

ZMENY TENKÉHO ČREVA POTKANOV PO PODÁVANÍ OBNÔŽKOVÉHO PEĽU V POTRAVE THE CHANGES IN THE SMALL INTESTINE IN RAT AFTER AN ADMINISTRATION OF POLLEN IN DIET

*Zuzana Hajková, Róbert Toman, Branislav Gálik, Daniel Bíro, Monika Martiniaková,
Jozef Golian, Radoslav Omelka*

Abstract: In this study, the microscopic changes in the small intestine after administration of the pollen addition in rats, were evaluated. The experimental animals were divided into two experimental and one control group of ten rats (5 males and 5 females). Experimental group A was given the addition of pollen in concentration of 0,2 % and group B was fed diet containing 0,5 % of pollen for 90 days. Using quantitative morphometrical methods, we have found statistically significant increase in the relative volume of epithelial tissue and decrease in the mucosa tissue volume of the small intestine in experimental group B as compared to control.

Keywords: pollen, nutrition, small intestine, rats

ÚVOD

V súčasnosti je za potrebné vo väčšej miere využívať nové poznatky vedy pri hľadaní látok prirodzenej povahy (fytobiotiká), k modifikácií a k zefektívneniu tráviacich procesov, zloženia črevnej mikroflóry a k zvyšovaniu prirodzenej imunity zvierat, aj človeka.

Obnôžkový peľ obsahuje značné množstvo sacharidov, esenciálnych lipidov a aminokyselín, vitamínov, provitamínov, minerálnych látok a rôznych fytochemických látok, ako sú polyfenoly a flavonoidy (**Bonvehí, Torrento a Lorente, 2001; Kroyer a Hegedus, 2001; Campos et al., 2003; Human a Nicolson, 2006; Ohta et al., 2007**). Výživná hodnota príslušných zložiek sa veľmi líši v závislosti od botanického zdroju peľu (**Dobrovoda, 1986**). Využitie nutričných vlastností peľu je limitované ich spracovaním v tráviacom systéme a iba časť zložiek sa strávi v tráviacom systéme človeka (**Franchi et al., 1997**). Hlavné biologické účinky peľu sú: antioxidačné, protizápalové a antimikrobiálne (**Campos et al., 2003; Carpes et al., 2007**). Najvýznamnejšie terapeutické účinky, ktoré sú dokumentované najmä vo výskumoch na zvieratách sú: antiprostatické, protizápalové a antikancerogénne (**Yasumoto et al., 1995; Yang, Guo a Zhang, 2007; Maruyama et al., 2010**). Na základe týchto údajov možno peľ považovať za funkčnú potravinu s preukázateľnými terapeutickými a zdravie podporujúcimi vlastnosťami (**Brovarskyi a Brindza, 2010**).

V práci sme opísali a vyhodnotili štruktúry a mikroskopické zmeny steny tenkého čreva po podávaní prídavku peľu v potrave potkanom a na základe získaných výsledkov sme zhodnotili aj prípadné priaznivé pôsobenie peľu a jeho zložiek na trávenie u človeka.

MATERIÁL A METÓDY

V experimentoch sa použili laboratórne potkany línie Wistar. Experimenty sa realizovali v schválenom pokusnom zariadení Katedry veterinárskych disciplín Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre (SK 50004 PC). Zvieratá boli ustajnené individuálne v plastových nádobách (TECNIPLAST, Taliansko) na podstielke z drevených hoblín. V priestoroch pokusného zariadenia sa dodržiavali základné nároky na životné podmienky

(teplota 20 – 22 °C, vlhkosť 55 ± 10 %, 12 hodinový svetelný režim). Zvieratá prijímali vodu aj krmivo *ad libitum*. Krmivo tvorila kompletná kŕmna zmes pre laboratórne myši a potkany M3 (Machal, ČR). Mláďatá sa po odstave od matiek vo veku štyroch týždňov rozdelili do troch skupín (kontrola, A, B) a zaradili do pokusu. V každej skupine bolo 5 samcov a 5 samíc. Kontrolná skupina prijímala kŕmnu zmes M3 bez prídavkov peľu. Do krmiva rovnakého zloženia sme zamiešali repkový obnôžkový peľ, ktorý v skupine A tvoril koncentráciu 0,2 % a v skupine B koncentráciu 0,5 %. Krmivo s prídavkom obnôžkového peľu sa podávalo obojm skupinám počas 90 dní. Po 90 dňoch podávania krmiva s prídavkom obnôžkového peľu v prípade pokusných zvierat a po dosiahnutí rovnakého veku v prípade kontrolných potkanov sme zvieratá usmrtili humánnym spôsobom v súlade s nariadením vlády č. 23/2009 Z. z.. Zvieratá sme odvážili a bezprostredne po usmrtení sme odobrali vzorky tenkého čreva, lačníka, na histologické spracovanie. Vzorky tkanív na histologické vyšetrenie sme spracovali rutinnými metódami a ofarbili hematoxylínom a eozínom.

Po vyhotovení histologických preparátov tenkého čreva sme na preparátoch hodnotili stavbu steny tenkého čreva, hlavne sliznicu, formovanie klkov a epitelu s jednotlivými typmi buniek na úrovni svetelnej mikroskopie, pomocou mikroskopu Olympus AX 70 Provis (Japonsko). Opísali sme viditeľné štruktúry a prípadné zmeny v tkanive tenkého čreva. Ďalej sme tkanivo čreva hodnotili kvantitatívnymi bodovými morfometrickými metódami podľa Uhrína a Kulíšeka (1980). Pomocou fotoaparátu (Olympus C5050-Z, Japonsko), inštalovanom k svetelnému mikroskopu (Nikon Eclipse E600, Japonsko), sme pri 100-násobnom zväčšení nafotili 10 rôznych zorných polí mikroskopu (z 2 až 3 preparátov) pre každé z 10 pokusných zvierat v skupine, spolu teda 300 mikrofotografií zo vzoriek tenkého čreva. Pomocou testovacej mriežky obsahujúcej 494 testovacích bodov sme zisťovali kvantitatívne zastúpenie epitelu a väziva sliznice tenkého čreva na jednotlivých mikrofotografiách. Samotné počítanie jednotlivých bodov epitelu a väziva sa uskutočnilo automaticky, komputervizovaným systémom, pomocou morfometrického softvéru M.I.S. Quick Photo. Po zistení množstva bodov epitelu a väziva sliznice tenkého čreva, sme vyjadrili percentuálne zastúpenie jednotlivých tkanív.

Štatistické spracovanie výsledkov sme vykonali prostredníctvom štatistického programu - SAS Enterprise Guide 9.1 (USA)

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Hodnotením stavby tenkého čreva, lačníka, kontrolných zvierat sme pozorovali normálne utváranú sliznicu s klkami pokrytú jednovrstvovým cylindrickým epitelom s enterocytmi, pohárikovitými bunkami. Medzi klkami boli dobre pozorovateľné Lieberkühnove krypty. Hodnotením mikroskopických preparátov lačníka po podávaní 0,2 % koncentrácie peľu sme subjektívne pozorovali predĺžovanie klkov. Podobne po podávaní 0,5 % koncentrácie peľu v krmive sme pozorovali vyššie klky, ako aj hustejšie usporiadanie týchto klkov na jednotku plochy. Kvantitatívnymi morfometrickými metódami sme zistili percentuálne zastúpenie epitelu a väziva lačníka (Tab. 1 a 2).

Oproti kontrole sme pre skupinu A zaznamenali mierny nárast objemu epitelu o 1,78 % a rovnako mierny pokles objemu väziva, identicky o 1,78 %. Tieto rozdiely však neboli štatisticky preukazné. Pre skupinu B sme oproti kontrole zistili štatisticky preukazný ($P < 0,0001$) nárast epitelu o 4,22 % a štatisticky preukazný ($P < 0,0001$) pokles väziva rovnako o 4,22 %.

Z uvedených výsledkov vyplýva, že peľ podávaný v potrave perorálne pokusným zvieratám, počas 90 dní, v koncentrácii 0,2 % spôsobil mierny, ale nepreukazný nárast epitelu, sliznice, tenkého čreva a v koncentrácii 0,5 % preukazne ($P < 0,0001$) zvýšil percentuálny objem epitelu a znížil percentuálny objem väziva.

Tab. 1 Výsledné štatistické ukazovatele percentuálneho objemu epitelu tenkého čreva

Epitel	N	X [%]	SD	Minimum	maximum	V [%]
Kontrola	100	65,22	7,92	32,31	80,44	12,15
Skupina A	100	67,01	5,95	53,23	81,73	8,88
Skupina B	100	69,45	6,22	44,49	83,34	8,95

**** P < 0,0001, N – počet hodnotených vzoriek, X – aritmetický priemer, SD – smerodajná odchýlka, V – variačný koeficient

Tab. 2 Výsledné štatistické ukazovatele percentuálneho objemu väziva tenkého čreva

Väzivo	N	X [%]	SD	minimum	maximum	V [%]
Kontrola	100	34,78	7,92	19,56	67,69	22,78
Skupina A	100	32,99	5,95	18,27	46,77	18,03
Skupina B	100	30,55	6,22	16,67	55,51	20,35

**** P < 0,0001, N – počet hodnotených vzoriek, X – aritmetický priemer, SD – smerodajná odchýlka, V – variačný koeficient

V podobnej štúdií sa hodnotili účinky včelieho peľu na vývoj zažívacieho ústrojenstva u brojlerových kurčiat. Kontrolná skupina bola kŕmená základnou diétou a experimentálna skupina bola kŕmená základnou diétou obohatenou o 1,5 % prídavok peľu, počas 6 týždňov. Výsledky preukázali, že v porovnaní s kontrolnou skupinou, boli klky v tenkom čreve, duodene, jejune a ileu u experimentálnej skupiny dlhšie a hrubšie (Wang et al., 2007). Celepli et al. (2011) zistili, že prídavok peľu v krmive je účinný v prevencii vnútro brušných pooperačných zrástov a za tieto účinky sú pravdepodobne zodpovedné protizápalové a antioxidantné vlastnosti peľu. Rovnako priaznivo pôsobil prídavok peľu v potrave aj na gravidne samice laboratórných potkanov línie Sprague – Dawley. Skupiny kŕmené peľom dosiahli preukazne vyššiu telesnú hmotnosť a vyššie hodnoty hemoglobínu, celkových proteínov, železa a albumínu v krvnom sére oproti kontrolnej skupine (Xie, Wan a Li, 1994).

Pozitívne, ochranné a regeneračné účinky prídavku peľu v potrave boli zaznamenané aj v ďalších výskumoch. Obnôžkový peľ z *Cystus incanus* podávaný laboratórnym myšiam v dávke 100 mg.kg⁻¹ do základného krmiva znížil v pečeni experimentálnych zvierat množstvo génov pre apoptózu a chemotaxiu (Saric et al., 2009). Samci potkanov línie Wistar boli vystavení organickým rozpúšťadlám v toxikologickej komore po dobu 3 až 6 mesiacov. Aj v tomto pokuse prípravok Cernitin pôsobil profilakticky a normalizoval poškodenie enzymatických a lipidových parametrov (Ceglecka, 1992). Bevzo a Grygoreva (1997) skúmali pečeň myši, ktoré boli ožiarené nižšími kvantami rtg. žiarenia. Zistili, že rtg. žiarenie aktivovalo v pečeni zvierat antioxidantné enzýmy a peroxidáciu lipidov. Po podaní včelieho peľu sa ožiareným myšiam preukazne normalizovala činnosť niekoľkých enzýmov glutatiónového systému v pečeni.

ZÁVER

Hodnotením stavby tenkého čreva, kontrolných zvierat sme pozorovali normálne utváranú sliznicu s klkami pokrytú jednovrstvovým cylindrickým epitelom s enterocytmi a pohárikovitými bunkami. Medzi klkami boli dobre pozorovateľné Lieberkühnove krypty. Po

podávaní 0,2 % koncentrácie peľu, sme subjektívne pozorovali predlžovanie klkov. Rovnako po podávaní 0,5 % koncentrácie peľu v krmive sme pozorovali vyššie klky a aj ich hustejšie usporiadanie na jednotku plochy. Pomocou morfometrických metód sme zistili, že perorálne podávaný peľ v potrave pokusným zvieratám, počas 90 dní, v koncentrácii 0,2 % spôsobil mierny, ale nepreukazný nárast epitelu, sliznice, tenkého čreva a v koncentrácii 0,5 % preukazne ($P < 0,0001$) zvýšil percentuálny objem epitelu a znížil percentuálny objem väziva.

Prídavok peľu v potrave má preukázateľné účinky na sliznicu tenkého čreva v závislosti od koncentrácie a mohol by mať priaznivý vplyv na zlepšenie absorpčnej plochy sliznice a na lepšiu využiteľnosť prijímaných živín v potrave.

LITERATÚRA

- BEVZO, V. V., GRYGOREVA, N. P. 1997. Effect of bee pollen extract on glutathione system activity in mice liver under X-ray irradiation. In *Ukrainskii Biokhimičeskii Zhurnal*, vol. 69, no. 4, p. 115-117.
- BONVEHI, S. J., TORRENTO, S. M., LORENTE, C., E. 2001. Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 49, no. 3, p. 1848-1853.
- BROVARSKYI, V. D., BRINDZA, J., et al. 2010. Kyjev - Nitra: FOP I.S. Maidachenko, 290 s. ISBN 978-966-8302-31-2
- CAMPOS, M. G., WEBBY, R. F., MARKHAM, M., MITCHELL, K. A., CUNHA, A. P. 2003. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 51, p. 742-745.
- CARPES, S. T., BEGNINI, R., DE ALENCAR, S. M. 2007. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. In *Ciencia e Agrotecnologia*, vol. 31, no. 6, p. 1818-1825.
- CEGLECKA, M., WOJCICKI, J., GONET, B. A. PUT, W. KUŽNA-GRYGIEL, L. SAMOCHOWIEC. 1991. Effect of pollen extracts on prolonged poisoning of rats with organic solvents. In *Phytotherapy Research*, vol. 5, no. 6, p. 245-249.
- CELEPLI, S., KISMET, K., KAPTANOĞLU, B., EREL, S., OZER, S., CELEPLI, P., KAYGUSUZ, G., DEVRIM, E., GENÇAY, O., SORKUN, K. 2011. The effect of oral honey and pollen on postoperative intraabdominal adhesions. In: *The Turkish Journal of Gastroenterology*, vol. 22, no. 1, p. 65-72.
- FRANCHI, G. G., FRANCHI, G., CORTI, P., POMPELLA, A. 1997. Microspectrophotometric evaluation of digestibility of pollen grains. In *Plant Food for Human Nutrition*, vol. 50, no. 2, p. 115-126.
- DOBROVODA, I. 1986. *Včelie produkty a zdravie*. Bratislava: Príroda, 1986. 312 s. ISBN 64-109-86.
- KROYER, G., HEGEDUS, N. 2001. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. In *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 2, no. 3, p. 171 – 174.
- MARUYAMA, H., SAKAMOTO, T., ARAKI, Y., HARA, H. 2010. Anti-inflammatory effect of bee pollen ethanol extract from *Cistus sp.* of Spanish on carrageenan-induced rat hind paw edema. In *BMC Complement Alternative Medicine*, vol. 10, no. 1, 30 p.
- OHTA, S., FUJIMAKI, T., YANAI, M., YUKIYOSHI, A., HIRATA, T. 2007. Antioxidant hydroxycinnamic acid derivatives isolated from Brazilian bee pollen. In *Natural Product Research*, vol. 21, no. 8, p. 726-732.
- SARIC, A., BALOG, T., SOBOCANEC, S., KUSIĆ, B., SVERKO, V., RUSAK, G., LIKIĆ, S., BUBALO, D., PINTO, B., REALI, D., MAROTTI, T. 2009. Antioxidant effects of flavonoid from Croatian *Cystus incanus L.* rich bee pollen. In *Food and Chemical Toxicology an International Journal*, vol. 47, no. 3, p. 547-554.
- WANG, J., LI, S., WANG, Q., XIN, B., WANG, H. 2007. Trophic effect of bee pollen on small intestine in broiler chickens. In *Journal of Medicinal Food*, vol. 10, no. 2, p. 276-280.
- UHRÍN, V., KULÍŠEK, V. 1980. Využitie morfometrických metód pre stanovenie hrúbky svalových vlákien. In *Živočišna výroba*, vol. 25, no. 12, p. 935-942.
- XIE, Y., WAN, B., LI, W. 1994. Effect of bee pollen on maternal nutrition and fetal growth. In *Journal of West China University of Medicinal Sciences*, vol. 25, no. 4, p. 434-437.
- YASUMOTO, R., KAWANISHI, H., TSUJINO, T., TSUJITA, M., NISHISAKA, N., HORII, A., KISHIMOTO, T. 1995. Clinical evaluation of long-term treatment using cernitin pollen extract in patients with benign prostatic hyperplasia. In *Clinical Therapeutics*, vol. 17, no. 1, p. 82-87.
- YANG, X., GUO, D., ZHANG, J. 2007. Characterization and antitumor activity of pollen polysaccharide. In *International Immunopharmacology*, vol. 7, no. 4, p. 427-434.

Pod'akovanie: Príspevok bol finančne podporený grantom KEGA MŠ SR č. 025UKF-4/2012.

Kontaktná adresa: Ing. Zuzana Hajková, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Katedra veterinárskych disciplín, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, E-mail: zuzana.hajkova01@gmail.com