

Barbara NAGÓRNA-STASIAK,
Agnieszka ŁAZUGA-ADAMCZYK

Wpływ witamin grupy B na wchłanianie witaminy C u kurcząt

Influence of Vitamins of Group B on the Absorption of Vitamin C in the Chickens

Witaminy grupy B zwierzęta czerpią głównie z pożywienia, a więc produktów paszowych i dodatków mineralno-witaminowych. Drugim źródłem tych witamin jest flora bakteryjna przewodu pokarmowego, żyjąca w przedżołądkach i jelicie grubym. U ptaków miejscem intensywnego rozwoju bakterii i produkcji witaminy grupy B oraz ich wchłaniania są dwa jelita ślepe. Są to głównie witaminy B₁, B₂, B₆, B₁₂, kwas pantotenowy, kwas foliowy, kwas nikotynowy i biotyna (1). W jelitach ślepych ptaków zachodzi również wiele innych procesów, jak wchłanianie wody, trawienie celulozy przez enzymy bakteryjne, trawienie i wchłanianie białek, wchłanianie niebiałkowego azotu. Wykazano też, że flora bakteryjna jelit ślepych u ptaków może być swoistym antygenem, który spełnia rolę szczepionki (5).

Mieszanki przemysłowe dla drobiu bogate są w witaminy grupy B, gdyż zapotrzebowanie na nie u ptactwa jest bardzo duże. Jednakże na ogół pokarm ptaków zawiera niewiele witaminy C. Dlatego też wpływ innych witamin rozpuszczalnych w wodzie na wchłanianie kwasu askorbowego jest bardzo istotny. W doświadczeniach ostrych, przy użyciu pętli jelitowych lub też odcinkach jelit w doświadczeniach *in vitro*, wykazano, że takie witaminy, jak chlorek choliny, pantotenian wapnia, B₁, kwas nikotynowy stosowane oddzielnie, znacznie hamują wchłanianie witaminy C, natomiast kwas foliowy i biotyna – zwiększają ten proces (3, 6, 7, 8, 9). Jednakże łączny wpływ witamin rozpuszczalnych w wodzie na wchłanianie kwasu askorbowego nie był badany.

Celem niniejszej pracy było wykazanie łącznego wpływu witamin rozpuszczalnych w wodzie na wchłanianie witaminy C, przy zastosowaniu nie tylko metody perfuzowanej pętli jelitowej w doświadczeniach ostrych, ale również kieszonki jelitowej w doświadczeniach chronicznych. W badaniach uwzględniano głównie jelita ślepe kur, gdzie witaminy grupy B są produkowane przez bakterie i od razu wchłaniane, a również wchłanianie kwasu askorbowego jest znacznie intensywniejsze niż w jelicie cienkim (6).

MATERIAŁ I METODY

Badania wykonano na 53 kurczętach brojlerach w wieku 2-4 miesięcy i ciężarze ciała 1,8-2,3 kg. Kurczęta żywione były standardową mieszanką DKA-finisher. Do badania wchłaniania witaminy C (kwasu askorbowego) z jelit kurcząt zastosowano dwie metody: metodę perfuzowanej pętli jelitowej w doświadczeniach ostrych (4, 11) oraz metodę z użyciem kieszonki jelitowej w doświadczeniach chronicznych.

Celem uzyskania pętli jelitowej do perfuzji roztworu witamin, kurczęta usypiano wetbutalem w dawce 0,5-1,0 ml/kg. Następnie po otwarciu jamy brzusznej wyosabniano odcinek jelita czczego o długości 10 cm lub odcinek jelita ślepego liczący 7 cm, które pozostawały podwieszane na krecze. Na obu końcach wyosobnionego odcinka jelita umieszczano kaniule gumowe, a następnie pętlę jelitową chowano w jamie brzusznej, wyprowadzając kaniule na zewnątrz. Przez tak przygotowaną pętlę przepuszczano płyn fizjologiczny o temp. 39°C przy pomocy pompy perystaltycznej. Do płynu perfuzyjnego dodawano kwas askorbowy w stężeniu 200 mg/l oraz łącznie witaminy z grupy B po 50 mg/l: B₁, B₂, B₆, pantotenian wapnia, kwas nikotynowy, kwas foliowy, chlorek cholicy i biotynę. W celu zablokowania transportu aktywnego w jelicie w części doświadczeń do badanego roztworu dodawano 0,1 mM/l ouabainy (10), która jest inhibitorem transportu aktywnego. Po zakończeniu eksperymentu odcinek jelita wycinano i mierzono jego powierzchnię. Witaminę C w płynie perfuzyjnym oznaczano metodą Roe i Kuethera (12, 13), a ilość wchłoniętej witaminy C wyrażano w mg/l/cm²/60 min.

U 10 kurcząt w doświadczeniach chronicznych badano wchłanianie witaminy C z operacyjnie wyosobnionej – unaczynionej i unerwionej pętli jelita ślepego, określanej jako kieszonka. Ślepy koniec jelita pozostawiano w jamie brzusznej, drugi zaś zakończony kaniulą wyprowadzano na zewnątrz. Po wygojeniu się rany, przy pomocy tak utworzonej kieszonki długości około 7 cm wielokrotnie oznaczano wchłanianie witaminy C. Do płynu fizjologicznego, którym wypełniano kieszonkę, dodawano – oprócz witaminy C i witamin grupy B – glikol polietylenowy, tj. substancję niewchłanianą z jelit, której stężenie mówiło o ilości wchłoniętej wody z kieszonki (2). Następnie po 30 min. pobierano roztwór z jelita i oznaczano ilość wchłoniętej witaminy C w przeliczeniu na mg/l/cm²/60 min. Wyniki badań poddano analizie statystycznej testem t-Studenta.

W doświadczeniach stosowano: kwas askorbowy cz. Polfa, chlorowodorek tiaminy Merc, ryboflawinę Reanal Hungary, chlorowodorek pirydoksyny England, kwas foliowy Fluck, pantotenian wapnia BDH England, kwas nikotynowy Roth, chlorek cholicy Serva, ouabaina Merc i Sigma, biotyna Serva, glikol polietylenowy BDH England.

WYNIKI

Kwas askorbowy z roztworu o stężeniu 200 mg/l wchłaniał się z jelita czczego w ilości 2,6 mg/l/cm²/60 min. Dodanie do tego roztworu 8 witamin z grupy B po 50 mg/l spowodowało obniżenie wchłaniania witaminy C do wartości 1,3 mg/l/cm²/60 min., to jest o 50%. Po zablokowaniu transportu czynnego ouabainą, witamina C wchłaniała się z jelita czczego w ilości 1,9 mg/l/cm²/60 min., a w przypadku dodania do tego roztworu witamin grupy B wchłanianie obniżyło się jeszcze do 1,0 mg/l/cm²/60 min. (tab. 1).

W jelicie ślepych obserwowano podobną reakcję, a więc wchłanianie witaminy C po dodaniu do płynu perfuzyjnego 8 witamin grupy B (po 50 mg/l) obniżyło się z 4,0 do 1,5 mg/l/cm²/60 min. W jelicie ślepych zablokowanie transportu aktywnego zmniejszało wchłanianie witaminy C z 4,0 do 2,8 mg/l/cm²/60 min. Dalsze obniżanie wchłaniania kwasu askorbowego wystąpiło po dodaniu witamin grupy B i wynosiło tylko 1,8 mg/l/cm²/60 min. Tak więc wykazano, że z roztworu witaminy C o stężeniu 200 mg/l w jelicie czczym na zasadzie transportu aktywnego wchłania się 27%, zaś przy pomocy dyfuzji 73%. W jelicie ślepych zaś transport czynny przenosi z jelita 30% witaminy C, a bierna dy-

fuzja 70%. O blokowaniu wchłaniania kwasu askorbowego przez witaminy grupy B na zasadzie transportu aktywnego świadczy fakt, że po dodaniu do płynu perfuzyjnego witamin grupy B otrzymywano obniżenie wchłaniania do 1,3, czyli niższą wartość niż stanowił sam transport przez dyfuzję – 1,9 mg/l/cm²/60 min. (tab. 1).

Tab. 1. Wpływ witamin grupy B na wchłanianie z jelit witaminy C (przyżyciowa perfuzja jelita czczego i ślepego), $\bar{x} \pm s$, n = 25

The effect of vitamins of group B on intestinal absorption of vitamin C (*in vivo* perfusion of jejunum and caecum), $\bar{x} \pm s$, n = 25

Stężenie witamin w płynie perfuzyjnym mg/l	Wchłonięta witamina C w mg/l/cm ² /60 min.											
	jelito czcze						jelito ślepe					
	witaminy			witaminy + ouabaina			witaminy			witaminy + ouabaina		
	$\bar{x}$	s	%	$\bar{x}$	s	%	$\bar{x}$	s	%	$\bar{x}$	s	%
Witamina C 200	2,6	0,14 ^{aA}	100	1,9	0,20 ^{aB}	100	4,0	0,39 ^{aA}	100	2,8	0,34 ^{aB}	100
Witamina C 200 + witaminy grupy B po 50 (łącznie 400)	1,3	0,06 ^{bA}	50	1,0	0,07 ^{bB}	53	1,5	0,09 ^{bA}	38	1,8	0,10 ^{bB}	64

Średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$. Porównanie liter a, b w pionie, A i B w poziomie. Witaminy grupy B – B₁, B₂, B₆, pantotenian wapnia, kwas nikotynowy, kwas foliowy, chlorek choliny i biotyna (tab. 1–4).

O blokowaniu wchłaniania witaminy C przez witaminy grupy B również na drodze biernej dyfuzji świadczy fakt, że po dodaniu tych witamin wchłanianie kwasu askorbowego obniżało się bardziej (1,5 mg/l/cm²/60 min.) niż przy zablokowaniu transportu aktywnego (2,8 mg/l/cm²/60 min.). Można więc przyjąć, że witaminy grupy B hamują wchłanianie witaminy C zarówno na zasadzie zmniejszenia transportu aktywnego, jak i biernej dyfuzji.

Biorąc pod uwagę fakt, że witamina C w doświadczeniach ostrych przeprowadzanych metodą perfuzjowanej pętli jelitowej wchłania się znacznie intensywniej w jelicie ślepym niż czczym, postanowiono prześledzić jej wchłanianie z jelita ślepego w doświadczeniach chronicznych metodą kieszonki jelitowej. Metoda ta pozwala na rejestrację wielokrotną wchłaniania witaminy u tego samego ptaka, pomija wpływ narkozy, ale uwzględnia intensywniejszą pracę organizmu mającą miejsce w czasie czuwania.

Wykazano, że wchłanianie kwasu askorbowego z kieszonki jelita ślepego w doświadczeniach chronicznych przebiega znacznie intensywniej niż metodą perfuzjowanej pętli jelitowej (tab. 1 i 2). Zwiększenie stężenia witaminy C w płynie podawanym do kieszonek znacznie zwiększa jej wchłanianie, np. jeśli przyjmujemy wchłanianie kwasu askorbowego z roztworu 200 mg/l za 100%, to z roztworu 1000 mg/l wchłania się 419,7% tej witaminy (tab. 2).

Tab. 2. Wchłanianie witaminy C z kieszonki jelita ślepego u kurcząt ($\bar{x} \pm s$, $n=20$)
Absorption of vitamin C from sack caecum in chickens

Stężenie witamin w płynie fizjologicznym mg/l	Wchłonięta witamina C mg/l/cm ² /60 min.		
	$\bar{x}$	s	%
Witamina C 50	1,7	0,08 ^a	25,8
Witamina C 200	6,6	0,11 ^b	100,0
Witamina C 600	7,9	0,19 ^c	119,7
Witamina C 1000	27,7	0,28 ^d	419,7

Tab. 3. Wpływ witamin grupy B na wchłanianie witaminy C z kieszonki jelita ślepego ($\bar{x} \pm s$, $n=20$)
The effect of vitamins of group B on absorption of vitamin C from sack caecum

Stężenie witamin w płynie fizjologicznym mg/l	Wchłonięta witamina C mg/l/cm ² /60 min.		
	$\bar{x}$	s	%
Witamina C 200	6,6	0,11 ^a	100
Witamina C 200 + witaminy grupy B po 50 (400)	5,0	0,15 ^b	75,7
Witamina C 200 + witaminy grupy B po 100 (800)	4,7	0,13 ^b	71,2
Witamina C 200 + witaminy grupy B po 200 (1600)	3,9	0,15 ^c	59,1

Tab. 4. Koncentracja witaminy C w płynie fizjologicznym przed i po dodaniu witamin grupy B
– doświadczenia *in vitro* ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Concentration of vitamin C in physiological liquid before and after addition of vitamins of group B
– experimental *in vitro*

Stężenie witaminy C mg/l	Stężenie witamin grupy B mg/l	%	Odzyskana witamina C		%	pH roztworu
200	–	100	199,65	1,43 ^a	99,85	3,75
200	50	100	198,10	1,32 ^a	99,05	3,65
200	200	100	195,90	1,22 ^a	97,95	3,60
200	1000	100	196,95	0,90 ^a	98,48	3,65
200	1600	100	202,40	1,37 ^a	101,20	3,55

Osiem witamin grupy B podawanych łącznie do płynu kieszonkowego, podobnie jak w doświadczeniach ostrych, obniżało wchłanianie witaminy C, jednakże mniej intensywnie. Hamowanie to jest ściśle uzależnione od stężenia witamin grupy B – wyższe stężenia dają większe hamowanie. Przy stężeniu witaminy C 200 mg/l wchłanianie jej wynosiło 6,6 mg/l/cm²/60 min. Dodanie

witamin grupy B łącznie w ilości 400 mg/l obniżyło wchłanianie kwasu askorbowego do 75,7%, a w ilości 1600 mg/l do 59,1% (tab. 3).

Aby wykluczyć możliwość niszczenia witaminy C przez witaminy grupy B, w doświadczeniach *in vitro* mieszano je razem i następnie oznaczano poziom witaminy C. Wykazano, że witaminy grupy B nie niszczą kwasu askorbowego, co świadczy, że cały ubytek tej witaminy z roztworów infuzyjnych należy przyjąć jako witaminę wchłoniętą (tab. 4).

OMÓWIENIE

Wykazano, że niektóre witaminy z grupy B powodują wzrost lub zmniejszenie wchłaniania witaminy C z jelit kurcząt. Udowodniono, że u kur witamina C wchłania się nie tylko w jelicie czczym, ale również w ślepy, a także, że kwas askorbowy w niższych stężeniach wchłania się na zasadzie transportu czynnego, w wyższych zaś na zasadzie dyfuzji. Chlorek choliny znacznie zmniejszał wchłanianie witaminy C i to niezależnie od dawki (od 200 do 1600 mg/l); obniżenie wchłaniania wynosiło około 40% (6).

Pantotenian wapnia – witamina z grupy rozpuszczalnych w wodzie obniżała wchłanianie witaminy C w zależności od stężenia w jelicie czczym od 13 do 35%, w ślepy zaś od 20 do 57%. Jednakże niejednokrotnie niższe stężenia pantotenianu wapnia dawały większe hamowanie wchłaniania witaminy C niż wyższe (7). Kwas nikotynowy należy do witamin, która zmniejsza wchłanianie witaminy C z jelit proporcjonalnie do jego stężenia. Ale nawet bardzo wysokie dawki kwasu nikotynowego nie hamowały całkowicie wchłaniania kwasu askorbowego (9). Wykazano również, że wchłanianie witaminy C w doświadczeniach *in vitro* z jelita czczego odbywało się z jednakową intensywnością w bliższym i dalszym jego odcinku. Ale zdolność wchłaniania kwasu askorbowego u kur z jelita ślepego była o 22% większa w porównaniu do jelita czczego (8). Witamina B₁ znacznie zmniejszała wchłanianie witaminy C, bo około 28%. Natomiast kwas foliowy należał do niewielu witamin, które istotnie zwiększały ten proces – około 15% (8).

Również inna witamina z grupy rozpuszczalnych w wodzie – biotyna wzmacniała wchłanianie witaminy C. Wzrost wchłaniania witaminy C w obecności różnych ilości biotyny wynosił od 30 do 157% (3). To pobudzające działanie biotyny jest bardzo istotne dla tych zwierząt i człowieka, u których nie zachodzi synteza kwasu askorbowego w organizmie lub w bardzo niewielkim stopniu, a jest on dostarczany tylko z pożywieniem.

Różnorodność działania witamin grupy B na wchłanianie kwasu askorbowego wskazywała na konieczność prześledzenia ich wspólnego działania na ten proces. Okazało się w niniejszych doświadczeniach, że witaminy B₁, B₂, B₆, pantotenian wapnia, kwas foliowy, kwas nikotynowy, chlorek choliny i biotyna

podane łącznie zmniejszały wchłanianie witaminy C od 25 do 40% w zależności od ich stężenia. Jest to więc hamowanie nie większe niż wywoływane przez każdą witaminę podawaną oddzielnie, np. chlorek cholicy czy też witaminę B₁. Tak więc pobudzający wpływ biotyny i kwasu foliowego na wchłanianie kwasu askorbowego był tłumiony przez inne witaminy z grupy rozpuszczalnych w wodzie.

Doświadczenia z ouabainą, tj. blokerem transportu czynnego wykazały, że – podobnie jak w przypadku poszczególnych witamin – witaminy grupy B hamowały wchłanianie witaminy C zarówno na zasadzie transportu czynnego, jak i biernej dyfuzji.

Wzajemny wpływ witamin rozpuszczalnych w wodzie na swoje wchłanianie jest bardzo istotny dla zwierząt, gdyż są to witaminy tylko w niewielkim stopniu magazynowane w ustroju, a nadmiar jest wydalny z moczem, kałem, potem i mlekiem. Tak więc codzienne dostarczanie ich do organizmu jest konieczne, a hamowanie wchłaniania jednej witaminy spowodowane nadmiarem innej może doprowadzić do niedoborów którejs z nich i w konsekwencji wpływać na stan zdrowotny i produktywność.

WNIOSKI

1. Witaminy grupy B hamują wchłanianie witaminy C z przewodu pokarmowego kurcząt poprzez zmniejszenie transportu aktywnego oraz biernej dyfuzji.

2. Witaminy z grupy B podawane w paszy, dodatkach mineralno-witaminowych, mieszankach przemysłowych, jako lek, a także obficie wytwarzane w przewodzie pokarmowym – warunkują wchłanianie witaminy C z jelit. Należy to brać pod uwagę w przypadkach zwiększonego zapotrzebowania organizmu na kwas askorbowy, np. przy zmniejszonej odporności ustroju, w warunkach stresowych, chorobach czy też zwiększonej produktywności.

PIŚMIENNICTWO

1. Coates M., Ford J., Harrison G.: Intestinal synthesis of vitamins of the B complex in chick. *J. Nutr.* **22**, 493, 1968.
2. Hyden S.: The recovery of polyethylene glycol after passage through the digestive tract. *Ann. R. Agric. Coll. Sweden.* **22**, 411, 1955.
3. Lechowski J., Nagórna-Stasiak B.: Wpływ biotyny (witaminy H) na syntezę witaminy C, kwasu D-glukuronowego i aktywność l-gulonogamma-oksydazy u kurcząt. *Medycyna Wet.* **48**, 219, 1992.
4. Mykkanen H., Fullmer C., Wasserman R.: Effect of phosphate on the intestinal absorption of lead in chick. *J. Nutr.* **114**, 68, 1984.
5. Nab J.: The avian caeca. *Wlds. Poult. Sci. J.* **29**, 251, 1973.

6. Nagórna-Stasiak B., Łazuga-Adamczyk A., Kołodyńska M.: Wchłanianie kwasu askorbowego z jelit kurcząt oraz wpływ chlorku choliny na ten proces. *Medycyna Wet.* **42**, 641, 1986.
7. Nagórna-Stasiak B., Kołodyńska M.: Wpływ pantotenianu wapnia na wchłanianie witaminy C u kurcząt mięsnych. *Medycyna Wet.* **43**, 754, 1987.
8. Nagórna-Stasiak B., Łazuga-Adamczyk A., Kołodyńska M.: Wpływ witaminy B₁ i kwasu foliowego na wchłanianie witaminy C u kurcząt mięsnych. *Medycyna Wet.* **43**, 235, 1987.
9. Nagórna-Stasiak B., Kołodyńska M.: Wpływ kwasu nikotynowego na wchłanianie witaminy C u kurcząt mięsnych. *Medycyna Wet.* **44**, 572, 1988.
10. Nancy R., Stevenson P.: Active transport of ascorbic acid in the human ileum. *Gastroenterology* **67**, 952, 1974.
11. Nys Y., Moning P.: Transport of electrolytes and water in the upper jejunum of the fowl *in vivo* perfusion. *Pflügers Arch.* **392**, 251, 1982.
12. Roe J., Kuether C.: The determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative of dehydroascorbic acid. *J. Biol. Chem.* **147**, 399, 1944.
13. Roe J.: Appraisal of methods for the determination of ascorbic acid. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **92**, 277, 1961.

SUMMARY

The objective of the paper was to show the influence of vitamins of group B (B₁, B₂, B₆, biotin, folic acid, nicotinic acid, choline, calcium pantothenate) on absorption of vitamin C in the chickens. Absorption of ascorbic acid was investigated in 53 chickens, *in vivo*, by the method of perfused intestinal loop jejunum and caecum, and by the method of using sack caecum. Vitamin C was determined by the Roe-Kuether method.

Vitamins of group B decreased absorption of vitamin C from the intestines of chickens, by changing the mechanism of an active transport and of a passive diffusion.

Vitamins of group B decreased absorption of vitamin C in jejunum from 2.6 mg/l/cm²/60 min. to 1.3 mg/l/cm²/60 min, and caecum from 4.0 gm/l/cm²/60 min. to 1.5 mg/l/cm²/60 min. By decreasing the level of vitamin C in the organism, vitamins of group B directly affect all the processes in which vitamin C participates.