

Teresa Wrońska-Nofer, Jerzy Nofer, Stanisław Tarkowski

ZABURZENIA W WYDALANIU METABOLITÓW NIACYNY U ZWIERZĄT ZATRUVANYCH DWUSIARCZKIEM WĘGLA

Z Zakładu Toksykologii Przemysłowej Instytutu Medycyny Pracy w Łodzi
Dyrektor: doc. dr J. Nofer

Pierwszą wzmianką w piśmiennictwie o zaburzeniach przemiany niacyny w zatruciach dwusiarczkiem węgla było doniesienie *Linieckiego* (1960), który zaobserwował zwiększone ilości N¹-metylonikotynamidu w moczu szczurów eksponowanych na dwusiarczek węgla. Późniejsze doświadczenia ujawniły zmniejszone wydalanie całkowitego kwasu nikotynowego w moczu świnek morskich zatrutych dwusiarczkiem węgla (*Wrońska 1961*) oraz ochronne działanie niacyny w zaburzeniach chronakcji powstałych w wyniku ekspozycji na CS₂ (*Knobloch 1961*).

Celem niniejszej pracy było określenie zależności pomiędzy wydalaniem w moczu ilościami metabolitów kwasu nikotynowego (N¹-metylonikotynamidu i całkowitego kwasu nikotynowego *) oraz przeprowadzenie próby bilansu wydanych metabolitów z ilością witaminy w diecie spożytej przez zwierzęta.

PRZEBIEG DOŚWIADCZENIA I METODYKA BADAŃ

Doświadczenie wykonano na 14 dorosłych szczurach samcach o przeciętnym ciężarze ciała wynoszącym 250 g. Zwierzęta podzielono na dwie grupy: kontrolną i eksponowaną na CS₂, po siedem zwierząt w każdej grupie. Zwierzęta doświadczalne zatrutowano w komorze toksykologicznej parami dwusiarczku węgla o stężeniu $\approx 1,9$ mg/l, pięć godzin dziennie w okresie pięciu miesięcy. W czasie doświadczenia obie grupy zwierząt przebywały w jednakowych warunkach i otrzymywały jednakową dietę hodowlaną, przy czym średnia zawartość niacyny w 20 g dobowej diety wynosiła 332 μ g.

W ostatnim miesiącu doświadczenia oznaczono spożycie diety i zawartą w niej niacynę. W dobowym moczu zwierząt w obu grupach oznaczono trzykrotnie zawartość całkowitego kwasu nikotynowego i N¹-metylonikotynamidu. Na zakończenie doświadczenia szczury zabito przez dekapitację i oznaczono zawartość całkowitego kwasu nikotynowego w wątrobie.

* Całkowity kwas nikotynowy jest sumą ilości kwasu nikotynowego, amidu kwasu nikotynowego i kwasu nikotynurowego.

Całkowity kwas nikotynowy w moczu i diecie oznaczano metodą Wanga i Kodička (Wang, Kodiček 1943). W wątrobie całkowity kwas nikotynowy oznaczono zmodyfikowaną metodą Melnicka (Melnick 1942). Oznaczenia N¹-metylonikotynamidu w moczu przeprowadzono fluorymetryczną metodą Huffa i Perlzweiga (Huff, Perlzweig 1947).

WYNIKI BADAŃ

Ciężar ciała szczurów z grupy kontrolnej począwszy od drugiego miesiąca doświadczenia pozostawał stały i wynosił średnio 270 g. Natomiast w grupie zwierząt zatrutowanych po trzech miesiącach ekspozycji zaobserwowano spadek ciężaru ciała z 250 g do 230 g, po czym ciężar ciała tych zwierząt utrzymywał się na stałym poziomie i wynosił średnio 230 g w końcowym okresie doświadczenia.

Tabela I

Średnie dobowe spożycie diety i niacyny przez szczury w grupie kontrolnej eksponowanej na CS₂

Grupa	Liczba zwierząt	Ilości spożyte	
		Dieta g	Niacyna μg
Kontrolna	7	14,6 ± 0,35	275 ± 3,07
Eksponowana	7	13,4 ± 0,34	265 ± 2,43

U szczurów w grupie zatrutowanej w końcowej fazie doświadczenia wystąpiły niedowłady i porażenia kończyn tylnych.

Dobowe spożycie niacyny przez szczury w grupie kontrolnej wynosiło średnio 275 μg i utrzymywało się na stałym poziomie, podczas gdy szczury zaliczone do grupy zatrutowanej dwusiarczkiem węgla w ostatnim miesiącu spożywały średnio 265 μg niacyny w czasie doby. Różnica ta wyniknęła z mniejszej ilości spożywanej diety przez szczury zatrutowane w porównaniu z grupą kontrolną (tab. I).

W tab. II zestawiono ilości wydalonego w moczu dobowym N¹-metylonikotynamidu i całkowitego kwasu nikotynowego przez zwierzęta zaliczone do grupy kontrolnej i eksponowanej. Stwierdzono, że zwierzęta zatrutowane dwusiarczkiem węgla w porównaniu z kontrolnymi wydalały w czasie doby 143% N¹-metylonikotynamidu i 73% całkowitego kwasu nikotynowego. Stosunek wydalonego N¹-metylonikotynamidu do całkowitego kwasu nikotynowego, wynoszący 1,9 w grupie kontrolnej, uległ podwyższeniu w grupie eksponowanej na CS₂ i wynosił 3,4.

W tab. III przedstawiono wartości średnie dotyczące zawartości całkowitego kwasu nikotynowego i N¹-metylonikotynamidu w moczu zwierząt należących do obu grup w trzech kolejnych seriach oznaczeń przeprowadzonych w odstępach jednego tygodnia.

Jak wynika z danych zawartych w tab. III, w piątym miesiącu doświadczenia nie obserwowano istotnych zmian w zawartości metabolitów kwasu nikotynowego w moczu szczurów kontrolnych i zatrutowanych CS₂.



Tabela II

Dobowe wydalanie całkowitego kwasu nikotynowego i N¹-metylonikotynamidu przez szczury kontrolne i eksponowane na CS₂

Grupa	Liczba zwierząt	N ¹ -metylonikotynamid μg	Całkowity kwas nikotynowy μg	Stosunek
				N ¹ -met. nik. amid. całk. kwas nikotyn.
Kontrolna	7	170 ± 4,7	98 ± 3,5	1,93
Eksponowane	7	241 ± 7,9	71 ± 2,3	3,40

Tabela III

Średnie dobowe ilości wydalonego z moczem całkowitego kwasu nikotynowego i N¹-metylonikotynamidu przez szczury w grupie kontrolnej i eksponowanej na CS₂ w trzech seriach oznaczeń dokonanych w odstępach jednego tygodnia

Seria	Grupa kontrolna		Grupa eksponowana	
	całkowity kwas nikotyn. μg	N ¹ -met. nikotynamid μg	całkowity kwas nikotyn. μg	N ¹ -met. nikotynamid μg
I	98 ± 5,5	168 ± 9,1	68 ± 2,3	239 ± 11
II	95 ± 5,1	168 ± 7,9	71 ± 4,0	225 ± 12,5
III	104 ± 8,5	175 ± 9,6	79 ± 3,0	260 ± 12,5

Tabela IV

Średnia zawartość całkowitego kwasu nikotynowego w wątrobie szczurów grupy kontrolnej i eksponowanej na CS₂

Grupa	Liczba zwierząt	Całkowity kwas nikotynowy	
		w μg/g tkanki	w mg cały narząd
Kontrolna	7	126,2 ± 3,2	1,21 ± 0,12
Eksponowana	7	109,6 ± 2,7	0,90 ± 0,13

Wyniki oznaczeń całkowitego kwasu nikotynowego w wątrobie przedstawiono w tab. IV.

Zawartość całkowitego kwasu nikotynowego w 1 g wątroby szczurów zatrutowanych była o 16,6 μg, tj. o 13% mniejsza w porównaniu z grupą kontrolną. W przeliczeniu na cały narząd różnica ta była jeszcze wyższa i wynosiła 0,3 mg, tj. 26%. Powiększenie tej różnicy po przeliczeniu na cały narząd nastąpiło w wyniku mniejszego ciężaru wątroby u zwierząt należących do grupy doświadczalnej. Przeciętny ciężar wątroby szczurów w grupie kontrolnej wynosił 9,4 g, a szczurów eksponowanych 8,3 g.



Dokonana próba bilansu ilości spożytej niacyny i wydalonych metabolitów (w przeliczeniu na kwas nikotynowy) wskazuje na zwiększone zużycie niacyny u szczurów, u których wywołano przewlekłe zatrucie dwusiarczkiem węgla (tab. V).

Tabela V

Dobowe spożycie niacyny i ilości wydalanych metabolitów z moczem w przeliczeniu na kwas nikotynowy przez szczury kontrolne i eksponowane na CS₂

Grupa	Liczba zwierząt	Spożycie niacyny μg	Wydalenie μg
Kontrolna	7	275 ± 3,1	249 ± 4,5
Eksponowana	7	265 ± 2,4	285 ± 8,3

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Przeprowadzone doświadczenie potwierdziło jeszcze raz, że w zatruciach dwusiarczkiem węgla powstają zaburzenia w przemianie niacyny. Zaburzenia te można ująć w trzech następujących punktach:

1. Zwiększenie się ogólnej ilości metabolitów kwasu nikotynowego wydalonych z moczem.

2. Przesunięcie we wzajemnym stosunku metabolitów: N¹-metylonikotynamidu i kwasu nikotynowego na korzyść metylowej pochodnej.

3. Zmniejszenie się zawartości związków pirydynowych w wątrobie.

Wydaje się, że znamienny wzrost ilości wydalonych metabolitów niacyny świadczy o wzmożonej przemianie tej witaminy w ustroju pod wpływem toksycznego działania dwusiarczku węgla. Wzrost stosunku N¹-metylonikotynamidu do całkowitego kwasu nikotynowego przemawia za tym, że zaobserwowane zmiany nie powstały w wyniku zwykłego wzmożenia procesu przemiany niacyny, lecz że pod wpływem dwusiarczku węgla nastąpiło ilościowe przesunięcie w przemianie tej witaminy do poszczególnych metabolitów. Uzyskane w doświadczeniu wyniki pozwalają przypuszczać, że wywołane dwusiarczkiem węgla zaburzenia mogą mieć swe źródło we wzmożonym procesie metylacji amidu kwasu nikotynowego, w zahamowaniu dezamidacji amidu kwasu nikotynowego lub w zwiększonym rozpadzie nukleotydów nikotynamido-adeninowych (NAD).

Dotychczasowe wyniki nie pozwalają odpowiedzieć, która z tych hipotez jest słuszna. Obniżona zawartość związków pirydynowych wydaje się wskazywać na zwiększenie rozpadu NAD pod wpływem dwusiarczku węgla. Za tym przypuszczeniem przemawiają również zaobserwowane przez nas (Szpakowa, Brykalski, Liniecki 1962) zaburzenia w przemianie cynku u szczurów zatrutowanych dwusiarczkiem węgla. Cynk prawdopodobnie zostaje związany przez metabolity CS₂. Z drugiej strony wiadomo, że niedobór cynku jest przyczyną wzrostu aktywności NAD-azy, która rozkłada NAD z jednoczesnym uwolnieniem amidu kwasu nikotynowego (Wason, Kaplan 1953).



Uzyskane wyniki dotychczasowych doświadczeń przemawiają za celowością podjęcia dalszych badań w zakresie wpływu dwusiarczku węgla na układy enzymatyczne biorące udział w rozpadzie nukleotydów nikotynamido-adeninowych, takich jak NAD-aza i dezamidaza amidu kwasu nikotynowego.

T. Вроньска-Нофер, И. Нофер, С. Тарковский

НАРУШЕНИЯ ВЫДЕЛЕНИЯ МЕТАБОЛИТОВ НИАЦИНА У ЖИВОТНЫХ, ОТРАВЛЯЕМЫХ СЕРОУГЛЕРОДОМ

Содержание

Целью проведенного опыта являлось исследование влияния CS₂ на обмен никотиновой кислоты у крыс. Подопытных животных отравляли парами CS₂ при концентрации 1,9 мг/л в течение 5 месяцев, после чего определяли в суточной моче содержание общей никотиновой кислоты и N-метилникотинамида. Содержание общей никотиновой кислоты в моче контрольных животных равнялось $98 \pm 3,5$ µг в сутки, а N-метилникотинамида $170 \pm 4,7$ µг в сутки. Отравляемые животные выделили суточно $71 \pm 2,3$ µг общей никотиновой кислоты и $241 \pm 7,9$ µг N-метилникотинамида. Содержание общей никотиновой кислоты в печени отравляемых крыс было меньше по сравнению с контрольными крысами ($126,2 \pm 3,2$ µг/г и равнялось $109,6 \pm 2,7$ µг/г).

T. Wrońska-Nofer, J. Nofer, S. Tarkowski

TROUBLES IN THE EXCRETION OF NIACIN METABOLITES IN ANIMAL INTOXICATED WITH CARBON DISULPHIDE

Summary

The experiment was carried out in order to study the effect of CS₂ on the nicotinic acid metabolism in rats. The experimental animals were intoxicated with CS₂ vapours of 1,9 mg/l concentration during 5 months period and then the content of total nicotinic acid and N¹-methylnicotinamide in the 24 — hours urine was determined.

The daily excretion of total nicotinic acid in the urine of control animals was $98 \pm 3,5$ µg and of N¹-methylnicotinamide was $170 \pm 4,7$ µg. In the urine of poisoned animals the daily excretion of total nicotinic acid was $71 \pm 2,3$ µg and of N¹-methylnicotinamide was $241 \pm 7,9$ µg. The content of total nicotinic acid in liver of poisoned rats was $109,6 \pm 2,7$ µg/g. The amount was lower in comparison with the observed in the control group — $126,2 \pm 3,2$ µg/g.

PIŚMIENNICTWO

1. Huff J. W., Perlzweig W. A.: J. Biol. Chem., 167, 1, 1947. — 2. Knobloch K.: Medycyna Pracy, 4, 355, 1961. — 3. Liniecki J.: Wpływ przewlekłego zatrucia CS₂ na gospodarkę tiaminą u szczurów Ł.T.N. Wyd. IV, nr 26, Łódź 1960. — 4. Melnick D.: Cereal Chem., 19, 553, 1942. — 5. Wang Y., Kudiček E.: Biochem. J., 37, 350, 1943. — 6. Wason A., Kaplan N. O.: J. Biol. Chem., 201, 435, 1953. — 7. Wronowa B.: Medycyna Pracy, 4, 384, 1961. — 8. Wrońska-Szpakowa T., Brykalski D., Liniecki J.: Medycyna Pracy, 2, 110, 1961.

