

J. IWANOWSKA, S. DEPTUŁA, D. BLITEK, W. SMYK,
H. WARDYŃSKA, H. GAŁECKA *

MECHANIZM POWSTAWANIA AWITAMINOZY E

Z Zakładu Badania Organopreparatów i Witamin Instytutu Leków w Warszawie
Dyrektor: prof. dr P. Kubikowski

Od szeregu lat zagadnienia dotyczące witaminy E interesowały biologów. Między innymi *Ders*, *Kaunitz* i *Schogeleff* (1), stwierdzili, że zarówno organizm zwierzęcy, jak i ludzki posiada zdolność gromadzenia witaminy E w śledzionie, płucach i sercu, a przy pobraniu jej w większych ilościach również w mięśniach i wątrobie. Dzięki tym własnościom podanie witaminy E w większej dawce zapobiega na czas dłuższy niedoborowi, nawet przy diecie ubogiej lub pozbawionej tokoferolu.

Wobec wyżej przytoczonego faktu niejasne jest powstawanie awitaminozy E, toteż w wielu ośrodkach naukowych starano się zbadać mechanizm działania witaminy E oraz mechanizm powstawania awitaminozy, jednakże pomimo wielkiej ilości prac związanych z tym zagadnieniem, nie zostało ono dostatecznie poznane i wyjaśnione.

Wg *Dersa* i *Mattilla* (2), α tokoferol na skutek swych własności słabo utleniających bierze udział w procesach oksydo-redukcyjnych zachodzących w ustroju. *Hickman* (3) sprowadza rolę tokoferolu do udziału w przemianach enzymatycznych. *Abderhalden* (4) podaje, że tokoferol bierze udział w syntezie komórkowej, szczególnie dotyczy to komórek mięśni. Słuszność tego spostrzeżenia zdaje się potwierdzać stwierdzenie uszkodzenia mięśnia sercowego u zwierząt pozbawionych witaminy E w diecie (5).

Jednakże dotychczasowe badania nie wyjaśniają procesów przemiany materii w komórce. Prawdopodobnie w procesach tych bierze udział tylko α tokoferol, natomiast β i γ tokoferole stanowią niejako rezerwę, z której przez metylowanie otrzymać można α tokoferol (6): wyczerpanie się zapasów β i γ tokoferoli prowadzi do awitaminozy.

Wobec nie wyjaśnionej dotychczas i zawierającej wiele sprzeczności kwestii powstawania awitaminozy E, przystąpiliśmy w niniejszej pracy do doświadczeń mających na celu zbadanie tego zagadnienia.

Doświadczenia przeprowadzone były na szczurach samicach wagi 120—150 g, przy czym poszczególne grupy zwierząt posiadały awitaminozę E w różnym stopniu i otrzymywały różne dawki witaminy. W czasie doświadczeń obserwowano przebieg ciąży i oznaczano zawartość witaminy E w wątrobie i mięśniach zwierząt po autopsji.

* Przy pomocy technicznej M. Pakosiak, M. Kostewicz, S. Smolugi,

CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA

W celu uzyskania awitaminozy E u zwierząt podawano dietę pozbawioną witaminy E, składającą się z: kazeiny 20%, węglowodanów (sacharoza) 56%, mieszaniny soli 4%, drożdży piwnych suszonych 10%, tłuszczów (słonina świeża, niesolona) 10%. Dietę uzupełniano tranem w ilości 2 000 j. m. wit. A i 200 j. m. wit. D na 1 kg diety. W miesiącach zimowych o ile zwierzęta wykazywały objawy awitaminozy A, dodatkowo otrzymywały tran doustnie po 4 krople na szczura co drugi dzień.

Aby otrzymać różny stopień awitaminozy wyodrębniono 3 grupy zwierząt, którym podawano dietę w ciągu 3 różnych okresów mianowicie:

I grupa zgodnie z metodą Ewansa i Burra (7) od 14. dnia życia pozostawała na diecie doświadczalnej.

II grupa. Matki na 5 dni przed porodem zaczęły otrzymywać dietę bez witaminy E, a następnie utrzymywano na niej zarówno matki, jak i potomstwo.

III grupa. Zwierzętom od 14. dnia życia podawano dietę doświadczalną pozostawiając je na niej przez cały czas, aż do osiągnięcia dojrzałości, zajścia w ciążę i porodu. Potomstwo od urodzenia przez cały czas pozostawało na diecie bez witaminy E.

Najsilniejszą awitaminozę zaobserwowano w drugim pokoleniu zwierząt z grupy III. W grupie tej wystąpiła duża śmiertelność jeszcze przed osiągnięciem dojrzałości, a zwierzęta, które przeżyły nie były zdolne do zajścia w ciążę, względnie do donoszenia płodu.

U zwierząt z grupy II po zajściu w ciążę stwierdzono liczne resorpcje bez względu na wysokość otrzymywanej leczniczej dawki witaminy E. Najlepsze wyniki doświadczalne uzyskano w grupie I.

Po uzyskaniu awitaminozy rozpoczynano podawanie zwierzętom leczniczych dawek witaminy E, przy czym dawkę całkowitą podzielono na 3 części, które zwierzęta otrzymywały w ciągu 3 kolejnych dni.

Początkowo zgodnie z piśmiennictwem (8) zastosowano następujące dawki witaminy E: 1,13 mg, 2,147 mg, 4,079 mg, 7,75 mg. Ilości te okazały się za duże, bowiem we wszystkich grupach zwierząt bez względu na ilości otrzymywanej witaminy E zastały usunięte całkowicie objawy awitaminozy, wobec czego nie dało się zaobserwować działania leczniczego poszczególnych dawek. Obniżono więc wielkość dawek, przyjmując najniższą wymienioną w piśmiennictwie za maksymalną, ustalając ilości podawanej witaminy E następująco: 0,167 mg, 0,318 mg, 0,605 mg i 1,15 mg na szczura. Ilości te pobrano w ten sposób, aby każda następna stanowiła 190% poprzedniej.

Obserwacje przebiegu ciąży i płodów przeprowadzane w dalszym ciągu doświadczenia wskazywały, że optymalne ilości witaminy E leżały w granicach 0,318—0,605 mg. Tak przy dawkach wyższych, jak i niższych miały miejsce resorpcje płodów.

Witaminę E podawano szczerom począwszy od 2., 4. i 8. dnia po zapłodnieniu i stwierdzeniu ciąży, przy czym najlepsze wyniki uzyskano rozpoczynając podawanie od 8. dnia po stwierdzeniu ciąży. W 16 dniu ciąży, zgodnie z zaleceniami Masona (10), zwierzęta usypiano, wypreparowywano macicę, po czym obliczano ilość płodów żywych, zresorbowanych, martwych i zawiązków oraz obliczano ilość przypadków braku

ciąży w grupie. Uwzględniając te dane przeprowadzono liczbową interpretację wyników doświadczenia, którą wyrażano stosunkiem średniej procentowej ilości płodów żywych, wyliczonej dla poszczególnych dawek witaminy E, do procentowej ilości płodów żywych w grupie kontrolnej. Niżej przytoczona tabela wyjaśni stosowaną interpretację:

Tabela I

| Dawka wit. E w mg | Średnia ilość płodów przypadająca na 1 szczura | | % płodów żywych | % płodów żywych przy podawaniu wit. E |
|----------------------|---|--------------|--------------------|--|
| | żywe | zresorbowane | | % płodów żywych w kontroli |
| 0,167 | 4,3 | 8,2 | 34,4 | 2,86 |
| 0,318 | 6,6 | 3,3 | 66,6 | 5,55 |
| 0,605 | 8,5 | 1,9 | 81,8 | 6,81 |
| 1,150 | 6,8 | 3,2 | 68,0 | 5,66 |
| Kontrola | 1,1 | 8,2 | 12,0 | |

Wysokość otrzymywanych liczb świadczy o prawidłowości przebiegu doświadczenia.

W 16. dniu ciąży obok macicy wypreparowywano również wątrobę i mięśnie nóg, w których oznaczano zawartość witaminy E metodą Hinsza i Mattilla (9).

Wyniki wszystkich wykonanych doświadczeń ilustrują załączone tabele.

WNIOSKI

Uzyskane wyniki doświadczeń nasuwają następujące wnioski:

1. Objawy awitaminozy E u szczurów występują powoli (tabela III), co wskazuje na uzupełnianie przez zwierzęta niedoboru pokarmowego tej witaminy przez pobieranie jej z tkanek.

2. Zawartość witaminy E w wątrobie i mięśniach zmienia się w zależności od dostarczania jej zwierzętom w pokarmach (tabela IV, V, VI, VII). Zwierzęta z grupy III ze znaczną awitaminozą posiadały w wątrobie 34,46%, a w mięśniach 7% ilości witaminy E znajdującej się w wątrobie i mięśniach zwierząt zdrowych, podczas gdy u zwierząt z grupy I, otrzymujących różnej wysokości dawki lecznicze tokoferolu, zawartość witaminy E w tkankach (w wątrobie i mięśniach) wahała się w granicach od 146% do 528% w stosunku do ilości tej witaminy w tkankach zwierząt kontrolnych.

3. Zwierzęta uzupełniają niedobór witaminy E w pokarmach tokoferolem, znajdującym się w wątrobie, wobec czego zapasy tokoferolu w wątrobie ulegają znacznemu wyczerpaniu, a wyrównywane są stopniowo przy leczniczym podawaniu witaminy E (tabela V).

Tabela II

Wpływ wysokości dawek na przebieg ciąży
 % płodów żywych przy podawaniu witaminy E
 % płodów żywych w kontroli

| Przy dawkach wg piśmiennictwa | | Przy dawkach obniżonych | |
|-------------------------------|-----|-------------------------|-----|
| 1,0 | 1,7 | 2,1 | 1,2 |
| 0,7 | 1,6 | 4,7 | 7,1 |
| 1,2 | 1,5 | 6,7 | 7,8 |
| 1,1 | 1,4 | 5,7 | 6,0 |

Tabela III

Przebieg doświadczeń wyrażony stosunkiem:
 % płodów żywych przy podawaniu witaminy E
 % płodów żywych w kontroli

| Dieta bez wit. E od 14. dnia życia | | | Dieta bez wit. E na 5 dni przed porodem | | |
|------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| Podawanie lecznicze wit. E | | | Podawanie lecznicze wit. E | | |
| na 2. dzień | na 4. dzień | na 8. dzień | na 2. dzień | na 4. dzień | na 8. dzień |
| 1,4 | 1,3 | 1,2 | — | 1,0 | 1,0 |
| 1,5 | 2,4 | 7,1 | 1,2 | 1,1 | 1,1 |
| 1,6 | 2,5 | 7,8 | 2,3 | 1,1 | 1,0 |
| 1,5 | 2,2 | 6,0 | 3,0 | 1,0 | 0,9 |

Tabela IV

Zawartość witaminy E w wątrobie w mg/kg

| Zwierzęta karmione normalną dietą | Zwierzęta karmione dietą bez wit. E od 14. dnia życia | Zwierzęta, których matki otrzymywały dietę bez wit. E, na 5. dni przed porodem | II pokolenie szczerów na diecie bez wit. E. |
|-----------------------------------|---|--|---|
| 71,3 | 59,4 | 53,2 | 26,0 |

Tabela V
Zawartość witaminy E w wątrobie mg/kg

| Dawka wit. E | Witamina E podana na 2. dzień po stwierdzeniu ciąży | Witamina E podana na 4. dzień po stwierdzeniu ciąży | Witamina E podana na 8. dzień po stwierdzeniu ciąży |
|--------------|---|---|---|
| 0,167 | 145,0 | 103,9 | — |
| 0,318 | 298,2 | 110,3 | 52,9 |
| 0,605 | 364,4 | 129,3 | 63,3 |
| 1,150 | 376,5 | 132,6 | 46,2 |

Tabela VI

Zawartość witaminy E w mięśniach szczurów żywionych dietą normalną i bez wit. E (w mg na kg)

| Dieta normalna | Dieta bez witaminy E | | |
|----------------|----------------------|---|---|
| | Od 14 dnia życia | Pokolenie, którego matki otrzymywały dietę na 5 dni przed porodem | Pokolenie którego matki pozostawały na diecie od 14. dnia życia |
| 22,8 | 7,41 | 4,68 | 1,54 |

Tabela VII

Zawartość witaminy E w mięśniach — mg/100 g

| Dawka witaminy E w mg | Dieta bez witaminy E od 14 dnia życia Witamina E podana po 4 dniach |
|-----------------------|--|
| 0,167 | 6,30 |
| 0,318 | 7,24 |
| 0,605 | 8,73 |
| 1,150 | 9,85 |

4. Witamina E pobierana przez zwierzęta w pokarmach jest magazynowana przede wszystkim w wątrobie, w mniejszym stopniu w mięśniach, a powstawanie awitaminozy u zwierząt zależy od szybkości wyczerpywania się tych zapasów.

Я. Ивановска, С. Дептула, Д. Блитек, В. Смык, Г. Вардынська, Г. Галецка

МЕХАНИЗМ ОБРАЗОВАНИЯ АВИТАМИНОЗА E

Содержание

Проведен был ряд опытов, имеющих целью исследование механизма возникновения авитаминоза E. Они производились на крысах самках весом 120—150 гр.,

которые были разделены на три основные группы. В каждой группе производился путем недостаточного кормления разная степень авитаминоза Е, после чего каждую из групп делили на 4 подгруппы, которым давались различные дозы витамина Е. Были установлены дозы величиною: 0,167 мг, 0,318 мг, 0,605 мг и 1:15 токоферола на 1 крысу.

Самые лучшие результаты опыта были получены при дозах 0,318—0,605 мг. Эти результаты интерпретировались в числах, производя наблюдения над маткой на 16-ый день беременности и учитывая число живых плодов, резорбированных, мертвых и зародышей, а также и отсутствие беременности. Правильность хода этого опыта выражалась отношением средней процентной величины живых плодов к отдельным дозам витамина Е и к средней процентной величине живых плодов в контрольной группе. При этом во всех группах животных определялось содержание витамина Е в печени и в мышцах.

Из полученных результатов были выведены заключения.

J. Iwanowska, S. Deptuła, D. Blitek, W. Smyk,
H. Wardyńska, H. Gałęcka

THE MECHANISM OF ORIGIN OF AVITAMINOSIS E

Summary

A series of experiments were carried out with the aim of investigating the mechanism of the origin of avitaminosis E.

The experiments were carried out on female rats weighing 120—150 gm. The animals were divided into three groups. In each group different degree of avitaminosis E was produced by means of nutritional deficiency. Each group was divided into four sub-groups which were given different doses of vitamin E. The doses were: 0.167 mg, 0.318 mg, 0.605 mg, 1:115 mg tocopherol per rat.

The best experimental results were obtained with the doses of 0.318—0.605 mg. The results were interpreted by means of numbers and at the same time observations were made of uterus in the sixteenth day of pregnancy and the number of live foetuses, resorbed, dead and germs and the lack of pregnancy were taken into consideration. The correctness of the course of the experiment was expressed by the proportion of mean percentage of the number of live foetuses for the different doses of vitamin E to the mean percentage of the number of live foetuses in the control group. In all the groups of animals the content of vitamin E was estimated in liver and muscles.

Conclusions were drawn on the basis of the obtained results.

PIŚMIENNICTWO

1. Baer S., Heine W. I. i Gelfondl D. B.: Am. J. Med. Sci, 1948, 215, 542. —
2. Ders, Kaunitz H., Schogeleff S.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1944, 55, 229. —
3. Ders i Mattill H. A.: J. Biol. Chem., 1940, 134, 535. — 4. Ders: Z. f. Vitaminforsch., 1945, 16, 309, 319. — 5. Ders i Harris P. L.: Adv. in Enzym., 1946, 6, 469. —
6. Ewans H. M. i Burr G. O.: Mem. Univ. Calif., 1927, 8, 1 i Vitamin Methods P. György, 1951, t. II, str. 136. — 7. György P.: Vitamin Methods, 1951, t. II. —
8. Hickman K. C. D.: Ind. Eng. Chem., 1937, 29, 968. — 9. Hins L. R. i Mattill H. A.: J. Biol. Chem., 1943, 149, 549. — 10. Mason K. E.: J. Nutrition, 1942, 23, 59.

Otrzymano dnia 6. VIII. 1957 r.