

TADEUSZ MIERZEJEWSKI, RYSZARDA MISKY-PIETRZAK, EWA SOBIERAJ

## Wpływ diety cholesterolowo-tłuszczowej wzbogaconej witaminą C na aktywność acylohydrolazy acylocholino, stężenie całkowite białka, tłuszczu i cholesterolu w osoczu krwi kogutów

Zakład Biochemii Instytutu Nauk Fizjologicznych Wydziału Weterynaryjnego AR,  
ul. Lubartowska 58 a, 20-094 Lublin

W badaniach nad wpływem diety wzbogaconej w tłuszczowce u ptaków oraz w hiperlipemii u ludzi obserwowano wzrost aktywności enzymów syntetyzowanych w wątrobie, takich jak: acylohydrolaza acylocholino (2, 3, 4, 13, 16), acylotransferaza lecytyna-cholesterol (1) i aminotransferaza alaninowa (9, 13). Wzrost aktywności enzymów w osoczu krwi tłumaczono „stressem metabolicznym” powodowanym dietą (9, 14, 15), w przypadku acylohydrolazy acylocholino możliwością indukcji substratowej (1).

W pracy nad kinetycznymi i fizycznymi właściwościami acylohydrolazy acylocholino (ChE) osocza krwi i bezkomórkowych wyciągów wątroby u kogutów żywionych karmą cholesterolowo-tłuszczową wykazano, że ChE w osoczu krwi odzwierciedla kinetyczne i fizyczne właściwości enzymu w bezkomórkowych wyciągach wątroby (16).

Ponieważ witamina C działa hipolipemizująco (7, 10, 12) i antystresowo (5, 6, 17), w niniejszej pracy oceniano jej wpływ na aktywność acylohydrolazy acylocholino, stężenie całkowite białka, tłuszczu i cholesterolu w osoczu krwi kogutów żywionych karmą cholesterolowo-tłuszczową z dodatkiem witaminy C.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 48 kogutach rasy zielononóżka kuropatwiana, w wieku 8 tygodni, masie ciała 900–1000 g podzielonych na 3 grupy doświadczalne: K, T, TC po 16 kogutów każda. Żywiono je przez 21 dni mieszanką standardową pełnoporcjową DKM-2 i wodą *ad libitum*. Koguty grupy T otrzymywały codziennie dodatkowo o godzinie 9.00 kęsy mączne, wprowadzane bezpośrednio do wola, zawierające 1 g cholesterolu i 1 g smalcu wieprzowego. Koguty grupy TC—kęsy mączne, w których obok cholesterolu i tłuszczu znajdowało się 0,5 g witaminy C, grupy K—kęsy mączne pozbawione cholesterolu, tłuszczu i witaminy C. Po 21 dniach żywienia średni przyrost masy ciała kogutów grupy K wynosił 190 g, grupy T—214 g i grupy TC—223 g. Krew pobierano bezpośrednio z serca do próbek w heparyną (Heparin B.P. Baods pure drug CO. LTD (5–6 I) 0,05–0,06 mg (10 ml pełnej krwi). Osocze uzyskiwano przez wirowanie krwi w temperaturze chłodni (4°C) przy 3 tys. obr./min. przez 10 minut. W osoczu krwi oznaczano: białko całkowite (Pr) met. biuretową (11), tłuszcz całkowity (TL) met. Zöllnera-Kirscha (18), cholesterol całkowity (TCh) met. Blaszczyszyna (21), witaminę C met. Roe i Kuethera (19), aktywność acylohydrolazy acylocholino (ChE) met. Hestrina w modyfikacji Juszkiewicza i wsp. (8), stosując jako substrat jodek butyrylotiocholino (50  $\mu$ moli w mieszaninie reagującej).

Wartości liczbowe oznaczeń wyrażano: dla Pr i TL — g/l, TCh i witaminy C — mmol/l, ChE — J/l, a aktywność właściwą (ChE-w — J/g Pr.

Wyniki oznaczonych cech charakteryzowano za pomocą średniej arytmetycznej ( $\bar{x}$ ), odchylenia standardowego (s) i współczynnika zmienności (v), istotność statystyczną zmian — testem t-Studenta.

Tab. 1. Wpływ wit. C na badane cechy osocza krwi kogutów

Grupy	Badane cechy					
	Pr (g/l)	TL (g/l)	TCh (mmol/l)	Wit.C (mmol/l)	ChE (J/l)	ChE-w (J/g Pr)
K	$\bar{x}$ 36,19a	6,99a	2,64a	23,52a	878,83a	24,28a
	s 0,70	0,45	0,12	6,07	19,28	0,33
	v 1,93	6,44	4,55	25,00	2,19	1,36
T	$\bar{x}$ 40,11b	9,24b	3,41b*	23,00a	1209,73b	30,16b
	s 0,94	0,40	0,27	4,39	57,23	0,31
	v 2,34	4,33	7,92	19,10	4,73	1,03
TC	$\bar{x}$ 40,80b	8,84b	3,12c*	30,15b	1048,47c	25,70c
	s 0,75	0,67	0,25	3,86	58,54	0,30
	v 1,83	7,58	8,01	12,80	5,58	1,17

Objaśnienia: a, b, c średnie kolumn pionowych oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy  $p \leq 0,01$ ; \* istotność przy  $p \leq 0,05$ .

### Wyniki i omówienie

Wyniki badań przedstawia tab. 1.

Stosowana w grupie T i TC dieta powodowała statystycznie istotny wzrost ( $p \leq 0,01$ ) w stosunku do grupy K wartości liczbowych ChE, TL, TCh i Pr. Istotny wzrost stężeń TL i TCh w osoczu krwi kogutów tych grup w stosunku do grupy kontrolnej jest zrozumiały, ponieważ ptaki otrzymywały codziennie 1000 mg porcje cholesterolu i tłuszczu. Wzrost TL i TCh w osoczu krwi kogutów tej samej rasy obserwowano po 21 dniach w doświadczeniach, w których stosowano podobne, a nawet 4-krotnie niższe dawki tych związków (12, 13, 16).

Wyższe w grupie T i TC niż w grupie K stężenie Pr i aktywności ChE sugeruje, że stosowana dieta może powodować w organizmie ptaków zaburzenia w gospodarce białkiem i aktywności ChE pomimo, że ptaki cechuje żywa przemiana materii.

U kogutów z doświadczalnie wywołaną hiperlipemią stwierdzono zmiany w aktywności ChE i enzymów „układu lipolitycznego”, które nie korelowały ze stężeniem tłuszczowców w

osoczu krwi (12, 13, 16). Uważano, że zmiany w aktywności enzymów są nieswoiste dla hiperlipemii, lecz wtórne — wynik „metabolicznego stresu” powodowanego dietą. Związane z tym stanem zaburzenia w mechanizmach regulujących mogłyby powodować zmiany aktywności enzymatycznej uwarunkowanej ilością białka enzymatycznego na skutek wzmożonej jego syntezy bądź transportu do układu krążenia somatycznego, jak również obecności czynników działających na poziomie gotowych cząsteczek enzymu np. moderatory, modyfikatory, agregacja, kooperacja, zwolniona degradacja itp (12, 16).

W surowicy krwi ludzi uzyskano proporcjonalny wzrost aktywności ChE do stężenia we krwi trójglicerydów, cholesterolu i LDL (lipoproteidy niskiej gęstości) (1, 3, 4). Uważano, że indukcja enzymu może być związana z jego fizjologiczną rolą, uwarunkowaną obecnością nadmiaru estrów acylowych cholicy podczas wzmożonej produkcji i przemiany kwasów tłuszczowych (3, 4).

Istnieje pogląd, że podawanie witaminy C w karmie dla kur jest zbędne, gdyż ich organizm produkuje ją w znacznej ilości (20), ale dieta pozbawiona tej witaminy powoduje znaczny jej spadek w organizmie (17).

W grupie TC, dosycanej dużą, tolerowaną przez organizm kogutów dawką witaminy C stwierdzono statystycznie istotny wzrost ( $p \leq 0,01$ ) stężenia witaminy C w stosunku do grupy K i T oraz statystycznie istotny spadek aktywności ChE i ChE-w ( $p \leq 0,01$ ), stężenia TCh ( $p \leq 0,05$ ) oraz nieistotny stężenia TL w stosunku do grupy T. Zjawisko to można tłumaczyć tłumiającym wpływem tej witaminy na reakcję organizmu ptaka powodowaną dietą. Witamina C działa hipolipemizująco, co potwierdza spostrzeżenia innych autorów (7, 10, 16, 22).

Effekt obniżenia stężenia lipidów w osoczu krwi objawił się szczególnie w istotnym spadku cholesterolu ( $p \leq 0,05$ ). Podobny efekt działania witaminy C obserwowano u ludzi w hipercholesterolemii, natomiast w normocholesterolemii nie wykazano jej korzystnego wpływu (7).

Witamina C przyczynia się do usuwania wolnych rodników i utleniania nadtlenków lipidowych, które często występują w diecie wysokokalorycznej i mogą zaburzać funkcje metaboliczne komórki (22).

Wysoce istotny spadek aktywności ChE i ChE-w w grupie TC w stosunku do grupy T można tłumaczyć również antystresowym wpływem witaminy C. Istotny wzrost ( $p \leq 0,01$ ) stężenia Pr w osoczu krwi kogutów w grupach T i TC w stosunku do grupy K i nieistotny jego wzrost w grupie TC w porównaniu z grupą T może przemawiać za wzrostem w osoczu krwi innych białek obok enzymatycznego.

Wyniki przeprowadzonych badań pozwalają wnioskować, że w przypadku zaburzeń metabolicznych powstałych na skutek przeciążenia organizmu kogutów tłuszczową dietą, korzystne jest wzbogacanie karmy w witaminę C, pomimo, że organizm ptaków ją syntetyzuje.

#### Piśmiennictwo

1. Cucuianu M., Opincaru A., Tapalaga D.: Clin. chim. Acta 85, 73, 1978.
2. Cucuianu M., Popescu T. A., Haragus S.: Clin. chim. Acta 23, 151, 1968.
3. Cucuianu M., Popescu T. A., Opincaru A., Haragus S.: Clin. chim. Acta 59, 19, 1975.
4. Chu M. I., Fontaine P., Kutty K. M., Murphy D., Redheendran R.: Cih. chim. Acta 85, 55, 1978.
5. Freeman B.: Comp. Biochem. Physiol. 67 A, 183, 1980.
6. Freeman B., Manning A.: Comp. Biochem. Physiol. 53 A, 169, 1976.
7. Ginter E., Kajaba I., Nizner O.: Nutr. Metabol. 12, 76, 1970.
8. Juszkiewicz T., Mizak B., Paleolog A.: Medycyna Wet. 22, 303, 1966.
9. Katchman B. J., Zipf R. E.: Clin. chim. Acta 15, 118, 1970.
10. Kumari T. V., Vijayakumar T., Sasidharan V. K., Vasudevan D. M., Nair M. S. P.: J. Indian Med. Ass. 75, 3, 87, 1980.
11. Mejbnaum-Katzenellenbogen W., Mochnacka I.: Kurs praktyczny z biochemii. PWN, Warszawa 1969.
12. Mierzejewski T.: Medycyna Wet. 10, 366, 1974.
13. Mierzejewski T., Misky-Pietrzak R., Sobieraj E.: Medycyna Wet. 42, 626, 1961.
14. Mierzejewski T., Truchliński I.: Medycyna Wet. 23, 613, 1973.
15. Mierzejewski T., Truchliński I.: Medycyna Wet. 40, 113, 1974.
16. Misky-Pietrzak R.: Badania nad kinetycznymi i fizycznymi właściwościami acylohydrolazy acylocholicy (E.C.3.1.1.8.) osocza krwi i bezkomórkowych wyciągów wątroby u kogutów żywionych karmą cholesterolowo-tłuszczową w dwóch fazach rytmu dobowego. Praca dokt., AR Lublin, 1986.
17. Negórna-Stasiak B., Łazuga-Adameczyk A., Kotodyńska M.: Medycyna Wet. 42, 631, 1986.
18. Ostrowski W.: Wybrane metody z chemii klinicznej. PZWL, Warszawa 1974.
19. Roe J. H., Kuether C. A.: J. Biol. Chem. 147, 599, 1943.
20. Scott M., Noshelm M., Pong R.: Żywnienie kur. PWRiL, Warszawa 1978.
21. Tomaszewski L.: Mikrometody biochemiczne w laboratorium klinicznym PZWL, 1970.
22. Traubińska B.: Lipidy krwi, ściany aorty i wątroby kogutów żywionych dietą aterosenną z dodatkiem kwasu i askorbowego w dwóch fazach rytmu biologicznego. Praca dokt. AR Lublin, 1984.

Adres autora: prof. dr hab. Tadeusz Mierzejewski, ul. Langiewicza 2a/37, 20-02 Lublin

Mierzejewski T., Misky-Pietrzak R., Sobieraj E. — Effect of a cholesterol-fat diet enriched with vitamin C on the activity of acylcholine acylhydrolase, content of a total protein, fat and cholesterol in blood plasma of cocks

In hiperlipidaemia both in men and in animals an observed increase in activity of acylcholine acylhydrolase is explained by a substrate induction or by a „metabolic stress” resulting from a diet used. Because of hypolipemizating and anti-stress action of vitamin C their content and influence on activity of acylcholine acylhydrolase (ChE), content of a total protein (Pr), fat (TL) and cholesterol (TCh) in blood plasma of three groups of cocks (K-control; T — cholesterol-fat diet; TC — cholesterol-fat diet enriched with vitamin C (0.5 g) was examined. It was found that: 1) in group T and TC increased significantly ( $p \leq 0,01$ ) in comparison to group K values of ChE, TL, TCh and Pr. 2) in group TC increased significantly ( $p \leq 0,01$ ) the content of vitamin C in comparison to group K and T, significantly decreased ChE a proper activity of -ChE-w ( $p \leq 0,01$ ) TCh ( $p \leq 0,05$ ) and non significantly changed TL in comparison to group T.

It may be assumed that vitamin C depresses reactions of an organism induced by a diet. Therefore, it is probable that in metabolic disorders resulting from overloading of cocks with a fat diet enrichment of food with vitamin C is profitable.