinfekcija pitnih vod se izvaja za preprečevanje hidričnih infekcij. Kloriranje pitne vode pa zvišuje njen redukcijski potencial (znižuje njen antioksidativni potencial). Tako uporabniki take vode v svoje telo vnašajo manj antioksidativne zaščite in več oksidiranih produktov. Povečevanje koncentracij klora ali tudi ozona ob prisotnosti organskih snovi v vodi povzroči tudi tvorbo stranskih produktov dezinfekcije, ki so lahko tudi kancerogeni. Toda že sam klor kot močan oksidant lahko vpliva na nivo endogenih antioksidantov, ki telo ščitijo pred prostimi radikali. Kaj lahko storimo? Ponujata se dva pristopa: uporaba alternativnih tehnik dezinfekcije (npr. pri uporabi klorovega dioksida (ClO_2) nastaja manj trihalometanov kot pri dezinfekciji s plinskim klorom) in informiranje potrošnika, ki uporablja klorirano pitno vodo, da poveča vnos antioksidantov (s povečanim uživanjem svežega sadja in zelenjave vsaj pet obrokov dnevno). Sadje in zelenjava ter oreški in semena so najpomembnejši vir ekso-genih antioksidantov. Na ta način lahko uravnesimo oksidacijo, ki bi jo lahko v našem telesu povzročil prosti klor, ki ga vnašamo s pitno vodo. Številne študije navajajo, da antioksidanti, kot so melatonin, vitamin C in E, ekstrakti črnega in zelenega čaja, N-acetilcistein, kurkumina, lutein, itd., zagotavljajo zaščito pred oksidativnimi posledicami povzročenimi zaradi izpostavljanja stranskim produktom dezinfekcije vode s klorom in njegovimi preparati [11]. Je pa kljub temu potrebno izpostaviti, da je tveganje, ki ga predstavljajo stranski produkti dezinfekcije in sama oksidacija s klorom, še vedno manjše od tveganja, ki ga predstavljajo potencialne hidrične epidemije, do katerih bi lahko prišlo, če dezinfekcije pitne vode ne bi izvajali. Verjetnost, ki jo predstavlja uživanje klorirane pitne vode za nastanek raka, je zelo majhna. Opustitev kloriranja torej ne bi odtehtala nevarnosti, ki jo lahko mikrobiološko onesnažena voda predstavlja za zdravje prebivalcev.

FOSFOR V PITNI VODI

Poleg ostankov različnih koagulantov ali flokulantov, ki so posledica procesa priprave pitne vode na samem vodnem viru in dezinfekcijskih sredstev, v vodi lahko najdemo še mnoga druga onesnažila, ki so posledica

onesnaževanja okolja in s tem vodnega vira. Dodatno pa se kemikalije v pitno vodo dodaja tudi v internem, torej hišnem vodovodnem omrežju, z namenom zaščite naprav, grelcev in cevi (eden od razlogov je preprečevanje nabiranja kotlovcia). Upravljalci internih vodovodnih omrežij se nemalokrat poslužujejo kemičnega mehčanja z uporabo različnih pripravkov na bazi fosfatov. Kljub jasnim določilom zakonodaje [49], da se vodi v fazi njene priprave ne sme dodajati nobenih drugih snovi, razen snovi, ki so potrebne za njeno pripravo in za zagotavljanje skladnosti in zdravstvene ustreznosti (mehčanje vode v pravilniku ni opredeljeno). Ti pripravki žal niso pod zdravstvenim nadzorom in se jih ne nadzira. S kemičnim mehčanjem torej dodajamo v živilo (vodo) kemikalije, za katere ne spremljamo njihove koncentracije, zanje nimamo izdelane ocene tveganja in hkrati ne poznamo vseh morebitnih primesi (osnovnim substancam) in njihovega vpliva na zdravje. Prav tako tudi uporabniki v večini primerov ne vedo, da se njihova voda kemično mehča.

FOSFOR V ŽIVILIH

Fosfor je sicer kot aditiv v živilih dovoljen v številnih prehrabnih proizvodih. S strani skupine strokovnjakov je bil leta 1982 določen najvišji dopustni dnevni vnos (MTDI – maximum tolerable daily intake) 70 mg/kg telesne teže [50, 51, 52]. Kljub temu pa dnevno varnega odmerka (ADI – acceptable daily intake) ni bilo moč določiti saj je fosfor (predvsem v obliki fosfata) osnovno hranilo in neizogibna sestavina hrane. Na podlagi priporočenega dopustnega dnevnega vnosa so določene tudi omejitve za količino fosfatov v posameznih živilskih izdelkih [51]. Žal pa so te vrednosti za posamezne živilske izdelke precej visoke, saj ne vključujejo kumulativnega učinka dnevnega vnosa preko različnih izdelkov in živil.

V zadnjih nekaj desetletjih se je vnos fosfatov preko različnih živil zelo povečal, predvsem na račun uporabe fosfatov kot aditivov za živila v različnih prehrabnih izdelkih [53]. Povprečni dnevni vnos fosforja pri odraslih v evropskih državah se giblje med 1017 in 1422 mg [54], v ZDA pa med 1030 in 1727 mg [55], kar je znatno nad priporočljivim dnevnim vnosom, ki znaša do 700 mg [55, 56].

Številne znanstvene študije povezujejo povečan vnos fosfatov z različnimi zdravstvenimi težavami [57, 58], predvsem z vplivom na kalcifikacijo vaskularnega aparata [59, 60, 61], smrtnost zaradi srčno žilnih bolezni [60, 62] in vpliv na metabolizem glukoze in oksidativni stres in vivo in in vitro [63], kar vpliva na procese staranja celic in organizma.

Zaradi vsega naštetega je Evropska agencija za hrano (EFSA) kot eno izmed prioritet do leta 2018 izpostavila tudi ponovno oceno tveganja za fosfate, ki se uporabljajo v aditivih za živila [64].

PESTICIDI

Tudi pesticidi, kot so lindan, malation in permetrin, povzročajo oksidativni stres in pospešujejo oksidacijo naših celic [1]. Ocenjuje se, da v naše telo letno vnesemo nekaj kilogramov pesticidov. Naj izpostavimo samo herbicid parakvat, ki se uporablja za uničevanje plevela. Le-ta de-

luje tako, da reagira s kisikom v zraku in sproža nastanek prostih radikalov, ki uničujejo zelene dele rastlin [1]. V ZDA so leta 2005 analizirali prisotnost pesticidov v sadju in zelenjavi. Ugotovili so, da so pesticidi prisotni v kar 61 % vsega sadja in zelenjave [65]. Študije so dokazale, da lahko z antioksidanti, kot so N-acetil cistein, vitamin A, C, E, ekstrakti zelenega čaja, selen, glutation, melatonin, cink, resveratrol, kvercetin in drugimi vplivamo na blaženje škodljivih učinkov pesticidov [11].

SPLOŠNI UKREPI ZA ZMANJŠANJE OKSIDATIVNEGA STRESA

Ocenjuje se, da lahko z ustreznim življenjskim slogom in prehrano vplivamo na zmanjšanje oksidativnega stresa. Ukrepamo lahko na dveh nivojih: 1) ukrepi za zmanjšanje izpostavljenosti okoljskim onesnažilom. Kaj lahko storimo? Preselimo se lahko v manj obremenjeno okolje, šport in rekreacijo na prostem izvajamo izven mest, kjer je višja koncentracija onesnažil v zraku. Pred ozonom se obvarujemo tako, da stanovanja prezračimo zjutraj, nato pa okna zapremo, vse do večernih ur. Pomemben je tudi zdrav način prehranjevanja s čim manj predelanih in predpripravljenih jedi. Našteti je samo nekaj primerov preventive pred izpostavljenostjo okoljskim onesnažilom. 2) drugi učinkovit ukrep je povečan vnos antioksidantov. Veliko študij ugotavlja, da lahko povečan vnos antioksidantov štiti pred neželenimi učinki okoljskih onesnažil (tabela 2).

Tabela 2:

Prikaz zaščitnega delovanja različnih antioksidantov na oksidativni stres povzročen z okoljskimi onesnažili

Antioksidant	Vir oksidativnega stresa	Raziskava
Vitamin C, B, beta karoten	Ozon (O ₃)	[9, 66, 67, 68, 69, 70, 71]
Vitamin C, E	Dušikov dioksid (SO ₂)	[72, 73]
Vitamin C, kapusnice in zeleni čaj	Cigaretni dim	[74, 75, 76, 77]
Vitamin C, E, likopen	Dušikovi oksidi (NO _x)	[28, 29, 30, 78, 79]
Zeleni čaj	Azbest	[39]
Melatonin, vitamin E	Ionizirajoče sevanje	[80, 81]
Alfa tokoferol, Ginkgo biloba, Vitamin C, E	Ne ionizirajoče sevanje	[82, 83, 84]
Selen	Biperidinski pesticidi	[85, 86]
Vitamin A, C, E, Cink	Organofosforni insekticidi	[87, 88, 89]
N-acetil-L-cisteine	DDT	[90]
Vitamin C, E, Resveratrol	Dioksini in furani	[91, 92]
Melatonin, olje vrtnice	Formaldehid	[93, 94]
Vitamin E, ekstrakt robide, propolis, črni in zelen čaj	Ogljikov tetraklorid	[95, 96, 97, 98]
Zelen čaj, melatonin, vitamin C	Stranski produkti pri dezinfekciji vode	[99, 100, 101]

SINTETIČNI ALI NARAVNI ANTIOKSIDANTI?

Rezultati bazičnih raziskav ugotavljajo pomembno vlogo vitaminov v patofiziologiji bolezni povezanih z oksidativnim stresom [102, 103] kot so ateroskleroza, hipertenzija, katarakta, revmatoidni artritis, maligna obolenja ter Parkinsonova in Alzheimerjeva bolezen [3, 4]. Vzporedno z bazičnimi raziskavami potekajo tudi epidemiološke raziskave, ki so ugotovile znižano pojavnost bolezni srca in ožilja ter raka pri osebah, ki so s

hrano zaužile večje količine vitaminov C, E in β -karotena. Pri teh osebah se je zvišala serumska raven omenjenih vitaminov [104, 105, 106]. Do sedaj je raziskovalcem uspelo dokazati znižano pojavnost raka ter bolezni srca in ožilja le pri ljudeh, ki zaužijejo dovolj veliko količino sadja in zelenjave, ne pa pri osebah, ki uživajo dopolnila vitaminov [107]. Raziskave potrjujejo, da je najbolje, če zaščitne snovi (antioksidanti in vitamini) izvirajo iz hrane [108]. Pozitivni učinki zaščitnih snovi, ki izvirajo iz hrane, so večji zaradi sinergističnega delovanja med posameznimi antioksidativnimi snovmi [108], prehransko vlaknino in sekundarnimi rastlinskimi snovmi v hrani, predvsem v zelenjavi in sadju. Uporaba sintetičnih vitaminskih dodatkov naj ne bo alternativa rednemu uživanju sadja in zelenjave. V sadju je več tisoč spojin, katerih vplivov na zdravje še ne poznamo. Zelo verjetno veliko antioksidantov še ni odkritih. Dosedanje študije tudi nakazujejo, da je kombinacija antioksidantov v sadju in zelenjavi praviloma boljše kot v prehranskih dodatkih, kar potencira njihovo obrambo pred prostimi radikali.

PRO-OKSIDATIVNO DELOVANJE ANTIOKSIDANTOV

Vloga redoks aktivnih kovinskih ionov

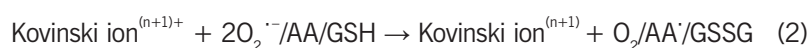
Mnogi kovinski ioni so nujno potrebni za normalne celične procese, v presežku pa imajo škodljiv učinek na celico. Bakrovi in železovi ioni, ki so esencialni za celico v številnih biokemijskih reakcijah so lahko tudi toksični v redoks reakcijah, kjer se tvorijo RKZ [2]. Začetni intermedii kisika (superoksidni anion, vodikov peroksid) so slabo reaktivni. Pretvorba manj reaktivnih intermediatov do visoko reaktivnih oblik potrebuje udeležbo kovinskih ionov. Oksidacijsko stanje in biorazpoložljivost redoks aktivnih kovinskih ionov sta ključni determinanti v njihovi sposobnosti udeležbe pri nastanku reaktivnih kisikovih zvrsti. Reducirane oblike redoks aktivnih kovinskih ionov sodelujejo v t.i. Fentonovi reakciji, kjer nastajajo hidroksilni radikali. Oksidirane oblike teh ionov pa reagirajo s superoksidnimi anioni (tudi z določenimi antioksidanti) v Haber-Weissovi reakciji, kjer nastanejo reducirane oblike kovinskih ionov, ki ponovno vstopajo v Fentonovo reakcijo [2].

Znano je, da se lahko antioksidativno delovanje antioksidantov (npr. vitamina C, E, β -karotena) ob prisotnosti redoks aktivnih kovinskih ionov spreobrne v pro-oksidativno delovanje [5] in lahko celo pospešuje proces staranja.

Fentonova reakcija:



Haber-Weissova reakcija:



Legenda:

AA – askorbinska kislina (vitamin C); AA $^\cdot$ – askorbilni radikal; GSH – reducirana oblika glutationa; GSSG – oksidirana oblika glutationa

Vsako povišanje v količini superoksidnega aniona, vodikovega peroksida ali redoks aktivnih kovinskih ionov vodi do nastanka hidroksilnih radikalov in posledično do celičnih poškodb in pospešenega procesa staranja.

RAZLAGA PRO-OKSIDATIVNEGA DELOVANJA ANTIOKSIDANTOV IN NASPROTUJOČIH SI REZULTATOV EPIDEMIOLOŠKIH ŠTUDIJ

Celice imajo lastne endogene antioksidativne obrambne sisteme (superoksid dizmutaza, katalaza, glutation, itd.), ki se inducirajo pri povečani produkciji reaktivnih kisikovih zvrsti. Jemanje dodatkov poveča redukcijski potencial v celicah, kar posledično prepreči indukcijo lastnih antioksidativnih sistemov, ki so zaradi lokalnega delovanja v celicah bolj učinkoviti. Umetno inducirani anti-oksidacijski celični potencial vpliva na signalne poti v celicah ter izzove povečano proliferacijo in prepreči apoptozo [107], kar lahko vpliva na promocijo in progresijo malignih bolezni. To bi lahko podkrepili s študijo o učinkih uživanja beta karotena [109], ki ugotovlja večjo pojavnost karcinoma pljuč pri osebah, ki so prejemale β -karoten v primerjavi z osebami, ki so prejemale placebo.

IZZIVI ZA PRIHODNOST

Številne študije navajajo, da bi lahko z uporabo antioksidantov preprečevali nastanek oksidativnega stresa. Vendar pa vse več raziskav dokazuje tudi nezaželene učinke antioksidantov, njihovo t.i. pro-oksidativno delovanje. Poleg tega multivitaminska dopolnila številne institucije, ki regulirajo to področje (npr. FDA-Food and Drug Administration, Urad za zdravila) klasificirajo kot nutrienste, zato niso deležni sistemskih bio-absorpcijskih in toksikoloških preizkusov pred široko uporabo na trgu, kot jih opravljajo na zdravilih. Evropska komisija ima skoraj desetletje v pripravi predlog regulative za področje vitaminskih in mineralnih dopolnil (VMD), ki niso regulirana s predpisi za področje zdravil, kar je s harmonizacijo zakonodaje prevzela tudi Slovenija. V Sloveniji področje vitaminskih in mineralnih dopolnil le delno ureja Pravilnik o razvrstitvi vitaminskih in mineralnih izdelkov za peroralno uporabo, ki so v farmacevtskih oblikah in so dostopni na tržišču kot zdravila. Vitaminska in mineralna dopolnila za peroralno uporabo, ki so v farmacevtskih oblikah, se štejejo za zdravila, če dnevni odmerki vitaminov, mineralov in oligoelementov, ki jih vsebujejo, presegajo določene vrednosti, navedene v tabelah pravilnika (Ur.l. RS, št. 83/2003). Neupoštevanje tega danes omogoča nekontrolirano uživanje tudi velikih odmerkov vitaminov in mineralov pri prebivalstvu. Naša raziskava o uporabi VMD [110] je pokazala, da se večina uporabnikov VMD pred zaužitjem ne posvetuje z zdravnikom ali farmacevtom. Največji izziv za znanost, ki se ukvarja s preučevanjem oksidativnega stresa, predstavljajo priporočene vrednosti za celokupen vnos antioksidantov. Te vrednosti trenutno še niso določene. Smiselno bi jih bilo določiti za različne skupine prebivalstva: moške, ženske, starejše, otroke, nosečnice, itd. Tudi metode, ki preučujejo oksidativni stres na ravni posameznika niso dovolj razvite. Načinov ugotavljanja oksidativnega stresa je veliko, vendar ima vsaka metoda svoje prednosti

in pomanjkljivosti. Pri nas v laboratoriju za preučevanje oksidativnega stresa lahko v kapljici krvi pomerimo celokupne antioksidante in proste radikale. Le obe meritvi nam pokažeta stanje oksidativnega stresa.

ZAKLJUČEK

Dejavnike, ki pripomorejo k nastanku oksidativnega stresa, lahko razdelimo na endogene (telesu lastne) in eksogene (dejavniki iz okolja). Med endogene spada predvsem tvorba prostih radikalov zaradi metabolizma, med eksogene pa pretirana izpostavljenost dejavnikom okolja: sončnemu sevanju, kajenje, prekomerno uživanje alkohola, prevelika izpostavljenost pesticidom in drugim onesnažilom. Najučinkovitejši ukrep za ohranitev zdravja in upočasnitev staranja bi bilo znižanje izpostavljenosti tem onesnažilom. Ker pa to vselej ni mogoče, še posebej ne v velikih mestih, lahko uporabljamo druge obrambne mehanizme, eden izmed njih je antioksidativna obramba. Številni antioksidanti lahko deloma pomagajo pri preprečevanju negativnih vplivov okoljskih onesnaževal na zdravje [11]. Tudi pristop k izdelavi ocene tveganja za posamezne kemikalije je potrebno revidirati in v okviru izdelave ocene tveganja za zdravje vključiti medsebojne vplive med različnimi polutanti kot tudi druge posredne učinke, možne interakcije (sinergija, antagonizem, multipliciranje), kot tudi kumulativni učinek dnevnih vnosov preko različnih virov. Tradicionalna ocena tveganja (in tudi toksikološki testi, na katerih ocena tveganja temelji), pa je narejena za čiste kemikalije, prezrti pa so zgoraj navedeni dejavniki.

Še nekaj nasvetov o tem, kaj lahko storimo, da zmanjšamo izpostavljenost škodljivim snovem iz okolja:

- Sadje in zelenjavo dobro umijte, zavržite zunanje liste solate, zelja.
- Ne kupujte sadja na stojnici ob prometni cesti.
- Bodite pozorni na izvor rib zaradi obremenjenosti s težkimi kovinami.
- Izogibajte se strupom, ki jih prostovoljno vnašate v telo: alkohol, cigaretni dim, kava, ...
- Kupujte čim manj živil v aluminijasti embalaži in ne uporabljajte aluminijastih loncev in posode.
- Poskrbite, da bo v vaši hrani dovolj Ca, Zn in vitamina C, ki so antagonisti težkih kovin.
- V stanovanju imejte čim manj pohištva iz umetnih snovi (vsebnost formaldehida) ter električnih naprav (proizvajajo neionizirno sevanje, prepojene so z zaviralci gorenja).
- Redno zračite stanovanje in iz njega odstranjujte prah, ker se veliko kemikalij kopiči ravno v njem.

ZAHVALA

Del prispevka (vpliv fosfatov) je nastal v okviru raziskave, podprte s strani Evropskega socialnega sklada (ESS) in Ministrstva za šolstvo, znanost in šport RS, za kar se jim zahvaljujemo.

LITERATURA

- [1] Poljšak B, Glavan U. Environmental pollutants - induced oxidative stress: a role for antioxidants in health promotion and aging prevention. New York: Nova Science. 2013; VIII, 352 str.
- [2] Poljšak B, Jamnik P, Schara MV, Raspor P. Določanje znotraj celične oksidacije z in vivo in in vitro metodami = Detection of intracellular oxidation with in vitro and in vivo methods. v: Glavič P (ur.), Brodnjak-Vončina D (ur.). Slovenski kemijski dnevi 2005, Maribor, 22. in 23. september 2005. Maribor: FKKT. 2005; 1-13.
- [3] Brown SE, Ferrante RJ, Flint Beal M. Oxidative stress in Huntington disease. *Brain Pathology*. 1999; 9: 147-63.
- [4] Love S in Jenner P. Oxidative stress in neurological disease. *Brain Pathology*. 1999; 9: 119-31.
- [5] Halliwell B in Gutteridge J. Free radicals in biology and medicine; 3rd edition, Oxford: Clarendon Press, 1999.
- [6] Singler K, Chaloupka J, Brozmanova J, Stadler N, Hofer M. Oxidative stress in microorganisms. *Folia Microbiol (Praha)*. 1999; 44: 587-624.
- [7] Davies KJA. *Journal of Free radicals in Biology and Medicine*. 1986; 2: 301-310.
- [8] Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoulios M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2006; 64(2): 178-89.
- [9] Romieu I, Meneses F, Ramirez M. Antioxidants supplementation and respiratory functions among workers exposed to high levels of ozone. *Am J Resp Crit Care Med*. 1998; 158: 226-232.
- [10] Kelly FJ. Vitamins and respiratory disease: antioxidant micronutrients in pulmonary health and disease. *Proc Nutr Soc*. 2005; 64(4): 510-26.
- [11] Poljšak B, Fink R. The protective role of antioxidants in the defence against ROS/RNS-mediated environmental pollution. *Oxid Med Cell Longev*. 2014. e671539.
- [12] Brunekreef B, Holgate ST. Air pollution and health. *Lancet*. 2002; 360: 1233-42.
- [13] Kelly FJ, Mudway IS. Protein oxidation at the air-lung interface. *Amino Acids*. 2003; 25: 375-96.
- [14] Nel A. Atmosphere. Air pollution-related illness: effects of particles. *Science*. 2005; 308: 804-6.
- [15] Schlesinger RB, Kunzli N, Hidy GM, Gotschi T, Jerrett M. The health relevance of ambient particulate matter characteristics: coherence of toxicological and epidemiological inferences. *Inhal Toxicol*. 2006; 18: 95-125.
- [16] Floyd RA. Measurement of oxidative stress in vivo. *Oxygen paradox*; Cleup University Press, Padova. 1995; 89-103.
- [17] Ames BN, Shigenaga M, Hagen MT. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1993; 17: 7915-22.
- [18] WHO. World Health Organisation (www.who.com). 2014.
- [19] Poljšak B. Kaj lahko naredim sam, da bi se staral počasneje? Samozaložba, Koper, 2013.
- [20] Midgette AS, Baron JA, Rohan TE. Do cigarette smokers have diets that increase their risks of coronary heart disease and cancer? *Am J Epidemiol*. 1993; 137(5): 521-9.
- [21] Preston AM. Cigarette smoking-nutritional implications. *Prog Food Nutr Sci*. 1991; 15(4): 183-217.
- [22] Banerjee KK, Marimuthu P, Sarkar A, Chaudhuri RN. Influence of cigarette smoking on Vitamin C, glutathione and lipid peroxidation status. *Indian J Public Health*. 1998; 42(1): 20-3.
- [23] Zhou J, Guo F, Qian Z. Effects of cigarette smoking on antioxidant vitamin and activities of antioxidant enzymes. 1997; 31(2):67-70.

- [24] Zhou JF, Yan XF, Guo FZ, Sun NY, Qian ZJ, Ding DY. Effects of cigarette smoking and smoking cessation on plasma constituents and enzyme activities related to oxidative stress. *Biomed Environ Sci.* 2000; 13(1): 44-55.
- [25] Tsuchiya M, Asada A, Kasahara E, Sato EF, Shindo M, Inoue M. Smoking a single cigarette rapidly reduces combined concentrations of nitrate and nitrite and concentrations of antioxidants in plasma. *Circulation.* 2002; 105(10): 1155-7.
- [26] Bloomer RJ. Decreased blood antioxidant capacity and increased lipid peroxidation in young cigarette smokers compared to nonsmokers: Impact of dietary intake. *Nutr J.* 2007; 8: 6:39.
- [27] Aycicek A, Erel O, Kocyigit A. Decreased total antioxidant capacity and increased oxidative stress in passive smoker infants and their mothers. *Pediatr Int.* 2005; 47(6): 635-9.
- [28] Guth DJ, Mavis RD. The effect of lung alpha-tocopherol content on the acute toxicity of nitrogen dioxide. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1986; 84(2): 304-14.
- [29] Sevanian A, Elsayed N, Hacker AD. Effects of vitamin E deficiency and nitrogen dioxide exposure on lung lipid peroxidation: use of lipid epoxides and malonaldehyde as measures of peroxidation. *J Toxicol Environ Health.* 1982; 10(4-5): 743-56.
- [30] Böhm F, Edge R, Burke M, Truscott TG. Dietary uptake of lycopene protects human cells from singlet oxygen and nitrogen dioxide - ROS components from cigarette smoke. *J Photochem Photobiol B.* 2001; 64(2-3): 176-8.
- [31] Wentworth P Jr, Nieva J, Takeuchi C, Galve R, Wentworth AD, Dilley RB, DeLaria GA, Saven A, Babior BM, Janda KD, Eschenmoser A, Lerner RA. Evidence for ozone formation in human atherosclerotic arteries. *Science.* 2003; 302(5647): 1053-6.
- [32] Künzli N, Jerrett M, Mack WJ, Beckerman B, LaBree L, et al. Ambient air pollution and atherosclerosis in Los Angeles. *Environ Health Perspect.* 2005. 113: 201-6.
- [33] Künzli N. Air Pollution and Atherosclerosis: New Evidence to Support Air Quality Policies. *PLoS Med.* 2013. 10(4): e1001432.
- [34] Doelman CJ in Bast A. Pro- and anti-oxidant factors in rat lung cytosol. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 1990; 264: 455-461.
- [35] Rahman I in MacNee W. Oxidant/antioxidant imbalance in smokers and chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax.* 1996; 51: 348-350.
- [36] Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect.* 2005; 113(2005): 823-839.
- [37] Andersen ZJ, Olsen TS, Andersen KK, Loft S, Ketzel M, Raaschou-Nielsen O. Association between short-term exposure to ultrafine particles and hospital admissions for stroke in Copenhagen, Denmark, *Eur Heart J.* 2010; 31: 2034-2040.
- [38] Saha D, Vijayaraghavan R in Kannana GM. Silica nanoparticle induces oxidative stress and provokes inflammation in human lung cells. *Journal of Experimental Nanoscience.* 2014.
- [39] Luo SQ, Liu XZ, Wang CJ. Inhibitory effect of green tea extract on the carcinogenesis induced by asbestos plus benzo(a)pyrene in rat. *Biomed Environ Sci.* 1995; 8(1): 54-8.
- [40] Riley PA. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol.* 1994. 65(1): 27-33.
- [41] Azzam EI, Jay-Gerin JP, Pain D. Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. *Cancer Lett.* 2012. 327(1-2): 48-60.
- [42] Datta K, Suman S, Kallakury BV, Fornace AJ Jr. Exposure to heavy ion radiation induces persistent oxidative stress in mouse intestine. *PLoS One.* 2012. 7(8): e42224.

- [43] Simone NL, Soule BP, Ly D, Saleh AD, Savage JE, Degraff W, Cook J, Harris CC, Gius D, Mitchell JB. Ionizing radiation-induced oxidative stress alters miRNA expression. *PLoS One*. 2009. 4(7): e6377.
- [44] Eržen I, Gajšek P, Hlastan-Ribič C, Kukec A, Poljšak B, Zaletel-Kragelj L. *Zdravje in okolje: izbrana poglavja*. 1. izd. Maribor: Medicinska fakulteta. 2010: 216.
- [45] Cardis E, Vrijheid M, Blettner M, et al. Risk of cancer after low doses of ionising radiation: retrospective cohort study in 15 countries. *BMJ*. 2005. 331(7508): 77.
- [46] Weik M, Ravelli RB, Kryger G, McSweeney S, Raves ML, Harel M, Gros P, Silman I, Kroon J, Sussman JL. Specific chemical and structural damage to proteins produced by synchrotron radiation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000. 97(2): 623-8.
- [47] Spothem-Maurizot M, Davidková M. Radiation damage to DNA in DNA-protein complexes. *Mutat Res*. 2011. 711(1-2): 41-8.
- [48] von Sonntag C. The chemistry of free-radical-mediated DNA damage. *Basic Life Sci*. 1991. 58:287-317; discussion 317-21.
- [48] Pravilnik o pitni vodi, 2004. Ur. L. RS št. 19 /2004 in spremembe: 35/2004, 26/2006, 92/2006, 25/2009.
- [50] JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Evaluation of certain food additives and contaminants (Twenty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series. 1982; No. 683.
- [51] JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Safety evaluation of certain food additives / prepared by the Seventy-sixth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Food Additives Series. 2012.
- [52] SCF (Scientific Committee for Food): First series of food additives of various technological functions, 1991. Available online: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_25.pdf
- [53] Calvo MS, Park YK. Changing phosphorus content of the US diet: potential for adverse effects on bone. *Journal of Nutrition*. 1996.
- [54] Elmadfa I. *European Nutrition and Health Report*. 2009.
- [55] Calvo MS, Uribarri J. Public health impact of dietary phosphorus excess on bone and cardiovascular health in the general population. *Am J Clin Nutr*. 2013.
- [56] IVZ. Referenčne vrednosti za vnos vitaminov in mineralov – tabelarična priporočila za otroke, mladostnike, odrasle in starejše. Ljubljana. 2013; 7.
- [57] McCarty MF, DiNicolantonio JJ. Bioavailable dietary phosphate, a mediator of cardiovascular disease, may be decreased with plant-based diets, phosphate binders, niacin, and avoidance of phosphate additives. *Nutrition*. 2014; 30(7-8): 739-747.
- [58] Ellam TJ, Chico TJA. Phosphate: The new cholesterol? The role of the phosphate axis in non-uremic vascular disease. *Atherosclerosis*. 2012; 220: 310-8.
- [59] Giachelli CM. The emerging role of phosphate in vascular calcification. *Kidney Int*. 2009; 75: 890-897.
- [60] Lau WL, Pai A, Moe SM, Giachelli CM. Direct effects of phosphate on vascular cell function. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2011; 18: 105-112.
- [61] Linefsky JP, O'Brien KD, Katz R, De Boer IH, Barasch E, Jenny NS, in sod. Association of serum phosphate levels with aortic valve sclerosis and annular calcification: the cardiovascular health study. *J Am Coll Cardiol*. 2011; 58: 291-297.
- [62] Gutierrez OM. Increased serum phosphate and adverse clinical outcomes: unraveling mechanisms of disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2011; 20: 224-228.
- [63] Kuro-o M. A potential link between phosphate and aging - lessons from Klotho-deficient mice. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2010; 131: 270-5.

- [64] EFSA: Assessment of one published review on health risks associated with phosphate additives in food. *EFSA Journal*. 2013.
- [65] Pesticide data program. Annual Summary. US Department of Agriculture. 2006.
- [66] Grievink L, Zijlstra AG, Ke X, Brunekreef B. Acute effects of ozone on pulmonary function in antioxidant supplemented cyclists. *Eur Resp J*. 1997; 10(Suppl. 25): 229S.
- [67] Grievink L, Zijlstra AG, Ke X, Brunekreef B. Double-blind intervention trial on modulation of ozone effects on pulmonary function by antioxidant supplements. *Am J Epidemiol*. 1999; 149(4): 306-14.
- [68] Grievink L, Smit HA, Brunekreef B. Anti-oxidants and air pollution in relation to indicators of asthma and COPD: a review of the current evidence. *Clin Exp Allergy*. 2000; 30: 1344-1354.
- [69] Samet JM, Hatch GE, Horstman D, Steck-Scott S, Arab L, Bromberg PA, Levine M, McDonnell WF, Devlin RB. Effect of antioxidant supplementation on ozone-induced lung injury in human subjects. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164(5): 819-25.
- [70] Menzel DB. The toxicity of air pollution in experimental animals and humans: the role of oxidative stress. *Toxicol Lett*. 1994; 72(1-3): 269-77.
- [71] Romieu I, Sienra-Monge JJ, Ramírez-Aguilar M, Téllez-Rojo MM, Moreno-Macías H, Reyes-Ruiz NI, del Río-Navarro BE, Ruiz-Navarro MX, Hatch G, Slade R, Hernández-Avila M. Antioxidant supplementation and lung functions among children with asthma exposed to high levels of air pollutants. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 166(5): 703-9.
- [72] Ergonul Z, Erdem A, Balkanci ZD, Kilinc K. Vitamin E protects against lipid peroxidation due to cold-SO₂ coexposure in mouse lung. *Inhal Toxicol*. 2007; 19(2): 161-8.
- [73] Zhao H, Xu X, Na J. Protective effects of salicylic acid and vitamin C on sulfur dioxide-induced lipid peroxidation in mice. *Inhalation Toxicology*. 2008; 20(9): 865-871.
- [74] Banerjee S, Chattopadhyay R, Ghosh A, Koley H, Panda K, Roy S, Chattopadhyay D, Chatterjee IB. Cellular and molecular mechanisms of cigarette smoke-induced lung damage and prevention by vitamin C. *J Inflamm (Lond)*. 2008; 11: 5:21.
- [75] Mayne ST in Cartmel B. Antioxidant vitamin supplementation and lipid peroxidation in smokers. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1999; 69(6).
- [76] Chung FL, Morse MA, Eklind KI, Xu Y. Inhibition of tobacco-specific nitrosamine-induced lung tumorigenesis by compounds derived from cruciferous vegetables and green tea. *Ann N Y Acad Sci*. 1993; 686: 186-201.
- [77] Xu Y, Ho CT, Amin SG, Han C, Chung FL. Inhibition of tobacco-specific nitrosamine-induced lung tumorigenesis in A/J mice by green tea and its major polyphenol as antioxidants. *Cancer Res*. 1992; 52(14): 3875-9.
- [78] Rietjens IM, Poelen MC, Hempenius RA, Gijbels MJ, Alink GM. Toxicity of ozone and nitrogen dioxide to alveolar macrophages: comparative study revealing differences in their mechanism of toxic action. *J Toxicol Environ Health*. 1986; 19(4): 555-68.
- [79] Mohsenin V. Effect of vitamin C on NO₂-induced airway hyperresponsiveness in normal subjects. A randomized double-blind experiment. *Am Rev Respir Dis*. 1987; 136(6): 1408-11.
- [80] El-Missiry MA, Fayed TA, El-Sawy MR, El-Sayed AA. Ameliorative effect of melatonin against gamma-irradiation-induced oxidative stress and tissue injury. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2007; 66(2): 278-86.
- [81] Karbownik M, Reiter RJ. Antioxidative effects of melatonin in protection against cellular damage caused by ionizing radiation. *Proc Soc Exp Biol Med*. 2000; 225(1): 9-22.
- [82] Wolf FI, Fasanella S, Tedesco B. Peripheral lymphocyte 8-OHdG levels correlate with age-associated increase of tissue oxidative DNA damage

- in Sprague-Dawley rats. Protective effects of caloric restriction. *Experimental Gerontology*. 2005; 40(3): 181-188.
- [83] İlhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamisli S, Iraz M, Akyol O, Ozen S. Ginkgo biloba prevents mobile phone-induced oxidative stress in rat brain. *Clin Chim Acta*. 2004; 340(1-2): 153-62.
- [84] Guney M, Ozguner F, Oral B, Karahan N, Mungan T. 900 MHz radiofrequency-induced histopathologic changes and oxidative stress in rat endometrium: protection by vitamins E and C. *Toxicol Ind Health*. 2007; 23(7): 411-20.
- [85] Glass M, Sutherland MW, Forman HJ, in Fisher AB. Selenium deficiency potentiates paraquat-induced lipid peroxidation in isolated perfused rat lung. *Journal of Applied Physiology*. 1985; 59(2): 619-622.
- [86] Cheng WH, Ho YS, Valentine BA, Ross DA, Combs GF Jr, Lei XG. Cellular glutathione peroxidase is the mediator of body selenium to protect against paraquat lethality in transgenic mice. *J Nutr*. 1998; 128(7): 1070-6.
- [87] Radhey SV, Anugya M in Nalini S. In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2007; 88(2): 191-196.
- [88] Akturk O, Demirin H, Sutcu R, Yilmaz N, Koylu H, Altuntas I. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat heart and ameliorating role of vitamin E and vitamin C. *Cell Biol Toxicol*. 2006; 22(6): 455-61.
- [89] Goel VD in Dhawan DK. Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos-induced toxicity. *Chemico- Biological Interactions*. 2005; 156(2-3): 131-140.
- [90] Pérez-Maldonado IN, Herrera C, Batres LE, González-Amaro R, Díaz-Barriga F, Yáñez L. DDT-induced oxidative damage in human blood mononuclear cells. *Environ Res*. 2005; 98(2): 177-84.
- [91] Alsharif NZ, Hassoun EA. Protective effects of vitamin A and vitamin E succinate against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)-induced body wasting, hepatomegaly, thymic atrophy, production of reactive oxygen species and DNA damage in C57BL/6J mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2004; 95(3): 131-8.
- [92] Ishida T, Takeda T, Koga T, Yahata M, Ike A, Kuramoto C, Taketoh J, Hashiguchi I, Akamine A, Ishii Y, Yamada H. Attenuation of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin toxicity by resveratrol: a comparative study with different routes of administration. *Biol Pharm Bull*. 2009; 32(5): 876-81.
- [93] Köse E, Sarsilmaz M, Taş U, Kavakli A, Türk G, Ozlem Dabak D, Sapmaz H, Ogetürk M. Rose oil inhalation protects against formaldehyde-induced testicular damage in rats. *Andrologia*. 2011.
- [94] Zararsiz I, Sarsilmaz M, Tas U, Kus I, Meydan S, Ozan E. Protective effect of melatonin against formaldehyde-induced kidney damage in rats. *Toxicol Ind Health*. 2007; 23(10): 573-9.
- [95] Adaramoye OA. Comparative effects of vitamin E and kolaviron (a biflavonoid from *Garcinia kola*) on carbon tetrachloride-induced renal oxidative damage in mice. *Pak J Biol Sci*. 2009; 12(16): 1146-51.
- [96] Cho BO, Ryu HW, Jin CH, Choi DS, Kang SY, Kim DS, Jeong IY. Blackberry extract attenuates oxidative stress through up-regulation of Nrf2-dependent antioxidant enzymes in carbon tetrachloride-treated rats. *J Agric Food Chem*. 2011.
- [97] Bhadauria M. Propolis prevents hepatorenal injury induced by chronic exposure to carbon tetrachloride. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012.
- [98] Almurshed KS. Protective effect of black and green tea against carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *Saudi Med J*. 2006; 27(12): 1804-9.

- [99] Kawai Y, Matsui Y, Kondo H, Morinaga H, Uchida K, Miyoshi N, Nakamura Y, Osawa T. Galloylated catechins as potent inhibitors of hypochlorous acid-induced DNA damage. *Chem Res Toxicol*. 2008; 21(7): 1407-14.
- [100] Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Qi WB, Karbownik M, Calvo JR. Significance of melatonin in antioxidative defense system: reactions and products. *Biol Signals Recept*. 2000; 9(3-4): 137-59.
- [101] Carr AC, Tijerina T, Frei B. Vitamin C protects against and reverses specific hypochlorous acid- and chloramine-dependent modifications of low-density lipoprotein. *Biochem J*. 2000; 346(2): 491-9.
- [102] Abbey M, Nestel PJ, Bahurst PA. Antioxidant vitamins and low-density-lipoprotein oxidation. *The American journal of clinical nutrition*. 1993; 58: 525-32.
- [103] Emmert DK, Kirchner JT. The role of vitamin E in the prevention of heart disease. *Archives of family medicine*. 1999; 8: 537-42.
- [104] Carr AC, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and death in humans. *The American journal of clinical nutrition*. 1999; 69: 1086-107.
- [105] Gey KF, Puska P. Plasma vitamins E and A inversely correlated to mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1989; 570: 268-82.
- [106] Gey KF. Prospects for the prevention of free radical disease, regarding cancer and cardiovascular disease. *British medical bulletin*. 1993; 49: 679-99.
- [107] Halliwell B. The antioxidant paradox. *Lancet*. 2000; 355: 1179-80.
- [108] Rietjens I, Boersma M, de Haan L. The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2001; 11: 321-33.
- [109] The alpha tocopherol, beta carotene cancer prevention study group. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *The New England journal of medicine*. 1994; 330: 1029-1035.
- [110] Poljšak B, Erjavec M, Likar K, Pandel Mikuš R. Uporaba vitaminskih dodatkov v prehrani. *Obzornik zdravstvene nege*. 2006; 40: 43-52.