

Vplyv jablkových výliskov na hypercholesterolémiu a karcinogézu hrubého čreva u potkana

PAVEL BOBEK - ŠTEFAN GALBAVÝ

SÚHRN. U samcov potkanov (Wistar) kŕmených cholesterolovou (0,3 %) diétou, z ktorých jednej polovici sa v týždňových intervaloch 12-krát subkutánne aplikoval dimetylhydrazín (DMH, 20 mg.kg⁻¹ hmotnosti), sa sledoval vplyv jablkových výliskov (15 % v diéte) na rozvoj hypercholesterolémie a na karcinogézu hrubého čreva. V 30-týždňovom pokuse jablkové výlisky o 40 % znížili hladinu sérového cholesterolu podobným podielom na účet veľminízko- a nízkodenzitných lipoproteínov. O 40 % sa znížila hladina konjugovaných diénov v plazme a u DMH-exponovaných zvierat i v erytrocytoch. U DMH-exponovaných zvierat jablkové výlisky znížili aktivitu katalázy a glutatiónpoxidázy v erytrocytoch a katalázy i v pečeni. Jablkové výlisky signifikantne neovplyvnili incidenciu nádorov na hrubom čreve, ale signifikantne znížili rozvoj prekancerózných fokusov aberantných krypt. Signifikantne sa znížila aktivita ornitín-dekarboxylázy v pečeni i hrubom čreve.

KLÚČOVÉ SLOVÁ: jablkové výlisky, potkan, cholesterolémia, dimetylhydrazín, karcinogéza, hrubé črevo

Kardiovaskulárne a nádorové ochorenia predstavujú v industrializovaných krajinách hlavný zdravotný problém a sú hlavnou príčinou morbidity a mortality [1,2]. Karcinóm hrubého čreva patrí k najčastejším zhubným nádorom a predstavuje jednu z hlavných príčin úmrtia na nádory vôbec [3]. Prevenciu možno považovať za jednu z hlavných metód kontroly procesov aterogenézy i karcinogenézy a diétne faktory patria k jedným z najvýznamnejších súčastí takejto prevencie [4,5]. Vlákna má prominentný význam v diétnej prevencii oboch ochorení a tak obe ochorenia s multifaktoriálnou patogenézou spája otázka (ne)zabezpečenia dostatočného prívodu potravinovej vlákniny [6,7]. Vlákna schopnosťou viazať v črevnom trakte žlčové kyseliny (či iné potenciálne karcinogény) vstupuje do regulácie metabolizmu

RNDr. Pavel BOBEK, CSc., Výskumný ústav výživy, Limbová 14, 833 37 Bratislava 37.
Doc. MUDr. Štefan GALBAVÝ, CSc., Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Sasinkova 4, 811 08 Bratislava 1.

cholesterolu [8], ovplyvňuje metabolizmus žľových kyselín v hrubom čreve a vplyvom na viaceré jeho metabolické funkcie [9,10] môže účinne regulovať hladinu krvného cholesterolu [11] a pôsobiť protektívne v karcinogéze hrubého čreva [12]. Náš epidemiologický výskum zistil významne nižšiu ako odporúčanú konzumáciu vlákniny [13]. V uvedených súvislostiach nás zaujala myšlienka skúmať vplyv bohatého, v podstate odpadového zdroja vlákniny, jablkových výliskov, na rozvoj diétou navodenej hypercholesterolémie a chemicky indukovanej karcinogézy hrubého čreva.

Materiál a metódy

V pokuse sme použili samce potkanov (kmeň Wistar, Top-Velaz, Česká republika, $n = 60$) s počiatkovou hmotnosťou okolo 60 g, chované za štandardných podmienok bez ovplyvňovania svetelného režimu. Zvieratá mali nepretržitý prístup k pitnej vode a strave nasledovného zloženia [14] (v %): škrob 51, kazeín 18, bravčová masť 10, celulóza 15, minerálna zmes 4, vitamínová zmes 1, fel tauri (komerčná sušená volská žľ) 0,55, cholesterol 0,3 a cholíchlorid 0,15 (kontrolná diéta s 15 % celulózy). U pokusnej skupiny sme celulózu nahradili sušenými mletými výliskami nekonzervovaných jabĺk, sušených v laboratórnych podmienkach pri 60 - 70 °C. Vo výliskoch sme stanovili enzýmovo-gravimetrickými metódami obsah nerozpustnej a rozpustnej vlákniny [15]. Po nasadení na diéty sme polovici zvierat v oboch skupinách 12-krát v týždňových intervaloch subkutánne aplikovali 20 mg.kg⁻¹ hmotnosti 1,2-dimetylhydrazínhydrochlorid (DMH, Aldrich) vo fyziologickom roztoku. Po ďalších 17 - 18 týždňoch po skončení aplikácie DMH boli zvieratá usmrtené dekapitáciou v ľahkej éterovej narkóze po 18 h odstavenia od potravy. V sére, lipoproteínoch a chloroform-metanolom (2 : 1) extrakte pečene, v srdci a aorte sme stanovili obsah cholesterolu a v sére, srdci a pečeni obsah triacylglycerolov (súpravami Oxochrom Chol 2150 E, TG 450 T, resp. Bio-La-Test, Česká republika). V plazme, erytrocytoch a pečeni sme stanovili obsah konjugovaných diénov [16]. V erytrocytoch a pečeni sme stanovili aktivity superoxiddizmutázy (SOD) súpravou Randox Lab. Ltd., UK, katalázy (KAT) [17] a glutatiónpoxidázy (GSH-PX) [18]. V pečeni sme navyše stanovili aktivity glutatiónreduktázy (GR) [19], glutatiónttransferázy (GST) [20] a obsah proteínov [21]. V erytrocytoch a pečeni sme stanovili obsah redukovaného glutatiónu (GSH) [22]. V tenkom čreve a v pečeni sme stanovili aktivitu ornitín-dekarboxylázy (ODC, EC 4.1.1.17). Stručne: ¹⁴CO₂ uvoľnený z DL-[1-¹⁴C]-ornitínu po 30 minútach inkubácie supernatantu tkanivových homogenátov za prítomnosti

pyridoxalfosfátu bol zachytený na filtračný papier zvlhčený etanolamínom a rádioaktivita bola zmeraná scintilačnou spektrometriou (Rackbeta, LKB-Pharmazia) [23].

Bezprostredne po usmrtení zvierat bolo vybrané hrubé črevo, pozdĺžne otvorené, prepláchnuté fyziologickým roztokom a bola makroskopicky posúdená prítomnosť nádorov a lymfoidných agregátov. Potom bolo črevo rozdelené na 5 častí (7 cm proximálna časť, 5 cm hlavná flexúra, 2 x 3 cm distálna časť a zvyšok kolorektálny segment). Jednotlivé časti hrubého čreva boli napnuté na parafrínovú podložku a 24 h fixované v neutrálnom 10 %-nom tlmenom formole. Po fixácii boli vzorky ponechané 15 min v roztoku Giemsa (6 ml/50 ml fosfátového tlmivého roztoku). Giesmov roztok bol potom nahradený tlmivým roztokom a vzorky boli vyšetrené v stereomikroskope (pri 40-násobnom zväčšení) so zameraním na hodnotenie výskytu fokusov aberantných krýpt (ACF). Zaznamenávali sme celkový počet ACF, ako aj ich charakteristiku so zreteľom na veľkosť, tvar a hrúbku vystielajúceho epitelu. Rozlišovali sme ACF malé (1 - 3 krypty), stredné (4 - 6 krýpt) a veľké (7 a viac krýpt). Ďalšie histologické vyšetrenie bolo urobené technikou parafrínových rezov farbených hematoxylínom-eozínom. Hodnotili sme celkový počet nádorov, podiel karcinómu in situ (CIS: nádorové ložiská charakteru vysokodiferencovaného adenokarcinómu rastúce exofyticky bez známok prieniku cez lamina basalis), infiltrujúceho karcinómu (ICA: s prienikom nádorových buniek cez lamina basalis s šírením sa do všetkých vrstiev steny čreva), siglocelulárneho variantu infiltrujúceho karcinómu (SI) a mucinózneho variantu infiltrujúceho karcinómu (MU). Určili sme výskyt ložísk lymfoidnej hyperplázie (LYH: zmnoženie lymfatického tkaniva v črevnej stene v normálnej anatomickej lokalizácii s rozšírením sa do ostatných častí steny čreva). Výsledky sme štatisticky hodnotili Studentovým t-testom, jednofaktorovou analýzou rozptylu (Anova) a Fisherovým exaktným dvojstranným testom na hladine významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky

Jablkové výlisky obsahovali 36,44 % celkovej vlákniny, z toho 11,99 % v rozpustnej forme. Bez ohľadu na expozíciu DMH, jablkové výlisky znížili o 40 % hladinu sérového cholesterolu a o 46 % a 14 % obsah cholesterolu v aorte (u zvierat neexponovaných a exponovaných DMH). Pokles hladiny sérového cholesterolu bol daný rozsahom podobným poklesom (o 40 - 60 %) obsahu cholesterolu vo veľminízkodenzitných (VLDL) a nízkodenzitných (LDL) lipoproteínoch. Len u DMH neexponovaných zvierat sa zvýšil podiel

TABUĽKA 1. Lipidy séra a tkanív a distribúcia cholesterolu v lipoproteínoch u potkana.
Table 1. Serum and tissue lipids and cholesterol distribution in lipoproteins of rats.

Parameter ¹		Diéta ²			
		kontrolná, celulóza 15 % ³		jablkové výlisky, 15 % ⁴	
		-	+ DMH	-	+ DMH
n		14	8	13	13
Cholesterol ⁵					
sérum ⁶	[mmol.l ⁻¹]	9,65 ± 0,82	8,78 ± 0,54	5,65 ± 0,74*	5,27 ± 0,55*
VLDL	[mmol.l ⁻¹]	1,53 ± 0,13	1,63 ± 0,22	0,82 ± 0,22*	1,01 ± 0,14*
	[%]	16,6 ± 3,2	19,1 ± 2,7	14,0 ± 2,5	19,8 ± 2,1
LDL	[mmol.l ⁻¹]	5,22 ± 0,68	4,32 ± 0,46	2,16 ± 0,32*	2,25 ± 0,20*
	[%]	56,4 ± 3,1	50,6 ± 3,5	37,8 ± 3,7*	44,1 ± 1,1
HDL	[mmol.l ⁻¹]	2,50 ± 0,08	2,54 ± 0,15	2,76 ± 0,19	1,84 ± 0,14
	[%]	27,0 ± 1,9	30,3 ± 2,5	48,2 ± 1,9*	36,1 ± 3,1
srdce ⁷	[mmol.kg ⁻¹]	8,31 ± 0,31	10,45 ± 0,50§	8,01 ± 0,45	8,71 ± 0,93
aorta ⁸	[mmol.kg ⁻¹]	9,84 ± 0,54	8,78 ± 0,54	5,28 ± 0,37*	7,51 ± 0,25*§
pečeň ⁹	[mmol.kg ⁻¹]	346 ± 9	333 ± 12	333 ± 10	386 ± 9
Triacylglyceroly ¹⁰					
sérum	[mmol.l ⁻¹]	0,86 ± 0,06	0,73 ± 0,08	0,70 ± 0,02	0,95 ± 0,12
srdce	[mmol.kg ⁻¹]	2,09 ± 0,20	1,91 ± 0,13	2,29 ± 0,13	2,50 ± 0,29
pečeň	[mmol.kg ⁻¹]	17,8 ± 1,3	23,0 ± 1,3	26,9 ± 3,3	28,1 ± 2,1

Hodnoty sú priemery ± SEM (štandardná odchýlka aritmetického priemeru) z n počtu zvierat v skupinách.

*, § - štatistická preukaznosť: * - štatisticky preukazné oproti kontrolným skupinám, § - štatisticky preukazné oproti skupinám neexponovaným DMH (jednofaktorová analýza rozptylu, Anova).

% - podiel z celkového sérového cholesterolu.

VLDL, LDL, HDL - lipoproteín s veľmi nízkou, nízkou a vysokou denzitou, separované sekvenčnou flotáciou na ultracentrifúge L 8 55 (Beckman) pri d < 1,006, 1,063 a 1,21 g.ml⁻¹.

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

*, § - statistical significance: * - statistically significant comparing with the control groups, § - statistically significant comparing with DMH nonexposed groups (one way analysis of variance).

% - contribution to total serum cholesterol.

VLDL, LDL and HDL - very-low-density, low-density and high-density lipoproteins separated by sequential flotation using preparative ultracentrifuge L 8 55 (Beckman) at d < 1.006, 1.063 and 1.21 g.ml⁻¹.

1 - parameter, 2 - diet, 3 - control, cellulose 15 %, 4 - apple pomaces, 15 %, 5 - cholesterol, 6 - serum, 7 - heart, 8 - aorta, 9 - liver, 10 - triacylglycerols.

cholesterolu nesený vo vysokodenzitných (HDL) lipoproteínoch. Jablkové výlisky neovplyvnili hladinu triacylglycerolov v sére, ani ich obsah v tkani-
vách (tab. 1).

Výlisky bez ohľadu na expozíciu DMH znížili o 40 % obsah konjugova-
ných diénov v plazme, v erytrocytoch len u DMH-exponovaných zvierat. O 50 - 60 % sa znížila aktivita KAT v erytrocytoch a v pečeni iba u DMH-
exponovaných zvierat. Podobne len u týchto zvierat sa o takmer 50 % zníži-
la aktivita GSH-PX v erytrocytoch. V pečeni výlisky znížili aktivitu SOD, sig-
nifikantne (o 40 %) len u neexponovaných zvierat. Jablkové výlisky znížili
o 40 % a 60 % aktivitu ODC v hrubom čreve u zvierat bez expozície DMH i
po expozícii. V pečeni výlisky znížili o 65 % aktivitu ODC iba u DMH-expo-
novaných zvierat. Expozícia DMH iba u kontrolných zvierat zvýšila na troj-
násobok aktivitu ODC (tab. 2).

U všetkých zvierat exponovaných DMH sa na hrubom čreve vyvinuli pre-
kancerózne ložiská aberantných krýpt (ACF). Priemerný výskyt početne
dominantných - malých ACF, ako aj priemerný výskyt všetkých ACF, bol sig-
nifikantne nižší pod vplyvom jablkových výliskov. Celková incidencia nádor-
ov na hrubom čreve nebola signifikantne ovplyvnená jablkovými výliskami,
aj keď pomer počtu zvierat s nádorom k celkovému počtu zvierat v skupine
vyznieval v ich prospech. Na hranici štatistickej preukaznosti bola nižšia inci-
dencia najčastejšie metastázujúceho siglocelulárneho variantu infiltrujúceho
karcinómu (SI), (tab. 3).

Diskusia

Hypocholesterolemická aktivita jablkových výliskov je v rozhodujúcej
miere sprostredkovaná pôsobením vlákniny, najmä jej vodorozpustných
komponentov (pektíny) [24]. Rozhodujúcim krokom je pritom schopnosť
vlákniny viazať žľčové kyseliny, urýchlenie ich exkrécie, čo obmedzuje tvor-
bu micel a následne absorpciu cholesterolu [8]. Obmedzenie návratu žľčo-
vých kyselín do pečene spätnou väzbou urýchľuje katabolizmus cholesterolu
s konečným efektom poklesu cirkulujúceho cholesterolu [8,11]. Rozpustná
vláknina zvyšuje frakčnú katabolickú rýchlosť plazmatických VLDL a LDL
[25] a zvyšuje aktivitu lecitin:cholesterolacyltransferázy (LCAT) [25]. Krát-
koreťazcové mastné kyseliny, produkty bakteriálnej degradácie najmä roz-
pustných komponentov vlákniny, redukujú biosyntézu cholesterolu v pečeni
[27].

Prekvapivo bol v prepočte na ekvivalentnú dávku neporovnateľne vyšší
hypocholesterolemický efekt rozpustnej zložky vlákniny výliskov ako čistého

TABUĽKA 2. Obsah konjugovaných diénov a aktivita antioxidantných enzýmov v krvi a pečeni u potkana.

TABLE 2. Conjugated dienes and antioxidative enzymes activity in blood and liver of rats.

Parameter ¹		Diéta ²			
		kontrolná, celulóza 15 % ³		jablkové výlisky, 15 % ⁴	
		-	+ DMH	-	+ DMH
n		14	8	13	13
Konjugované diény ⁵					
plazma ⁶	[d.ml ⁻¹]	0,83 ± 0,10	0,63 ± 0,06	0,44 ± 0,08*	0,38 ± 0,06
erytrocyty ⁷	[d.g ⁻¹]	6,93 ± 0,81	30,6 ± 2,9§	14,3 ± 1,8*	7,15 ± 1,1*§
pečeň ⁸	[d.g ⁻¹]	33,1 ± 1,0	31,4 ± 1,4	34,7 ± 3,1	35,1 ± 1,1
ERYTROCITY					
SOD	[U.ml ⁻¹]	166 ± 14	145 ± 10	153 ± 11	156 ± 12
KAT	[U.ml ⁻¹]	4001 ± 211	2445 ± 196§	1605 ± 218*	1154 ± 88*
GSH-PX	[U.ml ⁻¹]	8,3 ± 0,8	13,5 ± 1,1§	10,9 ± 0,9	7,2 ± 1,0*§
GSH	[μmol.ml ⁻¹]	0,22 ± 0,01	0,22 ± 0,02	0,26 ± 0,01	0,30 ± 0,01
PEČEŇ					
SOD	[U.mg ⁻¹]	28,4 ± 2,9	21,1 ± 3,2	16,8 ± 2,7*	17,2 ± 3,1
KAT	[U.mg ⁻¹]	13,9 ± 1,7	20,4 ± 1,1§	16,3 ± 1,8	14,9 ± 1,6*
GSH-PX	[U.mg ⁻¹]	0,15 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,02	0,12 ± 0,01
GR	[U.mg ⁻¹]	0,25 ± 0,01	0,28 ± 0,02	0,27 ± 0,01	0,31 ± 0,02
GST	[U.mg ⁻¹]	0,27 ± 0,02	0,32 ± 0,05	0,23 ± 0,01	0,24 ± 0,02
GSH	[μmol.g ⁻¹]	2,60 ± 0,07	3,28 ± 0,13	2,61 ± 0,10	2,69 ± 0,11
ODC – črevo ⁹	[pmol.mg ⁻¹]	27,6 ± 4,3	24,9 ± 1,6	16,8 ± 0,8	9,8 ± 0,6*§
– pečeň	[pmol.mg ⁻¹]	6,0 ± 1,7	18,8 ± 1,0§	10,9 ± 0,7	6,5 ± 0,6*§

Hodnoty sú priemery ± SEM (štandardná odchýlka aritmetického priemeru) z n počtu zvierat v skupinách.

*, § - štatistická preukaznosť pozri Tabuľku 1.

SOD - superoxididismutáza, KAT - kataláza, GSH-PX - glutatiónperoxidáza, GR - glutatiónreduktáza, GST - glutatión-S-transferáza (hodnoty aktivít sú vyjadrené na ml erytrocytov, alebo na mg proteínu v pečeni), GSH - redukovaný glutatión (hodnoty sú vyjadrené na ml erytrocytov, alebo na g tkaniva), ODC - ornitín dekarboxyláza (aktivita je vyjadrená v pmol na mg proteínu po inkubácii 30 min).

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

*, § - statistical significance as shown in Table 1.

SOD - superoxide dismutase, CAT - catalase, GSH-PX - glutathione peroxidase, GR - glutathione reductase, GST - glutathione-S-transferase (enzyme activities in erythrocytes are expressed per ml of erythrocytes, in liver per mg of protein), GSH - reduced glutathione (values in erythrocytes are expressed per ml of erythrocytes, in liver per g of tissue), ODC - ornithine decarboxylase (enzyme activity is expressed in pmol per mg of protein after 30 min incubation).

1 - parameter, 2 - diet, 3 - control, cellulose 15 %, 4 - apple pomaces, 15 %, 5 - conjugated dienes, 6 - plasma, 7 - erythrocytes, 8 - liver, 9 - colon.

TABUĽKA 3. Výskyt fokusov aberantných krýpt, nádorov a lymfoidnej hyperplázie na hrubom čreve potkanov po aplikácii dimethylhydrazínu[⊕].

TABLE 3. Incidence of aberrant crypt foci, tumors and lymphoid hyperplasia in rat colon after DMH application[⊕].

Parameter ¹	Diéta ²	
	kontrolná, celulóza 15 % ³	jablkové výlisky, 15 % ⁴
n	8	13
Fokusy aberantných krýpt ^{A,5}		
- celkový počet ⁶	163 ± 4	145 ± 3 ^b
- malé ⁷	120 ± 2	112 ± 2 ^a
- stredné ⁸	36 ± 3	28 ± 2
- veľké ⁹	6,3 ± 1,2	5,2 ± 0,8
Nádory ^{B,10}		
- celkový počet	7/88	8/62
- CIS	2/25	2/15
- ICA	4/50	7/54
- SI	2/25	0/0*
- MU	1/12	1/8
Lymfoidna hyperplázia ¹¹	1/12	3/23

A - hodnoty sú priemery ± SEM (štandardná odchýlka aritmetického priemeru) z n počtu zvierat v skupinách, B - hodnoty vyjadrujú počet zvierat s patologickým nálezom / podiel zvierat s patologickým nálezom zo súboru [%].

a, b - štatistická preukaznosť: a - $p < 0,05$, b - $p < 0,002$ (Studentov t-test).

* - oproti kontrolnej skupine je rozdiel na hranici štatistickej preukaznosti (Fisherov exaktný test).

CIS - karcinoma in situ, ICA - infiltrujúci karcinóm, SI - siglocelulárny variant infiltrujúceho karcinómu, MU - mucinózny variant infiltrujúceho karcinómu.

⊕ - pre absenciu patologických nálezov boli skupiny zvierat neexponovaných DMH z tabuľky vynechané.

A - values represent means ± SEM (standard error of the mean) for n animals per group, B - number of animals with pathological findings / portion of animals with pathological findings from total number of animals in the group [%].

a, b - statistical significance: a - $p < 0.05$, b - $p < 0.002$ (Student's t-test).

* - difference compared with the control group is at the limit of statistical significance (Fisher's exact test).

CIS - carcinoma in situ, ICA - infiltrating adenocarcinoma, SI - siglocelular variation of infiltrating carcinoma, MU - mucinal variation of infiltrating carcinoma.

⊕ - due to absence of pathological findings the groups of animals nonexposed to DMH were not included in the table.

1 - parameter, 2 - diet, 3 - control, cellulose 15 %, 4 - apple pomaces, 15 %, 5 - aberrant crypt foci, 6 - total number, 7 - small, 8 - moderate, 9 - large, 10 - tumors, 11 - lymphoid hyperplasia.

jablkového pektínu [28]. Môže to svedčiť o spoluúčasti napr. antioxidačne pôsobiacich fytochemikálií (polyfenoly, flavonoidy, karotenoidy, vitamíny a i.). Tieto látky môžu chrániť nízkodenzitné lipoproteíny pred lipoperoxidáciou, ktorej produkty nepriaznivo ovplyvňujú metabolizmus vysokodenzitných lipoproteínov priamou inhibíciou LCAT [29]. To ohrozuje spätný transport cholesterolu z periférnych tkanív (a teda aj ciev) k odbúraniu v pečeni [30]. Na účet týchto látok je zrejme potrebné pripočítať pokles obsahu primárnych produktov peroxidácie lipidov, konjugovaných diénov, pri nezmenených, alebo nižších (KAT, SOD) aktivitách antioxidačných enzýmov v erytrocytoch, či pečeni. Niektoré komponenty vlákninového komplexu zeleniny a ovocia (glukany, lignín) môžu pôsobiť ako inaktívatory reaktívnych kyslíkových produktov [31,32].

Aj keď výsledky väčšiny epidemiologických štúdií svedčia o protektívnom efekte vlákniny v karcinogéze hrubého čreva [33,34], viaceré rozporné údaje zatiaľ nedovoľujú dobre definovať jej charakteristiku a určiť mechanizmus tohto efektu [35,36]. Vláknina môže protektívne pôsobiť v karcinogéze hrubého čreva väzbou žľových kyselín, či ďalších karcinogénov endogénneho i exogénneho pôvodu a urýchlením ich exkrécie, čo spolu so zriedením obsahu čreva znižuje expozíciu sliznice karcinogénmi [10]. Bol popísaný protektívny efekt krátkoreťazcových mastných kyselín produkovaných fermentáciou vlákniny (stimuláciou apoptózy rakovinových buniek, či inhibíciou proliferácie) [37]. Jablkové výlisky signifikantne neovplyvnili incidenciu nádorov, ale signifikantne znížili priemerný výskyt prekanceróznych fokusov aberantných krypt [38], najmä dominantného typu - malých fokusov. Signifikantný pokles aktivít ODC v hrubom čreve i pečeni svedčí o znížení syntézy polyamínov (ODC katalyzuje reakciu limitujúcu rýchlosť tejto syntézy), ktorých zvýšené hladiny boli zistené v proliferujúcich bunkách, neoplastických bunkách a v bunkách podliehajúcich neoplastickej transformácii [23,39]. Jablkové výlisky svojím výrazným hypocholesterolemickým a miernym antioxidačným efektom, znížením vývoja prekanceróznych zmien steny hrubého čreva a znížením biosyntézy polyamínov v hrubom čreve majú perspektívu v dietetickej prevencii kardiovaskulárnych ochorení a v karcinogéze hrubého čreva.

Literatúra

1. UEMURA, K. - PISA, Z.: Recent trends in cardiovascular disease mortality in 27 industrial countries. *World Health Statistics*, 38, 1985, s. 143-162.
2. BORING, C. C. - SQUIRES, T. S. - TONG, T. S.: *Cancer Statistics 1993*. *Cancer*, 43, 1993, s. 7-26.

3. WINGO, P. A. - TONG, T. - BOLDEN, S.: Cancer Statistics 1995. *Cancer Journal*, 45, 1995, s. 9-30.
4. ROSENMAN, R. H.: The questionable roles of the diet and serum cholesterol in the incidence of ischemic heart disease and its 20th century changes. *Homeostasis*, 34, 1993, s. 1-14.
5. DOLL, R.: An overview of the epidemiological evidence linking diet and cancer. *Proceeding of Nutrition Society*, 49, 1990, s. 119-131.
6. LABARTHE, D. R.: Dietary fiber. Further epidemiological support for a high intake dietary pattern. *Circulation*, 94, 1996, s. 2696-2698.
7. TROCK, B. - LANZA, E. - GREENWALD, P.: Dietary fiber, vegetables and colon cancer: Critical review and meta-analysis of epidemiological incidence. *Journal of National Cancer Institute*, 82, 1990, s. 650-661.
8. VAHOUNY, G. V. - TOMBES, R. - CASSIDY, M. M.: Dietary fibers. V. Binding of bile salts, phospholipids and cholesterol from mixed micells by bile acid sequestrants and dietary fibers. *Lipids*, 15, 1980, s. 1012-1018.
9. BURSTEIN, M. J.: Dietary factors related to colorectal neoplasma. *Surgical Clinic of North America*, 73, 1993, s. 13-29.
10. KLURFELD, D. M.: Dietary fiber mechanism in carcinogenesis. *Cancer Research*, 52, 1992, s. 2055-2059.
11. JENKINS, D. J. - WOLEVER, T. M. - RAO, A. V.: Effect of blood lipids of very high intake of fiber in diets low in saturated fat and cholesterol. *New England Journal of Medicine*, 329, 1993, s. 21-26.
12. HARRIS, P. J. - FERGUSON, L. R.: Dietary fibre: its composition and role in protection against colorectal cancer. *Mutation Research*, 290, 1993, s. 97-110.
13. BABINSKÁ, K. - BÉDEROVÁ, A. - BARTEKOVÁ, S.: Dietary patterns in the adult population from selected areas in Slovak Republic. *European Journal of Clinical Nutrition*, 51, 1998, Supplement 2, S59.
14. YAMASHITA, S. - YAMASHITA, K. - YASUDA, H.: High-fibre diet in the control of diabetes in rats. *Endocrinology of Japan*, 27, 1980, s. 169-173.
15. LEE, S. C. - PROSKY, L. - DE VRIES, J. W.: Determination of total, soluble, and insoluble dietary fiber in foods - enzymatic-gravimetric method. MES-Tris buffer collaborative study. *Journal of AOAC International*, 75, 1992, s. 395-416.
16. RECKNAGEL, R. - GLENDE, E. A.: Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. In: Colowick, S. R. - Kaplan, N. O. (Eds): *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 Laboratory and Clinical Medicine*, 70, 1978, s. 158-169.
19. BERGMAYER, H. U.: Glutathione reductase. In: Bergmeyer, H. U. (Ed.): *Methods of enzymatic analysis*. New York - London : Academic Press, 1974, s. 465-466.
20. 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.
21. BRADFORD, N. N.: A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 1976, s. 248-254.

22. ACKERBOOM, T. P. - SIES, E.: Assay of glutathione disulfide and glutathionemixed disulfides in biological samples. In: Jacoby, W. B.: Methods in enzymology. New York : Academy Press, 1981, s. 373-385.
23. SIEGLER, J. M. - KAZARINOFF, M. N.: The effect of a low protein diet on the response of rat collonic and hepatic ornithine decarboxylase activity to sodiumdeoxycholate and thioacetamide treatment. Journal of Nutrition, 114, 1984, s. 574-580.
24. ANDERSON, T. P. M.: Ten different dietary fibers have significantly different effect on serum liver lipids of cholesterol fed rats. Journal of Nutrition, 124, 1991, s. 78-83.
25. SHEN, H. - HE, L. - PRICE, R. L. - FERNANDEZ, M. L.: Dietary soluble fiber lowers plasma lipid cholesterol concentrations by altering lipoprotein metabolism in female guinea pigs. Journal of Nutrition, 128, 1998, s. 1434-1441.
26. KUMAR, G. F. - SUDHEESH, S. - USHAKUMARI, B. - VALSA, A. K. - VIJAYAKUMAR, S. - SANDHYA, C. - VIJAYALAKSHMI, N. R.: A comparative study on the hypolipidemic activity of eleven different pectins. Journal of Food Science and Technology, 34, 1997, s. 103-107.
27. ANDERSON, J. W.: Dietary fiber, lipids and atherosclerosis. American Journal of Cardiology, 60, 1987, s. 17G-22G.
28. VIGNE, J. L. - LAIRON, D. - BOREL, P.: Effect of pectin, wheat bran and cellulose on serum lipids and lipoproteins in rats fed on low- or high fat diets. British Journal of nutrition, 58, 1987, s. 405-413.
29. BIELICKI, J. K. - FORTE, T. M. - MCCAL, M. R.: Minimally oxidized LDL is a potent inhibitor of lecithine:cholesterol acyltransferase activity. Journal of Lipid Research, 37, 1996, s. 1012-1021.
30. LACKO, A. G.: The metabolism of high-density lipoproteins. Trends in Cardiovascular Medicine, 4, 1994, s. 84-88.
31. FILIPEK, J.: The effect of mushroom *Pleurotus ostreatus* on the lipid peroxidation of phosphatidilcholine liposomes. Pharmazie, 47, 1992, s. 393.
32. LU, F. J. - CHU, L. H. - GAU, R. J.: Free radical scavenging properties of lignin. Nutrition and Cancer, 30, 1998, s. 31-38.
33. KRITCHEVSKI, D.: Evaluation of publicly available scientific evidence regarding certain nutrient-disease relationships. 5. Dietary fiber and cancer. FDA Contract No. 223-88-2124. Bethesda : MD. Life Science Research Office, Federation of American Societies for Experimental Biology, 1991.
34. DWYER, J. T. - AUSMAN, L. M.: Fiber: unanswered questions. Journal of National Cancer Institute, 84, 1992, s. 1851-1853.
35. KRITCHEVSKI, D.: Dietary fibre and cancer. (Review.) European Journal of Cancer Prevention, 6, 1997, s. 435-441.
36. MADAR, Z. - ZUSMAN, I.: The role of dietary factors in prevention of chemically-induced cancers. (Review). International Journal of Oncology, 11, 1997, s. 1141-1148.
37. MOORE, M. A. - PARK, C. B. - TSUDA, H.: Soluble and insoluble fiber influences on cancer development. Critical Reviews in Oncology/Hematology, 27, 1998, s. 229-242.
38. BIRD, R. P.: Role of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. Cancer Letter, 93, 1995, s. 55-71.
39. PEGG, A. F. - SHANTZ, L. M. - COLEMAN, C. S.: Ornithine decarboxylase as a target for chemoprevention. Journal of Cell Biochemistry (Suppl.), 22, 1995, s.132-138.

Do redakcie došlo 25.1.1999.

**Apple pomace effect on hypercholesterolemia
and colon carcinogenesis in rat**

BOBEK, P. - GALBAVÝ, Š.: Bull. potrav. Výsk., 38, 1999, p. 25-35

SUMMARY. The effect of apple pomace (15 % in the diet) on the development of hypercholesterolemia and colon carcinogenesis induced by dimethylhydrazine (DMH) was studied in male Wistar rats fed with a cholesterol (0.3 %) diet. DMH was administered to one-half of experimental animals subcutaneously in 12 doses (one dose a week, 20 mg.kg⁻¹ of body weight) during 12 weeks. In the experiment lasting for 30 weeks, apple pomace reduced serum cholesterol level by 40 %. This reduction could be proportionally attributed to changes in very-low-density and low-density lipoproteins. The diet caused a 40 % decrease of conjugated dienes in plasma and in DMH-exposed animals also in erythrocytes. Apple pomace reduced the activities of catalase and glutathione peroxidase in erythrocytes (and catalase also in liver) in DMH-exposed animals. The incidence of tumors was not significantly affected by apple pomace. However, the development of pre-cancerous foci of aberrant crypts was significantly reduced. A significant decrease in the activity of ornithine decarboxylase was observed in both - the liver and the colon.

KEYWORDS: apple pomaces, rat, cholesterolemia, dimethylhydrazine, carcinogenesis, colon