

Piśmiennictwo

1. Anderson E. C.: Res. vet. Sci. 40, 178, 1986.
2. Kennedy S. et al.: Nature Lond. 335, 74, 1988.
3. Kita J., Anusz K.: J. Wildlife 17, 16, 1991.
4. Lowenstine L.: Proc. 12th Intern. Symp. World Ass. Vet. Microb. Immunol. Specialist Inf. Dis.: 1992, s. 13.
5. Osterhaus A. D. M. E.: Nature Lond. 334, 301, 1988.
6. Osterhaus A. D. M. E.: Proc. 12th Intern. Symp. World Ass. Vet. Microb. Immunol. Specialist Inf. Dis. 1992, s. 15.
7. Osterhaus A. D. M. E.: Nature Lond. 335, 403, 1988.
8. Plowright W.: Rev. sci. Tech. Off. int. Epiz. 7, 183, 1988.
9. Plowright W.: Rev. sci. Tech. Off. int. Epiz. 6, 497, 1987.
10. Thorne E. T.: Newsletter, Veterinary Group of the SSC/IUCN 3, 11, 1988.
11. Smith G. R.: Botulism in Waterfowl. W: Animal Disease in Relation Conservation. M. A. Edwards, U. McDonnell (wyd.). Academic Press, London, 1982, s. 17.
12. Smith G. R., Oliphant J. C., White W. R.: J. Hyg. Camb. 89, 597, 1982.

Adres autora: prof. dr hab. Jerzy Kita, ul. Wąski Dunaj 7 m 8, 00-256 Warszawa

ANTONI J. FUROWICZ, DANUTA CZERNOMYSY-FUROWICZ, WALDEMAR DĄBROWSKI

artykuł przeglądowy

Właściwości biologiczne selenu i witaminy E. Cz. II. Witamina E

Katedra Immunologii i Mikrobiologii Wydziału Zootechnicznego AR,
ul. Doktora Judyma 24, 71-460 Szczecin

Witamina E otrzymywana jest najczęściej z kielków pszenicy lub syntetycznie; bierze udział w procesach oksydoredukcyjnych, pełniąc funkcję przenośnika elektronów. Tokoferole zawierają w cząsteczce pierścień chromanu i resztę fitolu. L-tokoferol otrzymano syntetycznie z trójmetylohydrochinonu i fitolu (16).

Właściwości chemiczne i biologiczne

Witamina E (L-tokoferol, octan L-tokoferolu) jest jasnożółtym olejem rozpuszczalnym w eterze, chloroformie, acetonie; słabo rozpuszczalnym w alkoholu i nierozpuszczalnym w wodzie. W warunkach beztlenowych oporna na działanie zasad i kwasów oraz wysokiej temperatury (5). Bogatym jej źródłem w żywieniu są oleje roślinne z wyjątkiem oliwkowego. Pierwszą opisaną funkcją tej witaminy była ochrona płodowej resorpcji u zwierząt, których dieta zawierała zjełczałą słońinę (6). Jest czynnikiem antyoksydacyjnym — hamuje tworzenie się nadtlenków kwasów tłuszczowych oraz zapobiega utlenianiu witamin, zwłaszcza wit. A (5, 8, 16). Jako anty-utleniacz odgrywa ważną rolę w stabilizacji membran komórkowych. W działaniu tym wykazuje ściśle współdziałanie z selenem. Zapotrzebowanie na wit. E zależy od poziomu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA — polyunsaturated fatty acids) w diecie. Wzrost poziomu PUFA powoduje zwiększenie zapotrzebowania na wit. E; prawidłowość tę wykazano u wielu gatunków zwierząt, włączając psy i koty (6). W doświadczeniu przeprowadzonym na cielętach przekonano się, że dawkę dzienną (2,0 mg) trzeba zwiększyć 100-krotnie, gdy do paszy włączy się 30 ml tranu. Zapotrzebowanie na tę witaminę znacznie zwiększa się w gorące, niskiej i wysokiej temperaturze otoczenia, niedoborze pirydoksyny i kwasu nikotynowego (7). W żywieniu zwierząt należy unikać produktów zjełczałych, ponieważ oddziałują one destruktywnie na wit. E (6). W niedoborze tej witaminy tworzą się masowo nadtlenki, które uszkodzają wątrobę, serce i mięśnie, osłabiają stabilność membran komórkowych i zwiększają ich przepuszczalność. W hipowitaminozie E występuje zwiększenie przepuszczalności błon erytrocytów i przedostawanie się hemoglobiny poza ich obręb. Brak tej wita-

miny potęguje bowiem podatność nienasyconych kwasów tłuszczowych zawartych w fosfolipidach na działanie czynników uszkodzających (7). Deficyt witaminy E powoduje szereg zaburzeń, których zakres przewyższa spektra, obserwowane przy niedoborach innych witamin (8).

Zaburzenia te można podzielić na 4 zasadnicze grupy: zaburzenia w metabolizmie mięśni, rozrodzie (niepłodność), układzie nerwowym i naczyniowym (6). Ponadto może dochodzić do dysfunkcji układu odpornościowego (11). Stosunkowo często cielęta i jagnięta zapadają na dystrofię mięśniową, przed którą chroni je implantacja podskórna L-tokoferolu (7). U psów najczęściej obserwuje się dystrofię mięśni szkieletowych, degenerację nabłonka jąder, niepłodność. Brak tej witaminy opóźnia u tego gatunku zwierząt funkcjonowanie mechanizmów odpornościowych. U kotów niski poziom witaminy E jest przyczyną zmian zapalnych tkanki tłuszczowej (steatitis — „yellow fat disease”). Wiąże się to ze wzrostem poziomu PUFA (6). Niewiele natomiast istnieje danych nt. zaburzeń u psów i kotów oraz dużych zwierząt gospodarskich, żywionych karmą zawierającą zbyt wysoki poziom tej witaminy. Przekraczając 10-krotnie poziom witaminy E w karmie, podawanej przez 15 tygodni ssącym szczeniętom (pies gończy), nie odnotowano w ich stanie zdrowia żadnych odstępstw od normy. Jednakże u innych ras, nadmierna zawartość tej witaminy w żywieniu spowodowała szereg negatywnych efektów. Dotyczyły one najczęściej zaburzeń w krzepnięciu krwi (wydłużenie tego procesu) oraz w funkcjonowaniu tarczycy.

Pierwszy rodzaj zaburzeń związany był najprawdopodobniej z inhibicją aktywności witaminy K. Jest ona w niektórych sytuacjach antagonistką wit. E. Tak więc zbyt wysoki poziom witaminy E musi być uważany za zjawisko szkodliwe. Nie stanowi to jednak takiego zagrożenia, jak hiperwitaminozy A i D (6). W związku z tym, że wzrost poziomu PUFA powoduje wzrost zapotrzebowania na wit. E, istnieje trudność bardzo dokładnego ustalenia potrzeb i tym samym dawek tej witaminy. Zalecana zawartość witaminy E (dla L-tokoferolu) w paszy w mg/kg wynosi: cielęta 15—60, kurczęta 10, świnię 11, psy 50. Lecznico dawka dzienna

per os w mg/kg: cielęta 40, świnie 500, drób 300, psy 300, koty 30 (7). Witamina E w przewodzie pokarmowym ulega wchłonięciu w 20—25%, przy czym resorpcja jej zależy od obecności kwasów tłuszczowych i esterazy hydrolizującej estrową postać witaminy; estry nie są wchłaniane. Witamina wykazuje znaczną stabilność na procesy utleniania w obecności takich metali, jak żelazo i miedź (7). W Polsce produkuje się szereg preparatów dla zwierząt, w skład których, poza witaminami A i D₃, wchodzi także wit. E (7). Aktualnie stosuje się coraz częściej witaminę E związaną w jednym preparacie z solami selenu. Znaczącym mechanizmem oddziaływania tych bioelementów, należy uznać taką formę leku za najbardziej słuszną. Do preparatów stosowanych leczniczo (jako lek wspomagający), przy niektórych formach nowotworzenia u człowieka, należy Protecton (Sanopharm, Arzneimittelwerk GmbH, Hanover). Jedna kapsułka tego preparatu zawiera 100 mg d-L-octanu tokoferolu oraz 50 µg selenu. W medycynie weterynaryjnej stosowany jest iniekcyjny preparat Evestal (Polfa); ampułka 10 ml zawiera 750 mg tokoferolu i 10,95 mg *natrium selenosum*. Wykaz wielu preparatów zawierających różne formy witaminy E zawiera opracowanie Podlewskiego i Chwalibogowskiej-Podlewskiej (18).

Udział witaminy E w procesach odpornościowych

Witamina E funkcjonuje w organizmie wyższym jako wewnątrzkomórkowy przeciwutleniacz i stabilizator wienionienasyconych kwasów tłuszczowych. Ponadto pośredniczy w metabolizmie lipidów. W ostatnich latach coraz częściej w pracach na temat żywienia i odpowiedzi immunologicznej zwraca się uwagę na rolę wit. E i selenu (12). Rola wit. E jako przeciwutleniacza była podstawą badań nad efektami tego związku w mechanizmach regulacji biologicznej. Jak już wspomniano, zarówno wit. E, jak i selen odgrywają ważną rolę w systemie peroksydazy glutationowej. Dodatkowo wit. E spełnia bardzo ważną funkcję w stabilizacji membran biologicznych (komórek eukariotycznych). Współdziała w tym ważnym mechanizmie z solami Se. Stabilizacja membrany komórkowej, dzięki obecności wymienionych elementów i tym samym odpowiedniej aktywności GSH-Px, sprawia, że zasadnicze procesy metaboliczne odbywają się w tej części komórki bez zakłóceń. Chodzi tu głównie o procesy fosforylacji prowadzące do rozbitcia glikogenu i odpowiedniego wykorzystania cukrów prostych (kaskada enzymatyczna: cyklaza adenylova, ATP → cAMP i następnie aktywacja kinazy białek, kinazy fosforylazowej oraz fosforylazy), ponadto procesy hydratacji i dehydratacji związane z aktywnością ATP-azy zależnej od jonów Na i K, katalizowanej przez Mg (np. w komórkach nabłonka przedniego i tylnego rogówki oka).

Początkowo większość badań nad wit. E była realizowana na kurczętach. Wykazano, iż wysokie dawki tej witaminy (w formie dodatku do paszy), powodują w sposób widoczny wzrost odpowiedzi immunologicznej; odpowiedź ta dotyczyła mechanizmów odporności humoralnej (24). Tengerdy (25) stwierdził, że u kurcząt, którym podawano wit. E w dawce pięciokrotnie wyższej od normalnej, wzrosła w sposób statystycznie znamiennej generacja komórek PFC (tzw. komórek wytwarzających łyśinki), reagujących przeciwko erytrocytom baranin (anti SRBC). W rezultacie dalszych dociekań odnotowano, że dodatek wit. E w dawce 180 mg/kg masy ciała w diecie myszy spowodował wzrost humoralnej

odpowiedzi, mierzonej wzrostem liczby komórek PFC (aktywnych w stosunku do SRBC) oraz wzrostem poziomu przeciwciał przeciw toksoidowi *Clostridium tetani* (25). Badając limfocyty CDF₁ i inne parametry immunologiczne myszy, u których zastosowano przez 30 dni dietę ubogą w wit. E, odnotowano znaczny spadek liczby komórek PFC (z 1225/10⁶ do 419/10⁶ komórek). Antyutleniacz DPPD (N,N-dwufenylopara-fenylenodwuamina) nie był w stanie doprowadzić liczby PFC do stanu wyjściowego. Dopiero uzupełnienie w diecie poziomu wit. E spowodowało 10-krotny wzrost liczby komórek PFC. Zwrócono uwagę na bardzo znaczny wzrost liczby tych komórek wytwarzających IgM, których stosunek do PFC-IgG wzrósł niewspółmiernie (24).

Campbell i wsp. (2) badali *in vitro* efekty wit. E na odpowiedź humoralną w stosunku do antygeny SRBC. Skonstatowano, że dodatek L-tokoferolu lub jego octanu do hodowli komórkowej Mishell Douttona podniósł bardzo znacznie odpowiedź przeciw SRBC („SRBC-PFC response”) w porównaniu z próbą kontrolną. W innych doświadczeniach wykonanych przez tych autorów (2), odnotowano zanik właściwości adherencyjnych komórek śledzionowych jako rezultat pasażu w kolumnie polystyrenowej. Uzyskiwane komórki, określone jako makrofagi, w wyniku stymulacji SRBC, wytwarzały *in vitro* tylko niewielką liczbę komórek reagujących z tym antygenem. Kiedy jednak dodawano L-tokoferol lub 2-merkaptotanol (2-ME) do hodowli komórek adherencyjnych, stwierdzono odbudowanie reaktywności w zakresie wytwarzania przeciwciał. Może to sugerować, że witamina E oddziałuje bezpośrednio na limfocyty T helper w sposób zbliżony do 2-ME. Nie można również wykluczyć stymulacji poprzez czynniki aktywujące limfocyty (LAF), wytwarzane przez pozostałe komórki adherencyjne. Jest sprawą znaną, że nawet wielokrotny pasaż, w kolumnach Sefadexu G₁₀, nie usuwa całkowicie populacji śledzionowych komórek adherencyjnych (12). Corwin i Shloss (3, 4) analizowali mitogenne efekty oddziaływania tokoferolu na limfocyty mysie. Stwierdzili, że zarówno wit. E, jak i 2-ME wykazywały silne właściwości, typowe dla mitogenów. Dodatek wit. E do karmy w ilości 5 mg/kg w obecności Con A (konkanawalina A — mitogen swoisty dla limfocytów T), zwiększał odpowiedź immunologiczną (proliferyzację limfocytów) 2,5-krotnie w porównaniu z grupą kontrolną. Natomiast dodatek 50 mg/kg — aż 8-krotnie.

Badania te sugerują, że, wit. E indukuje zmianę odpowiedzi komórek śledzionowych i węzłów chłonnych na mitogeny PHA (fitohemaglutyninę) i Con A. Witamina E ma również przyspieszyć syntezę przeciwciał w czasie nieobecności limfocytów T helper. Cytowani autorzy (3, 4) odnotowali, że witamina ta stymuluje odpowiedź na 2,4-dwunitrofenyl (DNP-ficoll), który stanowi typ II, T-niezależnego antygeny. Ponieważ odpowiedź tego typu jest makrofago-zależna, efektem oddziaływania wit. E może być pobudzenie tych komórek do wytwarzania czynników stymulujących, które wywierają niespecyficzny wpływ na limfocyty.

Argumentację taką uzasadniają obserwacje wyjaśniające, że odpowiedź na antygen makrofago-niezależny typu I, którym jest TNP-LPS, nie jest stymulowana przez wit. E. Chociaż oddziaływanie tej witaminy odbywa się przede wszystkim *via* efekt makrofagowy, związek ten wydaje się być także mitogenem limfocytów B i T, ponieważ indukuje proliferację komórek wytwarzających immunoglobuliny (10). Corwin i wsp.

(cyt. 12) wyselekcjonowali subpopulacje limfocytów T w celu ustalenia typu komórek pobudzanych przez wit. E. Autorzy ci stwierdzili, że witamina ta stymuluje proliferację wielu dojrzałych komórek T, wykazujących oporność na hydrokortyzon, reagujących z PHA i dających odpowiedź na suboptymalne dawki Con A. Choć witamina E może mieć wpływ na odpowiedź immunologiczną, oddziałując na mechanizmy odpornościowe w różny sposób (np. *via* limfocyty T helper, limfocyty B lub makrofagi), wyniki najnowszych badań jednoznacznie wskazują na punkt uchwytu o charakterze receptora dla tego związku, znajdujący się na membranie makrofaga. Po pobudzeniu komórka ta zaczyna produkować molekuly regulujące, takie jak IL-1, które pobudzają komórki Th. Inne molekuly stymulują natomiast bezpośrednio odpowiedź limfocytów (12). W ostatnich latach obserwuje się zwiększenie liczby badań dotyczących immunomodulacyjnego działania na organizm zwierząt (w tym hodowlanych) wit. E.

Stwierdzono, że podawanie tokoferolu ptakom jako dodatku do paszy lub w formie iniekcji powoduje wzrost masy śledziony, zwiększoną proliferację komórek immunokompetentnych w śledzionie oraz wzrost aktywności fagocytarnej układu siateczkowo-śródbłonkowego (19). Według opinii wielu badaczy działanie wit. E na układ odpornościowy organizmu sprowadza się głównie do odporności przeciwważnej. Colnago i wsp. (cyt. 19) wykazali u kurcząt otrzymujących tę witaminę korzystniejsze efekty immunizacji przeciwko kokcydiozie oraz zmniejszoną śmiertelność w przebiegu tej choroby. Podobne wyniki uzyskali Likoff i wsp. (cyt. 19) u tego samego gatunku zwierząt w przypadku kolibakteriozy. Korzystniejszy efekt po podaniu wit. E osiągnięto także w terapii kolibakteriozy prosiąt. W wielu pracach przedstawiono dane świadczące, że łączne podawanie zwierzętom witaminy E i selenu wywiera działanie immunostymulujące (cyt. 19). Pozytywny wpływ obu związków, chroniący erythrocyty przed działaniem listeriozyny, wytwarzanej przez toksynotwórcze szczepy *L. monocytogenes*, przedstawiono w pierwszej części pracy (ryc. 2).

Korzystne oddziaływanie witaminy E na układ odpornościowy obserwuje się u ludzi starych (fizjologiczny deficyt odporności, zwłaszcza komórkowej) oraz u wyczynowych sportowców (podawanie tokoferolu w ramach tzw. odnowy biologicznej).

Podsumowanie

Praktyczne zastosowanie związków selenu i wit. E w medycynie weterynaryjnej może być bardzo szerokie. Ze względu na ochronne działanie, niwelujące wpływ takich toksycznych pierwiastków, jak: rtęć, ołów, kadm, tellur, trucizn chemicznych (nitrozoaminy), czy też promieniowania jonizującego, substancje te winny być stosowane profilaktycznie. Zapobiegawczo i terapeutycznie należałoby je podawać u zwierząt zagrożonych lub chorych na listeriozę oraz inne choroby zakaźne, w których głównym elementem chorobotwórczym są toksyny ulegające aktywacji przez grupę sulfhydrylową (listeriozyna *L. ivanovii*, streptolizyna, pneumolizyna).

Związki selenu mogą również hamować infekcje wirusowe. Selenocystyna jest inhibitorem enzymów transkryptazy RNA i replikazy RNA, wytwarzanych w komórce zakażonej wirusem grypy, a być może innymi wirusami tejże grypy. Możliwe jest także podawanie selenu z witaminą E w celu immunomodulacji (immuno-

stymulacji). Wydaje się jednak, że najbardziej efektywne będą te preparaty oddziaływać jako adiuwanty, wzmacniające odpowiedź immunologiczną na szereg antygenów szczepionkowych (w szczepionkach inaktywowanych). W końcu — substancje te winny znaleźć zastosowanie w profilaktyce i ewentualnie w immunoterapii (jako leki wspomagające) schorzeń nowotworowych. Należy podawać je łącznie, najlepiej w formie jednego preparatu. Warto jednak pamiętać, iż selen w większych dawkach jest silną trucizną (6). Dlatego też trzeba zachować daleko idącą ostrożność w dawkowaniu soli tego pierwiastka. Przed zastosowaniem u większej liczby zwierząt, należy określić poziom selenu we krwi. Podawanie preparatów selenowych zwierzętom, u których poziom selenu jest w normie fizjologicznej, może spowodować niepotrzebne zaburzenia metaboliczne. Jeżeli pierwiastek ten występuje w diecie krowy w stężeniu około 15 ppm, to — jak wykazały badania przeżuwaczy wypasanych na pastwiskach położonych na glebach bogatych w selen — może on oddziaływać w sposób toksyczny (8). Należy pamiętać, że w pewnych przypadkach może również dojść do zaburzeń w organizmach wyższych, po przedawkowaniu tokoferolu (6).

Piśmiennictwo

1. Blanco M., Garcia J. A., Delgado C., Briones V., Fernandez-Garayzabal J. F., Dominguez L., Suarez G., Jones D.: Influence of Selenium in the Diet on Sensitivity of Mice Erythrocytes to Listeriolysin O, Extended Lecture Abstracts of the Eleventh International Symposium on Problems of Listeriosis. Isopol XI, Eigved's Pakus-Copenhagen, 11-14 May 1992, s. 43.
2. Campbell P. A., Cooper H. R., Heinzerling R. H., Tengerdy R. P.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 146, 465, 1974.
3. Corwin L. M., Shloss J.: Nutr. 110, (5), 916, 1980.
4. Corwin L. M., Shloss J.: J. Nutr. 110, 2497, 1980.
5. Dżnek A.: Leksykon farmacji, PZWL, Warszawa 1999.
6. Edney A. T. B., Burrows I. E., Burger I. H., Blazu S. E., Raibird A. L., Markwell P. J.: The Waltham Book of Dog and Cat Nutrition. Pergamon Press, Oxford 1988.
7. Garbaliński T.: Farmakologia weterynaryjna, PWRiL, Warszawa 1984.
8. Farper H. A., Rodwell V. W., Mayes P. A.: Zarys chemii fizjologicznej, PZWL, Warszawa 1983.
9. Hudman J. F., Glenn A. R.: Arch. Microbiol. 149, 252, 1984.
10. Hudman J. F., Glenn A. R.: FEMS Mikrobiol. Lett. 27, 215, 1985.
11. Kalużewski S.: Instrukcja met. Zakł. Bakt. PZH dla stacji San-Epid., Wyd. PZH, Warszawa 1983.
12. Keusch G. T., Wilson C. S., Waksal S. D.: Nutrition, Host Defenses, and the Lymphoid System, w: Advances in Host Defense Mechanisms, red. J. I. Gallin, A. S. Fauci, Raven Press, New York 1983, t. 2, s. 275.
13. Kobayashi G. S., Medoff G.: Chemotherapy of Fungi, w: Medical Microbiology, red. S. Baron, Addison-Wesley Pub. Comp., IMC., Health Sciences Div., Menlo Park, California 1986.
14. Koller L. D., Eron J. H.: Can. J. Vet. Res. 50, 297, 1986.
15. Miller E. R.: J. Animal. Sci. 69, 1599, 1985.
16. Minakowski W.: Biochemia kręgowców, PWN, Warszawa 1981.
17. Nakane A.: TNF in Listeriosis, w: Tumor Necrosis Factors — The Molecules and Their Emerging Role in Medicine, red. B. Beutler, Raven Press, New York 1992, s. 285.
18. Podlewski J. K., Chwałibogowska-Podlowska A.: Leki współczesnej terapii — preparaty roślinne. Fund. Buchnera, Warszawa 1992.
19. Rzedzicki J., Kowalska M.: Medycyna Wet. 48, (6), 249, 1992.
20. Scholz R. W., Hutchinson L. J.: Am. J. Vet. Res. 40, 245, 1979.
21. Sheffy B. E., Schultz R. D.: Fed Proceedings 38, 2139, 1979.
22. Spalholz J. E., Martin J. L., Gerlach M. L., Heinzerling R. H.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 143, 685, 1973.
23. Spalholz J. E., Martin J. L., Gerlach M. L., Heinzerling R. H.: Infect. Immun. 3, 341, 1973.
24. Tengerdy R. P., Heinzerling R. H., Nockles C. F.: Infect. Immun. 5, 987, 1972.
25. Tengerdy R. D., Heinzerling R. H., Brown G., Mathisa M. M.: Int. Arch. Allergy 44, 221, 1973.
26. Trzebiatowski W.: Chemia nieorganiczna, PWN, Warszawa 1978.
27. Van Vleet J. F.: Am. J. Vet. Res. 42, 789, 1981.

Adres autora: prof. dr hab. Antoni Furowicz, ul. Monte Cassino 16/2, 70-466 Szczecin