

RUTIINI JA TEELEHTEDEST VALMISTATUD KATEHHIIN- PREPARAATIDE MÕJUST LOOMSETE KUDEDE HINGAMISELE

II osa

L. TERAS

Käesoleva uurimuse esimeses osas, mis käsitleb bioflavonoidide toimet maksakoe hingamise *in vitro* [10], näidati, et rutiin kontsentratsioonides 10^{-2} — 10^{-9} ei mõjustanud hapniku neeldumist maksakoos. Seevastu teeledetest valmistatud P-vitamiini preparaat ja katehhiinid suurtes kontsentratsioonides (10^{-1} — 10^{-2}) avaldasid oma kõrgete autooksüdatiivsete omaduste tõttu soodustavat toimet maksakoelõikude hingamise, vähendades samaaegselt fosfori neeldumist. Käesolevas töös jätkatakse P-vitamiini preparaatide toime uurimist kudede hingamise *in vivo*, manustades neid preparaate parenteraalselt katseloomadele ning määrates hapniku neeldumist maksalõikudes ja vahelihasetükikestes katseperioodi eri etappidel.

Szent-Györgyi ning Huszák [3] märkisid juba 1937. aastal, et flavonoidid võtavad osa taimede hingamisprotsessidest. Scarborough' ning Bacharach'i [9], Zaprometovi [13] jt. arvates on bioflavonoidide bioloogilise toime lahtimõtestamisele võtmeks Wawra ning Webb'i [11] töö, mis näitas, et bioflavonoidi hesperidiini kompleks valguga teostab vesiniku ülekandmist maksa diaforaasisüsteemis. Ka Haitzmann [1], Kühnau [5] jt. on veendunud, et bioflavonoidid funktsioneerivad aktiivse lülina loomse organismi oksüdatsiooni-reduktsiooni süsteemides. Radermacher [8] leidis, et rutiin ja teised flavonoidid kiirendavad hemoglobiiniga katalüüsitud linaseemneõli oksüdatsiooni. Heimanni ning Heinrichi [2] tööst selgub, et bioflavonoidid on vesiniku ülekandjateks askorbiinhappe fermentatiivses oksüdatsioonis. Lang ning Weyland [6] näitasid, et rutiini lisandamisel suureneb hapniku kasutamine neerude tsükloforaasisüsteemis. Sergejevi [17] andmetel tõuseb bioflavonoidide toimel tsütokroomoksüdaasi aktiivsus aju-, neeru- ja eriti maksakoos, dehüdraaside aktiivsus aga suureneb lihastes, väheneb neerudes ning südamelihases.

Metoodika

Uuritud P-vitamiini preparaate (Tallinna Farmatseutilises Tehases valmistatud rutiini ja Štšelkovo Vitamiinitehases teeledetest valmistatud P-vitamiini preparaati ning parenteraalseks manustamiseks ettenähtud katehhiinide puhastatud preparaati) manustati lahustatult 0,9%-lises NaCl-lahuses ca 200 g raskustele valgetele rottidele subkutaanselt 25 mg kilogrammi kehakaalu kohta 21 päeva jooksul. Hapniku neeldumist maksakoos, samuti ka anorgaanilise fosfori neeldumist määrati 10 rotist koosnevates katserühmades 3-ndal, 7-ndal, 14-ndal ja 21-sel katsepäeval ja järeloime väljaselgitamiseks veel esimesel, teisel ja kolmandal nädalal peale preparaatide manustamist (igas rühmas 3—4 rotit). Kuna rutiini ja teeledetest valmistatud P-vitamiini preparaadi mõju jälgiti isastel rottidel, katehhiinide puhastatud preparaadi toimet aga emastel katseloomadel, oli kontrollrühmaks 10 isast ja 10 emast valget rottit, kellele sama aja vältel manustati iga päev subkutaanselt 0,5 ml 0,9%-list NaCl-lahust.

Pärast katseaja möödumist surmati rotid kuklalöögiga ning tehti nende maksast žiletiga kaks kuni kolm 0,3—0,4 mm paksust lõiku, mis ühtekokku kaalusid 100 mg.

Koelõigud asetati Warburgi kolbi 3 milliliitrise Krebsi fosfaatpuhverlahusesse [20], pH-ga 7,3. Kolvid täideti hapnikuga. Hapniku neeldumist maksakoes registreeriti 37° C temperatuuris ühe tunni jooksul iga 20 minuti järel. Hingamiseks kulunud hapniku hulk arvutati 1 mg koelõikude kuivkaalu kohta. Iga roti maksakoelõikude hingamist määrati paralleelselt 2—3 kolvis ja saadud tulemustest arvutati keskmine.

Fosfori neeldumine määrati anorgaanilise fosfori hulga alusel, mis katse algul ja lõpul mõõdeti Fiske-Subbarow' modifitseeritud meetodil [7], kusjuures neeldunud fosfori hulk arvutati samuti koe 1 mg kuivkaalu kohta.

Analoogiliselt uuriti diafragmatükikestel rutiini ja katehhiinide puhastatud preparaadi toimet lihaskoe hingamisse ja määrati hapniku neeldumine mitmesuguste hingamissubstraatidega 3-ndal, 7-ndal ja 21-sel katsepäeval. Et saada informatsiooni Krebsi oksüdatsioonitsükli erinevate osade kohta, valiti hingamissubstraatideks merivaikhape, α -ketoglutaarhape ja tsütokroom c.

Peale valge roti surmamist jaotati katselooma diafragma nelja võrdsesse ossa ning asetati nelja Warburgi kolbi, mis sisaldasid: 1) 3,0 ml Krebsi fosfaatpuhverlahust, 2) 2,0 ml Krebsi fosfaatpuhverlahust + 1,0 ml 0,01 M merivaikhapet (neutraliseeritud eelnevalt 0,1 n NaOH-lahusega pH 7,3-ni), 3) 2,0 ml Krebsi fosfaatpuhverlahust + 1,0 ml 0,01 M α -ketoglutaarhapet (neutraliseeritud samuti 0,1 n NaOH-ga pH 7,3-ni), 4) 1,7 ml Krebsi fosfaatpuhverlahust + 0,3 ml 0,114 M *Natrium ascorbinicum*'i lahust + 1,0 ml 10^{-4} M tsütokroom c lahust.

Neeldunud hapniku hulka registreeriti samuti iga 20 minuti järel ühe tunni jooksul. Hingamise vältel kulunud hapniku hulk arvutati koe 1 mg kuivkaalule.

Kontrolliks määrati hapniku neeldumisvõime kümne valge roti diafragmatükikestes samade hingamissubstraatide lisandamisega.

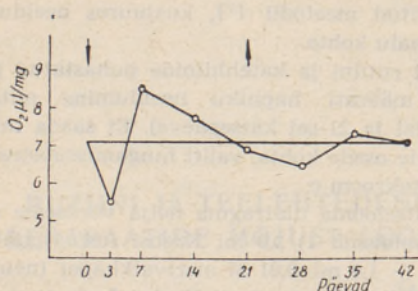
Uurimise tulemused

Rutiini st tingitud hingamise muutustest maksakoes annab ülevaate joonis 1. Jooniselt nähtub, et kolmandal katsepäeval neeldus maksalõikudes ainult 77% hapnikku, võrreldes kontrolliga. Seitsemendal katsepäeval ületas rutiiniga mõjustatud loomade maksakoe hingamine 20% võrra kontrollloomade vastava näitaja ($P < 0,02$). 14-ndaks katsepäevaks oli hapniku neeldumise tase maksakoes rutiini toimel veel ainult mõnevõrra, kuid variatsioonstatistiliselt mitte enam oluliselt kõrgem kontrollist ($P > 0,3$). Rutiini manustamise kolmanda nädala jooksul langes maksakoe hingamise tase katserühmas juba kontrollrühma tasemele. Seitse päeva peale rutiini manustamise lõppu olid hapniku neeldumise väärtused kõigi katseloomade maksalõikudes langenud alla kontrollrühma keskmist taset ($P > 0,1$). 14-ndal ja 21-sel päeval peale rutiini manustamist normaliseerus maksakoe hingamine jälle kontrollrühma tasemele.

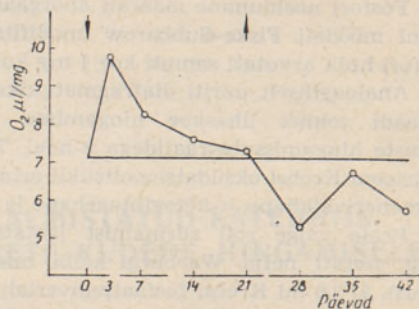
Koos hapniku neeldumise muutustega täheldati rutiini toimel nihkeid ka fosfori neeldumises. Kolmandaks rutiini manustamise päevaks oli vähenenud ka neeldunud fosfori hulk. Seejuures P:O ei olnud muutunud. Ka edasisel rutiini manustamisel täheldati neeldunud fosfori hulga vähenemist, mis aga katseandmete suure hajuvuse tõttu ei olnud variatsioonstatistiliselt oluline. Ühtlasi oli P:O katserühmas väiksem kui kontrollrühmas: 7-ndal ja 14-ndal katsepäeval oli P:O katserühmas 0,29, kontrollis 0,37.

Teeledetest saadud P-vitamiini preparaadi subkutaansel manustamisel täheldati katseloomade maksakoes hingamisvõime suurenemist, mida näitab joonis 2. Jooniselt selgub, et juba kolmandaks katsepäevaks suurenes hapniku neeldumine, võrreldes kontrolliga, 37% võrra ($P < 0,01$). Seitsemendaks katsepäevaks see näitaja mõnevõrra langes. Teisel ja kolmandal katsenädalal oli maksalõikude hingamisvõime

kontrollrühma tasemel ning langes pärast preparaadi manustamise lõppu järsult üsna madalale. Seitsmendal päeval peale preparaadi manustamise lõppu moodustas hapniku neeldumine maksakoes ainult 75% kontrollrühma vastavast väärtusest ($P < 0,05$). 14-ndal ja 21-sel päeval normaliseerus maksakoe hingamisvõime uuesti kontrollrühma tasemele.



Joon. 1. Rutiini toime hapniku neeldumisse katseloomade maksakoes.



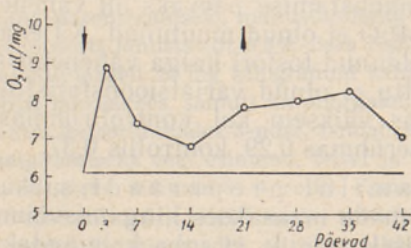
Joon. 2. Teelehtedest valmistatud P-vitamiini preparaadi toime hapniku neeldumisse katseloomade maksakoes.

Siin ja järgmistel joonistel esitatakse katserühmade keskmised andmed. Sirge joon kujutab kontrollrühma keskmist. Ordinaatteljel on märgitud 1 tunni vältel

neeldunud hapniku hulk mikrolitrites koe 1 mg kuivkaalu kohta, abstsissiteljel katsepäevad. Nooltega on tähistatud preparaadi manustamise algus ja lõpp.

Teelehtedest valmistatud P-vitamiini preparaadi mõjul toimusid, võrreldes rutiiniga, mõnevõrra suuremad nihkumised fosfori ainevahetuses. Kolmandaks katsepäevaks oli fosfori neeldumine katserühmas suurenenud, kuid, nagu rutiini puhulgi, P:O suhe ei erinenud kontrollrühmast. 7-ndaks ja 14-ndaks katsepäevaks oli neeldunud fosfori hulk märgatavalt vähenenud. Nii neeldus 7-ndal katsepäeval ainult 4,4γ ja 14-ndal katsepäeval 5,0γ fosforit 1 mg koe kohta (kontrollrühmas 7,4γ). Ühtlasi vähenes P:O väärtus ($P < 0,02$). 21-sel katsepäeval, millal hapniku kasutamine katserühmas oli võrdne kontrollrühmaga, vastasid ka neeldunud fosfori kogus ja P:O suhe kontrollrühma näitajatele. Peale preparaadi manustamist langesid nii hapniku neeldumine kui ka absorbeeritud fosfori hulk, mistõttu P:O väärtus ei muutunud.

Katehhiinide kompleksi puhastatud preparaadi avaldas katseloomade maksakoe hingamisele veelgi tugevamat toimet (joon. 3). Nimelt tõusis hapniku neeldumine juba kolmandaks päevaks 44% võrra kõrgemale kui kontrollrühmas ja püsis, küll mõningate kõikumistega, variatsioonstatistiliselt oluliselt kõrgemana ka 7-ndal, 14-ndal ja 21-sel katsepäeval. 7-ndal katsepäeval ületas hapniku neeldumine maksakoes 21% võrra, 14-ndal 11% ja 21-sel katsepäeval 28% võrra kontrollrühma hingamise taseme. Ka peale preparaadi manustamise lõppu püsis maksakoe hingamine katserühma loomadel kolme nädala jooksul kõrgenenud tasemel. Eriti oma järelmõju poolest toimib katehhiinide puhastatud preparaadi maksakoe hingamisse märksa efektiivsemalt teistest uuritud bioflavonoididest.

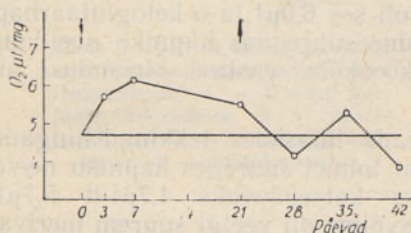


Joon. 3. Katehhiinide puhastatud preparaadi toime hapniku neeldumisse katseloomade maksakoes.

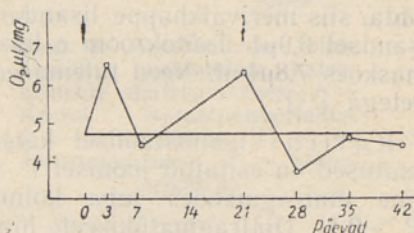
Katehhiinide puhastatud preparaadi toimel ilmnes maksalõikudes kogu katse vältel suurem tendents fosfori neeldumise vähenemiseks. Vastavalt sellele oli ka P:O väärtus 3-ndal, 7-ndal ja 21-sel katsepäeval väiksem kui kontrollrühmas ($P > 0,05$ ja $> 0,1$). 14-ndal katsepäeval, kui vähenes neeldunud hapniku hulk, suurenes P:O väärtus. Peale katehhiinide manustamise lõpetamist suurenesid P:O väärtused uuesti.

Ei *in vitro* ega *in vivo* täheldanud me maksakoelõikudes fosfori kasutamise tõusu seoses hapniku neeldumise suurenemisega. Enamikul juhtudel fosfori neeldumine isegi vähenes bioflavonoidide toimel. Sellest võib järeldada, et bioflavonoididele omane hingamist soodustav toime pole seoses oksüdatiivse fosforileerimise mehhanismidega.

Rutiini ja katehhiinide puhastatud preparaadi toime hapniku neeldumisse lihaskoes oli üldiselt analoogiline nende toimega maksakoos. Nagu nähtub joonistelt 4 ja 5, suurendavad mõlemad P-vitamiini preparaadid oma manustamise vältel ka lihaskoe hingamist, toimides kumbki mõnevõrra erinevalt.



Joon. 4. Rutiini toime hapniku neeldumisse katseloomade lihaskoes.



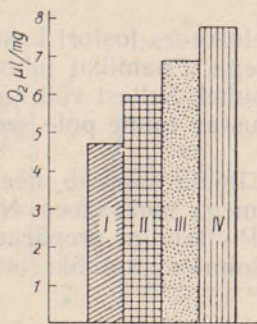
Joon. 5. Katehhiinide puhastatud preparaadi toime hapniku neeldumisse katseloomade lihaskoes.

Vastupidi maksakoos täheldatud hingamisvõime langusele esimestel katsepäevadel suurenes hapniku neeldumine diafragmatükikestes rutiini toimel juba kolmandal katsepäeval. Seitsmendaks katsepäevaks suurenes hapniku neeldumisvõime lihaskoes, võrreldes kontrollrühmaga, 30% ($P < 0,05$). Samaaegselt täheldati ka maksakoos rutiini toime maksimumi. Lihaskoe hingamine püsis kõrgeenenuna rutiini manustamise lõpuni.

Katehhiinide preparaadi toimet lihaskoesse iseloomustab kiire ja tugev hapniku neeldumise tõus kolmandaks katsepäevaks, nagu see ilmnes ka maksakoe puhul: hapniku neeldumine katseloomade diafragmatükikestes ületas 38% võrra kontrollrühma keskmise näitaja ($P < 0,02$). Sellele tõusule järgnes seitsmendal katsepäeval järsk lihaskoe hingamisvõime langus, mis preparaadi edasisel manustamisel möödus. 21-sel katsepäeval oli hapniku neeldumisvõime katserühma lihaskoes jälle 34% võrra ($P = 0,05$) suurem kontrollist. Seega on katehhiinide preparaadi toime lihaskoesse, võrreldes maksakoega, märksa ebapüsivama iseloomuga. Teiseks katehhiinide preparaadi toime iseärasuseks on see, et peale preparaadi manustamist ei jää kõrgeenenud hingamisvõime lihaskoes püsima, nagu ta püsis maksakoos, vaid isegi langeb.

Seega näeme, et rutiin, teeledetest valmistatud P-vitamiini preparaat ja katehhiinid suurendavad oluliselt maksa- ja lihaskoe respiratsiooni. On tõenäoline, et selline tähelepanevad kudede oksüdeerumisvõime kasv on seotud ainevahetuse oksüdatsiooni- ja reduktsiooniprotsesside aktiveerumisega bioflavonoidide toimel. Et jõuda selgusele, missuguse konk-

reetse oksüdatsiooniprotsessi läbi kaudu toimub kudede hingamise aktiivseerumine, tegime võrdlevaid katseid, milles uurisime lihaskoelõikude hingamist erinevate hingamissubstraatide (nagu merivaikhape, α -ketoglutaarhape ja tsütokroom c) lisandamise puhul inkubeerimislahusesse.

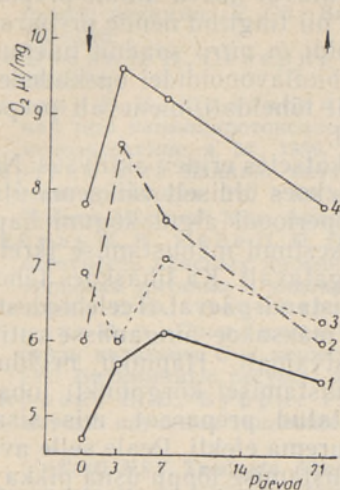


Joon. 6. Hapniku neeldumise väärtused kontrollrühma loomade diafragma koes. I — Krebsi fosfaatpuhverlahus, II — merivaikhape, III — α -ketoglutaarhape, IV — tsütokroom c.

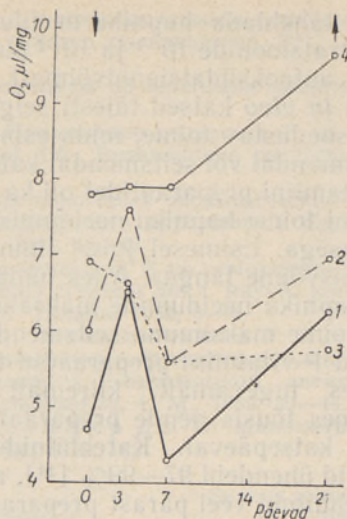
Joonisel 6 on esitatud kontrollrühma loomade diafragma koe hapniku neeldumise keskmised väärtused nii hingamissubstraatide lisandamisega kui ka ilma. Sealt nähtub, et esimesel juhul tõusis diafragma koe hingamisvõime astmeliselt. Kui hapniku neeldumise näitaja oli Krebsi fosfaatpuhverlahuses $4,7\mu\text{l}$ 1 mg koe lisandamisega oli see $6,0\mu\text{l}$ ja α -ketoglutaarhappe lisandamisega $7,8\mu\text{l}$ -ni. Need tulemused on kooskõlas vastava kirjanduse andmetega [15].

Rutiini manustamisel katseloomade lihaskoes tekkinud hingamis muutused on esitatud joonisel 7. Rutiini toimel suurenes hapniku neeldumine diafragma koes juba kolmandaks katsepäevaks $4,7\mu\text{l}$ -lt $5,7\mu\text{l}$ -le ($P > 0,1$). Diafragma tüükikeste hingamisvõime oli veelgi suurem merivaikhappe ja tsütokroom c lisandamisega (P vastavalt $< 0,02$ ja $> 0,2$). α -ketoglutaarhappe lisandamine vähendas lihaskoe hingamisvõimet, võrreldes kontrolliga. Edasine rutiini manustamine suurendas lihaskoe hingamisvõimet veelgi, tõstes seda kontrolliga võrreldes 30% ($P < 0,05$). Ka merivaikhappe ja tsütokroom c lisandamisega oli lihaskoe hingamisvõime suurenenud, võrreldes kontrollrühmaga. Nii neeldus seitsmendal katsepäeval diafragma koes hapnikku merivaikhappe lisandamisega $7,6\mu\text{l}$ (kontroll $6,0\mu\text{l}$) ja tsütokroom c lisandamisega $9,2\mu\text{l}$ (kontroll $7,8\mu\text{l}$). α -ketoglutaarhappe puhul oli lihaskoe hingamisvõime kontrollrühma tasemel. Ka 21-seks katsepäevaks jäi diafragma koe hingamine mõnevõrra kõrgenenuks ($P > 0,2$). Kasutatud kolme hingamissubstraadi puhul ei ületanud hapniku neeldumine diafragma koes 21-sel katsepäeval kontrollrühma andmeid.

Katehhiinide puhastatud preparaati saanud katseloomade diafragma hingamise väärtused on esitatud joonisel 8. Sealt nähtub, et katehhiinide toimel tõuseb hapniku neeldumine lihaskoes tunduvalt juba kolmandaks katsepäevaks (38% võrra). Hingamissubstraatide lisandamisega, eriti merivaikhappe puhul, kasvas hapniku neeldumisvõime kolmandaks katsepäevaks ($7,6\mu\text{l}$, kontroll $6,0\mu\text{l}$). α -ketoglutaarhappe ja tsütokroom c kasutamisel ei erinenud koe hingamine oluliselt kontrollist. Seitsmendal katsepäeval järgnes eelnenud suurele tõusule järsk lihaskoe hingamisvõime langus. Ühtlasi oli merivaikhappe ja α -ketoglutaarhappe lisandamisega neeldunud hapniku hulk seitsmendal katsepäeval tunduvalt väiksem kontrollist. Tsütokroom c puhul jäi hapniku neeldumine kontrolliga võrreldes samaks. 21-seks katsepäevaks oli diafragma koe hingamisvõime kontrollrühmast 34% võrra uuesti kõrgenenud ($P = 0,05$). Ühtlasi oli hapniku neeldumine suurenenud tunduvalt ka merivaikhappe ja tsütokroom c lisandamisega. Merivaikhappe puhul moodustas neeldunud hapniku hulk $7,0\mu\text{l}$ ja tsütokroom c korral $9,8\mu\text{l}$ (kontrollrühma väärtused olid vastavalt $6,0\mu\text{l}$ ja $7,8\mu\text{l}$).



Joon. 7. Rutiini toime hapniku neeldumisse katseloomade diafragmakoes. 1 — Krebsi fosfaatpuhverlahus, 2 — merivaikhape, 3 — α -ketoglutaarhape, 4 — tsütokroom c.



Joon. 8. Katehhiinide toime hapniku neeldumisse katseloomade diafragmakoes. 1 — Krebsi fosfaatpuhverlahus, 2 — merivaikhape, 3 — α -ketoglutaarhape, 4 — tsütokroom c.

Esitatud andmetest nähtub, et on olemas ilmne seos P-vitamiini preparaatide manustamisel diafragmakoes tekkinud hingamisvõime muutuste ning merivaikhappe ja tsütokroom c lisandamisega saadud hapniku neeldumise väärtuste vahel. Rutiini manustamise kolmandal ja seitsmendal päeval, millal täheldasime lihaskoe hingamisvõime suurenemist, oli hapniku neeldumine ka merivaikhappe ja tsütokroom c lisandamisega märksa kõrgem. Ka katehhiinide manustamisel kulges hapniku neeldumine merivaikhappe lisandamise korral paralleelselt diafragmakoe hingamisega. On iseloomulik, et katehhiinide puhul tsütokroom c lisandamisega jäid hapniku neeldumise väärtused kuni seitsmenda katsepäevani muutumatuks. Hapniku kasutamine tsütokroom c lisandamisega suurenes alles 21-seks katsepäevaks, millal lihaskoe hingamisvõime ka Krebsi fosfaatpuhverlahuses tõusis tunduvalt. Toodud faktidest võib järeldada, et bioflavonoidid toimivad Krebsi hingamistsükli madalamates astmetes. Teatavasti toimub merivaikhappe oksüdatsioon fermenti suktsiindehüdrogenaasi abil, kuna tsütokroom c on substraadiks fermentile tsütokroomoksüdaasile. Näib tõenäolisena, et rutiini ja katehhiinide mõjul kasvab nende fermentide aktiivsus lihaskoes. Ka Sergejev [17] leidis, et P-vitamiini mõjul suureneb hingamisfermentide — dehüdraaside ja tsütokroomoksüdaasi — aktiivsus kudedes. Lähtudes sellest, et bioflavonoididel on omadus moodustada organismis stabiilseid komplekse valguga, on ka Kühnau [5] ja Davidovič ning Klostermann [4] seisukohal, et bioflavonoidid on organismis hingamisfermentide prosteetiliseks rühmaks.

Oma uurimuse mõlemas osas esitatud andmete põhjal võime väita, et P-vitamiini preparaadid avaldavad mõju hapniku neeldumise võimele loomsetes kudedes. *In vitro* katsetest selgub, et rutiini lisandused kontsentratsioonides 10^{-2} — 10^{-9} ja katehhiinide lisandused kontsentratsioonides 10^{-3} — 10^{-7} maksalõikude hingamist ei muuda. Teeledetest valmistatud P-vitamiini ja katehhiinide puhastatud preparaadi lisandamisega võidi

in vitro täheldada hapniku neeldumises teatavat kasvu ainult preparaadi kontsentratsioonide 10^{-1} ja 10^{-2} puhul, mis oli tingitud nende preparaatide kõrgest autooksidatsioonivõimest. Vastupidi *in vitro* saadud tulemustele näitasid *in vivo* katsed täiesti selgesti, et bioflavonoididel on kudede hingamist soodustav toime, mida esmakordselt täheldati, olenevalt preparaadist, kolmandal või seitsmendal katsepäeval.

P-vitamiini preparaatidel oli ka *in vivo* katsetes erinev aktiivsus. Nimelt oli rutiini toime hapniku neeldumise maksakoes üldiselt väiksema ulatuse ja kestusega. Esimesel juhul ilmnis katseperioodi algul koguni hapniku neeldumisvõime langus. Alles nädal aega kestnud manustamise järel kõrgenes hapniku neeldumine maksakoes märgatavalt. Ka lihaskoes täheldati rutiini toime maksimumi seitsmendal manustamispäeval. Teelehtedest valmistatud P-vitamiini preparaadid toimisid maksakoe hingamisse rutiiniga võrreldes tugevamalt, kiiremalt ja kestvaamalt. Hapniku neeldumine maksakoes tõusis nende preparaatide manustamisel kõrgpunktjuba kolmandal katsepäeval. Katehiinide puhastatud preparaat, mis sisaldab aktiivseid ühendeid 97—99% [14], andis suurema efekti. Peale selle avaldasid katehiinid veel pärast preparaadi manustamise lõppu üsna pikka aega kestvat järeltoimet maksakoe oluliselt kõrgenenud hingamisvõime näol.

Tunduvatele erinevustele üksikute P-vitamiini preparaatide bioloogilises toimes on juhtinud tähelepanu ka teised autorid [2, 12 jt.]. Väärrib märkimist, et meie poolt täheldatud suurem maksa- ja lihaskoe hingamist soodustav toime katehiinidel langeb kokku nende suurema raviefektiga [16], kapillaaride resistentsust tõstva [12], askorbiinhappe salvestumist suurendava [19] ja punalible resistentsust tõstva toimega [18]. See asjaolu lubab teha oletuse, et bioflavonoidide soodustav toime kudede hingamisse on üheks oluliseks faktoriks nende bioloogilises toimemehhanismis.

KIRJANDUS

- Haitzmann R. Der Einfluss von Vitamin P auf die experimentelle Penicillin-Intoxikation, I. Z. ges. exptl. Med., 1956, 127, 4, 369—381.
- Heimann W., Heinrich B. Über das Verhalten von Flavonoiden in Oxydationssystemen. Arch. Pharm., 1960, 293, 65, 598—609.
- Huszák S. Über die Funktion des Peroxydase-Systems der Pflanzen. Z. phys. Chem., 1937a, 247, 239—247.
- Davidovič P. M., Klostermann G. F. Experimentelle Untersuchungen über die renale Arsenausscheidung unter dem Einfluss von Rutin. Arch. Dermatol. und Syphilis, 1954, 199, 1, 10—20.
- Kühnau J. Rutin, ein neuer wasserlöslicher Wirkstoff von Vitamincharakter. Klin. Wochenschr., 1949, 27, 17/18, 294—297.
- Lang K., Weyland H. Über den Stoffwechsel des Rutins und Quercetins. Biochem. Z., 1955, 327, 2, 109—117.
- Lindberg O., Ernster L. Determination of organic phosphorus compounds by phosphate analysis. Methods of biochemical analysis. N. Y., 1956, 3, 1—32.
- Radermacher R. Untersuchungen über die oxydationkatalytische Wirkung des Ascorbinsäure-Flavon Systems. Diss. Mainz, 1958.
- Scarborough H., Bacharach A. Vitamin P. Vitamins and Hormones. N. Y., 1949, 8, 1—32.
- Teras L. Rutiini ja teelehtedest valmistatud katehiinpreparaatide mõjust loomsete kudede hingamisele, I osa. ENSV TA Toimet. Biol. seer., 1962, nr. 1, 41—45.
- Wawra C., Webb J. The isolation of a new oxidation-reduction enzyme from lemon peel (vitamin P). Science, 1942, 96, 302—303.
- Букин В. Н., Ерофеева Н. Н. Сравнительная Р-витаминная активность катехинов чая, дубильных веществ винограда и рутина гречихи. Докл. АН СССР, 1954, 98, 6, 1011—1013.
- Запрометов М. Н. Витамин Р, его свойства и источник получения. Кн.: Современные вопросы советской витаминологии. М., 1955, 48—64.

14. Запрометов М. Н. Чай как сырье для промышленного получения препарата витамина Р. Сб.: Биохимия чайного производства, VIII. М., 1960, 198—203.
15. Мешкова Н. П., Северин С. В. Практикум по биохимии животных. М., 1950, 68.
16. Литвак Р. И., Шкловская Р. Ш. Применение витамина Р из листьев чая при капилляротоксикозе у детей. Сб.: Витаминные ресурсы и их использование, 4. М., 1959, 240—245.
17. Сергеев А. Н. Влияние витамина Р на некоторые биохимические показатели организма. Тр. VIII научн. конференции курсантов и слушателей Военно-Морской Мед. Академии. Л., 1951, 42—46.
18. Сибуль И. К., Кибе П. П. О влиянии витамина Р на осмотическую резистентность красных кровяных шариков. Тезисы докл. научн. конфер. по вопросам питания и эндокринологии. Таллин, 1958, 8—9.
19. Шамрай Е. Ф., Верхатский Н. С., Кузьминская У. А., Никонова В. А., Спидиоти З. И. Химическая и функциональная взаимосвязь витамина С и веществ, обладающих Р-витаминной активностью. Сб.: Витаминные ресурсы и их использование, 4. М., 1959, 30—44.
20. Умбрейт В. В., Буррис Р. Х., Штауффер Дж. Ф. Манометрические методы изучения тканевого обмена. М., 1951, 183.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalse ja Kliinilise Meditsiini Instituut

Saabus toimetusse
19. X 1961

О ДЕЙСТВИИ РУТИНА И ПРЕПАРАТОВ КАТЕХИНОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ ЧАЯ НА ДЫХАНИЕ ЖИВОТНЫХ ТКАНЕЙ

Сообщение II

Л. Терас

Резюме

Исследовалось действие препаратов витамина Р на дыхание тканей *in vivo*. Рутин, препарат витамина Р из листьев чая и очищенный препарат комплекса катехинов для парентерального введения вводились белым крысам подкожно в количестве 25 мг на 1 кг веса ежедневно в течение 21 дня. Поглощение кислорода срезами печени и кусочками диафрагмы определяли манометрическим методом Варбурга, а поглощение неорганического фосфора — по модифицированному методу Фиске-Суббору на 3, 7, 14 и 21-й день опыта и после прекращения введения препаратов на первой, второй и третьей неделе. Контрольной группе в течение указанного срока вводился подкожно физиологический раствор.

Для изучения благоприятного эффекта биофлавоноидов на дыхание тканей проводились также сравнительные исследования влияния биофлавоноидов на поглощение кислорода кусочками диафрагмы с добавлением субстратов дыхания (янтарная кислота, α -кетоглутаровая кислота и цитохром с).

При введении рутина подопытным животным поглощение кислорода тканью печени после первоначального падения его увеличивалось к седьмому дню опыта на 20% по сравнению с контрольной группой. На 14-й день опыта дыхание ткани печени было несколько увеличено. В течение третьей недели введения дыхательные ткани печени в подопытной группе понизились до уровня контроля. На седьмой день после прекращения введения рутина количество поглощаемого срезами печени кислорода у всех исследуемых животных было ниже, чем в контрольной группе. К 14-му и 21-му дню после введения препарата дыхание ткани печени в подопытной и контрольной группах было одинаково. При введении рутина наблюдалось уменьшение количества поглощаемого фосфора: на 7-й и 14-й день опыта отношение Р:О было ниже, чем у контрольной группы.

Под действием препарата витамина Р из листьев чая поглощение кислорода срезами печени увеличивалось уже на третий день опыта на 37%. На седьмой день опыта эффект несколько понижался. На второй и третьей неделе опыта дыхательная способность печени была на уровне контроля, и после прекращения

введения препарата резко снижалась (25% ниже среднего контрольной группы). Далее дыхательная способность печени снова достигла нормальной величины. При введении препарата витамина Р из листьев чая наблюдались и более выраженные сдвиги в обмене фосфора. На 7-й и 14-й день опыта количество поглощаемого фосфора и Р:О были значительно понижены.

При введении очищенного препарата комплекса катехинов белым крысам было отмечено увеличение потребления кислорода на 44% уже на третий день опыта. На 7, 14 и 21-й день опыта и даже после прекращения введения препарата дыхательная способность ткани печени оставалась явно повышенной в течение трех недель. Под действием очищенного препарата катехинов в количестве поглощаемого фосфора наблюдалось более выраженная тенденция к снижению: отношение Р:О было меньше, чем у контрольной группы, на 3, 7 и 21-й день опыта.

Действие рутина и очищенного препарата катехинов на поглощение кислорода мышечной тканью было в основном аналогично влиянию их на дыхание ткани печени. При введении рутина поглощение кислорода кусочками диафрагмы увеличивалось уже на третий день опыта. На седьмой день опыта оно превышало контрольную группу на 30%. Влияние препарата катехинов на мышечную ткань характеризуется быстрым и сильным повышением поглощения кислорода к третьему дню опыта (на 38%). Следует отметить, что увеличение дыхательной способности мышечной ткани под действием катехинов было гораздо менее устойчивым, чем в случае действия их на печень.

Опыты показали, что существует явная связь между изменениями дыхательной способности кусочков диафрагмы при введении препаратов витамина Р и величинами поглощения кислорода, наблюдаемыми при добавлении янтарной кислоты и цитохрома с. На 3-й и 7-й день введения рутина, когда дыхание мышечной ткани было увеличено, отмечалось и повышенное поглощение кислорода при добавлении янтарной кислоты и цитохрома с к опытным пробам. Так, при добавлении янтарной кислоты количество поглощенного кислорода составляло на третий день опыта 8,6 мкл и на седьмой день 7,6 мкл (контроль 6,0 мкл на 1 мг ткани). При добавлении цитохрома с эти величины были соответственно 9,6 мкл и 9,2 мкл (контроль 7,8 мкл). При введении катехинов белым крысам поглощение кислорода, наблюдаемое при добавлении янтарной кислоты, также изменялось параллельно со сдвигами дыхания ткани диафрагмы. На третий день опыта, когда дыхательная способность диафрагмы была повышена на 38%, в пробах с янтарной кислотой увеличивалось и количество поглощенного кислорода — на 7,6 мкл (контроль 6,0 мкл). При уменьшении дыхательной способности диафрагмы к седьмому дню опыта количество поглощенного кислорода в пробах с янтарной кислотой понижалось. На 21-й день опыта поглощение кислорода при добавлении янтарной кислоты увеличивалось вместе с повышением дыхания ткани диафрагмы. При введении катехинов поглощение кислорода в пробах с цитохромом с оставалось неизменным до седьмого дня опыта. Потребление кислорода при добавлении цитохрома с увеличивалось только на 21-й день опыта.

Результаты проведенных опытов позволяют заключить, что введение препаратов витамина Р подопытным животным влияет на окисление янтарной кислоты и цитохрома с, т. е. на нижние этапы окислительного цикла Кребса.

Сопоставление наших результатов с данными литературы дает основание предполагать, что благоприятное действие биофлавоноидов на тканевое дыхание является одним из существенных факторов в механизме действия биофлавоноидов.

*Институт экспериментальной и
клинической медицины
Академии наук Эстонской ССР*

Поступила в редакцию
19. X 1961

THE INFLUENCE OF RUTIN AND CATECHIN PREPARATIONS FROM TEA LEAVES UPON THE RESPIRATION OF ANIMAL TISSUE

(Report II)

L. Teras

Summary

The influence of vitamin P preparations upon the respiration of tissues *in vivo* was studied. Rutin, and preparation of vitamin P extracted from tea leaves and purified preparation of catechins from tea leaves were administered to albino rats subcutaneously in doses of 25 mg per one kg of weight, daily, during a period of 21 days. The respiration of liver slices and of pieces of diaphragm by Warburg manometric method and the amount of absorbed inorganic phosphorus by modified Fiske-Subbarow method were measured on the 3rd, 7th, 14th and 21st day of the experiment and after the end of the administration of preparations in the 1st, 2nd and 3rd week. To the control group 0.9 per cent sodium chloride solution was administered subcutaneously during the same period, daily. The influence of bioflavonoids upon the separate stages of oxidation process was studied by measuring the oxygen consumption of diaphragm tissue in Krebs phosphate solution with and without adding substrates (succinic acid, α -ketoglutaric acid, cytochrome c).

By the administration of rutin, the oxygen consumption of liver tissue, after a decrease as an initial reaction, increased by the 7th day of the experiment by 20 per cent. By the 14th day the respiration of liver was somewhat but not variation-statistically higher than that of the controls. During the 3rd week of administration the respiration of liver tissue of the experimental animals decreased to the level of the control group, and 7 days after the end of the administration of rutin it was lower than the average value of the control group. On the 14th and 21st day after the end of administration the respiration of liver tissue gained the level of the control. By the administration of rutin a decrease in the amount of absorbed phosphorus was observed. In connection with that the ratio P:O was smaller on the 7th and 14th day of the experiment.

Preparation of vitamin P from tea leaves caused an increase of oxygen consumption of liver tissue by 37 per cent already on the 3rd day of the experiment. By the 7th day the effect somewhat diminished. During the 2nd and 3rd week of administration the respiration of liver slices was on the level of the control group, and decreased after the end of administration sharply (oxygen uptake was by 25 per cent lower than in the controls). During further observations the oxygen uptake regained the normal level. Vitamin P preparation from tea leaves also influenced the phosphorus metabolism to a certain extent. On the 7th and 14th day of the experiment the amount of absorbed phosphorus and the ratio P:O considerably decreased.

By the administration of purified catechin preparation to rats a still greater influence on the respiration of liver tissue was observed. The oxygen uptake of liver slices increased already by the 3rd day of administration by 44 per cent. On the 7th, 14th and 21st day of the experiment and even after the end of administration during a period of 3 weeks we found the respiration of liver of the experimental animals significantly increased. In case of purified catechin preparation the amount of phosphorus showed a tendency of decreasing during the whole period of the experiment. In connection with that, the ratio P:O was considerably smaller on the 3rd, 7th and 21st day of the experiment.

The influence of rutin and purified catechin preparation on muscle tissue was in general analogous to that observed in liver slices. By the injection of rutin the O_2 uptake of diaphragm tissue increased already on the 3rd day of the experiment, by the 7th day of administration the respiration of muscle tissue increased by 30 per cent. The administration of catechins gave a strong and rapid increase in the oxygen uptake of diaphragm tissue by the 3rd day (by 38 per cent). The influence of catechin preparation upon the muscle tissue, in comparison with that on the liver, was rather unstable.

The results of the experiments show that there is an obvious connection between the changes of respiration of diaphragm tissue by the administration of vitamin P preparations and the values of oxygen consumption by the addition of succinate and cytochrome c. On the 3rd and 7th day of the administration of rutin, when the respiration of muscle tissue had increased, we found the oxygen uptake by the addition of succinate and cytochrome c also considerably increased. So the oxygen consumption by the addition of succinate was on the 3rd day of the experiment

8.6 μ l and on the 7th day 7.6 μ l (control 6.0 μ l per 1 mg of tissue); with cytochrome c the corresponding values were 9.6 μ l and 9.2 μ l (control 7.8 μ l). By the administration of catechins to albino rats the oxygen consumption by using succinate also changed parallel with the changes of respiration of diaphragm tissue. On the 3rd day of the experiment when the respiration of diaphragm tissue had increased by 38 per cent, the oxygen uptake by the addition of succinate also increased to 7.6 μ l (control 6.0 μ l). By the diminishing of the respiration of diaphragm tissue by the 7th day of the experiment the rate of oxidation of succinate decreased too. On the 21st day of the experiment the oxygen uptake by using succinate as a substrate increased with the increase of the respiration of diaphragm tissue. In case of catechins the oxygen consumption by the addition of cytochrome c did not change till the 7th day of the experiment. The oxygen uptake in case of using cytochrome c increased significantly only by the 21st day of the experiment.

It may be concluded from the results of the experiments that the administration of preparations of vitamin P to the experimental animals had an influence on the activity of oxidation of succinate and cytochrome c.

Comparing our results with the data in relevant literature it could be presumed that the beneficial effect of bioflavonoids upon the respiration of tissues is one of the important factors in their mechanism of action on the resistance and permeability of membranes.

*Academy of Sciences of the Estonian S.S.R.,
Institute of Experimental and Clinical Medicine*

Received
Oct. 19th, 1961