

WPŁYW WITAMINY P NA WYTRZYMAŁOŚĆ NACZYŃ WŁOSOWATYCH U ŚWINEK MORSKICH Z AWITAMINOZĄ C

Z Zakładu Badania Organopreparatów i Witamin. — Kierownik: mgr I. Iwanowska
Instytutu Leków w Warszawie. — Dyrektor: prof. dr P. Kubikowski

W roku 1936 *Armentano* i równocześnie *Szent-Györgii* zauważyli w toku swych biologicznych badań nad fizjologią kwasu askorbinowego, że węgierski czerwony pieprz, sok cytrynowy i pomarańczowy zawierają czynnik, który wpływa w znacznie większym stopniu niż witamina C na wzrost wytrzymałości naczyń włosowatych u ludzi i zwierząt (6, 7). Czynnik ten ze względu na jego wpływ na przepuszczalność naczyń włosowatych nazwano witaminą P (*Permeabilitäts-vitamin*) lub „Citrinem“ ze względu na występowanie w cytrynie. Następnie w latach 1943—45 pracujący nad tym zagadnieniem *Zacho, Bacharach, Bourne* (2) i *Scarborough* (14, 15) stwierdzili, że u świnek morskich karmionych dietą szkorbutową występuje skłonność do wybroczyn podskórnych nie zmniejszająca się po podaniu kwasu askorbinowego, lecz ustępująca po podaniu preparatów otrzymanych ze skórek pomarańczy, owoców dzikiej róży i innych. Opierając się na wyżej wspomnianych własnościach witaminy P biologiczne jej oznaczenia przeprowadzili po raz pierwszy *Bacharach, Coates i Middleton* (7).

Metoda ta polegała na obserwacji krwawych wybroczyn na skórze świnki morskiej poddanej uprzednio specjalnej diecie szkorbutowej w pewnych określonych warunkach. Zasada tej metody polegała na określaniu ciśnienia krytycznego potrzebnego do wywołania krwawego wylewu przed i po podaniu witaminy P. Ciśnienie takie autorzy osiągnęli wytwarzając ciśnienie ujemne w banieczce szklanej połączonej z pompą odsysającą i przyłożonej do uda lub boku zwierzęcia.

W tym samym czasie *Rusznyák i Benko* (13) donieśli na podstawie swych doświadczeń, że zmniejszona wytrzymałość naczyń krwionośnych u szczurów może wzrosnąć do normalnego poziomu w ciągu 10 do 15 dni przy podskórnym podawaniu 3—4 mg „Citrinu“ dziennie. *Todhunter* natomiast stwierdził, że podawanie syntetycznej witaminy C nie przeciwdziała powstawaniu wylewów krwawych u świnek morskich (1). Zaobserwował on ponadto, że syntetyczny kwas askorbinowy wpływa tylko w pewnym stopniu na wzmocnienie ścian naczyń włosowatych; całkowity powrót do normy możliwy jest dopiero po podaniu witaminy P. *Rapaport i Klein* (1), stosując witaminę P w leczeniu, zauważyli, że odgrywa ona bardzo ważną rolę w wytrzymałości naczyń włosowatych ludzi chorych, z wyłączeniem takich chorób jak trombopenia i stany artretyczne.

Hartrell i *Stone* (1) dowiedli, że witamina P nie zasilana witaminą C nie leczy ran. Następnie *Geoffrey Bourne* oznaczał ilościowo witaminę P metodą biologiczną stosując z pewnymi modyfikacjami technikę *Bacharach* (2).

W roku 1945 *Parrot* i *Galmiche* oparli biologiczne oznaczenia witaminy P na przypuszczeniu, że witamina P ma wpływ na czas krwawienia nakłuwanych uszu świnek morskich (11).

Badania kliniczne przeprowadzone przez *Lazarusa* (1), *Lewkowicza* (1) przy zastosowaniu ujemnego testu ciśnieniowego u osób z niedoborem witaminy P wykazały, że podawanie syntetycznej witaminy C nie wpływa na zwiększenie wytrzymałości naczyń krwionośnych. Do tych samych wniosków doszedł w swych badaniach klinicznych *Scarborough* (14, 15), stosując test ciśnienia ujemnego.

Zilva (19) oznaczył biologicznie witaminę P na świnkach morskich, stosując test ujemny. Zaobserwował on, że witamina P ma wpływ na zwiększenie wytrzymałości naczyń krwionośnych, ale otrzymane przez niego wyniki są niedokładne.

Późniejsze badania poddają w wątpliwość specyficzną rolę działania witaminy P jako czynnika zmniejszającego słabość naczyń włosowatych (8), a inni badacze (4, 9, 10, 17) wykluczają nawet potrzebę innego czynnika niż witamina C dla podniesienia wytrzymałości naczyń krwionośnych.

Parrot w swych badaniach z roku 1951 zajął stanowisko pośrednie. Określił on witaminę P jako witaminę C₂, która jest czynnikiem ekonomiki kwasu askorbinowego (8). Celem naszej pracy było przebadanie wpływu witaminy P na wytrzymałość naczyń włosowatych u świnek morskich z awitaminozą C.

METODYKA

Doświadczenia nasze przeprowadzaliśmy na świnkach morskich albinosach, samcach o wadze od 280--380 g. Zwierzęta dzielono na sześć grup po siedem świnek w każdej. W okresie trwania doświadczenia poszczególnym grupom podawano:

Grupie I (kontrola dodatnia) — odżywianie normalne.

Grupie II (kontrola ujemna) — dietę skorbutową przez cały czas doświadczenia.

Grupie III — dietę skorbutową + 5 mg witaminy C dziennie na świnkę doustnie przez cały czas trwania doświadczenia.

Grupie IV — dietę skorbutową. Po 14 dniach podawania diety wstrzykiwano po 2 mg „Citrinu“ dziennie w ciągu 15 dni. Łączna ilość witaminy P podawana jednej śwince wynosiła 30 mg.

Grupie V — dietę skorbutową. Po 14 dniach podawania diety podawano pozajelitowo po 2 mg „Citrinu“ oraz po 5 mg witaminy C dziennie w ciągu 15 dni. Łącznie podano 30 mg witaminy P i 75 mg witaminy C.

Skład diety skorbutowej oparto na diecie Schermanna

1) owies srurowaty	25%
2) otręby zbożowe	25%
3) mleko w proszku	30%
4) margaryna	12%
5) drożdże piwne, suszone	4,5%
6) mleczan wapnia	2,5%
7) chlorek sodu	1,0%

Porcja dzienna dla jednej świnki wynosiła 30 g.

Poza stosowaną dietą podawano doustnie każdej śwince 1 kroplę tranu dziennie. Używano w doświadczeniach preparat witaminy P pod nazwą „Citrin“ firmy Hoechst“ oraz witaminy C *forte* firmy „Krakowskie Zakłady Farmaceutyczne“. W technice pomiaru opierano się na metodzie stosowanej przez Geogffrey'a Bourne'a. Metoda ta polega na obserwacji krwawych wybroczyn na skórze świnki morskiej przy zastosowaniu ujemnego ciśnienia. W tym celu do ogolonej, nasyconej olejem arachidowym części łędźwiowej świnki morskiej przykładano banieczkę szklaną o średnicy wewnętrznej 12 mm. Banieczka była połączona z pompą próżniową oraz manometrem. Za ciśnienie krytyczne przyjęto takie, przy którym w ciągu 10 sekund uzyskiwano pierwsze objawy wylewu podskórnego.

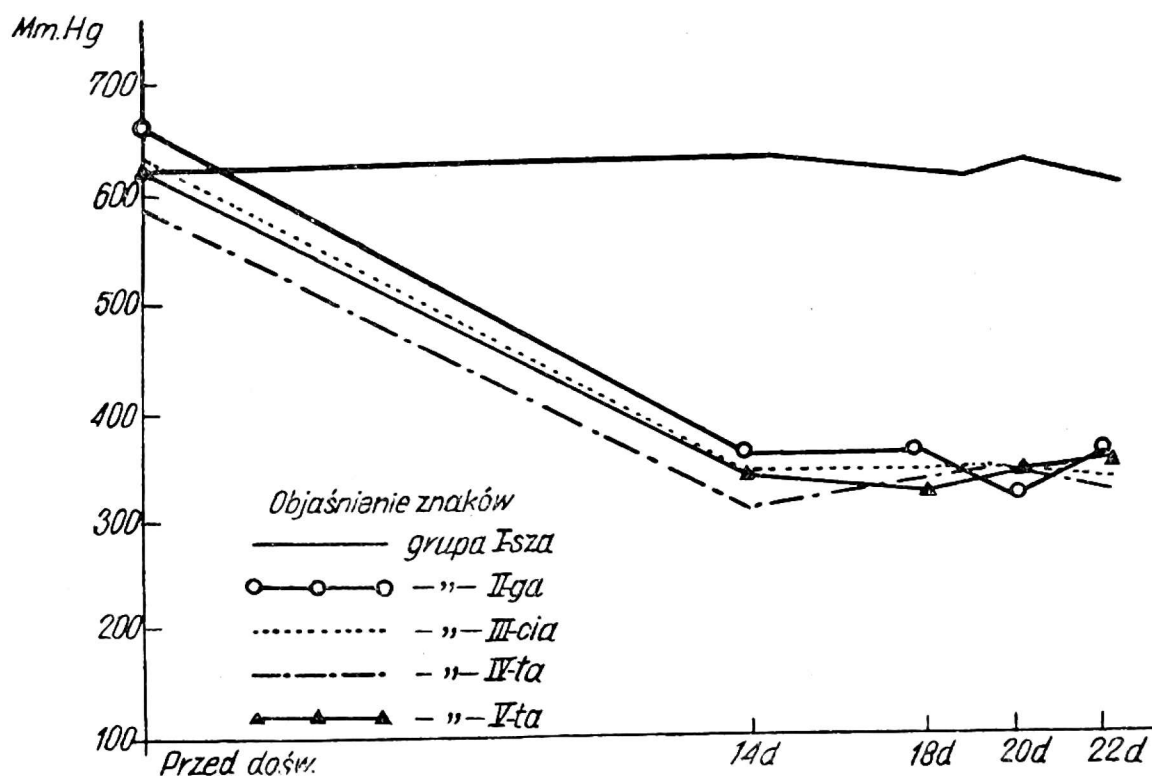
Badania wytrzymałości kapilar za pomocą testu ujemnego przeprowadzano czterokrotnie: a) przed rozpoczęciem właściwego doświadczenia; b) po 14 dniach podawania diety skorbutowej przed rozpoczęciem podawania witaminy P i witaminy C; c) po 24 dniach trwania doświadczenia (po podaniu łącznie 50 mg witaminy C i 20 mg witaminy P); d) po 29 dniach trwania doświadczenia (po podaniu łącznie 75 mg witaminy C i 30 mg witaminy P).

W czasie trwania doświadczenia przeprowadzano kontrolę wagi ciała świnek.

WYNIKI DOŚWIADCZEŃ

Przeprowadzono sześć analogicznych doświadczeń, których wyniki ilustrują podane krzywe.

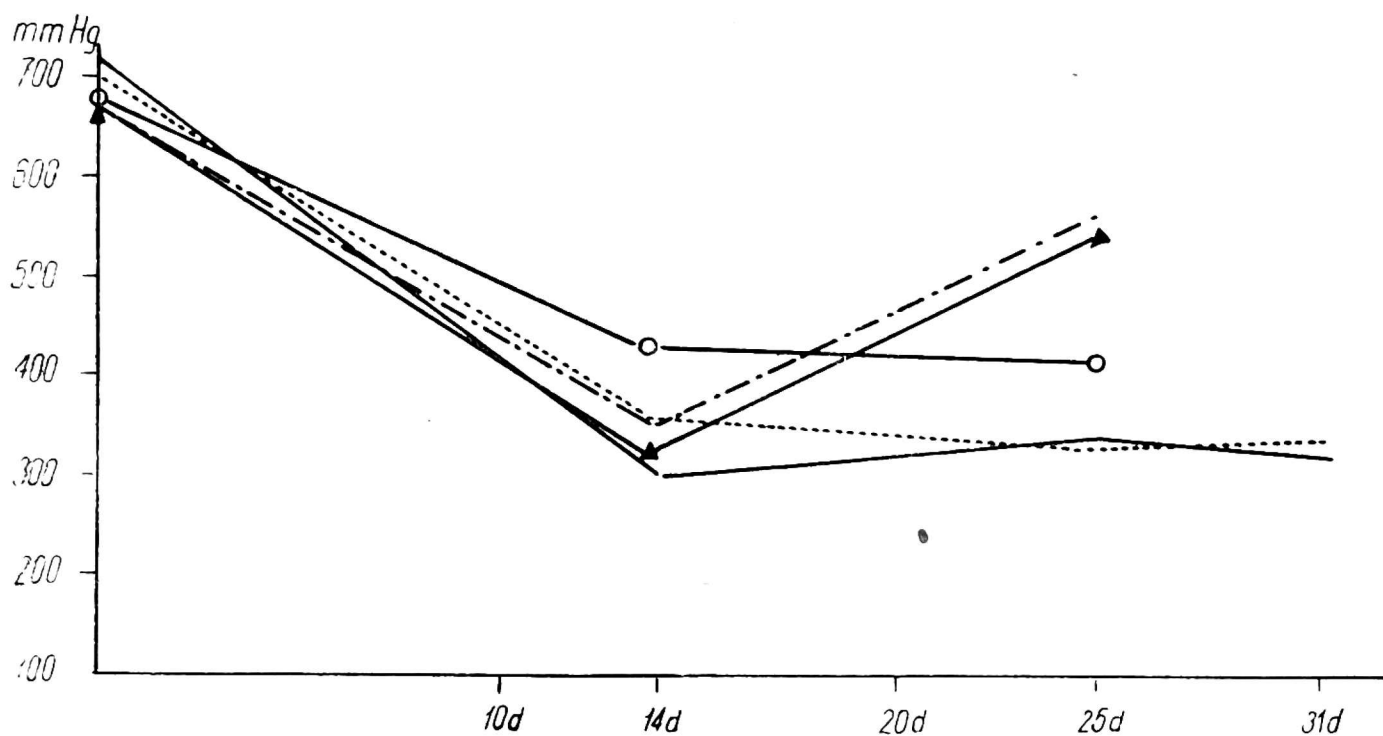
Z uzyskanych krzywych wynika, że grupa kontrolna nie wykazywała zmniejszenia wytrzymałości kapilar. W grupie II obniżenie wytrzymałości naczyń wynosiło średnio 50%. Grupa III zachowała się



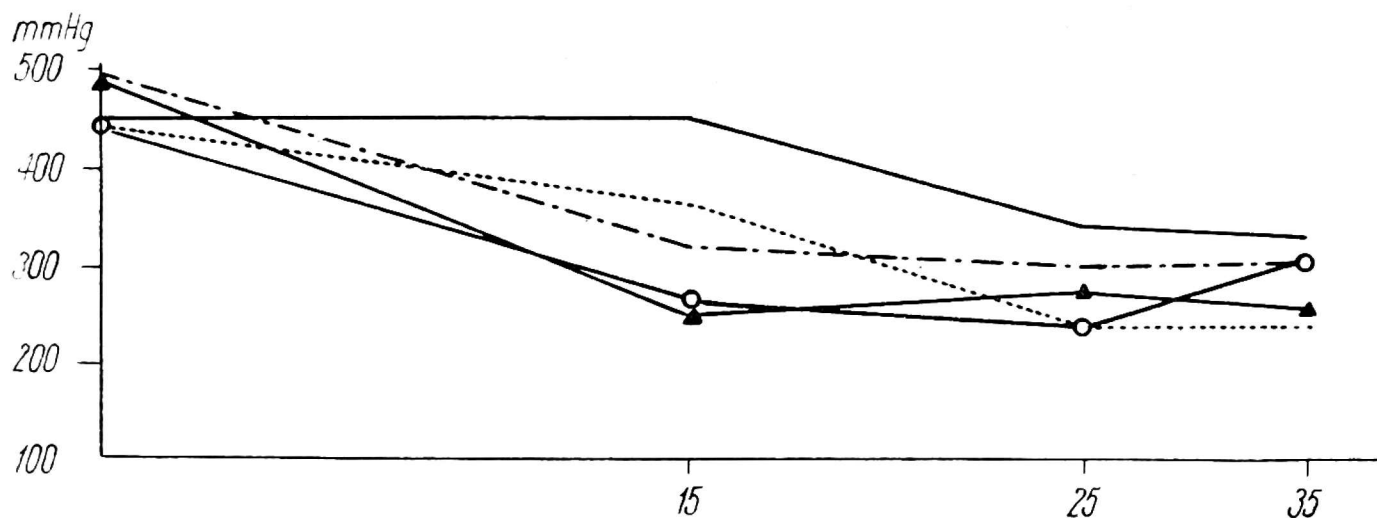
Ryc. 1. Doświadczenie I.

pod względem wytrzymałości naczyń krwionośnych analogicznie do grupy drugiej. W grupie IV w jednym doświadczeniu (II) po podaniu witaminy P obserwuje się wzrost wytrzymałości naczyń do 81% w stosunku do grup kontrolnych. Pozostałe dwa doświadczenia nie wykazały reakcji.

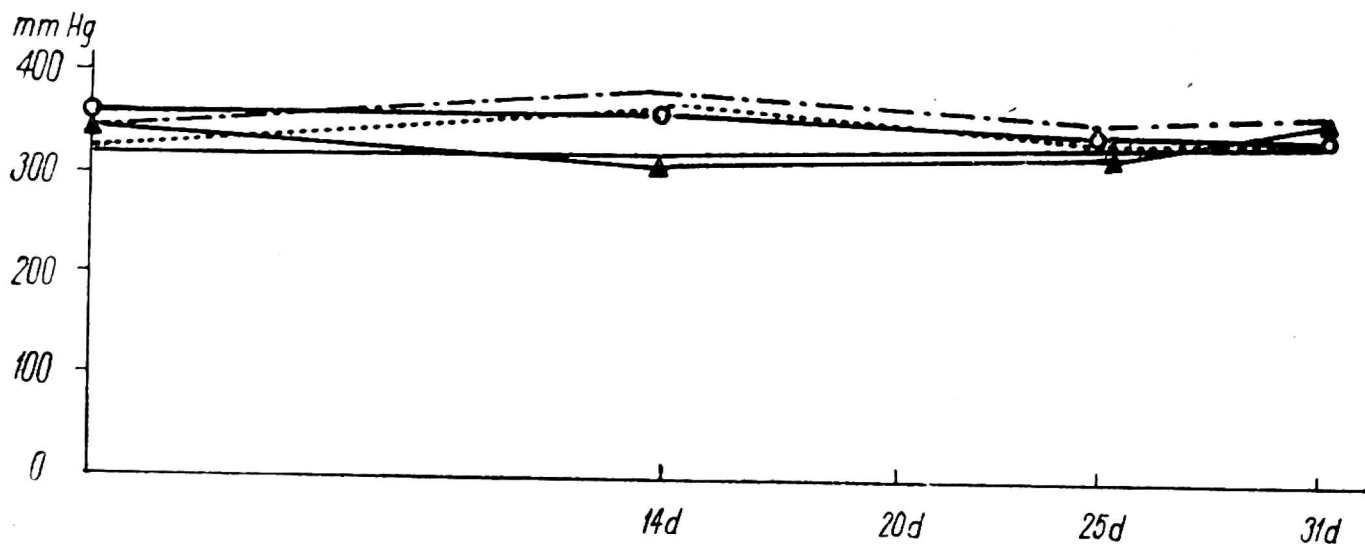
W trzech zanotowano obniżkę do 50%. Grupa V zareagowała analogicznie do grupy IV.



Ryc. 2. Doświadczenie II.



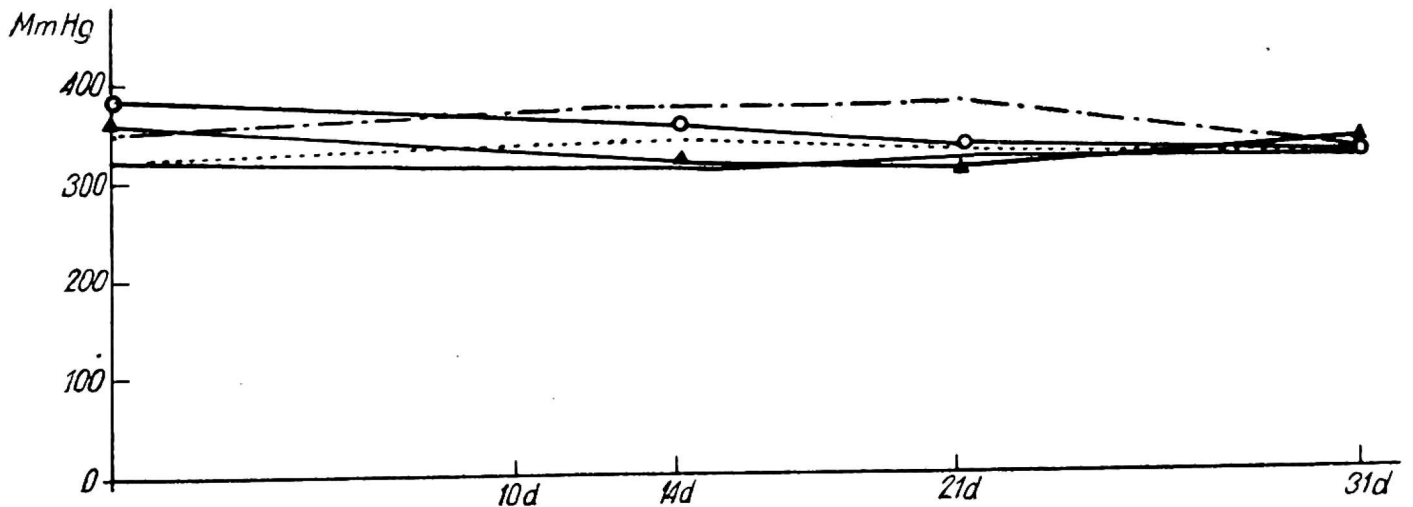
Ryc. 3. Doświadczenie III.



Ryc. 4. Doświadczenie IV.

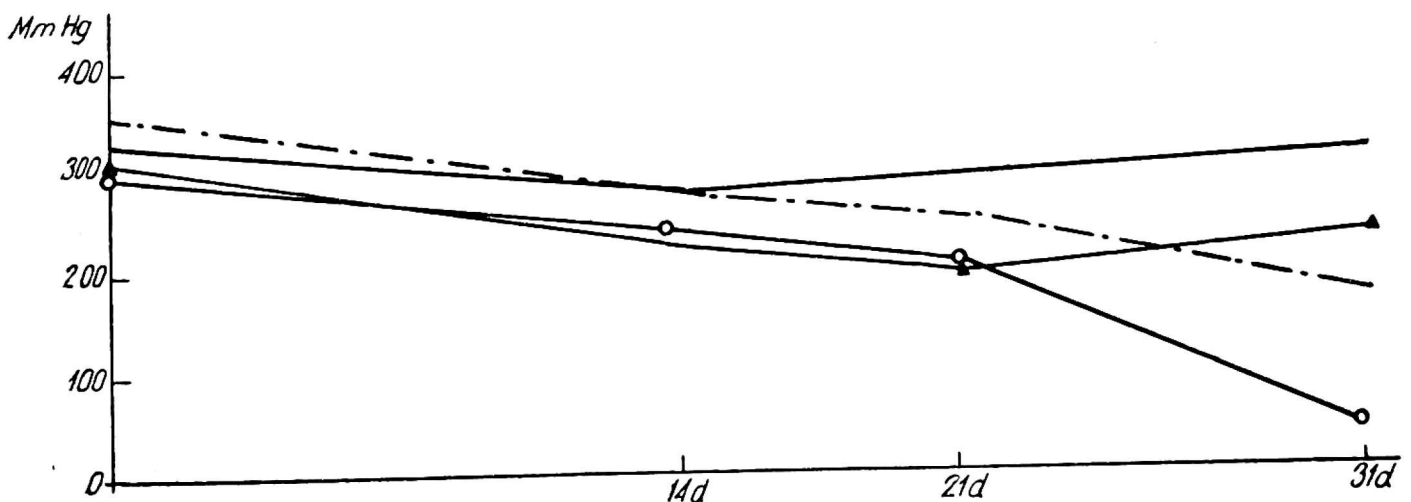
Zanotowano następujące zmiany w stanie wagi, wyglądzie zewnętrznym i samopoczuciu zwierząt.

W porównaniu z grupą kontrolną, w której przyrost na wadze zwiększał się proporcjonalnie do czasu trwania doświadczenia w pozostałych grupach zanotowano spadek na wadze. W grupie II pozbawionej witaminy P i witaminy C średnio o 18%. W grupie III stwierdzono przyrost wagi, lecz trzykrotnie mniejszy, niż w grupie kontrolnej. W grupie IV spadek wagi wynosił 9%. Grupa V wykazywała niewielką obniżkę we wzroście wynoszącą około 4% w stosunku do grupy kontrolnej.



Ryc. 5. Doświadczenie V.

Zwierzęta, które otrzymywały profilaktycznie w czasie doświadczenia witaminę C wykazywały najlepszą kondycję ze wszystkich grup pozostałych na diecie skorbutowej. Zaobserwowano więc w tej grupie oraz w grupie IV, której podawano witaminę C leczniczo, dużo większą zdolność do gojenia ran, brak samoistnych wybroczyn podskórnych, sierść o normalnym połysku i zachowanie naturalnej postawy ciała. U zwierząt z grupy II i IV stwierdzono objawy gnilca, łysienie, nastroszenie sierści w okolicy pyska, przekrwienie skóry na całym ciele, osowiałość, osłabienie stawów objawiające się pozostawianiem w nienaturalnej pozycji na zgiętych łapach. Nie zauważono utraty zębów.



Ryc. 6. Doświadczenie VI.

Śmiertelność w grupie II i IV wynosiła około 25%. Niższy procent śmiertelności, bo 11% wykazała grupa V. W pozostałych grupach śmiertelności nie zaobserwowano. Przeprowadzona pod koniec doświadczenia sekcja wykazała występowanie krwawych wybroczyn na otrzewnej u świnek morskich poddanych awitaminozie P i C.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Po uzyskaniu za pomocą diety szkorbutowej awitaminozy P i C u świnek morskich, zastosowano leczenie tymi witaminami osiągając następujące wyniki:

Uzyskano 50% obniżenie wytrzymałości kapilarów utrzymujące się na tym samym poziomie, pomimo podawania dużych ilości witaminy P — 2 mg dziennie — każdej śwince w ciągu 15 dni (z wyjątkiem doświadczenia drugiego, w którym zaobserwowano zwiększenie wytrzymałości kapilarów).

Podobnie negatywne wyniki zaobserwowano u zwierząt, którym podawano tylko witaminę C lub witaminy P i C razem.

Nasuwa się przypuszczenie, że dieta Schermanna, uboga w sole mineralne i witaminy, powoduje taki spadek wagi ciała i ogólny stan wyniszczenia zwierzęcia, że zastosowanie techniki pomiaru G. Burne'a może dawać błędne wyniki, prowadzące do mylnych wniosków. Jak pisaliśmy na wstępie, przez kilkanaście lat badacze donosili o uzyskaniu dodatnich wyników doświadczeń, otrzymując po podaniu zwierzętom witaminy P wzrost wytrzymałości kapilarów. W ostatnich natomiast latach francuscy badacze (4, 10, 18) opierając się na swych doświadczeniach poddawali w wątpliwość rolę witaminy P przy zwiększaniu wytrzymałości naczyń włosowatych u świnek morskich, przypisując ją wyłącznie witaminie C.

Doświadczenia nasze zaprzeczają wpływowi zarówno witaminy P jak i C oraz współdziałaniu obydwóch witamin na wzrost wytrzymałości kapilar. Daje się stwierdzić, że kondycja zwierząt posiada istotne, a może i decydujące znaczenie dla prawidłowego przebiegu doświadczeń. Kondycja ta zmienia się w zależności od pory roku, stanu odżywienia świnek morskich i warunków hodowli. Ponieważ, jak widać z historii badań nad działaniem fizjologicznym witaminy P, nie wyjaśniono definitywnie jej wpływu na wytrzymałość naczyń włosowatych, wydaje się celowe, by w dalszych pracach w tej dziedzinie opracować inną technikę pomiaru wytrzymałości kapilarów oraz zmienić skład diety wzbogacając ją w sole mineralne i witaminy. Pomimo że stosowana przez nas technika G. Burne'a pomiaru wytrzymałości kapilarów oraz zbyt wyniszczająca organizm dieta Schermanna mogły mieć wpływ na dokładność wyników doświadczeń, wydaje się, że witamina P nie wywiera wpływu na wytrzymałość kapilarów u świnek morskich, czego dowodem jest, że na sześć przeprowadzonych doświadczeń tylko w jednym przypadku uzyskano wzrost wytrzymałości naczyń włosowatych pod wpływem podawania witaminy P.

С. Тушыньска, К. Мышковска, В. Возняк, К. Левандовска

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА P НА СОПРОТИВЛЯЕМОСТЬ КАПИЛЛЯРОВ У МОРСКИХ СВИНОК С АВИТАМИНОЗОМ С

С о д е р ж а н и е

Исследовалось влияние витамина P на сопротивляемость капилляров у морских свинок с авитаминозом С. В целом ряде проведенных исследований не обнаружено влияния как витамина P, так и витамина С на увеличение сопротивляемости капилляров у морских свинок. Однако замечался гораздо лучший общий вид этих животных, которым во все время опыта давался витамин С. Эти животные своим наружным видом лишь в незначительной степени отличались от контрольной группы, получающей нормальную диету. Замечено, что точность результатов зависит в большой степени от кондиции животных а также и техники измерений выносливости капилляров. Найдено также, что скорбутическая диета Шермана влияет на истощение организма животных, а это влечет за собой ненормальную реакцию подопытных животных.

St. Tu s z y ń s k a, K. M y s z k o w s k a,
W. W o ń n i a k, K. L e w a n d o w s k a

INFLUENCE OF VITAMIN P ON THE ENDURANCE OF CAPILLARIES IN GUINEA PIGS WITH AVITAMINOSIS C

S u m m a r y

The influence of vitamin P on the endurance of capillaries in guinea pigs with avitaminosis C has been examined. In a number of experiments conducted no influence was noticed — either of vitamin P or of vitamin C — on the increase of the endurance of capillaries in guinea pigs. There was observed, however, a considerably improved general condition of the animals which received vitamin C during the whole duration of the experiment.

By their external appearance these animals differed only inconsiderably from the control group, receiving a normal diet. It was observed that the accuracy of the results depends to a great extent on the animals' condition and on the technique of measurements of the endurance of capillaries. It was stated also that the Schermann's scurvy diet influences the emaciation of the animal body, what induces an irregular reaction in the experimental animals.

PIŚMIENNICTWO

1. Bicknell F. i Prescott T.: The Vitamins in Medicine, London, 1947. — 2. Bourne G.: Nature, 1943, 152, 659. — 3. Dmochowski A., Polaczkowa W., Skarżyński B.: Witaminy, Łódź, 1949. — 4. Fabianek J., Neumann J.: C. R. Acad. Sci. Paris, 1952, 234, 894. — 5. Gale E. T.: Geriatrics, 1953, 8, 80. — 6. Harris R. S., Thimann K. V.: Vitamins and Hormones VII, New York 1949. — 7. Hawk B.: Practical Physiological Chemistry, Philadelphia. 1947. — 8. Mouriguand S., Edel V.: Inter. Zeitschr. für Vitaminforsch., 1950, 22, 129. — 9. Neumann J.: C. R. Acad. Sci., 1952, 234, 1407. —

10. Neumann J., Fabianek J.: *Compt. rend.*, 1952, 234, 1407. — 11. Parrot J. L. i Galmiche H.: *Compt. rend. soc. biol.* 1945, 139, 948. — 12. Parrot J., Gabe: *C. R. Soc. Biol.*, 1946, 140, 150. — 13. Rusznyák S. i Benko A.: *Klin. Wochschr.*, 1941, 20, 1265. — 14. Scarborough H.: *Biochem. J.* 1945, 39, 271. — 15. Scarborough H.: *Lancet*, 239, 644, 1940. — 16. Scarborough H.: *Biochem. J.*, 1945, 39, 271, 40, LXV, Proc. — 17. Sevestre J., Fabianek J.: *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1951, 33, 157 i 291. — 18. Sevestre J., Fabianek J.: *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1952, 34, 135. -- 19. Zilva S. S.: *Biochem. J.*, 1946, 40, 15.

Otrzymano: 13. X. 1954 r.