

CHLORELLA VULGARIS IFR-111 POVEIKIS NAUJOSIOS ZELANDIJOS TRIUŠIŲ ORGANIZMUI

Judita Žymantienė¹, Vaidas Oberauskas¹, Jonė Kantautaitė¹, Vida Babrauskienė¹, Marija Paunksnienė¹,
Albina Aniulienė², Alius Pocevičius²

¹Anatomijos ir fiziologijos katedra, Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas
tel. (8~37) 36 32 04; el. paštas: juditaz@lva.lt, vaidas@lva.lt, oftalmolog@lva.lt

²Užkrečiamųjų ligų katedra, Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18; el. paštas: dekane@lva.lt; palius@lva.lt

Santrauka. Darbo tikslas buvo nustatyti žaliojo dumblio padermės *Chlorella vulgaris* IFR-111 poveikį Naujosios Zelandijos jaunų ir triušingų patelių organizmui, hematologiniams rodikliams, aklosios žarnos mikroflorai, akių struktūros komponentams, kepenų, inkstų, širdies masei bei kepenų ir inkstų histologinei struktūrai. Tirta dvidešimt 3 mėnesių Naujosios Zelandijos triušių ir 2 metų triušingos patelės. Pagal amžių ir svorį triušiai suskirstyti į keturias grupes, kiekvienoje po penkis. Triušiai laikyti Lietuvos veterinarijos akademijos vivariume ir šerti pašaru, pagamintu UAB „Kauno grūdai“. Visų grupių gyvūnėliai šerti tos pačios sudėties pašaru, jo ir vandens gavo *ad libitum*. I grupės 3 mėnesių triušiai buvo girdyti vandeniu (kontrolinė grupė); II grupės tokio pat amžiaus triušiai su vandeniu kasdien 4 savaites gavo po 25 ml chlorelių tirpalo; III grupės triušingos 2 metų patelės girdytos vandeniu; IV grupės triušingos 2 metų patelės viso triušingumo laikotarpiu kasdien buvo girdytos po 50 ml chlorelių tirpalo. *Chlorella vulgaris* IFR-111 padermė neturėjo neigiamo poveikio nei jaunų triušių, nei triušingų patelių organizmui. Žaliojo dumblio teigiamai veikė kai kuriuos triušių fiziologinius parametrus, pagerino hemopoezę, padidino bendrą baltymų kiekį kraujo serume. Chlorelių veikiamas cholesterolis sumažėjo ir jaunų, ir triušingų patelių kraujyje ($p < 0,05$). Jaunų triušių širdies svoris buvo 10,71 proc. ($p < 0,05$), inkstų –1,03 proc. ($p > 0,05$) mažesnis, tačiau kepenų –3,31 proc. ($p < 0,05$) didesnis palyginti su kontrole. Jaunų triušių aklojoje žarnoje statistiškai nereikšmingai buvo mažesnis bendras enterobakterijų bei *Lactobacillus* spp. kiekis ($p > 0,05$). Jaunų triušių buvo nežymiai mažesnis akies ašies, stiklakūnio ašies ilgis, priekinės kameros gylis ($p > 0,05$) bei lęšio storis ($p < 0,05$). Chlorelių priedas nei kepenų, nei inkstų histologinės struktūros nepakeitė.

Raktažodžiai: triušiai, *Chlorella vulgaris* IFR-111, kraujas, mikroflora, akys, histologiniai tyrimai.

THE EFFECT OF *CHLORELLA VULGARIS* IFR-111 ON THE ORGANISM OF NEW ZEALAND WHITE RABBITS

Judita Žymantienė¹, Vaidas Oberauskas¹, Jonė Kantautaitė¹, Vida Babrauskienė¹, Marija Paunksnienė¹,
Albina Aniulienė², Alius Pocevičius²

¹Department of Anatomy and Physiology, Lithuanian Veterinary Academy
Tilžės str. 18 LT-47181 Kaunas, Lithuania; tel. +37037 363204,

e-mail: juditaz@lva.lt, vaidas@lva.lt, oftalmolog@lva.lt

²Department of Infectious Diseases, Lithuanian Veterinary Academy, Tilžės str. 18 LT – 47181 Kaunas, Lithuania

Summary. The aim of the experiment was to study the effect of *Chlorella vulgaris* IFR-111 strain on the organism of New Zealand White juvenile rabbits and pregnant females. A total of 20 rabbits were divided by stratified random method to four groups each of five animals. Rabbits were kept individually in cages at vivarium of Lithuanian Veterinary Academy and fed a standard diet manufactured by UAB „Kauno grūdai“. After 7 days adaptation, rabbits in Group 1 (control – three months old) were fed standard diet and drinking water *ad libitum*; Group 2 (experimental – three months old) fed standard diet and drinking water *ad libitum* supplemented with *Chlorella vulgaris* IFR-111 extract 25 ml daily for 4 weeks; Group 3 (control – pregnant females, 2 years old) were fed standard diet and drinking water *ad libitum*, and Group 4 experimental (pregnant females, 2 years old) fed standard diet and drinking water *ad libitum* supplemented with *Chlorella vulgaris* 50 ml daily for 4 weeks. *Chlorella vulgaris* IFR-111 concentration was $10,8 \times 10^9/L$. Every week blood samples were collected from ear vein and level of glucose, triglycerids, cholesterol, proteins, erythrocytes, Hb and oxygen were determined. A-mode ultrasonography was used to determine eye's morphological indexes. At the end of experiment 6 rabbits (3 from Groups 1 and 2) were euthanised and the microflora of caecum, weigh of the liver, kidney and heart, histological parameters of kidney and liver were determined. Blood parameters were not significantly affected by *Chlorella vulgaris*. However, *Chlorella vulgaris* IFR-111 strain positively influenced physiological parameters, improved hemopoiesis and increased the total protein level in blood serum. In experimental Groups 2 and 4 significantly decrease of the level of total cholesterol compared to controls was registered ($P < 0.05$). The weight of hearts in juvenile rabbits was on 10.71% ($P < 0.05$), kidney on 1.03% ($P > 0.05$) lower and liver weight on 3.31% ($P < 0.05$) higher compared to controls. In young rabbits (Group 2) total amount of enterobacteria and *Lactobacillus* spp. strain in the caecal content significantly decreased compared to controls in Group 1 ($P > 0.05$). The juvenile rabbits in Group 2 had significantly lower axis of vitreous body length anterior chamber depth in front and the thickness of crystalline lens ($P < 0.05$) compared to controls. In Group 2, histological structure of liver and kidney were not affected by *Chlorella vulgaris*.

Keywords: rabbits, *Chlorella vulgaris* IFR-111, blood parameters, microflora, eye structure, histology.

Įvadas. Pastaruoju metu vis daugiau žmonių valgo dietinę mėsą, o triušienos paklausa nuolat auga visose valstybėse. Šios mėsos pasiūla rinkoje yra mažesnė nei paklausa. Triušienoje yra apie 20 proc. baltymų, labai mažai cholesterolio palyginti su kitų gyvūnų mėsa. Nuolat ieškoma būdų, kaip per trumpesnę laiką užauginti sveiką triušį, sunaudoti mažiau pašarų ir gauti daugiau šios dietinės produkcijos, naudojant įvairius pašarų papildus. Lietuvos Respublikai tapus Europos Sąjungos nare, vadovaujama teisės aktais, kuriais gyvūnų organizmo funkcijoms koreguoti, produkcijai didinti, imuninei sistemai stiprinti ir augimui aktyvuoti draudžiama naudoti kai kuriuos sintetinius preparatus, hormonus, antibiotikus. Taigi natūralių produktų – probiotikų, prebiotikų, fitobiotikų, kaip pašarų papildų, – naudojimas įgauna vis platesnį mastą.

Natūralūs papildai ir žmonių, ir gyvūnų mityboje, nors ir naudojami ilgesnį laiką, daug efektyvesni nei sintetiniai, nes aktyvina hemopoezę, skatina vystymąsi, augimą, stiprina organizmo imuninę sistemą, aktyvina virškinimo sistemos mikroflorą bei fermentinius procesus (Morita et al., 1999; Hasegawa et al., 2000; Merchant, Andre, 2001; Scott et al., 2003; Spolaore et al., 2006). L. Ašmenskaitė ir kiti tyrėjai (2007) nustatė, kad triušių sveikatingumui užtikrinti, augimui stimuliuoti, virškinimo sistemos fermentinei veiklai aktyvinti gali būti naudojami ir augaliniai preparatai (cikorijos), pasižymintys ryškiais prebiotinėmis savybėmis. M. J. Kwon su bendradarbiais (2003) teigė, kad gerų triušių sveikatos rodiklių galima pasiekti ir racionus pridėjus česnako miltelių. Daugelyje valstybių gyvūnų ir žmonių mityboje organizmo funkcijoms gerinti pradėtas naudoti žaliasis dumbelis *Chlorella vulgaris* (Kralovec, 2003; Justo et al., 2001; Becker, 2004; Spolaore et al., 2006). Japonijos, Kinijos, Anglijos, Vokietijos, Italijos, Latvijos, Izraelio, Armėnijos, Rusijos, Amerikos mokslininkai atliko daugybę studijų tyrinėdami natūralaus vienląsčio augalo – žaliojo dumblio *Chlorella vulgaris* įtaką žmogaus, laboratorinių gyvūnų – pelių, žiurkių, taip pat viščiukų, vištų dedeklių bei lapių ir audinių organizmui (Dantas et al., 1999; Chovančikova, Šimek, 2001; Justo et al., 2001; Merchant, Andre, 2001; Sugimoto et al., 2002; Spolaore et al., 2006; Спрыж, 1990). T. Kanno ir D. Klinghardt (2005) teigė, kad chlorelė nėra didesnė už eritrocitą, tačiau turi polisacharidinę membraną, kuri gali absorbuoti daug dioksino, gyvsidabrio, švino ir kitų toksinų bei kancerogeninių medžiagų.

Lietuvos UAB „Aconitum“ gamina chlorelių preparatą „Chlorella CE“, kurį siūlo kaip natūralų žmonių maisto papildą organizmo funkcijoms atstatyti, aktyvinti imuninę sistemą, gerinti virškinimo procesą, kepenų ir tulžies veiklą. Be to, chlorelės pasižymi antioksidacinėmis savybėmis, turi natūralaus beta karotino, vitaminų ir nukleino rūgščių (Stašonienė, 2003). Jų sudėtyje yra mineralinių medžiagų jodo, bromo, kobalto, kalio, fosforo, 23 aminorūgštys, vitaminai K, A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, E. Chlorelių biomasės sausojoje medžiagoje yra 60 proc. žalių proteinų, 7–10 proc. lipidų, 30 proc. angliavandenių, 12 proc. pelenų, kuriuose gausu fosforo, magnio, sieros, kalio, natrio, kalcio, boro, geležies, vario, cinko, nikelio, chromo, molibdeno (Спрыж, 1990; Morita et al., 1999).

Moksliniais tyrimais nustatyta, kad *Chlorella vulgaris* naikina pelių odos navikus, pasižymi antivėžinėmis savybėmis vystantis atipinėms ląstelėms odoje (Certik, Shimizu, 1999; Singh et al., 1999; Justo et al., 2001; Sugimoto, 2002). C. Y. Chu su bendradarbiais (2004) nustatė, kad chlorelės turi ir antibiotikams būdingų savybių prieš patogenines bakterijas. Be to, ištirta, kad *Chlorella vulgaris* papildo organizmą aminorūgštimis – lizinu, metioninu, triptofanu, argininu, histidinu, leucinu, fenilalaninu, treoninu, valinu, sujungia laisvuosius radikalus (Merchant, Andre, 2001; Piccione et al., 2002; Vijayavel et al., 2007). A. H. Scott ir kiti tyrėjai (2003) teigė, kad, medicinoje profilaktiškai vartojant chlorelės tabletes, kapsulėmis arba ekstraktą, sumažėja cholesterolio kraujyje ir alerginių reakcijų rizika, ypač po vakcinavimo nuo gripo. Moksliniais eksperimentais įrodyta, kad chlorelės aktyvina makrofagų veiklą, stiprina T kilių aktyvumą ir taip didina organizmo atsparumą infekcijai bei pasižymi antibakteriniu poveikiu (Dantas et al., 1999; Kralovec, 2003; Queiroz et al., 2003). Chlorelės maisto medžiagas padeda pasisavinti tuomet, kai gyvūnai šeriami subalansuotu, visaverčiu racionu, bet ne tada, kai gyvūnai badauja arba racionas nėra subalansuotas. Mokslininkai nustatė, kad girdant suspensija triušius kasdien, 30 dienų iš eilės po 50–100 ml priklausomai nuo svorio, padidėjo triušių prisvoris, kito hemopoezė (Спрыж, 1999; Spolaore et al., 2006). Mokslinėje literatūroje dar nėra pakankamai duomenų apie chlorelių poveikį atskirų triušių organizmo sistemų funkcijoms, organams, ne iki galo išaiškintas jų veikimo mechanizmas.

Darbo tikslas – nustatyti žaliojo dumblio *Chlorella vulgaris* IFR-111 poveikį Naujosios Zelandijos triušių organizmui, hematologiniams rodikliams, aklosios žarnos mikroflorai, akių struktūros komponentams, kepenų, inkstų, širdies masei bei kepenų ir inkstų histologinei struktūrai.

Medžiagos ir metodai. Tyrimai atlikti su Naujosios Zelandijos triušiais, laikytais Lietuvos veterinarijos akademijos vivariume, vadovaujantis laboratorinių gyvūnų naudojimo etikos reikalavimais, laikantis Gyvūnų, skirtų eksperimentams ir kitiems mokslo tikslams, laikymo, priežiūros ir naudojimo reikalavimų, patvirtintų Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos direktoriaus 2008 12 18 įsakymu Nr. B1-639 (Žin., 2009, Nr. 287). Vivariumo mikroklimato parametrai buvo tokie: patalpos temperatūra – 18–22°C, santykinė drėgmė – 55–60 proc., apšvietimo ciklas per parą – šviesa/tamsa 12:12 val.

Tirta dvidešimt 3 mėnesių Naujosios Zelandijos triušių ir 2 metų triušingos patelės. Pagal amžių ir svorį triušiai suskirstyti į keturias grupes, po 5 kiekvienoje. Gyvūnai šerti triušiams skirtu granuliuotu pašaru, pagamintu UAB „Kauno grūdai“. I grupės 3 mėnesių triušiai buvo girdyti geriamuoju vandeniu (kontrolinė grupė); II grupės 3 mėnesių triušiai su vandeniu 4 savaites kasdien gavo po 25 ml chlorelių suspensijos; III grupės 2 metų triušingos patelės gavo geriamojo vandens *ad libitum* (kontrolinė grupė); IV grupės 2 metų triušingos patelės su geriamuoju vandeniu kasdien gavo 50 ml chlorelių suspensijos visą triušingumo laikotarpį. Chlorelių dozė parinkta pagal gyvūnų svorį, remiantis preliminaromis užsienio šalių

mokslininkų rekomendacijomis. *Chlorella vulgaris* IFR-111 koncentracija buvo $10,8 \times 10^9/L$. Paruošiamasis bandymo laikotarpis truko vieną savaitę, o bandymas – 30 dienų. Triušiai buvo sverti individualiai prieš bandymą ir jo pabaigoje. Gyvūnėliai buvo laikomi individualiuose „Techniplast“ (Italija) narveliuose. 3 mėnesių triušiai prieš bandymą svėrė vidutiniškai $2100 \pm 0,22$ g, o triušingos patelės – $5000 \pm 0,40$ g.

Kraujas prieš šeriant imtas iš ausies marginalinės venos (*v. auricularis ext.*) į centrifuginius ir vakuuinius (Venoject, Belgija) su antikoagulantu EDTA mėgintuvėlius. Serumui skirti kraujo mėginiai buvo be antikoagulianto ir 15 min. centrifuguoti 1000 apsisukimų per min. greičiu (Labofuge GL, Heraeus Christ, Belgija). Gliukozės, trigliceridų ir cholesterolio kiekis nustatytas refleksiiniu fotometru (Accutrend GCT, Soft Test system, Roche, Šveicarija), baltymai – refraktometru RL 3 (Lenkija), o eritrocitų, hemoglobino ir deguoninės kraujo talpos tyrimai atlikti pagal V. Jablonskienės ir kitų mokslininkų (2007) metodiką.

Eutanazija atlikta I ir II grupės triušiams ($n=3$), laikantis Lietuvos laboratorinių gyvūnų naudojimo Etikos komisijos reikalavimų (Šimkevičienė, Rukšėnas, 2001). Po laparatomijos iš trijų bandomųjų ir kontrolinės grupių triušių histologiniams tyrimams buvo paimti širdies, kepenų, inkstų mėginiai. Organai nusausinti, pasverti. Kepenų ir inkstų audiniai fiksuoti 10 proc. neutraliu formalino tirpalu, plauti tekančiu vandentiekio vandeniu, įmirkyti audinių įmirkymo procesoriumi, įlieti parafine ir pjaustyti rotaciniu mikrotomu. Iš parafininio mėginio bloko atpjauti 4 mikrometrų storio audiniai dažyti hematoksilinu ir eozinu bei tirti šviesiniu mikroskopu (OLIMPUS BX 41, Japonija).

Po enukleacijos triušių akys laikytos inde su fiziologi-

niu tirpalu ant sudrėkintos vatos $40^{\circ}C$ temperatūroje. Triušių akių anatominėse elementuose matavimai atlikti ultragarsiniu biometriniu metodu su OTJ-1000 aparatu, naudojant 12 MHz keitiklį. Taikytas kontaktinis A tipo ultragarsinis matavimo būdas, kai keitiklis tiesiogiai glaudžiamas prie ragenos, statmenai jos paviršiui. Išmatuota sagitalinė akies ašis, priekinės kameros gylis, lęšio storis ir stiklakūnio ašies ilgis.

Mikrobiologiniam aklosios žarnos tyrimui turinio medžiaga buvo užsėta ant selektyvių ir diferencinių diagnostinių standžių terpių Petri lėkštelėse (Поздеев, Покровский, 1999). Tiriant fekalijas nustatytas bendras aerobinių ir fakultatyvinių anaerobinių bakterijų, laktobacilų ir enterobakterijų kiekis bei enterokokai. Bendram aerobinių ir fakultatyvinių anaerobinių bakterijų kiekiui nustatyti kiekvienas mėginys užsėtas trijose Petri lėkštelėse su mitybinio agaru (Liofilchem, Italija). Bendram laktobacilų kiekiui nustatyti mėginiai užsėti lėkštelėse su MRS agaru (Liofilchem, Italija) ir 48 val. mikroaerofilinėmis sąlygomis kultivuoti ($5-10$ proc. CO_2) $+37^{\circ}C$ temperatūroje. Bendram enterobakterijų kiekiui nustatyti mėginiai užsėti lėkštelėse su „Mac Conkey“ agaru (Liofilchem, Italija) ir 24 val. kultivuoti $+37^{\circ}C$ temperatūroje. Mikroorganizmų kiekis apskaičiuotas pagal LST ISO 7218:2000. Mikroorganizmų kiekis KSV/g (kolonijas sudarantys vienetai) pateiktas logaritmine išraiška.

Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant statistinį paketą „R 2.2.0“ (Venables, Smith, 2005). Rezultatai laikyti patikimais, kai $p < 0,05$.

Tyrimo rezultatai. Triušių hematologiniai, aklosios žarnos mikrofloros, akių struktūros komponentų, parenchiminių organų svoris, kepenų ir inkstų histologinių tyrimų rezultatai pateikti 1, 2, 3, 4, 5 lentelėse ir 1, 2 pav. Hematologinių tyrimų rezultatai pateikti 1 ir 2 lentelėje.

1 lentelė. *Chlorella vulgaris* IFR-111 poveikis jaunų (3 mėn.) triušių hematologiniams rodikliams

Rodikliai	Triušių grupės			
	I (kontrolinė)		II	
	Prieš bandymą	Po bandymo	Prieš bandymą	Po bandymo
Eritrocitai, $X 10^{12}/L$	$4,55 \pm 0,35$	$4,56 \pm 0,93$	$4,43 \pm 0,16$	$8,24 \pm 1,63^*$
Hemoglobinas, g/L	$112 \pm 3,50$	$113 \pm 2,12$	$114 \pm 3,74$	$157 \pm 4,71^*$
Deguoninė kraujo talpa, O_2/ml	$150,08 \pm 5,12$	$150,75 \pm 2,90$	$151,78 \pm 6,06$	$196,52 \pm 13,89^*$
Baltymai, g/L	$62,40 \pm 0,38$	$62,40 \pm 0,52$	$60,33 \pm 0,41$	$69,20 \pm 0,71^*$
Gliukozė, mmol/l	$4,83 \pm 0,37$	$4,84 \pm 0,96$	$4,66 \pm 0,40$	$4,27 \pm 0,18^*$
Trigliceridai, mmol/l	$0,90 \pm 0,10$	$0,92 \pm 0,17$	$0,90 \pm 0,00$	$0,90 \pm 0,25^*$
Cholesterolis, mmol/L	$4,30 \pm 0,11$	$4,44 \pm 0,03$	$4,22 \pm 0,13$	$4,25 \pm 0,09^*$

* $p < 0,05$

Analizuojant 1 ir 2 lentelių duomenis nustatyta, kad *Chlorella vulgaris* IFR-111 veikiami eritrocitai augančių jaunų triušių kraujyje pasidaugino beveik du kartus, o triušingų patelių kraujyje jų buvo 7,31 proc. ($p < 0,05$) daugiau, nei kontrolinės III grupės. Hemoglobino kiekis 3 mėnesių triušių kraujyje gavus chlorelių padidėjo 38,93 proc. ($p < 0,05$), deguoninė kraujo talpa – 30,36 proc. ($p < 0,05$), tačiau triušingų patelių kraujyje po bandymo šie rodikliai palyginti su kontroline grupe nekito. Baltymų 3

mėnesių triušių grupės kraujo serume padaugėjo 10,89 proc. ($p < 0,05$), o triušingų patelių kraujyje baltymų kiekio skirtumo nenustatyta lyginant su kontroline III grupe. Girdant chlorelių suspensiją 30 dienų, ir jaunų, ir triušingų patelių kraujyje gliukozės buvo atitinkamai 11,78 proc. ($p < 0,05$) ir 0,7 proc. ($p < 0,05$) mažiau palyginti su kontrolinėmis grupėmis. Trigliceridų kiekio skirtumas kraujyje nustatytas tik suaugusių triušingų patelių grupėje. Su geriamuoju vandeniu duodant chlorelių, trigliceridų triušin-

gų patelių kraujyje padaugėjo 8,33 proc. ($p < 0,05$), tačiau šis rodiklis nekito 3 mėnesių triušių kraujyje. Vieną mėnesį girdant chlorelių preparatu jaunos triušius, choleste-

rolis sumažėjo 4,28 proc. ($p < 0,05$), o triušingų patelių kraujyje – 2 proc. ($p < 0,05$) palyginti su kontrolinėmis grupėmis.

2 lentelė. *Chlorella vulgaris* IFR-111 poveikis triušingų patelių hematologiniams rodikliams

Rodikliai	Triušių grupės			
	III (kontrolinė)		IV	
	Prieš bandymą	Po bandymo	Prieš bandymą	Po bandymo
Eritrocitai, $X 10^{12}/L$	4,20±0,11	4,51±0,17	4,60±0,32	4,84±0,09*
Hemoglobinas, g/L	148,2±0,07	150,0±0,11	142,5±0,02	150,3±0,08*
Deguoninė kraujo talpa, O ₂ /ml	198,5±0,05	201,0±0,09	150,75±5,50	201,4±1,05*
Baltymai, g/L	61,0±0,10	62,4±0,17	60,0±0,12	62,3±0,31*
Gliukozė, mmol/l	4,37±0,22	4,31±0,19	4,33±0,41	4,28±0,16*
Trigliceridai, mmol/l	1,67±0,01	1,80±0,01	1,64±0,04	1,95±0,13*
Cholesterolis, mmol/L	3,80±0,21	4,00±0,17	3,89±0,11	3,92±0,40*

* $p < 0,05$

3 lentelė. Jaunų triušių aklosios žarnos turinio mikrobiologiniai rezultatai bandymo pabaigoje, log/g

Mikrobiologiniai rodikliai	Triušių grupės	
	I grupė (kontrolinė)	II grupė
Aerobinės ir fakultatyvinės anaerobinės bakterijos	4,56±0,19	4,34±0,15
Bendras enterobakterijų kiekis	4,10±0,23	3,82±0,15
Bendras laktobacilų kiekis	3,99±0,24	3,70±0,16

Kaip matyti iš 3 lentelėje pateiktų rezultatų, II bandomosios grupės jaunų triušių aklojoje žarnoje aerobinių ir fakultatyvinių anaerobinių bakterijų buvo 4,80 proc. ($p > 0,05$) mažiau, nei kontrolinėje I grupėje. Bandomosios II grupės jaunų triušių aklojoje žarnoje nustatyta mažiau nei kontrolinėje I grupėje enterobakterijų ir laktobacilų – atitinkamai 7,4 proc. ir 6,9 proc. ($p > 0,05$). Skirtumai statistiškai nepatikimi.

Širdies, inkstų ir kepenų svorio rezultatai pateikti 4 lentelėje. Bandomojoje grupėje jaunų triušių, 30 dienų su

vandeniu gavusių chlorelių, širdis svėrė 10,71 proc. ($p < 0,05$), inkstai – 1,03 proc. ($p > 0,05$) mažiau, bet kepenys – 3,31 proc. ($p < 0,05$) daugiau, nei kontrolinės grupės gyvūnėlių.

Analizuojant duomenis, pateiktus 5 lentelėje, tarp I kontrolinės ir II bandomosios grupių triušių akių anatominėlių elementų matmenų žymaus skirtumo nebuvo ($p > 0,05$), išskyrus lęšio storį; jis bandomosios II grupės buvo 12,49 proc. ($p < 0,05$) plonesnis, nei kontrolinės I grupės triušių.

4 lentelė. *Chlorella vulgaris* IFR-111 įtaka jaunų triušių širdies, kepenų ir inkstų svoriui, g

Organai	Triušių grupės	
	I grupė (kontrolinė)	II grupė
Širdis	9,133±1,11	8,155±1,17*
Kepenys	75,671±0,41	78,179±0,72*
Inkstai	19,687±1,14	19,466±1,72

* $p < 0,05$

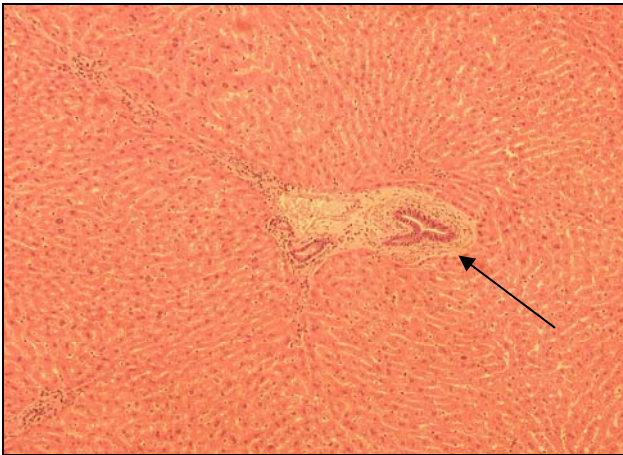
5 lentelė. *Chlorella vulgaris* IFR-111 įtaka jaunų triušių akių anatominėlių elementų matmenims, mm

Akių struktūriniai elementai	Triušių grupės	
	I grupė (kontrolinė)	II grupė
Akių ašies ilgis	21,71±1,43	22,03±1,31
Priekinės kameros gylis	2,96±0,39	2,89±0,36
Lęšio storis	8,49±0,72	7,43±0,69*
Stiklakūnio ašies ilgis	10,14±1,04	10,59±1,11

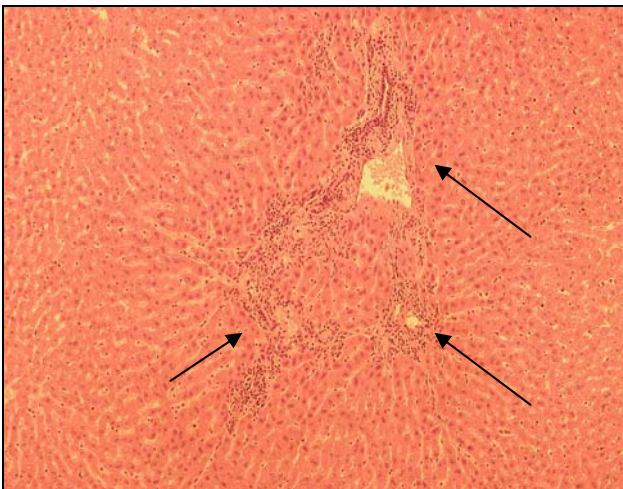
* $p < 0,05$

Triušių kepenų histologinė struktūra pateikta 1, 2 pav.

Histologinis kepenų ir inkstų tyrimas parodė: tiriamų ir kontrolinės grupių triušių kepenyse bei inkstuose audinių histologinė struktūra nebuvo pakitusi. Kepenų skilvelių ribos – ryškios, kepenų sijų struktūra – aiški, triadų srityje apie kraujagysles ir tulžies latakėlius buvo imuninio atsako ląstelių. Vienų triušių kepenyse jų rasta daugiau, kitų – mažiau, bet skirtumų tarp grupių nepastebėta. Hepatocitų ribos – nepažeistos, kai kuriose kepenų ląstelėse rastos pavienės lipidų vakuolės arba nežymus hepatocitų pabrinkimas. Hepatocitų branduolių pokyčių nepastebėta. Kraujagyslių sienelių vientisumo pažeidimo nebuvo. Kai kurių triušių kepenyse pastebėta veninė hiperemija, kuri galėjo būti susijusi su gyvūnų eutanazija. Inkstų parenchimoje ir stromoje jokių pakitimų nerasta. Glomerulų, proksimalinių ir distalinių kanalėlių ribos – ryškios, pavienėse kanalėlių epitelio ląstelėse rastos lipidų vakuolės. Inkstų struktūra – nepakitusi, kanalėliai – neišsiplėtę, epitelis – normalus, be intarpų.



1 pav. Triušio kepenyse mažesnis imuninio atsako ląstelių skaičius triadų srityje (10xobj.); dažyta hematoksilinu-eozinu



2 pav. Triušio kepenyse didesnis imuninio atsako ląstelių skaičius triadų srityje (10xobj.); dažyta hematoksilinu-eozinu

Aptarimas ir išvados. Triušių augimas, vystymasis, bendra sveikatos būklė, reprodukcinio laikotarpio trukmė, produkcijos kiekybė ir kokybė labai priklauso nuo genetinių veiksnių, bet didelę reikšmę teikiama ir mitybai. Pašarų gamintojai triušiams skirtus kombinuotuosius pašarus papildo įvairios kilmės vitaminais, mineralinėmis medžiagomis bei natūraliais komponentais pagal gyvūnų fiziologinę būklę ir amžių. Neretai pasitaiko, kad tie patys natūralūs komponentai, įmaišyti į vienos rūšies gyvūnų racionus, yra efektyvūs ir pagerina hemopoezę, padeda medžiagas pasisavinti, aktyvina virškinimo procesus, imuninę sistemą, tačiau, jais papildžius triušių racionus, poveikio nėra. Manome, kad, vertinant įvairių preparatų poveikio atskiroms organizmo funkcinėms sistemoms ypatumus, būtina įvertinti išskirtinę triušių organizmo savybę – kaprofagiją.

Remdamiesi savo tyrimų rezultatų duomenimis, galime teigti, kad *Chlorella vulgaris* IFR-111 *per os* Naujosios Zelandijos triušių organizme aktyvina eritropoezę. Ir jaunų triušių, ir triušingų patelių kraujyje padaugėjo eritrocitų, o hemoglobino buvo daugiau tik jaunų triušių kraujyje. Deguonies jungiamoji galia triušingų patelių kraujyje taip pat nekito. Tapačius rezultatus gavo ir kitų šalių mokslininkai, chlorelėmis papildę racionus (Kwon et al., 2003; Spolaore et al., 2006; Спрыж, 1990). Nustatėme, kad chlorelės gali koreguoti ir aktyvinti baltymų apykaitą bei didinti baltymų kiekį kraujyje, kol triušis dar nesuaugęs, o triušingoms patelėms jų priedas įtakos nedaro. Tačiau literatūroje pateikta duomenų, kad chlorelės, nepaisant gyvūnų rūšies ir amžiaus, didina baltymų kiekį kraujo serume (Спрыж, 1990; Sugimoto et al., 2002; Kwon et al., 2003; Kano, Klinghardt, 2005). Jauniems triušiams ir triušingoms patelėms duodant chlorelių priedą, gliukozės kiekis kraujyje buvo mažesnis už kontrolinės grupės triušių. Mūsų tyrimų rezultatai tapatūs kitų šalių mokslininkų išvadoms (Becker, 2004; Spolaore et al., 2006). Chlorelių veikiamame kraujyje trigliceridų kiekis padidėjo tik triušingų patelių, o augančių, jaunų triušių kraujyje nekito. J. Y. Cherng ir M. F. Shih (2005) nustatė, kad chlorelės gyvūnų kraujyje mažina trigliceridų kiekį. Neskirstant pagal amžių, bandomųjų grupių triušių kraujyje trigliceridų kiekis buvo panašus į ištirtą kitų šalių mokslininkų (Ahmad et al., 2008). Mūsų tyrimų rezultatai rodo, kad bandymo pabaigoje visų grupių triušių kraujyje cholesterolio buvo daugiau nei prieš bandymą, tačiau bandomosios jaunų triušių grupės kraujyje cholesterolio buvo 4,28 proc., o triušingų patelių – 2 proc. mažiau, nei triušių, negavusių chlorelių, suspensijos kraujyje.

M. Chovančikova ir V. Šimek (2001), J. Y. Cherng ir M. F. Shih (2005) atliko analogiškus tyrimus su triušiais bei graužikais, tirdami chlorelių poveikį cholesterolio kaitai kraujyje ir nustatė, kad jos daro įtaką kraujagyslių elastingumui, dėl to kaupiasi mažiau cholesterolio, sumažėja jo koncentracija kraujyje, gerėja širdies veikla.

Akloji žarna pirmąją atvestų triušių savaitę daugiausia kolonizuojama griežtų anaerobų. Priklausomai nuo amžiaus aklosios žarnos mikroflora keičiasi. S. Salminen su grupe tyrėjų (1998) nustatė, kad fakultatyvinės anaerobinės bakterijos yra ypač svarbios, nes jos kolonizuoja triušio virškinimo traktą kartu su laktobacilomis, kurioms

būdingos probiotinės savybės. Mikrofloros veikla triušių aklojoje žarnoje užtikrina virškinimo procesą ir sveikatingumą (Padilha et al., 1995). Chlorelės, patekusios į virškinimo traktą, pirmiausia tampa svarbiais mitybiniais komponentais, skatinančiais žarnyno mikrofloros vystymąsi, ypač laktobacilų (Богданов, 2007), kurios jautrios mitybinei terpei (Зинченко, 2000). Mūsų tyrimų duomenimis, chlorelių suspensija statistiškai reikšmingos įtakos triušių virškinimo trakto mikroflorai neturėjo.

Kai kurių gyvūnų akių struktūros elementai labai jautriai reaguoja į aplinkos veiksnius, mitybos pokyčius, vaisius ar pašarinius priedus, kai dar nėra pakitę kraujo rodikliai ar atskirų organų struktūra bei funkcijos. Ne visada vienas ar kitas maisto ar pašarų papildas teigiamai veikia visas organizmo funkcijas. Pastebėta, kad, net ir ilgą laiką duodant natūralių priedų preparatus, aktyvinama daugelio organizmo funkcijų veikla, bet pakinta regėjimo aštrumas. Todėl duomenys apie akies anatominių elementų būklę, jų matmenis reikšmingi ir reikalingi sprendžiant ir mokslines, ir kliniškes regėjimo problemas. Svarbiausias akies akomodacijos elementas yra lęšis. Jame atsirandantys biocheminiai pokyčiai pirmiausia rodo ir organizme besivystančius pokyčius, susijusius kad ir su įvairių papildų naudojimu (Barbazetto et al., 2004). Biometriniai lęšio tyrimai leidžia nustatyti lęšio būklę – ar jis yra sveikas, ar patologiškas. Jei lęšyje prasideda pokyčiai, jis tampa plonesnis už sveikos akies, nors jų abiejų svoris yra vienodas (Gwon et al., 1993; Kuszak et al., 2000). J. Ye su bendradarbiais (2002), K. Yao ir kiti tyrėjai (2004), I. A. Barbazetto ir kiti mokslininkai (2004) nustatė, kad lęšis yra labai jautrus akies elementas, kurį pirmiausia ir greičiausiai pažeidžia aplinka, neigiami mitybos veiksniai, radiacija, įvairios cheminės medžiagos ir kiti baltymų sudėtų veikiančios faktoriai. Mūsų tyrimai rodo, kad jaunų triušių, kurie gavo chlorelių, lęšiai buvo plonesni, todėl ateityje bus atliekami biocheminiai lęšių tyrimai, kurie galėtų patvirtinti teiginį, kad juose nėra baltymų pokyčių. Triušių akys – maistui nevarojamas organas, todėl manome, kad pakitimai lęšio baltymų struktūrose duodant chlorelių neturėtų neigiamos įtakos kitoms triušių organizmo funkcijoms ar mėsos kokybei, bet galima būtų gauti daugiau duomenų tyrinėjant jų veikimo mechanizmą, šiandien dar detalai neištirtą.

Mūsų tyrimų duomenimis, chlorelių priedas racione neturėjo neigiamos įtakos triušių kepenų ir inkstų histologinei struktūrai. Atlikus tyrimą, ir bandomųjų, ir kontrolinės grupių triušių kepenyse bei inkstuose audinių histologinė struktūra rasta nepakitusi. Literatūros duomenimis, chlorelės stiprina imuninę sistemą, gerina virškinimą, fermentinius procesus, kepenų, tulžies veiklą, jos turi antioksidacinių savybių, aktyvina fermentinius procesus (Morita et al., 1999; Stašonienė, 2003; Scott et al., 2003; Spolaore et al., 2006). Remiantis mūsų tyrimų rezultatais ir kitų tyrėjų duomenimis, galima daryti prielaidą, kad chlorelių priedas teigiamai veikia kepenų ir inkstų funkcijas. Dėl pastebėtų imuninio atsako ląstelių kiekio skirtumų triušių kepenų stromoje ateityje reikėtų atlikti platesnius ir detalesnius tyrimus. Lietuvoje su chlorelėmis, kaip natūraliu dumblių mišiniu, atlikta labai mažai mokslinių tyrimų. Bandomai atlikti kiaulių ir veršelių organizmo

funkcijų stiprinimui koreguoti, tačiau chlorelių poveikis triušiams ir triušingoms patelėms bandytas pirmą kartą.

Apibendrinami galime teigti, kad *Chlorella vulgaris* IFR-111 padermė neturėjo neigiamo poveikio nei jaunų triušių, nei triušingų patelių organizmui. Žalioji dumblių teigiamai veikė kai kurias triušių fiziologines funkcijas, pagerino hemopoezę, padidino bendrą baltymų kiekį kraujo serume. Jaunų triušių, kurie gavo chlorelių, aklosios žarnos turinyje neženkliai sumažėjo bendras enterobakterijų bei *Lactobacillus* spp. kiekis ($p>0,05$). Bandomųjų jaunų triušių buvo nežymiai didesnis akies ašies, stiklakūnio ašies ilgis ($p>0,05$) ir mažesnis priekinės kameros gylis ($p>0,05$) bei lęšio storis ($p<0,05$). Tačiau jaunų triušių širdies svoris buvo 10,71 proc. ($p<0,05$), inkstų – 1,03 proc. ($p>0,05$) mažesnis, o kepenų – 3,31 proc. ($p<0,05$) didesnis palyginti su kontroline grupe. Triušių girdymas chlorelių priedu kepenų ir inkstų histologinės struktūros nepaveikė.

Literatūra

- Ahmad M., Zaman F., Sharif T., Zabta M. Antidiabetic and hypolipidemic effects of Aqueous Methanolic extract of *Accacia Nilotica* Pods in Alloxan- induced diabetic rabbits. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 2008. Vol. 35 (1). P. 29–34.
- Ašmenskaitė L., Juškiewicz J., Zduńczyk Z., Staniškienė B., Budreckienė R., Sinkevičienė I., Žilinskienė A., Matusevičius P. Cikorijos (*Cichorium intybus* L.) įtaka triušių virškinimo trakto fiziologijai ir sveikatingumui. *Veterinarija ir zootechnika.* 2007. T. 40 (62). P. 3–8.
- Barbazetto I. A., Liang J., Chang S., Zheng L. Oxygen tension in the rabbit lens and vitreous before and after vitrectomy. *Exp. Eye Res.* 2004. Vol. 78 (5). P. 917–924.
- Becker W. Microalgae in human and animal nutrition. In Richmond, A (ed), *Handbook of microalgal culture.* Blackwell, Oxford. 2004. P. 312–351.
- Certik M., Shimizu S. Biosynthesis and regulation of microbial polyunsaturated fatty acid production. *J. Biosci. Bioeng.* 1999. Vol. 87. P. 1–14.
- Cherng J. Y., Shih M. F. Preventing dyslipidemia by *Chlorella pyrenoidosa* in rats and hamsters after chronic high fat diet treatment. *Life Sci.* 2005. Vol. 76 (26). P. 3001–3013.
- Chovančikova M., Šimek V. Effects of hight – fat and *Chlorella vulgaris* feeding on changes in lipid metabolism in mice. *Biologia, Bratislava.* 2001. Vol. 56 (6). P. 661–666.
- Chu C. Y., Liao W. R., Huang R., Lin L. P. Haemagglutinating and antibiotic activities of freshwater microalgae. *World J Microbiol. Biotechnol.* 2004. Vol. 20 (8). P. 817–825.
- Dantas D. C., Kaneno R., Queiroz M. L. The effects of *Chlorella vulgaris* in the protection of mice infected with *Listeria monocytogenes*. Role of natural

- killer cells. *Imunopharmacol. Immunotoxicol.* 1999. Vol. 21 (3). P. 609–619.
10. Gwon A., Gruber L., Mantras C., Cunanan C. Lens regeneration in New Zealand albino rabbits after endocapsular cataract extraction. *Invest. Ophthalmolog. & Vis. Sci.* 1993. Vol. 34. P. 2124–2129.
11. Hasegawa T., Noda K., Kumamamoto S., Ando Y., Yamada A., Yoshikai Y. *Chlorella vulgaris* culture supernatant (CVS) reduces psychological stress-induced apoptosis in thymocytes of mice. *Int J. Immunopharmacol.* 2000. Vol. 22 (11). P. 877–885.
12. Yao K., Wang K. J., Sun Z. H., Tan J., Xu W., Zhu L. J., Lu D. Q. Low power microwave radiation inhibits the proliferation of rabbits lens epithelial cells by upregulating P27^{Kip1} expression. *Mol. Vis.* 2004. Vol. 10. P. 168–143.
13. Ye J., Yao K., Zeng Q., Lu D. Changes in gap junctional intercellular communication in rabbits lens epithelial cells induced by low power density microwave radiation. *Chin. Med. J.* 2002. Vol. 115. P. 1873–1876.
14. Jablonskienė V., Valiūnienė J., Abaravičius J. A., Hendrixson V. Žmogaus fiziologijos laboratoriniai darbai. Vilnius, Vilniaus universiteto leidykla. 2007. 52 p.
15. Justo G. Z., Silva M. R., Queiroz M. L. S. Effects of the green algae *Chlorella vulgaris* on the response of the host hematopoietic system to intraperitoneal ehrlich ascites tumor transplantation in mice. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2001. Vol. 23 (1). P. 119–132.
16. Kanno T., Klinghardt D. The powerful Japanese medicinal green algae as a biological response modifier. *Chlorella vulgaris* and *Chlorella vulgaris* extract. Woodland Publishing. 2005. P. 12–51.
17. Kralovec J. A. Fractions of *Chlorella* extract containing polysaccharide having immunomodulating properties. US patent 6,551,596 B2. Inventor; Ocean Nutrition Canada, assignee. 2003 Apr 22.
18. Kuszak J. R., Sivak J. G., Herbert K. L., Scheib S. The relationship between rabbit lens optical quality and satural anatomy after vitrectomy. *Exp. Eye Res.* 2000. Vol. 71 (3). P. 267–281.
19. Kwon M. J., Song Y. S., Choi M. S., Park S. J., Jeong K.S., Song Y. O. Cholesteryl ester transfer protein activity and atherogenic parameters in rabbits supplemented with cholesterol and garlic powder. *Life Sci.* 2003. Vol. 72 (26). P. 2953–2964.
20. Merchant R. E., Andre C. A. A review of recent clinical trials of the nutritional supplement *Chlorella pyrenoidosa* in the treatment of fibromyalgia, hypertension, and ulcerative colitis. *Altern. Ther. Health. Med.* 2001. Vol. 7. P. 79–91.
21. Morita K., Matsueda T., Ilida T., Hasegawa T. *Chlorella* accelerates dioxin excretion in rats. *J Nutr.* 1999. Vol. 129. P. 1731–1736.
22. Padilha M., Licois D., Gidenne T., Carre B., Fonty G. Relationships between microflora and caecal fermentation in rabbits before and after weaning. *Rep. Nutr. Dev.* 1995. Vol. 35 (4). 4. P. 375–386.
23. Piccione G., Fazio F., Nicosia S., Caola G. Energetic chronometabolism in New Zealand white rabbits. *Veterinarski Arhiv.* 2002. Vol. 72 (4). P. 195–204.
24. Queiroz M. L. S., Rodrigues A. P. O., Bincoletto C., Figueirêdo C.A.V., Malacrida S. Protective effects of *Chlorella vulgaris* in lead-exposed mice infected with *Listeria monocytogenes*. *Int. Immunopharm.* 2003. Vol. 3. P. 889–900.
25. Queiroz M. L. Effects of *Chlorella vulgaris* extract on cytokines production in *Listeria monocytogenes* infected mice. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2002. Vol. 24. P. 483–496.
26. Salminen S., Von Wright A., Morelli L., Martenau P., Brassart D., de Vos W.M., Fondeu R., Saxelin M., Collins K., Mogensen G., Birkeland S.-E., Mattila-Sandholm T. Demonstration of safety of probiotics – a review. *Int. J. Food Microbiol.* 1998. Vol. 44. P. 93–106.
27. Scott A. H., Smith B., Nolan C., Shay J., Kralovec J. Safety and immunoenhancing effect of a *Chlorella*-derived dietary supplement in healthy adults undergoing influenza vaccination: randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *CMAJ.* 2003. Vol. 169 (2). P. 111–117.
28. Singh A., Singh S. P., Bamezai R. Inhibitory potential of *Chlorella vulgaris* on mouse skin papillomagenesis and xenobiotic detoxication system. *Anticancer Res.* 1999. Vol. 19 (3A). P. 1887–1891.
29. Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A. Commercial applications of Microalgae. *J. Biosci. Bioeng.* 2006. Vol. 101. N. 2. P. 87–96.
30. Sugimoto Y., Taga C., Nishiga M., Fujiwara M., Konishi F., Tanaka K., Kamei C. Effect of docosahexaenoic acid-fortified *Chlorella vulgaris* strain CK 22 on the radial maze performance in aged mice. *Biol. Pharm. Bull.* 2002. Vol. 25 (8). P. 1090–1092.
31. Stašonienė A. *Chlorella* CE. Vartojimo instrukcija. 2003. 1 p.
32. Šimkevičienė V., Rukšėnas O. Laboratorinių gyvūnų mokslo pagrindai. Vilniaus universiteto leidykla. 2001. P. 56–169.
33. Venables W. N., Smith D. M. An introduction to R; A programming environment for data analysis and graphics version 2.2.0. 2005. P. 4–97.
34. Vijayavel K., Anbuselvam C., Blasubramanian M. P. Antioxidant effect of the marine algae *Chlorella vulgaris* against naphthalene-induced oxidative stress

in the albino rats. *Mol. Cell Biochem.* 2007. Vol. 303. P. 39–44.

35. Богданов Н. И. Суспензия хлореллы в рационе сельскохозяйственных животных. Пенза: РИО ПГСХА, 2007. 46 с.

36. Поздеев О. К., Покровский В. И. Медицинская микробиология. М.: ГЭОТАР Медицина. 1999. С. 113–122, 601.

37. Спруж Я. Я. Перспективы использования хлореллы. М. Наука. 1990. С. 3–62.

38. Зинченко Е. В. Иммунобиотики в ветеринарной практике. Пущино: ОНТИ ПНЦ РАН, 2000. 164 с.

Gauta 2009 01 13

Priimta publikuoti 2010 05 25