

Porównawcze badania wpływu nasion wiesiołka i krokosza barwierskiego na wybrane parametry morfologiczne i biochemiczne krwi szczurów doświadczalnych z dietą bogatotłuszczową

EDYTA WINCEWICZ, WOJCIECH A. ZAWADZKI, MONIKA OSTASZEWSKA

Zakład Fizjologii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Otrzymano 20.01.2015

Zaakceptowano 23.03.2015

Wincewicz E., Zawadzki W. A., Ostaszewska M.

Comparative study on the effect of evening primrose and safflower on selected morphological and biochemical blood parameters in experimental rats on a high-fat diet

Summary

Epidemiological studies have shown a positive correlation between the incidence of coronary heart disease and elevated levels of total cholesterol, low-density lipoprotein (LDL), and triglycerides, as well as lower levels of high-density lipoprotein (HDL) in blood. The aim of this study was to compare the effects of the addition of evening primrose seeds and safflower seeds on selected morphological and biochemical blood parameters of experimental rats on a high-fat diet. The experiment was performed on 30 rats (male and female) of the Buffalo strain. The animals were divided into 3 groups, which were fed a high-fat diet and herbal supplements. It was shown that both evening primrose seed and safflower seed, added to the diet, resulted in reduced levels of triglycerides in blood. They had no effect on cholesterol. These vegetable supplements also changed some of the morphological parameters of blood, including the number of leukocytes.

Keywords: blood cholesterol, triglycerides, safflower, evening primrose, rat

Do czynników zwiększających ryzyko rozwoju chorób układu krążenia należą: otyłość, dyslipidemia, upośledzenie gospodarki węglowodanowej i nadciśnienie tętnicze. Badania epidemiologiczne wykazały, że istnieje dodatnia korelacja pomiędzy częstością występowania choroby niedokrwiennej serca a podwyższonym stężeniem cholesterolu całkowitego, frakcji lipoproteiny o niskiej gęstości (LDL) i obniżeniem stężenia frakcji lipoproteiny o wysokiej gęstości (HDL) we krwi oraz wysokim poziomem triglicerydów (1, 19, 38).

Cholesterol stanowi ważny składnik błon komórkowych, jest również prekursorem hormonów steroidowych, kwasów żółciowych i witaminy D. Dane epidemiologiczne pokazują, że podwyższone stężenie LDL w osoczu powoduje ryzyko rozwoju miażdżycy i jej powikłań, ponieważ lipoproteiny o niskiej gęstości wnikają do błony wewnętrznej tętnicy, gdzie są wychwytywane przez makrofagi. Jest to wstęp do ich przekształcenia w komórki piankowe biorące istotny udział w powstawaniu blaszki miażdżycowej. Przenoszenie cholesterolu z makrofagów i przez

śródbłonek do krwi następuje przy udziale receptorów HDL. Reasumując, proces miażdżycowy zależy od przenikania LDL do błony wewnętrznej tętnicy. Nasilenie tego procesu uwarunkowane jest stanem śródbłonna i stężeniem LDL w osoczu. Stężenie lipoprotein o niskiej gęstości w osoczu zależy od zawartości cholesterolu w pokarmie, jego endogennej syntezy oraz usuwania LDL z krwi do wątroby (20, 21).

Szeroko zakrojone badania dotyczące roli triglicerydów w powstawaniu chorób układu krążenia dowiodły, że hipertriglicerydemia uważana jest za czynnik miażdżycorodny niezależny od cholesterolu (29, 40).

Poziom triglicerydów we krwi regulowany jest przez dwa enzymy: lipazę lipoproteinową i wątrobową. Oba odpowiadają za hydrolizę triglicerydów w chylomikronach i lipoproteinach o bardzo małej gęstości. Odgrywają istotną rolę w patogenezie miażdżycy, do końca nie wiadomo jednak, czy działają one pro-, czy przeciwmiażdżycowo. Prawdopodobnie w małych stężeniach przyspieszają, a w wysokich chronią przed rozwojem zmian w naczyniach krwionośnych (31, 36). Etiologia powstawania zmian miażdżycowych

pod wpływem triglicerydów sugeruje cytotoksyczne działanie lipoprotein resztkowych powstałych pod wpływem lipazy lipoproteinowej z chylomikronów i VLDL. Skutkiem tego z makrofagów powstają komórki podobne do piankowatych – znamienne dla miażdżycy. Mechanizm tego działania nie jest jeszcze do końca poznany (7).

Ryzyko występowania zmian miażdżycowych w naczyniach krwionośnych można ograniczać poprzez obniżenie stężenia lipoprotein o niskiej gęstości we krwi, leczenie hiperlipidemii, hipercholesterolemii oraz hipertriglicydemii. Wysoką skuteczność wykazuje stosowanie leków hipolipemicznych oraz diety (30). Konieczne jest występowanie nasyconych i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych rodziny omega-6 oraz kwasu oleinowego w odpowiednim stosunku ilościowym. W grupie kwasów nienasyconych w większej ilości powinny występować pochodne kwasu linolowego (LA) (41). Wymogi te spełnia olej wiesiołkowy (*Ol. Oenotherae*). Właściwości biologiczne związane są z obecnością w jego składzie kwasu γ -linolowego (LA) (ok. 76%) i kwasu γ -linolenowego (GLA) w ilości ok. 9% (16). Z kolei olej krokoszy (*Ol. Carthamus*) zawiera kwas: linolowy (75%), oleinowy (13%), palmitynowy (6%), stearynowy (3%) (18, 28, 38).

Celem badań było porównanie wpływu nasion wiesiołka (*Oenothera paradoxa*) i krokosza barwierskiego (*Carthamus tinctorius*) na wybrane parametry morfologiczne i biochemiczne krwi szczurów doświadczalnych w zależności od zawartości tłuszczu w diecie.

Materiał i metody

Badania prowadzono na 30 szczurach (samcach i samicach) szczepu Bufflo. Zwierzęta w momencie rozpoczęcia doświadczenia były w wieku około 4 tygodni. Średnia początkowa masa ciała zwierząt wynosiła 85 g. Po tygodniu żywienia adaptacyjnego paszą standardową szczury podzielono w sposób losowy na 3 grupy, liczące po 10 osobników. Początkowa średnia masa ciała w grupie pierwszej wynosiła – 105 g, w grupie drugiej – 110 g, a w grupie trzeciej – 100 g. Szczury karmiono raz dziennie granulatem LSM dla gryzoni o składzie: mieszanka zbożowa, śruta pszenna, jęczmienna, owsiana i kukurydziana, mączka rybna i kostna, mleko chude w proszku, drożdże paszowe, lucerna, kreda pastewna oraz dodatki witaminowe i mineralne, ziarnem zbóż oraz 50 g dodatkiem smalcu (w celu wywołania u zwierząt hiperlipidemii). Ziarna zbóż i nasiona dodatków roślinnych łączono ze smalcem, by zwierzęta mogły dostarczyć tłuszcz do organizmu. Grupy II i III otrzymywały poza tym dodatki paszowe: nasiona wiesiołka (II) i krokosza (III). W czasie doświadczenia zwierzęta miały swobodny dostęp do paszy, przy czym codziennie kontrolowano jej spożycie w danej grupie. Dawki pokarmu były stopniowo zwiększane wraz z przyrostami masy ciała zwierząt. Przez pierwsze 3 dni szczury otrzymywały po 125 g karmy (granulat LSM + ziarno zbóż), 50 g smalcu i w zależności od grupy po 5 g nasion wiesiołka (grupa I) lub 5 g nasion krokosza (grupa II). Dawka została zmniejszona czwartego dnia o połowę z powodu

pozostawiania przez zwierzęta nie zjedzonego pokarmu. Od piątego dnia, przez 6 dni szczury otrzymywały po 70 g karmy, 25 g smalcu i 5 g dodatku paszowego, którego ilości nie zmieniano przez czas trwania całego doświadczenia. Po tym okresie wielkość dawki została zwiększona do 80 g, a po kolejnych siedmiu dniach do 100 g. Przez 8 dni podawano zwierzętom 100 g karmy, 25 g smalcu i 5 g dodatku paszowego. Następnie zmniejszono dawkę pokarmową do 90 g i w tej dawce karmiono szczury do zakończenia eksperymentu (przez 20 dni). Przez cały czas zwierzęta miały nieograniczony dostęp do wody. Raz w tygodniu kontrolowano u szczurów przyrosty masy ciała.

Po sześciu tygodniach trwania eksperymentu szczury poddawano lekkiej narkozie eterowej i pobierano krew z serca, a następnie zwierzęta usypiano. W każdej grupie w pełnej krwi oznaczono wybrane parametry morfologiczne, a w surowicy krwi – wybrane parametry biochemiczne. Stężenie glukozy, białka całkowitego, triglicerydów oraz cholesterolu badano przy użyciu gotowych odczynników firmy BioSystems. Badania morfologiczne wykonano przy użyciu weterynaryjnego analizatora hematologicznego firmy Horiba.

Badania wykonano za zgodą II Lokalnej Komisji Etycznej nr 68/04 z dnia 24.05.2004 r.

W celu porównania poszczególnych grup względem siebie wykonano analizę statystyczną uzyskanych wyników testem analizy wariancji ANOVA.

Rozkład zmiennych przedstawiono jako średnią arytmetyczną (\bar{x}), odchylenie standardowe (SD). Różnice między badanymi grupami ocenione zostały za pomocą testu Tukeya. Uznawano je za znamienne przy poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Wyniki i omówienie

Zgodnie z przedstawioną metodyką, określono wybrane parametry morfologiczne i biochemiczne we krwi po wcześniejszym zastosowaniu diety mającej wywołać u zwierząt hiperlipidemię.

Spożycie poszczególnych diet oraz średnie przyrosty masy ciała zwierząt nie różniły się istotnie, choć porównując grupy, największe przyrosty odnotowano w grupie I karmionej dietą bogatotłuszczową bez dodatków, a najmniejsze w grupie III z dodatkiem nasion krokosza. Arpornsuwan i wsp. (1) również uzyskali niższe przyrosty masy ciała zwierząt karmionych dietą wysokocholesterolową z suplementacją wyciągu z krokosza.

Wyraźnie zauważalna była różnica pomiędzy poziomem glukozy w surowicy krwi badanych zwierząt (tab. 2). Największą istotną różnicę odnotowano pomiędzy grupami z dodatkiem wiesiołka i krokosza ($p \leq 0,001$). Krokosz barwierski podwyższał poziom glukozy w surowicy krwi, natomiast dodatek wiesiołka powodował spadek jej poziomu. Różnica między tymi grupami a grupą kontrolną była także istotna, ale na niższym poziomie ($p \leq 0,05$).

Poziom glukozy w surowicy szczurów był wyraźnie niższy w badaniach przeprowadzonych przez Wincewicz i wsp. (39), w których zwierzęta karmiono

Tab. 1. Parametry morfologiczne krwi szczurów ($\bar{x} \pm SD$)

Badany parametr	Grupa I	Grupa II	Grupa III
Eryocyty [$10^{12}/l$]	7,6 \pm 0,36*	7,06 \pm 1,19	6,47 \pm 0,63
Leukocyty [$10^9/l$]	10,13 \pm 0,91	7,62 \pm 1,32**	7,64 \pm 2,05**
Hemoglobina [mmol/l]	172,55 \pm 11,68*	165,99 \pm 15,25	154,71 \pm 11,84
Hematokryt [l/l]	0,42 \pm 0,01*	0,4 \pm 0,01	0,41 \pm 0,02

Objaśnienia: \bar{x} – średnia arytmetyczna; SD – odchylenie standardowe; * – różnica istotna statystycznie na poziomie $p \leq 0,05$; ** – różnica istotna statystycznie na poziomie $p \leq 0,01$; *** – różnica istotna statystycznie na poziomie $p \leq 0,001$

Tab. 2. Parametry biochemiczne krwi szczurów ($\bar{x} \pm SD$)

Badany parametr	Grupa I	Grupa II	Grupa III
Cholesterol [mmol/l]	2,99 \pm 0,49	2,77 \pm 0,29	2,98 \pm 0,45
Triglicerydy [mmol/l]	2,53 \pm 0,44	1,07 \pm 0,49***	1,27 \pm 0,52***
Glukoza [mmol/l]	9,62 \pm 1,78	7,5 \pm 0,78*/***	11,84 \pm 2,24*
Białko całkowite [g/l]	64,5 \pm 4,89	66,74 \pm 6,92	69,17 \pm 4,18

Objaśnienia: jak w tab. 1.

jedynie granulatem LSM dla gryzoni. Stężenie glukozy było wyższe u samców, a niższe u samic.

Wyższe stężenie glukozy w surowicy krwi zwierząt karmionych dietą z dodatkiem nasion krokosza może być wynikiem tego, że w nasionach brak jest czynników wpływających na gospodarkę węglowodanową. Głównym czynnikiem hipoglikemicznym w krokoszu jest kartamina zawarta głównie w kwiatach rośliny (23, 24). Jej działanie polega na hamowaniu aktywacji wolnych rodników i zmniejszaniu stresu oksydacyjnego (6, 12, 25, 26). Z kolei przyczyną spadku poziomu glukozy po podaniu wiesiołka mogły być zawarte w nasionach tej rośliny polifenole, które regulują poziom cukru poprzez hamowanie α -glukozydazy lub hamowanie transportera glukozy do komórek (29).

Zawartość białka całkowitego (tab. 2) w surowicy krwi szczurów utrzymywało się we wszystkich grupach na zbliżonym poziomie. Brak było istotnych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi grupami zwierząt. W badaniach prowadzonych przez Wincewicz i wsp. (39) na szczurach odnotowano jedynie różnice pomiędzy płciami, gdzie wyższy poziom białka całkowitego zauważono u samic.

Stężenie triglicerydów w surowicy krwi (tab. 2) było najniższe w grupie zwierząt otrzymujących wiesiołek. W grupie kontrolnej poziom tłuszczów właściwych był aż o około 50% wyższy niż w grupie szczurów otrzymujących krokosz i prawie o 60% wyższy niż w grupie otrzymujących wiesiołek. Podawanie obu dodatków wywołuje tendencję spadkową stężenia triglicerydów. Zastosowane nasiona bogate są w NNKT, które charakteryzuje duża zdolność obniżania poziomu lipidów w surowicy krwi (23). Mechanizm hipolipidemicznego działania roślin zawierających w swym składzie olej linolowy jest nadal mało zbadany (8, 9). Badania kliniczne, podobnie jak badania własne, wskazują jednak na obniżenie poziomu lipidów we krwi pod wpływem stosowania diety wzbogaconej olejem z krokosza (10).

Ponadto wykryto (11) tendencję do podwyższania sumy NNKT i sumy kwasów wielonienasyconych pod wpływem oleju z wiesiołka, która jest najbardziej wyraźna przy równoczesnym stosowaniu z tym olejem diety niskotłuszczowej, najlepiej z zawartością olejów roślinnych.

W badaniach innych autorów (33, 34) dane na temat wpływu oleju z wiesiołka na stężenie triglicerydów są kontrowersyjne. Na ogół nie obserwowano spadku ich stężenia w surowicy krwi i wątrobie, odnotowywano wręcz lekką tendencję wzrostową.

W doświadczeniu Biernat i Grajęta (5) hipocholesterolemiczne działanie wiesiołka występowało przy niskiej zawartości smalcu w diecie, a więc

przy niskiej zawartości kwasów nasyconych oraz przy wysokiej zawartości kwasów wielonienasyconych. Lee i wsp. (19) uzyskali z kolei istotne obniżenie stężenia triglicerydów, ale w sytuacji, gdy olej z wiesiołka był jedynym źródłem tłuszczu w diecie. Prowadzone badania (10, 15, 31), w których olej z wiesiołka stosowano jako kapsułki Oeparol, potwierdzają obniżający wpływ tej rośliny na poziom lipidów w surowicy krwi szczurów karmionych dietami bez dodatku cholesterolu. Preparat Oeparol obniża aktywność acylotransferazy lecytynowo-cholesterolowej, nie wpływa na układ dysmutaza ponadtlenkowa–nadtlenuki lipidów.

Wyniki niniejszej pracy potwierdzają, że olej z nasion wiesiołka dziwnego istotnie statystycznie obniża poziom triglicerydów we krwi. Te zmienne tendencje wpływu nasion wiesiołka na poziom lipidów właściwych w surowicy mogą być wynikiem różnego składu stosowanych diet (3-5, 14). Trudno dostępne najnowsze piśmiennictwo (27) dotyczące działania krokosza barwierskiego także potwierdza jego obniżający wpływ na poziom triglicerydów we krwi. W eksperymencie na szczurach karmionych dietą wysokocholesterolową zastosowanie krokosza obniżało w sposób istotny stężenie triglicerydów w grupach, w których dieta zawierała alkoholowy i wodny ekstrakt jego nasion (13, 22).

Stężenie cholesterolu całkowitego w surowicy krwi (tab. 2) szczurów otrzymujących dodatki paszowe nie różniło się w istotny sposób od grupy kontrolnej, przy czym nieco niższy jego poziom odnotowano w grupie karmionej dietą z dodatkiem nasion wiesiołka. W doświadczeniach innych badaczy (17, 32) również nie obserwowano wyraźnych różnic stężenia cholesterolu u zwierząt, a czas trwania doświadczenia był podobny jak w badaniach własnych. Brak zauważalnego hipocholesterolemicznego działania oleju z nasion wiesiołka oraz nasion krokosza być może wynika ze zbyt krótkiego okresu trwania doświadczenia (22).

Większość przeprowadzonych badań odnośnie do wpływu wiesiołka na poziom cholesterolu w surowicy krwi wskazuje na jego obniżające działanie. Podobnie w istotny sposób spowodował spadek stężenia cholesterolu całkowitego, jak i triglicerydów w surowicy krwi szczurów karmionych dietą ubogą w smalec, a bogatą w olej słonecznikowy (5). Tendencję spadkową poziomu tego lipidu w surowicy krwi stwierdzono także w wątrobie zwierząt doświadczalnych, z tym, że ujawniły się one we wszystkich grupach, niezależnie od ilości i rodzaju tłuszczu w diecie. Podobne działanie oleju wiesiołka, silniej obniżające stężenie cholesterolu w wątrobie niż w osoczu obserwowali Lee i wsp. (19) oraz Horrobin i wsp. (13, 14). Sugerują oni, że użycie diety doświadczalnej bez dodatku cholesterolu może mieć wpływ na słabszy efekt hipocholesterolemiczny kwasu gamma-linolenowego w surowicy. Uzyskana redukcja stężenia cholesterolu w wątrobie wynika prawdopodobnie z niskiego transportu cholesterolu do wątroby, redukcji jego syntezy lub też nasilonego wydzielania.

W wielu badaniach stosowano Oeparol – suplement diety na bazie wiesiołka, który istotnie zmniejsza stężenie cholesterolu, a zwłaszcza frakcji beta-lipoproteinowej odpowiadającej frakcji LDL (tzw. zły cholesterol) i podwyższa jednocześnie frakcję alfa-lipoproteinową odpowiadającą frakcji HDL (tzw. dobry cholesterol) (2), co świadczy o jego pozytywnym działaniu przeciwmiażdżycowym (37). W niniejszych badaniach nie wykazano działania nasion dodatków roślinnych na obniżenie stężenia cholesterolu w surowicy krwi badanych zwierząt.

Przeprowadzone badania hematologiczne wykazały obecność najwyższego stężenia hemoglobiny (tab. 1) w grupie kontrolnej. Wyraźne obniżenie zaobserwowano w grupie szczurów karmionych krokoszem barwierskim ($p \leq 0,05$). Spadek ten, choć znacznie mniejszy, jest zauważalny również w grupie, w której dieta była wzbogacona w nasiona wiesiołka. We krwi szczurów doświadczalnych karmionych wyłącznie granulatem dla gryzoni LSM zaobserwowano niższe stężenie hemoglobiny (39). Być może wprowadzenie smalcu do diety zwierząt mogło wywołać wzrost jej stężenia. W badaniach Biernat i Grajety (5) obserwowano tendencję spadkową stężenia hemoglobiny we krwi szczurów laboratoryjnych po podaniu oleju z nasion wiesiołka, a szczególnie u zwierząt karmionych paszami z 5% i 15% dodatkiem smalcu, gdzie wyniósł ponad 10%.

Wartość hematokrytu zależy od liczby erytrocytów i ilości osocza. Ulega również zmianie przy różnej objętości krwinek czerwonych. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w wartościach hematokrytu pomiędzy szczurami grupy kontrolnej a otrzymującymi dodatek krokosza (tab. 1). Istotną statystycznie różnicę ($p \leq 0,05$) zaobserwowano natomiast między grupą kontrolną a żywioną paszą z dodatkiem wiesiołka. W dostępnych danych literaturowych (39) poziom

hematokrytu był nieznacznie wyższy u badanych samców aniżeli u samic. Różnice te nie były jednak istotne statystycznie.

Liczba erytrocytów (tab. 1) badanej krwi różniła się w sposób istotny między grupą kontrolną i grupą z dodatkiem krokosza ($p \leq 0,05$). Dodatek ten zmniejszał liczbę erytrocytów we krwi szczurów. Zbliżone wartości krwinek czerwonych wytwarzane były we krwi szczurów karmionych wyłącznie granulatem LSM. Jedynie u samców odnotowano nieco wyższą ich liczbę (39).

Przy oznaczeniu leukocytów (tab. 1) zanotowano wyraźną tendencję spadkową liczby leukocytów w obu grupach z dodatkami roślinnymi ($p \leq 0,01$). Liczba białych krwinek oznaczanych w pełnej krwi grupy kontrolnej była wyraźnie wyższa niż w pozostałych grupach ($p \leq 0,01$), co świadczyć może, że zarówno wiesiołek dziwny, jak i krokosz barwierski obniżają poziom leukocytów we krwi szczurów. W badaniach krwi szczurów karmionych tylko suchą karmą dla gryzoni LSM bez dodatku tłuszczu liczba leukocytów była jedynie nieznacznie wyższa u samców aniżeli u samic. Otrzymane wartości były zbliżone do uzyskanych w niniejszej pracy po podawaniu zwierzętom nasion krokosza i wiesiołka oraz wyraźnie niższe niż w grupie, w której oprócz LSM podawano tylko smalec (39).

Reasumując należy stwierdzić, że dodatek nasion wiesiołka i krokosza do diety bogatotłuszczowej w sposób znaczący powoduje spadek stężenia triglicerydów w surowicy krwi. Natomiast nie zaobserwowano hipocholesterolemicznego działania suplementów roślinnych. W sposób nieznaczny nasiona krokosza i wiesiołka wpływały na liczbę leukocytów i poziom glukozy.

Piśmiennictwo

1. Arpornsuwan T., Changsri K., Roytrakul S., Punjajon T.: The effects of the extracts from *Carthamus tinctorius* L. on gene expression related to cholesterol metabolism in rats. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 2010, 32, 129-136.
2. Balasińska B.: Hypocholesterolemic effect of dietary evening primrose (*Oenothera paradoxa*) cake extract in rats. *Food Chem.* 1998, 64, 453.
3. Biernat J., Grajeta H.: Wpływ białka sojowego i tłuszczów diety na działanie oleju wiesiołka dziwnego u szczurów doświadczalnych. Cz. 1. Lipidy surowicy krwi i wątroby. *Bromat. Chem. Toksykol.* 1995, 28, 51-59.
4. Biernat J., Grajeta H.: Wpływ diet bogatotłuszczowych z dodatkiem cholesterolu na hipolipemiczne działanie Oeparolu u szczurów doświadczalnych. *Zbiór Prac Sympozjum „Olej z nasion wiesiołka w profilaktyce i terapii”*, Łódź 6-7 X 1995, s. 108-116.
5. Biernat J., Grajeta H.: Wpływ oleju z nasion wiesiołka dziwnego na gospodarkę lipidową w osoczu i wątrobie szczurów doświadczalnych w zależności od rodzaju i ilości tłuszczu w diecie. *Zbiór Prac Sympozjum „Olej z nasion wiesiołka w profilaktyce i terapii”*, Łódź 9-10 X 1992, s. 92-100.
6. Choi E. M., Kim G. H., Lee Y. S.: *Carthamus tinctorius* flower extract prevents H2O2 induced dysfunction and oxidative damage in osteoblastic MC 3T3-E1 cells. *Phytother. Res.* 2010, 24, 1037-1044.
7. Connor W. E.: Effects of omega-3 fatty acids in hypertriglyceridemic states. *Semin Thromb. Hemost.* 1988, 14, 271-284.
8. Connor W. E., DeFrancesco C. A., Connor S. L.: N-3 fatty acids from fish oil. Effects on plasma lipoproteins and hypertriglyceridemic patients. *Ann. NY. Acad. Sci.* 1993, 683, 16-34.
9. Cox C., Sutherland W., Mann J., de Jong S., Chisholm A., Skeaff M.: Effects of dietary coconut oil, butter and safflower oil on plasma lipids, lipoproteins and lathosterol levels. *Eur. J. Clin. Nutr.* 1998, 52, 650-654.
10. Grajeta H., Biernat J., Szymczak J.: Wpływ oleju z nasion wiesiołka dziwnego na skład kwasów tłuszczowych w osoczu i wątrobie szczurów doświadczalnych

- w zależności od rodzaju i ilości tłuszczu w diecie. Zbiór Prac Sympozjum „Olej z nasion wiesiołka w profilaktyce i terapii”, Łódź 9-10 X 1992, s. 86-92.
11. Han S. Y., Li Hx., Bai C. C., Wang L.: Component analysis and free radical scavenging potential of *Panax notoginseng* and *Cathamus tinctorius* extracts. *Chem. Biodivers.* 2010, 7, 383-389.
 12. Herbel B. K., McGuir M. K., McGuire M. A., Shultz T. D.: Safflower oil consumption does not increase plasma conjugated linoleic acid concentrations in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 1998, 67, 332-337.
 13. Horrobin D. F., Ells K. M., Morse-Fisher N., Manku M. S.: The effects of evening primrose oil, safflower oil and paraffin on plasma fatty acid levels in humans: choice of an appropriate placebo for clinical studies on. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 1991, 42, 245-249.
 14. Horrobin D. F., Huang Y. S.: The role of linoleic acid and its metabolites in the lowering of plasma cholesterol and the prevention of cardiovascular disease. *Int. J. Cardiol.* 1987, 17, 242-255.
 15. Karłowicz-Bodalska K., Bodalski T.: Nienasycone kwasy tłuszczowe, ich właściwości biologiczne i znaczenie w lecznictwie. *Post. Fitoter.* 2007, 1, 46-56.
 16. Kowalczyk E., Niedworok J., Kotkiewicz J., Sierańska E.: Porównawcze badania wpływu Oeparolu i Lipostabilu na wybrane frakcje lipidowe surowicy krwi u szczurów. Zbiór Prac Sympozjum „Olej z nasion wiesiołka w profilaktyce i terapii”, Łódź 9-10 X 1992, s. 82-86.
 17. Kwon J. S., Snook J. T., Wardlaw G. M., Hwang D. H.: Effects of diets high in saturated fatty acids, canola oil, or safflower oil on platelet function, thromboxane B2 formation, and fatty acid composition of platelet phospholipids. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991, 54, 351-358.
 18. Law M. R., Wald N. J.: An ecological study of serum cholesterol and ischaemic heart disease between 1950 and 1990. *Eur. J. Clin. Nutr.* 1994, 48, 305-325.
 19. Lee J. H., Taguchi S., Ikeda I., Sugano M.: The P/S ratio of dietary fats and lipid metabolism in rats: gamma-linolenic acid as a source of polyunsaturated fatty acid. *Agric. Biol. Chem.* 1988, 52, 3137-3142.
 20. Lewartowski B.: PCSK9 – początek przełomu w zapobieganiu i leczeniu miażdżycy? *Kardiol. Pol.* 2009, 67, 782-786.
 21. Moon K. D., Back S. S., Kim J. H., Jeon S. M., Lee M. K., Choi M. S.: Safflower seed extract lowers plasma and hepatic lipids in rats fed high-cholesterol diet. *Nut. Res.* 2001, 21, 859-865.
 22. Nestel P. J., Couzens E. A.: Influence of diet on the composition of plasma cholesterol esters in man. *J. Lipid. Res.* 1966, 7, 487-491.
 23. Nimbkar N.: Safflower rediscovered. *Times Agric.* 2002, 2, 32-36.
 24. Parisa Z., Jinous A., Mehrnaz K.: The essential oil composition of *Carthamus tinctorius* L. flower growing in Iran. *Afr. J. of Biotech.* 2012, 11, 12921-12924.
 25. Paschos G. K., Magkos F., Panagiotakos D. B., Votteas V., Zampelas A.: Dietary supplementation with flaxseed oil lowers blood pressure in dyslipidaemic patients. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2007, 61, 1201-1206.
 26. Quazi N., Khan R. A., Rizwani G. H., Feroz Z.: Effect of *Carthamus tinctorius* (Safflower) on fasting blood glucose and insulin levels in alloxan induced diabetic rabbits. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2014, 27, 377-380.
 27. Rahimi P., Asgary S., Kabiri N.: Hepatoprotective and Hypolipidemic Effects of *Carthamus tinctorius* oil in Alloxan-induced Type I Diabetic Rats. *J. Herb. Med. Pharmacol.* 2014, 3, 107-111.
 28. Riaz A., Khan R. A., Siddiqin A. A., Mirza T.: Evaluation of Weight Reducing Effect of Evening Primrose Oil. *J. Pharm. Nutri. Sci.* 2011, 1, 15-19.
 29. Santamarina-Fojo S., Gonzalez-Navarro H., Freeman L., Wagner E., Nong Z.: Hepatic lipase, lipoprotein metabolism, and atherogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004, 1750-1754.
 30. Saris W. H. M., Astrup A., Prentice A. M.: Randomised controlled trial of changes in dietary carbohydrate/fat ratio and simple vs complex carbohydrates on body weight and blood lipids: the CARMEN study. *Int. J. Obes.* 2002, 24, 1310-1318.
 31. Skoczyńska A., Smolik R., Antonowicz J., Lewczuk E., Affelska-Jercha A.: Wpływ kwasu gamma-linolenowego na wybrane wskaźniki zagrożenia miażdżycą na podstawie badań klinicznych nad preparatem Oeparol. Zbiór Prac Sympozjum „Olej z nasion wiesiołka w profilaktyce i terapii”, Łódź, 9-10 X 1992, s. 111-119.
 32. Sugano M. T., Ide T., Ishida T., Yoshida K.: Hypocholesterolemic effect of gamma-linolenic acid as evening primrose oil in rats. *Ann. Nutr. Metab.* 1986, 30, 289-299.
 33. Sugano M. T., Ishida T., Koba K.: Protein-fat interaction on serum cholesterol level, fatty acid desaturation and eicosanoid production in rats. *J. Nutr.* 1988, 118, 548-554.
 34. Szostak W. B., Cybulska B.: Otyłość wisceralna jako czynnik miażdżycy. *Med. Dypl. wyd. specjalne.* 1996, s. 2-8.
 35. Tsutsumi K.: Lipoprotein lipase and atherosclerosis. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2003, 1 11-17.
 36. Vessy B., Gustafsson I. B., Karlström B., Lithell M., Werner I.: Substitution polyunsaturated for saturated fat as single change in a sweedish diet: effect on serum lipoprotein metabolism and glucose tolerance in patients with hyperlipoproteinemia. *Europ. J. Clin. Inv.* 1980, 10, 193-196.
 37. Wald N. J., Law M. R.: Serum cholesterol and ischaemic heart disease. *Atherosclerosis* 1995, 118 (Suppl.), 1-5.
 38. Welin L., Eriksson H., Larsson B., Ohlson L. O., Svardsudd K., Tibblin G., Wilhelmsen L.: Triglycerides, a major coronary risk factor in elderly men. A study of men born in 1913. *Eur. Heart J.* 1991, 12, 700-704.
 39. Wincewicz E., Zawadzki W., Czerski A., Płoneczka K.: Badania wstępne dotyczące obrazu mikrobiologicznego, morfologii oraz niektórych parametrów fermentacji przewodu pokarmowego szczurów. *Acta. Sci. Pol. Series Med. Vet.* 3, 61-69.
 40. Windoliz M. (ed.): *The Merck Index.* Merck&Co Rahway, NJ 1983.
 41. Zagrodzki P., Starek A.: Dietetyczne znaczenie olejów roślinnych. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2012, 4, 1175-1182.

Adres autora: dr Edyta Wincewicz, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław;
e-mail: edyta.wincewicz@up.wroc.pl