Praca oryginalna *Original paper*

Wpływ suplementacji diety fruktanami i chromem(III) na stężenie glukozy i insuliny w krwi oraz β-oksydację w limfocytach szczurów z cukrzycą typu 1*)

ZBIGNIEW KREJPCIO, TOMASZ KURYŁ*, BOGDAN DĘBSKI*, RAFAŁ W. WÓJCIAK

Katedra Higieny Żywienia Człowieka Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu AR, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań
*Katedra Nauk Fizjologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa

Krejpcio Z., Kurył T., Dębski B., Wójciak R. W.

Effect of dietary supplementation with fructans and chromium(III) on blood glucose and insulin and beta-oxidation in lymphocytes of type 1 diabetic rats

Summary

The 3-factorial study was designed to determine the effects of 5-week dietary supplementation with fructans (inulin or oligofructose, 5% or 10%) as well as a chromium(III) propionate complex (0.3 or 5 mg Cr/kg diet) on blood glucose and insulin, as well as β-oxidation of fatty acids in lymphocytes of STZ induced type 1 diabetic Wistar rats. Dietary inulin supplementation was more efficient in improving blood biochemistry vs. oligofructose. A high-fructan diet significantly lowered blood glucose, insulin resistance index (HOMA-R), and increased β-oxidation of fatty acids in lymphocytes of rats vs. low-fructan diet. Supplementary Cr(III) significantly decreased blood glucose, HOMA-R index and increased β-oxidation activity in lymphocytes of hyperglycemic rats. Moreover, many interaction effects between experimental factors influencing blood biochemical indices were found. The results suggest that dietary fructans and chromium(III) supplementation exerted beneficial effects on glucose and lipid metabolism, increasing the efficiency of their utilization in type 1 diabetic rats.

Keywords: fructans, chromium(III), rats, diabetes

Cukrzyca jest ogólnoświatowym problemem medycznym, a ciągle rosnąca liczba chorych może według prognoz Robertsona i wsp. (22) osiągnąć w 2025 roku 300 mln osób. Bezpośrednią przyczyną cukrzycy jest brak insuliny lub jej nieprawidłowe oddziaływanie z receptorowym układem komórek docelowych, który nie może być zrównoważony udziałem takich hormonów, jak: VIP, amylina, GLP-1, GIP czy CCK-8 na wydzielanie insuliny przez komórki B i glukagonu przez komórki A trzustki. Nieprawidłowy metabolizm cukrów spowodowany ograniczoną możliwością pobierania i metabolizowania cukrów i związane z tym niedobory energetyczne mogą prowadzić w organizmie cukrzyka do wielu chorób, takich jak: ślepota, nieprawidłowa praca nerek, arteriosklerozа, schorzenia układu sercowo-naczyniowego i nerwowego (choroba Alzheimera) czy powstawania nowotworów (10). Problem dotyczy zarówno ludzi, jak i zwierząt. W terapii cukrzycy stosowane są m.in. preparaty zawierające jony Cr^{+3}. Są one niezbędnym składnikiem biorącym udział w metabolizmie glukozy zarówno u organizmów zdrowych (2), jak i u cukrzyków (18) u ludzi oraz u zwierząt (23, 24).

Zalecane dawki i forma podania Cr(III) różnią się w zależności od źródła informacji oraz autorów prac (3, 4). Dodatek chromu do paszy wpływa na jakość tuszek zwierząt po uboju (8, 20). Stwierdzono również, że jony chromu stymulują metabolizm lipidów u fermowych brojlerów (13, 14, 16).

*) Badania wykonane w ramach grantu KBN Nr 0528/P06/2002/23 w latach 2002-2005.

Celem badań było określenie wpływu jonów chromu Cr^{+3} na metabolizm kwasów tłuszczowych u szczurów z wywołaną farmakologicznie cukrzycą typu 1, żywionych dietą o zmniejszonej wartości energetycznej przez zastąpienie części cukrów niestrawnymi fruktanami typu inuliny (FOS).

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 80 rosnących samcach szczurów Wistar (akceptacja Komisji Bioetycznej w Poznaniu, nr 93/2001). Po 48-godzinnej adaptacji, 72 szczurom podano w iniekcji dootrzewnowo roztwór streptozotocyny (STZ w buforze cytrynianowym, pH = 5,3) w dawce 60 mg $\cdot kg^{-1}$ m.c. Grupa kontrolna (K0) otrzymała w iniekcji sam bufor. Po 72 godzinach od iniekcji STZ u szczurów stwierdzono hiperglikemię (> 16,7 mmol $\cdot l^{-1}$), po czym zwierzęta podzielono na 9 grup (po 8 w każdej: K1, 1-8), o zbliżonej średniej masie ciała oraz stężeniu glukozy we krwi (16,7 ± 1,7 mmol $\cdot l^{-1}$) w każdej grupie. Następnie szczury żywiono dietami AIN-93M (21) wzbogaconymi we fruktany i chrom(III), zgodnie z modelem doświadczenia typu 2^3. Czynnikiem A był rodzaj fruktanów (A1 = inulina lub A2 = oligofruktoza), czynnikiem B – poziom dodatku fruktanów (B1 = 5% lub B2 = 10% masy diety), a czynnikiem C – poziom dodatku Cr(III) (C1 = 0,3 mg $\cdot kg^{-1}$ masy diety lub C2 = 5 mg $\cdot kg^{-1}$ masy diety). Inulinę (Frutafit TEX, DP > 10, 95% inuliny) zakupiono w firmie Hortimex, a Oligofruktozę (Raftilose P95, DP 2-8, DP > 93,2% oligofruktozy) w firmie Arnauld Polska Sp z o.o. Źródłem Cr był kompleks Cr(III) z kwasem propionowym, zsyntetyzowany według procedury opisanej przez Earnshaw i wsp. (9). Grupę kontrolną zdrową (K0) oraz grupę kontrolną chorą (K1) karmiono dietą

bez dodatku fruktanów z zawartością Cr 0,3 mg • kg^{-1} diety. Grupy testowe: 1-8, karmiono dietami AIN-93 z modyfikacją w zakresie kombinacji czynników doświadczalnych, odpowiednio: A1B1C1, A2B1C1, A1B2C1, A2B2C1, A1B1C2, A2B1C2, A1B2C2, A2B2C2. Doświadczenie trwało 5 tygodni. Warunki doświadczenia były następujące: 12 h cykl światło/noc, wilgotność względna powietrza 55-60%, temperatura 19-21°C, podaż paszy i wody – *ad libitum.* Po zakończeniu okresu testowego zwierzęta głodzono przez 16 godzin, po czym usypiano (iniekcja thiopentalu, 40 mg • kg^{-1} m.c.), rozcinano powłokę brzuszną i pobierano krew z serca do analiz biochemicznych.

W niniejszym doświadczeniu określono wskaźniki biochemiczne krwi, tj.: stężenie glukozy i insuliny w surowicy krwi, obliczono wskaźnik insulinooporności (HOMA-R) oraz oznaczono β-oksydację kwasów tłuszczowych w limfocytach.

Stężenie glukozy w surowicy oznaczano metodą oksydazową, wykorzystując zestaw Glukoza-oxy (Pointe Scientific Polska, Nr kat. G7519), stężenie insuliny metodą radioimmunologiczną z wykorzystaniem zestawu produkcji Linco Research, Inc. MO, USA (Nr. kat. RI-13K). Oznaczenia β-oksydacji były wykonywane w izolowanych limfocytach metodą Manninga i wsp. (17) w modyfikacji własnej (13). W procesie rozkładu [9,10-^{3}H]-kwasu palmitynowego powstaje trytowana woda, którą oddziela się od radioaktywnego palmitynianu na kolumnie anionitowej. Ilość utworzonej wody jest miarą aktywności procesu β-oksydacji. Stężenie chromu w paszy oznaczano metodą absorpcji atomowej z zastosowaniem spektrometru AAS-3 (Zeiss z deuterową korekcją tła).

Uzyskane wyniki przedstawiono w postaci średnich i odchyleń standardowych, poddano ocenie statystycznej (Anova) w układzie jedno- i wieloczynnikowym, a istotność różnic między grupami oceniono testem Tukeya, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$. Wszystkie obliczenia statystyczne wykonano za pomocą programu komputerowego Statistica 6.0.

Wyniki i omówienie

Jak można się było spodziewać, wywołane farmakologicznie przez iniekcję STZ uszkodzenie komórek b trzustki spowodowało niedobór insuliny i w konsekwencji hiperglikemię. Po 5 tygodniach doświadczenia średni poziom glikemii u szczurów był ponad 3-krotnie wyższy, a insuliny o ok. 69% niższy, jednakże ogólna wrażliwość komórek ustroju na insulinę uległa tylko nieznacznemu obniżeniu w porównaniu z grupą zwierząt zdrowych (tab. 1). Żywienie szczurów chorych na cukrzycę dietami z dodatkiem zróżnicowanych ilości fruktanów i Cr(III) spowodowało istotne zmiany wskaźników biochemicznych krwi. Zwierzęta karmione dietami z wysokim dodatkiem fruktanów i Cr(III) miały na ogół niższe stężenie glukozy i wskaźnik insulinooporności, a zarazem wyższą wydajność β-oksydacji kwasów tłuszczowych w limfocytach, w porównaniu do pozostałych grup (tab. 1). Jak wynika z danych tab. 2, rodzaj fruktanów w diecie miał istotny wpływ na stężenie insuliny w surowicy oraz wskaźnik HOMA-R. Inulina, w porównaniu do oligofruktozy, spowodowała znamienny spadek poziomu insuliny (o ok. 26%) i wskaźnika insulinooporności (o ok. 18%), natomiast istotny wzrost wydajności β-oksydacji kwasów tłuszczowych w limfocytach szczura (o ok. 4,5%). Z kolei poziom fruktanów w diecie oddziaływał znacząco na stężenie glukozy w surowicy, wskaźnik HOMA-R oraz wydajność β-oksydacji kwasów tłuszczowych w limfocytach. Żywienie dietą wysokofruktanową, w porównaniu do niskofruktanowej, spowodowało istotne zmniejszenie poziomu glikemii (o ok. 27%), obniżenie ogólnej insulinooporności (o ok. 29%), natomiast nasilenie tempa β-oksydacji kwasów tłuszczowych w limfocytach (o ok. 12%). Suplementacja diety Cr(III) na poziomie 5 mg · kg^{-1} okazała się korzystna dla gospodarki węglowodanowej, bowiem zanotowano istotny spadek glikemii (o ok. 26%) i insulinooporności (o ok. 35%). Jednocześnie zaobserwowano wzrost wydajności β-oksydacji kwasów tłuszczowych w limfocytach (o ok.

Tab. 1. Wskaźniki biochemiczne krwi szczurów z wywołaną farmakologicznie cukrzycą typu 1 po 35 dniach doświadczenia (n = 8, $x_{sr} \pm SD$)

Grupa	Stężenie glukozy w surowicy (mmol · l^{-1})	Stężenie insuliny w surowicy (µU · ml^{-1})	Wskaźnik HOMA-R*	Wydajność β-oksydacji (pmol min^{-1} · mg^{-1} białka)
K0	$4,94 \pm 0,45^{a}$	$13,48 \pm 2,28^{c}$	$2,96 \pm 0,61^{ab}$	$17,08 \pm 1,99^{a}$
K1	$21,00 \pm 1,67^{e}$	$4,22 \pm 0,71^{ab}$	$3,58 \pm 0,88^{abc}$	$15,83 \pm 0,86^{a}$
1	$18,21 \pm 1,27^{de}$	$4,23 \pm 1,75^{ab}$	$3,79 \pm 0,96^{abc}$	$20,29 \pm 2,17^{b}$
2	$19,71 \pm 1,43^{e}$	$5,73 \pm 0,95^{b}$	$4,87 \pm 0,38^{c}$	$22,09 \pm 2,28^{b}$
3	$15,17 \pm 1,08^{cde}$	$3,39 \pm 1,11^{a}$	$2,91 \pm 0,41^{a}$	$23,92 \pm 2,67^{bc}$
4	$14,50 \pm 1,05^{bc}$	$4,83 \pm 0,77^{ab}$	$2,79 \pm 0,29^{a}$	$17,04 \pm 2,05^{a}$
5	$16,70 \pm 1,03^{cde}$	$3,67 \pm 1,03^{a}$	$3,21 \pm 0,35^{abc}$	$19,60 \pm 1,17^{b}$
6	$13,13 \pm 1,11^{abc}$	$4,77 \pm 0,90^{ab}$	$2,88 \pm 0,36^{ab}$	$20,49 \pm 1,38^{c}$
7	$9,50 \pm 0,66^{a}$	$4,53 \pm 1,28^{ab}$	$2,92 \pm 0,28^{ab}$	$21,67 \pm 1,86^{c}$
8	$10,51 \pm 1,35^{ab}$	$4,54 \pm 0,91^{ab}$	$2,17 \pm 0,40^{ab}$	$29,90 \pm 1,80^{d}$

Objaśnienia: a, b, c, d, e – średnie w kolumnach zaznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie przy $p < 0,05$; * – wskaźnik HOMA-R = stężenie glukozy na czczo (mmol/l) × stężenie insuliny na czczo (µU/ml)/22,5

Tab. 2. Wpływ czynników doświadczalnych na wskaźniki biochemiczne krwi u szczurów z wywołaną cukrzycą typu 1 (w tabelach wartości średnie)

Czynnik doświadczalny	Stężenie glukozy w surowicy (mmol · l^{-1})	Stężenie insuliny w surowicy (µU/ml)	Wskaźnik HOMA-R (%)	Wydajność β-oksydacji (pmol min^{-1} · mg^{-1} białka)
A: rodzaj FOS				
inulina	14,90	3,96	2,79	21,37
oligofruktoza	14,46	4,97 ***	3,39 *	22,38 *
B: poziom FOS				
5%	16,94	4,60	3,59	20,61
10%	12,42 ***	4,32	2,56 ***	23,13 ***
C: poziom Cr w diecie (mg · kg^{-1})				
0,3	16,90	4,54	3,72	20,83
5,0	12,40 ***	4,38	2,43 ***	22,92 ***
AB	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
AC	n.i.	n.i.	n.i.	***
BC	n.i.	*	n.i.	***
ABC	*	n.i.	n.i.	***

Objaśnienia: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; $p < 0,001$; n.i. – nieistotne statystycznie

10%). Ponadto wykazano szereg interakcji między różnymi kombinacjami czynników doświadczalnych w oddziaływaniu na analizowane wskaźniki biochemiczne krwi u szczurów chorych na cukrzycę typu 1 (tab. 2).

Wyniki dotychczasowych doświadczeń żywieniowych wykorzystujących szczury laboratoryjne jako model do badania wpływu diety wzbogaconej we fruktany i Cr(III) na metabolizm ustrojowy w aspekcie profilaktyki zdrowotnej i leczenia cukrzycy są niejednoznaczne, a przy tym tylko w niewielkim stopniu dotyczą ilościowo-jakościowych interakcji między tymi składnikami. We wcześniejszych badaniach własnych (15) wykazano istotny wzrost transportu glukozy w erytrocytach i β-oksydacji kwasów tłuszczowych w limfocytach u szczurów Wistar (zdrowych) żywionych dietą z dodatkiem fruktanów i chromu(III), przy czym efekty te nasilały się wraz ze wzrostem udziału tych składników w diecie. Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że dodatek fruktanów do diety może wpływać korzystnie na metabolizm węglowodanów i lipidów oraz poprawiać bilans składników mineralnych (Ca, Mg, Fe, Zn), co może mieć znaczenie w prewencji i leczeniu wspomagającym cukrzycy typu 1 i 2. W związku z tym, że inulina i oligofruktoza nie są trawione do monosacharydów i nie mają wpływu na poziom glukozy i insuliny w krwi, zostały zastosowanie m.in. do produkcji żywności funkcjonalnej dla diabetyków. Jackson i wsp. (12) w 8-tygodniowym badaniu z udziałem mężczyzn i kobiet w średnim wieku, wykazali, że dodatek 10 g inuliny do diety powodował spadek poziomu insuliny w surowicy krwi. Także Delzenne i Kok (7) donoszą o hipoglikemicznym i hipoinsulinemicznym działaniu fruktanów u zwierząt. W niniejszym doświadczeniu na szczurach z wywołaną cukrzycą typu 1 dodatek do diety fruktanów oraz Cr(III) wpłynął korzystnie na wskaźniki metabolizmu węglowodanów. Zanotowano znaczący spadek stężenia glukozy w surowicy krwi oraz wskaźnika insulinooporności o około 30%, przy czym inulina okazała się bardziej skuteczna od oligofruktozy w oddziaływaniu na te parametry. Diety wysokofruktanowe sprzyjały redukcji poziomu glukozy w surowicy krwi w stopniu znacznie wyższym aniżeli wynikałoby to ze zmniejszenia ich kaloryczności netto. Podobne zmiany zanotowano przy suplementacji Cr(III) na poziomie 5 mg/kg diety. Ghosh i wsp. (11), w badaniach z udziałem pacjentów chorych na cukrzycę typu 2 wykazali, że 12-tygodniowa suplementacja pikolinianem Cr(III) w dawce 400 µg Cr/osobę/dzień obniżała poziom glikemii (na czczo i poposiłkowej), HbA1C oraz stężenie insuliny w surowicy krwi. Podobne wyniki odnośnie do hipoglikemicznego działania Cr(III) u ludzi i zwierząt chorych na cukrzycę uzyskało wielu autorów (2, 5, 6, 19). Zaobserwowane zmiany świadczą o korzystnym oddziaływaniu tych składników na metabolizm węglowodanów w warunkach niewyrównanej hiperglikemii. Mechanizm działania fruktanów na metabolizm glukozy nie jest wyjaśniony. Znacznie więcej wiadomo na temat roli Cr(III). W wielu badaniach eksperymentalnych na zwierzętach oraz z udziałem ludzi chorych na cukrzycę wykazano, że Cr(III) zwiększa skuteczność insuliny i wykorzystanie glukozy przez komórki w testach *in vitro* (26), zwiększa aktywność kinazy tyrozynowej receptora insuliny oraz aktywność błonowej fosfatazy tyrozynowej receptora insuliny (25). Dzięki temu glukoza jest efektywniej wchłaniana i wykorzystywana przez komórki ustroju.

Podsumowanie

Żywienie szczurów chorych na cukrzycę typ 1 dietą z dodatkiem fruktanów i chromu(III) powoduje obniżenie stężenia glukozy we krwi, zmniejszenie insulinooporności oraz nasilenie procesu β-oksydacji, przy czym efekty te nasilają się wraz ze wzrostem udziału tych składników w diecie.

Piśmiennictwo

1. *Anderson R. A.*: Chromium as an essential nutrient for humans. Regul. Toxicol. Pharmacol. 1997, 26, 35-41.
2. *Anderson R. A., Roussel A. M., Zouari N., Mahjoub S., Matheau J. M., Kerkeni A.*: Potential antioxidant effects of zinc and chromium supplementation in people with type 2 diabetes mellitus. J. Am. Coll. Nutr. 2001, 2, 212-218.
3. *Anon.*: Scientific Committee on Food, European Food Safety Authority: Scientific Committee on Food. Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. Scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies, European Food Safety Authority. 2006, 2, 261-271.
4. *Appleton D. J., Rand J. S., Sunvold G. D., Priest J.*: Dietary chromium tripicolinate supplementatiion reduces glucose concentration and improves glucose tolerance in normal-weight cats. J. Feline Med. Surg. 2002, 4, 13-25.
5. *Cefalu W. T., Wang Z. Q., Zhang X. H., Baldor L. C., Russell J. C.*: Oral chromium picolinate improves carbohydrate and lipid metabolism and enhances skeletal muscle Glut-4 translocation in obese, hyperinsulinemic (JCR-LA corpulent) rats. J. Nutr. 2002, 132, 1107-1114.
6. *Cheng N., Zhu X., Shi H., Chi J., Anderson R.*: Follow-up survey of people with type 2 diabetes mellitus consuming supplemental chromium. J. Trace Elem. Expt. Med. 1999, 12, 55-60.
7. *Delzenne N. M., Kok N.*: Effects of fructans-type prebiotics on lipid metabolism. Am. J. Clin. Nutr. 2001, 73, 456S-458S.
8. *Dębski B., Zalewski W., Gralak M. A., Kosla T.*: Chromium-yeast supplementation of chicken broilers in an industrial farming system. J. Trace Elem. Med. Biol. 2004, 18, 47-51.
9. *Earnshaw A., Figgis B. N., Lewis J.*: Chemistry of polynuclear compounds. Part VI. Magnetic properties of timer chromium and iron carboxylates. J. Chem. Soc. A. 1966, 5, 1656-1663.
10. *Frame S., Zheleva D.:* Targeting glycogen synthase kinase-3 in insulin signaling, Expert Opin. Ther. Targets. 2006, 10, 429-444.
11. *Ghosh D., Bhattacharya B., Mukherjee B., Manna B., Sinha M., Chowdhury J., Chowdhury S.*: Role of chromium supplementation in Indians with type 2 diabetes mellitus. J. Nutr. Biochem. 2002, 3, 690-697.
12. *Jackson K. G., Taylor G. R., Clohessy A. M., Williams C. M.*: The effect of the daily intake of inulin on fasting lipid, insulin and glucose concentrations in middle-aged men and women. Br. J. Nutr. 1999, 82, 23-30.
13. *Kurył T., Adamowicz M., Dębski B., Bertrand J., Martynik K.*: Degradation of [9,10] - ^{3}H - myristic acid by lymphocytes. Screening test of inherited disorders of activation, transport and mitochondrial oxidation of fatty acids. Ateroskleroza. 2001, 5, 23-27.
14. *Kurył T., Dębski B.*: Is metabolism of fatty acids in broiler chicken affected by chromium? Ateroskleroza. 2001, 5, 132-133.
15. *Kuryl T., Krejpcio Z., Wójciak R. W., Lipko M., Debski B., Staniek H.*: Chromium(III) propionate and dietary fructans supplementation stimulate erythrocyte glucose uptake and beta-oxidation in lymphocytes of rats. Biol. Trace Elem. Res. 2006, 114, 237-248.
16. *Letexier D., Diraison F., Beylot M.*: Addition of inulin to a moderately high-carbohydrate diet reduces hepatic lipogenesis and plasma triacylglycelor concentrations in human. Am. J. Clin. Nutr. 2003, 73, 559-564.
17. *Manning N. J., Olpin S. E., Pollitt R. J., Webley J.*: A comparison of [9,10-^{3}H] myristic acid for the detection of deffects of fatty acid oxidation in intact fibroblast. J. Inher. Metab. Dis. 1990, 13, 58-68.
18. *McCarty M. F.*: Nitric oxide deficiency, leukocyte activation, and resultant ischemia are crucial to the pathogenesis of diabetic retinopathy/neuropathy – preventive potential of antioxidants, essential fatty acids, chromium, ginkgolides, and pentoxifylline. Med. Hypotheses. 1998, 50, 435-449.
19. *Morris B. W., Kouta S., Robinson R., MacNeil S., Heller S.*: Chromium supplementation improves insulin resistance in patients with Type 2 diabetes mellitus. Diabet. Med. 2000, 17, 684-685.
20. *Pechova A., Pavlata L., Illek J.*: Metabolic effects of chromium administration to dairy cows in the period of stress. Czech J. Anim. Sci. 2002, 47, 1-7.
21. *Reeves P. G., Nielsen H., Fahey G. C.*: AIN-93 – Purified diets for laboratory rodents – final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing Committee on the Reformulation of the AIN-76 A rodent diet. J. Nutr. 1993, 123, 1939-1951.
22. *Robertson L. A., Kim A. J., Werstuck G. H.*: Mechanisms linking diabetes mellitus to the development of atherosclerosis: a role for endoplasmic reticulum stress and glycogen synthase kinase-3. Can. J. Physiol. Pharmacol. 2006, 84, 39-49.
23. *Shinde U. A., Goyal R. K.*: Effect of chromium picolinate on histological alterations in STZ and neonatal STZ diabetic rats. J. Cell Mol. Med. 2003, 7, 322-329.
24. *Shinde U. A., Sharma G., Xu Y. J., Dhalla N. S., Goyal R. K.*: Anti-diabetic activity and mechanism of action of chromium chloride, Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. 2004, 112, 248-252.
25. *Vincent J. B.*: Mechanisms of chromium action: low-molecular-weight chromium-binding substance. J. Am. Coll. Nutr. 1999, 18, 6-12.
26. *Yamamoto A., Wada O., Manabe S.*: Evidence that chromium is an essential factor for biological activity of low-molecular-weight, chromium-binding substance. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1989, 63, 189-193.

Adres autora: dr hab. Zbigniew Krejpcio prof. nadzw. AR, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań; e-mail: zkre@au.poznan.pl