

STEFAN KSIĘŻNY

POZIOM WITAMINY C W BIAŁYCH KRWINKACH W OKRESACH SEZONOWYCH NIEDOBORÓW TEJ WITAMINY

Z Zakładu Higieny Żywienia PZH w Warszawie

Stwierdzono, że bardziej dokładnym wskaźnikiem utajonego niedoboru witaminy C, jest poziom tej witaminy w białych krwinkach.

WSTĘP

W badaniach nad stanem wysycenia witaminą C u człowieka korzystaliśmy dotychczas z pomiarów ilości kwasu askorbinowego wydalanego w moczu oraz oznaczenia poziomów witaminy C w surowicy krwi (1, 2, 3, 4, 5). Ponadto stosowano też test wysyceniowy (6).

W szeregu prac przeprowadzonych przez różnych autorów na zwierzętach i ludziach stwierdzono, że zmiany zawartości witaminy C w białych krwinkach idą w parze ze zmianami zawartości tej witaminy w tkankach organizmu. Można więc przyjąć, że poziom tego składnika w białych krwinkach są miarą wysycenia tkanek (7, 8) i badanie ich jest znacznie wygodniejsze niż test wysyceniowy, który prowadząc do wysycenia danego osobnika uniemożliwia w najbliższym okresie czasu dokonywanie dalszych obserwacji nad niedoborami witaminy C. Szczególnie szerokie zastosowanie w badaniach mogło znaleźć oznaczanie tej witaminy w białych krwinkach dzięki mikrometodzie (9).

Poziom witaminy C w białych krwinkach jest mniej chwiejny niż w surowicy (10, 11).

Obserwacje przeprowadzone na osobnikach będących dłuższy czas na diecie pozbawionej witaminy C wykazały, że gdy w surowicy poziom tej witaminy wynosi 0, to białe krwinki mogą ją jeszcze zawierać i poziom jej opada w nich dalej, aż do całkowitego zniknięcia (12, 13). Crandon i współpracownicy (14) stwierdzili po 41 dniowej diecie wolnej od kwasu askorbinowego, że poziom witaminy C w surowicy był równy zeru, a w białych krwinkach wynosił 10 mg^{0/0}, co stanowi około 30%^{0/0} maksymalnego poziomu. Poziom zerowy w białych krwinkach osiągnął Crandon po przeszło 100 dniach diety bezwitaminowej i wkrótce potem pojawiły się już kliniczne objawy gnilca.

Znajomość zawartości witaminy C w białych krwinkach jest szczególnie ważna przy dużych niedoborach tej witaminy; gdy w surowicy zawartość jej wynosi zero, wtedy poziom jej w białych krwinkach mówi nam o dalszych stopniach niedoboru w organizmie.

W badaniach Zakładu Higieny Żywienia nad sezonowymi niedoborami witaminy C postanowiono zastosować oznaczanie tej witaminy w bia-

łych krwinkach obok oznaczeń w surowicy, by mieć bardziej dokładny wskaźnik jej niedoboru.

Celem omawianej pracy było:

a) przeprowadzenie badań nad wahaniami zawartości witaminy C w białych krwinkach u wybranej grupy ludzi w okresie jesieni-zimy-wiosny.

b) porównanie poziomu witaminy C w białych krwinkach z jej zawartością w surowicy krwi oraz z wydalaniem dobowym w moczu.

Do przeprowadzenia tych badań konieczne było zaadaptowanie mikrometody oznaczania witaminy C w białych krwinkach.

PLAN DOŚWIADCZENIA

Badania przeprowadzono na 12 dorosłych, zdrowych osobach (3 mężczyzn i 9 kobiet), u których w okresie od jesieni do późnej wiosny (październik—czerwiec) kilkakrotnie badano wydalanie kwasu askorbinowego w dobowym moczu i poziom witaminy C w surowicy krwi i w białych krwinkach. Badanym zlecono, by nie przyjmowali kwasu askorbinowego syntetycznego. W przypadkach spożycia pastylek witaminy C lub produktów naturalnych o dużej zawartości tej witaminy, jak np. owoce cytrusowe, było to notowane.

Ponadto w okresie wiosennym (22 kwiecień — 17 maja) wykonano oznaczenia witaminy C w surowicy i białych krwinkach u 35 osobowej grupy młodzieży szkolnej płci męskiej, zamieszkującej i żywiącej się w internacie. Młodzież ta nie dostawała witaminy C syntetycznej w okresie jesieni—zimy—wiosny, a jedynym źródłem dostarczającym tę witaminę były posiłki spożywane w internacie. W skład tych posiłków nie wchodziły produkty bogate w witaminę C jak surówki witaminowe lub owoce cytrusowe.

METODY

W pracy tej oznaczano kwas 1-askorbinowy w moczu dobowym metodą miareczkową Tillmansa (15). Mocz dobowy zbierano do butelek z ciemnego szkła, do których uprzednio dawano około 10 g krystalicznego kwasu szczawiowego w celu utrwalenia w nim kwasu 1-askorbinowego.

Poziomy witaminy C w surowicy krwi oznaczano mikrometodą Bessey'a (16). Pomiar absorpcji wykonywano na spektrofotometrze Beckmana przy długości fali 520 m μ .

OZNACZANIE WITAMINY C W BIAŁYCH KRWINKACH

W mikrometodzie, którą zastosowano, oznacza się kwas askorbinowy łącznie w białych krwinkach i płytkach krwi. Stężenie kwasu askorbinowego jest w obydwu tych składnikach prawie takie samo (17); rozdzielenie zaś ich sprawiałoby znaczne i niepotrzebne trudności. Używając zatem terminu „białe krwinki” rozumiemy, że obejmuje on również i płytki krwi.

A. Zasada metody

Przez frakcjonowane wirowanie zawiesiny krwi w izotonicznym roztworze szczawianu potasu wyodrębnia się białe krwinki (i płytki), w których oznacza się witaminę C mikrometodą. Ilość białych krwinek znajduje się przez oznaczenie w nich fosforu zawartego w nierozpuszczalnej w kwasach frakcji fosforanów. Ta zawartość fosforu w białych krwinkach waha się w dość wąskich granicach i przyjmowana jest w tej metodzie za wielkość stałą.

B. Aparatura, szkło, odczynniki

1. Spektrofotometr Beckmana z wkładką do mikroodczytów.
2. Wirówka z regulacją prędkości obrotów.
3. Urządzenie do mieszania (mieszadło elektryczne z metalowym bolcem).
4. Probówki szklane: wys. 6 cm, \varnothing 5—6 mm.
5. Pagiетки szklane ze stopką.
6. Pipety do pobierania krwi: rurkę szklaną o średnicy wewnętrznej 4—5 mm wyciąga się z jednej strony w kapilarę zakończoną otworem o średnicy do 1 mm. Wewnętrzną ściankę pipety parafinuje się wciągając gorącą parafinę i łagodnie ją wydmuchując.
7. Pipety z laseczkowato zagiętym końcem do ściągania zawiesiny białych krwinek.
8. Mikropipety (wykalibrowane).
9. Pipety z lekko pochyłym końcem do ściągania cieczy znad białych krwinek.
10. 1,6⁰/₀-owy wodny roztwór szczawianu potasu. Odczynnik ten można przechowywać w chłodni. Bezpośrednio przed użyciem należy go wiorować, by usunąć możliwe ślady substancji nierozpuszczonej.
11. 5⁰/₀-owy roztwór kwasu trójchlorooctowego.
12. 2⁰/₀-owy roztwór 2,4-dwunitrofenylohydrazyny w 9 n H₂SO₄, przechowywać w chłodni.
13. 4⁰/₀-owy wodny roztwór tiomocznika, przechowywać w chłodni.
14. 0,6⁰/₀-owy wodny roztwór siarczanu miedzi.
15. 65⁰/₀-owy kwas siarkowy.
16. 4,5 n-kwas siarkowy.
17. Odczynnik fosforanowy: w 45 ml wody rozpuścić 0,3 g mieszaniny o składzie: 5⁰/₀ Na₂SO₃; 94,3 NaHSO₃; 0,7⁰/₀ 1, 2, 4-aminonaftolosulfonowy kwas i dodać 5 ml 2,5⁰/₀-owego wodnego roztworu molibdenianu amonu; odczynnik ten przyrządzić bezpośrednio przed użyciem.
18. Podstawowy roztwór standartu fosforowego (10 mM): rozpuścić 0,136 g najczystszej KH₂PO₄ w 1 l. 4,5 n H₂SO₄.
19. 70⁰/₀-owy kwas nadchlorowy.

C. Wyodrębnienie białych krwinek

Do probówek o średnicy 5—6 mm i wys. 6 cm nalewa się po 0,5 ml 1,6⁰/₀-owego szczawianu potasu. Opuszkę palca, po oczyszczeniu alkoholem i eterem, nakłuwą się i smaruje wazeliną; pierwszą krew usuwa się. Tak szybko, jak można, naciąga się krew do naparafinowanej pipety w ilości 0,1—0,2 ml i przenosi ją do probówki z izotonicznym roztworem szczawianu. Zawartość probówki natychmiast łagodnie, lecz dokładnie miesza się bagietką ze stopką.

Ważne jest, by krew z palca wypływała swobodnie (bez wyciskania); pozwala to uniknąć powstawania skrzepów, które bardzo utrudniają rozdzielenie krwinek białych od czerwonych.

Probówkę wiruje się z taką prędkością, by czerwone krwinki zostały osadzone na dnie w postaci zwartej warstwy, zaś białe krwinki pozostały w zawieszynie. Najodpowiedniejsze okazało się wirowanie przez 2—3 minuty przy 500 obrotach/min. (w tym czasie czerwone krwinki opadają), a następnie przez 1 minutę przy 700 obrotach/min., co powoduje utworzenie się zwartej warstwy czerwonych krwinek na dnie próbówki. Lekko mętną zawieszinę znad warstwy czerwonych krwinek przenosi się pipetą z zagiętym końcem do drugiej próbówki. Zakrzywiony koniec pipety umożliwia dokładne ściągnięcie zawiesziny bez czerwonych krwinek. Probówkę tę wiruje się przez 10 minut przy 3000 obr./min. Warstwa białych krwinek osadza się na dnie próbówki. Ostrożnie usuwa się pipetą płyn tak, aby nie było strat osadu, a w oddzielonych białych krwinkach oznacza się witaminę C.

D. Oznaczanie witaminy C w białych krwinkach wyodrębnionych

Zasada: witaminę C w białych krwinkach oznacza się, podobnie jak w surowicy, mikrometodą osazonową.

Na przyrządzie do mieszania dokładnie roztrzępuje się warstwę białych krwinek i dodaje się mikropipetą 0,08 ml 5%owego kwasu trójchlorooctowego. Natychmiast ponownie silnie roztrzępuje się osad, aby zapobiec powstawaniu większych strzępów ściętego białka. Następnie probówkę wiruje się przez 10—15 minut przy 3000 obr./min. Mikropipetą pobiera się 0,06 ml płynu znad osadu i przenosi się do nowej probóweczki. Dodaje się do niej 0,02 ml świeżo przyrządzonego odczynnika o następującym składzie: 1,0 ml roztworu 2,4-dwunitrofenylohydrazyny; 0,05 ml roztworu tiomocznika; 0,05 ml roztworu siarczanu miedzi.

Odczynnik ten w tej samej ilości dodaje się do tzw. próby zerowej i próbek standartowych kwasu askorbinowego. Zerowe próby otrzymuje się przez odmierzenie 0,06 ml 5%owego kwasu trójchlorooctowego (stężenie roztworu standartowego kwasu askorbinowego — 0,002 mg/ml).

Po zmieszaniu i zakorkowaniu wszystkie próbki wstawia się na 3,5 godz. do cieplarki o temp. 37—38°, następnie chłodzi w wodzie z lodem, dodaje 0,1 ml oziębionego 65%owego kwasu siarkowego i silnie miesza. Kwas rozpuszcza powstały osazon, który ma charakterystyczną czerwoną barwę o maksimum absorpcji przy fali długości 520 m μ . Odczyty wykonuje się na spektrofotometrze, ustawiając przyrząd na 0 absorpcji przy próbie zerowej.

E. Oznaczanie fosforu

Po wzięciu porcji płynu dla oznaczenia kwasu askorbinowego do probóweczki dodaje się w celu przemycia osadu 0,4—0,5 ml 5%owego kwasu trójchlorooctowego. Silnie miesza, by całkowicie roztrzępać osad. Wiruje się i ściąga płyn bez najmniejszych strat osadu. Dodaje się następnie 0,06 ml 4,5 n H₂SO₄, miesza i ogrzewa próbki w suszarce w temp. 95—98°, by odparować wodę. Do próbek dodaje się po 0,02 ml 70%owego kwasu nadchlorowego i ogrzewa przez 2 godz. w temp. 145—160°. W wyniku tych czynności uzyskuje się całkowite rozłożenie substancji organicznych i uwolnienie fosforu.

Po ostudzeniu do probówki dodaje się 0,4 ml odczynnika fosforanowego i silnie miesza. Po 20 min. próbka jest gotowa do odczytania na spektrofotometrze.

Z podstawowego roztworu wzorcowego (pkt 18) przygotowuje się skalę roztworów wzorcowych o stężeniach od 1 do 10 mM (w 4,5 n H_2SO_4). Z każdego roztworu pobiera się po 0,06 ml roztworu do 2 probówek. Zerowe próbki otrzymuje się przez odmierzenie 0,06 ml 4,5 n H_2SO_4 . Próbkę zerową i wzorcowe poddaje się razem z próbkami badanymi tym samym czynnościom — a więc odparowaniu, spalaniu itd.

Absorbencję mierzy się w świetle o długości 690 m μ co najmniej po 20 min. od chwili dodania odczynnika fosforanowego i wymieszania zawartości probówki.

F. Obliczanie wyników

Doświadczalnie stwierdzono, że białe krwinki zawierają w 100 g średnio 3,34 mM nierozpuszczalnych w kwasie fosforanów. Wahania zawartości tej frakcji fosforanów w białych krwinkach są niewielkie. Statystycznie obliczone odchylenie standardowe wynosiło 0,25 mM na 100 g białych krwinek a więc ilości mg wit. C obliczone na 3,34 mM nierozpuszczalnych fosforanów odpowiadają zawartości tej witaminy w 100 g białych krwinek.

$$1) \text{ ilość wit. C w próbce} = 0,002 \cdot \frac{A_K}{A_{STK}} \cdot 0,0815 = K_1 \cdot A_K$$

A_K — odczyt próbki badanej.

A_{STK} — odczyt próbki standardowej.

Liczba 0,0815 jest sumą 0,08 ml dodanego kwasu trójchlorooctowego i w przybliżeniu 0,0015 ml cieczy pierwotnej pozostałej z osadem białych krwinek; liczba 0,002 jest stężeniem kwasu askorbinowego w próbce standardowej (w mg na 1 ml).

$$2) \text{ ilość fosforu w próbce} = 0,006 \cdot \frac{A_f}{A_{stf}} = K_2 \cdot A_f$$

A_f — odczyt próbki badanej.

A_{stf} — odczyt próbki standardowej o stężeniu 1 mM.

A_{stf} jest średnią z odczytów dla wszystkich próbek standardowych przeliczonych na 1 mM.

3) ilość mg witaminy C w 100 g białych krwinek:

$$1000 \cdot \frac{K_1 \cdot A_K}{K_2 \cdot A_f} \cdot 3,34 = \text{mg wit. C w 100 g białych krwinek.}$$

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wyniki oznaczeń witaminy C w białych krwinkach, surowicy i moczu dla 12 osobowej grupy zebrane są w tabeli I, II, III.

W okresie jesiennym u osób badanych stwierdzono dobre wysycenie kwasem askorbinowym. Świadczą o tym zarówno średnie poziomów wit. C z października i listopada dla białych krwinek: 30,4 i 30,9 mg 0 / o , jak i średnie dla surowicy: 1,19 i 1,09 mg 0 / o . Późniejsze badania wykazały spadek poziomu wit. C w białych krwinkach, surowicy i w moczu.

Tabela I
Poziomy witaminy C w białych krwinkach (w mg^{0/0}).

L.p.	miesiące		Październik	Listopad	Styczeń	Marzec	Maj	Czerwiec
	iniciejały							
1	B.J.		28,4	30,0	26,8	28,2	20,2	—
2	S.Z.		23,5	23,0	11,9	11,5	11,9	—
3	Z.H.		28,0	29,0	20,3	26,2	18,9	20,6
4	C.E.		31,6	27,4	20,8	21,2	29,5	27,0
5	J.I.		28,6	28,5	21,1	31,1	22,8	26,5
6	K.M.		39,7	43,6	34,6	40,5	36,0	36,7
7	K.M.		26,8	22,9	20,4	11,9	9,1	10,3
8	K.H.		24,3	21,8	15,4	14,3	—	—
9	M.B.		31,7	29,4	20,4	18,0	13,1	17,7
10	S.H.		38,6	45,1	30,4	—	23,9	20,1
11	S.W.		32,2	28,8	23,8	20,2	25,3	21,0
12	S.M.		31,4	41,7	34,9	30,9	24,0	23,6

Tabela II
Poziomy witaminy C w surowicy (w mg^{0/0}).

Lp.	miesiące		Październik	Listopad	Styczeń	Marzec	Maj	Czerwiec
	iniciejały							
1	B. J.		0,75	1,08	0,49	0,31	0,30	—
2	S. Z.		0,33	0,42	0,32	0,21	0,13	—
3	Z. H.		0,53	1,34	0,22	0,31	0,18	0,22
4	C. E.		1,58	1,33	0,34	0,24	0,56	0,46
5	J. I.		1,64	0,89	0,51	1,22	0,56	1,00
6	K. M.		1,37	1,44	1,75	1,22	0,79	1,46
7	K. M.		0,88	0,63	0,29	0,24	0,14	0,31
8	K. H.		0,72	0,28	0,18	0,15	—	—
9	M. B.		1,74	0,91	0,55	0,35	0,31	0,44
10	S. H.		2,02	1,90	0,72	0,39	0,61	0,56
11	S. W.		0,96	0,77	0,36	0,38	0,27	0,41
12	S. M.		1,78	2,03	1,43	0,36	0,32	0,37

Trzeba tu podkreślić, że w kilku przypadkach, w których obserwowano wzrost poziomu wit. C jest to uzasadnione i wytłumaczone spożyciem syntetycznego kwasu askorbinowego, bądź naturalnych produktów bogatych w wit. C (np. osobnik nr 5, J. I. przyjął w lutym ok. 1000 mg syntetycznego kw. askorbinowego, co znalazło odbicie we wzroście poziomu tej witaminy w białych krwinkach, surowicy i wydalonym moczu, podobnie jest z osobnikiem nr 4, C. E., który z polecenia lekarzy przyjmował duże dawki kwasu askorbinowego (w kwietniu i maju). Największy spadek poziomów kw. askorbinowego nastąpił w okresie grudzień—styczeń, późniejsze kolejne badania stwierdzają łagodniejszy jego ubytek w białych krwinkach, surowicy i moczu. W miesiącu czerwcu zaś stwierdzono niewielki co prawda wzrost wit. C w białych krwinkach i surowicy

u kilku osobników, ew. ten sam poziom, co w poprzednim badaniu. Spowodowane to zostało spożywaniem pierwszych świeżych owoców i warzyw.

Uzyskane dla tej grupy wyniki dla poziomu kwasu askorbinowego w białych krwinkach, surowicy i moczu dobowym, mówią, że w okresie jesień—zima—wiosna następuje pogłębienie niedoboru wit. C w organizmie.

Tabela III
Ilość kwasu askorbinowego w moczu dobowym (w mg)

Lp.	miesiące	Październik	Listopad	Styczeń	Marzec	Maj	Czerwiec
	inicjały						
1	B. J.	16,3	17,6	14,1	10,9	5,9	—
2	S. Z.	14,9	14,0	13,0	12,9	—	—
3	Z. H.	12,8	12,6	6,8	9,9	7,1	8,0
4	C. E.	14,5	18,1	9,9	10,9	280,0	16,1
5	J. I.	11,0	11,6	9,5	16,5	—	—
6	K. M.	9,4	18,8	22,4	9,7	14,7	—
7	K. M.	20,1	12,8	12,7	5,7	9,5	6,8
8	K. H.	19,1	11,8	15,1	11,9	—	—
9	M. B.	22,4	15,1	12,7	9,3	9,4	8,9
10	S. H.	33,8	49,5	15,6	11,7	9,2	6,6
11	S. W.	19,3	11,8	8,5	7,6	8,9	7,7
12	S. M.	19,0	48,0	14,7	4,1	5,7	8,4

Na podstawie wydalania kwasu askorbinowego w moczu (tab. III) o głębokości tego niedoboru zasadniczo niewiele można powiedzieć. Porównując wyniki zebrane w tabeli I i II widzimy, że poziomy witaminy C w białych krwinkach lepiej informują o głębokości niedoboru tej witaminy niż poziomy w surowicy.

Dobrze ilustrują to np. wyniki badań osobnika nr 1, B. J., u którego stwierdzono w marcu i maju 0,31 i 0,30 mg⁰/o wit. C w surowicy i odpowiednio 28,2 i 20,3 mg⁰/o tej witaminy w białych krwinkach.

Wynik dla białych krwinek świadczył tu wyraźnie o pogłębianiu się niedoboru, czego nie wykazały oznaczenia wit. C surowicy. W przypadku osobnika nr 12 poziomy wit. C w surowicy w ostatnich trzech badaniach są praktycznie równe i sugerują raczej duży niedobór tej witaminy, podczas gdy poziomy w białych krwinkach, wynoszące odpowiednio: 30,9, 24,0, 23,6 mg⁰/o, wskazują, że tak nie jest.

Wyniki uzyskane dla grupy młodzieżowej (tabela IV) też sugerują przyjęcie poziomów wit. C w białych krwinkach jako dokładniejszych mierników niedoboru tej witaminy niż odpowiednie poziomy w surowicy.

Niedobór wit. C u tych chłopców jest b. duży. U połowy z nich poziom jej w białych krwinkach jest poniżej 10 mg⁰/o, reszta zaś poziomów mieści się w granicach od 10 do 20 mg⁰/o, z czego tylko 4 wyniki są powyżej 15 mg⁰/o. Poziomy wit. C w surowicy są też bardzo małe; u kilku chłopców poziom ten jest praktycznie równy zeru.

Tabela IV

Poziom witaminy C w surowicy i białych krwinkach u młodzieży internato-
wej (w mg‰)

Lp.	Białe krwinki	Surowica	Lp.	Białe krwinki	Surowica	Lp.	Białe krwinki	Surowica	Lp.	Białe krwinki	Surowica	Lp.	Białe krwinki	Surowica
1	4,7	0,05	8	7,6	0	15	9,2	0,18	22	10,9	0,14	29	13,5	0,13
2	6,5	0,05	9	7,8	0,03	16	9,3	0,28	23	11,4	0,17	30	13,8	0,11
3	6,8	—	10	8,1	0,13	17	9,4	0,06	24	11,9	0,26	31	13,9	0,24
4	7,2	0,1	11	8,3	0,04	18	9,9	0,14	25	12,0	0,16	32	16,4	0,38
5	7,4	0,26	12	8,5	0,18	19	10,3	0,18	26	12,6	0,34	33	18,3	0,10
6	7,4	0,06	13	8,9	0,08	20	10,5	0,12	27	12,8	0,22	34	18,8	0,32
7	7,6	0,11	14	9,0	0,22	21	10,8	0,12	28	13,1	0,12	35	20,6	0,28

Wyniki dla tej grupy chłopców w porównaniu z danymi z piśmiennictwa (13, 18) pozwalają twierdzić, że młodzież ta przyjmowała wit. C z pożywieniem w ilości kilku, najwyżej kilkunastu mg dziennie. Nie stwierdzono u tych chłopców, mimo wyraźnie zaznaczonego niedoboru, objawów gnilca, które występują (*Lowry, Steele* i inni) gdy spożycie witaminy C spada poniżej 10 mg/dobę (przez odpowiednio długi okres), a koncentracja w tkankach spada poniżej 20% optymalnego wysycenia.

WNIOSKI

1. W okresie jesień—zima—wiosna wraz ze spadkiem wit. C w surowicy krwi i w moczu dobowym następował również wyraźny spadek tej witaminy w białych krwinkach.

2. Stwierdzono szczególnie niskie poziomy wit. C w białych krwinkach i surowicy krwi u 35 osobowej grupy młodzieży szkolnej, mieszkającej i żywiącej się w internacie. Świadczy to o dużym niedoborze tkankowym tej witaminy u tych chłopców.

3. Stwierdzono dość dużą korelację między poziomami witaminy C w surowicy i białych krwinkach w pewnych granicach wysycenia.

4. Przy poziomach witaminy C w surowicy około 0,3 mg‰ i niżej korelacja ta w wielu przypadkach zanika. Podczas gdy w surowicy krwi przy pogłębianiu się niedoboru zmiany mogą być już niewielkie, to poziom witaminy C w białych krwinkach wykazuje wyraźny dalszy spadek.

5. Na podstawie tych badań stwierdzono, że w ocenie stopnia niedoboru witaminy C w organizmie przy bardzo niskich poziomach nasycenia zawartość tej witaminy w białych krwinkach jest dokładniejszym wskaźnikiem niedoboru niż zawartość witaminy C w surowicy krwi.

С. К с е н ж н ы

УРОВЕНЬ ВИТАМИНА С В БЕЛЫХ КРОВЯНЫХ ТЕЛЬЦАХ В ПЕРИОДЕ
СЕЗОННЫХ НЕДОСТАТКОВ ЭТОГО ВИТАМИНА

С о д е р ж а н и е

Автор в периоде осень, зима, весна провел исследования уровня витамина С в белых кровяных тельцах и сыворотке крови, а также удаление 1-аскорбиновой кислоты в суточном моче у 12 взрослых лиц. Кроме того весной обозначен был уровень витамина С в белых кровяных тельцах и сыворотке крови в группе школьной молодёжи состоящей из 35 человек мужчин. В периоде 5 — 6 месяцев предшествующим этим исследованиям, единственным источником доставляющим витамин С была пища, которую получала молодёжь проживающая в этом интернате.

Результаты обозначений для взрослых собраны в таблице I, II, III, а для молодёжи в таблице IV.

У всех исследованных лиц констатируется кроме снижения удаления 1-аскорбиновой кислоты в суточном моче и снижения уровня этого витамина в сыворотке — снижение его в белых тельцах крови. Особенно низкий уровень витамина С констатируется в исследуемой группе школьной молодёжи.

S. K s i e ż n y

THE VITAMIN C LEVEL IN BLOOD WHITE CELLS DURING SEASONAL
DEFICIENCIES

S u m m a r y

During the Fall-Winter-Spring period the level of vitamin C in white cells and blood plasma and the daily excretion in urine in 12 persons were checked. The level of the vitamin in white cells and blood plasma was checked also in 35 male school children during Spring. The meals in the school canteen were the sole source of vitamin C for these boys over preceeding 5 months.

The results for adults are presented in tables I, II and III and those for children in table IV.

In each instance a decrease of the vitamin C level in white cells was observed paralelly with the decrease in excretion and with the decrease of the level in blood plasma. The greatest deficiency was observed in school children.

PIŚMIENNICTWO

1. Szczygiel A. i in.: PTL, 47, 3, 1949. — 2. Szczygiel A. i in.: Roczniki PZH, 1—2, 43, 1951. — 3. Pudlik-Pankiewicz K. i in.: Roczniki PZH, 3, 197, 1957. — 4. Szczygiel A. i in.: Roczniki PZH, 5, 413, 1959. — 5. Szczygiel A. i in.: Roczniki PZH, 4, 277, 1960. — 6. Szczygiel M.: Die Nahrung, 3, 258, 1957. — 7. Lowry O. H.: Physiol. Rev., 32, 4, 1952. — 8. Lowry O. H. i in.: J. Biol. Chem., 166, 111, 1946. —

9. *Bailey O. A., Lowry O. H., Brock M. J.*: J. Biol. Chem., 168, 197, 1947. —
10. *Morse E. H., Potgieter M., Walker C. R.*: J. Nutr., 58, 291, 1956.
11. *Morse E. H.* i in.: J. Nutr., 60, 229, 1956. — 12. Vitamin C Sub-Committee: Medical Research Council 1953, Special Report Series No 280, London. — 13. *Steele B. E.* i in.: J. Nutr., 57, 361, 1955. — 14. *Crandon J. H., Lurid C. C., Dill D. B.*: New Engl. J. Med., 223, 353, 1940. — 15. Methods of Vitamin Assay. Interscience Publ. N. Y. 1947. — 16. *Lowry O. H., Lopez J. A., Bessey O. A.*: J. Biol. Chem., 160, 609, 1945. — 17. *Bufler A. M., Cushman M.*: J. Clin. Invest., 19, 459, 1940. — 18. *Davey B. L.* i in. J. Nutr., 47, 341, 1952.
-
-

Cluett M. L., Lowen W. K., Pease H. L., Woodhouse C. A.: OZNACZANIE METOKSYCHLORU I JEGO METABOLITÓW PRZECHODZĄCYCH DO MLEKA KRÓW PO MIEJSCOWYM ZASTOSOWANIU INSEKTYCYDU. *J. Agric. Food Chem.*, 8, 277, 1960.

Autorzy badali możliwość wydzielania do mleka krów metoksychloru (1,1,1-trójkloro-2,2-bis(p-metoksyfenolo)etan) lub jego metabolitów zawierających chlor, w następstwie miejscowego stosowania tego insektycydu do zwalczania ektopasożytów, takich jak muchy, gzy, komary, moskity, wszy. Opracowano dwie niezależne metody służące do scharakteryzowania badanych prób mleka. Jedna, oparta na selektywnej kolorymetrycznej reakcji, polega na ilościowym oznaczaniu metoksychloru w mleku, w drugiej natomiast oznacza się spektrofotometrycznie całkowity organiczny chlor zakładając, że produkty metabolizmu insektycydu muszą także zawierać ten pierwiastek.

Przy bezpośrednim opylaniu krów 50% proszkiem w ilości 10 g na jedno zwierzę (dawka polecana) nie wykryto żadnej pozostałości w mleku. Przy spryskiwaniu krów zawiesiną wodną metoksychloru stwierdzono w mleku jego ślady w krótkim czasie po zastosowaniu insektycydu, jednakże ilości wydzielanego metoksychloru zmniejszały się szybko w miarę upływu czasu. Powtarzające się stosowanie insektycydu nie powodowało zwiększonego wydzielania do mleka. Poza metoksychlorom nie wykrywano żadnych innych organicznych połączeń chloru.

L. Służewska