

BEATA TRAWIŃSKA

## Wpływ wysokich dawek witaminy C na poziom lipidów w osoczu krwi i ścianie aorty w pokarmowej hiperlipidemii kogutów

Zakład Patofizjologii Instytutu Nauk Fizjologicznych Wydziału Weterynaryjnego AR,  
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Wielu autorów (2, 7, 8, 20) uważa, że stosowanie wysokich dawek witaminy C obniża stężenie lipidów, zwłaszcza cholesterolu u zwierząt z hipercholesterolemią. Natomiast Harman (10) wykazał, że witamina C ma właściwości przeciwutleniające, jest tzw. „wymiataczem” toksycznych nadtlenków lipidowych oraz wolnych rodników. Nagromadzenie się w ustroju nadtlenków powoduje hamowanie czynności syntetazy prostacyklinowej, co wg teorii prostanoidowej ma sprzyjać rozwojowi procesu miażdżycowego. Harman karmiąc myszy antyoksydantami uzyskał przedłużenie życia tych zwierząt. Podobny wynik z hodowli tkankowej zanotował Hayflick (11). Pauling, Cameron i Campbell (cyt. 13) uważają, że witamina C ma szczególne właściwości ochronne w odniesieniu do szkodliwego działania wielu czynników, w tym wolnych rodników. Witamina C prawdopodobnie ma stymulować syntetazę prostacykliny (PGI<sub>2</sub>) w kaskadzie kwasu arachidonowego, której działanie przeciwmiażdżycowe objawia się między innymi rozszerzeniem naczyń krwionośnych, obniżeniem ciśnienia i utrzymaniem krwi w stanie płynnym (4, 9). Zainteresowania szeregu badaczy witaminą C dotyczą przede wszystkim jej wpływu na poziom cholesterolu we krwi oraz w narządach wewnętrznych (2, 7, 8, 17, 18, 20). Podawanie dużych dawek witaminy C nie wywołuje w zasadzie szkodliwego działania na ustrój ze względu na brak właściwości kumulacyjnych. W tym temacie zdania są jednak podzielone. Rheed i Schreuzer (cyt. 1) zauważyli, że zbyt wysokie dawki witaminy C mogą prowadzić do powstania kamicy nerkowej, uporczywych biegunek, zaburzeń w płodności, wad rozwojowych oraz mogą antagonizować działanie niektórych leków.

Spostrzeżenia tych autorów dotyczące udziału witaminy C w hiperlipidemii ludzi i zwierząt ssących, nasunęły myśl o potrzebie przesłedzenia wpływu wysokich, lecz tolerowanych dawek witaminy C na stężenie wybranych wskaźników lipidowych w osoczu krwi i ścianie aorty młodych kogutów żywionych dietą cholesterolowo-tłuszczową.

### Materiał i metody

Badania wykonano na 64 kogutach rasy krajowej zielononóżka kuropatwiana, w wieku ok. 8 tygodni, masie ok. 1 kg. Koguty trzymano w zamknięciu. Ptaki

podzielono na 3 grupy. Grupa A licząca 24 sztuki trzymana była na karmie standardowej, otrzymując jeden raz dziennie kęs zawierający 1 g cholesterolu i 1 g smalcu wieprzowego na zaróbce macznej, który wprowadzano bezpośrednio do wola. Grupa B licząca również 24 sztuki żywiona była podobnie do poprzedniej, z tym, że kęs zawierał dodatkowo 0,5 g witaminy C. Grupa kontrolna K, w liczbie 16 sztuk, żywiona była mieszkanką DKM<sub>2</sub> oraz codziennie kęsami pozbawionymi cholesterolu i smalcu.

Po 21-dniowym okresie żywienia ptaki skrwawiano. Krew do badań biochemicznych pobierano na heparynę, bezpośrednio z serca. W osoczu krwi oznaczano metodami biochemicznymi następujące wskaźniki: cholesterol całkowity (CT) i cholesterol wolny (CF) — metodą Zlatkisa i wsp. (wg 12), cholesterol estrowy (CE) — z różnicą między CT a CF, triglicerydy (TG) — metodą Carlsons (3), wolne kwasy tłuszczowe (FFA) — metodą Duncombe (5), lipidy całkowite (LT) — metodą Zölnera i Kirscha (21) oraz lipoproteiny (LP) — metodą elektroforezy bibulowej wg Swahna (wg 12) z podziałem na frakcje alfa lipoproteiny (High Density Lipoproteins-HDL), beta (Low Density Lipoproteins-LDL) i „0”/chylomikronów. Witaminę C oznaczano metodą Roe i Kuethera (15) z zastosowaniem spektrofotometru „Specol”. Wartości liczbowe z badań biochemicznych analizowano statystycznie testem t-Studenta.

Po przeprowadzonej sekcji pobrano wycinki z aorty brzusznej, które ważono i sporządzano wyciągi lipidowe metodą Folcha i wsp. (6). Następnie zagęszczano w próżni i analizowano metodą chromatografii cienkowarstwowej na płytkach szklanych powleczonych żelazem krzemionkowym firmy „Merck”, w warunkach podanych w innych pracach wykonanych w Zakładzie (16). Rozdzielone na płytkach frakcje identyfikowano i oznaczano denzytometrycznie, przy użyciu wzorca cholesterolowego. Wyniki przedstawiono w mg na 1000 mg wilgotnej tkanki.

### Wyniki i omówienie

Osocze krwi. Grupa A. Żywienie przez 21 dni dietą cholesterolowo-tłuszczową spowodowało wysoce statystycznie istotny wzrost stężenia badanych wskaźników w porównaniu z grupą K: CT o 1,1 mmol/l, CF o 0,25 mmol/l, CE o 0,8 mmol/l, FFA o 93,55 mval/l, LT o 2,41 g/l, TG o 0,31 mmol/l. W obrębie frakcji HDL nastąpił spadek o 0,085 j. Natomiast frakcja LDL wzrosła o 0,103 j. Stężenie witaminy C wzrosło samoistnie o 0,033 mmol/l.

Grupa B. Dosycanie witaminą C spowodowało istotnie wyższy wzrost poziomu oznaczanych lipidów w stosunku do grupy K: CT o 0,5 mmol/l, CF o 0,15 mmol/l, CE o 0,45 mmol/l, FFA o 78,4 mval/l, LT o 2,13 g/l, TG o 0,21 mmol/l. Frakcja HDL wykazała spadek o 0,089

j., a frakcja LDL wzrosła o 0,096 j. Poziom witaminy C wzrósł o 7,05 mmol/l.

Różnice w stężeniu lipidów pomiędzy grupami A i B były istotnie wyższe; w grupie A wynosiły: CT — 0,6 mmol/l, CF — 0,1 mmol/l, CE — 0,35 mmol/l, FFA — 15,15 mval/l, LT — 0,28 g/l, TG — 0,11 mmol/l. Frakcja HDL w

Tab. 1. Cholesterol osocza krwi kogutów grup K, A i B

Badany związek	Grupa	$\bar{x} \pm s$	Istotność
CT Cholesterol całkowity w mmol/l	K	2,38 ± 9,48	
	A	3,45 ± 12,05	***
	B	2,85 ± 13,20	***
CF Cholesterol wolny w mmol/l	K	0,60 ± 2,35	
	A	0,85 ± 3,14	***
	B	0,75 ± 3,26	***
CE Cholesterol estrowy w mmol/l	K	1,75 ± 9,83	
	A	2,55 ± 12,96	***
	B	2,20 ± 11,69	***

Objaśnienie: \*\*\* istotność przy  $p \leq 0,001$ .

Tab. 2. Wolne kwasy tłuszczowe (FFA), lipidy całkowite (LT) i triglicerydy (TG) osocza krwi kogutów grup K, A i B

Badany związek	Grupa	$\bar{x} \pm s$	Istotność
FFA Wolne kwasy tłuszczowe w mval/l	K	210,10 ± 64,65	
	A	309,65 ± 53,70	***
	B	294,50 ± 61,00	***
LT Lipidy całkowite w g/l	K	6,920 ± 0,567	
	A	9,331 ± 0,843	***
	B	9,050 ± 0,769	**
TG Triglicerydy w mmol/l	K	0,957 ± 0,079	
	A	1,267 ± 0,130	***
	B	1,162 ± 0,105	**

Objaśnienia: \*\*\* — istotność przy  $p \leq 0,001$ , \*\* — istotność przy  $p \leq 0,01$ .

Tab. 3. Frakcje lipoprotein (LP) osocza krwi kogutów grup K, A i B

Frakcje	Grupa	$\bar{x} \pm s$	Istotność
LP Lipoproteiny alfa (HDL) w j. 1,0 100%	K	0,524 ± 0,051	
	A	0,439 ± 0,51	*
	B	0,435 ± 0,51	*
LP beta (LDL) w j. 1,0 100%	K	0,287 ± 0,033	
	A	0,390 ± 0,041	*
	B	0,383 ± 0,036	*
LP „0” chylomikrony w j. 1,0 100%	K	0,196 ± 0,048	
	A	0,171 ± 0,037	*
	B	0,181 ± 0,041	*

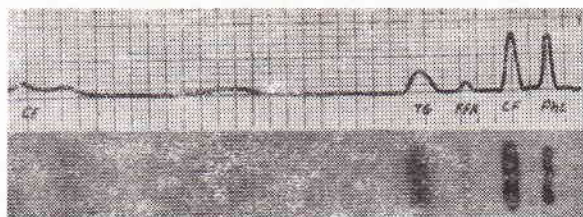
Objaśnienie: \* istotność przy  $p \leq 0,05$ .

grupie B wykazała niższe stężenie niż w grupie A (o 0,004 j.). Natomiast frakcja LDL spadła o 0,007 j. Wyniki badań ilustrują tab. 1, 2, 3.

Aorta brzuszna. Grupa A. W analizie chromatograficzno-densytometrycznej ściany aorty brzusznej wystąpił również zróżnicowany wzrost rozdzielonych frakcji lipidowych. W grupie ptaków A trzymany na diecie aterogenicnej, w porównaniu z grupą K, wzrost frakcji przedstawiał się następująco: dla PhL — 66,40 mg/1000 mg wilgotnej tkanki, MG — 4,23, CF — 85,95, FFA — 5,92, 1,3 DG — 50,1, TG — 95,46, CE — 132,63.

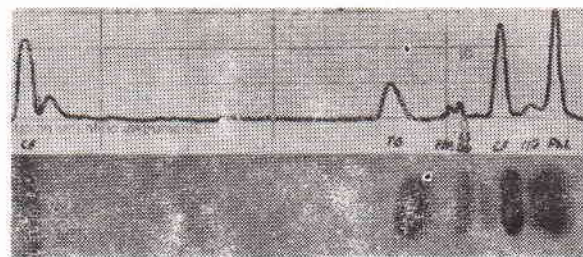
Grupa B. Dostrzeżono również istotny wzrost badanych frakcji w ścianie aorty brzusznej kogutów karmionych dietą z dodatkiem witaminy C w porównaniu z grupą K: PhL — 72,55 mg/1000 wilgotnej tkanki, MG — 1,86, CF — 65,75, FFA — 2,5, 1,3 DG — 2,66, TG — 72,07, CE — 132,63.

W zestawieniu grupy A z grupą B stwierdzono istotny wzrost frakcji tłuszczowych w grupie A, z wyjątkiem PhL, które wykazały wyższe stężenie w grupie B niż w A (o 6,15 mg/1000

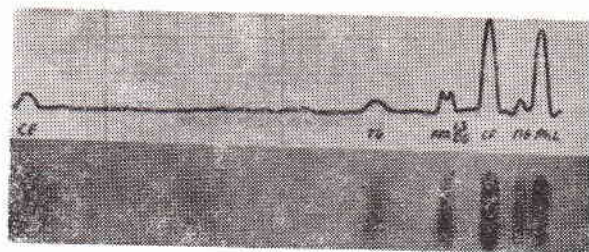


Ryc. 1. Chromatogram i densytogram lipidów ściany aorty brzusznej koguta grupy K

Objaśnienia: PhL — fosfolipidy, MG — monoglicerydy, CF — cholesterol wolny, 1,3 DG — 1,3 dwuglicerydy, FFA — wolne kwasy tłuszczowe, TG — triglicerydy, CE — cholesterol estrowy.



Ryc. 2. Chromatogram i densytogram lipidów ściany aorty brzusznej koguta grupy A



Ryc. 3. Chromatogram i densytogram lipidów ściany aorty brzusznej koguta grupy B

mg wilgotnej tkanki), MG — 2,37, CF — 2,20, FFA — 3,42, 1,3, DG — 2,35, TG — 23,39, CE — 56,07. Ryc. 1, 2, 3.

Z całości badań wynika, że sprzężenie między hiperlipidemią a działaniem wysokich dawek witaminy C ma wzajemne powiązanie i uzależnienie u kogutów żywionych dietą cholesterolowo-tłuszczową. Ptaki jako zwierzęta wszystkożerne cechują się skłonnością genetyczną do hiperlipidemii i są stosowanym modelem do badań nad zaburzeniami metabolicznymi i miażdżycą tętnic (14, 16). W wykonanych eksperymentach okazało się, że u młodych 8-tygodniowych kogutów hiperlipidemia narastała szybko. Stwierdzono, że żywienie dietą hiperlipemizującą i dosycanie wysokimi, lecz tolerowanymi dawkami witaminy C spowodowało efekt obniżający stężenie lipidów we krwi i podziało osłaniająco na ścianę naczyniową przed stłuszczeniem. Jest to również zgodne ze spostrzeżeniami innych autorów (2, 7, 8, 20). Można wprawdzie spotkać się z odmiennym poglądem na temat udziału witaminy C w zapobieganiu miażdżycy tętnic. Niektórzy uważają, że witamina C nie działa hipolipemizująco w normocholesterolemii. W przypadku hipercholesterolemii jedni stwierdzili zmniejszenie się stężenia cholesterolu we krwi w następstwie podawania witaminy C (2, 7, 8, 20), inni (17, 18) utrzymanie się na niezmiennym poziomie, a nawet jej wzrost. Uważa się również, że witamina C przeciwdziała toksycznemu wpływowi nadtlenków lipidowych i wolnych rodników oraz że generuje również kolagen, który bez jej udziału mógłby ulec degradacji lub stałby się niepożądanym elementem składowym płytki miażdżycowej. Witamina ta ma także znaczny udział w metabolizmie tkanki łącznej (13, 19), a zwłaszcza w polimeryzacji tej tkanki.

Istnieje wiele publikacji na temat roli witaminy C w przemianach tłuszczowych i powstawaniu miażdżycy. Wiąże się to prawdopodobnie z niezbędnym udziałem tej witaminy w utrzymaniu ciągłości śródbłonna naczyń krwionośnych oraz jej rolę w metabolizmie cholesterolu (cyt. 20).

Ginter (8) w swoich badaniach wykazał, że witamina C bierze udział w przemianie cholesterolu w kwasy żółciowe, co powoduje obniżenie jego stężenia w surowicy krwi.

W badaniach własnych stwierdzono, że witamina C dodawana do diety aterogenicznej wykazała oprócz działania hipolipemizującego właściwości protektywne w stosunku do błon komórkowych ściany aorty, chroniąc je przed gromadzeniem i wytwarzaniem w nich balastowych związków lipidowych. Stanowiła zatem ochronę przed aktywniejszą infiltracją lipidów ściany aorty. Prawdopodobnie hamowała też działanie nadtlenków lipidowych, a być może

też syntezę związków tłuszczowych w miocytach i fibroblastach.

#### Piśmiennictwo

1. Alfin-Slater R. B., Kritchevsky D.: Plenum Press New York, London 1980.
2. Bordia A. K.: Atherosclerosis 35, 181, 1980.
3. Carlson L. A.: J. Atherosclerosis Res., 3, 334, 1963.
4. Dembińska-Kieć A., Gryglewska T., Zmuda A., Gryglewski R. J.: Prostaglandins 14, 6, 1025, 1977.
5. Duncombe W. G.: Clin. Chim. Acta 9, 122, 1964.
6. Folch J., Less M., Sloane-Stanley G. M.: J. Biol. Chem. 226, 497, 1957.
7. Ginter E.: N. Engl. J. Med. 294, 559, 1976.
8. Ginter E.: Science 179, 702, 1973.
9. Gryglewski R.: Prostacyklina a miażdżycy. Ossolineum PAN 1981.
10. Harman D.: J. Geront. 23, 476, 1968.
11. Hayflick L.: Exp. Cell. Res. 37, 614, 1965.
12. Homolka J.: Biochemia kliniczna W-wa, PZWL, 1971.
13. Kanclerz A., Zbytniewski Z.: Pol. Tyg. Lek. 25, 40, 1980.
14. Kądziołka A., Kostarz T., Pruszkowska R., Ruciński T.: Pol. Arch. Wet. 12, 53, 1969.
15. Roe J. H., Kuether C. A.: J. Biol. Chem. 147, 399, 1943.
16. Ruciński T., Kądziołka A., Puchcińska E.: Pol. Arch. Wet. 23, 29, 1982.
17. Spittle C. R.: Lancet 7737, 1280, 1971.
18. Sokoloff B., Hori M., Saelhof C. C., Wrzolek T., Imal T.: J. Am. Geriatr. Soc. 14, 1239, 1966.
19. Więkowski W.: Badania na pozomem kwasu askorbinowego i jego niedosytem u świń. Praca hab. Inst. Wet. Puławy, 1980.
20. Ziemiański S., Panczenko-Kresowska B., Kowalska M., Wartanowicz M., Cieślak D., Harczuk J., Włażnik S.: Pol. Tyg. Lek. 39, 291, 1984.
21. Zöllner N., Kirsch K.: Zeitschr. Ges. Exp. Med. 135, 545, 1962.

#### Травиньская В. — Влияние высоких доз витамина С на уровень липидов в плазме крови и стенке аорты в пищевой гиперлипидемии петухов

Цель исследований состояла в определении влияния высоких, но принимаемых толерантно доз витамина С на концентрацию избранных липидных показателей в плазме крови и стенке аорты молодых петухов, кормленных атерогенной диетой. Петухов этих разделено на 3 группы: контрольную (К), А — кормленную холестеринно-жировой диетой и В — кормленную аналогично к предыдущей, но насыщаемой витамином С в количестве 0,5 г на кусок. Через 21 день кормления птиц обескровливали и исследовали липиды плазмы крови и стенки аорты. В плазме крови и стенке отмечено в группе А существенный рост концентрации всех липидных показателей. В группе В же последовало понижение уровня исследуемых липидов по сравнению с группой А, что вытекало из защитного действия витамина С.

#### Травиńska В. — The influence of high doses of vit. C on the level of lipids in the plasma and the wall of aorta during alimentary hyperlipidemia of cocks

The purpose of the work was to determine the influence of high doses of vitamin C on the concentration of some lipid indices in the plasma and the wall of aorta of young cocks fed atherogenic diet. The animals were allotted into three groups: 1) control one, 2) group A fed cholesterol-lipid d.i.e.t., 3) group B fed as the former one but supplemented with vitamin C in a dose of 0.5 g per piece. After 21 days the cocks were bled and lipids were examined. It was found a significant increase all lipid indices in the group A. Instead, in the group B there was recorded a drop in the level of lipids as a result of protective effect of vit. C.