

# Wpływ witamin C i E oraz selenu na aktywność leukocytów i status antyoksydacyjny krwi krów w okresie puerperium

HANNA MARKIEWICZ, MAREK GEHRKE, EDWARD MALINOWSKI

Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego  
– Państwowego Instytutu Badawczego, oddział w Bydgoszczy, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Markiewicz H., Gehrke M., Malinowski E.

## Influence of vitamins C and E and selenium injections before parturition on the activity of leucocytes and antioxidative status of blood in cows in the puerperal period

### Summary

The aim of the study was to examine the influence of Se, vitamins E and C injections before parturition (in the recommended doses) on the activity of leucocytes and antioxidative status of blood in cows during the puerperal period. Blood samples from 32 cows constituted the material for laboratory tests. Three weeks before the expected parturition 16 cows were treated with a single injection of 500 mg of vitamin E as tocopherol acetate, and 5 mg of sodium selenite. In addition, the animals were injected intramuscularly with 2.5 g of vitamin C for five consecutive days. The control group consisted of 16 cows that did not receive the above mentioned antioxidants. Blood samples were collected twice before the parturition and in 1, 2 and 4 weeks after it. T lymphocytes subpopulations were evaluated by flow cytometry (FACS Calibur Becton – Dickinson). Total antioxidative status was determined on the basis of TAS, SOD, GSH-Px and CAT activity (using Randox and Oxis test kits). Spontaneous and induced chemiluminescence (CL) of neutrophils in whole blood was measured (Luminometr BioOrbit 1251) using opsonized zymosan (OZ) and phorbol myristate acetate (PMA) as stimulators. The study showed that the primary manner to induce phagocytic activity during the puerperal period is through an extrareceptor mechanism. After parturition the antioxidative defense system is weakened and injections of antioxidative preparations improve the pro-antioxidative balance of the organism. The injected Antioxidants also increased T lymphocytes proliferation. The antioxidative preparations in the applied doses do not stimulate the oxidative burst of the granulocytes. The obtained results suggest that the injection of vitamins C, E and Se in doses recommended by manufacturers should be made in the last week before parturition.

**Keywords:** cows, puerperal period

Okres okołoporodowy u krów, oprócz zmian hormonalnych, cechuje się spadkiem spożycia suchej masy, ujemnym bilansem energetycznym oraz metabolicznymi konsekwencjami tego stanu. Ważnym zjawiskiem jest także zmniejszenie rezerwy antyoksydacyjnej ustroju oraz immunosupresja. Zmiany te predysponują do częstszej zapadalności na choroby zakaźne po wycieleniu oraz opóźnienia involucji macicy (6, 8, 9, 22). Powszechnie zaleca się w okresie przejściowym stosowanie zwiększonych dawek witamin i mikroelementów, aby wyrównać ich straty związane z produkcją siary i mleka, jak też zapewnić równowagę proantyoksydacyjną ustroju. Zasadność stosowania zwiększonych dawek preparatów antyoksydacyjnych w okresie okołoporodowym potwierdzają wyniki obserwacji klinicznych (1, 18).

Przeżuwacze cechują się zdolnością syntezy kwasu askorbinowego i nie jest on istotnym składnikiem dawki pokarmowej. Zwiększone zapotrzebowanie na wit. C w okresie przejściowym uwarunkowane jest utratą tej witaminy z mlekiem, niskim poziomem glukozy w związku z ujemnym bilansem energetycznym, ma też związek ze stresem tlenowym. Jeden kilogram mleka zawiera około 17 mg wit. C (5). Witamina ta syntetyzowana jest w wątrobie z glukozy na drodze przemian kwasu uronowego. Jest ona najsilniejszym antyoksydantem fazy hydrofilowej, o silnych właściwościach redukujących. Oprócz działania antyoksydacyjnego wit. C bierze udział w biosyntezie hormonów steroidowych i peptydowych, a jej najwyższe stężenie występuje w przysadce mózgowej, nadnerczach i gonadach (19). Przypuszcza się, że granulocyty obojęt-

nochlonne (PMN) są głównym nośnikiem witaminy C w organizmie. Stymulacja PMN wpływa na duży pobór kwasu askorbinowego przez te komórki. Podczas aktywacji neutrofilów zewnątrzkomórkowa witamina C utleniana jest do kwasu dehydroaskorbinowego, który preferencyjnie transportowany jest do komórki, gdzie ulega redukcji do kwasu askorbinowego (28).

Metabolizm kwasu askorbinowego u bydła jest bardzo szybki. Stwierdzono, że po dożylnym podaniu 300 g askorbinianu sodowego najwyższe stężenie obserwowano po 10 min., a powrót do poziomu przed infuzją nastąpił po 5 godzinach (17). Również po doustnej suplementacji, w dawce 40 g/dzień przez 5 dni, widoczny był wzrost koncentracji wit. C w krwi, a maksymalną wartość zmierzono w 30 godzinie trwania doświadczenia. U krów z ostrą postacią *coli-mastitis* obserwowano obniżenie stężenia wit. C spowodowane zarówno zmniejszeniem syntezy kw. askorbinowego, jak i wzrostem wychwytu tego kwasu przez komórki (30). Kwas askorbinowy bierze także udział w regeneracji wit. E. Askorbinian redukuje rodnik  $\alpha$ -tokoferolowy, „odnawiając” wit. E, przy czym sam tworzy rodnik askorbylowy, ulegający dalszej redukcji do kwasu dehydroaskorbinowego. Przy udziale glutationu reduktaza dehydroaskorbinianowa odtwarza pierwotną formę wit. C. Nie stwierdzono jednak korelacji między stężeniem witaminy E i C w osoczu (29). Działanie witaminy C i E ma charakter synergistyczny. Należą one do grupy antyoksydantów przerywających łańcuch reakcji wolnorodnikowych przez bezpośrednią reakcję z wolnymi rodnikami. Wpływają też na odpowiedź immunologiczną (22).

Witamina E jest najsilniejszym antyoksydantem fazy hydrofobowej. Wraz z selenem jest integralnym składnikiem systemu antyoksydacyjnego komórek. W okresie okołoporodowym obserwuje się spadek poziomu witaminy E i Se. Jest on nie tylko związany z utratą wit. E z mlekiem, gdyż u krów poddanych mastektomii obserwowano obniżenie stężenia wit. E i  $\beta$ -karotenu (7). Sugeruje to, że gruczoł mlekowy nie jest jedynym czynnikiem determinującym stężenie tych składników. Można przypuszczać, że obserwowane zjawisko związane jest ze zmniejszeniem rezerwy antyoksydacyjnej organizmu w okresie okołoporodowym na skutek stresu tlenowego (4). Witamina E działa stabilizująco na błony komórkowe leukocytów. Narażone są one w większym stopniu na procesy peroksydacyjne, gdyż ich błony komórkowe zawierają więcej nienasyconych kwasów tłuszczowych w porównaniu do innych komórek. Witamina ta wzmaga także blastogenną odpowiedź zarówno limfocytów T, jak i B (1).

Celem badań była ocena wpływu iniekcji selenu, wit. E i C przed porodem (w dawkach zalecanych przez producentów) na aktywność leukocytów i status antyoksydacyjny krwi krów w okresie przejściowym.

## Materiał i metody

Badania przeprowadzono w okresie jesienno-zimowym w 2 gospodarstwach. Żywnienie oparte było na kiszonce z kukurydzy, sianokiszonce oraz paszy treściwej przygotowywanych w gospodarstwach (całoroczna monodieta). Średnia wydajność wynosiła 7200 kg mleka za 305 dni laktacji. Materiałem do badań laboratoryjnych była krew od 32 krów (po 16 z każdego gospodarstwa). Na 3 tygodnie przed spodziewanym porodem po 8 krów w każdym gospodarstwie otrzymało jednorazową iniekcję 500 mg wit. E w postaci octanu tokoferolu i 5 mg seleninu sodu. Oprócz tego przez 5 kolejnych dni zwierzętom aplikowano domięśniowo po 2,5 g wit. C. Grupę kontrolną dla nich stanowiło po 8 krów, które nie otrzymywały ww. preparatów.

Krew pobrano dwukrotnie przed porodem (-3./-2. i -1. tydzień) oraz w 1., 2. i 4. tygodniu po porodzie. Wskaźniki hematologiczne oznaczono przy użyciu analizatora Sysmex F800. Oceniono skład odsetkowy subpopulacji limfocytów T (CD2, CD4, CD8) metodą cytometrii przepływowej (FACS Calibur firmy Becton – Dickinson) przy użyciu przeciwciał monoklonalnych firmy Serotec. Jako kontroli izotopowej użyto mysich przeciwciał IgG1 (Sigma). Ogólnoustrojową równowagę antyoksydacyjną oceniono na podstawie całkowitego stanu antyoksydacyjnego (TAS) surowicy, aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w erytrocytach, peroksydazy glutationowej (GSH-Px) i katalazy (CAT) w pełnej krwi (zestawy Randox i Oxis). Dokonano też pomiarów luminolozależnej chemiluminescencji (CL) spontanicznej i indukowanej neutrofilów w pełnej krwi (Luminometr BioOrbit 1251), jako markera metabolizmu tlenowego tych komórek. Pomiaru prowadzono metodą kinetyczną przez 40 minut w temp. 38°C, dokonując pomiaru CL w odstępach 5-minutowych. Uzyskane wyniki przedstawiono jako „integrate”, czyli pole powierzchni pod krzywą chemiluminescencji w badanym przedziale czasowym wyrażające całkowitą ilość światła wyemitowaną przez komórkę w tym czasie (mV). Jako stymulatorów CL użyto opsonizowany zymosan (OZ) i octan mirystynianu forbolu (PMA).

Do weryfikacji statystycznej danych zastosowano test t-Studenta i analizę wariancji z programu Statistica.

## Wyniki i omówienie

Nie stwierdzono różnic w parametrach hematologicznych między grupą kontrolną i doświadczalną. Najniższy poziom CL spontanicznej i indukowanej, zarówno drogą receptorową, jak i pozareceptorową, odnotowano w pierwszym tygodniu po porodzie (tab. 1). W 4. tygodniu laktacji zaobserwowano wzrost poziomu CL do wartości wyjściowej, tj. stanu z -3./-2. tygodnia przed porodem zarówno w grupie doświadczalnej, jak i kontrolnej. Spadek CL spontanicznej w 1. tygodniu po porodzie, zarówno w grupie doświadczalnej, jak i kontrolnej, był statystycznie istotny. Podanie zestawu preparatów antyoksydacyjnych nie wpłynęło na wielkość wybuchu tlenowego granulocytów w kolejnych tygodniach (tab. 1). Stwierdzono też, że PMN lepiej odpowiadały na stymulację PMA, niezależnie od podania antyoksydantów, a różnice były

istotne. Wskazuje to, że droga pozareceptorowa jest główną drogą pobudzenia PMN w okresie okołoporodowym. Należy podkreślić, że każda krowa cechowała się indywidualnym poziomem aktywności PMN, co wskazuje na dużą zmienność osobniczą. Aktywność PMN zależy także od wieku i fazy laktacji (21). U zwierząt cechujących się deficytem wit. E i Se zmniejszony jest metabolizm kwasu arachidonowego. Metabolit tego

kwasu, leukotrien B<sub>4</sub>, produkowany przez PMN i makrofagi, jest istotny dla odpowiedzi komórki na czynnik zapalny. Stąd też u zwierząt z deficytem wit. E i Se dochodzi do osłabienia funkcji PMN. Względny deficyt antyoksydantów może przyczynić się także do osłabienia kurczliwości macicy. U krów otrzymujących na 10 i 5 dni przed porodem iniekcje 3000 IU witaminy E obserwowano wyższy wskaźnik wewnątrzkomórkowego zabijania bakterii w czasie porodu w porównaniu do krów otrzymujących *placebo*. Nie stwierdzono różnic w wielkości indeksu fagocytarnego i procencie neutrofilów fagocytujących (10). W innym eksperymencie krowy otrzymywały 500 mg wit. E (680 IU) i 50 mg Se na 21 dni przed porodem oraz w 30. i 80. dniu po porodzie. Zastosowanie ww. dawki nie spowodowało zmian w stężeniu wit. E w osoczu, nie odnotowano również korzystnego wpływu na wskaźniki rozrodu w okresie poporodowym (26).

Subpopulacje limfocytów T przedstawiono w tab. 2. Wynika z niej, że grupa doświadczalna cechowała się istotnie wyższym odsetkiem limfocytów CD2, CD4 przed porodem. W 1. tygodniu po porodzie odsetek limfocytów CD2, CD4 i CD8 był podobny w obu grupach, natomiast w 2. tygodniu laktacji krowy doświadczalne cechowały się niższym odsetkiem limfocytów CD4. W 4. tygodniu laktacji nastąpił ponowny wzrost odsetka limfocytów CD2, CD4. Zmniejszenie populacji limfocytów T (CD2, CD4, CD8) w okresie okołoporodowym może wiązać się z immunosupresją obserwowaną w tym czasie. Najmniejszy procentowy udział ww. komórek w krwi obwodowej obserwuje się w pierwszym dniu po porodzie (12). Zmiany subpo-

**Tab. 1. Chemiluminescencja granulocytów krwi krów kontrolnych i doświadczalnych (średnia ± SD)**

| Tygodnie | Grupa kontrolna (mV)     |             |               | Grupa doświadczalna (mV) |             |              |
|----------|--------------------------|-------------|---------------|--------------------------|-------------|--------------|
|          | BS                       | OZ          | PMA           | BS                       | OZ          | PMA          |
| -3/-2    | 4661 <sup>a</sup> ± 2543 | 5962 ± 1269 | 8168* ± 2819  | 4757 <sup>a</sup> ± 2336 | 5456 ± 1201 | 7983* ± 3760 |
| -1       | 3505 ± 1601              | 6111 ± 2580 | 8823* ± 6715  | 3789 ± 2539              | 6285 ± 1444 | 7048* ± 4897 |
| +1       | 2634 <sup>b</sup> ± 2693 | 4554 ± 1736 | 6462* ± 5684  | 2871 <sup>b</sup> ± 2495 | 4709 ± 1699 | 6437* ± 2311 |
| +2       | 3294 ± 1684              | 4847 ± 2976 | 7159* ± 6590  | 3626 ± 2109              | 4116 ± 1543 | 8118* ± 4771 |
| +4       | 4464 <sup>a</sup> ± 2569 | 4771 ± 2838 | 10611* ± 5419 | 5567 <sup>a</sup> ± 2764 | 5317 ± 3083 | 9419* ± 5680 |

Objaśnienie: BS – bez stymulacji, OZ – opsonizowany zymosan, PMA – octan forbolu; \* a, b – różnice istotne dla  $p < 0,05$

populacji limfocytów T w cyklu badań nie były statystycznie istotne, przypuszczalnie ze względu na tygodniowe przedziały czasowe pobierania próbek. Immunosupresja w okresie okołoporodowym związana jest zarówno z osłabieniem zdolności bakteriobójczych neutrofilów, jak i słabszą odpowiedzią limfocytów na stymulację mitogenami. Główna rola limfocytów T związana jest z rozpoznaniem specyficznych antygenów i działaniem jako komórki efektorowe oraz regulacją intensywności odpowiedzi immunologicznej. Uzyskane wyniki są podobne do danych z piśmiennictwa (15, 25). Po porodzie obserwuje się wzrost komórek CD4 w porównaniu do ostatniego tygodnia przed porodem. Limfocyty T pomocnicze są aktywatorem zarówno humoralnej, jak i komórkowej odpowiedzi układu immunologicznego. Niższy odsetek populacji CD4 w grupie doświadczalnej, w 2. tygodniu laktacji może być skutkiem wcześniejszej stymulacji układu immunologicznego. Limfocyty CD4 są zdolne do indukcji mobilizacji neutrofilów w sposób antygenowo swoisty. W grupie doświadczalnej, przed porodem, indeks CD4/CD8 był wyższy niż 2, natomiast w grupie kontrolnej w tym samym czasie wynosił 1,64 i 1,62. Po porodzie ww. indeks był podobny w obu grupach. Najniższą wartość CD4/CD8 obserwowano w grupie kontrolnej w tygodniu poprzedzającym poród. Można przyjąć, że indeks ten jest wskaźnikiem immunosupresji typowej dla okresu przejściowego. Nie wszyscy uważają go jednak za wartościowy wskaźnik, gdyż zmniejszenie liczebności subpopulacji limfocytów T nie jest równoznaczne z obniżeniem ich funkcji. Zwraca się uwagę, że wahania dotyczące

**Tab. 2. Subpopulacje limfocytów T w krwi krów kontrolnych i doświadczalnych (średnia ± SD)**

| Tygodnie | Grupa kontrolna |               |              |         | Grupa doświadczalna |               |              |         |
|----------|-----------------|---------------|--------------|---------|---------------------|---------------|--------------|---------|
|          | CD2 %           | CD4 %         | CD8 %        | CD4/CD8 | CD2 %               | CD4 %         | CD8 %        | CD4/CD8 |
| -3/-2    | 52,03 ± 8,95    | 30,53 ± 8,74  | 18,62 ± 5,68 | 1,64    | 60,55* ± 6,87       | 39,16* ± 6,44 | 18,24 ± 5,21 | 2,15    |
| -1       | 47,60 ± 15,63   | 26,71 ± 7,76  | 16,50 ± 7,23 | 1,62    | 56,73 ± 8,91        | 36,33* ± 8,18 | 16,78 ± 5,82 | 2,16    |
| +1       | 53,82 ± 10,99   | 33,30 ± 9,64  | 16,95 ± 3,60 | 1,96    | 58,29 ± 12,45       | 33,82 ± 12,43 | 18,93 ± 4,09 | 1,79    |
| +2       | 57,99 ± 12,53   | 35,04 ± 5,33  | 22,91 ± 8,51 | 1,46    | 53,32 ± 6,66        | 28,79* ± 5,37 | 18,53 ± 5,83 | 1,55    |
| +4       | 58,87 ± 9,21    | 30,57 ± 11,86 | 23,39 ± 7,92 | 1,31    | 56,23 ± 5,38        | 31,89 ± 8,51  | 20,69 ± 4,47 | 1,54    |

Objaśnienie: \* jak w tab. 1

Tab. 3. Stan antyoksydacyjny krwi krów kontrolnych i doświadczalnych (średnia  $\pm$  SD)

| Tygodnie | Grupa kontrolna   |                |               |                             | Grupa doświadczalna |               |                |                 |
|----------|-------------------|----------------|---------------|-----------------------------|---------------------|---------------|----------------|-----------------|
|          | TAS<br>mmol/l     | SOD<br>U/ml    | GPX<br>U/g Hb | KAT<br>U/mg Hb              | TAS<br>mmol/l       | SOD<br>U/ml   | GPX<br>U/g Hb  | KAT<br>U/mg Hb  |
| -3/-2    | 0,246 $\pm$ 0,199 | 404 $\pm$ 48,6 | 641 $\pm$ 981 | 485 $\pm$ 56                | 0,230 $\pm$ 0,184   | 449* $\pm$ 68 | 667 $\pm$ 134  | 458 $\pm$ 51,0  |
| -1       | 0,213 $\pm$ 0,187 | 436 $\pm$ 40,1 | 618 $\pm$ 181 | 439 <sup>a</sup> $\pm$ 82   | 0,235 $\pm$ 0,103   | 446 $\pm$ 52  | 735 $\pm$ 269  | 448 $\pm$ 110,5 |
| +1       | 0,208 $\pm$ 0,107 | 425 $\pm$ 29,4 | 619 $\pm$ 131 | 478 $\pm$ 44                | 0,242 $\pm$ 0,150   | 443 $\pm$ 17  | 699 $\pm$ 230  | 470 $\pm$ 115,0 |
| +2       | 0,202 $\pm$ 0,180 | 390 $\pm$ 53,8 | 540 $\pm$ 127 | 476 $\pm$ 102               | 0,238 $\pm$ 0,130   | 454* $\pm$ 33 | 534 $\pm$ 97   | 492 $\pm$ 92,0  |
| +4       | 0,224 $\pm$ 0,178 | 410 $\pm$ 63,2 | 580 $\pm$ 106 | 528 <sup>b</sup> $\pm$ 76,1 | 0,337* $\pm$ 0,158  | 455 $\pm$ 47  | 381* $\pm$ 118 | 439* $\pm$ 75,3 |

Objaśnienie: \* jak w tab. 1.

subpopulacji limfocytów T w okresie okołoporodowym są bardziej rezultatem rozpoczęcia laktacji i stresu metabolicznego z tym związanego, a także porodu niż zaburzeń stanu zdrowia (13, 24, 27). Funkcja limfocytów w tym okresie jest determinowana także kondycją krów. U krów nadmiernie otluszczonych, cechujących się większą mobilizacją tkanki tłuszczowej i wysokim poziomem wolnych kwasów tłuszczowych, obserwuje się zmniejszenie syntezy IgM i IFN- $\gamma$  oraz mniejszą zdolność do proliferacji limfocytów w porównaniu do krów o średniej kondycji i chudych (16).

Status antyoksydacyjny krwi krów przedstawia tab. 3. W grupie kontrolnej widoczna była tendencja do spadku całkowitej pojemności antyoksydacyjnej surowicy (TAS), począwszy od ostatniego tygodnia przed porodem, która utrzymywała się w 1. i 2. tygodniu laktacji. Zmniejszenie rezerwy antyoksydacyjnej surowicy jest typowe dla okresu okołoporodowego (20). Obniżenia wartości TAS nie obserwowano w grupie suplementowanej witaminami C i E oraz selenem. Utrzymywała się ona na stałym poziomie w całym cyklu badań. W 4. tygodniu laktacji grupa doświadczalna cechowała się istotnie wyższym poziomem całkowitej pojemności antyoksydacyjnej. Grupa otrzymująca preparaty antyoksydacyjne cechowała się istotnie wyższą wartością SOD w -3/-2 tygodniu przed porodem oraz w 2. tygodniu po porodzie. W grupie tej nie obserwowano po wycieleniu spadku aktywności dysmutazy ponadtlenkowej. Wyższa była również średnia wartość GSH-Px przed porodem i w pierwszym tygodniu po porodzie. Nie były to jednak różnice istotne. W 4. tygodniu po porodzie grupa doświadczalna cechowała się istotnie niższą wartością GSH-Px i CAT.

Trudno jest wytłumaczyć, dlaczego aktywność SOD i GSH-Px była wyższa w grupie doświadczalnej. Z danych piśmiennictwa wynika, że wzrost aktywności tych enzymów jest wynikiem wyczerpywania się rezerw antyoksydacyjnych organizmu na skutek stresu np. cieplnego (3). Nie zanotowano jednak różnic w aktywności SOD przed i po porodzie w grupie doświadczalnej, w przeciwieństwie do grupy kontrolnej, w której po porodzie widoczna była tendencja do spadku aktywności tego enzymu. Obniżenie po porodzie ak-

tywności SOD, która jest Cu/Zn zależna, może być związane ze spadkiem zawartości miedzi i cynku w tkance wątrobowej w tym okresie (23). Istotne obniżenie aktywności SOD po porodzie obserwowano także u krów cechujących się wydajnością powyżej 9000 kg mleka (2). Można przypuszczać, że wykazany wzrost, w porównaniu do grupy kontrolnej, świadczy o lepszych możliwościach adaptacyjnych. Wskazuje to, że ilość selenu, która determinuje aktywność GSH-Px, dostarczana w dawce pokarmowej pokrywała podstawowe zapotrzebowanie. Aktywność GSH-Px jest bowiem istotnie skorelowana ze stężeniem selenu w tkankach (11). Istotną dynamikę aktywności tego enzymu w okresie okołoporodowym wykazano w lizacie erytrocytów i plazmie. Wzrostowi aktywności w plazmie towarzyszył spadek w lizacie (2). W badaniach własnych poziom katalazy był zbliżony w obu grupach. Aktywność enzymów antyoksydacyjnych uwarunkowana jest także dostępnością mikroelementów w dawce pokarmowej (14).

Oslabienie obrony antyoksydacyjnej począwszy od ostatniego tygodnia przed porodem może wiązać się, oprócz stresu tlenowego, z przemieszczeniem się antyoksydantów fazy hydrofobowej do siary i mleka. Stan równowagi wraca w 4. tygodniu laktacji. Z piśmiennictwa wynika, że osłabienie obrony antyoksydacyjnej obejmuje ostatni tydzień ciąży i pierwszy tydzień laktacji (2, 4, 6). Różnica ta może być konsekwencją innej krzywej laktacji badanych krów, innej wydajności i wieku oraz przede wszystkim różnej ilości witamin i mikroelementów dostarczanych w dawce pokarmowej.

Z przeprowadzonych badań wynika, że główną drogą pobudzenia aktywności fagocytarnej w okresie okołoporodowym jest droga pozareceptorowa. Po porodzie dochodzi do osłabienia obrony antyoksydacyjnej, a iniekcja preparatów antyoksydacyjnych poprawia równowagę pro-antyoksydacyjną ustroju. Wpływa także na zwiększenie proliferacji limfocytów T. Preparaty antyoksydacyjne w zastosowanych dawkach nie stymulują wybuchu tlenowego granulocytów. Uzyskane wyniki sugerują, że podanie użytych w doświadczeniu preparatów antyoksydacyjnych powinno mieć miejsce w ostatnim tygodniu przed porodem.

## Piśmiennictwo

1. Allison R. D., Laven R. A.: Effect of vitamin E supplementation on the health and fertility of dairy cows: a review. *Vet. Rec.* 2000, 147, 703-708.
2. Bernabucci U., Ronchi B., Lacetera N., Nardone A.: Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 2017-2026.
3. Bernabucci U., Ronchi B., Lacetera N., Nardone A.: Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 2173-2179.
4. Brzezinska-Slebodzinska E., Miller J. K., Quigley J. D., Moore J. R.: Antioxidant status of dairy cows supplemented prepartum with vitamin E and selenium. *J. Dairy Sci.* 1994, 77, 3087-3095.
5. Bostedt H., Max A., Gajewski Z.: Wpływ żywienia na płodność krów mlecznych. Nowa Weterynaria 1997, III Polsko-Niemieckie Sympozjum Fizjologia i Patologia Rozrodu Zwierząt „Problemy rozrodu bydła”, s. 14-18.
6. Castillo C., Hernandez J., Bravo A., Lopez-Alonso M., Pereira V., Benedito J. L.: Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *Veterinary J.* 2005, 169, 286-292.
7. Goff J. P., Kimura K., Horst R. L.: Effect of mastectomy on milk fever, energy, and vitamins A, E, and  $\beta$ -carotene status at parturition. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 1427-1436.
8. Hajurka J., Macák V., Hura V.: Influence of health status of reproductive organs on uterine involution in dairy cows. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2005, 49, 53-58.
9. Hajurka J., Macák V., Hura V.: Uterine and ovarian factors influencing involution of the uterus in cows. Achievements and Prospects of Ruminants Medicine, Monograph, Puławy 2005, 325-327.
10. Hogan J. S., Weiss W. P., Todhunter D. A., Smith K. L., Schoenberger P. S.: Bovine neutrophil responses to parenteral vitamin E. *J. Dairy Sci.* 1992, 75, 399-405.
11. Jukola E., Hakkarainen J., Saloniemä H., Sankami S.: Blood selenium, vitamin E, vitamin A, and  $\beta$ -carotene concentrations and udder health, fertility treatments, and fertility. *J. Dairy Sci.* 1996, 79, 838-845.
12. Kimura K., Goff J. P., Kehrli M. E., Harp J. A.: Phenotype analysis of peripheral blood mononuclear cells in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1999, 82, 315-319.
13. Kimura K., Goff J. P., Kehrli M. E., Harp J. A., Nonnecke B. J.: Effects of mastectomy on composition of peripheral blood mononuclear cell populations in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 1437-1444.
14. Kleczkowski M., Kluciński W., Sikora J., Zdanowicz M.: Role of antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle – trace elements and enzymatic mechanisms. *Polish J. Vet. Sci.* 2004, 7, 233-240.
15. Krakowski L., Wrona Z., Kostro K., Krakowska I., Kostrzewa A., Piech T., Brodzki P.: Ocena subpopulacji limfocytów TCD4<sup>+</sup> i TCD8<sup>+</sup> oraz aktywności fagocytarnej neutrofilów i monocytów w krwi obwodowej krów i jałówek w okresie okołoporodowym. *Medycyna Wet.* 2004, 60, 415-419.
16. Lacetera N., Scalia D., Bernabucci U., Ronchi B., Pirazzi D., Nardone A.: Lymphocyte functions in overconditioned cows around parturition. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 2010-2016.
17. LeBlanc S. J., Herdt T. H., Seymour W. M., Duffield T. F., Leslie K. E.: Peripartum serum vitamin E, retinol, and beta-carotene in dairy cattle and their associations with disease. *J. Dairy Sci.* 2004, 87, 609-619.
18. Liu L., Scheffer K. K., Shuefa D. M.: Jugular infusion of vitamin C and color stability of beef. *J. Anim. Sci.* 1994, 72, 372 (abstr.).
19. Luck M. R., Jeyaseelan I., Scholes R. A.: Ascorbic acid and fertility. *Biol. Reprod.* 1995, 52, 262-266.
20. Markiewicz H., Gehrke M., Malinowski E., Kaczmarowski M.: Ocena potencjału antyoksydacyjnego krwi krów w okresie okołoporodowym. *Medycyna Wet.* 2005, 61, 1382-1384.
21. Mehrzad J., Duchateau L., Pyörälä S., Burvenich C.: Blood and milk neutrophil chemiluminescence and viability in primiparous and pluriparous dairy cows during late pregnancy, around parturition and early lactation. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 3268-3276.
22. Miller J. K., Brzezinska-Slebodzinska E., Madsen F. C.: Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *J. Dairy Sci.* 1993, 76, 2812-2823.
23. Muehlenbein E. L., Brink D. R., Deutscher G. H., Carlson M. P., Johnson A. B.: Effects of inorganic and organic copper supplemented to first-calf cows on cow reproduction and calf health and performance. *J. Anim. Sci.* 2001, 79, 1650-1659.
24. Nonnecke B. J., Kimura K., Goff J. P., Kehrli M. E.: Effects of the mammary gland on functional capacities of blood mononuclear leukocyte populations from periparturient cows. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 2359-2368.
25. Park Y. H., Fox L. K., Hamilton M. J., Davis W. C.: Bovine mononuclear leukocyte subpopulations in peripheral blood and mammary gland secretions during lactation. *J. Dairy Sci.* 1992, 75, 998-1006.
26. Paula-Lopes F. F., Al-Katanani Y. M., Majewski A. C., McDowell L. R., Hansen P. J.: Manipulation of antioxidant status fails to improve fertility of lactating cows or survival of heat-shocked embryos. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 2343-2351.
27. Van Kampen C., Mallard B. A.: Effects of peripartum stress and health on circulating bovine lymphocyte subsets. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1997, 59, 79-91.
28. Washko P. W., Wang Y., Levine M.: Ascorbic acid recycling in human neutrophils. *J. Biol. Chem.* 1993, 268, 15531-15535.
29. Weiss W. P.: Effect of dietary vitamin C on concentrations of ascorbic acid in plasma and milk. *J. Dairy Sci.* 2001, 84, 2302-2307.
30. Weiss W. P., Hogan J. S., Smith K. L.: Changes in vitamin C concentrations in plasma and milk from dairy cows after an intramammary infusion of *Escherichia coli*. *J. Dairy Sci.* 2004, 87, 32-37.

Adres autora: dr Hanna Markiewicz, ul. Toruńska 52D/51, 86-050 Solec Kujawski; e-mail: vetri@logonet.com.pl