

BARBARA NAGÓRNA-STASIAK, JERZY LECHOWSKI, MARTA KOWALCZYK

# Wpływ witaminy E na syntezę kwasu askorbowego u kurcząt

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

## Summary

### The effect of Vitamin E on ascorbic acid synthesis in chickens

The effect of vitamin E on ascorbic acid synthesis in chicken tissue was examined. The content of vitamin E was determined by the Roe-Kuether method, the activity of L-gulono- $\gamma$ -oxidase active in the terminal phase of vitamin C synthesis by the Chatterjee method.

A significant increase of the vitamin C level, from 203.5 mg/kg to 272.8 mg/kg (34%), was noted in the liver; from 55.3 mg/kg to 207.5 mg/kg (275%) in kidneys; from 148.5 mg/kg to 331.4 mg/kg (123%) in the jejunum; from 73.9 mg/kg to 263.9 mg/kg (248%) in the coecum and from 95.7% mg/kg to 171.2 mg/kg (79%) in the pectoral muscle. The activity of L-gulono- $\gamma$ -oxidase also increased in all tissues; from 6.0% to 33% (107.0 U/g protein to 113.9 U/g protein) in pectoral muscles and 29% in livers and jejunums (liver 93.0 to 124.0 U/g protein, jejunum 280.0 to 361.0 U/g protein).

The results obtained suggest a stimulatory role of vitamin E in the synthesis of vitamin C in chickens. The increase of vitamin C synthesis following vitamin E supplementation is due to the alteration of the enzymatic activity of L-gulono- $\gamma$ -oxidase in tissues, the enzyme involved in the formation of ascorbic acid. Since both vitamin C and vitamin E belong to the group of antioxidant vitamins, stimulation of vitamin C synthesis by vitamin E increases antioxidative processes and prevents the detrimental action of free oxygenic radicals in an organism.

Tlen, który jest niezbędny dla życia, może być również czynnikiem niszczącym życie. Na ogół tlen jest w organizmie zredukowany i tworzy nietoksyczną cząsteczkę wody. Proces ten polega na pobraniu przez cząsteczkę tlenu czterech elektronów i przebiega w mitochondriach komórkowych z udziałem enzymów łańcucha pokarmowego (15). Niewielka część tlenu nie jest zredukowana całkowicie z powodu pobrania mniejszej liczby elektronów i w takich przypadkach powstają aktywne postacie tlenu nazywane rodnikami tlenowymi (wolne rodniki są to atomy, grupy atomów lub cząsteczki posiadające na ostatnim orbitalu nieparzysty elektron) (2, 16, 39). W żywych organizmach wolne rodniki powstają w czasie przemian biochemicznych np.: w czasie samoutleniania takich związków jak chinony. Innym

źródłem wolnych rodników mogą być substancje szkodliwe dla zdrowia, jak spaliny, dym tytoniowy czy promieniowanie jonizujące. Reakcje zapoczątkowane w organizmie przez wolne rodniki działają na lipidy i powodują powstawanie rodników kwasów tłuszczowych i nadtlenków lipidów, które przyczyniają się do powstawania miażdżycy i nowotworów (5, 23, 39). Powstawaniu wolnych rodników zapobiegają między innymi witaminy antyoksydacyjne, to znaczy witamina E i witamina C, rzutując na stopień zaawansowania takich chorób jak miażdżycza naczyń, nadciśnienie tętnicze, czy nowotwory (10, 12, 18, 24, 32, 34). Wolne rodniki tlenowe pod wpływem witamin antyoksydacyjnych są przekształcane w związki o niewielkiej toksyczności lub pozbawione toksyczności dla ustroju (4, 11, 19, 21, 25, 33, 37, 38, 39).

Witaminy E i C, oprócz właściwości antyoksydacyjnych podnoszą odporność organizmu na zakażenia wirusowe i bakteryjne (1, 6, 11, 14, 34, 35, 36, 38). Kwas askorbowy pobudza aktywność makrofagów, monocytów, granulocytów, przemianę limfocytów oraz tworzenie się immunoglobulin IgB, IgM. Uczestniczy też w syntezie interferonu zwalczającego zakażenia wirusowe (34). Witamina E również powoduje wzrost odpowiedzi immunologicznej u zwierząt, poprzez podniesienie aktywności fagocytarnej układu siateczkowo-śródbłonkowego, wzrost liczby limfocytów T i B oraz wzrost aktywności makrofagów (6, 31, 36).

Obserwacje szeregu autorów odnośnie do wpływu witaminy E na poziom kwasu askorbowego w ustroju były przeprowadzane na świnkach morskich, które nie posiadają zdolności syntezy witaminy C. Wykazano, że witamina E u tych zwierząt zatrzymuje w ustroju większą ilość witaminy C pochodzącej z paszy. U szczurów zaś wykazano wzmożony metabolizm kwasu askorbowego po podaniu  $\alpha$ -tokoferolu (3, 8, 9, 13, 16, 17). Brak jest jednak badań nad tym zagadnieniem u zwierząt gospodarskich.

Najważniejszym enzymem biorącym udział w syntezie witaminy C z glukozy jest enzym zawarty w mikrosomach – L-gulono- $\gamma$ -oksydaza. Wzrost aktywności tego enzymu w tkankach, świadczy o wzmożonej syntezie kwasu askorbowego. Enzym ten bierze udział w końcowej fazie syntezy witaminy C, która przekształca L-gulono- $\gamma$ -lakton w kwas L-askorbowy (7, 20).

Celem pracy było wyjaśnienie, czy witamina E wpływa na syntezę witaminy C u zwierząt, które ją syntetyzują np.: u kurcząt, oraz częściowe choćby poznanie mechanizmu tego działania.

### Materiał i metody

Badania wykonano na 24 kurczętach brojlerach w wieku 8 tygodni i początkowej masie ciała 1,92 kg. Kurczęta żywione były mieszanką DKA-finisher. W paszy brak było witaminy C, zawierała natomiast witaminę E w ilości 15 mg/kg mieszanki.

W celu określenia wpływu witaminy E na syntezę witaminy C u kurcząt, podzielono je na dwie grupy: grupa kontrolna (K) – 12 kurcząt, otrzymywała z paszą 1,5 mg witaminy E dziennie (10 dkg paszy); grupa doświadczalna (D) – 12 kurcząt, otrzymywała codziennie przez 30 dni, oprócz witaminy E zawartej w paszy, sondą doprzetykowo 34 mg witaminy E w postaci DL- $\alpha$ -octanu tokoferolu. Po 30 dniach kurczęta poddano ubojowi (masa ciała 3,52 kg) celem pobrania tkanek: nerek, wątroby, jelita czczego, jelit ślepych i mięśni piersiowych. W tkankach oznaczano poziom witaminy C (kwasu askorbowego) metodą Roe-Kuethera (29, 30) oraz aktywność L-gulono- $\gamma$ -oksydazy metodą Chatterjee (7).

Aktywność enzymu wyrażano w jednostkach enzymatycznych U/g białka (jednostka enzymatyczna U – ilość enzymu syntetyzująca 1  $\mu$ mol witaminy C w ciągu 1 godziny). W doświadczeniach stosowano DL- $\alpha$ -Tocopheryl acetate, Fluka, oraz L-gulono- $\gamma$ -lakton c.c.z. 178,1, Sigma. Wyniki badań poddano analizie statystycznej posługując się testem t-Studenta.

### Wyniki i omówienie

Witamina E podawana kurczętom nie otrzymującym witaminy C, a której jedynym źródłem była własna synteza, spowodowała znaczny wzrost po-

ziomu kwasu askorbowego w badanych tkankach. Najwyższy wzrost witaminy C, o 275% w stosunku do grupy kontrolnej, wystąpił w nerkach i ścianie jelita ślepego (wzrost o 248%). W ścianie jelita czczego poziom witaminy C wzrósł o 123%. Nieco niższy wzrost kwasu askorbowego wykazano w mięśniach piersiowych (79%) oraz w wątrobie (34%) (tab. 1).

Jak wykazały wyniki badań aktywność enzymu L-gulono- $\gamma$ -oksydazy w grupie doświadczalnej otrzymującej witaminę E przez 30 dni wzrosła we wszystkich badanych tkankach od 6% do 33%. Najwyższy wzrost aktywności wystąpił w wątrobie i ścianie jelita ślepego (tab. 2).

Po podaniu kurczętom witaminy E w grupie doświadczalnej zaobserwowano wzmożoną syntezę witaminy C w tkankach. Dowodem popierającym ten fakt, jest nie tylko istotny wzrost poziomu kwasu askorbowego w czasie, gdy pasza kurcząt nie zawierała tej witaminy, ale również wzrost aktywności L-gulono- $\gamma$ -oksydazy. Efekt wzmożonej syntezy witaminy C z jednoczesnym wzrostem aktywności L-gulono- $\gamma$ -oksydazy zaobserwowano już wcześniej w przypadku podawania kurczętom glukozy, cynku, żelaza czy też biotyny (22, 26, 27, 28). Po podaniu witaminy E największy wzrost syntezy witaminy C wykazano w nerkach, podobnie jak to zaobserwowano po podaniu glukozy czy żelaza (26, 27). Aktywność L-gulono- $\gamma$ -oksydazy po podaniu witaminy E najwyraźniej wzrastała w wątrobie i ścianie jelita ślepego, podobnie jak w przypadku wzrostu syntezy witaminy C po podaniu biotyny lub żelaza (22, 26). Wzrost syntezy witaminy C w przypadku cynku łączył się natomiast z podniesieniem aktywności L-gulono- $\gamma$ -oksydazy w nerkach i nadnerczach (28).

Tab. 1. Poziom witaminy C (mg/kg) w tkankach kurcząt (n=30;  $\bar{x} \pm s$ )

Grupa	Nerki	%	Wątroba	%	Jelito czcze	%	Jelito ślepe	%	Mięśnie piersiowe	%
K	55,3a $\pm$ 1,90	100	203,5 $\pm$ 9,31	100	148,5a $\pm$ 3,87	100	75,9a $\pm$ 1,82	100	95,7a $\pm$ 2,14	100
D	207,5a $\pm$ 4,26	37,5	272,8 $\pm$ 6,05	134	331,4 $\pm$ 6,08	223	263,9 $\pm$ 5,66	348	171,2 $\pm$ 2,57	179

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

Tab. 2. Aktywność L-gulono- $\gamma$ -oksydazy (U/g białka) w tkankach kurcząt (n=10;  $\bar{x} \pm s$ )

Grupa	Nerki	%	Wątroba	%	Jelito czcze	%	Jelito ślepe	%	Mięśnie piersiowe	%
K	939,0a $\pm$ 3,3	100	93,0a $\pm$ 3,0	100	280,0a $\pm$ 10,1	100	225,0a $\pm$ 9,7	100	107,0a $\pm$ 0,5	100
D	1018,0b $\pm$ 6,0	108	124,0b $\pm$ 2,0	133	361,0b $\pm$ 9,3	129	253,0b $\pm$ 6,6	112	113,0b $\pm$ 4,0	106

Objaśnienie: jak w tab. 1.

Badania odnośnie do wpływu podawania z karmą witamin C i E świnkom morskim, które nie syntetyzują witaminy C, wykazały, że wzrost w diecie witaminy E powodował podniesienie poziomu witaminy C w plazmie krwi mimo, że w pokarmie nie zwiększyła się jej ilość (3, 8, 9, 13, 17). Podobny efekt zaobserwowano u szczurów, które są zdolne do niewielkiej syntezy kwasu askorbowego. Wykazano, że przy diecie bogatej w witaminę E istnieje wzmożony metabolizm kwasu askorbowego (16). U świń morskich witamina C podwyższała poziom witaminy E nie tylko w osoczu, ale również w płucach (3).

Reasumując należy stwierdzić, że podanie witaminy E wpływa istotnie na syntezę witaminy C u kurcząt.

## Wnioski

1. Witamina E powoduje wzrost syntezy witaminy C w tkankach poprzez podniesienie aktywności L-gulonol- $\gamma$ -oksydazy, enzymu biorącego udział w powstawaniu kwasu askorbowego.

2. Witaminy E i C należą do witamin antyoksydacyjnych, dlatego też pobudzanie syntezy witaminy C przez podanie witaminy E wzmaga między innymi procesy antyoksydacyjne i zapobiega szkodliwemu działaniu wolnych rodników tlenowych w ustroju.

## Piśmiennictwo

1. Anderson R.: Vitamin C. J. Counsell. London 249, 115, 1981.
2. Behne D., Walters W.: J. Nutr. 113, 456, 1981.
3. Bendich A., P.D'apolito: J. Nutr. 114, 1588, 1984.
4. Cerutti P.: Science 227, 375, 1985.
5. Conner H., Nabibzedah N., Schorach C.: Carcinogenesis 6, 1675, 1985.
6. Corwin L., Shloss J.: J. Nutr. 110, 916, 1980.
7. Chatterjee I.: Methods Enzymol. 18, 28, 1970.
8. Chen L., Chung M.: J. Nutr. 108, 1616, 1978.
9. Chen L., Barnes K.: Nutr. Rep. Int. 14, 89, 1976.
10. Dion P., Bright-See E., Smith C.: Mutation Res. 27, 102, 1982.
11. Dworski R., Domagała B.: Pol. Arch. Med. wewn. 75, 293, 1986.
12. Herrman J.: Biochim. biophys. Acta. 61, 500, 1977.
13. Hrubá F.: Experientia 38, 1454, 1982.
14. Ismail A., Perro M.: Fed. Proc. 3, 32, 1983. Abs. 252.
15. Jendryczko A., Drózd M.: Wiad. lek. 46, 62, 1993.
16. Kawać-Kobayasi K., Yoshida A.: J. Nutr. 116, 98, 1986.
17. Keith R., Chrisley B.: Am. J. Clin. Nutr. 33, 2394, 1980.
18. Kono K., Hayakawa M.: J. Nutr. Sci. Vitam. 1, 33, 1987.
19. Kryptopoulos S.: Amer. J. Clin. Nutr. 45, 1344, 1987.
20. Levin S.: Vitamin C. Acad. Press London 1976.
21. Leung H., Vang M., Maris R.: Biochim. biophys. Acta 6, 226, 1981.
22. Lechowski J., Nagórna-Stasiak B.: Arch. Vet. Pol. 33, 19, 1993.
23. Leibovitz B., Siegel B.: J. Gerontol. 1, 45, 1980.
24. Menkes M., Comstock G.: New Engl. J. Med. 315, 1220, 1986.
25. Mirrish S.: Ann. Y. Acad. Sci. 175, 258, 1975.
26. Nagórna-Stasiak B., Lechowski J., Łazuga-Adamczyk A.: Arch. Vet. Pol. 34, 99, 1994.
27. Nagórna-Stasiak B., Lechowski J.: Annales UMCS, DD 48, 57, 1993.
28. Nagórna-Stasiak B., Lechowski J., Łazuga-Adamczyk A.: Medycyna Wet. 49, 331, 1993.
29. Roe J., Kuether C.: J. biol. Chem. 147, 399, 1943.
30. Roe J.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 92, 277, 1961.

31. Rzedzicki J., Kowalska M.: Medycyna Wet. 48, 249, 1992.
32. Ramirez J., Flowers N.: Amer. J. Clin. Nutr. 33, 2079, 1980.
33. Sevenian A., Muakassah-Kelly S.: Arch. Biochim. Biophys. 441, 223, 1983.
34. Siegel B., Leiboritz B.: Int. J. Vitam. Nutr. Res., Suppl. 23, Huber, Bern 1982.
35. Tengerdy R., Heinzerling R., Nockles C.: Infect. Immun. 5, 987, 1972.
36. Tengerdy R., Heinzerling R., Brown G., Mathisa M.: Int. Arch. Allergy 44, 221, 1973.
37. Wartanowicz M., Panczenko B., Ziemiański S. i wsp.: Ann. Nutr. Metab. 21, 186, 1984.
38. Wartanowicz M., Ziemiański S.: Żyw. Człow. 19, 3, 1992.
39. Wartanowicz M.: Żyw. Człow. 16, 296, 1989.

Adres autora: prof. dr hab. Barbara Nagórna-Stasiak, ul. Spokojna 8a/24, 20-073 Lublin

MCORIST S., SMITH S. H., SHEARN M. F. H., CARR M. M., MILLER D. J. S.: Leczenie i zapobieganie przerostowej enteropatii u prosiąt przy użyciu tiamuliny stosowanej *per os*. (Treatment and prevention of porcine proliferative enteropathy with oral tiamulin). Vet. Rec. 139, 615-618, 1996 (25)

Przerostowa enteropatia występuje u prosiąt niezależnie od stosowanych metod chowu w postaci ostrej lub chronicznej. U prosiąt w wieku do 16 tygodni chroniczna forma choroby manifestuje się obniżeniem tempa wzrostu i rozwoju. Efekt podawania tiamuliny *per os* w celach profilaktycznych i leczniczych w enteropatii przerostowej przebadano na 20 prosiątach świeżo odsadzonych zakażonych zjadliwym szczepem *Lawsonia intracellularis*. Grupa kontrolna otrzymała *per os* bufor fosforanowy. Siedem prosiąt z grupy zakażonej nie leczono. Wystąpił u nich spadek masy ciała, u 3 prosiąt po 2 tygodniach po zakażeniu pojawiła się biegunka. U wszystkich chorych sztuk stwierdzono enteropatię. Natomiast prosięta którym na 2 dni przed zakażeniem eksperymentalnym podano *per os* tiamulinę (50 ppm) jako dodatek do stabilizowanego premiksu oraz prosięta które otrzymały tiamulinę w dawce 150 ppm po 7 dniach po zakażeniu, nie chorowały i nie wystąpiły u nich zmiany typowe dla przerostowej enteropatii.

G.

COOPER G. L., VENABLES L. M., LEVER M. S.: Zakażenie aerozolowe kurcząt szczepionych *per os* genetycznie określonym szczepem CVL30 *Salmonella enteritidis aro A CLV 30*. (Airborne challenge of chickens vaccinated orally with the genetically-defined *Salmonella aro A CLV 30*). Vet. Rec. 139, 447-448, 1996 (18)

Świeżo wyklute kurczęta rasy Leghorn SPF trzymane w izolatorach i karmione paszą wolną od *Salmonelli* zaszczepiono *per os*  $10^9$  cfu *Salmonella enteritidis aro A CVL 30*. Ptaki szczepione po osiągnięciu wieku 7 tygodni, a nie szczepione w wieku 6 tygodni eksponowano przez 5 minut na aerozol zawierający *S. enteritidis* PT4 oporną na kwas naldyksowy. Z każdej grupy ubijano ptaki natychmiast po zakażeniu oraz po 3 i 6 dniach i posiewano płuca, śledzionę i wątrobę na agar odżywczy z zielenią brylantową i 50  $\mu$ g kwasu naldyksowego/ml. Ponadto 1 ml homogenatu badanych narządów podawano przed posiewem preinkubacji w bulionie z selenianem. Żadne z 10 szczepionych kurcząt nie zachorowało po zakażeniu. Użyty do zakażenia szczep *S. enteritidis* izolowano z płuc 5 ptaków z grupy kontrolnej i 5 z grupy szczepionej 3 dnia po zakażeniu oraz od 3 z 5 z grupy kontrolnej i 4 z 5 z grupy szczepionej 6 dnia po zakażeniu. Trzeciego dnia po zakażeniu *S. enteritidis* izolowano ze śledziony oraz wątroby 1 z 5 ptaków z grupy kontrolnej. Szóstego dnia po zakażeniu *S. enteritidis* izolowano z wątroby i śledziony 2 ptaków z grupy kontrolnej, a nie izolowano od szczepionych ptaków.

G.