

Vplyv prhl'avy na niektoré imunitné ukazovatele u výkrmových ošípaných

Stanislav Hreško¹
Alena Hreško Šamudovská²
Dagmar Mudroňová³
Tomáš Mihok⁴
Lukáš Bujňák⁵

¹ Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra výživy a chovu zvierat; Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; stanislav.hresko@uvlf.sk

² Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra výživy a chovu zvierat; Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; alena.hreskosamudovska@uvlf.sk

³ Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra mikrobiológie a imunológie; Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; dagmar.mudronova@uvlf.sk

⁴ Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra výživy a chovu zvierat; Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; tomas.mihok@uvlf.sk

⁵ Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra výživy a chovu zvierat; Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; lukas.bujnak@uvlf.sk

Grant: VEGA č. 1/0698/24

Název grantu: Sledovanie účinku kŕmnych doplnkových látok prírodného pôvodu a alternatívnych kŕmnych komponentov na produkciu a zdravie monogastrických zvierat

Oborové zamčrení: GH - Výživa hospodárskych zvierat

© GRANT Journal, MAGNANIMITAS Assn.

Abstrakt Sušené listy prhl'avy dvojdomej (*Urtica dioica*) boli pridávané do kŕmnych zmesí prasiatok za účelom sledovania jej vplyvu na niektoré ukazovatele bunkovej imunity. Celkovo 18 kusov prasiatok krížencov Slovenskej bielej ošípanej x Landrace boli rovnomerne rozdelené do dvoch skupín po 9 kusov: kontrolná skupina bez prídavku prhl'avy a pokusná skupina s 2,5 % prídavkom pomletých sušených listov prhl'avy dvojdomej. V pokusnej skupine bol zaznamenaný signifikantne vyšší celkový obsah lymfocytov v porovnaní s kontrolnou skupinou. Pri ostatných sledovaných imunitných parametroch boli pozorované vyššie percentuálne zastúpenia jednotlivých subpopulácií lymfocytov (CD3+, CD21+, CD4+, CD8+), vyššie percento fagocytov a aj vyššia pohlcovacia schopnosť fagocytov, avšak rozdiely neboli štatisticky významné v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Kľúčové slová prasiatka, aditívum, prhl'ava dvojdomá, imunita

1. ÚVOD

V súvislosti so zákazom používania antibiotických stimulátorov rastu (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1831/2003) smerujú inovácie vo výžive a kŕmení zvierat k používaniu rôznych skupín doplnkových látok prírodného pôvodu. Látok, ktoré vedú k zlepšeniu konverzie krmiva, udržiavajú zdravie zvierat a následne znižujú náklady a prinášajú ekonomické výhody bez negatívneho účinku na zdravie zvierat ako aj ľudí.

Prhl'ava dvojdomá (*Urtica dioica*) sa ako prírodný liek používa už viac ako 2000 rokov (Bhusal a kol., 2022). Avšak jej liečivý potenciál začal byť plne oceňovaný až po analýze chemického zloženia a postupnom objasňovaní farmakologických vlastností jej hlavných aktívnych zlúčenín. Prhl'ava má antioxidačné, protizápalové, antiproliferatívne, analgetické a hypotenzné účinky, stimuluje imunitný systém a pôsobí preventívne pred vznikom

kardiovaskulárnych ochorení (Said a kol., 2015). Má pomerne vysoký obsah proteínov, lipidov, sacharidov, vitamínov a stopových prvkov (Rutto a kol., 2013). Pri 30%-nom podiele bielkovín v sušine má prhl'ava výrazne väčší profil aminokyselín ako ostatné zelené rastliny. Taktiež obsahuje vysoké množstvo polynenasýtených mastných kyselín (60%), z ktorých polovicu tvorí kyselina linolová (C18:2), omega-6 mastná kyselina, ktorá má pozitívny vplyv na imunitný systém, čím zvyšuje odolnosť organizmu voči bakteriálnym a vírusovým infekciám (Upton, 2013).

Mnohé štúdie referujú o využití *Urtica dioica* aj vo výžive hospodárskych zvierat (Disler a kol., 2014). Napríklad u hydinných brojlerov viedlo pridanie prhl'avy do diét k intenzívnejšiemu rastu a k lepšej jatočnej výťažnosti. Pri skrmovaní u nosníc došlo k zvýšeniu znášky (Bekele a kol., 2015). U hovädzieho dobytká, Khanal a kol. (2017) zaznamenali kvantitatívne a kvalitatívne zlepšenie produkcie mlieka. Prídavok extraktov z prhl'avy do kŕmnych zmesí prasiatok viedol k zlepšeniu produkčných ukazovateľov a k pozitívnemu ovplyvneniu viacerých hematologických a biochemických parametrov (Buchko a kol., 2024). Účinok extraktov sa prejavil aj na kvalite mäsa (Hanczakowska a kol., 2007).

Cieľom tejto štúdie bolo sledovanie vplyvu skrmovania diét s prídavkom múčky z listov prhl'avy dvojdomej na niektoré parametre bunkovej imunity u rastúcich prasiat.

2. MATERIÁL A METODIKA

Na experiment bolo použitých celkovo 18 kusov prasiatok krížencov Slovenskej bielej ošípanej x Landrace. Zvieratá boli na začiatku experimentu vo veku 43 dní s priemernou hmotnosťou 15,4 kg/ks. Umiestnené boli v ustajňovacích priestoroch spĺňajúcich štandardné zootechnické požiadavky s priemernou teplotou $20 \pm 1,5$ °C a relatívnou vlhkosťou $68 \pm 4,5$ %. Prasiatka boli kŕmené kompletnou

krmnou zmesou na báze jačmeňa, pšenice, pšeničných otrúb a sójového extrahovaného šrotu s nutričným zložením zodpovedajúcim normám pre príslušnú kategóriu zvierat počas celej doby trvania experimentu. Pre potreby experimentu boli zvieratá rovnomerne rozdelené do dvoch skupín po 9 kusov: kontrolná skupina bez prídavku prhl'avy, pokusná skupina s 2,5 % prídavkom pomletých sušených listov prhl'avy dvojdomej.

Na konci experimentu bola prasatám za účelom imunologického vyšetrenia odobraná krv z vena cava cranialis do skúmaviek s obsahom antikoagulantu (heparín 10 – 20 IU.ml⁻¹ v PBS, Zentiva, Česká republika) pre zabránenie zrazeniu krvi. Vybrané imunologické parametre boli analyzované pomocou prietokového cytometra BD FACSCantoTM (Becton Dickinson Biosciences, USA) a softvéru BD FACS DivaTM. Hodnotené subpopulácie lymfocytov boli identifikované s použitím kombinácií priamo značených myšiacich anti-prasacích monoklonálnych protilátok: CD3e/CD21 a CD4/CD8a (Tabuľka č. 1). Bunky boli identifikované na základe prítomnosti charakteristických znakov ako: T lymfocyty (CD3+), B lymfocyty (CD21+), pomocné T lymfocyty (Th; CD4+CD8-), cytotoxické T lymfocyty (Tc; CD4-CD8+). Taktiež bol z výsledkov meraní hodnotený pomer lymfocytov CD4:CD8. Fagocytárna aktivita bola vykonaná pomocou komerčného testu Phagotest® (Celonic, Nemecko). V rámci posudzovania fagocytárnej aktivity bola, okrem počtu fagocytov, hodnotená aj pohlcovacia schopnosť fagocytov vyjadrená na základe strednej intenzity fluorescencie (mean fluorescent intensity – MFI). Na štatistickú analýzu bola použitá jednocestná ANOVA (Tukey's multiple comparisons test) v softvéri GraphPad Prism 8.0. Výsledky sú vyjadrené ako priemer ± štandardná chyba priemeru (SEM).

Tabuľka č. 1 Protilátky použité na analýzu pomocou prietokovej cytometrie

Protilátka	Fluorochróm	Klon	Objem na 50 µL krvi	Výrobca
anti-CD3e	FITC	BB23-8E6	4 µL	BD Biosciences, USA
anti-CD4	FITC	MIL 17	4 µL	AbD Serotec, UK
anti-CD8a	R-PE	MIL 12	2 µL	AbD Serotec, UK
anti-CD21	R-PE	BB6-11C9.6	2 µL	Suthern Biotech, USA

Realizácia výskumu bola schválená Etickou komisiou UVLF v Košiciach, č. povolenia EKVP/2023-01.

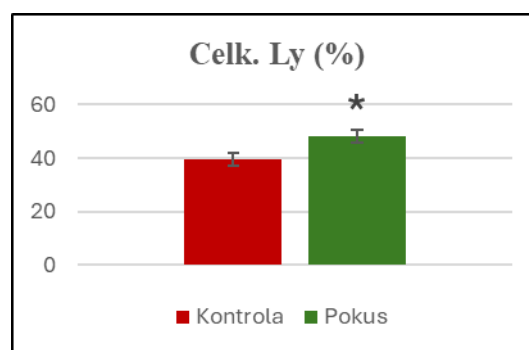
3. VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky percentuálneho zastúpenia lymfocytov a ich subpopulácií sú znázornené v Grafoch 1-6. Pri štatistickom hodnotení sledovaných imunologických parametrov v krvi ošipaných bol v pokusnej skupine zaznamenaný signifikantne vyšší celkový obsah lymfocytov v porovnaní s kontrolnou skupinou ($p < 0,05$). Rovnako v pokusnej skupine boli pozorované aj vyššie percentuálne zastúpenia jednotlivých sledovaných subpopulácií lymfocytov (CD3+, CD21+, CD4+, CD8+), ale rozdiely v porovnaní s kontrolnou skupinou neboli štatisticky preukazné. Podobne pri hodnotení pomeru CD4:CD8 neboli medzi skupinami zaznamenané štatisticky významné rozdiely.

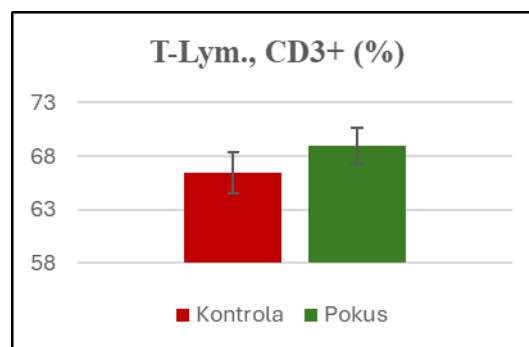
Účinky prhl'avy dvojdomej na metabolické procesy a adaptívne mechanizmy bol sledovaný na prasiatkach v období odstavu v štúdiu Buchko a kol. (2024). Okrem pozitívneho vplyvu prídavku etanolového extraktu prhl'avy do krmiva na bielkovinový a energetický metabolizmus, bol pozorovaný aj signifikantný nárast

celkového počtu lymfocytov v krvi prasiatok. Zvýšený počet bielych krviniek bol zistený aj u brojlerových kurčiat vplyvom podávania vodného extraktu listov prhl'avy do pitnej vody (Al-Salihi a kol., 2018). Naproti tomu, pri podávaní sušenej pomletej prhl'avy do krmiva brojlerov, Safamehr a kol., (2012) nepozorovali zmeny v počte leukocytov oproti kontrolnej skupine. V experimentálnej štúdiu na podvyživených potkaních mláďatách po terapeutickom podaní extraktu z prhl'avy došlo k zvýšeniu celkového počtu T-lymfocytov, monocytov a CD4+ buniek v krvi pokusných zvierat (Herrera a kol., 2018).

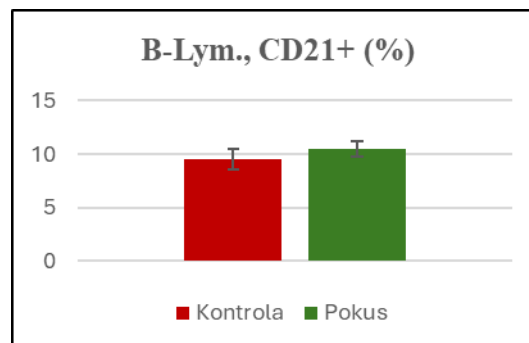
Graf č.1, Porovnanie percentuálneho zastúpenia lymfocytov (* $P < 0,05$)



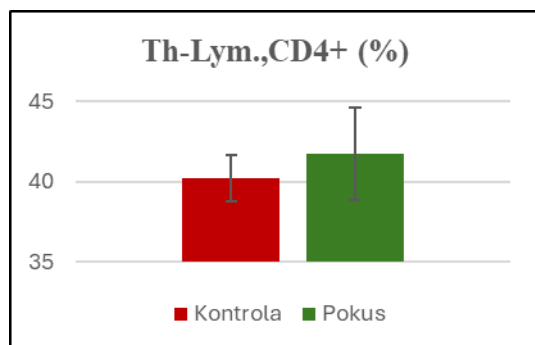
Graf č.2, Porovnanie percentuálneho zastúpenia subpopulácie T lymfocytov (CD3+)



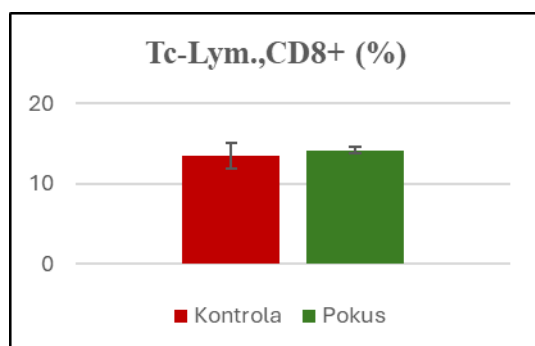
Graf č.3, Porovnanie percentuálneho zastúpenia subpopulácie B lymfocytov (CD21+)



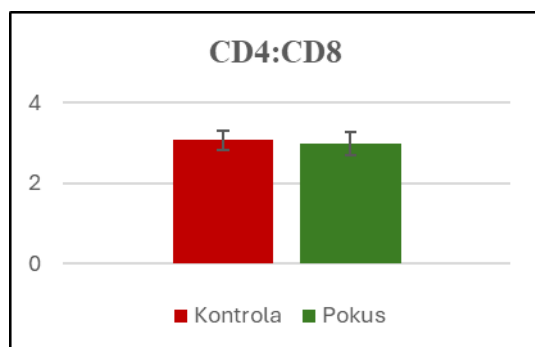
Graf č.4, Porovnanie percentuálneho zastúpenia subpopulácie pomocných T lymfocytov (CD4+)



Graf č.5, Porovnanie percentuálneho zastúpenia subpopulácie cytotoxických T lymfocytov (CD8+)



Graf č.6, Porovnanie pomerného zastúpenia CD4:CD8 subpopulácií T lymfocytov

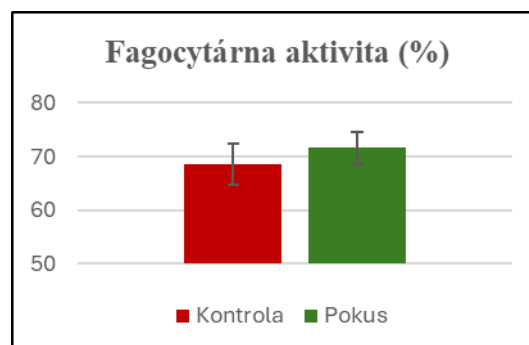


Pre komplexnejšie posúdenie vplyvu prídavku príhlavy dvojdomkej na imunitný systém prasiatok bola posudzovaná aj fagocytárna schopnosť fagocytov (Grafy 7 a 8). Hoci bolo v krvi pokusných prasiatok zistené vyššie percento fagocytov a rovnako aj ich pohlcovacia schopnosť bola vyššia, tieto rozdiely neboli významné oproti kontrolnej skupine.

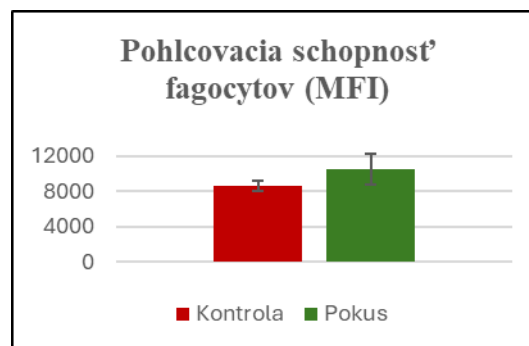
Dostupných informácií o štúdiách, v ktorých by sa okrem iných parametrov hodnotila aj úroveň fagocytózy v krvi prasiatok po podávaní príhlavy dvojdomkej v akejkoľvek forme, je pomerne málo. Pre porovnanie, k zlepšeniu parametrov fagocytárnej aktivity u prasiatok došlo po podávaní prípravku s obsahom sušených rastlinných extraktov z čakanky obyčajnej, škumpy vlasatej a vratiča obyčajného (Valchev a kol., 2009). Okrem zvýšenia celkového počtu leukocytov bolo pozitívne ovplyvnenie ukazovateľov fagocytárnej aktivity pozorované aj pri podávaní alkoholového extraktu príhlavy brojlerovým kurčatám (Šandru a kol., 2016). Imunostimulačný efekt metanolového extraktu príhlavy dvojdomkej

sa prejavil u pstruha dúhového taktiež zvýšenou fagocytárnou aktivitou (Bilen a kol., 2015).

Graf č.7, Porovnanie fagocytárnej aktivity



Graf č.8, Porovnanie pohlcovacej schopnosti fagocytov



4. ZÁVER

Z výsledkov nášho experimentu vyplýva, že prídavok príhlavy dvojdomkej do kŕmnych zmesí ošipaných mal mierne pozitívny vplyv na počet krvných lymfocytov a fagocytárnu schopnosť fagocytov. Na podrobnejšie preskúmanie imunomodulačného účinku príhlavy ako prídavku do kŕmnych zmesí u prasiatok bude potrebné vykonať ďalšie štúdie s použitím rôznych koncentrácií.

Zdroje

1. AL-SALIHI, A. A., HASSAN, M. A., AL-GHARAWI, J. K. Effect of using water extract of nettle leaves (*Urtica dioica*) on some immunological and blood traits of broiler. *J Res Ecol*, 2018. 6(2), 1794-1799.
2. BEKELE, B., MELESSE, A., BEYAN, M., & BERIHUN, K. The effect of feeding stinging nettle (*Urtica simensis*) leaf meal on the feed intake, growth performance and carcass characteristics of hubbard broiler chickens. *Glob. J. Sci. Front. Res.(GJSFR):(D) Agriculture and Veterinary*, 2015. 15(3), 1-20. Retrieved from <https://journalofscience.org/index.php/GJSFR/article/view/1502>.
3. BHUSAL, K. K., MAGAR, S. K., THAPA, R., LAMSAL, A., BHANDARI, S., MAHARJAN, R., SHRESTHA, S. & SHRESTHA, J. Nutritional and pharmacological importance of stinging nettle (*Urtica dioica* L.): A review. *Heliyon*, 2022. 8(6):e09717. doi: doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09717.
4. BILEN, S., ÜNAL, S., GÜVENSOY, H. Effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and nettle (*Urtica dioica*) methanolic extracts on immune responses and resistance to *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

- Aquaculture, 2016. 454, 90-4. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.010>.
5. BUCHKO, O., HAVRYLIAK, V., YAREMKEVYCH, O. Effect of Nettle Extract on Metabolic Processes in Piglets During Weaning. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2024. 1, 30(5), 661-7. doi: 10.9775/kvfd.2024.32236.
 6. DISLER, M., IVEMEYER, S., HAMBURGER, M., VOGL, C. R., TESIC, A., KLARER, F., MEIER, B. & WALKENHORST, M. Ethnoveterinary herbal remedies used by farmers in four north-eastern Swiss cantons (St. Gallen, Thurgau, Appenzell Innerrhoden and Appenzell Auser rhoden). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2014. 10(1), 1-23. doi: doi.org/10.1186/1746-4269-10-32.
 7. European Commission. 2003. Regulation (EC) No 1831/2003 of the European parliament and of the council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Official Journal of the European Union*, 268:29-43. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2003/1831/oj>.
 8. HANCZAKOWSKA, E., WIYTKIEWICZ, M., SZEWCZYK, A.G. Effect of dietary nettle extract on pig meat quality. *Med Wet*, 2007. 13, 63, 525-7.
 9. HERRERA, S. B., RODRIGUEZ, L., DEL CARMEN GARCÍA, M., FLORES, J.L., VELASCO, R. Effects of extract of *Urtica dioica* L. (stinging nettle) on the immune response of rats with severe malnutrition. *J Complement Med Res*, 2018. 9(2), 63-73. doi: 10.5455/jcmr.20180508052039.
 10. KHANAL, D. R., TIWARI, I., BASTOLA, R., & UPRETI, C. R. Beneficial effects of stinging nettle supplementation on milk production. *Nepalese Veterinary Journal*, 2017. 34, 60-68. doi: doi.org/10.3126/nvj.v34i0.22904.
 11. RUTTO, L. K., XU, Y., RAMIREZ, E., & BRANDT, M. Mineral properties and dietary value of raw and processed stinging nettle (*Urtica dioica* L.). *Int J Food Sci*, 2013. 2013:857120. doi: 10.1155/2013/857120.
 12. SAFAMEHR, A., MIRAHMADI, M., NOBAKHT, A. Effect of nettle (*Urtica dioica*) medicinal plant on growth performance, immune responses, and serum biochemical parameters of broiler chickens. *Int Res J Appl Basic Sci*, 2012. 3(4), 721-8.
 13. SAID, A. A. H., OTMANI, I. S. E., DERFOUFI, S., BENMOUSSA, A. Highlights on nutritional and therapeutic value of stinging nettle (*Urtica dioica*). *Int J Pharm Pharm Sci*, 2015. 7, 8-14. Retrieved from <https://journals.innovareacademics.in/index.php/ijpps/article/view/8165>.
 14. ŞANDRU, C. D., NICULAE, M., POPESCU, S., PAŞTIU, A. I., PÁLL, E., SPÎNU, M. *Urtica dioica* alcoholic extract increases the cell-mediated innate immune potential in chickens. *Industrial Crops and Products*, 2016. 88, 48-50.
 15. UPTON, R. Stinging nettles leaf (*Urtica dioica* L.): Extraordinary vegetable medicine. *Journal of herbal medicine*, 2013. 3(1), 9-38. doi: <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2012.11.001>.
 16. VALCHEV, G., POPOVA-RALCHEVA, S., BONOVSKA, M., ZAPRIANOVA, I., GUDEV, D. Effect of dietary supplements of herb extracts on performance in growing pigs. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 2009. 25(5-6), 859-70.