

Zakład Fizjologii Człowieka. Instytut Patologii Klinicznej. Wydział Lekarski.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Wiesław Hołobut

Stanisław Zbigniew ŁOZOWSKI, Irena URBAN

Zmiany poziomu glukozy i wolnych kwasów tłuszczowych we krwi szczurów wywołane przez ACTH

Изменения концентрации глюкозы и свободных жирных кислот в крови крыс,
вызванные ACTH

Changes in Blood Glucose and Free Fatty Acid Levels Evoked by ACTH in Rats

Dotychczasowe badania wykazały, że ACTH wpływa na metabolizm węglowodanów i tłuszczów zmieniając poziom glukozy i wolnych kwasów tłuszczowych (FFA) we krwi ludzi (5, 14) i zwierząt (2, 16). Znane jest lipolityczne działanie ACTH na tkankę tłuszczową prowadzące do wzrostu stężenia FFA w osoczu (9, 12). Istnieją natomiast w literaturze sprzeczne dane na temat wpływu ACTH na poziom glukozy we krwi. Wielu autorów obserwowało hiperglikemię pod wpływem tego hormonu (2, 5, 24), ale niektórzy wykazali efekt odwrotny — hipoglikemię (1, 9) lub nawet zupełny brak zmian (22). Istnieją również doniesienia o dwufazowym działaniu ACTH na metabolizm węglowodanowy, w którym hipoglikemię poprzedzała hiperglikemia (14). Ponieważ różny efekt metaboliczny ACTH może zależeć od czasu jego działania, wydało się interesujące zbadanie we krwi poziomu glukozy i jednocześnie FFA w różnych okresach od chwili podania tego hormonu.

METODYKA BADAŃ

Doświadczenia wykonano na 44 szczurach samcach rasy Wistar o ciężarze 280—350 g. Badanym zwierzętom podawano ACTH o przedłużonym działaniu (ACTH prolongatum) domięśniowo w jednorazowej dawce 6 mg/100 g ciężaru ciała. Zwierzęta karmiono paszą standaryzowaną z dodatkiem pokarmów soczystych. Doświadczenia wykonywano po 24 godz. od ostatniego karmienia zawsze o tej samej porze.

Krew do badania na zawartość glukozy i FFA uzyskiwano w czasie zabijania zwierząt w lekkiej narkozie eterowej przez dekapitację. Stężenia glukozy oznaczano metodą Hardinga w świeżej krwi heparynizowanej, natomiast poziom FFA mierzono w osoczu sposobem Dole'a w modyfikacji Fronta (8, 10). Oznaczenia te wykonywano w czterech różnych odstępach czasu — po 1, 8, 16 i 24 godz. od chwili podania ACTH. Liczba zwierząt w czterech badanych seriach doświadczeń wynosiła odpowiednio 9, 8 i 7 sztuk. Grupę kontrolną stanowiło 14 szczurów, którym podawano domięśniowo płyn fizjologiczny.

Otrzymane wyniki opracowano statystycznie, charakteryzując je wartościami mediany i odchylenia ćwiartkowego. Istotność różnic określano na podstawie testu R-Wilcozona złożonych rang, przyjmując za granicę istotności $P=0,05$.

WYNIKI BADAŃ

Wyniki badań nad wpływem ACTH na stężenie glukozy i FFA we krwi szczurów przedstawia tab. 1.

Tab. 1. Zmiany poziomu glukozy i FFA we krwi szczurów pod wpływem ACTH prolongatum w dawce 6 mg/100 g ciężaru ciała w różnych okresach doświadczenia
Changes in glucose and FFA in blood of rats evoked by ACTH prolongatum in a dose of 6 mg/100 g of body weight in different periods of experiment

	Kontrola	Grupy doświadczalne			
		1 godz.	8 godz.	16 godz.	24 godz.
Glukoza mg%	Me ±Q	Me ±Q	Me ±Q	Me ±Q	Me ±Q
	76,0 ±10,3	73,0 ±10,3	71,0 ±7,7	128,0 ±13,0	84,0 ±1,7
	zakres 51,0—102,0	zakres 56,0—129,0 P>0,1	zakres 66,0—105,0 P>0,05	zakres 112,0—146,0 P<0,001	zakres 73,5—91,0 P>0,05
FFA μEq/l	Me ±Q	Me ±Q	Me ±Q	Me ±Q	Me ±Q
	875,0 ±106,0	858,0 ±84,0	748,0 ±78,0	1040,0 ±120,0	770,0 ±154,0
	zakres 750,0—996,0	zakres 830,0—1162,0 P>0,1	zakres 500,0—1000,0 P>0,05	zakres 848,0—1244,0 P<0,05	zakres 616,0—1078,0 P>0,05
n	14	9	8	7	7

Me — mediana, Q — odchylenie ćwiartkowe, P — istotność różnic, n — liczebność.

Me — mediane, Q — quarter deviation, P — probability, n — number of animals.

G l u k o z a

Średni poziom glukozy we krwi szczurów grupy kontrolnej wynosił 76 mg%. Po 1 i 8 godz. działania ACTH poziom glukozy odpowiednio wynosił 73 mg% i 71mg%. Zmiany te jednak były nieistotne statystycznie. Natomiast po 16 godz. następował istotny statystycznie ($P<0,001$) wzrost poziomu glukozy do 128 mg% czyli o 68% w porównaniu z grupą kontrolną. Po 24 godz. stężenie glukozy wynosiło 84 mg% i nie różniło się w sposób istotny od wartości w grupie kontrolnej ($P>0,05$).

W o l n e k w a s y t ł u s z c z o w e

Średni poziom FFA w osoczu szczurów grupy kontrolnej wynosił 875 μEq/l, natomiast pod wpływem ACTH stężenie tych substancji ulegało zmianie zależnie od czasu działania tego hormonu. Po 1 i 8 godz. następowało nieistotne statystycznie obniżenie stężenia FFA odpowiednio do 858 μEq/l i 748 μEq/l. Po 16 godz. obserwowano nieduży, ale statystycznie istotny ($P<0,05$) wzrost poziomu FFA do wartości 1040 μEq/l czyli o 20% w porównaniu z grupą kontrolną. Po 24 godz. stężenie FFA wynosiło 770 μEq/l i nie różniło się w sposób znamieny od wartości kontrolnej ($P>0,05$).

Wywołane przez ACTH zmiany w stężeniu glukozy i FFA we krwi szczurów miały podobny przebieg dla obu substancji, a charakter tych

zmian zależał od czasu działania tego hormonu. Następowoło nieznaczne obniżenie poziomu badanych substancji po 1 i 8 godz. oraz wyraźny wzrost po 16 godz. działania ACTH. W stosunku do wartości kontrolnych wzrost stężenia glukozy wynosił 68%, a FFA — 20%. Po 24 godz. stężenie zarówno glukozy we krwi, jak i FFA w osoczu powracało do wartości wyjściowych.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Stwierdzona w obecnych badaniach hiperglikemia pod wpływem domięśniowego podania ACTH w jednorazowej dawce u szczurów była również obserwowana u innych gatunków zwierząt (2, 14, 24). Wzrost stężenia FFA w osoczu pod wpływem ACTH był też stwierdzany w pracach innych autorów (9, 15).

Wpływ ACTH na metabolizm węglowodanowo-tłuszczowy odbywa się głównie za pośrednictwem glikokortykoidów, jednak efekt ten może być również wynikiem bezpośredniego działania ACTH (4, 23, 26). Mechanizm hiperglikemicznego działania glikokortykoidów polega przede wszystkim na stymulowaniu glikoneogenezy oraz zmniejszaniu utylizacji glukozy przez komórki (2, 13, 24). Wzrost glukozy we krwi może zachodzić również w wyniku glikogenolizy, gdyż ACTH przyspiesza enzymatyczną fosforylację cukrów przez stymulowanie wytwarzania cyklicznego AMP (3'5'-AMP) i uaktywnienie fosforylasy, która bierze udział w glikogenolizie (11, 13). Ponadto Hilf oraz Hutny (11, 13) wyrażają pogląd, że ACTH może powodować przecukrzenie krwi na drodze hamowania syntezy glikogenu.

Hiperglikemiczny efekt ACTH występował w badaniach innych autorów wcześniej, bo nawet po jednej godzinie działania tego hormonu, i to zarówno u ludzi (5), jak i u zwierząt (14). Wystąpienie w naszych badaniach odczynu hiperglikemicznego dopiero po 16 godz. należy przypisać prawdopodobnie powolnemu wchłanianiu ACTH prolongatum.

Wzrost stężenia FFA w osoczu jest wynikiem lipolitycznego działania ACTH. Nie zawsze jednak temu działaniu towarzyszy zwiększenie stężenia FFA w osoczu (18). Wielkość efektu lipolitycznego ACTH zależy od gatunku zwierzęcia i od rodzaju tkanki tłuszczowej. Stwierdzono bowiem, że występująca u szczurów brązowa tkanka tłuszczowa jest bardziej oporna na działanie ACTH aniżeli tkanka tłuszczowa jasna (8, 17). Stymulowanej przez ACTH lipolizie towarzyszy zawsze aktywna restryfikacja kwasów tłuszczowych (3, 4, 6), nasilenie procesów energetycznych oraz zwiększone zużycie tlenu (2, 16, 21).

Działanie ACTH na procesy metaboliczne może mieć charakter dwufazowy (2, 16). K o s t a r z po fazie hiperglikemicznej otrzymał przedłużony

odczyn hipoglikemiczny i uważa, że taka dwufazowa reakcja jest typowa dla bezpośredniego działania ACTH (14). Stwierdzono natomiast, że kortyzon i hydrokortyzon powodują zawsze jednofazowy efekt z długotrwałą i opóźnioną hiperglikemią (19, 25). W okresie naszych dobowych obserwacji stwierdzono tylko odczyn hiperglikemiczny, co potwierdzałoby opinię większości autorów o działaniu ACTH za pośrednictwem hormonów kory nadnerczy (2, 5, 24). Należy też przypuszczać, że obserwowany hiperglikemiczny efekt ACTH był wywołany przede wszystkim wzmożeniem glikoneogenezy, chociaż nie można też wykluczyć występowania glikogenolizy lub nawet hamowania syntezy glikogenu.

Wyniki naszych badań wskazują na silniejsze działanie ACTH na metabolizm węglowodanowy aniżeli na tłuszczowy. Świadczy o tym względnie niższy wzrost poziomu FFA w porównaniu z dużym wzrostem glukozy. Może to być powodowane gatunkową opornością tkanki tłuszczowej szczurów na lipolityczne działanie ACTH oraz przebiegającą obok lipolizy żywą restryfikacją kwasów tłuszczowych. Przebiegające jednak niemal równoległe zmiany w stężeniu glukozy i FFA we krwi szczurów wskazują na to, że ACTH wywiera jednocześnie działanie mobilizujące obie te substancje, co wydaje się potwierdzać czynnościowe powiązanie metabolizmu cukrowego i tłuszczowego (2, 4, 17, 20).

Wnioski

1. ACTH prolongatum powodował wzrost stężenia glukozy i FFA we krwi szczurów po 16 godz. od chwili podania domięśniowo w jednorazowej dawce 6 mg/100 g ciężaru ciała zwierzęcia; po 1 i po 8 godz. zmiany były statystycznie nieistotne.
2. Wywołany wzrost stężenia glukozy wynosił 68%, a FFA — 20%.
3. Obserwowane zmiany powracały do poziomu wyjściowego po 24 godz.
4. Otrzymane wyniki świadczą o silniejszym działaniu ACTH na metabolizm węglowodanów niż tłuszczów.

PIŚMIENNICTWO

1. Astwood E. B.: *The Hormones* 3, 235—245, 1955.
2. Ball E. G., Jungas R. L.: *Proc. N.A.S. (USA)*, 47, 932—941, 1961.
3. Bally P. R., Koppler H., Froesch E. R., Labhart A.: *Ann. N. Y. Acad. Sci* 131, 143—150, 1965.
4. Cahill G. F. Jr, Lebeouf B., Renold A. E.: *J. Biol. Chem.* 324, 2541—2552, 1959.
5. Charwat J.: *Endokr. Pol.* 2, 153—164, 1951.
6. Dawidson T. W. R., Salter K. M., Best C. H., *Am. Clin. J. Nutrition* 8, 540—558, 1960.

7. Dole W. P.: J. Biol. Chem. **253**, 2595—2610, 1960.
8. Dorigo P., Maragno I., Fossina G.: Bioch. Farmac. **20**, 1201—1211, 1971.
9. Engel F. L., White I. R. Jr: Am. J. Clin. Nutrition **8**, 691—705, 1960.
10. Front D., and coll.: J. Lipid. Res., **1**, 199—210, 1960.
11. Hilf R.: New Engl. J. Med. **273**, 798—812, 1965.
12. Hellenberg C. H., Roben M. S., Astwood E. B.: Endocrinology **68**, 589—600, 1961.
13. Hutny J.: Postępy Biochem., **16**, 441—459, 1970.
14. Kostarz T.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, Sec. DD, **7**, 122—132, 1962.
15. Lebeouf B., Cahill G. F. Jr: J. Biol. Chem., **236**, 41—49, 1961.
16. Łozowski S. Z., Urban I.: Streszczenie Wykładów i Komunikatów XIII Zjazdu PTF. Gdańsk 1975, s. 217.
17. Napolitano L., McNavay J. E., Kloep L. P.: Metabolism **14**, 1076—1085, 1965.
18. Palković M., Macho L.: Canad. J. Biochem. **50**, 235—240, 1972.
19. Pol L., Sasa W., Paul E.: Probl. Zoot. si Veter. **12**, 49—56, 1957.
20. Randle J. P., Hales C. N., Garland P. B., Newsholme E. A.: Lancet **1**, 785—793, 1963.
21. Rizack M.: J. Biol. Chem. **236**, 657—641, 1961.
22. Shull K. H., Mayer J.: Endocrinol. **58**, 1—6, 1956.
23. Strand F. L., Stoboy H., Cayer A.: Neuroendocrinology **13**, 1—20, 1973/74.
24. Vaughan M.: J. Biol. Chem. **235**, 3049—3060, 1960.
25. West H. M.: Diabetes **8**, 22—30, 1959.
26. Zieleniewski J.: Endokr. pol. **19**, 357—368, 1968.

Otrzymano 3 V 1976.

РЕЗЮМЕ

Влияние АСТН на углеводный и жирный метаболизм исследовали в зависимости от времени его действия, определяя концентрацию глюкозы и свободных жирных кислот (СЖК) в крови.

Опыты вели на самцах крыс Вистар (280—350 г.). Животных кормили стандартной пищей, а затем за 24 часа до эксперимента крыс лишали пищи, оставляя лишь воду *ad libitum*. АСТН *prolongatum* вводили однократно внутримышечно в дозе 6 мг/100 г веса тела животных. Контрольные животные получали кроме того физиологический раствор. Артериальновенозную кровь брали при декапитации животных. Уровень глюкозы в крови измеряли при помощи метода Хардинга, а СЖК в плазме крови методом Dole'a. Измерения проводились через 1, 8, 16 и 24 часа после введения АСТН. Установлено, что АСТН статистически-существенно не изменяет уровня глюкозы и СЖК в крови животных как через 1, так и через 8 часов опыта. Зато у животных, находящихся под действием АСТН в течение 16 часов, наблюдалось существенное повышение уровня глюкозы — на 68%, а СЖК лишь на 20. После 24 часов статистически значимых изменений уровня глюкозы и СЖК в крови крыс не констатировали.

Предполагается, что обнаруженное значительное повышение уровня глюкозы, а небольшое СЖК в крови крыс является результатом более сильного стимулирующего действия АСТН на метаболизм углеводов, чем жиров.

SUMMARY

The influence of ACTH on the carbohydrate and lipid metabolism depending on the duration of this hormone action was studied by testing the blood glucose and plasma free fatty acids (FFA) concentration. The investigations were carried out on Wistar male rats, weighing 280—350 g, fed with a standard fodder for rats and then fasted for 24 hours before experiment. ACTH prolongatum was injected intramuscularly in a dose of 6 mg/100 g of body weight. The control animals were injected with a physiological solution. The arterial — venous blood was sampled for biochemical testings from decapitated animals at 1, 8, 16 and 24 hours of the experiment. The blood glucose level was determined by Harding's method and for the titration of plasma FFA Dole's method was used.

It was found that the blood glucose and FFA levels were not significantly changed when the action of ACTH lasted 1 and 8 hours. A significant increase of blood glucose (68%) and plasma FFA (20%) occurred in animals examined 16 hours after the ACTH injection. After 24 hours the changes in concentration of blood glucose and plasma FFA in rats were not statistically significant.

It was supposed that the high increase of blood glucose and low increase of plasma FFA levels in rats resulted from the more stimulating effect of ACTH on carbohydrate than on the lipid metabolism.