

Vplyv pleuránu na kolitídu potkana

PAVEL BOBEK - VIERA NOSÁIOVÁ - SILVIA ČERNÁ

SÚHRN. Sledoval sa vplyv pleuránu (β -glukánu izolovaného z huby *Pleurotus ostreatus*) prijímaného počas 1 mesiaca buď v diéte (2 %) alebo pitím 0,44 % roztoku hydrogél pleuránu na modelovú akútnu kolitídu potkana. Kolitída bola indukovaná intraluminálnou instiláciou 4% kyseliny octovej. Po 48 h boli zvieratá usmrtené a sledoval sa rozsah poškodenia kolonu a viaceré biochemické parametre. Makroskopické skóre zápalového poškodenia čreva sa pod vplyvom pleuránu v diéte znížilo o 51 % a o 67 % pri pití hydrogél pleuránu. Oba diétne režimy zabránili signifikantnému vzostupu hmotností kolonu, pozorovaného u zvierat s kolitídou kŕmených kontrolnou diétou. Oba pleuránové diétne režimy redukovali v zapálenom segmente kolonu zvýšenie aktivít myeloperoxidázy. Poškodenie kolonu bolo pri kontrolnej diéte sprevádzané zníženými aktivitami lyzozomálnych enzýmov, kyslej fosfatázy a katepsínu D, ale oba pleuránové režimy tento pokles signifikantne zmiernili. Oba diétne režimy s pleuránom znížili obsah konjugovaných diénov v erytrocytoch, pečeni i tkanive kolonu. Naproti tomu aktivity antioxidantných enzýmov boli ovplyvnené len málo výrazne. U intaktných zvierat pleurán i jeho hydrogél zvýšili aktivity superoxiddismutázy v erytrocytoch. U zvierat s kolitídou sa pod vplyvom hydrogél pleuránu zvýšili aktivity superoxiddismutázy v kolone a glutatióntransferázy v erytrocytoch. Naše výsledky naznačili účasť stimulácie antioxidantnej obrany v mechanizme protektívneho efektu pleuránu v diéte.

KLÍČOVÉ SLOVÁ: kolitída; potkan; pleurán; lipoperoxidácia

Napriek intenzívnemu výskumu, nešpecifické zápalové črevné ochorenia (ulcerózna kolitída a Crohnova choroba) patria k chronickým ochoreniam so stále neznámou etiológiou a patogenézou [1]. Z viacerých etiopatogénnych mechanizmov, pravdepodobne najmä imunologické procesy a pôsobenie reaktívnych kyslíkových metabolitov (ROM) prispievajú k vyvolaniu tkanivového poškodenia [1-3]. Hlavnými zdrojmi ROM sú fagocytárne leukocyty prítomné vo veľkom množstve v inflamovanej mukóze, metabolizmus xantínoxidázy v kolonocytoch a oxidácia kyseliny arachidónovej [2,4]. Nakoľko

RNDr. Pavel BOBEK, CSc., RNDr. Silvia ČERNÁ, CSc, Ústav preventívnej a klinickej medicíny, Limbová 14, 833 01 Bratislava.

MUDr. Viera NOSÁIOVÁ, Ústav experimentálnej farmakológie SAV, Dúbravská cesta 9, 842 16 Bratislava.

mukóza kolonu obsahuje relatívne malé množstvá antioxidačných enzýmov, môže byť rovnováha medzi prooxidačnými a antioxidačnými procesmi ľahko porušená s následným rozvojom oxidačného stresu, čo vedie k poškodeniu molekúl biologických systémov a môže vyústiť do poškodenia tkaniva [5,6]. V našich štúdiách o mechanizme metabolických efektov hľivy ustricovitej (*Pleurotus ostreatus*) sme zistili, že pleurán (β -1,3-D-glukán, izolovaný z tejto huby ako hlavný vlákninový komponent) pridaný do diéty potkanov znižuje lipoperoxidáciu a zvyšuje aktivity antioxidačných enzýmov [7]. Bolo dokázané, že glukány, štrukturálne rozdielna skupina glukózových polymérov z iných mikrobiálnych alebo fungálnych zdrojov (štrukturálne identických s pleuránom) sú lapačmi ROM [8]. Glukány sú považované za látky schopné modifikovať biologické odpovede. K ich imunomodulačnému efektu patrí schopnosť zvyšovať odolnosť voči infekcii, rádiácii a karcinogéze [9-11]. Vzhľadom k preukázaným imunomodulačným a antioxidačným vlastnostiam orálne aplikovaného pleuránu bolo zaujímavé sledovať možný nutričný vplyv na rozvoj kolitídy, indukovanej u potkana intraluminálne aplikovanou kyselinou octovou.

Materiál a metódy

Všeobecné pokusné podmienky

K pokusu boli použité samce potkanov (Wistar, Ústav experimentálnej farmakológie SAV, Chovná stanica Dobrá Voda, $n = 45$) s počiatočnou hmotnosťou 170–180 g. Zvieratá boli chované v štandardných podmienkach a mali neobmedzený prístup k štandardnej chovnej potrave a pitnej vode. Potkany boli náhodne rozdelené do 3 skupín po 15 zvieratách. Zvieratá kontrolnej skupiny boli kŕmené uvedenou štandardnou chovnou diétou, zvieratá prvej pokusnej skupiny mali v tejto diéte 2 % nahradené práškovým pleuránom. Pleurán bol izolovaný z čerstvých plodníc hľivy ustricovitej pomocou extrakcie 0,15 M NaOH; produkt bol reextrahovaný acetónom a usušený pri 60 °C [12]. Druhá pokusná skupina bola kŕmená štandardnou chovnou diétou, pričom jediným zdrojom tekutín bol hydrogél pleuránu pripravený 1 : 4 riedením 2,2% suspenzie pleuránu vo vode. Po 4 týždňoch sa u 10 zvierat z každej skupiny vyvolala kolitída: zvieratám sa v tiopentalovej narkóze po laparotómii aplikovalo do hrubého čreva 2 ml 4% kyseliny octovej (zvyšným 5 zvieratám v skupine sa v rovnakých podmienkach aplikoval fyziologický roztok) [13,14]. Po 50 s expozície sa kyselina octová odsala, brucho sa zašilo a zvieratá sa vrátili k bežnému režimu. Za 48 h boli zvieratá v ľahkej éterovej narkóze usmrtené.

Hodnotenie rozsahu kolitídy

Hrubé črevo bolo vyňaté, zvážené a po longitudiálnom otvorení sa zápalové poškodenie hodnotilo v 5-bodovej stupnici s využitím kritérií Wallacea a kol. [15], modifikovaných Nosálovou a Bauerom [14].

Biochemické analýzy

V erytrocytoch, pečeni a tkanive hrubého čreva sme stanovili konjugované diény [16]. V erytrocytoch a tkanive hrubého čreva sme stanovili aktivity anti-oxidačných enzýmov superoxiddismutázy (SOD) súpravou Randox Lab., Ltd, UK, katalázy (KAT) [17], glutatiónperoxidázy (GSH-PX) [18], glutatión-S-transferázy (GST) [19], obsah redukovaného glutatiónu (GSH) [20] a proteínov [21]. Všetky analýzy sa robili z nezapáleného segmentu čreva. Naproti tomu aktivity myeloperoxidázy a lyzozomálnych enzýmov sa urobili v nezapálenom i zapálenom segmente čreva. Aktivita myeloperoxidázy (MPO) sa stanovila podľa Bradleyho [22] v modifikácii Nosálovej a Bauera [14]. Aktivity kyslej fosfatázy (ACP) sa stanovili súpravou Bio-La ACP 60 a katepsínu D Ansenovou metódou v modifikácii Navarovej a Nosálovej [23]. Vzorky materiálu boli do realizácie analýz uchovávané pri -70°C . Výsledky boli štatisticky hodnotené jednofaktorovou analýzou variácií s Tukey-Kramerovým viacnásobným porovnávacím testom, alebo Mann-Whitneovým U testom.

Výsledky

Finálne telesné hmotnosti zvierat neboli signifikantne ovplyvnené, aj keď v priemere boli najnižšie u zvierat kŕmených diétou s práškovým pleuránom. Suplementácia diéty pleuránom, či jeho hydrogélom, u intaktných zvierat signifikantne neovplyvnila hmotnosti hrubého čreva. Obe formy pleuránu však brzdili vzostup hmotnosti kolonu (o 36 %) indukovaný kyselinou octovou u potkanov na kontrolnej diéte. Intrakolonová aplikácia kyseliny octovej spôsobila difúziu hyperémiu a krvácanie s ohniskovými eróziami a ulceráciami. Suplementácia obomi formami pleuránu výrazne znížila dispozíciu k vyvolaniu kolitídy. Makroskopicky hodnotené skóre zápalu bolo o 51,2 % nižšie pri diéte s pleuránom a o 67,4 % nižšie pri pití hydrogélú pleuránu (tab. 1).

Aktivity MPO (ktorej hodnoty sú pokladané za mieru infiltrácie neutrofilmi), výrazne zvýšené v zapálenom segmente kolonu, signifikantne poklesli pod vplyvom oboch pleuránových režimov, výraznejšie pri hydrogélovej forme pleuránu (o 59,7 resp. 82,8 %). V nezapálenom segmente kolonu, alebo u intaktných zvierat sa nepreukázal signifikantný vplyv diét, ale v oboch prípadoch boli aktivity MPO najnižšie pri diéte s hydrogélom pleu-

TAB. 1. Telesné hmotnosti, hmotnosti kolonu a skóre zápalového poškodenia kolonu u potkanov.

TAB. 1. Body weight, colonic wet weight and colonic damage score in rats.

Parameter ¹	Diétny režim ²					
	kontrolná diéta ³		diéta s práškovým pleuránom ⁴		pitie hydrogélú pleuránu ⁵	
	Intraluminálna aplikácia ⁶					
	kyselina octová ⁷	fyziológický roztok ⁸	kyselina octová	fyziológický roztok	kyselina octová	fyziológický roztok
n	10	5	10	5	10	5
Telesná hmotnosť ⁹ [g]	288 ± 7	286 ± 10	276 ± 8	272 ± 9	280 ± 8	288 ± 10
Hmotnosť kolonu ¹⁰ [g]	1,80 ± 0,08	1,32 ± 0,03 ^s	1,54 ± 0,07	1,41 ± 0,07	1,45 ± 0,06 ^b	1,31 ± 0,05
Skóre zápalového poškodenia kolonu ¹¹	4,3 ± 0,07	–	2,1 ± 0,3 ^{a*}	–	1,4 ± 0,3 ^{b*}	–

Údaje sú priemery ± SEM (štandardná odchýlka aritmetického priemeru) pre n počet zvierat v skupine. a, b - štatistická preukaznosť oproti kontrolnej diéte: a - p < 0,05, b - p < 0,01 (jednofaktorová analýza variácií, * - Mannov-Whitneyho U test).

§ - štatistická preukaznosť oproti aplikácii kyseliny octovej: p < 0,001.

Values represent means ± SEM (standard error of the mean) for n animals in the group.

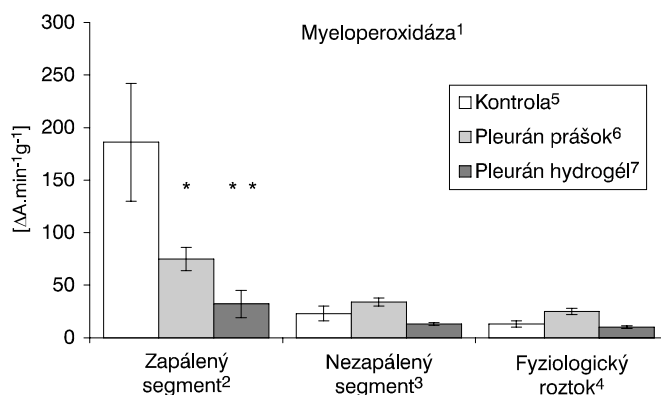
a, b - statistical significance in comparison with the control diet: a - p < 0.05, b - p < 0.01 (one-way analysis of variance, * - Mann-Whitney U test).

§ - statistical significance in comparison with the acetic acid administration: p < 0.001.

1 - parameter, 2 - dietary regimen, 3 - control diet, 4 - pleuran powder diet, 5 - drinking of pleuran hydrogel, 6 - intraluminal administration, 7 - acetic acid, 8 - saline, 9 - body weight, 10 - wet colon weight, 11 - colonic damage score.

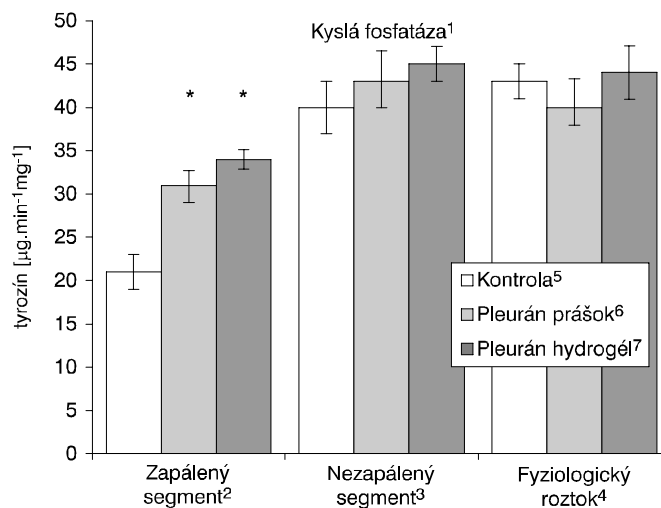
ránu (obr. 1). Aktivity kyslej fosfatázy a katepsínu D boli v zapálenom segmente kolonu pri všetkých diétach signifikantne nižšie ako v intaktnom segmente, či po aplikácii fyziologického roztoku. Toto zníženie veľmi výrazne a signifikantne brzdili oba režimy s pleuránom, výraznejšie s hydrogélom pleuránu, čo svedčí o znížení zápalovej deštrukcie kolonu (obr. 2 a 3). V nezapálenom segmente alebo u intaktných potkanov sa vplyv diét na aktivitu spomínaných enzýmov nepreukázal.

Suplementácia diét pleuránom u zvierat s kolitídou znížila (a výraznejšie pri aplikácii jeho hydrogélovej formy) obsah konjugovaných diénov v erytrocytoch, pečeni i v kolone (o 62–67 %, 41–48 %, resp. 28–41 %). Oba pleuránové režimy len málo výrazne ovplyvnili aktivity antioxidantných enzýmov a obsah glutatiónu v erytrocytoch a kolone. U intaktných zvierat pleurán i jeho hydrogél zvýšili aktivity superoxidodismutázy (SOD) v erytrocytoch. U zvierat s kolitídou sa pod vplyvom hydrogélú pleuránu signifikantne zvýšili aktivity SOD v kolone a glutatiónttransferázy v erytrocytoch. Bez ohľadu na



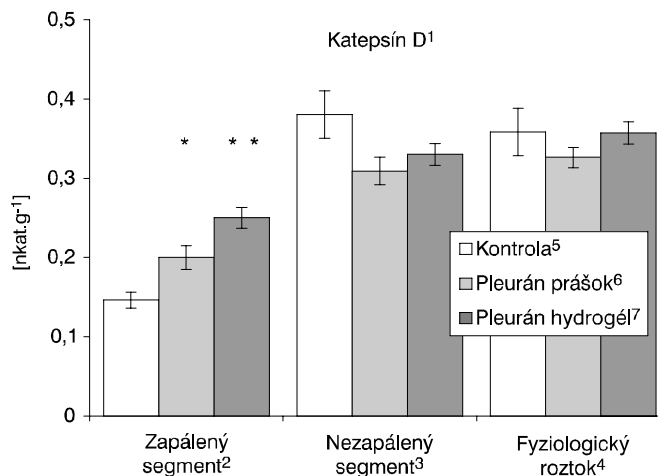
OBR. 1. Aktivita myeloperoxidázy v zapálenom a nezapálenom segmente kolonu po aplikácii kyseliny octovej a v kolone po aplikácii fyziologického roztoku. Hodnoty sú priemery \pm SEM. *, ** - štatisticky preukazné oproti kontrole: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$.

FIG. 1. Myeloperoxidase activities in inflamed and non-inflamed colon segments and in the colon of sham operated rats. Values represent means \pm SEM. *, ** - statistical significance in comparison with the control: * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$. 1 - myeloperoxidase, 2 - inflamed segment, 3 - non-inflamed segment, 4 - saline, 5 - control, 6 - pleuran powder, 7 - pleuran hydrogel.



OBR. 2. Aktivita kyslej fosfatázy v zapálenom a nezapálenom segmente kolonu po aplikácii kyseliny octovej a v kolone po aplikácii fyziologického roztoku. Hodnoty sú priemery \pm SEM. * - štatisticky preukazné oproti kontrole: * - $p < 0,001$.

FIG. 2. Acid phosphatase activities in inflamed and non-inflamed colon segments and in the colon of sham operated rats. Values represent means \pm SEM. * - statistical significance in comparison with the control: * - $p < 0.001$. 1 - acid phosphatase, 2 - inflamed segment, 3 - noninflamed segment, 4 - saline, 5 - control, 6 - pleuran powder, 7 - pleuran hydrogel.



OBR. 3. Aktivita katepsínu D v zapálenom a nezapálenom segmente kolonu po aplikácii kyseliny octovej a v kolone po aplikácii fyziologického roztoku. Hodnoty sú priemery \pm SEM. *, ** - štatisticky preukazné oproti kontrole: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,001$.

FIG. 3. Cathepsine D activity in inflamed and non-inflamed colon segment and in the colon of sham operated rats.

Values represent means \pm SEM. *, ** - statistical significance in comparison with the control: * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.001$. 1 - cathepsine D, 2 - inflamed segment, 3 - non-inflamed segment, 4 - saline, 5 - control, 6 - pleuran powder, 7 - pleuran hydrogel.

diétu boli aktivity všetkých antioxidačných enzýmov v kolone podstatne nižšie ako v erytrocytoch. Najvýraznejší bol tento rozdiel v prípade katalázy, keď hodnoty v erytrocytoch boli až 1000-násobne vyššie ako v kolone (tab. 2).

Diskusia

Výsledky našej štúdie preukázali, že suplementácia diétného režimu pleuránom (formou suplementácie diéty alebo nápoja) jednoznačne zvýšila rezistenciu ku kolitíde indukovanej kyselinou octovou. Dosvedčili to menšie ako polovičné hodnoty makroskopického skóre poškodenia kolonu, nižšie hmotnosti kolonu a priaznivé zmeny viacerých biochemických parametrov v porovnaní s kontrolnou diétou. Zistili sa menšie ako polovičné hodnoty aktivít MPO, čo nasvedčuje, že pleurán znížil migráciu a akumuláciu neutrofilov v mieste zápalového poškodenia [1]. Polymorfonukleárne neutrofil sa podieľajú na patogenéze zápalového ochorenia čreva ako hlavný zdroj

TAB. 2. Konjugované diény, aktivity antioxidantných enzýmov a obsah glutatiónu v erytrocytoch a tkanive kolonu u potkanov.

TAB. 2. Conjugated dienes, antioxidant enzyme activities and glutathione content in erythrocytes, liver and colonic tissue in rats.

Parameter ¹	Diétny režim ²					
	kontrolná diéta ³		diéta s práškovým pleuránom ⁴		pitie hydrogélu pleuránu ⁵	
	Intraluminálna aplikácia ⁶					
	kyselina octová ⁷	fyziologický roztok ⁸	kyselina octová	fyziologický roztok	kyselina octová	fyziologický roztok
n	10	5	10	5	10	5
Konjugované diény ^{9*}						
Erytrocyty ¹⁰ [d.ml ⁻¹]	3,81 ± 0,60	4,12 ± 1,02	1,45 ± 0,32 ^c	1,10 ± 0,40	1,25 ± 0,15 ^c	1,70 ± 0,61
Pečeň ¹¹ [d.g ⁻¹]	28,4 ± 4,3	19,7 ± 4,0	16,8 ± 2,3 ^a	17,2 ± 1,7	14,9 ± 0,6 ^b	16,7 ± 2,6
Kolon ¹² [d.g ⁻¹]	10,41 ± 0,80	8,25 ± 0,85	7,53 ± 1,12	8,48 ± 1,44	6,17 ± 0,29 ^b	8,45 ± 1,3
SOD**						
Erytrocyty [U.ml ⁻¹]	182 ± 6	99 ± 6 [§]	156 ± 16	236 ± 13 ^{§,c}	151 ± 7	152 ± 6 ^{c,A}
Kolon [U.mg ⁻¹]	72 ± 11	111 ± 10	117 ± 6	96 ± 4	133 ± 20 ^a	86 ± 8
KAT**						
Erytrocyty [U.ml ⁻¹]	1186 ± 142	1207 ± 162	1345 ± 104	1098 ± 199	1174 ± 80	1556 ± 272
Kolon [U.mg ⁻¹]	0,85 ± 0,05	0,88 ± 0,13	0,78 ± 0,07	0,94 ± 0,05	0,80 ± 0,13	1,04 ± 0,05
GSH-PX**						
Erytrocyty [U.ml ⁻¹]	4,74 ± 0,23	5,03 ± 0,26	3,52 ± 0,19	3,83 ± 0,37	4,45 ± 0,17	3,98 ± 0,32
Kolon [U.mg ⁻¹]	0,029 ± 0,007	0,036 ± 0,002	0,044 ± 0,003	0,032 ± 0,006	0,041 ± 0,005	0,040 ± 0,003
GST**						
Erytrocyty [U.ml ⁻¹]	0,87 ± 0,04	1,11 ± 0,10	0,80 ± 0,04	1,01 ± 0,06	1,11 ± 0,04 ^{c,C}	0,96 ± 0,10
Kolon [U.mg ⁻¹]	0,045 ± 0,003	0,045 ± 0,003	0,040 ± 0,003	0,034 ± 0,005	0,053 ± 0,011	0,031 ± 0,004
GSH***						
Erytrocyty [U.ml ⁻¹]	0,22 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,19 ± 0,01
Kolon [U.g ⁻¹]	1,43 ± 0,13	1,42 ± 0,09	1,40 ± 0,08	1,34 ± 0,08	1,57 ± 0,06	1,49 ± 0,06

Údaje sú priemery ± SEM pre n zvierat.

Údaje sú vyjadrené: * - v optickej denzite (d), meranej pri 233 nm na ml erytrocytov alebo g tkaniva; ** - na ml erytrocytov alebo mg proteínu, *** - na ml erytrocytov alebo g tkaniva.

a, b, c - štatistická preukaznosť oproti skupine na kontrolnej diéte: a - $p < 0,05$, b - $p < 0,01$, c - $p < 0,001$. A, C - štatistická preukaznosť oproti skupine na diéte s práškovým glukánom: A - $p < 0,05$, C - $p < 0,001$.

§ - štatistická preukaznosť oproti skupinám po aplikácii kyseliny octovej: $p < 0,01$.

SOD - superoxididismutáza, KAT - kataláza, GSH-PX - glutatiónpoxidáza, GST - glutatió-S-transferáza, GSH - redukovaný glutatión.

Values represent means ± SEM for n animals in the group.

Values are expressed: * - in optical density (d) measured at 233 nm, per ml of erythrocytes or g of tissue; ** - per ml of erythrocytes or mg of protein, *** - per ml of erythrocytes or g of tissue.

a, b, c - statistical significance in comparison with the control diet: a - $p < 0.05$, b - $p < 0.01$, c - $p < 0.001$. A, C - statistical significance in comparison with the pleuran powder diet: A - $p < 0.05$, C - $p < 0.001$.

§ - statistical significance in comparison with the acetic acid administration: $p < 0.01$.

SOD - superoxide dismutase, KAT - catalase, GSH-PX - glutathione peroxidase, GST - glutathione-S-transferase, GSH - reduced glutathione. 1 - parameter, 2 - dietary regimen, 3 - control diet, 4 - pleuran powder diet, 5 - drinking of pleuran hydrogel, 6 - intraluminal administration, 7 - acetic acid, 8 - saline, 9 - conjugated dienes, 10 - erythrocytes, 11 - liver, 12 - colon.

reaktívnych kyslíkových metabolitov (ROM) [1]. Účasť ROM v etiopatogenéze experimentálnej kolitídy bola preukázaná na zvieracích modeloch a je všeobecne akceptovaná [2]. Obdobne sa preukázal zvýšený obsah ROM v črevnej mukóze pacientov s ulceróznou kolitídou a Crohnovou chorobou pozitívne korelujúci s intezitou ochorenia [24]. Antioxidačný efekt orálne aplikovaného pleuránu v našom pokuse dokumentovali signifikantne nižšie hladiny primárnych produktov lipoperoxidácie - konjugovaných diénov - v erytrocytoch pečeni i kolone. Pri jednoznačne zníženej lipoperoxidácii boli zistené len nevýrazné zmeny v aktivitách antioxidačných enzýmov: iba zvýšené aktivity SOD v erytrocytoch a kolone a GST v erytrocytoch sledujú očakávaný trend zvýšenej antioxidačnej ochrany diétnych režimov s pleuránom. Je pravdepodobné, že absencia výraznejších zmien v aktivitách antioxidačných enzýmov v tkanive kolonu je daná odberom vzorky z nezapáleného segmentu. Zistené aktivity antioxidačných enzýmov boli v tkanive kolonu viacnásobne nižšie ako hodnoty v erytrocytoch. Tento nález korešponduje s údajmi Blaua a kol. [25], ktorí v rámci gastrointestinálneho traktu zistili v tkanive kolonu najnižšiu redukčnú aktivitu. Títo autori uviedli aj výrazné rozdiely v antioxidačných aktivitách medzi vrstvami steny čreva s vyššou aktivitou vo vrstve mukóza/submukóza ako vo vrstve muskuláris/seróza. Autori uzatvárajú, že nízka antioxidačná kapacita kolonu môže uľahčovať poškodzovanie indukované ROM a viesť k zápalovému ochoreniu, aké predstavuje ulcerózna kolitída.

Zápalové poškodenie kolonu bolo sprevádzané poklesom aktivít lyzozomálnych enzýmov kyslej fosfatázy a katepsínu D u zvierat na kontrolnej diéte, ktorý však bol výrazne zmiernený pri oboch diétnych režimoch s pleuránom. Lyzozomálne enzýmy sa nachádzajú v lyzozómoch všetkých eukaryotických buniek, teda tak v tkanivách, ako aj v krvných bunkách vrátane profesionálnych fagocytov [26]. Pre zápalové procesy je typické zvýšené uvoľňovanie lyzozomálnych enzýmov do extracelulárnych tekutín a to z buniek zúčastňujúcich sa na zápale aj z poškodených tkanív [15,27,28]. Skutočnosť, že pleurán v diéte neovplyvnil aktivity lyzozomálnych enzýmov sliznice čreva, ale zmiernil pokles ich aktivít indukovaný zápalovým procesom naznačuje, že orálne aplikovaný pleurán v práškovej (výraznejšie v hydrogélovej) forme stimuluje skôr integritu tkaniva kolonu ako syntézu enzýmov.

Vzhľadom k údajom uvádzaných v súvislosti so štúdiom štrukturálne identických β -glukánov z iných zdrojov je možné predpokladať, že i pleurán bude vykazovať imunostimulačný efekt daný aktiváciou neutrofilov, makrofágov, monocytov NK/buniek a iných systémov, sprostredkovaný špecifickými receptormi CR3 (CD11b/CD18) [29] a β -glukánovým receptorom [30].

Tento efekt je sprevádzaný stimuláciou produkcie cytokínov, ako je TNF- α [31], interleukín 1 a iných, čo vedie k zvýšeniu imunologickej pohotovosti.

U všetkých sledovaných parametrov bol protektívny efekt zaznamenaný pri pití hydrogél pleuránu vyšší ako pri diéte s práškovým pleuránom a to napriek skutočnosti, že v diéte zvieratá skonzumovali pleuránu viacnásobne viac (400 vs 130 mg/potkan/deň). Nie sú k dispozícii údaje, ktoré by rozdiel v prospech hydrogél vysvetľovali. Jeho prekvapivo vysoká účinnosť v zmysle zvýšenej rezistencie voči zápalu sa však dokázala v pokusoch, kde pred aplikáciou kyseliny octovej bolo črevo intraluminálne po dobu 30 min exponované 2% pleuránovej suspenzii, alebo sa zvieratám hydrogél aplikoval pred podaním kyseliny octovej intraperitoneálne [32]. Na základe uvedených výsledkov je možné pleurán pokladať za sľubný suplement k elementárnym diétam zameraným na zvýšenie integrity črevnej sliznice a podporu jej imunitnej a antioxidačnej obrany.

Literatúra

1. FIOCCHI, C.: Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology*, 115, 1998, s. 182-205.
2. KESHAVARZIAN, A. - MORGAN, G. - SEDGFI, S. - GORDON, J. H. - DORIA, M.: Role of reactive oxygen metabolites on experimental colitis. *Gut*, 31, 1990, s. 786-790.
3. GRISHAM, M. B. - MAC DERMONT, R. P. - DEITCH, E. A.: Oxidant defense mechanisms in the human colon. *Inflammation*, 14, 1990, s. 669-680.
4. YAMADA, T. - GRISHAM, M. B.: Role of neutrophil-derived oxidants in the pathogenesis of intestinal inflammation. *Klinische Wochenschrift*, 69, 1991, s. 988-984.
5. LIH-BRODY, L. - POWEL, S. R. - COLLIER, K. P. - REDDY, G. S. - CERCHIA, R. - KAHN, E. - WEISSMAN, G. S. - KATZ, S. - FLOYD, R. A. - MCKINLEY, M. J. - FISHER, S. E. - MULLIN, G. E.: Increased oxidative stress and decreased antioxidative defenses in mucosa of inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases Science*, 41, 1996, s. 2078-2086.
6. LOGUERCIO, C. - D'ARGENIO G. - CAVE, M. D. - COSENZA, V. - VALLE, N. C. - MAZZACCA, G. - BLANCO, C. D. V.: Direct evidence of oxidative damage in acute and chronic phases of experimental colitis in rats. *Digestive diseases Science*, 41, 1996, s. 1204-1211.
7. BOBEK, P. - GALBAVÝ, Š: Effect of pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) on the antioxidant status of the organism and on dimethylhydrazine-induced precancerous lesions in rat colon. *British Journal of Biomedical Science*, v tlači.
8. PATCHEN, M. L. - DALESANDRO, M. M. - BROCK, I. - BLAKELY, W. F. - MACVITTIE, T. J.: Glucan: mechanism involved in its „radioprotective“ effect. *Journal of Leukocyte Biology*, 42, 1987, s. 95-105.
9. AUGUSTÍN, J.: Glucans as modulating polysaccharides: their characteristics and isolation from microbiological sources. *Biologia*, 53, 1998, s. 277-282.
10. DI LUZIO, N. R. - WILLIAMS, D. L. - SHERWOOD, E. R. - BROWDER, I. W.: Modification of diverse experimental immunosuppressive states by glucan. *Surveillance Immunology Research*, 4, 1985, s. 160-167.

11. CHIHARA, G. Y. - MAEDA, Y. - HAMURO, J.: Current status and perspectives of immunomodulators of microbial origin. *International Journal of Tissue Reactions*, **4**, 1982, s. 207-225.
12. KARÁCSONYI, Š. - KUNIAK, L.: Polysaccharides of *Pleurotus ostreatus*. Isolation and structure of pleuran - an alkali-insoluble β -D-glucan. *Carbohydrate Polymers*, **24**, 1994, s. 107-111.
13. FEDORAK, R. N. - EMPEY, R. L. - WALKER, K.: Verapamil alters eicosanoid synthesis and accelerates healing during experimental colitis in rats. *Gastroenterology*, **102**, 1992, s. 1229-1235.
14. NOSÁLOVÁ, V. - BAUER, V.: Protective effect of trapezine in acetic-acid-induced colitis in rats. *Inflammopharmacology*, **4**, 1996, s. 387-398.
15. WALLACE, J. L. - WHITTLE, B. J. - BOUGHTON-SMITH, N. K.: Prostaglandin protection of rat colonic mucosa from damage induced by ethanol. *Digestive Diseases Science*, **30**, 1985, s. 866-877.
16. RECKNAGEL, R. - GLENDE, E. A.: Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. In: COLOWICK, S. R. - KAPLAN, N. O. (Ed.): *Methods in enzymology*. San Diego : Academic Press, 1984, s. 331-337.
17. CAVAROCHI, N. C. - ENGLAND, N. D. - O'BRIEN, J. F.: Superoxide generation during cardiopulmonary bypass - is there a role for vitamin E. *Journal of Surgery Research*, **40**, 1986, s. 519-527.
18. PAGLIA, D. E. - VALENTINE, W. N.: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **70**, 1978, s. 158-169.
19. HABIG, W. H. - PABST, M. J. - JAKOBY, W. S.: Glutathione-S-transferases, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, **249**, 1974, s. 7130-7139.
20. BEUTLER, E. - DURON, O. - KELLEY, M.: Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **61**, 1963, s. 882-890.
21. LOWRY, O. H. - ROSENBOUGH, N. J. - FARR, A. L.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, **90**, 1951, s. 265-271.
22. BRADLEY, P. P. - PRIEBAT, D. A. - CHRISTENSEN, R. D. - ROTHSTEIN, G.: Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *Journal of Investigative Dermatology*, **78**, 1982, s. 206-209.
23. NAVAROVÁ, J. - NOSÁLOVÁ, V.: Effect of H₂-receptor antagonists on indomethacin-induced lysosomal enzyme release from rat gastric mucosa. *Findings and Methods in Experimental and Clinical Pharmacology*, **16**, 1994, s. 119-124.
24. SIMONDS, N. J. - ALLEN, R. E. - STEVENS, T. R. J. - NIALI, R. - SOMERES, M. V. - BLAKE, M. V. - RAMPTON, D. R.: Chemiluminescence assay of mucosal reactive oxygen metabolism in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, **103**, 1992, s. 186-196.
25. BLAU, S. - RUBINSTEIN, A. - BASS, P. - SINGARAM, C. - KOHEN, R.: Differences in the reducing power along the rat GI tract: Lower antioxidant capacity of the colon. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **194**, 1999, s. 185-191.
25. FERENČÍK, M. - ŠTVRTINOVÁ, V.: Lyzozómové enzýmy fagocytov a ich účasť v patogenéze niektorých chorôb. *Rheumatologia*, **7**, 1993, s. 281-293.
27. FERENČÍK, M. - KOTULOVÁ, D. - MASLER, D. - ŠANDULA, J. - PRUŽINEC, P.: Imunomodulačný účinok glukánov na profesionálne fagocyty. *Bratislavské lekárske listy*, **89**, 1988, s. 424-432.
28. MASCOLO, N. - AUTORE, G. - IZZO, A. A. - BIONDI, A. - CAPASSO, F.: Effects of senna and its active compounds rhein and rhein-anthrone on PAF formed by rat colon. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **44**, 1992, s. 693-695.

29. VETVICKA, V. - THORNTON, B. P. - ROSS, G. D.: Soluble β -glucan polysaccharide binding to the lectin site of neutrophil or natural killer cell complement receptor type 3 (CD11b-CD18) generates a primed state of the receptor capable of mediating cytotoxicity of iC3b-opsonized target cells. *Journal of Clinical Investigation*, 98, 1996, s. 50-61.
30. THORNTON, B. P. - VETVICKA, V. - PITMAN, M.: Analysis of the sugar specificity and molecular location of the β -glucan-binding site of complement receptor type 3 (CD11b-CD18). *Journal of Immunology*, 156, 1996, s. 1232-1245.
31. KULICKE, W. M. - LETTAU, A. I. - THIELKING, H.: Correlation between immunological activity, molar mass and molecular structure of different (1 \rightarrow 3)- β -D-glucans. *Carbohydrate Research*, 297, 1997, s. 135-143.
32. NOSÁLOVÁ, V. - BOBEK, P. - ČERNÁ, S. - GALBAVÝ, Š. - ŠTVRTINA, S.: Effect of pleuran (β -glucan isolated from *Pleurotus ostreatus*) on experimental colitis in rats. *Physiological Research*, v tlači.

Do redakcie došlo 15.2.2001

Effect of pleuran on colitis in rat

BOBEK, P. - NOSÁLOVÁ, V. - ČERNÁ, S.: *Bull. potrav. Výsk.*, 40, 2001, p. 133-143.

SUMMARY. The effects of pleuran, a β -glucan isolated from the fungus *Pleurotus ostreatus*, were studied in a model of acute colitis in rats. Pleuran was given either as a 2 % food component or as a 0.44 % pleuran hydrogel drink over 4 weeks. Colitis was induced by intraluminal instillation of 4 % acetic acid and, after 48 hours, the animals were killed/sacrificed and the extent of colonic damage and several biochemical parameters were examined. The macroscopic damage score was reduced by 51 % or 67 % by pleuran diet and pleuran hydrogel drink, respectively. At both regimens, pleuran prevented significant colonic wet weight increase which was observed in the control diet group. The enhanced activity of myeloperoxidase in the inflamed colonic segment was reduced by both pleuran diets. In the control untreated group the colonic damage was accompanied by decreased activities of lysosomal enzymes, acid phosphatase and cathepsin D, whereas at both pleuran regimens the decrease was significantly attenuated. Both pleuran regimens reduced the content of conjugated dienes in the erythrocytes, liver and colonic tissue. In contrast to this fact, activities of antioxidant enzymes were not so greatly influenced. Significant increase was found in the case of superoxide dismutase activity in sham operated rat erythrocytes under influence of both pleuran regimens. In animals with induced colitis, the activity of superoxide dismutase in colon and glutathione transferase in erythrocytes increased under the influence of pleuran hydrogel. Our results indicate that the stimulation of antioxidant defence takes part in the protective effect of dietary pleuran.

KEYWORDS: colitis; rat; pleuran; lipid peroxidation