

Wpływ diety bogatotłuszczowej na poziom witaminy C i lipidów u kurcząt

BARBARA NAGÓRNA-STASIAK, BARBARA BADZIAN, MARTA KOWALCZYK

Katedra Fizjologii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Nagórna-Stasiak B., Badzian B., Kowalczyk M.

Effect of high fat diet on vitamin C and lipid levels in chickens

Summary

The objective of the study was to demonstrate the influence of a high fat diet on vitamin C levels in chickens. The examinations covered 30 Arbor Acres breed chickens divided into 5 experimental groups. The chickens were administered soybean oil with 55% UnSFA and vit.C together or separately through an intragullet tube for 6 weeks. After decapitation, samples of blood, thigh muscles, pectoral muscles, liver, kidney and spleen were collected from the chickens. In all the tissues the vit. C level was determined using Roe-Kuenther's method modified by Omaye, the total lipid level according to Soxhlet's extractive-gravimetric method, while in the serum with the Biochemtest POCHE test. Daily administration of vit. C 50 mg caused its increase in the thigh muscles by 50% as well as in blood serum by 63%, i.e. from 120.4 $\mu\text{mol/l}$ up to 196.8 $\mu\text{mol/l}$. Chickens given 2ml soybean oil daily showed an ascorbic acid decrease in the spleen from 253.0 mg/kg tissue to 191.0 mg/kg (25%), whereas in the thigh muscle from 55.0 mg/kg to 25.6 mg/kg (53%) as against the control group. A total lipid increase in the liver from 5.28% to 12.69% of the tissue total mass was recorded and in the pectoral muscle from 0.98% to 1.97%.

The application of vitamin C along with soybean oil has clearly decreased lipid levels in the thigh muscle from 3.42% around to 2%, while in the blood serum from 0.50% to 0.42%. Generally, the present studies have proven that the administered diet exerts a significant influence on the chemical composition of tissues and blood. However, a given substance level in blood does not reflect its content in the body as its increase or decrease in the serum is often connected with inverse changes in tissues. Each tissue in the body responds differently to a diet composition. For example, the thigh muscles, contrary to pectoral ones, reacted markedly to the diet, demonstrating changes in their chemical composition depending on a given substance. It is also noteworthy that soybean oil decreased tissue saturation with ascorbic acid, yet on the whole it did not affect the total lipid level.

Keywords: chickens, vitamin C, soybean oil, lipids

Choroby cywilizacyjne, do których zalicza się miażdżycę naczyń, zawał serca czy nadciśnienie są w dużej mierze zależne od sposobu odżywiania, a więc nie tylko rodzaju spożywanych produktów, ale również od ich składu chemicznego. Substancje zawarte w pokarmie mogą oddziaływać wzajemnie na siebie i przekształcać je w formy bardziej lub mniej korzystne dla organizmu. Do nich należą między innymi lipidy całkowite oraz witaminy antyoksydacyjne. Istnieją nieliczne dane dotyczące wpływu tłuszczu diety, w tym cholesterolu, na zawartość witaminy C w ustroju. Na przykład u świnek morskich obserwowano wzrost poziomu witaminy C po diecie bogatotłuszczowej, a u kurcząt w surowicy po podaniu oleju sojowego i witaminy C odnotowano spadek cholesterolu całkowitego, kosztem obniżenia jego frakcji LDL (1, 6, 23). Dla powstawania miażdżycy naczyń krwionośnych bardzo istotny jest skład chemiczny diety i rodzaj tłuszczu, a

szczególnie zawartość kwasów tłuszczowych, które pełnią w ustroju szereg istotnych funkcji, np. są materiałem energetycznym dla mięśni (8, 14). Wzrost zachorowań na miażdżycę jest wprost proporcjonalny do poziomu nadtlenków lipidów, których źródłem są kwasy tłuszczowe ulegające peroksydacji przez rodniki, a także frakcje lipoprotein o małej gęstości -LDL (7, 11, 13, 14). Do witamin antyoksydacyjnych zapobiegającym chorobom cywilizacyjnym należy niewątpliwie witamina C, która razem z witaminą E chroni wielonienasycone kwasy tłuszczowe przed utlenieniem (5, 17). Kwas askorbowy jako antyoksydant rozpuszczalny w wodzie, ma możliwość reagowania z rodnikami hydroksylowymi, nadtlenkami wodoru i rodnikami nadtlenkowymi, czym przyczynia się do ochrony organizmu przed szkodliwymi czynnikami (2, 3, 21).

Celem badań było określenie wpływu diety bogatotłuszczowej na poziom witaminy C u kurcząt.

Tab. 1. Poziom witaminy C w tkankach kurcząt wyrażony w mg/kg tkanki w zależności od diety

Grupa	Wątroba	Nerki	Śledziona	Mięsień udowy	Mięsień piersiowy	Surowica ($\mu\text{mol/l}$)
I Kontrolna	572,0 \pm 116,7 ^{ab}	315,3 \pm 87,06 ^{abc}	253,0 \pm 106,0 ^a	55,0 \pm 19,0 ^a	58,6 \pm 5,2 ^a	120,4 \pm 62,8 ^a
II 50 mg wit. C	596,8 \pm 107,1 ^a	302,5 \pm 122,1 ^{abc}	222,0 \pm 108,9 ^{abc}	82,5 \pm 14,2 ^{ac}	55,0 \pm 8,9 ^a	196,8 \pm 12,7 ^{bd}
III 2 ml oleju sojowego	476,6 \pm 108,6 ^{ab}	298,5 \pm 191,2 ^a	191,0 \pm 79,0 ^b	25,6 \pm 5,1 ^{bd}	58,0 \pm 18,7 ^a	136,8 \pm 39,8 ^{acd}
IV 50 mg wit. C + 2 ml oleju sojowego	415,3 \pm 88,6 ^b	266,7 \pm 75,3 ^b	261,0 \pm 82,3 ^{ac}	33,0 \pm 17,9 ^{acd}	66,0 \pm 8,9 ^a	160,8 \pm 11,3 ^c
V 50 mg wit. C + 3 ml oleju sojowego	448,3 \pm 85,8 ^{ab}	167,7 \pm 8,9 ^c	161,0 \pm 72,5 ^b	38,5 \pm 6 ^{acd}	47,6 \pm 18,7 ^a	147,2 \pm 23,2 ^{ac}

Objaśnienie: a, b, c, d – średnie w kolumnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p < 0,01$.

Materiał i metody

Badania wykonano na 30 sześciotygodniowych kurczętach rzeźnych rasy Arbor Acres o początkowej średniej masie ciała 1,74 kg, żywionych mieszanką paszową DKA-G, nie zawierającą witaminy C. Kurczęta podzielono na 5 grup doświadczalnych po 6 ptaków mieszanej płci (4 kurki i 2 kogutki). Kurczętom podawano codziennie sondą doprzelykowo olej sojowy zawierający 55% niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT) i witaminę C (cz.d.a.) w postaci kwasu L-askorbowego w 1 ml wody. I grupa (kontrolna) nie otrzymywała oleju i witaminy C, II grupa 50 mg witaminy C, III grupa 2 ml oleju sojowego, IV grupa 50 mg witaminy C i 2 ml oleju, V grupa 50 mg witaminy C i 3 ml oleju sojowego. Po 6 tygodniach kury i kogutki o średniej masie ciała 4,2 kg po pobraniu krwi zostały uśmiercone przez dekapitację. Jednocześnie pobierano wątrobę, nerki, śledzionę, mięśnie udowe i piersiowe.

W surowicy krwi i tkankach poziom witaminy C oznaczono metodą Roe-Kuethera w modyfikacji Omaye (18, 20), lipidy całkowite metodą ekstrakcyjno-wagową Soxhleta, a w surowicy przy pomocy Biochemtest POCH. Ocennę statystyczną istotności różnic między grupami przeprowadzono za pomocą testu t-Studenta.

Wyniki i omówienie

Wyniki badań podano w tab. 1 i 2, oraz na ryc. 1 i 2. U trzymiesięcznych kurcząt stanowiących grupę kontrolną najwyższy poziom witaminy C w badanych tkankach wykazano w wątrobie i nerkach. Nieco niższy w śledzionie, a zdecydowanie najniższy w mięśniach piersiowych i udowych. Poziom witaminy C w surowicy wynosił 120,4 $\mu\text{mol/l}$. Najwyższy procent lipidów całkowitych wykazano w wątrobie, oraz w mięśniach udowych i nerkach.

Podawanie kurczętom przez 6 tygodni witaminy C w ilości 50 mg/dzień, nie spowodowało jej wzrostu w wątrobie, nerkach, śledzionie i mięśniach piersiowych, ale w mięśniach udowych jej

poziom podwyższył się o 50%, jak również w surowicy krwi o 63%. Podawanie 2 ml oleju sojowego dziennie, bez witaminy C, przyczyniło się do obniżenia kwasu askorbowego w porównaniu z grupą kontrolną: w śledzionie o 25% i w mięśniu udowym o 53%. Łączne stosowanie witaminy C i oleju sojowego przez 6 tygodni zdecydowanie obniżyło poziom witaminy C w wątrobie w porównaniu z grupą kontrolną bo o 27%, w nerkach o 47%, śledzionie o 36%, mięśniu udowym o około 40%, chociaż powyższe różnice nie zawsze uzyskiwały potwierdzenie statystyczne (tab. 1, ryc. 1). Podawanie 50 mg witaminy C dziennie w istotny sposób wpłynęło na wzrost lipidów całkowitych w wątrobie, bo z 5,28% do 12,69% całej masy tkanki, oraz w mięśniu piersiowym z 0,98% do 1,97%, w innych tkankach takich zmian nie obserwowano. Jednakże podawanie kurczętom przez 6 tygodni 2 ml oleju sojowego nie wpłynęło na zawartość lipidów całkowitych w badanych tkankach i surowicy krwi. Ale łączne stosowanie witaminy C i oleju sojowego zdecydowanie obniżyło poziom lipidów w mięśniu udowym w porównaniu z grupą kontrolną z 3,42% do około 2,0%, oraz w surowicy krwi z 0,50% do 0,42% (tab. 2, ryc. 2).

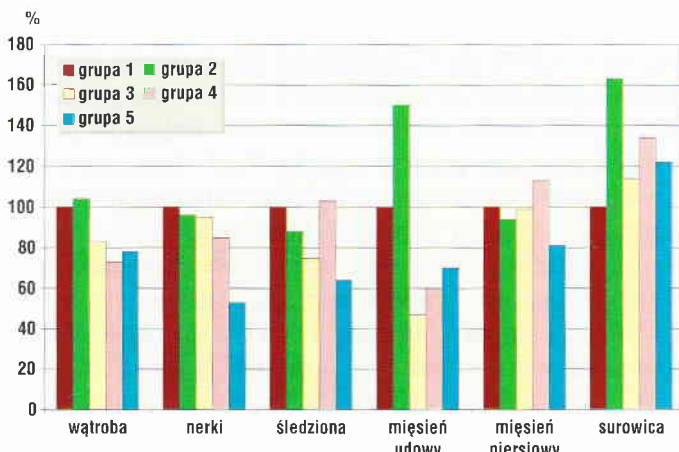
W skład lipidów całkowitych wchodzi między innymi trójglicerydy, kwasy tłuszczowe, lipoproteiny, cholesterol, witaminy A, D, E, K. Znaczenie lipoprotein dla transportu tłuszczu w organizmie jest istotne, gdyż jako związki nierozpuszczalne w wodzie mogą być transportowane przez krew tylko w połączeniu z białkami (6). Istnieją nieliczne dane dotyczące wpływu tłuszczu diety na zawartość witaminy C w organi-

Tab. 2. Poziom lipidów całkowitych w tkankach i surowicy kurcząt wyrażony w % w stosunku do masy tkanki

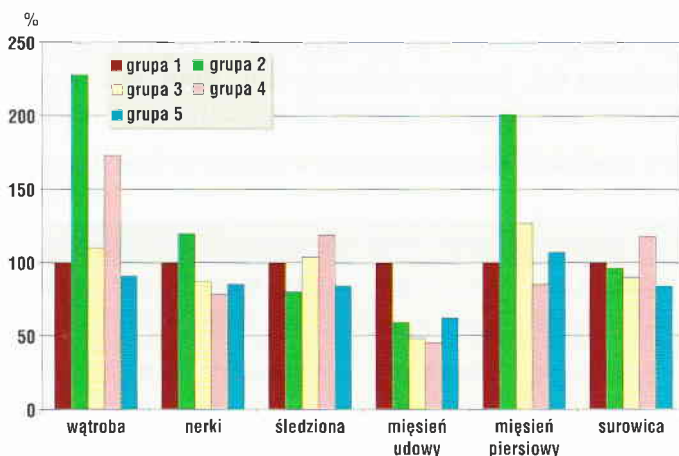
Grupa	Wątroba	Nerki	Śledziona	Mięsień udowy	Mięsień piersiowy	Surowica
I	5,28 \pm 2,48 ^a	3,10 \pm 1,24 ^{ac}	1,93 \pm 0,46 ^{ad}	3,42 \pm 1,08 ^{ab}	0,98 \pm 0,40 ^{ac}	0,50 \pm 0,14 ^{ab}
II	12,69 \pm 4,59 ^b	3,71 \pm 1,29 ^a	1,55 \pm 0,25 ^a	2,02 \pm 1,04 ^{ab}	1,97 \pm 0,92 ^b	0,48 \pm 0,15 ^{abd}
III	5,78 \pm 2,04 ^a	2,69 \pm 0,72 ^{bc}	2,00 \pm 0,45 ^{cd}	1,63 \pm 0,28 ^{ab}	1,24 \pm 0,07 ^{ab}	0,45 \pm 0,10 ^{ac}
IV	9,14 \pm 3,43 ^b	2,38 \pm 0,16 ^{bc}	2,30 \pm 0,40 ^{bc}	1,54 \pm 0,62 ^a	0,83 \pm 0,48 ^c	0,59 \pm 0,23 ^{bd}
V	4,82 \pm 1,27 ^a	2,63 \pm 0,53 ^{ab}	1,62 \pm 0,31 ^a	2,13 \pm 0,83 ^b	1,05 \pm 0,50 ^{ac}	0,42 \pm 0,22 ^{cd}

Objaśnienie jak w tab. 1.

zmie. Między innymi stwierdzono, że u świnek morskich dieta bogata w oleje lub tłuszcz zwierzęcy powoduje większe gromadzenie się kwasu askorbowego w narządach wewnętrznych (23). Badania własne przeprowadzone na kurczętach nie potwierdzają jednak powyższej hipotezy, gdyż podawany kurczętom olej sojowy nie wpływał na poziom lipidów całkowitych w tkankach i surowicy krwi, ale zdecydowanie obniżał zawartość witaminy C, co jest procesem niekorzystnym dla ustroju. Zaobserwowano również, że łączne podawanie oleju sojowego i witaminy C, wyzwała różne reakcje ze strony tkanek, gdyż wystąpiło obniżenie poziomu kwasu askorbowego w wątrobie, nerkach, śledzionie i mięśni udowym, pozostając bez wpływu na mięsień piersiowy. Obniża się też zawartość lipidów całkowitych w mięśni udowym i surowicy krwi. Wcześniejsze badania na kurczętach (1) wykazały, że olej sojowy łącznie z witaminą C powodował w surowicy krwi spadek cholesterolu całkowitego, kosztem obniżenia frakcji LDL, a nie wpływało to na frakcję cholesterolu HDL. Podobnie u człowieka wykazano dużą skuteczność diety zawierającej oleje roślinne w stabilizacji lipidów osocza krwi po transplantacji serca. U tych pacjentów zanotowano redukcję stężenia cholesterolu całkowitego i jego frakcji LDL przy braku zmian w stężeniu cholesterolu HDL. O skutecz-



Ryc. 1. Poziom witaminy C w tkankach i surowicy kurcząt wyrażony w % w stosunku do grupy 1 kontrolnej



Ryc. 2. Poziom lipidów całkowitych w tkankach i surowicy kurcząt wyrażony w % w stosunku do grupy 1 kontrolnej

ności tego sposobu żywienia decyduje przede wszystkim duża zawartość antyoksydantów w olejach oraz kwasu oleinowego. Przeciwuutleniające zawarte w olejach roślinnych znacznie ograniczają peroksydację lipidów, zmniejszając powstawanie zmian miażdżycowych (25). W badaniach własnych olej sojowy stosowany u kurcząt sam lub z witaminą C powodował obniżenie zawartości tej witaminy i lipidów w mięśni udowym, a pozostawał bez wpływu na mięsień piersiowy. Można więc stwierdzić, że skład chemiczny mięśni udowych zależy od diety w większym stopniu niż mięśni piersiowych. Wiąże się to niewątpliwie z różną budową tych mięśni, funkcją oraz z zachodzącymi w nich procesami metabolicznymi.

Wykazano istotny związek między składem ilościowym i jakościowym diety a częstością występowania chorób układu krążenia (23, 25). Kwasy tłuszczowe zawarte w pokarmie należą do podstawowych elementów budulcowych błon komórkowych, dlatego też regulują transport jonowy w komórce i wiązanie jonów, co niewątpliwie wpływa na budowę ścian naczyń krwionośnych, a tym samym na zmiany ciśnienia krwi (14). Naturalnymi źródłami nienasyconych kwasów tłuszczowych są niektóre oleje np. sojowy, lniany, rzepakowy lub zielone liście roślin. Spożywanie nadmiaru nasyconych kwasów tłuszczowych, powoduje wzrost ryzyka rozwoju chorób nowotworowych oraz miażdżycy naczyń tętniczych doprowadzającej do nadciśnienia tętniczego i udaru mózgu. Stosowany olej sojowy był złożony głównie z kwasu linolowego, linolenowego i oleinowego, gdzie stosunek NNKT do NKT (nasyconych kwasów tłuszczowych) był wysoki, wynosił bowiem 3,75, podczas gdy w oleju z oliwek sięga tylko 0,58. NNKT mogą występować w formie cis lub trans. Forma trans, podobnie jak NKT, działa niekorzystnie na organizm, przyczyniając się do powstawania chorób cywilizacyjnych (15). Jak wykazują liczne badania choroby cywilizacyjne są związane z witaminami antyoksydacyjnymi i poziomem oraz rodzajem lipidów w organizmie. Wykazano, że zawartość nadtlenków lipidów w ścianie naczyń zmienionych miażdżycowo jest wprost proporcjonalna do nasilenia choroby. Niewątpliwym ich źródłem są kwasy tłuszczowe ulegające peroksydacji przez wolne rodniki tlenowe, a także frakcje lipoprotein o małej gęstości (LDL), nie występują one jednak w lipoproteinach o dużej gęstości (HDL) (14). Nadtlenki lipidów w cząsteczce LDL powodują jej modyfikację doprowadzając do łatwiejszej jej fagocytacji przez krwinki białe. I w tym właśnie mechanizmie szuka się przyczyny obniżenia w surowicy krwi cholesterolu związanego z lipoproteinami przez zawarte w diecie nienasycone kwasy tłuszczowe (7, 11, 13). Najnowsze badania wskazują, że nie jest to korzystne dla organizmu, ponieważ obniżenie cholesterolu w surowicy przyczynia się do odkładania w ścianach naczyń cytotoksycznych produktów peroksydacji lipidów oraz cholesterolu (9, 10). W świetle tych danych wcześniej-

szy pogląd o korzystnym wpływie nienasyconych kwasów tłuszczowych na organizm wymaga dalszych badań, a przynajmniej weryfikacji, gdyż oleje bogate w nienasycone kwasy tłuszczowe są bardziej podatne na oksydację.

W leczeniu miażdżycy istotną rolę odgrywają witaminy antyoksydacyjne, takie jak witamina E, A i C. Witaminy te chronią wielonienasycone kwasy tłuszczowe przed utlenieniem, jak również nie dopuszczają aby ściana naczyń uległa pogrubieniu przez rozrost mięśniówki gładkiej. Mimo niewątpliwego wpływu tych witamin na hamowanie procesów miażdżycowych nie ustalono dotychczas ich konkretnych dawek profilaktycznych (5, 17). Witaminy antyoksydacyjne często działają synergetycznie, np. witaminy C i E łącznie, bardziej efektywnie hamują reakcje utleniania lipidów niż każda z nich zastosowana osobno, gdyż witamina C posiada zdolność regenerowania rodnika tokoferolowego, który powstaje w reakcji z nadtlenkami lipidów i witaminą E. Jednocześnie kwas askorbowy w tych reakcjach jest regenerowany przez enzym reduktazę (4, 16, 19). Witamina C jako antyoksydant rozpuszczalny w wodzie ma możliwość reagowania z rodnikami hydroksylowymi, nadtlenkami wodoru i rodnikami nadtlenkowymi. Witamina C występuje w postaci kwasu L-askorbowego i dehydroaskorbowego, które w pewnych przypadkach mogą działać odmiennie. Kwas L-askorbowy jest przeciwutleniaczem, który hamuje reakcje wolnorodnikowe przez oddawanie atomu wodoru na cząsteczki rodników. Kwas dehydroaskorbowy zaś nie chroni lipidów przed utlenianiem przez rodniki hydroksylowe, ale broni przed peroksydacją wywołaną jonami miedzi (2, 3, 21). W przypadku niedokrwienia mięśnia sercowego istotną rolę odgrywają wolne rodniki tlenowe jak również witamina C, gdyż obserwuje się wtedy we krwi spadek aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz słabe wysycenie organizmu tą witaminą, a więc zmniejszenie jej działania przeciwutleniającego. Kwas acetylosalicylowy może pogłębić ten proces, ponieważ nie tylko ma działanie pozytywne, antyagregacyjne, ale posiada też zdolność do blokowania pobierania witaminy C przez płytki krwi i leukocyty, jak również obniżenie jej poziomu w osoczu (12, 24).

Reasumując należy stwierdzić, że dieta wywarła niewątpliwą wpływ na skład chemiczny tkanek i krwi. Jednakże poziom konkretnej substancji we krwi nie odzwierciedla jej zawartości w organizmie, gdyż często obniżenie lub podwyższenie jej w surowicy, wiąże się z przeciwnymi zmianami w tkankach. Jest to istotne dla medycyny ludzkiej, gdyż u człowieka poziom cholesterolu określa się tylko w osoczu, ponieważ pobranie materiału tkankowego u osób żyjących nie wchodzi w rachubę lub jest utrudnione. W niniejszych badaniach wzrost lipidów całkowitych w surowicy krwi kurcząt łączy się z ich wzrostem w wątrobie i śledzionie, ale obniżeniem w mięśniach piersiowych, udowych i nerkach. Dobrym przykładem odmiennego

reagowania na substancję zawartą w diecie jest mięsień udowy i piersiowy kurcząt. Mięśnie udowe w przeciwieństwie do mięśni piersiowych zdecydowanie reagowały na dietę, poprzez zmianę swego składu chemicznego, który zależał od podawanej substancji. Należy też zauważyć, że olej sojowy obniżał wysycenie tkanek kwasem askorbowym, ale na ogół pozostawał bez wpływu na poziom lipidów całkowitych.

Piśmiennictwo

1. *Badzian B., Nagórna-Stasiak B., Kowalczyk M.*: Wpływ oleju sojowego i witaminy C na poziom lipidów w surowicy krwi kurcząt. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 921-923.
2. *Bonoroden W., Pariza M.*: Antioxidant nutrients and protection from free radicals. W: *Nutritional Toxicology*. Wyd.: Kotsonis F., Mackey M., Hjeile J., Raven Press, New York, 1994.
3. *Briviba K., Sies H.*: Natural Antioxidants in Human Health and Disease. Academic Press, New York and London 1994, s.107-128.
4. *Carry A., Frei B.*: Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effect in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999, 69, 1086-1107.
5. *Cybulska B., Kłosiewicz-Latoszek L.*: Czy witaminy antyoksydacyjne chronią przed miażdżycą? *Kardiol. Pol.* 1992, 36, 369-372.
6. *Davis R.*: Evaluation of processes and regulators of lipoprotein synthesis: from birds to mammals. *J. Nutr.* 1997, 127, 795-800.
7. *Dausset N., Dausset J., Solera M.*: Desialylated low lipoproteins and atherosclerosis. *Free Rad. Ageing* 1992, 2, 158-163.
8. *Dyck D., Peters S., Gorski J.*: Functional differences in lipid metabolism in resting skeletal muscle of various fiber types. *Am. J. Physiol.* 1997, 227, 340-351.
9. *Esterbauer H., Waey C., Puhl H.*: Inhibition of LDL oxidation by antioxidants. W: *Free Radicals Ageing*, Wyd.: Emerit J., Chance B., Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland, 1992, s.145-147.
10. *Esterbauer H., Gębicki J.*: The role of lipid peroxidation and antioxidant in oxidative modification of LDL. *Free Rad. Biol. Med.* 1992, 13, 341-390.
11. *Fernandez M.*: Guinea pigs as models for cholesterol and lipoprotein metabolism. *J. Nutr.* 2001, 131, 10-20.
12. *Grzegorzczak K., Rutkowski M., Drozda R.*: Witamina C w leczeniu niektórych chorób układu krążenia. *Pol. Merk. Lek.* 2001, 10, 122-125.
13. *Rhernier D.*: Lipoprotein metabolism and fattening in poultry. *J. Nutr.* 1997, 127, 805-808.
14. *Kehrer J.*: Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit. Rev. Tox.* 1993, 23, 21-48.
15. *Klein S., Coyle E., Wolfe R.*: Fat metabolism during low-intensity exercise in endurance-trained and untrained men. *Am. J. Physiol.* 1994, 267, 934-940.
16. *Lambelet P., Saucy F., Loliger J.*: Chemical evidence for interactions between vitamins E and C. *Experientia* 1985, 41, 1384-1388.
17. *Lagani M., Davies R.*: Lipid oxidation: Biologic effects and antioxidants. *Lipids* 1980, 15, 485-495.
18. *Omaye S., Turnbull J., Sauberlich H.*: Selected methods for determination of ascorbic acid in animal cells, tissues and fluid. *Meth. Enzymol.* 1979, 62, 3-11.
19. *Packer L., Slater T., Wilson R.*: Direct observation on a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature* 1979, 278, 737-738.
20. *Roe J.*: Appraisal of methods for determination of L-ascorbic acid. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1961, 92, 277-283.
21. *Sies H., Stahl W., Sundquist R.*: Antioxidant functions of vitamins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1992, 669, 7-20.
22. *Siscovick D., Raghunathan T., King I.*: Dietary intake and cell membrane levels of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and the risk of primary cardiac arrest. *J. A. M. A.* 1995, 274, 1363-1367.
23. *Wartanowicz M., Ziemiański S., Potrzebnička K.*: Wpływ zróżnicowanych ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych na zawartość antyoksydacyjnych witamin w surowicy i wybranych tkankach zwierząt. *Cz. II. Kwas askorbowy*. *Żyw. Człow. Metab.* 1989, 16, 240-244.
24. *Willard J.*: The use of aspirin in ischemic heart disease. *N. Engl. J. Med.* 1992, 327, 175-178.
25. *Ziemiański S., Wartanowicz M., Panczenko-Kresowska B.*: The role of antioxidant vitamins in the prevention and the treatment of atherosclerosis. *Żyw. Człow. Metab.* 1995, 22, 254-266.