

**ZACHODNIOPOMORSKI UNIWERSYTET  
TECHNOLOGICZNY W SZCZECINIE**

**WYDZIAŁ BIOTECHNOLOGII I HODOWLI ZWIERZĄT**

**Anna Sosnowska**

**WPLYW DODATKU WITAMIN E I C W ŻYWIENIU  
LOCH NA ODCHÓW PROSIĄT**

Rozprawa doktorska wykonana  
w Katedrze Hodowli Trzody Chlewnej  
promotor: dr hab. Maria Kawęcka, prof. nadzw.

**Szczecin 2010**

# SPIS TREŚCI

	strony
<b>Wstęp .....</b>	<b>3</b>
<b>Przegląd piśmiennictwa.....</b>	<b>6</b>
I. Charakterystyka witamin .....	6
1. Witamina E .....	6
Struktura chemiczna.....	7
Metabolizm.....	10
Dostępność biologiczna naturalnej i syntetycznej witaminy E.....	14
1.5. Efekt biologiczny.....	18
1.5.1 Funkcje antyoksydacyjne.....	19
1.5.2 Witamina E a układ odpornościowy.....	22
1.5.3 Użytkowość rozrodcza a witamina E.....	27
1.5.4 Wpływ witaminy E na młode organizmy.....	33
2. Witamina C .....	36
3. Interakcje między witaminami C i E.....	44
<b>Cel badań.....</b>	<b>47</b>
<b>Material i metody.....</b>	<b>48</b>
<b>Wyniki i dyskusja.....</b>	<b>54</b>
<b>Podsumowanie i wnioski.....</b>	<b>75</b>
<b>Spis piśmiennictwa.....</b>	<b>77</b>

## WSTĘP

W miarę prowadzenia selekcji zwierząt w kierunku wzrostu wydajności produkcyjnej, w różnym stopniu wzrasta ich zapotrzebowanie na składniki energetyczne, poszczególne aminokwasy, witaminy i sole mineralne. W związku z tym coraz trudniej jest utrzymać wewnętrzną homeostazę organizmu, której zaburzenie może objawiać się niższą wydajnością i prowadzić do powstania stanów chorobowych (**Barej, 1996**). Wycofanie z żywienia zwierząt, z dniem 01.01.2006 roku, antybiotyków stosowanych jako stymulatory wzrostu, poskutkowało poza koniecznością zadbania o lepsze warunki utrzymania czy polepszenia jakości pasz, także koniecznością modyfikacji programów żywienia. Powinny być one nastawione głównie na wzmacnianie naturalnej odporności zwierząt, a także stabilizację korzystnej mikroflory przewodu pokarmowego. Jest to możliwe do osiągnięcia tylko dzięki stosowaniu odpowiednich dodatków paszowych oraz modyfikację poziomu niektórych składników pokarmowych (**Lipiński, 2007**). Ma to istotne znaczenie dla młodych zwierząt, a zwłaszcza dla prosiąt. Wycofanie antybiotyków z pasz może manifestować się występowaniem szeregu zaburzeń, w tym między innymi zwiększoną częstotliwością występowania biegunek, co z kolei jest jedną z głównych przyczyn strat prosiąt w okresie odchowu. Śmiertelność prosiąt w okresie do odsadzenia, wpływa w największym stopniu na wielkość wszystkich strat w produkcji trzody chlewnej. W praktyce można zauważyć, że często ponad 10% prosiąt żywo urodzonych w miocie pada jeszcze przed odsadzeniem. Problem ten jest bardzo poważny i trudny jednocześnie do rozwiązania zważywszy, że śmiertelność wśród prosiąt kształtuje się na takim poziomie już od wielu lat. Niedostateczne pobranie siary przez prosięta zaraz po urodzeniu, skutkujące głodem czy hipotermią, wiąże się ściśle z niewystarczającym pobraniem od lochy niezbędnych swoistych przeciwciał. To z kolei, powoduje wzrost podatności prosiąt na infekcje i to nie tylko w okresie postnatalnym, ale także po odsadzeniu.

Pasywny transfer immunoglobulin z siarą, jest jedyną drogą nabywania odporności u prosiąt. Ze względu na budowę łożyska u świń, zaopatrywanie

plodów w przeciwciała przed porodem nie jest możliwe. Z kolei, transport nienaruszonych makromolekuł, jakimi są immunoglobuliny drogą żołądkowo-jelitową jest możliwy tylko przez bardzo krótki czas po porodzie. Ten czasokres jest szczególnie istotny dla prosiąt, które nigdy wcześniej nie miały kontaktu z antygenami. Gwarantuje im bowiem nabycie biernej odporności humoralnej, głównie dzięki zaabsorbowaniu z siary immunoglobulin klasy G (**Rooke i Bland, 2002**). Po tym krytycznym, trwającym kilka pierwszych tygodni życia okresie, zostaje dopiero uruchomiony system odporności czynnej (**Babinszky i in., 1991**). Zatem przez cały okres karmienia, prawidłowe funkcjonowanie i stymulacja układu odpornościowego prosiąt, zależne jest od ich matek. Istotne jest więc, aby w tym okresie lochy mogły maksymalnie wykorzystywać swój potencjał w zakresie użytkowości rozplodowej. Jest to możliwe do osiągnięcia tylko dzięki zapewnieniu im właściwych warunków utrzymania, opieki weterynaryjnej i prawidłowego, dostosowanego do ich ciągle wzrastających potrzeb żywienia.

Dotychczasowe badania przeprowadzone na zwierzętach gospodarskich, zwłaszcza na samicach wskazują, iż wprowadzając odpowiednie komponenty w żywieniu loch wysokoprośnych i karmiących, można wpływać nie tylko na ich użytkowość rozplodową, ale także na wyniki odchowywanych przez nie prosiąt. W praktyce oznacza to dokładne bilansowanie dawek pokarmowych oraz stosowanie bardzo dobrej jakości premiksów i dodatków paszowych. Dotyczy to zarówno ilości jak i jakości stosowanych witamin i mikroelementów. Bardzo istotna jest ich forma, która decyduje o biodostępności (np. różne sposoby stabilizacji witamin).

Korzystny wpływ na przebieg procesów rozrodczych, a także wzmocnienie układu immunologicznego można osiągnąć stosując dodatki niektórych witamin, zwłaszcza antyoksydantów, do których należą witaminy E i C. Współdziałając ze sobą nie tylko stymulują układ odpornościowy prosiąt, ale także wpływają pozytywnie na użytkowość rozplodową loch. Mimo wieloletnich badań nad stosowaniem witamin w żywieniu trzody chlewnej, wciąż ciężko jest jednoznacznie ustalić optymalny poziom ich dodatku do dawki pokarmowej.

Obowiązujące w Polsce Normy Żywienia Świń z 1993 roku, jak i normy NRC z 1998 i ARC z 1981, wydają się być nieadekwatne do wymagań „nowoczesnych” świń (**Close i Cole, 2000**). W praktyce, producenci premiksów często przekraczają, nawet podwójnie, zalecane w normach ilości witamin dodawanych do preparatów. Dzieje się tak z jednej strony ze względu na wspomniane wcześniej wymagania świń, ale z drugiej strony sama przyswajalność przez świnię, witamin syntetycznych, dodawanych do paszy jest bardzo niska i wynosi zaledwie 10-20%. Znacznie lepiej wykorzystywane są witaminy naturalne, jednak ze względu na koszty, nie są one powszechnie stosowane.

Ponieważ witaminy E i C z łatwością przechodzą do siary, a później do mleka loch, wydaje się, że stosowanie wyższych ich dawek w żywieniu loch karmiących może być główną strategią zwiększania ich koncentracji u ssących prosiąt, gdyż już sama droga podania bardzo korzystnie wpływa na ich przyswajalność i biodostępność.

Podkreślić należy, iż witaminy te odgrywają kluczową rolę w stymulacji układu odpornościowego zwierząt. Witamina E pobudza układ immunologiczny do produkcji przeciwciał, co może objawiać się wzrostem zawartości immunoglobulin głównie klasy G w sianie loch (**Lipiński i Tywończuk, 1999**). Z kolei kwas askorbinowy odgrywa istotną rolę w odporności typu komórkowego. Zwiększa syntezę interferonu, co ma duże znaczenie w zwalczaniu infekcji wirusowych. Witamina C pełniąc rolę regenerującą w odniesieniu do  $\alpha$  – tokoferolu może przyczyniać się do wzrostu koncentracji witaminy E u odsadzonych prosiąt. Warto podkreślić, iż zapotrzebowanie na obie witaminy wzrasta gwałtownie w sytuacjach stresowych, do których niewątpliwie należy poród czy odsadzenie prosiąt. Z tego względu istotne wydaje się znalezienie optymalnej dawki tych witamin, która zabezpieczyłaby prosięta przed poważnymi skutkami ich niedoboru. Niewystarczająca koncentracja obu witamin predysponuje świnię do zapadania na różne schorzenia, w tym wywoływane najczęściej przez enterotoksyczne szczepy *Escherichia coli*.

Jakkolwiek, na podstawie badań przeprowadzonych przez różnych autorów, stosowanie dodatku witamin E i C wydaje się być wysoko uzasadnione,

to nie należy wielokrotnie przekraczać zalecanych norm. Zbyt wysokie dawki tokoferolu w paszy nie są wchłaniane, co może wynikać z faktu, iż system może być przesycony. Ponadto zbyt wysokie dawki witaminy E w paszy mogą ograniczać wchłanianie innych witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, głównie witaminy A (Blair, 2006).

## **PRZEGLĄD PIŚMIENICTWA**

### **I. CHARAKTERYSTYKA WITAMIN**

#### **1. WITAMINA E**

Nazwa „witamina” została zaproponowana w 1911 roku przez polskiego badacza Kazimierza Funka. Wyodrębnił on z otrąb ryżowych substancję, która po podaniu, w minimalnej ilości, powodowała ustąpienie objawów choroby beri – beri u gołębi. Słowo WITAMINA pochodzi od łacińskich słów „vita” oznaczającego - życie oraz „amin”, co oznacza, że zawiera związki azotu. Ta ogólna nazwa przetrwała do dziś, choć nie jest w pełni trafna, gdyż powszechnie wiadomo, że witaminy różnią się między sobą pod względem budowy chemicznej.

Z tradycyjnej definicji witamin wynika, że są one związkami organicznymi, których organizm nie może wcale, bądź w wystarczającej ilości, sam syntetyzować. Są one dla organizmu bezcenne i dlatego powinny być dostarczane wraz z pożywieniem. Suplementacja ta, może odbywać się poprzez dodatek witamin w gotowej postaci, bądź jako prowitaminy, które w procesach metabolicznych uzyskują pełną aktywność biologiczną.

Klasyczny podział witamin odbywa się według kryterium ich rozpuszczalności. Dzielą się one na rozpuszczalne w wodzie (witaminy z grupy B oraz witamina C) oraz rozpuszczalne w tłuszczach (witaminy: A, D, E i K). Rozpuszczalna w tłuszczach witamina E, została odkryta w 1922 roku przez Evans'a i Bishop'a na Uniwersytecie Kalifornijskim w Berkeley. Badacze wykazali wówczas, że niedobór jednego bardzo ważnego czynnika

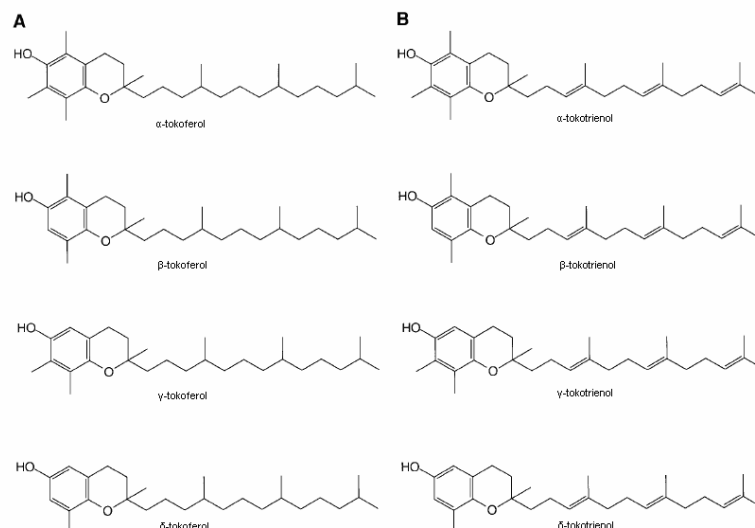
pokarmowego u szczurów, prowadzi do powstania u nich bezpłodności. Czynniki ten nazwano tokoferolem, dla podkreślenia jego biologicznej roli, gdyż z greckiego „*tokos*” znaczy poród, natomiast „*pherein*” oznacza - nieść. Jej struktura określona została w 1938 roku, kiedy to po raz pierwszy ją zsyntetyzowano (Blair, 2006). Odkryta została na nowo w 1950 roku, przez Klause Schwarza, i jako „czynnik 2” umiejscowiona została w kontekście komórkowego systemu antyoksydacyjnego, razem z aminokwasami siarkowymi - „czynnik 1” i selenem - „czynnik 3” (Brigelius-Flohe i Traber, 1999).

W przyrodzie witamina E występuje powszechnie w zielonych częściach roślin, ziarnie zbóż, a najważniejszym jej źródłem są oleje roślinne. Produkty pochodzenia zwierzęcego zawierają relatywnie mniej witaminy E. Przyjmuje się, że pasze roślinne charakteryzują się zróżnicowaną zawartością tokoferolu. Zabiegi technologiczne, którym są poddawane, jak na przykład suszenie, granulowanie czy dalej często długie ich przechowywanie, mogą wpływać na zmniejszenie koncentracji tej witaminy.

## 1.2 STRUKTURA CHEMICZNA

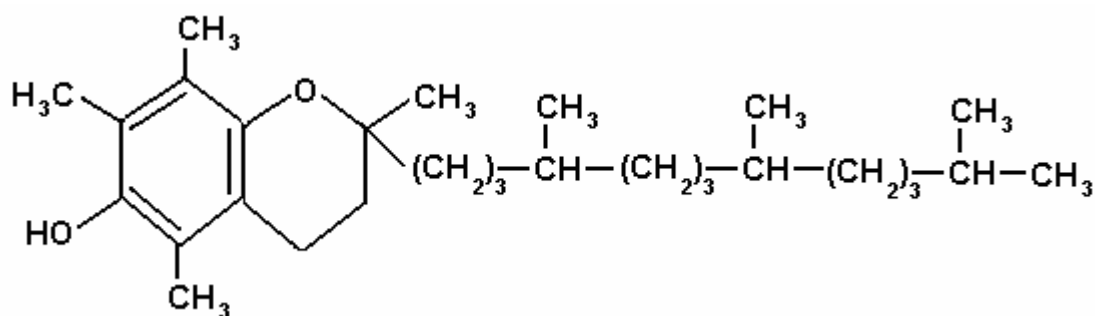
Witamina E jest niezbędnym składnikiem biologicznie czynnym występującym w przyrodzie i powszechnie stosowanym jako dodatek w żywieniu zwierząt, zwłaszcza w okresie rozrodu. Mimo, że została odkryta w 1922 roku, wciąż istnieją różne opinie co do poziomu, przy którym powinna być stosowana w żywieniu zwierząt i ludzi, aby organizm w pełni mógł wykorzystywać jej właściwości.

Analiza strukturalna molekuł wykazujących antyoksydacyjną aktywność witaminy E ujawniła, iż kwalifikują się one do czterech grup tokoferoli -  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  oraz czterech grup tokotrienoli -  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  (Ryc. 1 A, B), różniących się między sobą aktywnością biologiczną. Jedną z tych form,  $\alpha$ -tokoferol, najliczniej występujący w przyrodzie, charakteryzuje się najwyższą aktywnością biologiczną, sięgającą blisko 90-100% (Pinelli-Saavedra, 2003).



***Ryc.1*** Naturalnie występujące formy witaminy E (***Brigelius-Flohe i Traber, 1999***)

Tokoferole i tokotrienole mają podobną budowę chemiczną. Wszystkie składają się z pierścienia chromanu i izoprenowego łańcucha bocznego zawierającego 16 atomów węgla (**Ryc. 2**). W zależności od liczby i umiejscowienia grup metylowych na pierścieniu benzenowym, rozróżnia się cztery tokoferole. Wszystkie mają nasycone reszty fitolu i występują w przyrodzie jako wolne fenole.



***Ryc.2*** Wzór strukturalny  $\alpha$  – Tokoferolu

Główną cechą odróżniającą tokotrienole od tokoferoli, są trzy podwójne wiązania na łańcuchu bocznym (**Ryc. 3**). Tokotrienole wykazują również, w przeciwieństwie do tokoferoli tylko jedno chiralne centrum na atomie węgla w drugiej pozycji, tak że możliwe są tylko 2R i 2S izomery przestrzenne. Dzięki



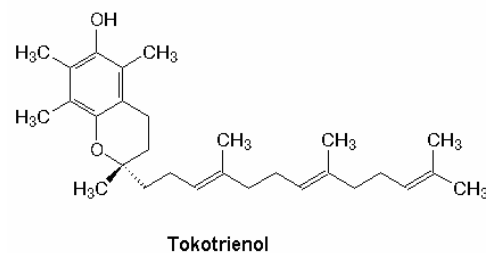
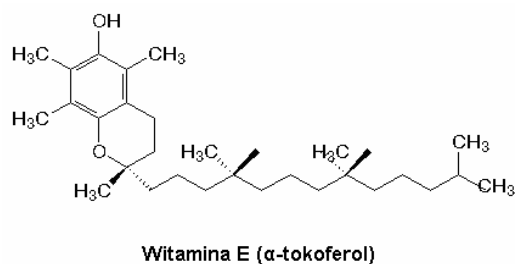
podwójnym wiązaniom na łańcuchu fitolu w pozycji 3' i 7' możliwe jest wystąpienie czterech geometrycznych (cis – trans) izomerów:

2R i 2S: 3'cis 7'cis

3'cis 7'trans

3'trans 7'cis

3'trans 7'trans



**Ryc. 3.** Różnice w budowie strukturalnej tokoferolu i tokotrienolu

Tokoferole natomiast, charakteryzują się trzema chiralnymi centrami w pozycji 2', 4' i 8', przez co możliwych jest osiem stereoisomerów. Najliczniej występującą formą w przyrodzie jest forma RRR-.

Powszechnie dostępne na rynku preparaty witaminy E zawierają zwykle tylko  $\alpha$ -tokoferol występujący najczęściej w formie estru octanowego, bursztynianu lub nikotynianu. Dostępne preparaty witaminy E mogą zawierać naturalny (RRR –), albo syntetyczny (*all rac*)  $\alpha$ -tokoferol (**Brigelius-Flohe i Traber, 1999**). *all rac*  $\alpha$ -tokoferol jest ekwimolarną mieszką wszystkich możliwych ośmiu stereoisomerów, wynikających z trzech chiralnych centrów: C2 na pierścieniu chromanu i C4' i C8' na łańcuchu fitolu.

Stereoizomery były testowane na szczurach w teście „resorpcyjno – ciążowym”. Wykazano wówczas duże różnice w ich biologicznej aktywności. Przyjmując, że aktywność octanu RRR- $\alpha$ -tokoferolu wynosi 100%, pozostałe formy mają następujące aktywności: RRS 90%, RSS 73%, SSS 60%, RSR 57%, SRS 37% SRR 31% i SSR 21% (**Weiser i Vecchi, 1982**).

### 1.3 METABOLIZM

Witamina E jest związkami hydrofobowymi i w związku z tym wymaga specyficznych mechanizmów transportu w wodnym środowisku plazmy, płynów ciała i komórek. W odróżnieniu od innych witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, witamina E nie jest przenoszona w osoczu za pośrednictwem specyficznych białek, ale jej transport odbywa się za pośrednictwem lipoprotein. W związku z tym dystrybucja tokoferolu w ustroju przebiega analogicznie do dystrybucji tłuszczów. Również w wątrobie istnieją specyficzne mechanizmy transportu, takie jak białka transportujące  $\alpha$ -tokoferol ( $\alpha$ -TTP z ang.  $\alpha$ -tocopherol transfer protein). Dystrybucja tokoferolu jest więc ściśle związana z metabolizmem tłuszczów w organizmie. Pierwsze pomiary zawartości tokoferolu w lipoproteinach zostały dokonane przez **Lewis'a i in.** w **1954** roku (**Traber i Kayden, 1989**). Natomiast **McCormick i in.** w **1960** roku, prócz bardziej precyzyjnego pomiaru koncentracji tokoferolu w lipoproteinach, określili również jej zależność od suplementacji witaminą E.

Wchłanianie witaminy E odbywa się w procesie trawienia tłuszczów i zależne jest od odpowiedniego funkcjonowania trzustki, wydzielania żółci oraz tworzenia miceli. Warunki, które muszą być spełnione w procesie wchłaniania witaminy E są takie jak dla tłuszczów tj.: wydajna emulgacja, solubilizacja micelarna soli żółciowych, wychwytywanie przez enterocyty oraz sekrecja do krwioobiegu poprzez system limfatyczny (**Gallo-Torres, 1970**).

Emulsyfikacja zapoczątkowana zostaje już w żołądku jednak pełną wydajność tego procesu stwierdza się w jelicie cienkim w obecności enzymów trzustkowych i soli kwasów żółciowych. Zarówno enzymy trzustkowe jak i kwasy żółciowe są niezbędne w procesie hydrolizy, której muszą zostać poddane estry tokoferolu zanim zostaną wchłonięte z przewodu pokarmowego. Większość estrów tokoferolu zostaje zhydrolizowana w świetle jelita cienkiego, właśnie przez obecne tam enzymy trzustkowe i następnie zostaje wchłonięta przez komórki nabłonka jelitowego. Mniejsza część estrów hydrolizowana jest także w świetle jelita, ale przez enzymy wydzielane przez błonę śluzową. Inne natomiast

w postaci nietkniętej, zostają wchłonięte przez komórki błony śluzowej jelita czczego i dopiero tam poddawane są hydrolizie.

Absorpcja tokoferolu przez komórki nabłonka jelita cienkiego odbywa się na zasadzie biernej dyfuzji. Resorpcja następuje po wbudowaniu tokoferoli do drobnych skupisk cząsteczek tworzonych przez cholesterol, kwasy żółciowe i monoacyloglicerole, zwanych micelami (**Blair, 2006**). Po wchłonięciu przez enterocyty, tokoferole zostają włączone do chylomikronów i wydzielane początkowo do przestrzeni międzykomórkowych. Chylomikrony jak sama nazwa wskazuje znajdują się w limfie (*łac. chylus*). Powstają one jedynie w układzie odprowadzającym chłonkę z jelita i odpowiedzialne są za transport wszystkich lipidów zawartych w pokarmach do układu krążenia.

Za pośrednictwem przewodu piersiowego (*ductus thoracicus*), chylomikrony (zawierające niemal 99% wchłoniętego w jelicie  $\alpha$ -tokoferolu), przedostają się do krwioobiegu gdzie zostają zhydrolizowane przez obecny w ścianach włosowatych naczyń krwionośnych enzym lipazę lipoproteinową – LPL (**Burton i Traber, 1990**). Aktywacja LPL odbywa się poprzez kofaktor, którym jest, pochodząca pierwotnie z HDL, apolipoproteina C-II (apoC). Posiada ona swoje miejsce wiązania fosfolipidu, poprzez które związana jest z chylomikronem.

W wyniku działania lipazy lipoproteinowej, następuje utrata z chylomikronów ok. 90% triacyloglicerolu oraz utrata apoC, która powraca do HDL, razem z mniejszą częścią tokoferolu. Za pośrednictwem HDL, tokoferol przekazywany jest do krążących w obiegu innych lipoprotein, jak np. LDL czy VLDL. Niewielka część tokoferoli poprzez oddziałującą na chylomikrony LPL, trafia razem z kwasami tłuszczowymi do tkanek (**Kayden i Traber, 1993**). Z rozbitą cząstką chylomikronu związana zostaje, pochodząca również z HDL apolipoproteina E, tworząc teraz nową cząstkę zwaną chylomikronem resztkowym tzw. remnantem chylomikronu. Z tym ostatnim związana jest również większa część transportowanego tokoferolu. Należy zaznaczyć, że chylomikrony podobnie jak inne lipoproteiny, zawierają wysokie koncentracje

trzech izomerów tokoferolu ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - tokoferol). To oznacza, że do tego momentu wszystkie trzy formy tokoferolu są tak samo traktowane i wchłaniane.

Remnanty chylomikronów wychwytywane są w wątrobie przez endocytozę, prawdopodobnie z udziałem receptorów swoistych dla apoE, a zawarte w nich estry cholesterolu i triacyloglicerole są hydrolizowane i metabolizowane. Uwolnione w hepatocytach kwasy tłuszczowe i tokoferol, po wbudowaniu do lipoprotein o bardzo małej gęstości (VLDL), wydzielane są następnie do osocza. Tam na skutek aktywnego działania lipazy lipoproteinowej oraz pochodzącej z wątroby lipazy wątrobowej, są one hydrolizowane do LDL. W LDL zawarta jest największa część znajdującego się w osoczu tokoferolu i głównie za ich pośrednictwem tkanki zaopatrywane są w  $\alpha$ -tokoferol (**Papas, 1999**). LDL chętnie wymieniają tokoferol z krążącymi w obiegu cząsteczkami o dużej gęstości (HDL). Tokoferol zawarty w HDL może być następnie transportowany z powrotem do remnantów chylomikronów, a z nimi powracać do wątroby (**Kayden i Traber, 1993**). Zatem  $\alpha$ -tokoferole, wydzielane z wątroby w VLDL, mogą mieć różne przeznaczenie. Część w wyniku lipolizy może zostać przeniesiona do HDL. Część związana z rdzeniem VLDL może przeistoczyć się w LDL, a część z nich może powrócić do wątroby w remnantach VLDL, określanych inaczej jako IDL (od angielskiej nazwy Intramediate Density Lipoproteins, czyli proteiny o pośredniej gęstości). Tą drogą następuje, więc wzbogacenie wszystkich krążących w obiegu lipoprotein w  $\alpha$ -tokoferol.

Wątroba nie spełnia funkcji głównego magazynu dla witaminy E. Przechowywane jest tam natomiast około 95% wszystkich rezerw witaminy A. Fakt ten można tłumaczyć niską toksycznością witaminy E (**Kappus i Diplock, 1992**). Informacje na temat koncentracji witaminy E w tkankach ludzi są ograniczone, jednak te dostępne wskazują, że stężenie  $\alpha$ -tokoferolu wzrasta po suplementacji witaminą E, a duże ilości tokoferolu nie są w nich zatrzymywane (**Burton i in., 1998**). Wysokie koncentracje witaminy E zostały stwierdzone w błonach komórkowych wyspecjalizowanych organelli komórkowych samych tkanek, takich jak mikrosomy czy mitochondria, gdzie zachodzą intensywne procesy oksydacyjno-redukcyjne (**Taylor i in., 1976**).

U ludzi najwyższe stężenia tokoferolu stwierdzone zostały w tkance tłuszczowej. Wg **Burton i in. (1998)** koncentracja  $\gamma$ -tokoferolu wynosiła tam 30% wszystkich tokoferoli, a jego zawartość w tkance tłuszczowej, mięśniach czy tkance podskórnej była wyższa niż koncentracja we krwi. Jak podają **Tran i Chan (1992)**  $\gamma$ -tokoferol zawarty w komórkach krwi, wątrobie, śledzionie, sercu, nerkach i mięśniach szczurów, katabolizowany jest dużo szybciej niż  $\alpha$ -tokoferol.

Koncentracja  $\alpha$ -tokoferolu w większości zdrowych narządów i tkanek rośnie wprost proporcjonalnie do jego spożycia. Wyjątek stanowią tkanki zawierające komórki tłuszczowe, jak np.: tkanka tłuszczowa czy wątroba, w których koncentracja tokoferolu jest wyższa i co więcej wzrasta z wiekiem, mimo iż pobranie witaminy E utrzymane jest na wcześniejszym stałym poziomie. Tkanka tłuszczowa magazynuje ponad 90% zawartej w organizmie witaminy E (**Combs, 1991**).

Samo wchłanianie witaminy E jak i tempo tego procesu uzależnione jest między innymi od zawartości w paszy wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (**Moreira i Mahan, 2002**). Według badaczy, stosując dodatek tłuszczu do paszy odsadzonych świń można osiągnąć wyższe koncentracje tokoferolu zarówno w surowicy jak i tkankach badanych zwierząt. Zastosowany przez autorów dodatek witaminy E w ilości 40-60 U/kg paszy wzbogaconej w tłuszcz pozwolił na osiągnięcie poziomu tokoferolu w surowicy, odpowiadający stężeniu, które wystąpi w wyniku zastosowania paszy bez tłuszczu i z witaminą E w ilości 80-100 U/kg mieszanki.

Witamina E, w odróżnieniu od innych witamin rozpuszczalnych w tłuszczach ulega w organizmie szybkiej przemianie. Główną drogą eliminacji pobranego tokoferolu jest kał, z którym wydalone zostaje blisko 75% pobranego tokoferolu. Niewielkie ilości są również degradowane w nerkach i wytrącane z moczem (**Brigelius-Flohe i Traber, 1999**). W badaniach przeprowadzonych przez **Kaneko i in. (2000)** wykazano, że w ciągu 96 godzin, blisko 1,3% pobranego RRR- $\alpha$ -tokoferolu została wydalona z moczem. Natomiast all-rac- $\alpha$ -tokoferol po upływie tego samego czasu został wydany z moczem w około

7,8%. Podobne proporcje zaobserwowano jeśli chodzi o kał, z którym wydalane zostało blisko 83% naturalnej witaminy E i 87,6% formy syntetycznej. Taki rezultat wynika z występowania swoistej dyskryminacji syntetycznej formy witaminy E, w wyniku, której all-rac- $\alpha$ -tokoferol jest szybciej metabolizowany i wydalany z organizmu.

#### 1.4 DOSTĘPNOŚĆ BIOLOGICZNA NATURALNEJ I SYNTETYCZNEJ FORMY WITAMINY E

Z ośmiu form witaminy E naturalnie występującej w pożywieniu ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  tokoferole oraz  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  tokotrienole),  $\alpha$ -tokoferol charakteryzuje się najwyższą aktywnością biologiczną. Mimo, że zawartość  $\alpha$ -tokoferolu w diecie jest dużo niższa niż  $\gamma$ -tokoferolu, to zarówno w osoczu jak i w tkankach ludzi, jego stężenie jest 2-3 razy wyższe (**Kayden i Traber, 1993**). Co więcej w wyniku spożywania przez ludzi suplementów zawierających bądź RRR- bądź all-rac- $\alpha$ -tokoferole, koncentracja  $\gamma$ -tokoferolu ulega zmniejszeniu (**Handelman i in., 1985, Baker i in., 1986**). Następuje to w ciągu 24 godzin od pobrania  $\alpha$ -tokoferolu (**Traber i Kayden, 1989**). Podczas pierwszych 12 godzin po pobraniu dawki zawierającej jednakowe ilości  $\alpha$ - i  $\gamma$ -tokoferolu, koncentracja obu związków jednakowo wzrastała w osoczu krwi, jednak po upływie 24 godzin tylko stężenie  $\alpha$ -tokoferolu pozostawało na wysokim poziomie (**Traber i Kayden, 1989**). Zatem swoista dyskryminacja  $\gamma$ -tokoferolu nie następuje podczas pobierania witaminy E, ale zachodzi znacznie później. W 1990 roku **Traber i in.** przeprowadzili badania nad dyskryminacją  $\beta$ - i  $\gamma$ -tokoferolu w organizmie wykazując, że dochodzi do niej nie jak pierwotnie przypuszczano w jelicie cienkim (już podczas wchłaniania), ale dopiero w hepatocytach (**Traber i in., 1990a**). Tam, mimo iż  $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\gamma$ -tokoferol wchłaniane są w równym stopniu to do osocza wydzielany jest głównie  $\alpha$ -tokoferol (zawarty w VLDL). Stwierdzono tam swoistą preferencję dla  $\alpha$ -tokoferolu, za występowanie której, odpowiedzialne są obecne w wątrobie specyficzne białka transportujące tokoferol  $\alpha$ -TTP (z ang. Tocopherol Transfer Protein) (**Traber i in., 1990a**;

**Traber i in., 1990b; Traber i in., 1990c; Traber i in., 1992; Herrera i Barbas, 2001, Meier i in., 2003).**

**Ignold i in. (1987)** przeprowadzili badania, w których wykazali występowanie biodyskryminacji między samymi stereoizomerami  $\alpha$ -tokoferolu. Odkrycie to było bardzo istotne, gdyż powszechnie dostępna na rynku syntetyczna witamina E (*all rac  $\alpha$ -tokoferol*) składa się z ośmiu stereoizomerów, z których połowa to formy 2R-, a połowa to formy 2S-. Odpowiedzialność za występowanie owej dyskryminacji przypisali oni również wybiórczo działającym w wątrobie białkom  $\alpha$ -TTP.

Mechanizm regulacji koncentracji witaminy E w osoczu przez wątrobowe białka transportujące tokoferol, nie jest do końca poznany. Przypuszcza się, że po wchłonięciu remnantów chylomikronów zawierających tokoferol, TTP wybiórczo transportują RRR- $\alpha$ -tokoferol do powstających VLDL. Mimo, iż główną funkcją białek transportujących  $\alpha$ -tokoferol jest kierowanie  $\alpha$ -tokoferolu do tkanek i osocza, wiążą one także inne białka, takie jak „tocopherol-associated-protein” ( $\alpha$ -TAP) oraz „tocopherol-binding-protein” ( $\alpha$ -TBP). Wszystkie one regulują i kierują koncentracją  $\alpha$ -tokoferolu (**Blatt i in., 2001**). Wewnątrz komórek, przy pomocy białek wiążących ( $\alpha$ -TBP), tokoferol jest transportowany i wbudowywany do błon komórkowych innych organelli, takich jak mitochondria, lizosomy czy retikulum endoplazmatyczne. Nadmiar  $\alpha$ -tokoferolu i pozostałe formy witaminy E są wydalane z żółcią, bądź nie są wcale podejmowane i zostają wydalone z kałem (**Drevon, 1991; Traber i in., 1994**).

Syntetyczny  $\alpha$ -tokoferol (*all-rac- $\alpha$ -tokoferol*, lub inaczej [2,5,7,8-tetrametylo-2RS-(4'RS,8'RS, 12trimetylotridecylo)-6-chromanol]) pod względem budowy chemicznej, różni się od naturalnie występującej w przyrodzie formy RRR- $\alpha$ -tokoferolu ([2,5,7,8-tetrametylo-2R-(4'R,8'R,12trimetylotridecylo)-6-chromanolu]), która to przedstawia tylko jeden z ośmiu prezentowanych w *all-rac- $\alpha$ -tokoferolu* izomerów przestrzennych (**Lauridsen i in., 2002a**).

Stwierdzono, że stężenie stereoizomerów 2S- w osoczu u ludzi gwałtownie się obniża (**Kiyose i in., 1997**). Przeprowadzono badania, w których zastosowano dodatek obu form tokoferolu w stosunku 1:1 i wykazano, że mimo

iz RRR- $\alpha$ - tokoferol i all-rac- $\alpha$ - tokoferol pobierane były w jednakowych ilościach z pożywieniem, to zarówno w osoczu jak i w tkankach, stosunek formy „naturalnej” do „syntetycznej” wynosił w przybliżeniu jak 2:1. Wynika to z faktu, iż tylko 2R-stereoizomery są zatrzymywane w organizmie (**Burton i in., 1998**). Zatem koncentracja RRR- $\alpha$ - tokoferolu w osoczu i tkankach jest prawie dwa razy wyższa niż stężenie all-rac- $\alpha$ - tokoferolu, a ich biopotencjały wynoszą odpowiednio 1,36 U (1,36 mg RRR- $\alpha$ - tokoferolu) i 1 U (1,00 mg all-rac- $\alpha$ - tokoferolu) (**Ingold i in., 1990**). Wspomniany biopotencjał oszacowany został w teście z wykorzystaniem szczurów żywionych dietą eliminacyjną (bez witaminy E) i uwzględnia on jedynie odpowiednią ilość tokoferolu, niezbędną do ochrony płodów przed resorpcją ciążową. Nie uwzględnia on tym samym, roli białek  $\alpha$ -TTP, których działania dyskryminacyjne w odniesieniu do różnych form  $\alpha$ - tokoferolu, utrzymują jego odpowiednią koncentrację w osoczu. Występowanie owych białek stwierdzone zostało nie tylko w wątrobie, ale również w macicy ciężarnych myszy (**Jishage i in., 2001**). W związku z tym, ocena biopotencjału różnych form witaminy E za pomocą wspomnianego testu, wydaje się być błędna. Stwierdzone w macicy białka  $\alpha$ -TTP, podczas gdy istnieje niedobór preferowanego RRR- $\alpha$ - tokoferolu, mogą bowiem ułatwiać przechodzenie do płodów innych form witaminy E (**Lauridsen i in., 2002b**). To właśnie rola białek  $\alpha$ -TTP w determinowaniu koncentracji  $\alpha$ - tokoferolu w osoczu i tkankach, była decydującym czynnikiem służącym ustaleniu optymalnej dawki witaminy E, która powinna być spożywana przez ludzi (Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, 2000). W raporcie opublikowanym w 2000 roku, specjalna Komisja d/s Żywności i Żywienia z National Academy of Science (USA), doniosła, że ze wszystkich form witaminy E, tylko 2R-stereoizomery  $\alpha$ - tokoferolu spełniają wymagania organizmu człowieka. Zatem w przypadku ludzi all-rac- $\alpha$ - tokoferol wykazuje jedynie połowę biologicznej aktywności RRR- $\alpha$ - tokoferolu. Dodatkowo, badania przeprowadzone na ciężarnych kobietach z wykorzystaniem obu form  $\alpha$ - tokoferolu, ujawniły, że all-rac- $\alpha$ - tokoferol, w tym przypadku, nie wykazuje ani nawet połowy biologicznej aktywności jego naturalnej formy. Dodatkowo zasugerowali, że łożyskowe białka transportujące tokoferol, są



bardziej selektywne niż białka wątrobowe, w transporcie 2R-steroizomerów all-rac- $\alpha$ -tokoferolu. Prawdopodobnie wynika to z faktu, iż tzw. zespół matczyńno-płodowy, wykazuje preferencję dla naturalnego  $\alpha$ -tokoferolu nad jego formą syntetyczną (**Acuff i in., 1998**).

Jeśli chodzi o trzodę chlewną, to w wyniku suplementacji loch, octanem all-rac- $\alpha$ -tokoferolu, zarówno przed jak i w trakcie laktacji, następował wzrost koncentracji  $\alpha$ -tokoferolu w siarze i w tkankach prosiąt (**Hidiroglou i in., 1993a; Hidiroglou i in., 1993b**). Co więcej **Mahan i in. (2000)**, stwierdzili występowanie wyższych koncentracji  $\alpha$ -tokoferolu w surowicy, siarze i mleku loch żywionych paszą z dodatkiem octanu RRR- $\alpha$ -tokoferolu niż octanu all-rac- $\alpha$ -tokoferolu. Wykazali również wyższe stężenie  $\alpha$ -tokoferolu w surowicy i wątrobie odsadzanych prosiąt, które pochodziły od loch żywionych paszą z dodatkiem RRR- $\alpha$ -tokoferolu. Badania te nie stanowią jednak pewnego odzwierciedlenia skuteczności obu form witaminy E, gdyż przypuszczać można, iż nowo wchłonięty  $\alpha$ -tokoferol może zastępować ten krążący uprzednio w ustroju, wskutek czego uniemożliwia oszacowanie całkowitej ilości tokoferolu włączonego do osocza, mleka czy tkanek (**Goss-Sampson i in., 1988**). Aby ustalić względną aktywność naturalnej i syntetycznej witaminy E, wykorzystuje się obecnie metodę trwałego znaczenia  $\alpha$ -tokoferolu izotopami. W praktyce przynosi to większe korzyści niż prowadzenie badań z nieoznaczonymi związkami (**Lauridsen i in., 2002a**). **Lauridsen i in. (2002a)**, w badaniach nad aktywnością biologiczną obu form witaminy E, z wykorzystaniem wspomnianej metody znaczenia izotopami ujawnili, że świnie nie tylko wykazują preferencję do  $\alpha$ -tokoferolu w porównaniu z innymi formami witaminy E, ale także ujawniają tendencję do dyskryminacji pomiędzy RRR- i all-rac- $\alpha$ -tokoferolem na korzyść formy naturalnej. W przeprowadzonych badaniach, wykazali, że aktywność biologiczna RRR- $\alpha$ -tokoferolu jest dwukrotnie wyższa niż all-rac- $\alpha$ -tokoferolu. Należy podkreślić, że uzyskany przez autorów, stosunek 2:1 (RRR- : all-rac-) przewyższa powszechnie przyjęty i podany w 1990 roku przez **Ingold i in.**, stosunek 1,36:1.

W innych badaniach **Lauridsen i in. (2002b)** wprowadzając do paszy loch w ostatnim tygodniu przed porodem i przez pierwszy tydzień laktacji, znakowane dwie formy tokoferolu: octan RRR<sub>3</sub>- $\alpha$ -tokoferolu oraz octan all-rac<sub>6</sub>- $\alpha$ -tokoferolu, wykazali również, że u loch w tym okresie, aktywność biologiczna syntetycznego  $\alpha$ -tokoferolu (all-rac- $\alpha$ -tokoferolu) odpowiada w przybliżeniu połowie aktywności prezentowanej przez naturalny RRR- $\alpha$ -tokoferol. Tą samą relację naturalnego do syntetycznego tokoferolu (2:1), uzyskali również oznaczając koncentrację  $\alpha$ -tokoferolu zarówno w mleku badanych loch jak i w tkankach pochodzących od nich prosiąt.

Z kolei **Chung i in. (1992)** w swoich badaniach wykazali, że proces wchłaniania i zatrzymywania RRR- $\alpha$ -tokoferolu u odsadzonych świń, jest także efektywniejszy w porównaniu z all-rac- $\alpha$ -tokoferolem. Natomiast biopotencjał formy naturalnej do syntetycznej tokoferolu, wynosi w przybliżeniu nawet 2.44 do 1.00 U/mg.

Badania przeprowadzone na innych gatunkach zwierząt gospodarskich, potwierdziły istniejące zależności. Owce żywione dwiema formami  $\alpha$ -tokoferolu, wykazywały preferencję w kierunku RRR- $\alpha$ -tokoferolu (**Hidiroglou i in., 1988**). To samo wykazali **Roquet i in. (1992)** w badaniach przeprowadzonych na krowach. Natomiast **Papas i in. (1990)** stwierdzili, że zastosowanie dodatku RRR- $\alpha$ -tokoferolu w żywieniu koni, powodowało wzrost koncentracji  $\alpha$ -tokoferolu w surowicy o 1,4  $\mu$ g/ml ponad poziom bazowy. Po dodaniu all-rac- $\alpha$ -tokoferolu, wzrost ten był mniejszy i oscylował w granicach 0,3  $\mu$ g/ml.

## 1.5 EFEKT BIOLOGICZNY

Biologiczna i antyoksydacyjna aktywność wszystkich form witaminy E nie jest jednakowa. Przyjmuje się, że tylko  $\gamma$ -tokoferol ma zdolność do neutralizowania rodników tlenu azotu. Z kolei z innych badań przeprowadzonych *in vitro* wynika, że, działanie antyoksydacyjne wywierają również tokotrienole.  $\alpha$ -tokotrienol jest o 40-60% bardziej aktywny

antyoksydacyjnie w zapobieganiu peroksydacji lipidów niż  $\alpha$ -tokoferol (**Ziemiański i Watranowicz, 1999**)

Funkcje molekularne przypisywane w szczególności  $\alpha$ -tokoferolowi, zostały już dokładnie opisane, jednak wciąż ograniczają się one przede wszystkim do antyoksydacyjnej roli witaminy E. Należy tu wspomnieć, iż witaminie tej przypisuje się również inne funkcje, których mechanizm działania i fizjologia, mimo iż nie do końca są jeszcze poznane, zostały szeroko opisane.

### **1.5.1 Funkcje antyoksydacyjne**

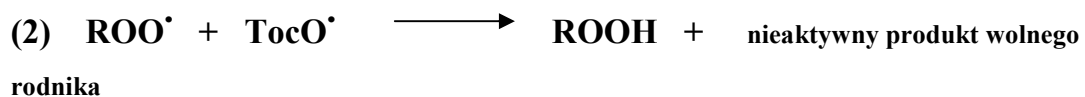
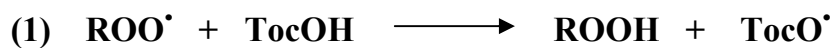
Aby zapobiegać procesom utleniania pewnych substancji, a przez to ograniczać tworzenie się wolnych rodników, względnie zmniejszać powstające uszkodzenia, organizm posiada zarówno enzymatyczne (dysmutaza ponadtlenkowa, peroksydaza glutationowa, katalaza), jak i nieenzymatyczne (witamina E, askorbinian,  $\beta$ -karoten, glutation) mechanizmy obrony.

Tokoferole (witamina E) są głównymi lipofilnymi antyoksydantami w surowicy, LDL i tkankach, które zapobiegają procesowi łańcuchowej peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, zawartych w fosfolipidach błon komórkowych i organelli subkomórkowych. Do właściwości antyoksydacyjnych tokoferolu należy zaliczyć jeszcze wygaszanie tlenu singletowego oraz wychwytywanie rodników hydroksylowych i ponadtlenkowych (**Ziemiański i Watranowicz, 1999**). Fosfolipidy błon mitochondrialnych, siateczki śródplazmatycznej oraz błon plazmatycznych, wykazują powinowadztwo do  $\alpha$ -tokoferolu i przyjmuje się, że witamina ta ulega koncentracji w tych strukturach. Tokoferole działają jako antyoksydanty (przeciwutleniacze) przerywając reakcje łańcuchowe generujące wolne rodniki (**Sies i Stahl, 1995; Brigelius-Flohe i Traber, 1999; Ziemiański i Watranowicz, 1999; Sroka i in., 2005**).

Wolne rodniki są atomami lub cząsteczkami, posiadającymi jeden lub więcej elektronów niesparowanych. W rezultacie tendencja do zdobycia elektronu czyni takie substancje bardzo reaktywnymi. Mogą one uszkadzać

większość struktur subkomórkowych, w tym błony, białka strukturalne, enzymy i kwasy nukleinowe. Uszkodzenie tych ostatnich może być przyczyną mutacji lub prowadzić nawet do śmierci komórki. Ze względu na swoją wysoką toksyczność zapobieganie powstawaniu bądź neutralizacja rodników tlenowych ma ogromne znaczenie dla organizmu. Anionorodnik ponadtlenkowy, rodnik nadtlenkowy, nadtlenek wodoru, rodnik hydroksylowy i tlen singletowy są podstawowymi cząsteczkami posiadającymi właściwości wolnorodnikowe.

Działanie antyoksydacyjne tokoferolu polega na transferze wodoru fenolowego na wolny rodnik nadtlenkowy peroksydowanego, wielonienasyconego kwasu tłuszczowego [Ryc.4 (1)].



Ryc. 4. Reakcja  $\alpha$ -tokoferolu z rodnikiem nadtlenkowym.

Powstały wolny rodnik fenoksy, może reagować z dalszym wolnym rodnikiem peroksydowym tak, że pierścień chromanu i reszta fitolu ulegają utlenieniu do związku niebędącego wolnym rodnikiem [(Ryc. 4 (2))]. Taki produkt oksydacji ulega połączeniu z kwasem glukuronowym za pośrednictwem grupy hydroksylowej w pozycji 2 i ulega wydaleniu z żółcią. Po spełnieniu swojej funkcji tokoferol musi zostać zastąpiony przez nowy, by móc spełniać swoje zadanie w komórce. Wyjątkiem jest przypadek, kiedy wolny rodnik fenoksy reaguje z witaminą C, co prowadzi do regeneracji tokoferolu [(Ryc. 4 (3))].

Ze względu na to, iż  $\alpha$ -tokoferol jest cząsteczką rozpuszczalną w tłuszczach, umiejscowiony jest głównie we wnętrzu błon komórkowych i w lipoproteinach. Jego hydrofobowy ogon znajduje się w błonie, podczas gdy pierścień benzenowy zawierający grupy OH znajduje się na powierzchni błon,

kontaktując się z zewnętrznym środowiskiem wodnym. Za reakcje z wolnymi rodnikami odpowiedzialna jest właśnie grupa OH połączona z aromatycznym pierścieniem chromanu (**Sroka i in., 2005**).

Innym, często pomijanym, aspektem działania, uznanego za antyoksydanta, tokoferolu, jest jego właściwość prooksydacyjna. Może ona ujawnić się w odpowiednim przedziale stężeń, zależnie od środowiska, ale przede wszystkim w obecności jonów metali przejściowych (Fe i Cu) (**Wierzba, 2005**). Podobnie jak kwas askorbinowy podczas redukcji Fe (III) do Fe (II) i Cu (II) do Cu (I), tokoferole stymulują powstawanie rodników OH•. Aby α-tokoferol mógł spełniać swoją rolę, musi być zapewniona jego recykulacja pomiędzy formę utlenioną i zredukowaną. Zwiększone stężenie rodników tlenowych pochodnych tokoferolu może w efekcie promować reakcje utleniania (**Wierzba, 2005**). Rodnik tokoferolowy poprzez stosunkowo wolną reakcję, jest bowiem zdolny oderwać wodór z cząsteczki wielonienasyconego kwasu tłuszczowego i w ten sposób działać jako słaby promotor utleniania tłuszczów bogatych w wielonienasycone kwasy tłuszczowe (**Sroka i in., 2005**).

Antyoksydacyjne właściwości witaminy E gwarantują trwałość błon komórkowych poszczególnych składników krwi, takich jak: erytrocyty, leukocyty oraz płytki krwi. Tokoferol zapobiega ich uszkodzeniom poprzez wymiatanie nadmiernej ilości wolnych rodników tlenowych. Erytrocyty zbudowane są z błony komórkowej, która bogata jest w wielonienasycone kwasy tłuszczowe i prócz tego zawierają w swojej strukturze białka hemu (cytochrom i hemoglobinę) oraz przenoszą metale, które działają jak prooksydanty (Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>).

Te ostanie, czynią lipidy zawarte w błonach komórkowych erytrocytów, bardziej podatnymi na utlenianie, pod warunkiem wysokiej koncentracji tlenu. W przypadku wystąpienia deficytu witaminy E we krwi, podatność erytrocytów na stres oksydacyjny wzrasta i wolne rodniki mogą atakować ich błony, prowadząc do zniszczenia komórek (**Combs, 1998; Suirai, 2001**).

Antyoksydacyjne działanie tokoferolu jest najbardziej skuteczne przy wysokich stężeniach tlenu, stąd powinowactwo tej witaminy do gromadzenia

się w strukturach lipidowych, eksponowanych na największe ciśnienia cząstkowe tlenu, takich jak właśnie błony krwinek czerwonych czy błony komórek dróg oddechowych.

Obecnie niewiele jest danych, mówiących o wpływie nadprodukcji wolnych rodników oraz tworzenia grup nadtlenkowych, na zdrowie zwierząt. Przyjmuje się, że organizm zwierzęcy jest stale narażony na atak wolnych rodników powstających jako naturalna konsekwencja aktywności metabolicznej organizmu oraz jako część strategii układu immunologicznego, chroniącego organizm przed atakiem mikroorganizmów (**Pinelli-Saavedra, 2003**). Zwykle istnieje równowaga pomiędzy powstającymi w organizmie wolnymi rodnikami a chroniącym przed skutkami ich oddziaływania tokoferolem. Ale nie należy zapominać o tym, że zwiększona produkcja wolnych rodników lub niedostateczna ochrona przed utlenianiem, może zaburzyć tę równowagę na korzyść stresu oksydacyjnego, który odgrywa nadrzędną rolę w powstawaniu wielu zwyrodnień i patologii (**Flachowsky, 2000**).

### 1.5.2 Witamina E a układ odpornościowy

Oddziaływanie witaminy E na układ odpornościowy zależne jest od dawki podawanego tokoferolu. Zastosowanie tokoferolu w dawkach odpowiadających zapotrzebowaniu wywiera pozytywny efekt na niektóre parametry układu odpornościowego u świń. Optymalna dawka witaminy E może jednak zostać ustalona tylko po uwzględnieniu innych czynników, takich jak: skład chemiczny paszy, tempo wzrostu, warunki utrzymania oraz stres, na który narażone są zwierzęta na wszystkich etapach odchowu. W wyniku niedoboru witaminy E w żywieniu zwierząt, dochodzi najczęściej do osłabienia funkcjonowania układu immunologicznego, co z kolei prowadzi do wzrostu podatności na infekcje.

W piśmiennictwie spotkać można wiele doniesień dotyczących roli witaminy E w modulacji zarówno komórkowej jak i niekomórkowej odpowiedzi immunologicznej. Już w **1974** roku **Heinzerling i in.** udowodnili, że suplementacja witaminą E prowadzi do wzrostu odporności kurcząt brojlerów

przeciwko szczepom *Escherichia coli*. Natomiast w **1979** roku **Stephens i in.**, wykazali wzrost odporności przeciwko Chlamydiom u owiec.

Udowodniono, że witamina E uczestniczy w dojrzewaniu, specjalizacji oraz proliferacji limfocytów T w grasicy. Poprzez zwiększenie dawki witaminy E ponad dawkę optymalną, zwiększa się proliferacja limfocytów T oraz dochodzi do różnicowania się niewykształconych jeszcze komórek T w grasicy. Wskutek deficytów witaminy E może dochodzić między innymi do zmniejszenia szybkości dojrzewania tymocytów (prekursorów komórek obwodowych – limfocytów T) (**Moriguchi i Muraga, 2000**). Poza tym tokoferole wywierają także wpływ na makrofagi. Tu wspomagają wydajność procesu fagocytozy i szybkość migracji.

Wykazano także, że u świń o masie ciała od 20-90 kg, w wyniku suplementacji witaminą E w ilości 40 mg na dzień oraz selenu w ilościach 0,5 i 0,1 ppm, występuje zwiększona aktywacja jednego z mitogenów stymulujących transformację blastyczną limfocytów T, tj.: fitohemaglutyniny (PHA). Stwierdzono, że dodatek witaminy E powodował wzrost aktywności mitogenu niezależnie od stosowanego dodatku selenu. Jednocześnie wykazano, że w grupie świń otrzymującej dodatek samej witaminy E aktywacja PHA była istotnie większa niż w grupie otrzymującej tylko selen. Jednocześnie najlepsze efekty uzyskano w grupie świń otrzymującej łączny dodatek obu związków (**Larsen i Tollersud, 1981**). Podobnie **Lessard i in. (1991)** wykazali, że u odsadzonych prosiąt w wyniku zastosowania diety ubogiej zarówno w witaminę E jak i selen, dochodziło do spadku aktywności mitogenu. W innych badaniach przeprowadzonych na 28 dniowych prosiątach, wykazano, że tylko wysokie dawki witaminy E (110 i 220 mg/kg paszy) stosowane w diecie ich matek, podwyższają istotnie ( $P < 0,05$ ) komórkową odpowiedź immunologiczną, w tym zarówno PHA jak i konkanawaliny A (Con A), czyli mitogenów stymulujących limfocyty. Istotnego wpływu nie wykazano jednak u samych loch (**Nemec i in., 1994**).

Jak podaje (**Waryastuti i in., 1993**), ograniczenie w dawce żywieniowej dla loch, dodatku witaminy E, prowadzi do osłabienia funkcji immunologicznych

limfocytów krwi obwodowej oraz polimorfonuklearnych leukocytów (PMN), podczas gdy ograniczenie dodatku selenu hamuje głównie funkcje PMN. Takie wyniki wskazują, że jeśli ciężarne lochy nie będą zaopatrywane w wystarczające ilości witaminy E oraz/lub selenu, wówczas razem z prosiętami będą bardziej podatne na występowanie procesów chorobowych w okresie okołoporodowym. Chociaż niedobór selenu prowadzi przede wszystkim do osłabienia funkcji neutrofilii to niedobór witaminy E dotyka zarówno neutrofilii jak i limfocytów.

W roku **1991 Brisson i Schultz**, przeprowadzili badania nad wpływem zastosowania diety ubogiej w witaminę E i selen na system immunologiczny świń. W trakcie doświadczenia trwającego 25 dni, okazało się, że zahamowana została proliferacja limfocytów oraz nastąpił spadek zawartości przeciwciał. Świnie żywione deficytową dawką witaminy E oraz selenu wykształciły w surowicy specjalny czynnik hamujący proliferację limfocytów. Dochodziło również do wzrostu zawartości granulocytów. Aktywność fagocytarna granulocytów obojętnochłonnych, w obliczu zwiększonej produkcji wolnych rodników, została jednakże obniżona.

Obecnie sugeruje się, że dodatek witaminy E do paszy dla świń, ma spore znaczenie jako metoda powodująca wzrost odporności loch i nowonarodzonych prosiąt na zakażenia jelitowe, wywoływane najczęściej przez enterotoksyczne szczepy *Escherichia coli*. Choroby wywoływane tą bakterią są najczęstszą przyczyną około-urodzeniowej oraz około-odsadzeniowej śmiertelności prosiąt (**Pharazyn i in., 1990**).

W wielu badaniach wykazano, że w wyniku zastosowania dodatku witaminy E do paszy następuje polepszenie humoralnej odpowiedzi immunologicznej u zwierząt. Dodatek tokoferolu do paszy odsadzonych prosiąt (4 – 5 tygodni życia i masa ciała około 7 kg) w ilości 220 mg/kg paszy spowodował u nich istotny wzrost miana przeciwciał przeciwko owczym czerwonym krwinkom (**Peplowsky i in., 1981**). Z kolei, **Bonnette i in. (1990)**, podając świnom o masie ciała od 6 do 26 kg, dodatek witaminy E w ilości 210 mg/kg paszy (karmionych wcześniej przez matki żywione według zaleceń norm NRC - the National Research Council) odnośnie zapotrzebowania na witaminę E



i selen, nie wykazali różnic w ilości przeciwciał przeciwko owczym czerwonym krwinkom. Zaistniałe różnice między dwoma doświadczeniami, mogą być spowodowane wyjściową koncentracją witaminy E w surowicy prosiąt, która w przypadku badań przeprowadzonych przez **Bonnette i in. (1990)** wynosiła  $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ , a u **Peplowsky i in. (1981)** wynosiła  $4 \mu\text{g mL}^{-1}$ . W badaniach (**Peplowsky i in., 1981**), objęte doświadczeniem lochy, przez wiele pokoleń nie otrzymywały dodatku witaminy E, stąd prawdopodobnie różnice w wyjściowym poziomie  $\alpha$ -tokoferolu w surowicy pochodzących od nich prosiąt.

**Hidiroglou i in. (1995)**, przeprowadzili doświadczenie nad zastosowaniem iniekcji z witaminy E w dawce 500 i 1000 mg oraz 10 mg hemocyjaniny - KLH (keyhol limpet haemocyanin) u prosiąt w wieku 7 i 14 dni. Wykazali, że miano przeciwciał anti-KLH było różne w zależności od podanej domięśniowo dawki witaminy E i jednocześnie istotnie wyższe ( $P < 0,05$ ) w porównaniu z grupą kontrolną w 21. (17 do 2 mg/100ml), 28. (1216 do 261 mg/100ml) oraz 35. (760 do 175 mg/100ml) dniu życia. Zastosowana dawka witaminy E, spowodowała również wzrost koncentracji tokoferolu w surowicy prosiąt z  $2,52$  do  $7,22 \mu\text{g/mL}^{-1}$ .

Wzbogacenie zwierząt w  $\alpha$ -tokoferol oraz/lub selen za pomocą iniekcji domięśniowych przeprowadzili również **Hayek i in. (1989)**. W swoim doświadczeniu wykazali, że zastosowane jednorazowe iniekcje witaminy E i selenu powodowały zwiększone przekazywanie odporności prosiętom przez lochy, które żywione były paszą z rekomendowanym przez NRC (1988), dodatkiem tych składników. Badania te mogą wskazywać, że powszechnie uznany i stosowany poziom dodatku witaminy E i selenu może być zbyt niski, aby zachować funkcje odpornościowe na optymalnym poziomie.

Wpływ zastosowania dodatku witaminy E w żywieniu świń, na wzrost odpowiedzi immunologicznej po zastosowaniu szczepionek był do tej pory tematem rzadko podejmowanym. Pierwsze badania nad tym zagadnieniem przeprowadzone zostały przez **Ellis i in.** w **1976** roku. Badacze wykazali pozytywny efekt suplementacji witaminą E (w ilości  $100 \text{ mg/kg}^{-1}$ ) u świń dostających w iniekcjach domięśniowych inaktywowane bakterie *Escherichia*

*coli*. W doświadczeniu stwierdzono, że grupa świń otrzymująca w paszy dodatek witaminy E, miała dwa do trzy razy wyższe miano przeciwciał *anty-E coli* w porównaniu z grupą kontrolną.

**Babinszky i in. (1991)**, w swoim doświadczeniu wykazali, że zastosowanie dodatku dużych ilości witaminy E (136 mg na kg paszy) oraz selenu w ilości 0,1 mg na kg paszy w dawce dla loch, miało wpływ na koncentrację  $\alpha$ -tokoferolu w surowicy prosiąt, podczas pierwszych dni laktacji. Wykazano, że po tygodniu od immunizacji ovalbuminą, nastąpił również wzrost humoralnej odpowiedzi immunologicznej u 5 tygodniowych prosiąt. Wzrost ten był wyższy ( $P < 0,05$ ) w grupie prosiąt, których matki otrzymywały z paszą wysokie dawki witaminy E, w porównaniu z grupą świń żywioną paszą o niskiej (13 mg na kg paszy) koncentracji  $\alpha$ -tokoferolu. Badania te sugerują, że wzrost odporności humoralnej u świń po odsadzeniu, może być efektem zastosowanego wcześniej dodatku witaminy E i selenu w żywieniu ich matek.

Wpływ dodatku witaminy E na funkcjonowanie układu odpornościowego, był przedmiotem badań również u innych gatunków zwierząt, takich jak: krowy i cielęta, owce, myszy a także u ludzi (**Smith i in., 1984; Reddy i in., 1987; Hogan i in., 1990; Batra i in., 1992; Pollock i in., 1994; Politis i in., 1995; Brennan i in., 2000**). W odniesieniu do nich wszystkich, udowodniono również immunomodulacyjne właściwości witaminy E.

Dostępne doniesienia wskazują, że u myszy, szczurów czy ludzi, witamina E może pobudzać różnicowanie limfocytów T helper 1 (Th 1) oraz zmniejszać wydzielanie interleukiny-4 (IL-4) (**Morigushi i in., 1993; Wang i Watson, 1994; Wang i in., 1995; Han i in., 2000; Melmberg i in., 2002**). Nie znaleziono jednak podobnych doniesień, jeśli chodzi o trzodę chlewną.

**Corwin i Shloss (1980)** oraz **Gebremichael i in. (1984)** wykazali, że zwierzęta laboratoryjne, u których występował deficyt witaminy E miały znacznie niższy poziom płytek krwi w porównaniu z grupami kontrolnymi. W innych badaniach wykazano natomiast, że u świnek morskich (**Bendich i in. 1984**) oraz u myszy (**Bendich i in. 1986**) żywionych dietą ubogą w witaminę E, ale przy zachowaniu wszystkich pozostałych niezbędnych składników

biologicznie czynnych, na odpowiednim poziomie, dochodziło do osłabienia odpowiedzi komórkowej zarówno limfocytów T jak i limfocytów B. **Bendich i in. (1986)** zaobserwowali, że układ immunologiczny pracował prawidłowo do momentu, kiedy z diety mysz usunięto dodatek witaminy E. **Eskew i in. (1985)**, stosując dietę ubogą w witaminę E w żywieniu szczurów, wykazali spadek aktywności mitogenu indukującego proliferację limfocytów T.

Należy pamiętać, że optymalny poziom witaminy E, potrzebny do polepszenia funkcjonowania układu odpornościowego jest nadal niejasny. Wcześniejsze badania sugerują, że zapotrzebowanie zwierząt na  $\alpha$ - tokoferol zawarty w paszy w celu utrzymania odpowiedzi immunologicznej na optymalnym poziomie oraz dla prawidłowego wzrostu i reprodukcji, może być dużo wyższe niż poziom powszechnie rekomendowany i przedstawiany w obowiązujących aktualnie normach żywieniowych od 35 do 80mg/kg paszy (**Whittemore i in. 2002**). Zwiększenie dodatku witaminy E w żywieniu zwierząt od 2-10 razy w porównaniu z proponowanym w normach poziomem, istotnie zwiększa zarówno humoralną jak i komórkową odpowiedź immunologiczną. Powoduje istotne polepszenie funkcji fagocytarnych i to zarówno u zwierząt laboratoryjnych jak i gospodarskich, włącznie z trzodą chlewną. Zmniejsza jednocześnie zapadalność tych zwierząt na choroby infekcyjne.

### **1.5.3. Użytkowość rozrodcza a witamina E**

Wystarczające zaopatrzenie loch w witaminę E, może mieć decydujący wpływ zarówno na ich rozrodczość, liczbę żywych prosiąt urodzonych w miocie, masę prosiąt przy urodzeniu, a także koncentrację witaminy E w surowicy osesków. Odporność nowonarodzonych prosiąt zależy nie tylko od ich statusu immunologicznego, ale także od zaopatrzenia ich przez lochy, w wystarczające ilości zarówno witaminy E jak i selenu (**Mavromatis i in. 1999**). Karmiące lochy narażone są w dużym stopniu na ryzyko występowania zespołu chorobowego, określanego mianem MMA (Mastitis-Metritis-Agalaktiae). **Mahan (1994)** w żywieniu ciężarnych loch, zastosował dodatek różnych ilości witaminy E (22, 44

i 66 IU  $\alpha$ - tokoferolu/kg). Poprzez zwiększanie w dawce żywieniowej loch, poziomu  $\alpha$ -tokoferolu, następowało zmniejszenie się częstości zachorowań macior na MMA. Ta interakcja między ilością  $\alpha$ -tokoferolu w paszy a występowaniem kompleksu MMA, miała charakter odwracalny. Jednocześnie ze zmniejszeniem poziomu witaminy E dodawanej do paszy, częstotliwość zachorowań macior na MMA wzrastała.

**Weiss i in. (1997)** w przeprowadzonych badaniach na krowach, osiągnęli podobne rezultaty co **Mahan (1994)**. Badali wpływ zastosowania zwiększonych dawek witaminy E i selenu, na częstotliwość występowania chorób wymienia. W swoich doświadczeniach dowiedli, że zastosowanie dodatku witaminy E i selenu dwa tygodnie przed oraz do dwóch tygodni po porodzie, spowodowało wyraźne zmniejszenie częstości występowania klinicznych przypadków mastitis u krów. W wyniku zredukowania patogennej flory bakteryjnej wymienia, nastąpiło jednoczesne polepszenie jakości mleka.

W roku **1922 Evans i Bishop** odkryli, że u szczurów pozbawionych dodatku witaminy E występuje osłabiona zdolność do reprodukcji. Evans, temu jeszcze wówczas nieznanemu „czynnikowi X”, dał nazwę TOKOFEROL (tocos = poród), dla podkreślenia sposobu oddziaływania witaminy E, tzw. witaminy rozrodczości. Przy niedostatku tokoferolu dochodziło bowiem, między innymi, do obumierania płodów. Przy olbrzymim deficycie tokoferolu dochodziło natomiast do obumierania i resorpcji zarodków już na wczesnym etapie ich rozwoju. Długo utrzymujący się znaczny niedobór witaminy E powodował powstawanie niepłodności, która jednak poprzez zlikwidowanie deficytu tokoferolu mogła zostać ponownie przywrócona.

Witamina E, jest również niezbędna dla tworzenia i utrzymywania prawidłowych funkcji łożyska. Niedobór tokoferolu prowadzi może do patologii anatomicznych w obrębie takich narządów jak macica czy jajniki (**Das i Chowdhury, 1999**). Takie objawy stwierdzone zostały u 30 dniowych samic szczurów. Stwierdzono spadek koncentracji estrogenów w osoczu krwi. W kolejności dochodziło do powstawania dysfunkcji jajników poprzez resorpcję dojrzewających pęcherzyków oraz rozszerzanie się macicy. Następowo

pogrubienie ściany macicy, która stawała się żółtawo zabarwiona, jak również dochodziło do degeneracji samej mięśniówki. Stan taki, przy pomocy zwiększonych dawek witaminy E, mógł jednak zostać całkowicie odwrócony i przywrócony do prawidłowego. Podobne wyniki uzyskał również **Mahan** w roku **1991** oraz **1994**. Także w jego badaniach koncentracja witaminy E w surowicy loch wzrastała wyraźnie po zastosowaniu dodatku tokoferolu. Podobnie, stężenie witaminy E w sianie i mleku loch było wyższe w wyniku suplementacji  $\alpha$ -tokoferolem. Pomiar koncentracji witaminy E wykazał, że jego zawartość w sianie jest 3 do 4 razy wyższa niż w mleku. Należy w tym miejscu zaznaczyć, że szczególnie istotna dla prosiąt w pierwszych godzinach życia, jest właśnie koncentracja witaminy E w sianie. Wynika to z faktu, że łożysko loch jest praktycznie nieprzepuszczalne dla  $\alpha$ -tokoferolu (**Lauridsen i in. 2002a**). Wyniki uzyskane przez **Mahan'a** wskazują także, że zaopatrzenie ciężarnych loch w  $\alpha$ -tokoferol w ilości 16 IU witaminy E/kg nie jest wystarczające.

W doświadczeniu przeprowadzonym przez **Miller'a (1986)** ciężarne lochy otrzymywały dodatek 50 IU witaminy E/kg oraz 1 ppm selenu. Udowodniono, że stosowany dodatek, miał wpływ na wzrost koncentracji tych substancji zarówno w sianie jak i w mleku loch, jednakże nie spowodował wzrostu zawartości peroksydazy glutationowej (GSH-Px) w osoczu krwi. Podobne rezultaty przedstawili również **Mahan i in. (2000)**. Zwiększenie koncentracji witaminy E i selenu w dawce paszy, skutkowało ich proporcjonalnym wzrostem zawartości w mleku loch. Stężenie zwłaszcza witaminy E w sianie, było znacząco wyższe w porównaniu z koncentracją w mleku pozyskanym pod koniec laktacji. Status antyoksydacyjny tych loch był na niskim poziomie. Jednakże zawartość  $\alpha$ -tokoferolu i GSH-Px u prosiąt wzrastała od 2 dnia życia osiągając poziom prawie 20 razy wyższy niż normalnie. Takie wysokie stężenia utrzymywały się przez cały okres odchowu prosiąt.

W wyniku optymalnego zaopatrzenia loch w witaminę E można wpływać na poprawę ich użytkowości rozplodowej. Zwiększenie liczby owulowanych komórek rozrodczych oraz zmniejszenie zamieralności zarodków prowadzi z kolei bezpośrednio do uzyskania większej liczby żywo urodzonych prosiąt od

lochy (**Mahan 1994**). **Mavromatis i in. (1999)** w swoich badaniach również potwierdzili synergistyczne działanie witaminy E i selenu. Wszystkie prosięta należące do grupy otrzymującej najwyższe dawki witaminy E i selenu miały już od pierwszego dnia najwyższy poziom immunoglobulin w surowicy. Także liczba prosiąt żywo urodzonych w miocie, masa miotu, tempo wzrostu oraz masa prosiąt przy odsadzeniu były istotnie wyższe w grupie prosiąt, których matki w 30, 60 i 90 dniu ciąży otrzymywały z paszą dodatek 50 mg witaminy E/kg oraz dodatek 0,45 mg selenu/kg.

Witamina E, odgrywa nie tylko bardzo istotną rolę w prawidłowym rozwoju jąder, ale również odpowiedzialna jest za prawidłowy przebieg procesów spermatogenezy (**Cooper i in., 1987**). Przyjmuje się, że długość cyklu spermatogenezy trwa u świń przeciętnie 45 dni. Deficyt witaminy E w tym okresie może prowadzić u knurów do atrofii jąder, degeneracji a nawet martwicy kanalików nasiennych, a także może mieć wpływ na zmniejszoną ruchliwość plemników. **Marin-Gunzman i in. (1997)** odkryli, że niedobór witaminy E i selenu w żywieniu samców szczura, może prowadzić nie tylko do obniżenia ruchliwości plemników, ale również do występowania większej ilości plemników uszkodzonych, w tym najwięcej plemników o nieprawidłowej budowie. Komórki Sertoliego, czyli inaczej zwane komórki zrębu jądra, są niezbędne w procesie dojrzewania plemników. Tworzą odpowiednie środowisko i troszczą się o prawidłowy transport w świetle kanalików. Badania przeprowadzone przez **Marin-Gunzman i in. (1997)** wykazały, że zarówno kształt jak i wielkość tych komórek była jednakowa, tylko liczba ich była znacznie wyższa w porównaniu z grupą kontrolną. Dodatkowo posiadały w centralnej strefie dużą kropelkę tłuszczu. Ta kropla zawierała końcowe produkty przemiany spermatyd, które fagocytowane były przez komórki Sertoliego między 42 a 48 dniem spermatogenezy. Już po 48 dniach stosowania niedoborowych ilości witaminy E, dochodziło u szczurów, do powstawania anomalii w obrębie jąder, które prowadziły w konsekwencji do zmniejszenia ich masy.

W **2000** roku **Marin-Gunzman i in.**, nie potwierdzili uzyskanych wcześniej wyników badań, przeprowadzając podobne doświadczenie na knurach.

W wyniku niedoboru witaminy E i selenu, nie dochodziło do powstawania zmian w obrębie jąder czy najądrzy. Nie doszło do zaburzeń procesów spermatogenezy, a co się z tym wiąże do spadku użytkowości rozplodowej knurów. Być może wpływ na takie wyniki badań miała zbyt wysoka dawka witaminy E stosowanej w paszy podstawowej.

W wielu badaniach, wykazano wzrost liczebności miotów oraz zmniejszenie śmiertelności prosiąt w okresie do odsadzenia, co było skutkiem zastosowania dodatku witaminy E (łącznie z selenem) w diecie (**Cline i in., 1974; Mahan, 1991**) albo w iniekcjach domięśniowych, u loch w okresie ciąży (**Chavez i Patton, 1986; Migdał i Kaczmarczyk, 1993; Mavromatis i in., 1999**). W wyniku zastosowanej suplementacji  $\alpha$ -tokoferolem i selenem wykazano również nie tylko wzrost liczebności miotów, ale także większą masę urodzonych prosiąt. W przeciwieństwie, dodatek samej witaminy E nie spowodował podobnych efektów przy urodzeniu, miał natomiast wpływ na wzrost liczebności miotów przy odsadzeniu. **Mahan (1991)**, żywił loszki paszą z dodatkiem selenu i  $\alpha$ -tokoferolu i wykazał wzrost liczebności miotów przy urodzeniu u loszek otrzymujących dodatek witaminy E, w porównaniu z grupą kontrolną.

W badaniach **Chavez i Patton (1986)**, pasza podstawowa stosowana w grupie kontrolnej zawierała w dawce około 0,1 ppm Se i 15 mg witaminy E/kg paszy. Lochy doświadczalne otrzymywały paszę podstawową plus domięśniowe iniekcje 3 mg Se i 408 mg dl- $\alpha$ -tokoferolu (grupa II), natomiast grupa III loch, tak jak grupa II plus takie same iniekcje przy odsadzeniu prosiąt lub tydzień przed przewidywaną inseminacją. Wykazano, że lochy pochodzące z grup gdzie zastosowano iniekcje, istotnie różniły się pod względem użytkowości rozrodczej w zakresie cech, takich jak wielkość miotu przy urodzeniu oraz po odsadzeniu, masą miotu przy urodzeniu oraz śmiertelnością prosiąt w okresie do odsadzenia, w porównaniu z grupą kontrolną loch. Wykazano korzystne zmiany w zakresie wszystkich wspomnianych parametrów, zarówno w grupie II jak i III. Nie wykazano natomiast istotnych różnic w zakresie poodsadzeniowej śmiertelności prosiąt. Badacze zasugerowali, że stosując okresowe iniekcje witaminy E i

seleniu, można wpływać na wzrost liczebności miotów zarówno przy urodzeniu jak i po odsadzeniu, a także na wzrost masy miotu przy urodzeniu. **Migdał i Kaczmarczyk (1993)**, wykazali także, że masa ciała prosiąt przy urodzeniu, pochodzących od loch otrzymujących 21 i 7 dni przed porodem iniekcje z witaminy E i seleniu, była istotnie wyższa ( $P \geq 0.05$ ) w porównaniu z grupą kontrolną. Prócz tego, prosięta pochodzące od loch otrzymujących iniekcje 21 dni przed porodem oraz 21 i 7 dni przed porodem osiągały istotnie wyższe dzienne przyrosty masy ciała w okresie od 1 do 21 dnia życia, w porównaniu z grupą kontrolną. Śmiertelność prosiąt, do 21 dnia życia, pochodzących po matkach otrzymujących iniekcje 21 dni przed porodem była natomiast istotnie niższa (5,06%) w porównaniu z grupą kontrolną (8,24%). Nie wykazano natomiast różnic w liczebności miotów między badanymi grupami zwierząt. Autorzy stwierdzili, że stosowanie iniekcji z witaminy E i seleniu u loch w okresie ciąży, wpływa zarówno na zwiększenie przeżywalności, jak i lepszy wzrost pochodzących od nich prosiąt, mimo faktu, że zwierzęta z grupy kontrolnej żywione były paszą, z rekomendowanym w normach żywienia świń, dodatkiem tych komponentów.

W przeciwieństwie, badania innych autorów nad zastosowaniem dodatku 100 mg witaminy E oraz 50  $\mu\text{g}$  Se/kg do paszy stosowanej w żywieniu ciężarnych loch, nie wykazały różnic w zakresie cech użytkowości rozrodczej tych loch, w porównaniu z grupą kontrolną. Zaobserwowano wprawdzie tendencje w kierunku zwiększenia się liczebności miotów, jednak nie wyciągnięto jednoznacznych wniosków (**Malm i in., 1976**). Inni autorzy, tacy jak **Wilkinson i in. (1977)** i **Pharazyn i in. (1990)**, wykazali także brak odpowiedzi na zastosowane dodatki, zarówno jeśli chodziło o liczebność miotów jak i o masę prosiąt.

Obecnie sugeruje się, że antyoksydacyjna funkcja witaminy E, w połączeniu z systemowymi enzymami takimi jak peroksydaza glutationowa, odgrywa ważną rolę także w reprodukcji, chroniąc komórki układu rozrodczego. Należy zaznaczyć, że bardzo ważnym składnikiem GSH-Px jest selen. Podczas gdy witamina E oczyszcza z wolnych rodników błony komórkowe, GSH-Px nie



dopuszcza do peroksydacji lipidów zawartych w rozpuszczalnej fazie komórki. Z tego powodu, witamina E razem z selenem chroni lipidy komórkowe przed utlenianiem oraz działaniem wolnych rodników powstających w narządach rozrodczych np. podczas regresji ciała żółtego. Zawartość witaminy E w jajnikach, jak podaje **Chew (1995)**, zmienia się dramatycznie podczas rozwoju a później regresji ciałek żółtych. Jak donoszą natomiast **Tarin i in. (1998)** zastosowanie dodatku witaminy E w połączeniu z witaminą C, może mieć wpływ na płodność samic myszy.

#### **1.5.4 WPLYW WITAMINY E NA MŁODE ORGANIZMY**

Prosięta stanowią szczególną grupę produkcyjną, u której istnieje duże zagrożenie związane z niedoborem witaminy E, zwłaszcza że rodzą się one z dużym jej deficytem. Przeważnie niska koncentracja witaminy E u rodzących się prosiąt, dotyczy całego miotu. Często są to prosięta, których matki w okresie ciąży otrzymywały niewystarczające ilości witaminy E i dodatkowo, u których występowały różne objawy i symptomy tego niedoboru. U takich prosiąt, podczas pierwszego tygodnia życia, dochodzi do rozwoju solidnej dystrofii mięśni, objawiającej się na początku apatią do ruchu. Dawniej takie drastyczne problemy dotyczyły najczęściej zwierząt pod koniec zimy, bądź na początku wiosny. Obecnie jednak, ze względu na zalecenia stosowania rekomendowanych w normach ilości witaminy E w dodatkach do paszy, takie przypadki są stosunkowo rzadko spotykane.

Aby zapobiegać powstawaniu anemii u prosiąt, stosuje się rutynowe szczepienia żelazem. Należy jednak zwrócić uwagę, że u prosiąt cierpiących na niedobór witaminy E, takie szczepienie może spowodować pewne komplikacje, które w najgorszym przypadku mogą doprowadzić nawet do śmierci zwierzęcia. Pierwsze niepokojące symptomy mogą powstać w miejscu przeprowadzonej iniekcji i objawiać się odczynem zapalnym w miejscu ukłucia. Wielkość tych reakcji zapalnych będzie zależała od jakości podawanego preparatu, ale również od wieku prosięcia i jego zaopatrzenia w witaminę E. Już po kilku godzinach

takie prosięta wykazują niechęć do ruchu, są apatyczne i mają obniżone napięcie mięśniowe. Nie potrafią ustać przez krótką chwilę, a w kojcu leżą najczęściej w jednym miejscu, bez przemieszczania się (**Tollerz i Lanek, 1964**). Aby zapobiegać upadkom prosiąt, **Kolb i Hoffman w 1989** roku zaproponowali, że pierwsze szczepienie prosiąt żelazem należy przeprowadzać nie później niż do 3 dnia życia, gdyż w tym okresie organizm prosiąt wzbogacany jest w duże ilości witaminy E pobranej z siarą. Najnowsze badania przedstawiają, że rozwój anemii u prosiąt, rozpoczyna się już 6 godzin po urodzeniu. W związku z tym, proponuje się, aby do tego czasu prosięta otrzymały pierwsze dawki żelaza w postaci doustnej. **Iben (1998)** wykazał, że doustne podanie żelaza prosiętom w pierwszych godzinach po urodzeniu, znacząco zmniejsza procent przypadków anemii i jest korzystniejsze w porównaniu z iniekcjami domięśniowymi. Zastosowanie tych drugich przynosi lepsze wyniki, podczas powtórnego szczepienia prosiąt.

Jak już wspomniano, status witaminy E u nowonarodzonych prosiąt zależy od ich matek. Wiadomym jest, że bezpośrednio po urodzeniu początkowa, bardzo niska koncentracja witaminy E szybko wzrasta, na skutek pobierania  $\alpha$ -tokferolu najpierw z siarą, a później z mlekiem matki. Jednakże do tej pory istnieje mało dowodów, na ile transport witaminy E przez łożysko ma wpływ na jej zawartość u nowonarodzonych prosiąt. W **1976** roku **Malm i in.** wykazali, że koncentracja witaminy E u prosiąt po urodzeniu, które nie pobrały jeszcze siary, była kilkakrotnie wyższa niż u ich matek, co wskazywałoby na wydajny transport  $\alpha$ - tokoferolu przez łożysko. Sytuację taką zaobserwowano nawet w przypadku, gdy lochy nie otrzymywały dodatku witaminy E. Większość doniesień mówi jednak o tym, że zanim prosięta pobiorą siarę, koncentracja witaminy E w ich surowicy jest niska, niezależnie od tego czy ich matki podczas ciąży były czy też nie były, suplementowane odpowiednimi dawkami witaminy E (**Young i in., 1977; Loudenslager i in., 1986; Babinszky i in., 1991; Farnworth i in., 1995; Hidiroglou i in., 1995**). Niska zawartość  $\alpha$ - tokoferolu, zarówno w osoczu krwi jak i w tkankach nowonarodzonych prosiąt, wskazuje na słaby transport witaminy E przez łożysko. Istnieją dwa doniesienia sugerujące, że

ilość witaminy E u nowonarodzonych prosiąt przed ssaniem wzrastała w przypadku, gdy ich matki podczas ciąży otrzymywały dodatek witaminy E. Jednak wykazano, że transport witaminy E przez łożysko był tam bardzo niewielki (**Mahan, 1991**).

U innych gatunków zwierząt, np. u krów i owiec stwierdzono występowanie niewielkiego transportu witaminy E przez łożysko. Był on jednak praktycznie nieistotny (**Van Suan i in., 1989; Nockels, 1991; Njeru i in., 1994**). Podawanie owcom z paszą dodatku witaminy E w ilościach 0, 15, 30 i 60 mg na dzień, począwszy od 28 dnia ciąży do 28 dnia po porodzie, nie miało wpływu na koncentrację  $\alpha$ -tokoferolu w surowicy ich potomstwa, co potwierdziło nieudolność transferu łożyskowego. Koncentracja  $\alpha$ -tokoferolu w surowicy owiec osesków wzrastała proporcjonalnie do pobrania przez nie siary.

W przypadku ludzi stwierdzono także, że transport witaminy E przez łożysko jest praktycznie niezauważalny (**Njeru i in., 1994**). W badaniach tych wykazano, że suplementacja witaminą E w ilości 1g  $\alpha$ -tokoferolu na dzień u 10 ciężarnych kobiet przez 3 dni przed porodem, powodowała wzrost koncentracji  $\alpha$ -tokoferolu w osoczu i czerwonych krwinkach u tych matek, jednak zawartość witaminy E w osoczu noworodków była bardzo niska. Inne badania przeprowadzone przez **Leger i in. (1998)** wskazują również na bardzo słaby transport witaminy E przez łożysko. A sam mechanizm tego procesu nie został jeszcze dokładnie poznany.

Podsumowując, należy stwierdzić, że dodatek witaminy E zarówno z paszą jak i w domięśniowych iniekcjach, wpływa korzystnie na użytkowość rozrodczą. Przy czym dodatek  $\alpha$ -tokoferolu w połączeniu z selenem, ma korzystniejsze oddziaływanie. W przypadku układu immunologicznego należy przyjąć, że tylko dawka od 2 do 10 razy wyższa niż zalecana w normach, wpływa korzystnie, zwiększając siłę odpowiedzi immunologicznej.

Z dostępnych badań wynika, że efektywność zastosowania dodatku witaminy E na użytkowość rozrodczą jak i na układ immunologiczny zależy od wielu czynników takich jak np. rodzaj suplementacji (z paszą bądź w iniekcjach), dawki podawanego tokoferolu, czasu trwania suplementacji, składu mieszanki,

spożycia paszy, tempa wzrostu, wielkości produkcji zwierzęcej oraz warunków utrzymania, w tym stresu i wielkości obsady. Wymienione czynniki sprawiają, że ustalenie optymalnej dawki witaminy E niezbędnej dla prawidłowego wzrostu, rozwoju oraz użytkowości zwierząt, jest wciąż bardzo trudne. Z tego powodu wciąż prowadzi się wiele doświadczeń, nad stosowaniem dodatku witaminy E i określeniem jej wpływu na układ immunologiczny oraz użytkowość rozrodczą, w połączeniu także z innymi związkami biologicznie czynnymi, takimi jak np. wspomniany wcześniej selen. Wykorzystanie takich kombinacji może być bardzo pożądane, gdyż witamina E współdziała korzystnie również z innymi witaminami w tym głównie z witaminą C.

## 2. WITAMINA C

Witamina C (kwas askorbinowy) należy do substancji rozpuszczalnych w wodzie, jest trwała w roztworach o pH poniżej 6.0 i łatwo ulega utlenieniu do kwasu dehydroaskorbinowego, wykazującego również aktywność biologiczną. Oba kwasy w niskich stężeniach działają jako prooksydanty, natomiast w wysokich jako antyutleniacze (**Madej i Grzęda, 2000**).

Najważniejszą właściwością witaminy C, decydującą o jej aktywności biologicznej jest zdolność odwracalnego utleniania i redukcji. Jest ona zaliczana do grupy antyoksydantów fazy wodnej, hamujących inicjację łańcuchowych reakcji wolnorodnikowych. Poprzez donację wodoru, witamina C neutralizuje krótko żyjące rodniki hydroksylowe, oksyalkoholowe, ponadtlenkowe azotowe, przy czym dochodzi do powstawania stabilnych i niereaktywnych rodników askorbinowych. Rodniki te są regenerowane do postaci kwasu askorbinowego z udziałem glutationu (**Konopacka, 2004**).

Ważną funkcją kwasu askorbinowego jest jego zdolność do regenerowania antyoksydantów hydrofobowych, w tym  $\beta$ -karotenu i przede wszystkim  $\alpha$ -tokoferolu, z ich postaci rodnikowych (**Niki i in., 1992**).

Witamina C pełni w komórkach istotną rolę w utrzymywaniu odpowiedniego potencjału oksydoredukcyjnego, przez uczestnictwo w

neutralizowaniu powstających w metabolizmie komórkowym, reaktywnych form tlenu i azotu (**Konopacka, 2004**). Kwas askorbinowy jest najsilniejszym i nisko toksycznym antyoksydantem. Występuje powszechnie w roślinach, a jego wysokie koncentracje stwierdza się również w tkankach zwierzęcych. Uważany jest za jeden z głównych mechanizmów obronnych znajdujących się w surowicy zwierząt (**Velenzuela, 2002**). Od wielu lat interesuje naukowców, głównie dzięki pozytywnemu oddziaływaniu na siłę odpowiedzi immunologicznej i zmniejszaniu częstości występowania stanów chorobowych u zwierząt. W ostatnim czasie szczególną uwagę zwraca się na zdolność kwasu askorbinowego do stymulowania odporności zarówno komórkowej jak i humoralnej (**Chew, 1995**). Stężenie witaminy C w leukocytach jest wielokrotnie wyższe niż w innych komórkach i zabezpiecza to między innymi prawidłową zdolność przemieszczania się i aktywność fagocytarną neutrofilów. Stwierdzono również stymulujący wpływ kwasu askorbinowego na syntezę interferonu, a nawet bezpośrednie działanie bójcze na wirusy i niektóre bakterie (**Madej i Grzęda, 2000**).

Badania przeprowadzone przez **Eicher i in. (2006)** wykazały, że zastosowanie dodatku witaminy C u świń, miało wpływ na wzrost liczby granulocytów oraz limfocytów w porównaniu z grupą kontrolną. Zawartość TNF- $\alpha$  była natomiast na niższym poziomie.

**Schwager i Schulze (1998)**, badali wpływ witaminy C na komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PMBC), u świń z wrodzoną upośledzoną syntezą witaminy C. Wykazali, że stymulacja mitogenów limfocytów B i T przez PMBC była niższa u świń bez suplementacji, w porównaniu z grupą otrzymującą dodatek witaminy C. Również produkcja IL-2 oraz IL-6 wzrastała w wyniku suplementacji kwasem askorbinowym. Przedstawione wyniki badań sugerują istnienie ścisłych powiązań między koncentracją witaminy C w komórkach a aktywnością różnych genów w limfocytach. Jednakże wpływ na aktywację tych genów może być różny. To oznacza, że kwas askorbinowy może w różnym stopniu oddziaływać także na ekspresję tych genów, a w związku z tym także na parametry immunologiczne.

Struktura kwasu askorbinowego przypomina strukturę glukozy, z której witamina C powstaje u większości zwierząt wyższych, w tym również u świń. Wyjątek stanowią małpy, świnki morskie, nietoperze oraz niektóre gatunki ptaków i ryb, które na skutek utraty specyficznego enzymu, biorącego udział w końcowej fazie biosyntezy witaminy C, nie są zdolne do jej wytwarzania. Wówczas zapotrzebowanie na tę witaminę pokrywane jest z pożywienia, najczęściej pochodzenia roślinnego.

U zwierząt niższych i częściowo u niektórych gatunków ptaków, za miejsce syntezy witaminy C, uważane są nerki. Natomiast ssaki łożyskowe i ptaki wróblowate, syntetyzują kwas askorbinowy głównie w wątrobie.

Sama zdolność do syntezy witaminy C warunkowana jest występowaniem specyficznego enzymu oksydazy L-gulonolaktonowej. Za jej pośrednictwem dochodzi do przekształcenia L-gulonolaktonu w kwas L-askorbinowy. Wielkość syntezy kwasu askorbinowego jest różna u poszczególnych gatunków zwierząt i zależy przede wszystkim od ich zapotrzebowania, od składu dawki pokarmowej oraz od innych czynników, w tym co jest bardzo ważne, od stanu czynnościowego wątroby czy nerek. U dużych zwierząt gospodarskich endogenna synteza kwasu askorbinowego spada do minimum w przypadku ostrej dysfunkcji wątroby, a także w przebiegu ciężkich zaburzeń metabolicznych i zatruc (**Madej i Grzęda, 2000**).

Pierwsze badania nad witaminą C wykazały, iż nie stanowi ona czynnika niezbędnego w żywieniu świń. Są one, bowiem w stanie same ją syntetyzować. Biorąc jednak pod uwagę intensywność produkcji i ciągle podnoszenie parametrów produkcyjnych zwierząt, nasuwa się pytanie czy poziom pierwotnej syntezy jest nadal wystarczający do pokrycia zapotrzebowania świń na kwas askorbinowy. Stanowi to bardzo istotny problem przede wszystkim w odniesieniu do prosiąt. Przez cały okres odchowu, ale najbardziej w pierwszych dniach życia oraz w okresie okołoodsadzeniowym, do prawidłowego wzrostu i rozwoju wymagają dostarczenia z pożywieniem, prócz podstawowych składników pokarmowych, także składników biologicznie czynnych, w tym między innymi witaminy C.

Witamina C jest odkładana w tkankach płodów począwszy od 55 do 110 dnia ciąży. Wraz ze wzrostem koncentracji witaminy C u płodów, zmniejsza się jej stężenie w surowicy i wątrobie u loch (stosunek ten może wynosić nawet 14:1). Wskazuje to na bardzo aktywny transport witaminy C przez łożysko. Transport ten ma na celu wytworzenie rezerw kwasu askorbinowego w tkankach i w surowicy płodów, ponieważ w pierwszych dniach po porodzie prosięta nie są zdolne do syntezy kwasu askorbinowego. Synteza ta stabilizuje się dopiero pod koniec pierwszego tygodnia życia (**Braude i in., 1950**). Jak wykazano w badaniach, do tego czasu zapotrzebowanie na witaminę C pokrywane jest z siary, a następnie z mleka loch, w którym koncentracja kwasu askorbinowego jest wysoka.

Stężenie witaminy C w siarce może być nawet dwukrotnie wyższe niż w mleku (**Pinelli-Savedra i Scaife, 2005**). Natomiast dodatek witaminy C do dawki pokarmowej dla loch przez cały okres ciąży oraz w okresie laktacji wpływa na wzrost koncentracji kwasu askorbinowego w siarce ( $p \leq 0,05$ ) oraz w mleku. Wskazuje to, że stosując dodatek do diety loch ciężarnych i karmiących egzogennej witaminy C, możemy zwiększać poziom kwasu askorbinowego u prosiąt. Ma to olbrzymie znaczenie zwłaszcza w pierwszym tygodniu życia prosiąt, kiedy niezdolność do syntezy kwasu askorbinowego sprawia, że zapotrzebowanie na tę witaminę z zewnątrz jest bardzo wysokie. Może to mieć również bardzo istotne znaczenie praktyczne, gdyż głównym pokarmem prosiąt w tym okresie jest właśnie siara i mleko loch, a suplementacja witaminą C z paszy nie ma znaczenia. Dodatkowo stopień wchłaniania kwasu askorbinowego zależy istotnie od drogi jego podania. Przystawalność kwasu askorbinowego z siary czy później z mleka loch jest wyższa niż egzogennej witaminy C znajdującej się w paszy.

Zapotrzebowanie na kwas askorbinowy gwałtownie wzrasta w sytuacjach stresowych, do których niewątpliwie zaliczyć należy stres związany z porodem, czy spowodowany odsadzeniem prosiąt. Podczas porodu może często dochodzić do niedotlenienia płodów spowodowanego ich niedokrwieniem. U nowonarodzonych prosiąt stwierdza się bardzo niskie koncentracje witaminy C w

surowicy, nerkach, mięśniach i nadnerczach. Ponieważ świnie są zwierzętami wielorodnymi, a poród może trwać nawet kilka godzin, przypuszcza się, że prosięta, które rodzą się jako ostatnie są najbardziej niedotlenione. Stres związany z niedotlenieniem, może mieć wpływ na niską koncentrację kwasu askorbinowego u nowonarodzonych prosiąt (**Ching i in., 2001**). Doświadczenie przeprowadzone przez tych autorów wykazało, że zarówno po porodzie, jak i po odsadzeniu prosiąt największe spadki koncentracji kwasu askorbinowego stwierdza się w nadnerczach. Ma to związek ze zwiększoną produkcją adrenaliny w tych narządach pod wpływem stresu. Witamina C bierze udział w syntezie hormonów kortykosterydowych, między innymi adrenaliny. Na skutek zwiększonej jej produkcji dochodzi do obniżania się koncentracji witaminy C, a nawet powstawania jej deficytów (kiedy zwierzę poddane jest długotrwałemu stresowi jak np. stres cieplny podczas letnich upałów, czy stres związany z dużym zagęszczeniem zwierząt na fermie).

Synteza witaminy C u świń możliwa jest dzięki obecności swoistego enzymu, oksydazy L-gulono-laktonowej (GLO). Badania przeprowadzone nad aktywnością tego enzymu wykazały, że choć w środkowej ciąży następuje wzrost syntezy witaminy C u loch, to aktywność GLO maleje i pozostaje na niskim poziomie aż do odsadzenia prosiąt. Przyjmuje się, że wysoka koncentracja kwasu askorbinowego wpływa na wyciszenie aktywności GLO u świń. Po odsadzeniu, kiedy witamina C nie jest już dostarczana prosiętom z mlekiem loch, a do paszy nie stosuje się dodatku egzogennej witaminy C, aktywność oksydazy L-gulono-laktonowej wzrasta (**Ching i in., 2001**). Jednak jak wynika z najnowszych badań, zdolność syntezy kwasu askorbinowego nie jest na tyle wystarczająca, żeby zaspokoić w pełni zapotrzebowanie rosnących zwierząt. Poza tym stres związany z odsadzeniem wpływa na zmniejszenie koncentracji witaminy C zarówno w surowicy jak i w tkankach prosiąt. Dopiero po około dwóch tygodniach od odsadzenia, obserwuje się powolny wzrost stężenia witaminy C w surowicy prosiąt, przy czym wzrost ten jest zdecydowanie szybszy u prosiąt odsadzonych później tj. po 24 dniu życia. Przyczyna tego wzrostu nie jest do końca wyjaśniona, ale przypuszcza się, że może on korelować z niską koncentracją



witaminy C u później odsadzanych prosiąt, a także z występowaniem pewnych czynników zawartych w mleku loch. **Tsao i Young (1989)** sugerują, że za kontrolę syntezy kwasu askorbinowego mogą odpowiadać: koncentracja witaminy C w żyłę wrotnej wątrobowej lub wątrobowe mechanizmy regulujące.

Stężenie witaminy C w surowicy i tkankach prosiąt po odsadzeniu dramatycznie się obniża, co niewątpliwie odzwierciedla brak suplementacji witaminy C z mleka loch i niską aktywność GLO w momencie odsadzenia. Po odsadzeniu stopniowo wzrasta aktywność wątrobowego enzymu GLO i w następstwie tego wzrasta koncentracja witaminy C w tkankach. Jednakże koncentracja witaminy C w wątrobie jest i tak niższa w porównaniu z okresem, kiedy prosięta ssąły lochę. Mając to na uwadze celowym wydaje się stosowanie do diety odsadzonych prosiąt, dodatku witaminy C w celu uniknięcia potencjalnych jej niedoborów i w konsekwencji ich niekorzystnych następstw. Z badań wynika, iż stosowanie w okresie okołoodsadzeniowym dodatku egzogennej witaminy C zapobiega powstawaniu jej deficytów, przez co wywiera bardzo korzystny wpływ na prosięta.

O olbrzymiej roli witaminy C dla prawidłowego wzrostu i funkcjonowania młodych organizmów, mogą świadczyć doniesienia o wyhodowanej w Danii linii świń, które na skutek mutacji w genie kodującym enzym oksydazę L-gulonolaktonową, utraciły zdolność do syntezy kwasu askorbinowego. Poziom witaminy C w surowicy prosiąt homozygotycznych pod względem posiadanego genu, był poniżej poziomu wykrywalności. U tych prosiąt w przeciągu kilku tygodni od urodzenia, rozwinęły się kliniczne objawy szkorbutu (gnilca), wystąpił brak łaknienia i niechęć do ruchu. Stwierdzono obecność krwawych wybroczyn pod okostną, zredukowanie substancji spojistej kości oraz uszkodzenia części przynasadowej. Dodatkowo jeszcze przed wystąpieniem wymienionych klinicznych objawów, zaobserwowano zmiany dotyczące składników osocza krwi biorących udział w syntezie kolagenu. Warto w tym miejscu podkreślić, że prosięta obciążone mutacją, których dieta od momentu urodzenia była uzupełniana dodatkiem witaminy C rozwijały się normalnie, nie wykazując najmniejszych oznak niedoboru kwasu askorbinowego (**Wegger i**

**Palludan, 1986**). Badania nad charakterystyką molekularnych podstaw niedoboru witaminy C u recesywnych pod względem posiadania wspomnianego genu świń, przeprowadzili także w 2004 roku **Hasan i in.**, wykazując, że delecja w genie kodującym enzym oksydazę L-gulonolaktonową prowadzi do powstania niedoboru witaminy C.

W roku 1994 **Wegger i Palludan**, opublikowali wyniki badań nad wpływem niedoboru witaminy C na występowanie zaburzeń zarówno hematologicznych jak i dotyczących układu kostnego u świńskich płodów. Wykazali, że płody loch niezdolnych do syntezy witaminy C i nieotrzymujących choćby tylko przez krótki czas dodatku witaminy C w czasie trwania ciąży, ulegały bardzo silnym zaburzeniom rozwoju, co skutkowało nawet ich obumieraniem. Szkodliwy efekt działania niedoboru witaminy C był najbardziej widoczny w uszkodzeniach układu kostnego i naczyniowego.

**Nowaczewski i in. (2006)** wykazali, że zastosowanie wysokich dawek witaminy C (1200 mg/kg paszy) u bażantów reprodukcyjnych, miało wpływ na wzrost liczby erytrocytów, zawartości hemoglobiny oraz wartości hematokrytu w porównaniu z grupą kontrolną. Zawartość kortykosteronu w surowicy tych ptaków była natomiast istotnie mniejsza (o 26,7 ng/ml) w porównaniu z grupą kontrolną.

Ważną właściwością witaminy C, mającą duże znaczenie biologiczne jest jej aktywność redukująca. Kwas askorbinowy redukuje jony żelaza ( $\text{Fe}^{+3}$ ) do ( $\text{Fe}^{+2}$ ). Ma to istotne znaczenie w pobieraniu żelaza, gdyż pierwiastek ten jest absorbowany w dwunastnicy w postaci zredukowanej ( $\text{Fe}^{+2}$ ). Jest to bardzo ważne zwłaszcza dla prosiąt, które rodzą się z niewielkim zapasem Fe w wątrobie. Zapotrzebowanie osesków na Fe pokrywane jest w pierwszych tygodniach życia z siary, a następnie z mleka loch, w których zawartość tego pierwiastka jest bardzo niewielka. Podstawową sprawą jest, więc zmaksymalizowanie jego wykorzystania, co uzyskać można właśnie poprzez zastosowanie dodatku witaminy C.

Zdolność redukująca witaminy C w stosunku do jonów metali przejściowych, głównie żelaza i miedzi, wiąże się ściśle z prooksydacyjną

aktywnością kwasu askorbinowego. Udział witaminy C w reakcjach z jonami tych metali jest podstawową właściwością jej funkcjonowania jako kosubstratu hydroksylaz i oksygenaz, czyli enzymów uczestniczących w biosyntezie kolagenu. Utrzymuje ona bowiem, znajdujące się w centrach aktywnych tych enzymów, jony metali w stanie zredukowanym, co umożliwia optymalne działanie tych enzymów (**Bendich i Cohen, 1990**). Katalizowana z kolei przez witaminę C redukcja wolnych, niezwiązanych z białkami jonów metali przejściowych, przyczynia się do generowania rodników tlenowych. Zredukowane jony metali, np. żelaza, wchodzą w reakcje z nadtlenkiem wodoru prowadząc do wytworzenia wysoce reaktywnych rodników hydroksylowych lub jonów ponadtlenkowych. Ta reakcja (tzw. reakcja Fentona), zachodzi *in vitro* w obecności cząsteczek tlenu. Uważa się natomiast, że reakcja ta nie występuje *in vivo*, ze względu na zbyt ograniczoną dostępność jonów żelaza czy też miedzi w tkankach organizmów żywych. Jony wspomnianych metali, wiązane są w komórkach przez obecne tam białka takie jak: ferrytynę, transferrynę i ceruloplazminę (**Konopacka, 2004**).

W dostępnym piśmiennictwie spotkać można doniesienia na temat wpływu kwasu askorbinowego na rozród zwierząt. Próbę oceny efektywności dodatku witaminy C do paszy młodych loszek na ich cechy reprodukcyjne, podjął **Lechowski (2009)**. Stosując dodatek tej witaminy do paszy w ilości 2,5g/szt./dzień, zaobserwował nie tylko zwiększenie liczby pęcherzyków jajnikowych i ciałek żółtych u badanych samic, ale uzyskał także wzrost stężenia  $17\beta$ -estradiolu i progesteronu w osoczu ich krwi. Uległa również zwiększeniu całkowita masa narządów rozrodczych loszek. Autor tłumaczy, iż uzyskany efekt może być spowodowany wzrostem poziomu  $17\beta$ -estradiolu pod wpływem zastosowanej witaminy C, ponieważ hormon ten oddziałuje m.in. na wzrost i rozwój narządów rozrodczych.

**Petroff i in. (1997)** oraz **Ching i in. (2001)** wykazali, że wraz z rozwojem ciała żółtego – co ma związek ze wzrostem syntezy progesteronu – rośnie w nim zawartość kwasu askorbinowego. Natomiast wraz z obniżeniem poziomu witaminy C w ustroju człowieka obniża się zawartość progesteronu w ciałku

żółtym i zmniejsza się ilość insuliny w trzustce (**Cunningham, 1998; Serpek i in. 2001**), która wg **Van den Brand'a i in. (2001)** ma wyraźny wpływ na rozród organizmów. U ssaków, jak podają **Pardue i Thaxton (1986)**, androgeny stymulują syntezę kwasu askorbinowego, podczas gdy estrogeny ją hamują. Jak opisuje **Lechowski (2009)**, niedobory żywieniowe, złe warunki utrzymania, stres socjalny oraz przegrzanie - jako środowiskowe czynniki stresowe, wpływają poprzez korę nadnerczy i przysadkę mózgową na poziom hormonu gonadotropowego LH, który to z kolei obniża poziom progesteronu w organizmie świń. W wielu badaniach udowodniona antystresowe działanie witaminy C (**Zhao-JunMei i in., 2002; Whitehead i Keller 2003**), co może się wiązać m.in. z podwyższeniem poziomu progesteronu we krwi, jak miało to miejsce w badaniach **Lechowskiego (2009)**. Jak podają **Ruda (1987) i Paschma (2000)**, za syntezę sterydów i sekrecję hormonów płciowych, prócz kwasu askorbinowego, odpowiadają również inne witaminy, takie jak witamina A i E.

Istotny wpływ na wskaźniki odchowu prosiąt zwłaszcza w pierwszych dniach życia ma skład siary i mleka loch. W badaniach **Lechowskiego (2009)** wykazano, że w grupie loch, u której zastosowano dodatek witaminy C do paszy, wystąpił statystycznie istotny wzrost zawartości białka (średnio o 4,10%) i suchej masy (średnio o 4,57%) w siarze, w szczególności we wczesnej fazie laktacji. W grupach eksperymentalnych zaobserwowano także znaczący wzrost poziomu immunoglobulin IgG w siarze loch bezpośrednio po porodzie w porównaniu z grupą kontrolną (średnio o 45,81%).

### **3. INTERAKCJE MIĘDZY WITAMINAMI C I E**

Wielu autorów opisało istnienie swoistej interakcji pomiędzy rozpuszczalną w wodzie witaminą C, a rozpuszczalną w tłuszczach witaminą E.

Kwas askorbinowy wykazuje zdolność regenerowania tokoferoli z wolnych rodników fenoksy powstających w trakcie reakcji, w których witamina E zapobiega utlenianiu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (**Velenzuela, 2002**). W wielu pracach prócz opisywanego synergizmu między witaminami C i

E spotkać można doniesienia o tzw. „efekcie oszczędzania” witaminy E przez witaminę C (**Burton i in., 1990; Pinelli-Saavedra i Scaife, 2005; Lauridsen i Jensen, 2005**). Przypuszcza się, że zwiększony dodatek witaminy C w paszy może być jedną ze strategii prowadzących do zwiększenia poziomu witaminy E u odsadzonych prosiąt (**Lauridsen i Jensen, 2005**). Dodatek w żywieniu obu witamin powoduje także wzrost komórkowej i humoralnej odpowiedzi immunologicznej (**Hidiroglou i in., 1995; Chew, 1996; Schwager i Schulze, 1998**), natomiast ich niedobory predysponują prosięta do zapadania na różne schorzenia, w tym zakażenia wywoływane najczęściej przez enterotoksyczne szczepy *Escherichia coli*.

Badania przeprowadzone przez **Jeng i in. (1996)** wykazały, że zastosowanie dodatku witaminy E w połączeniu z witaminą C w krótkim okresie czasu, miało korzystniejszy wpływ na układ immunologiczny dorosłych ludzi, w porównaniu z zastosowaniem tych witamin osobno. W wyniku przeprowadzonej suplementacji doszło do istotnego wzrostu produkcji cytokin przez PBMC, a także do wzrostu produkcji IL-1 $\beta$  oraz TNF $\alpha$ . Przeciwnie, zastosowanie tylko dodatku witaminy C, nie spowodowało wzrostu produkcji PBMC, a dodatek samej witaminy E miał mniejszy wpływ na wzrost produkcji IL-1 $\beta$  oraz TNF $\alpha$ .

W innych badaniach przeprowadzonych przez **Chen (1981)** wykazano, że stosowanie wysokich dawek witaminy C u szczurów żywionych paszą z deficytem witaminy E, po okresie około 1 i 2 miesięcy, skutkowało istotnym wzrostem hemolizy erytrocytów oraz peroksydacją lipidów wątrobowych, a także istotnym zmniejszeniem się ilości erytrocytów oraz spadku koncentracji zarówno glutationu jak i samej witaminy E w osoczu tych szczurów. Wykazano także, że już niewielki wzrost poziomu witaminy E w dawce dla szczurów przeciwdziałał niekorzystnym efektom stosowania wysokich dawek witaminy C, takim jak hemoliza czy peroksydacja. Zastosowanie wysokich dawek witaminy E przeciwdziało natomiast obniżaniu się koncentracji glutationu oraz powodowało wzrost koncentracji tokoferolu w osoczu szczurów. Wyniki tych badań wskazują, że zastosowanie dodatku witaminy E może przeciwdziałać potencjalnym niekorzystnym efektom stosowania wysokich dawek witaminy C i

sugerują, że zapotrzebowanie na witaminę E może wzrastać podczas stosowania dużych ilości kwasu askorbinowego.

## **CEL BADAŃ**

Dotychczasowe badania wskazują, że dodatek witamin E i C do paszy loch w okresie przed porodem i w czasie laktacji, może warunkować nie tylko pełne pokrycie na te składniki u loch, ale także korzystnie wpływać na koncentrację tych witamin w sianie i mleku. W związku z tym celem podjętych badań była próba sprawdzenia, czy zwiększona podaż do paszy loch synergistycznie działających witamin E i C wpłynie na zwiększenie koncentracji tych witamin u prosiąt ssących, a tym samym wpłynie na poprawę wyników ich odchowu.

Ponadto w pracy uwzględniono wpływ zastosowanego dodatku na wybrane cechy użytkowości rozrodczej loch oraz występowanie tzw. efektu następczego u badanych loch. Mając na uwadze doniesienia dotyczące ograniczającego wpływu wysokich dawek witaminy E na wchłanianie witaminy A, w badaniach oznaczono dodatkowo koncentrację tej witaminy w surowicy prosiąt oraz w mleku i surowicy loch.

Zakładając, że pora roku jako istotny czynnik środowiskowy może mieć wpływ na wyniki eksperymentu, doświadczenie podzielono na dwie części: I-jesienno-zimową, II-letnią.

## MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzone zostały w Zakładzie Doświadczalnym w Pawłowicach należącym do Państwowego Instytutu Badawczego (PIB). Materiał badawczy stanowiło łącznie 139 loch wieloródek linii 990, krytych knurami linii 990. Doświadczenie przeprowadzone zostało w dwóch częściach, obejmując dwie różne pory roku, tj. okres jesienno – zimowy, gdzie doświadczeniu poddano 60 loch oraz okres letni, w którym uczestniczyło kolejnych 79 loch. Zwierzęta biorące udział w całym eksperymencie wyrównane były zarówno pod względem mas ciała, jak i kolejności urodzonego miotu w grupach – drugi, trzeci, czwarty i piąty miot.

Wszystkie lochy utrzymywane były w tych samych warunkach środowiska i żywione mieszanką pełnoporcjową dla loch prośnych i karmiących, o tej samej wartości pokarmowej, zgodnie z obowiązującymi Normami Żywienia oraz aktualnie przyjętym programem żywienia zwierząt na fermie.

W trakcie trwania badań przeprowadzone zostały obserwacje dotyczące częstości występowania zespołu MMA u badanych loch, dokonane na podstawie trzykrotnych pomiarów temperatury ciała macior.

Okres karmienia prosiąt w miotach wynosił 32 dni. W tym okresie dokonano oszacowania liczby urodzonych i odchowanych prosiąt w miocie oraz przeprowadzono ważenia, przy urodzeniu jak również po odsadzeniu tj. w 30. i 50. dniu życia (w okresie jesienno-zimowym) oraz w 30. i 45. dniu w okresie letnim. Dokonano także obserwacji dotyczących strat prosiąt w poszczególnych grupach, liczby dni od odsadzenia do następnego pokrycia loch w grupach, liczby loch wybrakowanych w grupach oraz liczby prosiąt urodzonych w następnym cyklu reprodukcyjnym badanych loch.

Lochy na 15 dni przed porodem przeprowadzone zostały do kojców porodowych, gdzie przydzielono je do trzech grup. Żywienie loch w poszczególnych grupach zróżnicowane było udziałem stosowanego dodatku witamin zgodnie z przyjętym układem doświadczenia. Przyjęty układ doświadczenia był jednakowy dla obu części eksperymentu (**tab.1**).



**Tabela 1.** Układ doświadczenia żywieniowego

<b>ZASTOSOWANY DODATEK WITAMIN (mg/kg mieszanki)</b>	<b>GRUPY</b>		
	<b>I kontrolna</b>	<b>II doświadczalna</b>	<b>III doświadczalna</b>
<b>Witamina E</b>	<b>60</b>	<b>200</b>	<b>200</b>
<b>Witamina C</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>500</b>

Preparaty dostarczające dodatkową ilość witamin :

- Lutavit E 50 firmy BASF
- witamina C otoczkowana firmy Roche.

Okres karmienia prosiąt w miotach wynosił 32 dni ( $\pm$  3dni). Dokarmianie prosiąt począwszy od 2 tygodnia życia do odsadzenia (w obu częściach doświadczenia) oparte było o mieszankę dla prosiąt typu prestarter o składzie zgodnym z aktualnie stosowanym na fermie.

Stosowane mieszanki pełnoporcjowe dla loch były granulowane, a udział poszczególnych komponentów, skład chemiczny oraz wartość pokarmową przedstawiono w **tabelach od 2. do 4.**

**Tabela 2.** % udział komponentów w mieszance dla loch próśnych i karmiących

Surowiec	Ilość (%)
Pszenica	35,00
Jęczmień	10,00
Pszenżyto	20,00
Kukurydza	10,00
Otręby pszenne do 9 % włókna w s.m.	5,35
Śruta sojowa Hypro 46%	15,00
Kreda pastewna	1,40
Fosforan 1-ca	0,80
NaCl	0,45
L-lizyna (technicznie czysta)	0,20
DL- metionina (technicznie czysta)	0,10
L-treonina (technicznie czysta)	0,05
Olej rzepakowy	1,00
ROVIMIX locha 0,5% <sup>1)</sup>	0,50
Lepiszczce	0,15
Razem	100,00

<sup>1)</sup>Skład premiksu podano w tabeli 3.

**Tabela 3.** Skład 0,5% premiksu ROVIMIX locha karmiąca – wartości deklarowane

SKŁADNIKI	J.M.	Zawartość w 1 kg produktu
Witamina A	j.m.	3 000 000
D3	j.m.	360 000
E	mg	12 000
K	mg	300
B1	mg	300
B2	mg	1 200
B6	mg	800
B12	µg	5000
Niacyna	mg	8 000
Kwas Pantotenowy	mg	3 200
Kwas Foliowy	mg	400
Biotyna	µg	60 000
Chlorek Choliny	mg	60 000
Żelazo	mg	16 000
Mangan	mg	8 000
Cynk	mg	16 000
Miedź	mg	3 000
Jod	mg	100
Kobalt	mg	100
Selen	mg	60
Wapń	g	197
Endox	mg	200

**Tabela 4.** Wartość pokarmowa 1kg mieszanki dla loch

Energia metaboliczna	MJ	13,0
Białko surowe	g	162
Lizyna	g	9,21
Metionina+cystyna	g	6,54
Treonina	g	6,10
Tryptofan	g	1,89
Włókno	g	39,2
Wapń	g	8,11
Fosfor ogólny	g	5,89
Sód	g	1,95
NaCl	g	4,05
Witamina A	j.m.	13 000
D <sub>3</sub>	j.m.	1 800
E	mg	63,8

W trakcie trwania pierwszej części badań pozyskano próbki siary, mleka oraz krwi badanych loch i prosiąt. Próbkę siary do oznaczeń poszczególnych frakcji białka pobierane były ręcznie, z tych samych gruczołów mlekowych, łącznie od 30 loch (po 10 z każdej grupy). Oznaczenie poszczególnych frakcji białka (albuminy i  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - globuliny) przeprowadzone zostały metodą elektroforetyczną na agarozie firmy CORMAY. Oznaczenie poszczególnych frakcji białek wykonano zgodnie z instrukcją do wykorzystanego zestawu tj. CORMAY GEL PROTEIN 100.

Od 21 loch (po 7 z każdej grupy), w 14 – 15 dniu karmienia pobrane zostało mleko i krew w celu oznaczenia stężeń witamin E, C i A. W tym samym celu, w 21 dniu życia od 36 prosiąt (po 12 z każdej grupy) również pobrano krew. Oznaczeń zawartości poszczególnych witamin w pobranym materiale, dokonano w Katedrze Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, przy zastosowaniu wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej, na aparacie HPLC i wg metodyk podanych przez: **McMurray i Blanchflower (1979)**, **Omaye i in. (1979)**, **Suzuki i Katoh (1990)** oraz **Hewavitharana i in. (1995)**.

W drugiej części doświadczenia (letniej), od 60 prosiąt (po 1 prosięciu – loszce z miotu) w 21 dniu życia, pobrana została krew w celu oznaczenia zawartości glukozy oraz aminotransferazy asparaginianowej i alaninowej w surowicy. Oznaczeń zawartości glukozy w pobranym materiale, dokonano przy użyciu spektrofotometru firmy MARCEL PRO oraz gotowych zestawów do oznaczeń firmy AQUA MED. Oznaczenia zawartości aminotransferaz (ASPAT i ALAT) w badanej surowicy wykonano na spektrofotometrze firmy ALPHA DIAGNOSTICS z wykorzystaniem gotowych zestawów do oznaczeń firmy BIO MAXIMA I AQUA MED.

Zebrane wyniki poddano analizie statystycznej wykorzystując program Statistica 7.0. Porównania międzygrupowe średnich wartości cech, dokonano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji w układzie nieortogonalnym. Istotność różnic między grupami określono w oparciu o test Duncana.

## WYNIKI I DYSKUSJA

Obowiązujące w Polsce od 1993 roku Normy Żywienia Świń zalecają stosowanie w żywieniu loch od 15 do 50 mg witaminy E w 1 kg paszy pełnodawkowej. Natomiast, rekomendowane w wielu krajach ilości  $\alpha$ -tokoferolu stosowane w żywieniu loch, mieszczą się w granicach 35-80 mg/kg paszy (**Whittemore i in. 2002**). Jak wynika jednak z badań przeprowadzonych przez różnych autorów (**Loudenslager i in., 1986; Pehrson i in., 2001; Pinelli-Saavedra i Scaife, 2005**) stosowanie takich ilości witaminy E w żywieniu loch nie jest wystarczające dla pokrycia zapotrzebowania na tę witaminę u prosiąt ssących. Wykazano zbyt niską koncentrację  $\alpha$ -tokoferolu w surowicy prosiąt w okresie nenoatalnym. Jednocześnie do tej pory nie ustalono jednoznacznie roli łożyska w transporcie witaminy E do płodów. **Pinelli-Saavedra i Scaife (2005)** stosując dodatek witaminy E w ilości 400 mg/kg paszy oraz witaminy E razem z witaminą C w ilości 200 mg/kg paszy wit. E i 1 g/dzień wit. C, wykazali niewielki, ale istotny statystycznie wzrost koncentracji witaminy E w łożysku ( $p < 0,05$ ) oraz w surowicy prosiąt ( $p < 0,01$ ). Jednak doniesienia innych autorów (**Young i in., 1977; Loudenslager i in., 1986, Babinszky i in., 1991; Mahan, 1991; Farnworthy i in., 1995 oraz Hidiroglou i in., 1995**) wskazują, że zanim prosięta pobiorą siarę, koncentracja witaminy E w ich surowicy jest niska, niezależnie od tego czy ich matki podczas ciąży otrzymywały zwiększone ilości  $\alpha$ -tokoferolu w paszy. Wg tych autorów, łożysko stanowi swoistą barierę w transporcie witaminy E do płodów. W innych badaniach, wykazano występowanie istotnych korelacji (0,77) pomiędzy stężeniami witaminy E w siarze i surowicy loch w dniu oproszenia, a także między stężeniem witaminy E w surowicy prosiąt w 3 dniu i 5 tygodniu życia a koncentracją  $\alpha$ -tokoferolu w siarze, odpowiednio 0,78 i 0,89 (**Håkansson i in., 2001**). Dodatkowo wspomniani autorzy, podobnie jak **Sivertsen i in. (2006)** wykazali, że koncentracja witaminy E u prosiąt ssących stanowi 65% poziomu tej witaminy u ich matek, co dowodzi skuteczności wzbogacania prosiąt w witaminę E na tej drodze. Jednocześnie wysoki poziom witaminy E w organizmie, jak wspomniano

również w przeglądzie piśmiennictwa, jest niezbędny dla prawidłowego funkcjonowania układu immunologicznego. **Jensen i in. (1988)** podkreślają, że dopiero koncentracja tokoferolu w surowicy w ilości około 3 mg/l gwarantuje optymalną odpowiedź immunologiczną. **Mahan i in. (2000)** stwierdzili także, że deficyt witaminy E jest silniej zaznaczony u potomstwa starszych loch, w których ciele dochodzi do znacznego wyczerpania rezerw zgromadzonego tokoferolu. W związku z powyższym coraz częściej sugeruje się stosowanie zwiększonych, co najmniej dwukrotnie (**Whittemore i in. 2002**), dawek witaminy E w żywieniu loch.

W badaniach własnych w pierwszej części eksperymentu (w okresie jesienno-zimowym) wykazano (**tab.5**), że w surowicy loch w żywieniu których zastosowano dodatek witaminy E w ilości 200 mg/kg paszy (gr.II), wystąpił zasadniczy wzrost koncentracji tej witaminy (223,3 µg/100ml) w porównaniu z grupą kontrolną (132,0 µg/100ml), a uzyskane różnice zostały potwierdzone statystycznie ( $p \leq 0,01$ ).

**Tabela 5.** Zawartość witaminy E, C, A w surowicy i mleku loch

Wyszczególnienie	Grupy					
	I kontrolna n=7		II doświadczalna n=7		III doświadczalna n=7	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
<b>Krew:</b>						
- witamina E µg/100ml	<b>132,0</b> A	22,0	<b>223,3</b> Ba	60,2	<b>272,2</b> Bb	33,1
- witamina C µg/ml	<b>2,66</b> A	0,19	<b>2,85</b> A	0,32	<b>4,64</b> B	1,04
- witamina A µg/100ml	<b>52,9</b> A	12,4	<b>64,3</b> a	16,4	<b>88,4</b> Bb	21,1
<b>Mleko:</b>						
- witamina E µg/100ml	<b>165,8</b> A	58,6	<b>415,8</b> B	139,9	<b>450,7</b> B	109,3
- witamina C mg/100ml	<b>2,66</b> a	0,11	<b>2,70</b> a	0,60	<b>3,39</b> b	0,54
- witamina A µg/100ml	<b>44,3</b> Aa	4,9	<b>62,9</b> b	18,5	<b>68,8</b> Bb	17,7

AB – średnie oznaczone różnymi literami różnią się przy  $P \leq 0,01$

a,b - średnie oznaczone różnymi literami różnią się przy  $P \leq 0,05$

Należy zwrócić uwagę, iż wyższą koncentrację witaminy E w surowicy (272,2  $\mu\text{g}/100\text{ml}$ ) stwierdzono u loch otrzymujących łączny dodatek witamin E i C (gr. III), a istotne różnice wykazano zarówno w porównaniu z grupą kontrolną loch ( $p \leq 0,01$ ), jak i z grupą II loch otrzymujących samą witaminę E w zwiększonej dawce ( $p \leq 0,05$ ).

**Pinelli-Saavedra i Scaife (2005)**, w wyniku zastosowania dodatku witamin E do paszy loch w ilości 200 mg/kg paszy, odnotowali w 21 dniu po porodzie istotny ( $p \leq 0,01$ ) wzrost koncentracji witaminy E (2,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) w surowicy w porównaniu z grupą kontrolną (1,3  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). Natomiast w grupie, w której zastosowano łączny dodatek witamin E i C (200 mg/kg wit. E i 1 g/dzień wit. C) autorzy odnotowali jeszcze wyższą zawartość tokoferolu (3,6  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). Potwierdza to uzyskane w badaniach własnych wyniki i świadczy też o występowaniu tzw. efektu oszczędzania witaminy E przez witaminę C. Podobne wyniki otrzymał **Mahan (1991)**, uzyskując wzrost koncentracji witaminy E (z 0,395  $\mu\text{g}/\text{ml}$  do 1,829  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) w surowicy loch w 28 dniu laktacji, po zastosowaniu zwiększonego (z 22 IU do 66 IU/kg) dodatku tokoferolu w paszy. W roku 1994 **Mahan** potwierdził otrzymane we wcześniejszych badaniach wyniki, otrzymując wzrost koncentracji witaminy E z 1,840  $\mu\text{g}/\text{ml}$  w surowicy loch z grupy kontrolnej do 2,745  $\mu\text{g}/\text{ml}$  u loch z grupy otrzymującej zwiększony dodatek witaminy E w paszy. W obu przypadkach różnice okazały się istotne statystycznie ( $p \leq 0,01$ ). Odmienne rezultaty badań z zastosowaniem dodatku tokoferolu uzyskali **Mavromatis i in. (1999)**, nie wykazując występowania istotnych różnic w zawartości tokoferolu w surowicy loch. Otrzymane wyniki są prawdopodobnie rezultatem zastosowania zbyt małego dodatku tokoferolu u loch w grupach doświadczalnych (50 mg wit.E/kg paszy) w porównaniu z grupą kontrolną (20 mg wit.E/kg paszy).

Według **Ching i in. (2001)** płody świń są zdolne do syntezy witaminy C w początkowym okresie rozwoju, jednak tracą tę zdolność pod koniec ciąży. **Chavez (1983)** wykazał, że istnieje efektywny transport witaminy C przez łożysko do płodów, a koncentracja witaminy C w surowicy prosiąt po urodzeniu może być nawet wyższa niż u ich matek (**Wegger i Palludan, 1984**). Ten proces



jest niezbędny, gdyż prosięta w pierwszych dniach życia nie są zdolne do syntezy witaminy C, podczas gdy zapotrzebowanie na kwas askorbinowy w tym okresie jest bardzo duże. Zasadniczy wpływ na koncentrację witaminy C w surowicy prosiąt w pierwszych dniach po urodzeniu prócz transferu łożyskowego ma także ilość witaminy C pobranej z siarą, a później z mlekiem lochy.

Analiza zawartości witaminy C w surowicy loch, z badań własnych (**tab.5**) wykazała wzrost koncentracji tej witaminy, u loch otrzymujących łączny dodatek witamin E i C (4,64 µg/1ml) i różniła się istotnie ( $p \leq 0,01$ ) w porównaniu z grupą kontrolną (2,66 µg/1ml) i grupą II (2,85 µg/1ml).

W badaniach przeprowadzonych przez **Pinelli-Saavedra i Scaife (2005)** wykazano, że koncentracja witaminy C w surowicy loch wzrastała z biegiem ciąży we wszystkich badanych grupach, nie stwierdzono jednak związku tego wzrostu z pobraniem witaminy C przez lochy. Także 21 dni po porodzie nie wykazano istotnych różnic w koncentracji witaminy C w surowicy loch w zależności od zastosowanego dodatku samej witaminy C (1g/dzień lub 10 g/dzień), a także łącznie z witaminą E (200 mg/kg wit. E i 1 g/dzień wit. C).

W badaniach własnych dokonano również analizy koncentracji witaminy E w mleku loch, w 14 dniu laktacji (**tab.5**). Stwierdzono występowanie istotnych różnic ( $p \leq 0,01$ ) w grupie otrzymującej zwiększony dodatek witaminy E (415,8 µg/100ml) oraz w grupie gdzie zastosowano łączny dodatek witamin E i C (450,7 µg/100ml) w porównaniu z grupą kontrolną (165,8 µg/100ml). Również badania przeprowadzone przez **Mahan'a (1991)** wykazały, że zastosowanie dodatku witaminy E do paszy loch skutkuje istotnym wzrostem ( $p \leq 0,01$ ) koncentracji tej witaminy w mleku (z 0,44 µg/ml w grupie kontrolnej do 1,67 µg/ml w grupie doświadczalnej w 28 dniu laktacji). W kolejnych badaniach, **Mahan (1994)** po zwiększeniu dodatku witaminy E z 22 IU/kg w grupie kontrolnej do 66 IU/kg w grupie badanej, otrzymał istotny ( $p \leq 0,01$ ) wzrost koncentracji tokoferolu w mleku w 21 dniu laktacji z 1,85 µg/ml w grupie kontrolnej do 2,89 µg/ml w grupie z dodatkiem witaminy E. Badania przeprowadzone przez **Pinelli-Saavedra i Scaife (2005)** potwierdzają także uzyskane w badaniach własnych wyniki. Autorzy po zastosowaniu zwiększonego

dodatku witaminy E (200 mg/kg i 400 mg/kg paszy) oraz łącznie witamin E i C (200 mg/kg paszy wit.E i 1 g/dzień wit.C), spowodowali również wzrost koncentracji tokoferolu w mleku (odpowiednio: 5,3 µg/ml, 7,1 µg/ml i 5,5 µg/ml), a różnice w porównaniu z grupą kontrolną (2,5 µg/ml) były istotne statystycznie ( $p \leq 0,01$ ). Podobnie jak w badaniach własnych nie wykazano istotnych statystycznie różnic między grupami loch otrzymujących samą witaminę E, a grupą z dodatkiem witaminy E i C łącznie.

Analizując koncentrację witaminy C w mleku loch (**tab.5**), stwierdzono wzrost jej zawartości w grupie III, gdzie zastosowano dodatek witamin E i C łącznie (3,39 µg/100ml) w porównaniu z grupą kontrolną (2,66 µg/100ml), a różnice były statystycznie istotne ( $p \leq 0,05$ ). Otrzymane rezultaty nie potwierdziły się w badaniach **Pinelli-Saavedra i Scaife (2005)**. Autorzy nie wykazali statystycznie istotnych różnic między grupą otrzymującą łączny dodatek witamin E i C (11,7 µg/ml), a grupą kontrolną gdzie stwierdzona zawartość kwasu askorbinowego była na poziomie 11,1 µg/ml.

Jak wynika z danych umieszczonych w **tabeli 5**, zastosowany dodatek witamin E i C nie wpłynął niekorzystnie na wchłanianie witaminy A, co sugerował **Blair (2006)**.

Istnieją dwa okresy krytyczne w życiu prosiąt, kiedy zapotrzebowanie na witaminę E jest największe. Jest to pierwszy tydzień życia prosiąt oraz pierwszy tydzień po odsadzeniu, podczas których w wyniku stresu istnieje największe ryzyko uszkodzeń oksydacyjnych. Badania **Pehrson i in. (2001)** wykazały, że koncentracja witaminy E w surowicy prosiąt w drugim i piątym dniu po porodzie jest istotnie wyższa (3,98 mg/l i 4,02 mg/l) i z upływem kolejnych dni stopniowo się obniża, osiągając najniższy poziom 2 tygodnie po odsadzeniu (1,81 mg/l). Podobne obserwacje dotyczyły prosiąt z grupy doświadczalnej, których matki otrzymały siedem i dwa dni przed planowanym oproszeniem iniekcje z 1,5 g witaminy E. Należy jednak podkreślić, że wyjściowa koncentracja witaminy E (2 dni po porodzie) była istotnie ( $p \leq 0,01$ ) wyższa u prosiąt z grupy doświadczalnej (6,61 mg/l) w porównaniu z grupą kontrolną (3,98 mg/l). 15. dnia po porodzie różnice w koncentracji witaminy E między grupami: doświadczalną (3,79 mg/l) i

kontrolną (3,00 mg/l) były na poziomie  $p \leq 0,06$ . W kolejnych dniach nie stwierdzono już istotnych różnic w koncentracji witaminy E w surowicy prosiąt obu grup. Dwa tygodnie po odsadzeniu koncentracja witaminy E w surowicy prosiąt z grupy doświadczalnej była na podobnym niskim poziomie (1,26 mg/l) co w grupie kontrolnej (1,81 mg/l), a różnice w koncentracji witaminy E pomiędzy 2 dniem życia a 2 tygodnie po odsadzeniu były istotne statystycznie ( $p \leq 0,01$ ), zarówno w grupie kontrolnej jak i w grupie gdzie zastosowano u loch iniekcje z witaminy E.

**Wilburn i in. (2008)** stosując dodatek naturalnej (RRR- $\alpha$ -tokoferol) witaminy E w paszy i wodzie pitnej dla prosiąt wykazali, że najwyższa koncentracja witaminy E występuje u prosiąt w pierwszych trzech dniach po urodzeniu (4,09  $\mu\text{g/ml}$  w grupie kontrolnej), kiedy prosięta odżywiają się wyłącznie siarą i mlekiem loch. Autorzy wykazali także, że w kolejnych dniach koncentracja witaminy E w surowicy prosiąt gwałtownie się obniża, osiągając dramatycznie niskie poziomy już w 7 dniu życia (1,14  $\mu\text{g/ml}$  w grupie kontrolnej), a najniższe w 21 dniu (0,47  $\mu\text{g/ml}$ ). Zaobserwowano jednak wzrost stężenia  $\alpha$ -tokoferolu u prosiąt, u których zastosowano dodatek naturalnej witaminy E w paszy w ilości 300 IU/l i w wodzie pitnej w ilości 100 IU/l. U prosiąt z tej grupy stwierdzono istotne statystycznie różnice ( $p \leq 0,01$ ), począwszy od 3 doby życia (6,18  $\mu\text{g/ml}$ ) w porównaniu z grupą kontrolną. W 21. dniu życia koncentracja witaminy E w surowicy prosiąt otrzymujących zwiększony dodatek naturalnej witaminy E wyniosła 3,64  $\mu\text{g/ml}$  i różniła się również istotnie ( $p \leq 0,01$ ) w porównaniu z grupą kontrolną (0,47  $\mu\text{g/ml}$ ), przewyższając nawet pożądany poziom 3 mg/l (**Jensen i in. (1988)**). W przedstawionych badaniach **Wilburn i in. (2008)** oraz **Yang i in. (2009)**, wykazali również, że stosowanie naturalnej witaminy E (RRR- $\alpha$ -tokoferol) daje lepsze efekty w postaci wyższej koncentracji witaminy E w tkankach prosiąt, w porównaniu ze stosowaniem syntetycznej witaminy E (all-rac- $\alpha$ -tokoferol) oraz, że zastosowanie dodatku witaminy E do wody pitnej powoduje szybszy wzrost koncentracji witaminy E w surowicy prosiąt, niż zastosowanie dodatku  $\alpha$ -tokoferolu do paszy.

W badaniach własnych w **tabeli 6.** przedstawiono zawartość witamin E, C i A w surowicy pochodzącej od prosiąt w 21. dniu życia. Wykazano, że po zastosowaniu w paszy dla loch, dodatku witaminy E, nastąpił istotny ( $p \leq 0,01$  i  $p \leq 0,05$ ) wzrost koncentracji tokoferolu w surowicy prosiąt w grupach doświadczalnych II (288,0  $\mu\text{g}/100\text{ml}$ ) i III (240,9  $\mu\text{g}/100\text{ml}$ ) w porównaniu z grupą kontrolną (188,3  $\mu\text{g}/100\text{ml}$ ). Mając na uwadze doniesienia **Jensen i in. (1988a)**, że dopiero koncentracja w surowicy około 3 mg/l gwarantuje optymalną odpowiedź immunologiczną można uznać, że zastosowana ilość witaminy E w badaniach własnych (200 mg/kg paszy) dała pozytywne efekty, podnosząc koncentrację witaminy E w surowicy prosiąt do pożądanego minimum. Podobne wyniki uzyskał **Mahan (1991)**. Autor stosując dodatek witaminy E (66 IU/kg) w paszy u loch, uzyskał istotny ( $p \leq 0,01$ ) wzrost koncentracji tokoferolu w surowicy prosiąt z 0,650  $\mu\text{g}/\text{ml}$  do 2,364  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Otrzymane wyniki potwierdził w **1994** roku, gdzie stosując taki sam dodatek witaminy E (66 IU/kg) uzyskał również istotny ( $p \leq 0,01$ ) wzrost koncentracji tokoferolu w surowicy prosiąt (z 2,478  $\mu\text{g}/\text{ml}$  do 3,311  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ).

**Tabela 6.** Zawartość witamin E, C, A w surowicy prosiąt w 21. dniu życia

Wyszczególnienie	Grupy					
	I kontrolna		II doświadczalna		III doświadczalna	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
- witamina E $\mu\text{g}/100\text{ml}$	<b>188,3</b>	Aa 52,8	<b>288,0</b>	B 99,6	<b>240,9</b>	b 62,6
- witamina C $\mu\text{g}/\text{ml}$	<b>2,31</b>	Aa 0,69	<b>3,72</b>	Ab 1,23	<b>5,75</b>	B 2,12
- witamina A $\mu\text{g}/100\text{ml}$	<b>62,4</b>	24,0	<b>57,5</b>	15,6	<b>51,4</b>	9,2

AB – średnie oznaczone różnymi literami różnią się przy  $P \leq 0,01$

a,b - średnie oznaczone różnymi literami różnią się przy  $P \leq 0,05$

Warto zwrócić uwagę na wyjściową zawartość tokoferolu w surowicy badanych prosiąt, która w przypadku badań z 1994 roku jest zdecydowanie

wyższa (2,478 µg/ml) niż w badaniach wcześniejszych (0,650 µg/ml). Wynika to z faktu, iż w **1994 Mahan** zastosował w grupie kontrolnej minimalny, rekomendowany wówczas przez NRC, poziom tokoferolu, jaki powinien być stosowany w żywieniu loch (22 IU/kg paszy), natomiast w badaniach z **1991** roku grupa kontrolna żywiona była paszą z wyłączeniem witaminy E. Podobne wyniki otrzymali **Mavromatis i in. (1999)**, gdzie po zastosowaniu dodatku tokoferolu w paszy loch, otrzymali wzrost koncentracji witaminy E w surowicy prosiąt o 0,37mg/l, a uzyskana różnica była istotna statystycznie ( $p \leq 0,05$ ).

Analizując zawartość witaminy C w surowicy prosiąt z badań własnych (**tab.6**), stwierdzono wysoko istotne różnice ( $p \leq 0,01$ ) między grupą III (5,75 µg/ml) a grupami kontrolną (2,31 µg/ml) i grupą II (3,72 µg/ml). Warto zwrócić uwagę, że u prosiąt pochodzących z grupy II (wit. E) zanotowano również istotny wzrost koncentracji witaminy C w porównaniu z grupą kontrolną ( $p \leq 0,05$ ). Ponieważ witamina E jest niezbędna dla tworzenia i utrzymania prawidłowych funkcji łożyska, a zaopatrywanie prosiąt w witaminę C rozpoczyna się już w życiu płodowym tj. od 55 dnia ciąży (**Braude i in., 1950**), można przypuszczać, że zastosowanie zwiększonego dodatku witaminy E w żywieniu loch, wpłynęło na efektywniejszy transport kwasu askorbinowego przez łożysko do płodów, w celu wytworzenia rezerw witaminy C w ich tkankach i surowicy. Jest to bardzo istotne, gdyż w pierwszych dniach życia prosięta nie są zdolne do syntezy kwasu askorbinowego. Stabilizuje się ona dopiero pod koniec pierwszego tygodnia ich życia. Do tego czasu zapotrzebowanie na witaminę C jest pokrywane z siary, a później z mleka loch, gdzie koncentracja kwasu askorbinowego jest bardzo wysoka. Olbrzymie znaczenie ma więc zapewnienie także prawidłowego karmienia prosiąt przez lochy. Korzystny wpływ wywiera tu właśnie stosowana witamina E, która poprzez swoje ochronne działanie zmniejsza w znacznym stopniu ryzyko występowania chorób wymienia, w tym głównie MMA (**Mahan, 1991; Mahan, 1994**).

Z badań przeprowadzonych przez **Pinelli-Saavedra i Scaife (2005)** wynika, że zastosowanie dodatku witaminy C w połączeniu z witaminą E miało

również korzystny wpływ na koncentrację kwasu askorbinowego w surowicy prosiąt po urodzeniu (15,3 µg/ml) i było istotnie wyższe ( $p \leq 0,01$ ) w porównaniu nie tylko z grupą kontrolną (13,1 µg/ml), ale również w porównaniu z grupą prosiąt, których matki otrzymywały z paszą dodatek samej witaminy C (12,0 µg/ml). Potwierdza to tzw. korzystne oddziaływanie między obiema witaminami.

W wyniku przeprowadzenia, w badaniach własnych, analiz surowicy prosiąt pod kątem zawartości witaminy A, nie stwierdzono istotnych różnic między badanymi grupami.

W **tabeli 7.** przedstawiono wyniki rozdziału elektroforetycznego białka siary badanych loch. O niepowtarzalnym znaczeniu siary dla utrzymania zdrowotności i prawidłowego rozwoju nowo narodzonych prosiąt jest powszechnie wiadomo.

**Tabela 7.** Frakcje białka w siarze badanych loch

Wyszczególnienie	Grupy					
	I kontrolna		II doświadczalna		III doświadczalna	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Białko ogólne (g/l)	<b>187,9</b>	39,1	<b>163,2</b>	49,4	<b>171,2</b>	47,4
Lakto-albuminy (g/l)	<b>10,98</b>	4,6	<b>11,09</b>	4,9	<b>9,81</b>	2,3
Lakto-globuliny (g/l)						
- alfa 1	<b>15,38</b>	9,3	<b>13,63</b>	7,6	<b>14,80</b>	6,5
- alfa 2	<b>19,66</b>	11,2	<b>12,14</b>	8,2	<b>10,56</b>	8,4
- beta	<b>21,88 a</b>	11,4	<b>12,25 b</b>	6,3	<b>19,85 a</b>	8,4
- gamma	<b>119,98</b>	25,7	<b>114,09</b>	35,8	<b>116,16</b>	34,8

a,b - średnie oznaczone różnymi literami różnią się przy  $P \leq 0,05$

Wiadomo również, że siara stanowi pierwsze egzogenne źródło energii dla prosiąt noworodków i jednocześnie dzięki wysokiej zawartości immunoglobulin, jest podstawą ich odporności biernej. W badanych próbkach siary nie wykazano znaczących różnic w ilości białka ogólnego, laktoalbumin oraz poszczególnych frakcji laktoglobulin, w grupach loch otrzymujących z paszą dodatek witamin E i C, w porównaniu z grupą kontrolną. Poziom białka ogólnego kształtował się w granicach 187,9 g/l w grupie I (kontrolnej), 163,2 g/l w grupie II (dodatek wit. E) oraz 171,2 g/l w grupie III (dodatek wit. E i C).

Według innych autorów zawartość białka całkowitego w siarze loch mieści się na poziomie 149 g/l (Svendensen i Brown, 1973), czy 151 g/l (Rząsa, 2007). Najważniejszą frakcją białka ogólnego ze względu na stymulowanie i kształtowanie się odporności biernej osesków są  $\gamma$ -laktoglobuliny. Porównując oznaczone w badaniach własnych średnie z grup poziomy poszczególnych frakcji laktoglobulin ( $\alpha$ -14,36 g/l;  $\beta$ -17,99 g/l; i  $\gamma$ -116,74 g/l) z wynikami podanymi przez Rząsę (2007) ( $\alpha$ -14,36 g/l;  $\beta$ -19,96 g/l; i  $\gamma$ -93,8 g/l) można uznać, iż były one na odpowiednim, wysokim poziomie, wystarczającym do prawidłowego biernego zabezpieczenia w odporność prosiąt noworodków. W wyniku oznaczenia frakcji  $\beta$ -laktoglobulinowej, która odpowiedzialna jest między innymi za transport kwasów tłuszczowych i hormonów sterydowych, stwierdzono mniejszą ich ilość w grupie II (12,25 g/l) w porównaniu z grupą kontrolną (21,88 g/l) przy poziomie istotności  $p \leq 0,05$ .

Główną przyczyną istotnych, bo mogących sięgać nawet 30% padnięć prosiąt w pierwszym okresie po urodzeniu, jest ich niedożywienie wynikające z hypo- lub agalaktji loch, co wpływa na stan odporności biernej prosiąt osesków i zwiększa ich podatność na zakażenia drobnoustrojami warunkowo patogennymi. Często prócz zaburzeń w samej mleczności samic stwierdza się równocześnie zapalenie gruczołu mlecznego i macicy. Występowanie tego schorzenia określanego od 1960 roku mianem zespołu MMA (Mastitis-Metritis-Agalactia) warunkowane jest przez czynniki takie jak: zakażenia bakteryjne czy mykoplazmatyczne podczas porodu lub laktacji, ale również przez błędy żywieniowe, w tym niedostatek niektórych mikro- i makroelementów oraz

witamin. Jak wykazano, im niższy poziom witaminy E w diecie loch, tym częstsze przypadki występowania MMA. **Mahan (2000)** uzyskał istotne ( $p \leq 0,05$ ) zmniejszenie przypadków występowania MMA u loch otrzymujących z paszą dodatek witaminy E w ilości 66 IU/kg paszy (0,08) w porównaniu z grupą otrzymującą dodatek 22 IU tokoferolu (0,26). Wg **Mahana (1994)** zachorowalność na MMA dotyka w większym stopniu starszych loch, które dodatkowo przebywają w pomieszczeniach o gorszych warunkach sanitarnych. Jednym z klinicznych objawów choroby jest podwyższona wewnętrzna ciepłota ciała, która w postaci ostrej choroby może sięgać nawet 41°C, w postaci podostrej nie przekracza 40,5°C a w postaci podklinicznej dochodzi maksymalnie do 39,8°C (**Rekiel, 1999**).

Wyniki badań własnych, w zakresie pomiarów temperatury ciała loch po wyproszeniu, przedstawiono poniżej w **tabeli 8**.

**Tabela 8.** Charakterystyka cech użytkowości rozplodowej loch oraz pomiarów temperatury ciała po ich wyproszeniu (eksperyment jesienno-zimowy)

Wyszczególnienie	Grupy					
	I kontrolna n=20		II doświadczalna n=20		III doświadczalna n=20	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Temperatura ciała loch po wyproszeniu (°C) – 1. pomiar	<b>39,0</b>	0,2	<b>39,2</b>	0,2	<b>39,1</b>	0,2
Temperatura ciała loch po wyproszeniu (°C) – 2. pomiar	<b>39,0</b>	0,3	<b>39,0</b>	0,3	<b>38,9</b>	1,2
Temperatura ciała loch po wyproszeniu (°C) – 3. pomiar	<b>38,7</b>	0,2	<b>38,8</b>	0,2	<b>38,9</b>	1,2
Liczba prosiąt urodzonych ogółem	<b>10,8</b>	1,7	<b>10,2</b>	2,7	<b>11,7</b>	2,7
Liczba prosiąt urodzonych żywych	<b>10,5</b>	1,6	<b>9,3</b>	2,1	<b>10,4</b>	2,4
Liczba prosiąt urodzonych martwych	<b>0,5</b>	0,5	<b>0,8</b>	1,3	<b>1,2</b>	1,3
Masa miotu przy urodzeniu (kg)	<b>16,0</b>	2,3	<b>14,7</b>	3,9	<b>15,3</b>	3,4
Masa prosięcia przy urodzeniu (kg)	<b>1,5</b>	0,2	<b>1,6</b>	0,3	<b>1,5</b>	0,2

Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy grupami. Za górną granicę fizjologicznej wewnętrznej ciepłoty ciała loch po porodzie przyjmuje się temperaturę do 39,5°C (**Kotowski, 2003**). W badaniach własnych wewnętrzna



temperatura ciała loch mierzona po porodzie była optymalna i wahała się w granicach od 38,7°C do 39,2°C, co wskazuje na brak występowania tzw. zespołu MMA u loch we wszystkich grupach.

W **tabeli 8.** przedstawiono również wyniki użytkowości rozplodowej loch w zakresie cech takich jak: liczebność prosiąt przy urodzeniu oraz ich masę. Nie stwierdzono istotnych różnic w zakresie liczebności prosiąt po urodzeniu zarówno, jeśli chodzi o liczbę prosiąt urodzonych ogółem (średnio 10,9 prosiąt), liczbę prosiąt urodzonych żywych (średnio 10,1 prosiąt) oraz liczbę prosiąt urodzonych martwych (średnio 0,8 prosięcia). Stwierdzono jedynie większą liczbę prosiąt martwo urodzonych w grupie III (wit. E i C) o 0,7 prosięcia więcej w porównaniu z grupą kontrolną i o 0,4 prosięcia więcej w porównaniu z grupą II (wit. E). Należy jednak podkreślić, że lochy z grupy III rodziły ogółem więcej prosiąt w porównaniu z grupą I (o 0,9 prosięcia) i grupą II (o 1,5 prosięcia). W obu cechach otrzymane różnice nie były jednak istotne statystycznie. Nie ustalono więc jednoznacznie wpływu stosowania zwiększonych dawek witamin E i C na wyniki reprodukcyjne loch.

Wg (**Ullrey (1981), Hardy i Frappe (1982)** oraz **Mahan'a i in. (1974)**), aby uzyskać pozytywny efekt zastosowanego dodatku witaminy E na wielkość miotu czy liczbę prosiąt urodzonych żywych, lochy powinny otrzymywać owe dodatki przez okres dłuższy niż jeden cykl rozrodczy bądź też suplementacja witaminą E powinna odbywać się także w połączeniu z selenem. W badaniach niektórych autorów w wyniku stosowania zwiększonych ilości witaminy E w diecie loch podczas ciąży, następował wzrost liczebności miotów oraz zmniejszeniu ulegała śmiertelność prosiąt w okresie po odsadzeniu (**Cline i in., 1974; Mahan, 1991**). Takie same rezultaty uzyskiwano stosując śródmięśniowe iniekcje z  $\alpha$ -tokoferolu (**Chavez i Paton, 1986; Migdał i Kaczmarczyk, 1993; Mavromatis i in., 1999**). Jak podaje **Carmona-Garcia (1983)** dodatek witaminy C w żywieniu loch w ostatnim tygodniu przed oproszeniem w ilościach 1, 2 lub nawet 10 g/dzień nie miał wpływu na wielkość miotu, liczbę urodzonych prosiąt czy ich masę przy urodzeniu, podczas gdy suplementacja loch w ilości 1 g/dzień przez cały okres ciąży spowodowała wzrost liczebności miotu o 1 prosię w

miocie. Również **Pinelli-Saavedra i Scaife (2005)**, nie odnotowali istotnych różnic w zakresie liczebności prosiąt po urodzeniu w zależności od zastosowanego dodatku witamin E (200 i 400 mg/kg paszy) i C (1 i 10 g/dzień). Z kolei w 1994 roku, **Mahan** uzyskał istotny ( $p \leq 0,01$ ) wzrost liczebności prosiąt ogółem urodzonych, pochodzących od loch otrzymujących dodatek witaminy E (66IU/kg paszy). W tej samej grupie badanej odnotowano jednocześnie większą liczbę prosiąt martwo urodzonych.

W tabeli 8. przedstawiono również średnią masę miotu przy urodzeniu. Wahala się ona od 14,7 kg w grupie II, przez 15,3 kg w grupie III i 16,0 kg w grupie kontrolnej. Nie wykazano różnic między grupami, podobnie jak nie wykazano różnic pomiędzy średnią masą prosięcia przy urodzeniu, która wynosiła 1,5 kg w grupach I i III oraz 1,6 kg w grupie II. Otrzymane wyniki są analogiczne do wyników **Loudenslager i in. (1986)**, **Mahan (1994)** oraz **Pinelli-Saavedra i Scaife (2005)**. Także w tych badaniach nie stwierdzono istotnych różnic między badanymi grupami zwierząt, a zarówno masa miotu jak i masy pojedynczych prosiąt były na podobnym wysokim poziomie. W badaniach **Mavromatis i in. (1999)**, średnia masa prosięcia przy urodzeniu była niższa (1,20 kg) w porównaniu ze średnią masą ciała prosiąt z badań własnych (1,53 kg).

Odpowiednia użytkowość rozplodowa loch jest podstawowym czynnikiem warunkującym opłacalność chowu trzody chlewnej, a jej nadrzędnym wskaźnikiem jest odchowywanie przez lochę możliwie największej liczby prosiąt w ciągu roku. Większa ilość prosiąt odchowywanych w miocie, daje możliwość zwiększenia intensywności selekcji dla cech ważnych gospodarczo, a ponadto ma największe znaczenie w ekonomice produkcji, gdyż powoduje obniżenie kosztów utrzymania stada podstawowego, a tym samym kosztów produkcji 1 kg wieprzowiny. W hodowli trzody chlewnej prowadzona jest nieustanna selekcja w kierunku zwiększenia liczebności miotu, jednak efekty są trudne do osiągnięcia ze względu na niski współczynnik odziedziczalności tej cechy. Sterowanie warunkami środowiska, a tym samym odpowiednim żywieniem, może w dużym stopniu doprowadzić do poprawy użytkowości

rozplodowej loch, charakteryzowanej dużą liczbą prosiąt odchowanych w miocie. W swoich badaniach **Mahan (1991)** wykazał wzrost liczebności miotów oraz zmniejszenie śmiertelności prosiąt w okresie do odsadzenia, co było skutkiem zastosowania zwiększonego dodatku witaminy E w diecie. W wyniku zastosowania dodatku tokoferolu do paszy, autor uzyskał także większą masę urodzonych prosiąt, natomiast masa ciała prosiąt przy odsadzeniu była podobna do uzyskanej w grupie kontrolnej. W badaniach **Malm i in. (1976)** zaobserwowano wprawdzie tendencje w kierunku zwiększenia się liczebności miotów, jednak nie wyciągnięto jednoznacznych wniosków. Podobnie w badaniach **Wilkinson i in. (1977)** oraz **Pharazyn i in. (1990)** nie wykazano odpowiedzi na zastosowane dodatki, zarówno jeśli chodzi o liczebność miotów jak i o masę prosiąt. Jedynie **Pinelli-Saavedra i Scaife (2005)** wykazali, że zastosowany dodatek tokoferolu w ilości 200 mg/kg paszy spowodował podniesienie średniej masy prosiąt w dniu odsadzenia, ale różnice nie zostały potwierdzone statystycznie.

Przeprowadzona obserwacja odchowu prosiąt w badaniach własnych wykazała, że zastosowany dodatek witamin E i C nie wpłynął na analizowane cechy (**tab. 8a**). Nie odnotowano istotnych różnic zarówno w zakresie liczebności prosiąt karmionych i odsadzonych, masy miotów i poszczególnych prosiąt w dniu odsadzenia oraz w 50. dniu życia oraz strat prosiąt w okresie do odsadzenia, które we wszystkich grupach utrzymane były na poziomie niższym niż 10%. Należy jednak podkreślić nieco mniejsze straty prosiąt grupie kontrolnej w porównaniu z grupą II i III i to zarówno w okresie do odsadzenia jak i do 50. dnia życia, co nie potwierdza badań **Hidiroglou i in. (1995)**, **Chew (1996)** oraz **Schwager i Schulze (1998)** wskazujących, iż dodatek obu witamin powoduje wzrost odporności prosiąt. Warto w tym miejscu wspomnieć, że również badania **Ellis i in. (1976)**, **Hayek i in. (1989)** oraz **Babinszky i in. (1991)**, cytowane w przeglądzie piśmiennictwa wskazują na wzrost odporności humoralnej w wyniku zastosowania dodatku witaminy E, co zdaniem autorów może mieć znaczący wpływ na zmniejszenie strat prosiąt w okresie odchowu.

**Tabela 8a.** Charakterystyka miotów badanych loch (eksperyment jesienno-zimowy)

Wyszczególnienie	Grupy					
	I kontrolna n=20		II doświadczalna n=20		III doświadczalna n=20	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Liczba prosiąt karmionych w miocie	<b>10,4</b>	0,9	<b>9,7</b>	1,1	<b>9,8</b>	1,2
Liczba prosiąt odsadzonych w 30. dniu	<b>9,9</b>	0,8	<b>8,8</b>	1,0	<b>8,9</b>	1,2
Masa miotu przy odsadzeniu (kg)	<b>69,7</b>	10,8	<b>61,5</b>	14,1	<b>62,6</b>	10,4
Masa ciała prosięcia w 30. dniu życia (kg)	<b>7,0</b>	0,8	<b>7,0</b>	1,3	<b>7,0</b>	1,1
% strat prosiąt do odsadzenia	<b>4,00</b>	5,4	<b>8,89</b>	8,4	<b>8,11</b>	8,9
Liczba prosiąt w 50. dniu życia	<b>9,8</b>	0,9	<b>8,5</b>	1,1	<b>8,7</b>	1,3
Masa miotu w 50. dniu życia (kg)	<b>115,5</b>	24,2	<b>102,9</b>	22,7	<b>103,0</b>	18,0
Masa prosięcia odsadzonego w 50. dniu życia (kg)	<b>11,7</b>	1,8	<b>12,1</b>	2,1	<b>11,9</b>	1,2
% strat prosiąt od odsadzenia do 50. dnia życia	<b>1,31</b>	3,5	<b>3,68</b>	5,7	<b>3,10</b>	6,4

n - liczba miotów

W **tabeli 9.** podano charakterystykę użytkowości rozplodowej loch w następnym cyklu reprodukcyjnym. Warto zwrócić uwagę na fakt, znacznego podniesienia się parametrów użytkowości rozplodowej loch. Lochy, u których zastosowano dodatek witamin E i C miały zdecydowanie krótszy okres jałowienia w porównaniu z grupą kontrolną. Różnice nie zostały jednak potwierdzone statystycznie. Lochy pochodzące z obu grup doświadczalnych rodziły również więcej prosiąt ogółem. Różnice między grupami III a I i II były istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ). Również liczba prosiąt urodzonych żywych była istotnie ( $p \leq 0,01$ ) wyższa w grupie III loch, otrzymujących zwiększony dodatek witaminy E łącznie z witaminą C w porównaniu z grupami kontrolną loch i grupą II. Lochy tej grupy rodziły o 2,2 prosięcia żywego więcej niż lochy grupy I i o 1,1 prosięcia żywego więcej niż lochy z grupy II. Nie stwierdzono istotnych różnic w zakresie liczby prosiąt martwo urodzonych. Warto jednak zauważyć, że wraz ze wzrostem liczby prosiąt urodzonych ogółem w grupie III

liczba prosiąt martwych nie uległa zwiększeniu i była na poziomie grupy kontrolnej.

**Tabela 9.** Charakterystyka użytkowości rozplodowej loch w następnym cyklu reprodukcyjnym

Wyszczególnienie	Grupy					
	I kontrolna n=17		II doświadczalna n=16		III doświadczalna n=16	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Liczba loch wybrakowanych	<b>3</b>		<b>4</b>		<b>4</b>	
Dni jałowienia	<b>6,4</b>	4,6	<b>7,0</b>	5,3	<b>4,7</b>	0,7
Liczba prosiąt urodzonych ogółem	<b>9,1 a</b>	2,3	<b>9,9 a</b>	1,7	<b>11,1 b</b>	2,7
Liczba prosiąt urodzonych żywych	<b>7,8 A</b>	2,4	<b>8,9 A</b>	1,2	<b>10,0 B</b>	2,4
Liczba prosiąt urodzonych martwych	<b>1,3</b>	1,3	<b>0,9</b>	0,9	<b>1,2</b>	1,2

AB – średnie oznaczone różnymi literami różnią się przy  $P \leq 0,01$

a,b - średnie oznaczone różnymi literami różnią się przy  $P \leq 0,05$

**Lechowski (2009)**, stosując na 2 tygodnie przed porodem dodatek witaminy C w ilości 2,5 g/lochę/dzień, zaobserwował zwiększenie liczby pęcherzyków jajnikowych, jak i ciałek żółtych. Zastosowanie takiego dodatku wpłynęło również na wzrost stężenia  $17\beta$ -estradiolu i progesteronu w osoczu krwi badanych loch.

Druga część eksperymentu przeprowadzona została w okresie letnim. Objęte doświadczeniem lochy, otrzymywały paszę zróżnicowaną dodatkiem witamin E i C analogicznie do pierwszej części doświadczenia. W czasie trwania eksperymentu dokonano obserwacji zwierząt w zakresie liczby prosiąt urodzonych, karmionych oraz odchowanych w miocie, masy ciała prosiąt przy urodzeniu oraz przy odsadzeniu i w 45. dniu życia, strat prosiąt w grupach,

długości okresu jałowienia loch, a także liczby loch wybrakowanych w grupach oraz liczby prosiąt urodzonych w następnym cyklu rozrodczym badanych loch.

Analiza uzyskanych wyników wykazała występowanie statystycznie istotnych różnic w zakresie wewnętrznej temperatury ciała loch po porodzie (**tab. 10**). Lochy z grupy III (otrzymujące dodatek witamin E i C) miały istotnie ( $p \leq 0,01$ ) niższą temperaturę ciała w kolejnych trzech dniach po porodzie w porównaniu z lochami z pozostałych grup. Wskazuje to na korzystne oddziaływanie zwiększonego dodatku witaminy E i C na obniżenie temperatury ciała loch po porodzie w okresie letnim. Dodatkowo lochy tej grupy rodziły również istotnie mniej prosiąt martwych (o 1 prosię) oraz więcej prosiąt żywych w miocie (o 1,1 prosię) niż lochy z grupy kontrolnej (gr. I). Zarówno w odniesieniu do masy miotów oraz mas prosiąt przy urodzeniu nie stwierdzono istotnych różnic między badanymi grupami loch.

**Tabela 10.** Charakterystyka cech użytkowości rozplodowej loch oraz pomiarów temperatury po wyproszeniu (eksperyment w okresie letnim)

Wyszczególnienie	Grupy					
	I kontrolna n=25		II doświadczalna n=28		III doświadczalna n=26	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Temperatura ciała loch po wyproszeniu (°C) – 1. pomiar	<b>38,9 A</b>	0,2	<b>39,0 A</b>	0,2	<b>38,6 B</b>	0,2
Temperatura ciała loch po wyproszeniu (°C) – 2. pomiar	<b>38,8 A</b>	0,3	<b>38,9 A</b>	0,3	<b>38,6 B</b>	1,2
Temperatura ciała loch po wyproszeniu (°C) – 3. pomiar	<b>38,7 A</b>	0,2	<b>38,8 A</b>	0,2	<b>38,4 B</b>	1,2
Liczba prosiąt urodzonych ogółem	<b>10,5</b>	2,6	<b>10,6</b>	2,4	<b>10,5</b>	2,1
Liczba prosiąt urodzonych żywych	<b>8,8</b>	2,7	<b>9,5</b>	2,4	<b>9,9</b>	1,9
Liczba prosiąt urodzonych martwych	<b>1,6 A</b>	1,5	<b>1,1 AB</b>	1,4	<b>0,6 B</b>	0,7
Masa miotu przy urodzeniu (kg)	<b>13,6</b>	3,4	<b>14,3</b>	3,4	<b>15,0</b>	2,5
Masa prosięcia przy urodzeniu (kg)	<b>1,5</b>	0,1	<b>1,5</b>	0,1	<b>1,5</b>	0,1

AB – średnie oznaczone różnymi literami różnią się przy  $P \leq 0,01$

Średnia masa miotu była na poziomie 14,3 kg, natomiast średnia masa prosięcia wynosiła 1,5 kg, co jest dobrym wynikiem i potwierdza się zarówno w badaniach własnych (część jesienno-zimowa eksperymentu), jak i w badaniach innych autorów (**Loudenslager i in. (1986)**, **Mahan (1994)** oraz **Pinelli-Saavedra i Scaife (2005)**).

W wyniku przeprowadzonych obserwacji odchowu prosiąt w badanych grupach loch (**tab. 10a**), stwierdzono, że prosięta pochodzące z grupy II (dodatek wit. E) oraz z grupy III (dodatek wit. E i C) miały istotnie niższą ( $p \leq 0,01$ ) masę ciała w okresie po odsadzeniu, tj. w 45 dniu życia, w porównaniu z grupą I (kontrolną). Taki rezultat może jednak sugerować niekorzystne oddziaływanie tak dużych dawek witamin E i C na wzrost prosiąt, chociaż w pierwszej części eksperymentu takiego wpływu nie stwierdzono. W analizowanym okresie, od odsadzenia do 45. dnia życia, w żadnej z badanych grup nie odnotowano istotnych strat prosiąt.

**Tabela 10a.** Charakterystyka miotów badanych loch (eksperyment w okresie letnim)

Wyszczególnienie	Grupy					
	I kontrolna n=25		II doświadczalna n=28		III doświadczalna n=26	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Liczba prosiąt karmionych w miocie	<b>8,9</b>	1,6	<b>9,2</b>	1,5	<b>9,5</b>	1,1
Liczba prosiąt odsadzonych w 30. dniu	<b>8,7</b>	1,7	<b>8,9</b>	2,1	<b>9,2</b>	0,9
Masa miotu przy odsadzeniu (kg)	<b>62,4</b>	12,6	<b>62,7</b>	11,1	<b>63,4</b>	10,8
Masa ciała prosięcia w 30. dniu życia (kg)	<b>7,3</b>	1,6	<b>7,1</b>	1,0	<b>6,9</b>	1,0
% strat prosiąt do odsadzenia	<b>2,5</b>	5,5	<b>3,7</b>	6,9	<b>2,9</b>	5,1
Liczba prosiąt w 45. dniu życia	<b>8,7</b>	1,7	<b>8,9</b>	2,1	<b>9,1</b>	0,9
Masa miotu w 45. dniu życia (kg)	<b>90,9 a</b>	17,1	<b>81,5 b</b>	15,7	<b>85,0 ab</b>	13,5
Masa prosięcia odsadzonego w 45. dniu życia (kg)	<b>10,6 A</b>	1,7	<b>9,2 B</b>	1,2	<b>9,3 B</b>	1,2
% strat prosiąt od odsadzenia do 45. dnia życia	<b>0,0</b>	0,0	<b>0,0</b>	0,0	<b>1,1</b>	3,2

n - liczba miotów

AB – średnie oznaczone różnymi literami różnią się przy  $P \leq 0,01$

a,b - średnie oznaczone różnymi literami różnią się przy  $P \leq 0,05$

Kluczową rolę zarówno w syntezie jak i metabolizmie askorbinianów, odgrywają wątroba i nerki poprzez swoją funkcję magazynu glikogenów. Istnieje wyraźna współzależność między podażą a katabolizmem kwasu askorbinowego (**Jedlińska-Krakowska, 2006**). Przy wzroście stężenia askorbinianów (zarówno endo- jak i egzogennych) aktywność oksydazy L-gulonolaktonowej spada, a więc zahamowaniu ulega ich wytwarzanie, głównie w wątrobie. Ponadto należy przypomnieć, że pobieranie witaminy C przez różne narządy nie jest jednakowe, a jej największe ilości wychwytywane są przez narządy o wysokiej aktywności metabolicznej, w tym głównie przez nerki. Są one tym samym, narażone w większym stopniu na stres oksydacyjny, którego duże dawki kwasu askorbinowego mogą być promotorem. W dostępnym piśmiennictwie istnieją bowiem zróżnicowane doniesienia na temat zarówno anty- jak i prooksydacyjnego działania różnych dawek witaminy C (**Jedlińska-Krakowska, 2006**).

Glukoza jest podstawowym substratem w syntezie kwasu askorbinowego. Jednakże przy wysokiej podaży zewnętrznej kwasu askorbinowego proces ten ulega zahamowaniu. Wzrost jej poziomu we krwi może w niespecyficzny sposób świadczyć o istniejącym w organizmie stanie stresu, przebiegającym z uruchomieniem układu współczulno-rdzeniowo-nadnerczowego, a następnie podwzgórzowo-przysadkowo-korowo-nadnerczowego. Ponadto sama witamina C uczestnicząc w syntezie katecholamin i steroidów nadnerczowych, pośrednio wpływa na koncentrację glukozy we krwi. Podobnie nieswoistym, ale bardzo czułym wskaźnikiem zmian patologicznych zachodzących w tkankach, jest aktywność aminotransferaz. Stosunek poziomów AST i ALT może wskazywać na uszkodzenie również innych niż wątroba tkanek, takich jak: mięsień sercowy, nerki, czy płuca. W badaniach własnych (**tab. 11**) zastosowanie zwiększonych dawek witamin E i C nie wpłynęło na zawartość aminotransferaz w surowicy prosiąt w 21 dniu życia, które mieściły się granicach wartości referencyjnych przewidzianych dla tego gatunku zwierząt: AST- 16-65 U/l i ALT- 9-43 U/l (**Winnicka, 2004**).

Zawartość glukozy we wszystkich badanych grupach była nieco powyżej



**Tabela 11.** Charakterystyka wybranych wskaźników biochemicznych w surowicy prosiąt w 21 dniu życia (eksperyment w okresie letnim)

Wyszczególnienie	Grupy					
	I kontrolna n=20		II doświadczalna n=20		III doświadczalna n=20	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Glukoza (mmol/l)	<b>6,2 A</b>	0,9	<b>7,0 B</b>	0,7	<b>6,7 AB</b>	0,8
ALT (U/l)	<b>31,2</b>	9,3	<b>32,4</b>	9,3	<b>33,3</b>	8,2
AST (U/l)	<b>60,4</b>	18,2	<b>53,1</b>	13,0	<b>55,7</b>	19,0

AB – średnie oznaczone różnymi literami różnią się przy  $P \leq 0,01$

wartości referencyjnych (2,5-5,6 mmol/l), jednak nie odnotowano statystycznie istotnego wzrostu jej zawartości po podaniu witaminy E i C w grupie III. Należy podkreślić, iż w tej części badań (okres letni), podobnie jak w poprzedniej (okres jesienno-zimowy) potwierdzono, że zastosowanie zwiększonej podaży witamin E i C, wpływa korzystnie na lochy w następnym cyklu reprodukcyjnym (**tab. 12**).

**Tabela 12.** Charakterystyka użytkowości rozplodowej loch w następnym cyklu reprodukcyjnym

	Grupy					
	I kontrolna n=17		II doświadczalna n=19		III doświadczalna n=25	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Liczba loch wybrakowanych	<b>8</b>		<b>9</b>		<b>1</b>	
Dni jałowienia	<b>10,1</b>	19,1	<b>9,2</b>	13,5	<b>10,0</b>	12,2
Liczba prosiąt urodzonych ogółem	<b>11,0 A</b>	2,0	<b>8,9 B</b>	2,6	<b>10,5 A</b>	2,8
Liczba prosiąt urodzonych żywych	<b>10,2 A</b>	1,8	<b>7,9 B</b>	2,1	<b>9,8 A</b>	2,6
Liczba prosiąt urodzonych martwych	<b>0,8</b>	0,7	<b>1,0</b>	1,3	<b>0,8</b>	0,8

AB – średnie oznaczone różnymi literami różnią się przy  $P \leq 0,01$

W grupie III otrzymującej dodatek obu witamin (E i C) wybrakowana została tylko 1 locha, natomiast w grupie I (kontrolnej) wybrakowano 8 loch, a w grupie II – 9 loch. Wykazano również, że w grupie II, w której zastosowano dodatek tylko witaminy E, liczba prosiąt urodzonych ogółem była istotnie niższa ( $p \leq 0,01$ ), w porównaniu z grupą kontrolną, podobnie jak liczba prosiąt żywo urodzonych. Nie stwierdzono istotnych różnic między grupami III (wit. E i C) i kontrolną.

## PODSUMOWANIE I WNIOSKI

1. Zwiększony dodatek witaminy E podanej łącznie z witaminą C do paszy dla loch, w okresie 15 dni przed porodem i w laktacji, w ilościach 200 mg/kg wit.E i 500 mg/kg wit.C spowodował istotny ( $p \leq 0,01$  i  $p \leq 0,05$ ) wzrost koncentracji witaminy E w surowicy oraz w mleku loch w porównaniu z grupą kontrolną (60 mg/kg wit. E) i grupą otrzymującą samą witaminę E w ilości 200 mg/kg paszy. Potwierdza to synergizm między obiema witaminami oraz występowanie tzw. efektu oszczędzania witaminy E przez witaminę C.
2. Zastosowany zwiększony dodatek witaminy E (200 mg/kg) nie wpłynął niekorzystnie na koncentrację witaminy A, zarówno w surowicy jak i mleku loch oraz w surowicy prosiąt.
3. Zastosowane zwiększone dodatki witamin E (200 mg/kg) i C (500 mg/kg) nie spowodowały zmian zawartości aminotransferaz oraz glukozy w surowicy prosiąt.
4. Mimo istotnego wzrostu koncentracji witaminy E i witaminy C w surowicy prosiąt, nie potwierdzono jednoznacznie korzystnego wpływu tych witamin zarówno na liczbę prosiąt urodzonych ogółem, jak i na liczbę prosiąt żywych i martwych, w obu okresach doświadczalnych. Obserwacja odchowu prosiąt z doświadczenia letniego wykazała, że prosięta otrzymujące dodatek witaminy E (200 mg/kg) oraz łącznie z witaminą C (500 mg/kg) miały istotnie niższą masę ciała w okresie po odsadzeniu, tj. w 45 dniu życia, w porównaniu z grupą kontrolną.
5. W świetle uzyskanych wyników można stwierdzić, iż stosowanie wysokich dawek witaminy E łącznie z witaminą C ma korzystny wpływ na lochy. Dodatek witaminy E (200 mg/kg) podanej łącznie z witaminą C (500 mg/kg), wpłynął istotnie na obniżenie wewnętrznej temperatury ciała loch w kolejnych trzech dniach po porodzie w okresie letnim oraz zmniejszył istotnie liczbę loch wybrakowanych po odchowaniu miotu. W okresie jesienno-zimowym wpłynął także korzystnie na lochy w

następnym cyklu reprodukcyjnym, skracając dni jałowienia loch i istotnie ( $p \leq 0,01$  i  $p \leq 0,05$ ) zwiększając liczbę prosiąt urodzonych ogółem i żywych.

6. Uzyskane wyniki wskazują, iż zastosowanie zwiększonych dawek witaminy E (w ilości 200 mg/kg paszy) oraz podawanie jej łącznie z witaminą C (w ilościach 200 mg/kg wit. E i 500 mg/kg wit. C) w okresie 15 dni przed porodem i w laktacji, nie miało istotnego korzystnego wpływu na liczbę i masę prosiąt urodzonych i odchowanych w obu okresach doświadczenia (jesiennie-zimowym i letnim). Wykazano natomiast bardzo korzystne oddziaływanie zwiększonych dawek witaminy E podawanej łącznie z witaminą C na rozrodczość loch. Uzyskane wyniki wskazują na potrzebę prowadzenia dalszych badań nad suplementacją witaminami E i C w żywieniu loch w różnych okresach cyklu reprodukcyjnego, z uwzględnieniem wnikliwej obserwacji reakcji prosiąt na zastosowany zwiększony dodatek w okresie odchowu.

## SPIS PIŚMIENICTWA

1. **Acuff R.V., Dunworth R.G., Webb L.W., Lane J.R. 1998:** "Transport of deuterium labeled tocopherols during pregnancy" *Anim. J. Clin. Nutr.*, 67:459-469
2. **ARC. 1981:** "Agricultural Research Council: The Nutrient Requirements of Pigs" Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK
3. **Babinszky L., Langhout D.J., Verstegen M.W.A, den Hartog I.A., Joling P., Nieuwland M. 1991:** "Effect of vitamin R and fat source in sows' diets on immune response of suckling and weaned piglets" *J. Anim. Sci.*, 69: 1833-1842
4. **Babinszky L., Langhout D.J., Verstegen M.W.A., Hartog P., den Joling M., Nieuwland M. 1991:** "Effect of  $\alpha$ -tocopherol and dietary fat source on some blood and immunological variables in lactating sows" *Anim. Prod.*, 52:367-375
5. **Baker H., Hamndelman G.J, Short S Machlin L.J., Bhagavan E.A., Dratz E.A., Frank O. 1986:** "Comparison of plasma  $\alpha$ - i  $\gamma$ -tocopherol Leeds following chronic oral administration of either all-rac- $\alpha$ -tocopheryl acetate or RRR- $\alpha$ -tocopherylin normal adult male subjects" *Am. J. Clin. Nutr.*, 43:382-387
6. **Barej W. 1996:** Żywnienie a wydajność produkcyjna I zdrowie zwierząt" *Med. Wet.*, 52(3):139-143
7. **Batra T.R., Singh K., Ho S.K., Hidiroglou M. 1992:** "Concentration of plasma and milk vitamin E and plasma beta-carotene of mastitis and healthy cows" *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 62:233-237
8. **Bendich A., Cohen M. 1990:** "Ascorbic acid safety: analysis of factors affecting iron absorption" *Toxicol. Lett.*, 51: 189-201
9. **Bendich A., D'apolito P., Gabriel E., Machlin L.J. 1984:** "Interaction of dietary vitamin C and E on guinea pig immune responses to mitogens" *J. Nutr.*, 114:1588-1593

10. **Bendich A., Gabriel E., Machlin L.J. 1986:** “Dietary vitamin E requirement for optimum immune responses in the rat” *J. Nutr.*, 116:675-681
11. **Blair M.E. 2006:** “Vitamin E practicality reviewed” *Feedstuffs*, 78:49
12. **Blatt D.H., Leonard S.W., Traber M.G. 2001:** “Vitamin E kinetics and the function of tocopherol regulatory proteins” *Nutrition*, 17(10): 799-805
13. **Bonnette E.D., Kornegay E.T., Lindemann M.D., Notter D.R. 1990:** “Influence of two supplemental vitamin E levels and weaning age on performance, humoral antibody production and serum cortisol levels of pigs” *J. Anim. Sci.*, 68:1346-1353
14. **Braude R., Kon S.K., Porter J.W.G. 1950:** “Studies in the vitamin C metabolism of the pig” *Br. J. Nutr.*, 4:186-199
15. **Brennan L.A., Morris G.M., Wasson G.R., Hanningan B.M., Barnett Y.A. 2000:** “The effect of vitamin C or vitamin E supplementation on basal and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – induced DNA damage in human lymphocytes” *Br. J. Nutr.*, 84: 195-202
16. **Brigelius-Flohe R., Traber M.G. 1999:** „Vitamin E: function and metabolism” *FASEB J.*, 13:1145-1155
17. **Brisson G.J., Schultz R.D. 1991:** “Cellular immune response in pigs fed a vitamin E and selenium deficient diet” *J. Anim. Sci.*, 69(4):1575-1582
18. **Burton G.W., Traber M.G. 1990:** “Vitamin E: antioxidant activity, pharmacokinetics and bioavailability” *Annu. Rev. Nutr.*, 10:357-382
19. **Burton G.W., Traber M.G., Acuff R.V. 1998:** “Human plasma and tissue alpha-tocopherol concentrations in response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E” *Am. J. Clin. Nutr.*, 67:669-684
20. **Burton G.W., Wronska U., Stone L., Foster D.O., Ingold K.U. 1990:** “Biokinetics of dietary RRR- $\alpha$ -tocopherol in the male guinea pig at three dietary levels of vitamin C and two levels of vitamin E. Evidence that vitamin C does not “spare” vitamin E in vivo” *Lipids*, 25:199-210
21. **Carmona-Garcia J.B. 1983:** “Effect of vitamin C dietary supplement on sow litter size” *Vet. M $\acute{e}$ x.* 14:120-121

22. **Chavez E.R. 1983:** “Supplemental value of ascorbic acid during late gestation on piglet survival and early growth” *Can. J. Anim. Sci.* 63:683-687
23. **Chavez E.R., Patton K.L. 1986:** “Response to injectable selenium and vitamin E on reproductive performance of sows receiving a standard commercial diet” *Can. J. Anim. Sci.*, 66:1065-1074
24. **Chen L. 1981:** “An increase in vitamin E requirement induced by high supplementation of vitamin C in rats” *Am. J. Clin. Nutr.*, 34:1036-1041
25. **Chew B.P. 1995:** “The influence of vitamins on reproduction in pigs” *Recent-adv anim-nutr.* Loughborough, Leicestershire, U.K.: Nottingham University Press.: 223-239
26. **Chew B.P. 1996:** “Importance of antioxidant vitamins in immunity and health in animals” *Anim. Feed Sci. Techn.*, 59:103-114
27. **Ching S., Mahan D.C., Ottobre J.S., Dabrowski K. 2001:** „Ascorbic acid synthesis in fetal and neonatal pigs and in pregnant and postpartum sows” *J. Nutr.*, 131:1997-2001
28. **Chung K.Y., Mahan D.C., Lepine A.J. 1992:** “Efficacy of dietary d- $\alpha$ -tocopherol and dl- $\alpha$ -tocopheryl acetate for weanling pigs” *J. Anim. Sci.*, 70: 2485-2492
29. **Cline J.H., Mahan D.C., Moxon A.L. 1974:** “Progeny effects of supplemental vitamin E in sow diets” *J. Anim. Sci.*, 39:974
30. **Close W.H., Cole D.J.A. 2000:** “Nutrition and management strategies to optimize performance of the modern sow and boars” In: *Nutrition of Sows and Boars.* Nottingham University Press
31. **Combs G.F. 1991:** “Mechanisms of absorption transport and tissue uptake of vitamin E” In M.B. Coelho (ed) *Vitamin E in Animal Nutrition and Management.* BASF Reference Manual: 19-27
32. **Combs G.F. 1998:** “The vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health” 2<sup>nd</sup> Ed. Academic Press, Ca, USA
33. **Cooper D.R., Kling O.R., Carpenter M.P. 1987:** “Effect of vitamin E deficiency on serum concentration of folliclestimulating hormone and

- testosterone during testicular maturation and degeneration” *Endocrinology*, 120(1):83-90
34. **Corwin L.M., Shloss J. 1980:** “Influence of vitamin E on the mitogenic response of murine lymphoid cells” *J. Nutr.*, 110:916-923
  35. **Cunningham J.J. 1998:** “The glucose/insulin system and vitamin C: implication in insulin dependent diabetes mellitus: *J. Am. Coll. Nutr.* 17, 2, 105-108
  36. **Das P., Chowdhuy M. 1999:** “Vitamin E-deficiency induced changes in ovary and uterus” *Mol Cell Biochem.*, 198(1-2):151-156
  37. **Drevon C.A. 1991:** “Absorption, transport and metabolism of vitamin E” *Free Rad. Res. Commun.*, 14:229-246
  38. **Eicher S.D., McKee C.A., Carroll J.A., Pajor E.A. 2006:** “Supplemental vitamin C and yeast cell wall  $\beta$ -glucan as growth enhancers in newborn pigs and as immunomodulators after ad andotoxin challenge after weaning” *J. Anim. Sci.* 84:2352-2360
  39. **Ellis R.P., Vorheis M.W. 1976:** “Effect of supplemental dietary vitamin E on the serologic response to an *Escherichia coli* Bacterin” *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 168:231-232
  40. **Eskew M.L., Scholz R.W., Reddy C.C., Todhunter D.A., Zarkower A. 1985:** “Effect of vitamin E and selenium deficiencies on rat immune function” *Immunology*, 54:173-180
  41. **Evans H. M., Bishop K. S. 1922:** “On the Existence of a Hitherto Unrecognized Dietary Factor Essential for Reproduction” *Science*, New Series, 56(1458): 650 651
  42. **Farnworth E.R., Butler G., Hidiroglou M. 1995:** “Foetal pig vitamin E status” *Nutr. Res.*, 15:1139-1147
  43. **Flachowsky G. 2000:** “Vitamin E-transfer from feed into pig tissues” *J. Appl. Anim. Res.*, 17:69-80
  44. **Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. 2000:** “Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids” National Academy Press, Washington DC, 506



45. **Gallo-Torres H.E. 1970:** “Obligatory role of bile for the intestinal absorption of vitamin E” *Lipids*, 5: 379-384
46. **Gebremichael A., Levy E.M., Corwin L.M. 1984:** “Adherent cell requirement for the effect of vitamin E on in vitro antibody synthesis” *J. Nutr.*, 114:1297-1305
47. **Goss-Sampson M.A., MacEvilly C.J., Muller D.P.R. 1988:** “Longitudinal studies of the neurobiology of vitamin E and other antioxidant systems and neurological function in the vitamin E deficient rat” *J. Neurol. Sci.*, 87: 25-35
48. **Håkansson J., Hakkarainen J., Lundeheim N. 2001:** “Variation in vitamin E, glutathione peroxidase and retinol concentrations in blood plasma of primiparous sows and their piglets, and in vitamin E, selenium and retinol content in sows’ milk” *Acta Agric Scand, Sect A, Anim Sci*, 51: 224-234
49. **Han S.N., Wu D., Ha W.K., Beharka A., Smith D.E., Bender B.S., Meydani S.N. 2000:** “Vitamin E supplementation increases T helper 1 cytokine production in old mice infected with influenza virus” *Immunology*, 100:487-493
50. **Handelman G.J., Machlin L.J, Fitch K., Weiter J.J., Dratz E.A. 1985:** “Oral  $\alpha$ -tocopherol supplements decrease plasma  $\gamma$ -tocopherol levels in humans” *J. Nutr.*, 115:807-813
51. **Hardy B. I Frape D. 1982:** “Micronutrients and reproduction” Cole D.J.A., Foxcroft G.R., (Ed.) *Control of pig reproduction*, Butterworth Scientific, London: 621-639
52. **Hasan L., Vögeli P., Stpll P., Kramer Š.Š., Stranzinger G., Neuenchwander S. 2004:** “Intragenic deletion in the gene encoding L-gulonolactone oxidase causes vitamin C deficiency in pigs” *Mammalian Genome*, 15:323-333
53. **Hayek M.G., Mitchell Jr. G.E., Harmon R.J., Stahly T.S., Cromwell G.L, Tucker R.E., Barker K.B. 1989:** “Porcine immunoglobulin transfer

- after parturition treatment with selenium or vitamin E" *J. Anim. Sci.*, 67: 1299-1306
54. **Heinzerling R.H., Nockels C.F., Quarles C.L., Tengerdy R.P. 1974:** "Protection of chicks against *E. coli* infection by dietary supplementation of vitamin E" *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 146:279-283
  55. **Herrera E., Barbas C. 2001:** "Vitamin E: action, metabolism and perspectives" *J. Physiol. Biochem.*, 57(1):3-56
  56. **Hewavitharana A.K., van Brakel A.S., Harnett M. 1996:** "Simultaneous liquid chromatographic determination of vitamins A, E and  $\beta$ -carotene in common dairy foods" *Int. Dairy Journal* 6:613-624
  57. **Hidiroglou M., Batra T.R., Farnworth E.R., Markham F. 1995:** "Effect of vitamin E supplementation on immune status and  $\alpha$ -tocopherol in plasma of piglets" *Reprod. Nutr. Dev.*, 35:443-450
  58. **Hidiroglou M., Farnworth E., Butler G. 1993a:** "Effects of vitamin E and fat supplementation on concentration of vitamin E in plasma and milk of sows and in plasma of piglets" *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 63:180-187
  59. **Hidiroglou M., Farnworth E., Butler G. 1993b:** "Vitamin E and fat supplementation of sows and the effect on tissue vitamin E concentrations in their progeny" *Reprod. Nutr. Dev.*, 33:557-585
  60. **Hidiroglou M., Mc Dowell L.R., Pastrana R. 1988:** "Bioavailability of various vitamin E compounds in sheep" *Internat. J. Vit. Res.*, 58:189-197
  61. **Hogan J.S., Smith K.L., Weiss W.P., Todhunter D.A., Shockey W.L. 1990:** "Relationships among vitamin E, selenium and bovine blood neutrophils" *J. Dairy Sci.*, 73:2372-2378
  62. **Iben, B. 1998:** "Importance of oral iron supplementation in pigs in the first hours of life" *Tierarztl. Prax Ausg. G Großtiere Nutztiere*, 26(1):36-40
  63. **Ingold K.U., Burton G.W., Foster D.O., Hughes L. 1990:** "Is methyl-branching in  $\alpha$  tocopherol's "tail" important for its in vivo activity? Rat curative myopathy bioassay measurements of the vitamin E activity of three 2RS-n-alkyl-2,5,7,8 tetramethyl-6-hydroxychromans" *Free Radic. Biol. Med.*, 9:205-210

64. **Ingold K.U., Burton G.W., Foster D.O., Hughes L., Lindsay D.A., Webb A. 1987:** “Biocinetics of and discrimination between diet ary RRR- and SRR- $\alpha$  tocopherols in the male rat” *Lipids*, 22:163-172
65. **Jedlińska-Krakowska M. 2006:** “Wpływ wysokich dawek witaminy C i ozonu na przebieg stresu oksydacyjnego u szczurów” *Med. Wet.* 62(10): 1183-1185
66. **Jeng K-C.G., Yang C-S., Siu W-Y., Ysai Y-S, Liao W-J., Kuo J-S. 1996:** “Supplementation with vitamins C and E enhances cytokine production by peripheral blond mononuclear cells in health adults” *Am. J. Clin. Nutr.*, 64: 960-965
67. **Jensen M., Fossum C., Ederoth M., Hakarrainen R.V.J. 1988:** “The effect of vitamin E on the cell-mediated immune response in pigs” *J.Vet.Med.* 35:549
68. **Jensen M., Hakkarainen J, Lindholm A., Jönsson L. 1988a:** “Vitamin E requirement of growing swine” *J. Anim. Sci.* 66:3101-3111
69. **Jishage K., Arita M., Igarashi K., Iwata T., Watanabe M., Ogawa M., Ueda O., Kamada N., Inoue K., Arai H I Suzuki H. 2001:** “ $\alpha$ -tocopherol transfer protein is important for the normal development of placental labyrinthine trophoplasts in mice” *J. Biol. Chem.*, 273:1669-1672
70. **Kaneko K., Kiyose C., Ueda T., Ichikawa H., Igarashi O. 2000:** “Studies of the metabolism of  $\alpha$ -tocopherol stereoisomers in rats using [5-methyl-(14)C]SRR and RRR- $\alpha$ -tocopherol” *J. Lipid Res.*, 41(3):357-367
71. **Kappus H., Diplock A. 1992:** “Tolerance and safety of vitamin E: a toxicological position report” *Free Rad. Biol. Med.*,13:55-74
72. **Kayden H.J., Traber M.G. 1993:** “Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans” *J. of Lipid Res.*, 34:343-358
73. **Kiyose C., Muramatsu R., Kameyama Y., Ueda T., Igarashi O. 1997:** “Biodiscrimination of  $\alpha$ -tocopherol stereoisomers in humans after oral administration” *Am. J. Clin. Nutr.*, 65:785-789

74. **Kolb E., Hoffmann U. 1989:** „Zur Frage der zweckmäßigen Form der Anwendung von Fe-Dextran, seiner Verwertung sowie des Mechanismus einer möglichen Schädigung der Ferkel” Mh. Vet. Med.,44: 497-501
75. **Konopacka M. 2004:** “Rola witaminy C w uszkodzeniach oksydacyjnych DNA) Postępy Hig. Med. Dośw. (online), 58:343-348
76. **Larsen H.J., Tollersud S. 1981:** “Effect of dietary vitamin E and selenium on the phytohaemagglutinin response of pig lymphocytes” Res. Vet. Sci., 31:301-305
77. **Lauridsen C., Jensen S.K. 2005:** “Influence of supplemental off all-rac- $\alpha$ -tocopheryl acetate preweaning and vitamin C postweaning on  $\alpha$ -tocopherol and immune responses of piglets” J. Anim. Sci., 83:1274-1286
78. **Lauridsen C., Engel H., Craig A.M., Traber M.G. 2002a:** “Relative bioactivity of dietary RRR- and all-rac- $\alpha$ -tocopheryl acetates in swine assessed with deuterium-labeled vitamin E” J. Anmi. Sci., 80:702-707
79. **Lauridsen C., Engel H., Jensen S.K., Craig A.M., Traber M.G. 2002b:** “Lactating sows and suckling piglets preferentially incorporate RRR- over all-rac- $\alpha$ -tocopherol into milk, plasma and tissues” J. Nutr., 132:1258-1264
80. **Lechowski J. 2009:** “Ocena efektywności dodatku kwasu askorbinowego do paszy na cechy reprodukcyjne młodych loszek I knurków inseminacyjnych oraz właściwości fizyczne i chemiczne mięsa tuczników” Rozpr. Nauk. Uniw. Przyr. w Lublinie ISSN 1899-2374, zeszyt 334
81. **Leger C.I., Dumontier C., Fouret G., Boulot P., Descomps B. 1998:** “A short term supplementation of pregnant women before delivery does not improve significantly the vitamin E status of neonates - low efficiency of the vitamin E placental” Int. J. Vitam. Nutr. Res., 68:293 299
82. **Lessard M., Yang W.C., Elliott G.S., Rebar A.H., Van Vleet J.F., Desluaries N., Brisson G.J., Schultz R.D. 1991:** “Celluar immune responses in pigs feed a vitamin E and selenium-deficient diet” J. Anim. Sci., 69:1575-1582
83. **Lewis L.A., Quaife M. L., Page I. H. 1954:** “Lipoproteins of serum, carriers of tocopherol” Am. J. Physiol., 178:221-222

84. **Lipiński K. 2007:** “Znaczenie dodatków ziołowych w żywieniu prosiąt”  
Trzoda Chlewna 7:64-67
85. **Lipiński K., Tywończuk J. 1999:** “Rola witaminy E w żywieniu loch”  
Trzoda Chlewna 1:44-47
86. **Loudenslager M.J., Ku P.K., Whitter P.A., Ullrey D.E., Whitehair C.K., Stowe H.D., Miller E.R. 1986:** “Importance of diet of dam and colostrum to the biological antioxidant status and parenteral iron tolerance of the pig”  
J. Anim. Sci., 63:1905-1914
87. **Madej E., Grzęda M. 2000:** „Właściwości, niedobór i zakres zastosowań witaminy C w lecznictwie zwierząt” Med. Wet., 56(10):627-631
88. **Mahan D.C., Kim Y.Y., Stuart R.L. 2000:** “Effect of vitamin E sources (RRR- or All rac- $\alpha$ -tocopheryl acetate) and levels on sow reproductive performance, serum, tissue and milk  $\alpha$ -tocopherol contents over a five-parity period, and the effects on the progeny” J. Anim. Sci., 78:110-119
89. **Mahan D.C., Penhale L.H., Cline I.H., Moxon A.L. Fetter A.W., Yarrington J.T. 1974:** “Efficiency of supplemental Se on reproductive diets on sow and progeny performance” J. Anim. Sci. 39:534-543
90. **Mahan D.C. 1991:** “Assessment of the influence of dietary Vitamin E on sows and offspring in three parities: reproductive performance, tissue tocopherol, and effects on progeny” J. Anim. Sci., 69(7):2904-2917
91. **Mahan D.C. 1994:** “Effects of dietary vitamin E on sows reproductive performance over a fiveparity period” J. Anim. Sci., 72(11):2870-2879
92. **Mahan D.C., Kim Y.Y., Stuart RL. 2000:** “Effect of vitamin E sources (RRR- or all rac- $\alpha$ -tocopheryl acetate) and levels on sow reproductive performance, serum, tissue, and milk  $\alpha$ -tocopherol contents over a five-parity period, and the effects on the Progeny” J. Anim. Sci., 78(1): 110-119
93. **Malm A., Pond W.G., Walker E.F. Jr, Homan M., Aydin A., Kirtland D. 1976:** “Effect of polyunsaturated fatty acids and vitamin E level of the sow gestation diet on reproductive performance and on level of  $\alpha$ -tocopherol in colostrum, milk and dam progeny blood serum” J. Anim. Sci., 42: 393-399

94. **Marin-Gunzman J., Mahan D.C., Pate J.L. 2000:** "Effect of dietary selenium and vitamin E on spermatogenic development in boars" *J. Anim. Sci.*, 78(6):1537-1543
95. **Marin-Gunzman J., Mahan D.C., Chung Y.K., Pate J.L., Pope W.F. 1997:** "Effects of dietary selenium and vitamin E on boar performance and tissue response, semen quality, and subsequent fertilization rates in mature gilts" *J. Anim. Sci.*, 75(11): 2994-3003
96. **Mavromatis J., Koptopoulos G., Kyriakis S.C., Papasteriadis A., Saoulidis K. 1999:** "Effects of alpha-tocopherol and selenium on pregnant sows and their piglets' immunity and performance" *J. Vet. Med.*, 46:543-553
97. **McCormick E.C., Cornwell D.G., Brown B. 1960:** "Studies on the distribution of tocopherol in human serum lipoproteins" *J. Lipid Res.* 1:221-228
98. **McMurray C.H., Blanchflower W.J. 1979:** "Application of a high-performance liquid chromatographic fluorescence method for the rapid determination of  $\alpha$  tocopherol in the plasma of cattle and pigs and its comparison with direct fluorescence and high-performance liquid chromatography-ultraviolet detection methods" *J. of Chrom.*, 178:525-531
99. **Meier R., Tomizaki T., Schulze-Briese C., Bauman U., Stocker A. 2003:** "The molecular basis of Vitamin E retention: structure of human  $\alpha$ -tocopherol transfer protein" *J. Mol. Biol.*, 331(3):725-734
100. **Melmborg K.J., Lenkei R., Peterson M., Ohlum T., Ichihara F., Glimelius B., Frodin J.E., Masucci G., Kiessling R. 2002:** "A short-term dietary supplementation of high doses of vitamin E increases T helper 1 cytokine production in patients with advanced colorectal cancer" *Clin. Cancer Res.*, 6:1772-1778
101. **Migdal W., Kaczmarczyk J. 1993:** "Effect to injection of selenium and vitamin E on reproductive performance of sows and Se concentration in sow milk" *World Rev. Anim. Prod.*, 28: 68-71

102. **Miller ER. 1986:** “Importance of diet of dam and colostrum to the biological antioxidant status and parenteral iron tolerance of the pig” *J. Anim. Sci.*, 63(6): 1905-1914
103. **Moreira I., Mahan D.C. 2002:** “Effect of dietary levels of vitamin E (all-rac- $\alpha$  tocopheryl acetate) with or without added fat on weanling pig performance and tissue  $\alpha$ -tocopherol concentration” *J. Anim. Sci.*, 80:663-669
104. **Moriguchi S., Muraga M. 2000:** “Vitamin E and immunity” *Vitam. Horm.*, 59:305-336
105. **Moriguchi S., Miwa M., Okamura H., Maekawa K., Kishinom Y., Maeda L. 1993:** “Vitamin E is an important factor in T cell differentiation in thymus of F344 rats” *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 39: 451-463
106. **Nemec M., Butler G., Hidiroglu M., Farnworth E.R., Nielsen K. 1994:** “Effect of supplementing gilts’ diets with different levels of vitamin E and different fats on the humoral and cellular immunity of gilts and their progeny” *J. Anim. Sci.*, 72:665-676
107. **Niki E., Tsuchiya J., Tanimura R., Kamiya Y. 1992:** “Regeneration of vitamin E from  $\alpha$ -chromanoxyl radical by glutathione and vitamin C” *Chem. Lett.*: 789-792
108. **Njeru C.A., MacDowell L.R., Wilkinson N.S., Linda S.B., Williams S. 1994:** “Pre and postpartum supplemental DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate effects on placental and mammary vitamin transfer in sheep” *J. Anim. Sci.*, 72:1636-1640
109. **Nockels C.F. 1991:** “Vitamin E requirements of beef cattle: influencing factors” BASF Technical Symposium, Bloomington, Minnesota, : 40-43
110. **Nowaczewski S., Kontecka H., Pruszyńska-Oszmąlek E. 2006:** “Effect of feed supplementation with vitamin C on hematological indices, corticosterone concentration in blood and duration of tonic immobility in pheasants” *Ann. Anim. Sci.*, 6, 1:117-128
111. **NRC 1998:** “Nutrient requirement of swine” 10<sup>th</sup> Edition. National Academy Sciences. National Academy Press. Washington DC

112. **Omaye S.T., Turnbull J.D., Sauberlich H. 1979:** “Selected Methodic for the Determination of Ascorbic Acid in Animal Cells, Tissues, and Fluids” Meth. In. Enzym. 62:3-14
113. **Papas A.M. 1999:** “Vitamin E: tocopherols and tocotrienols. In: A.M. Papas (ed). Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health” CRC Press LLC, Boca Raton, FL, 189-210
114. **Papas A.M., Cambre R.C., Citino S.B., Baer D.J., Wooden G.R. 1990:** “Species differences in the utilization of various forms of vitamin E” Proceedings, 1990 Annual Conference of American Association of Zoo Veterinarians, 1, 86-150
115. **Pardue S.L., Thaxton J.P. 1986:** “Ascorbic acid in poultry: a review” Wld’s Poult. Sci. J. 42, 107-123
116. **Paschma J. 2000:** “Wpływ dodatku  $\beta$ -karotenu do dawki pokarmowej na płodność potencjalną i rzeczywistą loszek” Rozprawa habilitacyjna. Instytut Zootechniki. Kraków
117. **Pherson B., Holmgren N., Trafikowska U. 2001:** “The influence of parenterally administered  $\alpha$ -tocopheryl acetate to sows on the vitamin E status of sows and suckling piglets and piglets after weaning” J. Vet. Med. A, 48:569-575
118. **Peplowsky M.A., Mahan D.C., Murray F.A., Moxon A.L., Cantor A.H., Akstron K.E. 1981:** “Effect of dietary and selenium in weanling swine antigenically challenged with sheep red blood cells” J. Anim. Sci., 51: 344-351
119. **Petroff B.K., Dąbrowski K., Ciereszko R.E., Ottobre J.S. 1997:** “Total ascorbate and dehydroascorbate concentrations in porcine ovarian stroma, follicles, and corpora lutea throughout the estrus cycle and pregnancy” Theriogenology 47, 1265-1273
120. **Pharazyn A., Den Hartog L.A., Aherne F.X. 1990:** “Vitamin E and its role in the nutrition of the gilt and sow: a review” Livest. Prod. Sci., 24:1-13
121. **Pinelli-Saavedra A. 2003:** „Vitamin E in immunity and reproductive performance in pigs” Reprod. Nutr. Dev., 43:397-408



122. **Pinelli-Savedra A., Scaife J.R. 2005:** “Pre- and postnatal transfer of vitamins E and C to piglets in sows supplemented with vitamin E and vitamin C” *Livest. Prod. Sci.*, 97, 2-3: 231-240
123. **Politis I., Hidioglou M., Batra T.R., Gilmore J.A., Gorewith R.C., Scherf H. 1995:** “ Effects of vitamin E on immune function of dairy cows” *Am. J. Vet. Res.*, 56:179-184
124. **Pollock J.M., McNair J., Kennedy S., Kennedy D.G., Walsh D.M. 1994:** “Effects of dietary vitamin E and selenium in vitro cellular immune responses in cattle” *Res. Vet. Sci.*, 56:100-107
125. **Reddy P.G., Morrill J.L., Minocha H.C., Stevenson J.S. 1987:** “Vitamin E is immunostimulatory in calves” *J. Dairy Sci.*, 70:993-999
126. **Rekiel A. 1999:** “Bezmleczność poporodowa loch – etiologia i profilaktyka” *Med. Wet.* 55(7):440-444
127. **Rooke J.A., Bland I.M. 2002:** “The acquisition of passive immunity in the new-born piglet” *Liv. Prod. Sci.*, 78:13-23
128. **Roquet J., Nockels C.F., Papas A.M. 1992:** “Cattle blood plasma and red blood cell  $\alpha$ -tocopherol levels in response to different chemical forms and routes of administration of vitamin E” *J. Anim. Sci.*, 70(8):2542-2550
129. **Ruda M. 1987:** “Wpływ profilaktycznego stosowania witaminy A i mikroelementów Cu, Mn, Zn w cyklu rozplodowym” Rozprawa habilitacyjna nr 118. Zeszyty Naukowe AR w Krakowie
130. **Rzasa A. 2007:** “Wpływ budowy gruczołu sutkowego loch lub zastosowania surowicy anty-H. somnus na wyniki odchowu prosiat” *Zesz. Nauk. Uniw. Przyr. we Wrocławiu, Rozpr. CCXLIV*, nr 549
131. **Schwager J., Schulze J. 1998:** “Modulation of interleukin production by ascorbic acid” *Vet. Immunology and Immunopathology*, 64:45-57
132. **Serpek B., Baspinar N., Haliloglu S., Erdem H. 2001:** “The relationship between ascorbic acid, oestradiol 17 $\beta$  and progesterone in plasma and in ovaries during the sexual cycle in cattle” *Rev. Med. Vet.* 152, 3, 253-260
133. **Sies H., Stahl W. 1995:** “Vitamins E and C,  $\beta$ -carotene and other carotenoids as antioxidants” *Am. J. Clin. Nutr.*, 62(suppl):1315S-1321S

134. **Sivertsen T., Vie E., Bernhoft A., Baustad B. 2006:** “Vitamin E and selenium plasma concentrations in weanling pigs under field conditions in Norwegian pig herds” *Acta Vet. Scand.* 49:1
135. **Smith K.L., Harrison J.H., Hancock D., Todhunter D.A., Conrad H.R. 1984:** “Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms” *J. Dairy Sci.*, 67:1293-1300
136. **Sroka Z., Gamian A., Cisowski W. 2005:** „Niskocząsteczkowe związki przeciw utleniające pochodzenia naturalnego” *Postępy Hig. Med. Dośw.* (online), 59:34-41
137. **Stephens L.C., McChensey A.E., Nockels C.F. 1979:** “Improved recovery of vitamin E-treated lambs that have been experimentally infected with intratracheal chlamydia” *Br. Vet. J.*, 135:291-296
138. **Suirai P.F. 2001:** “Review of cellular antioxidant defences – vitamin, mineral, enzyme antioxidant defences” Meeting of Society of Feed Technologists. June 14<sup>th</sup>, UK
139. **Suzuki J., Katoh N. 1990:** “A Simple and Cheap Methods for Measuring Serum Vitamin A in Cattle Using Only a Spectrophotometer” *Jpn. J. Vet. Sci.* 52(6):1281-1283
140. **Svendsen J., Brown P. 1973:** “IgA immunoglobulin levels in porcine serum and mammary secretions” *Res. Vet. Sci.* 15:65-69
141. **Tarin J., Ten J., Vendrell F.J., de Oliveira M.N., Cano A. 1998:** “Effects of maternal ageing and dietary antioxidant supplementation on ovulation, fertilisation and embryo development in vitro in the mouse” *Reprod. Nutr. Dev.*, 38:499-508
142. **Taylor S.I., Lambden M.P., Tappel A.L. 1976:** “Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis” *Lipids*, 11:530
143. **Tollerz G., Lannek N. 1964:** “Protection against iron toxicity in vitamin E deficient piglets and mice by vitamin E and synthetic antioxidants” *Nature.*, 22(201):846-847

144. **Traber M.G., Kayden H.J. 1989:** "Preferential incorporation of  $\alpha$ -tocopherol vs  $\gamma$ -tocopherol in human lipoproteins" *Am. J. Clin. Nutr.*, 49: 517-526
145. **Traber M.G., Burton G.W., Hughes L., Ingold K.U., Hidaka H., Malloy M., Kane J., Hyams J., Kayden H.J. 1992:** "Discrimination between forms of vitamin E by humans with and without genetic abnormalities of lipoprotein metabolism" *J. Lipid Res.*, 33:1171-1182
146. **Traber M.G., Burton G.W., Ingold K.U., Kayden H.J. 1990a:** "RRR- and SRR- $\alpha$  tocopherols are secreted without discrimination in human chylomicrons, but RRR- $\alpha$ -tocopherol is preferentially secreted in very low density lipoproteins" *J. Lipid Res.* 31: 675-685
147. **Traber M.G., Ramakrishnan R., Kayden H.J. 1994:** "Human plasma vitamin E kinetics demonstrate rapid recycling of plasma RRR- $\alpha$ -tocopherol" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91:10005-10008
148. **Traber M.G., Rudel L.L., Burton G.W., Hughes L., Ingold K.U., Kayden H.J. 1990b:** "Nascent VLDL from liver perfusions of cynomolgus monkeys are preferentially enriched in RRR- compared with SRR- $\alpha$ -tocopherol: study using deuterated tocopherols" *J. Lipid Res.*, 31(4):687-694
149. **Traber M.G., Sokol R.J., Burton G.W., Ingold K.U., Papas A.M., Huffaker J.E., Kayden H.J. 1990c:** "Impaired ability of patients with familial isolated vitamin E deficiency to incorporate  $\alpha$ -tocopherol into lipoproteins secreted by the liver" *J. Clin. Invest.*, 85:397-407
150. **Tran K., Chan A.C. 1992:** "Comparative uptake of  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherol by human endothelial cells" *Lipids*, 27:38-41
151. **Tsao C.S., Young M. 1989:** "Effect of exogenous ascorbic acid intake on biosynthesis of ascorbic acid in mice" *Life Sci.* 45:1553-1557
152. **Ullrey D.E. 1981:** "Vitamin E for swine" *J. Anim. Sci.* 53:1039-1056
153. **Van Suan R.J., Herdt T.H., Stowe H.D. 1989:** "Maternal and fetal selenium concentrations and their interrelationships in dairy cattle" *J. Nutr.*, 119:1128-1133

154. **Velenzuela A.B. 2002:** "Natural antioxidants: from food safety to health benefits" Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Nottingham Univ. Press, :323-331
155. **Wang J.Y., Watson R.R. 1994:** "Vitamin E supplementation at various levels alters cytokine production by thymocytes during retrovirus infection causing murine AIDS" Thymus, 22:153-165
156. **Wang J.Y., Liang B., Watson R.R. 1995:** "Vitamin E supplementation with interferon gamma administration retards immune dysfunction during murine retrovirus infection" J. Leukocyte Biol., 58:698-703
157. **Waryastuti H., Stowe H.D., Bull R.W., Miller E.R. 1993:** "Effects of vitamin E and selenium on immune responses of peripheral blood, colostrums and milk leukocytes of sows" J. Anim. Sci., 71: 2464-2472
158. **Wegger I., Palludan B. 1984:** "Ascorbic acid status of swine" Wegger I., Tagwerker F.J. Moustgaard J. (Ed.) Ascorbic Acid in Domestic Animals Proceedings, The Royal Danish Agriculture Society, Copenhagen: 68-79
159. **Wegger I., Palludan B. 1986:** "Ascorbic acid in swine nutrition: pre-, neo- and postnatal aspects" Proc. 9<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Soc. Congr. :429
160. **Wegger I., Palludan B. 1994:** "Vitamin C deficiency causes hematological and skeletal abnormalities during fetal development in swine" J. Nutr., 124:241-248
161. **Weiser H., Vecchi M. 1982:** "Stereoisomers of  $\alpha$ -tocopheryl acetate. II. Biopotencies of all eight stereoisomers, individually or in mixtures, as determined by rat resorption-gestation test" Int. J. Vit. Nutr. Res., 52: 351-370
162. **Weiss W. P., Hogan J. S. and Smith K. L. 1997:** "Effect of feeding large amount of vitamin E during the periparturient period on mastitis in dairy cows" Special Circular-mastitis, Ohio Agric. Res. Dev. Center, 156:125-126
163. **Whitehead C.C., Keller T. 2003:** "An update on ascorbic acid in poultry" Wld's Poult. Sci. J. 59, 161-184
164. **Whittemore C.T., Close W.H. and Hazzledine M.J. 2002:** "The need for nutrient requirement standards for pigs. A report of the British Society of

- Animal Science nutritional standards working group: pigs” Pig News and Information 23(3):67N-74N
165. **Wierzba T.H. 2005:** „Nieoczekiwane niepowodzenia prób klinicznych z antyoksydantami” Kardiol. Pol., 63(Supl.2):472-482
  166. **Wilburn E.E., Mahan D.C., Hill D.A., Shipp T.E., Yang H., 2008:** “An evaluation of natural (RRR- $\alpha$ -tocopheryl acetate) and synthetic (all-rac- $\alpha$  tocopheryl acetate) vitamin E fortification in the diet or drinking water of weanling pigs” J. Anim. Sci. 86: 584-591
  167. **Wilkinson J.E., Bell M.C., Bacon J.A., Mansicupp F.B. 1977:** “Effects of supplemental Se on swine. I. Gestation and lactation” J. Anim. Sci., 44: 224-228
  168. **Winnicka A. 2004:** “Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii. Wyd. SGGW Warszawa
  169. **Van den Brand H., Prunier A., Soede N.M., Kemp B. 2001:** „In primiparous sows, plasma insulin like growth factor-I can be affected by lactational feed intake and dietary energy source and is associated with luteinizing hormone” Reprod. Nutr. Dev. 41, 1, 27-39
  170. **Yang H., Mahan D.C., Hill D.A., Shipp T.E., Radke T.R., Cecava M.J. 2009:** “Effect of vitamin E source, natural versus synthetic, and quantity on serum and tissue  $\alpha$ -tocopherol concentrations in finishing swine” J. of Anim. Sci. 87(12): 57-63
  171. **Young L.G., Miller R.B., Edmeades D.E., Lun A., Smitz G.C., King G.L. 1977:** “Selenium and vitamin E supplementation of high moisture corn diets from swine production” J. Anim. Sci., 45:1051-1060
  172. **Zhao-JunMei., Li-DeFa., Piao-XiangShu., Wang-ZongYi., Chen-Yong 2002:** “Effect of vitamin C on stress resistance and immune function in weanling piglets” Chin. J. Anim. Sci. 38, 2, 19-21
  173. **Ziemiański Ś., Watranowicz M., 1999:** „Rola antyoksydantów żywieniowych w stanie zdrowia i choroby” Pediatria Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka, 1,2/3: 97-105