

Úrad verejného zdravotníctva Slovenskej republiky
Slovenská spoločnosť hygienikov SLS
Ústav hygieny Lekárskej fakulty UK Bratislava

ŽIVOTNÉ PODMIENKY A ZDRAVIE

Zborník vedeckých prác

Jana Jurkovičová
Zuzana Štefániková

BRATISLAVA
2011

Zborník vedeckých prác

- Editori:** doc. MUDr. Jana Jurkovičová, CSc.
MUDr. Zuzana Štefániková, CSc.
- Technická
spolupráca:** doc. Ing. Stanislav Sekretár, CSc.
- Recenzenti:** prof. MUDr. Kamila Bernasovská, CSc.
doc. MUDr. Anna Egnerová, CSc.
doc. MUDr. Igo Kajaba, DrSc.
- Vydal:** © Úrad verejného zdravotníctva SR, 2011
Počet strán: 487

ISBN 978-80-7159-208-2
EAN 9788071592082

ÚČINOK INULÍNU V PROCESSE EXPERIMENTÁLNEJ KARCINOGENÉZY¹

E. Hijová, V. Szabadosová, A. Chmelárová, A. Bomba

Ústav experimentálnej medicíny Lekárskej fakulty UPJŠ, Košice

Kolorektálny karcinóm – karcinóm hrubého čreva a/alebo rekta patrí medzi najčastejšie príčiny úmrtia na rakovinové ochorenia (2), Slovensko nevynímajúc. Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) a WHO štatistický informačný systém (WHOSIS) uvádzajú, že úmrtnosť na rakovinu bude narastať, pričom sa odhaduje, že do roku 2015 podľahe rakovine 9 miliónov a do roku 2030 až 11,4 milióna ľudí (7). Rizikovými faktormi pre vznik karcinómu sú predovšetkým genetické dispozície, chronické zápalové črevné ochorenia a nesprávne stravovacie návyky a nedodržiavanie zásad zdravého životného štýlu (6). Ukazuje sa, že syntetické prípravky používané na liečbu civilizačných chorôb síce riešia niektoré zdravotné problémy, ale zároveň majú mnohé vedľajšie negatívne účinky na ľudský organizmus. Z uvedených dôvodov výrazne stúpa záujem o využívanie ekologických metód prevencie a liečby chorôb v celosvetovom meradle. Význam črevnej mikroflóry pri udržovaní zdravia podnietil zvýšenie záujmu o potraviny obsahujúce probiotické baktérie a prebiotiká, ktoré predstavujú účinnú alternatívu prevencie a liečby civilizačných chorôb.

Cieľom experimentálnej práce bolo zistiť účinok najznámejšieho prebiotika – inulínu na aktivitu glykolytického enzýmu β -glukuronidázy, koncentráciu žľčových kyselín, lipidov a mastných kyselín s krátkym reťazcom (SCFA) počas dimethylhydrazínom (DMH) indukovanej karcinogenézy hrubého čreva.

Materiál a metódy

Potkany (n = 24) vo veku 6 mesiacov s priemernou hmotnosťou $387,50 \pm 69,90$ g v kontrolnej a $350,83 \pm 32,64$ g v experimentálnej skupine sa chovali v konvenčných podmienkach Centrálného zvieratníka LF UPJŠ, krmili sa vysokotukovou diétou s obsahom tuku do 10% na kg krmiva, napájali vodou ad libitum, s dennou kontrolou spotreby krmiva a vody. Experiment schválila Štátna veterinárna a potravinová správa SR v súlade

¹This work was supported by the grant VEGA 1/0372/10 and partially supported by the Agency of the Slovak Ministry of Education for the Structural Funds of the EU, under project ITMS: 26220120058 (40%)

s legislatívnymi ustanoveniami. Dĺžka experimentu bola 8 týždňov, pričom dva týždne po jeho začatí sa iniciovala karcinogenéza subkutánnym podaním prokarcinogénu dimethylhydrazín (N,N-Dimethylhydrazine, DMH), firmy Merck (Nemecko) v dávke 20 mg/kg ž. hm., s. c., 2-krát stýždenným intervalom. Prebiotikum – inulín obohatený o oligofruktózu (BeneoSynergy 1) firmy ORAFI (Belgicko) sme aplikovali v dávke 2% na kg krmiva potkanom v experimentálnej skupine. Po ukončení experimentu sme v celkovej anestéze (Ketamín v dávke 100mg/kg + Xylazín 15 mg/kg ž.hm., i.p) zvieratám odobrali biologický materiál (vzorky obsahu hrubého čreva a krv). V čerstvých vzorkách obsahu hrubého čreva sme stanovili enzýmovú aktivitu β -glukuronidázy použitím API ZYM kitu (BioMérieux, Francúzsko) podľa návodu výrobcu a vyjadrili škálou od 0 (negatívna reakcia) do 5 (maximálna aktivita). Hodnoty mastných kyselín s krátkym reťazcom v kolóne sme analyzovali plynovou chromatografiou Hewlett Packard (USA). Vzorky krvi získané punkciou zo srdca sme centrifugovali pri 2500 G/15 min a získané krvné sérum sme použili na stanovenie koncentrácie žlčových kyselín komerčným setom firmy Trinity Biotech (Írsko), a lipidových parametrov setmi firmy Biolatest (Česká Republika).

Na stanovenie významnosti rozdielov medzi kontrolnou a experimentálnou skupinou sme použili Studentov t-test a ANOVA. Za štatisticky významné sa považovali rozdiely, ak $P < 0,05$.

Výsledky

V priebehu celého experimentu sme nezaznamenali úhyn, prípadne zhoršenie zdravotného stavu zvierat. Priemerná hmotnosť zvierat sa zvýšila o 2,1% ($395,83 \pm 74,40$ g) v kontrolnej skupine a v experimentálnej skupine o 2,8% ($360,83 \pm 47,19$ g). Hmotnosť zvierat sa menila v závislosti od spotreby krmiva. Kontrolná skupina zvierat predstavovala skupinu s najvyšším rizikom pre vývoj rakoviny hrubého čreva s kumuláciou dvoch rizikových faktorov, a to vysokotuková diéta a DMH. Antitumorová aktivita prebiotík realizovaná supresiou baktérií produkujúcich β -glukuronidázu, ktoré katalyzujú konverziu prokarcinogénov na karcinogény, signifikantne znížila aktivitu β -glukuronidázy oproti kontrolnej skupine ($4,25 \pm 0,52$ vs. $0,83 \pm 0,52$, $P < 0,001$), (obr. 1).

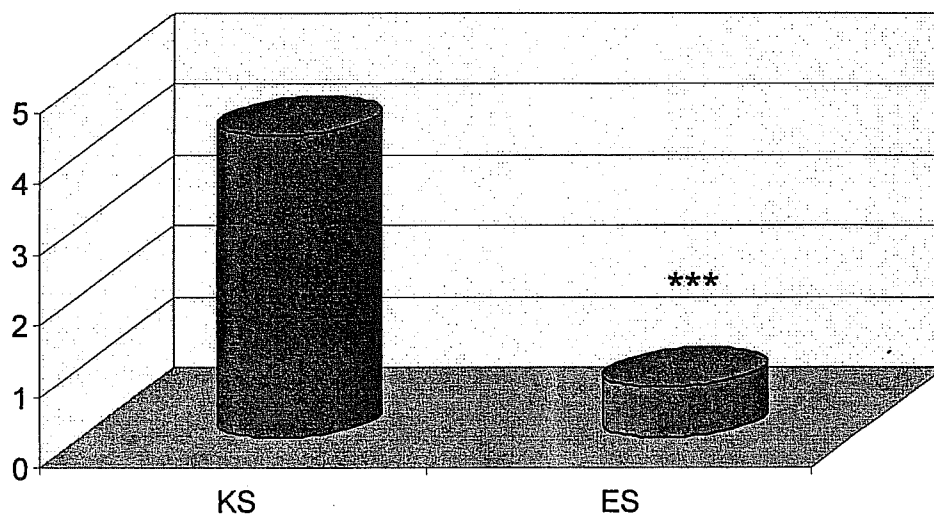
Liečba potkanov inulínom znížila koncentráciu žlčových kyselín ($16,84 \pm 6,33$ $\mu\text{mol/l}$ vs. $11,72 \pm 4,22$ $\mu\text{mol/l}$, $P < 0,01$), celkového cholesterolu ($1,39 \pm 0,22$ $\mu\text{mol/l}$ vs. $0,83 \pm 0,19$ $\mu\text{mol/l}$, $P < 0,001$) a triacylglycerov ($1,05 \pm 0,32$ $\mu\text{mol/l}$ vs. $0,57 \pm 0,23$ $\mu\text{mol/l}$, $P < 0,001$) (obr. 2 a 3). Fermentácia inulínu v hrubom čreve zvýšila produkciu SCFA predovšetkým kyseliny maslovej ($P < 0,01$) (obr. 4).

Diskusia

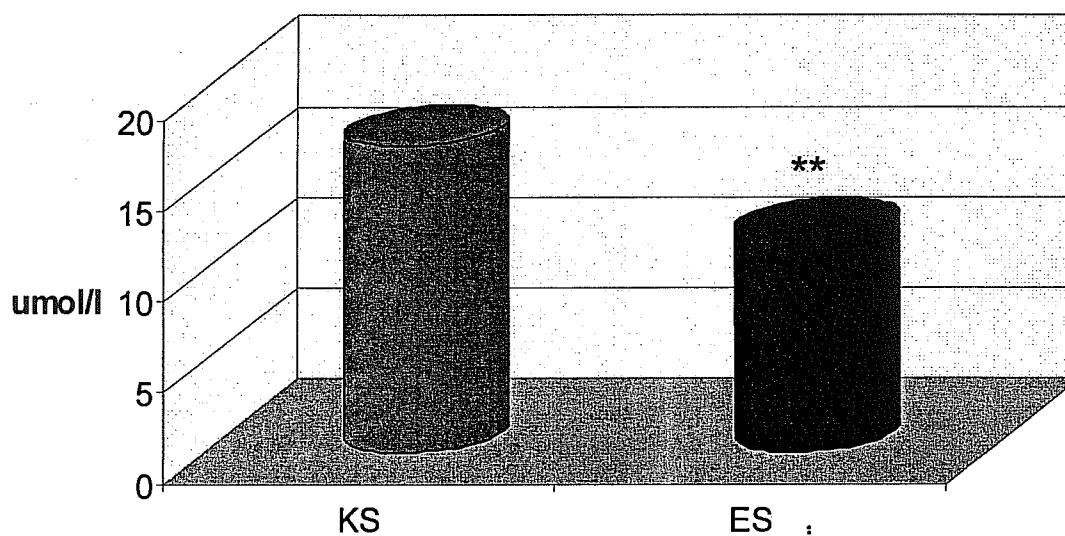
Termín prebiotikum koncipovali Roberfroid a Gibson v roku 1995 (3). Obaja boli zainteresovaní v príprave konceptu „funkčné potraviny“, medzi ktoré patria aj prebiotiká. Prebiotiká sú vo všeobecnosti definované ako nestráviteľné potravinové zložky, ktoré sú rezistentné na účinok hydrolytických enzýmov v hornej časti GIT, prechádzajú do kolónu v

nezmenenom stave a priaznivo ovplyvňujú mikroflóru hosťiteľského organizmu selektívnou stimuláciou rastu, alebo aktivitu jedného alebo niekoľkých druhov zdraviu prospešných mikroorganizmov v hrubom čreve, a súčasne potláčajú patogénne baktérie prítomné v mikroflóre. V roku 2004 bola táto definícia upravená a dnes sú prebiotiká definované ako selektívne fermentované ingrediencie (zložky potravín), ktoré umožňujú špecifické zmeny v zložení a/alebo aktivite mikroorganizmov v GIT, ktoré majú priaznivý vplyv na zdravie hosťiteľa (5).

*** $P < 0,001$

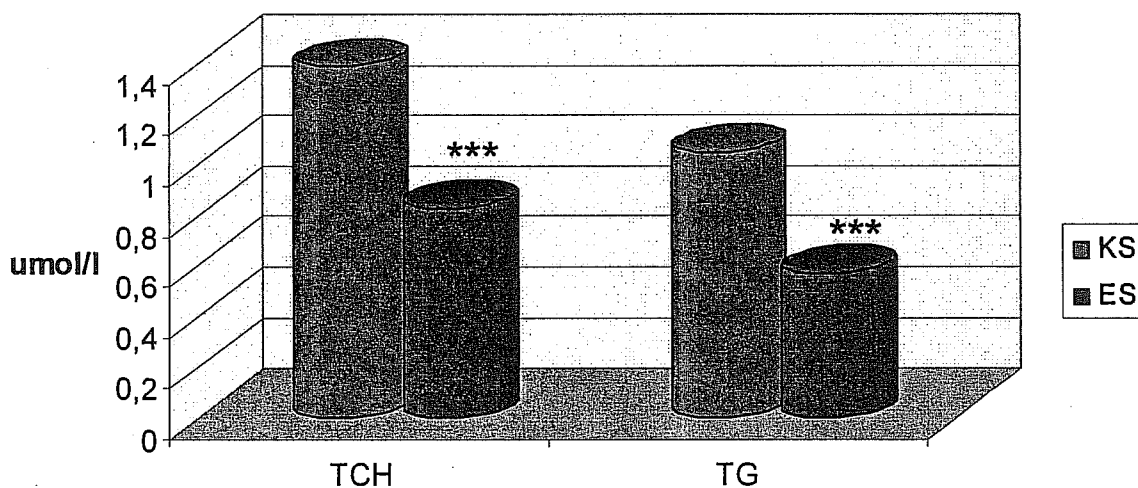


Obr. 1. Prebiotikum a β -glukuronidáza



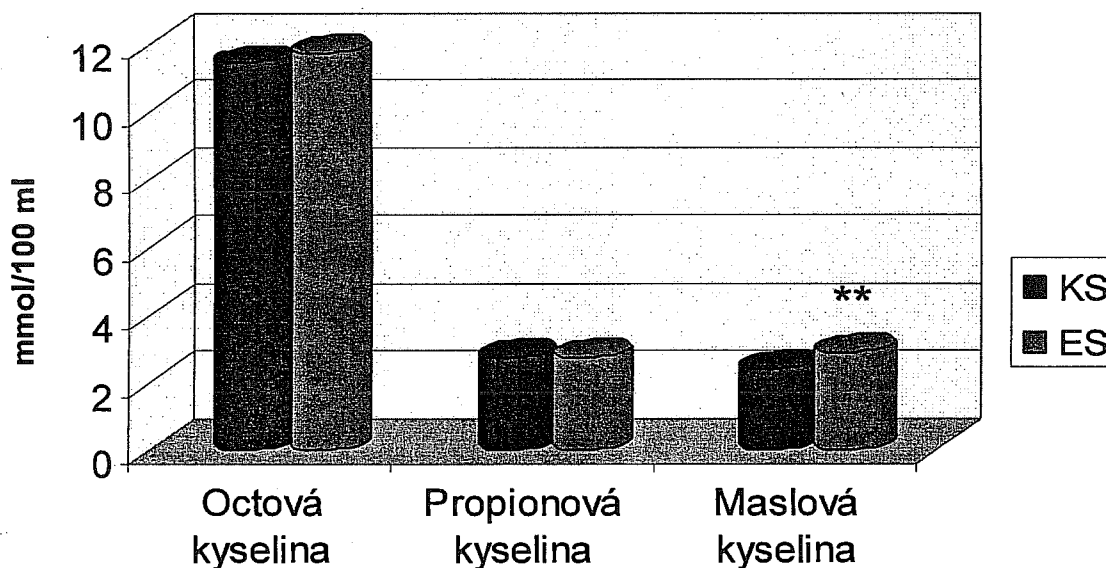
** $P < 0,01$

Obr. 2. Prebiotikum a žlčové kyseliny



*** P < 0,001

Obr. 3. Prebiotikum a lipidy



** P < 0,01

Obr. 4. Prebiotikum a mastné kyseliny s krátkym reťazcom

Termíny „funkčné potraviny“, „nutraceutiká“, „potravinové doplnky“ sú pojmy, ktoré sa čoraz častejšie implementujú do našich slovníkov. O ich potenciáli/benefite pri zmiernení zdravotných problémov, predovšetkým v gastrointestinálnom trakte, sa neustále diskutuje. Koncept funkčných potravín vytvorili v roku 1980 v Japonsku a prvá kniha o funkčných potravinách vyšla v roku 2000 (4).

Prebiotiká sú produkty prevažne prírodného charakteru, nachádzajúce sa v rastlinách, ako sú artičoky, čakaňka, cibuľa, cesnak, ovocie, zelenina, strukoviny a podobne, ktoré sa ako aditíva pridávajú do potravinárskych produktov a doposiaľ ich využíva prevažne západná

populácia. Prebiotiká majú multifunkčný charakter, využívajú sa ako prírodná náhrada tuku a cukru, na úpravu textúry, chutnosti a jemnosti v potravinárskych komoditách, ako sú napr. mliečne produkty (jogurty, syry, nápoje), mrazené dezerty, ovocné produkty, cereálne a extrudované výrobky, chlieb, pečivo, plnky, cukrovinky, čokoláda, diétne výrobky, výrobky z masla, šalátové dressingy, mäsové produkty, vrátane nápojových produktov. Všetky doterajšie komerčné prebiotické produkty sú sacharidy, a to prevažne oligosacharidy, fruktooligosacharidy alebo niektoré polysacharidy, ktoré sú čiastočne alebo úplne rezistentné voči účinkom tráviacich enzýmov hostiteľa. Neabsorbujú sa, ani sa nemetabolizujú v hornej časti tráviaceho traktu. Preto sú schopné dosiahnuť hrubé črevo, kde môžu reagovať s mikrobiálnou flórou a črevnými bunkami, podporovať rast a metabolickú aktivitu probiotických a niektorých črevných baktérií, a tým zvýšiť ich prospešné účinky. Hovorí sa o tzv. bifidogénnom efekte.

Prebiotiká využívajú ako špecifické rastové substráty prospešné baktérie, napr. lactobacily. Nevyužívajú ich patogény, resp. potenciálne patogény. Indukujú enzymatický systém prospešných baktérií, ktorý ich fermentuje na organické mastné kyseliny s krátkym reťazcom (SCFA) a produkty, ako sú vodík, metán a CO₂. Tým sa vytvárajú priaznivé podmienky pre kolonizáciu tráviaceho traktu prospešnými baktériami a naopak, rast nežiaducej mikroflóry sa potláča. Zvýšená produkcia SCFA črevnou mikroflórou, ktorá využíva tieto nestráviteľné oligosacharidy môže byť ochranou pred rozvojom kolorektálnej rakoviny (1). Prebiotiká reagujú s proteínovými receptormi, prítomnými na povrchu mikrobiálnych buniek alebo epiteliálnych buniek tráviaceho traktu a ovplyvňujú bakteriálnu adhérenciu a imunomoduláciu. Skúmajú sa ďalšie pomocné účinky, ako je zvýšenie absorpcie niektorých minerálnych látok (Ca⁺⁺, Mg⁺⁺), inhibícia prekancerózy adenómu a karcinómu. Ďalším benefitom používania prebiotík je ich schopnosť posilniť imunitný systém organizmu, prispieť k zníženiu cholesterolu a triacylglycerolov v krvi, ako jedného z hlavných rizikových faktorov srdcovo-cievnych chorôb, stimulovať črevnú peristaltiku a urýchliť prechod trávenej potravy, takže stena čreva je kratšie vystavená pôsobeniu prípadných škodlivých zložiek potravy a splodín látkovej premeny. Pomáhajú bojovať proti obezite, majú využitie pri redukčných diétach, viažu vodu, tým sa zväčšuje objem požitej potravy a vyvolávajú pocit sýtosti, stabilizujú hladinu krvného cukru u diabetikov. Zvýšená aktivita bakteriálnych enzýmov súvisí so zvýšeným rizikom rozvoja rakoviny. Sú to enzýmy produkované mikroflórou hrubého čreva zapojené v II. fáze pečenej detoxikácie, počas ktorej dochádza ku konjugácii toxínov s kyselinou glukurónovou. Konjugované toxíny sa pečeneou vylučujú z organizmu. Aktivita enzýmov s toxickými vlastnosťami sa dá upraviť zmenou, resp. doplnením stravy, napríklad o prebiotikum. Potvrdila sa antitumorová aktivita prebiotík, ktorá sa môže realizovať buď priamo inhibíciou nádorových buniek, alebo supresiou baktérií produkujúcich β-glukuronidázu, ktoré katalyzujú konverziu prokarcinogénov na proximálne karcinogény.

Záver

Výsledky našej experimentálnej práce preukázali, že liečba prebiotikom u potkanov s aplikovaným prokarcinogénom v kombinácii s vysokotukovou diétou mala preventívny

účinok preukázaný znížením aktivity bakteriálnych enzýmov, znížením koncentrácie cholesterolu, triacylglycerolov a žlčových kyselín a nárastom SCFA, predovšetkým kyseliny maslovej. Inulín má vlastnosti, ktoré sa môžu využiť v prevencii, prípadne v rámci komplexnej liečby rakoviny hrubého čreva, ale aj iných chorôb. Nemožno vylúčiť, že práve zníženie príjmu probiotík a prebiotík má negatívny dopad na naše zdravie a že zvýšenie príjmu týchto dôležitých zložiek potravy môže významne ovplyvniť zdravie každého jedinca. Dietetika sa stále odsúva na okraj záujmu a nepovažuje sa za dôležitú súčasť liečby. Za určitých okolností by mohla pacientovi pomôcť úprava dietetických návykov a erudované vysvetlenie ošetroujúcim personálom. Prebiotiká poskytujú potenciál v prevencii a liečbe významných gastrointestinálnych chorôb. Dôležitým faktorom, ktorý môže tieto závery podporovať je, že viac ako 60% buniek imunitného systému sa nachádza v gastrointestinálnom trakte, a preto dostatočná výživa enterocytov z lúmenu čreva s primeraným príjmom probiotík a prebiotík dokáže maximalizovať imunitnú odpoveď organizmu a modulovať zápalovú reakciu – lokálnu alebo systémovú.

Literatúra

1. Augenlicht LM, Mariadason JM, Wilson A, Arango D, Yang W, Heerdt BG, Velcich A. Short chain fatty acids and colon cancer. *J Nutr* 2002; 132: 3804-3808.
2. Boyle P, Langman JS. ABC of colorectal cancer. *BMJ* 2000; 321: 805 – 808.
3. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125: 1401-1412.
4. Gibson GR, Williams ChM. (Ed.) *Functional foods – concept to product*. Woodhead Publishing Ltd., Woodhead 2000: 392.
5. Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev* 2004; 17: 259-275.
6. Hájová E, Chmelárová A. The risk of cancer in relationship to diet. *Bratisl Lek Listy* 2008; 109: 320-323.
7. *World Health Statistics 2008*: Geneva: WHO Press, 2008: 110.