

Z Katedry i Zakładu Farmakologii Doświadczalnej Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej
w Lublinie

Kierownik: doc. dr med. i dr farm. Józef Jeske

Tadeusz RADOMAŃSKI, Iwona ŻEBROWSKA,
Urszula WNUK, Halina SZURSKA,
Bogusława MICHAŁSKA

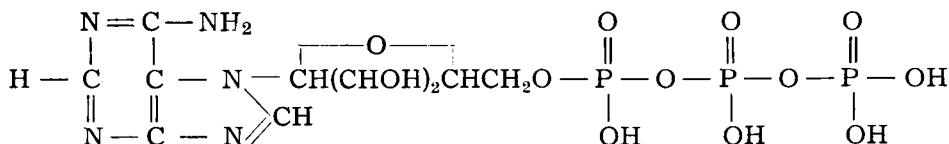
Wpływ kwasu adenozynotrójfosforowego na gospodarkę węglowodanową u zwierząt hipoglikemicznych

Влияние аденозинтрифосфорной кислоты на обмен углеводов
у гипогликемических животных

The Influence of Adenosinetriphosphoric Acid on the Carbohydrate Metabolism in Hypoglycaemic Animals

Badania nad pochodnymi cukrowofosforowymi zapoczątkowali w r. 1929 Drury i Szent-Gyorgy, ogłaszając pracę o oddziaływaniu adenozyiny i kwasu adenozynofosforowego na serce i krwiobieg. Wieloletnie badania dowiodły, że najsilniejszą farmakodynamicznie czynną substancją otrzymaną z wyciągów tkankowych jest kwas adenozynotrójfosforowy (ATP), dawniej zwany kwasem adenozynopyrofosforowym lub kofosforylaza.

ATP jest nukleotydem budującym normalne jądro komórkowe. Stanowi połączenie podstawy purynowej 1-adeniny, rybozy i 3 cząsteczek kwasu fosforowego (2). Kwas adenozynotrójfosforowy obniża napięcie mięśni gładkich naczyń, oskrzeli i jelit (2, 3). Dzięki rozszerzeniu naczyń krwionośnych reguluje odżywianie narządów pracujących (4).



Główną rolę w organizmie spełnia ATP jako dawca energii potrzebnej w przemianie węglowodanowej. Kwas adenozynotrójfosforowy bierze udział w procesach rozpadu glikogenu oraz w przemianach glikozy i to zarówno w fazie beztlenowej (glikolizie), jak i tlenowej (cyklu Krebsa) (5). Należy podkreślić, że glikoza jest nieczynna, zanim nie ulegnie procesowi fosforylacji, który czyni ją wrażliwą na dzia-

łanie odpowiednich enzymów. Reakcja fosforylacji katalizowana jest przez enzym zwany heksokinazą lub fosforylazą. Enzym ten w obecności jonów magnezu przenosi łatwo odszczepialną grupę fosforanową z ATP na glikozę. Działanie heksokinazy jest regulowane hormonalnie — wyciąg z kory nadnerczy hamuje, natomiast insulina pobudza heksokinazę. Wpływ insuliny na czynność heksokinazy ułatwia zatem wykorzystanie glikozy przez ustrój, co obniża jej poziom we krwi. Wyciąg z kory nadnerczy, hamując działanie heksokinazy, utrudnia wykorzystanie glikozy przez tkanki, sprzyja więc utrzymywaniu się podwyższonego poziomu glikozy we krwi. We wszystkich procesach przemiany węglowodanowej bezpośrednio związanych z poziomem wolnej glikozy bierze aktywny udział kwas adenozyotrójfosforowy (1).

BADANIA WŁASNE

Celem pracy było stwierdzenie czy i w jakiej mierze podawanie ATP wpłynie na poziom cukru we krwi zwierząt doświadczalnych oraz określenie ewentualnej współzależności działania tego związku i insuliny. Doświadczenia wykonywaliśmy na królikach. Do badań używaliśmy kwasu adenozyotrójfosforowego w postaci wodnego roztworu preparatu MYOTRIPHOS produkcji Tarchomińskich Zakładów Farmaceutycznych (seria 124, amp. 2 ml à 20 mg ATP oraz seria 158, amp. 2 ml à 15 mg ATP) i insulinę krystaliczną również produkcji Tarchomińskich Zakładów Farmaceutycznych. Poziom cukru we krwi królików oznaczono metodą Hagedorna w modyfikacji Jensena.

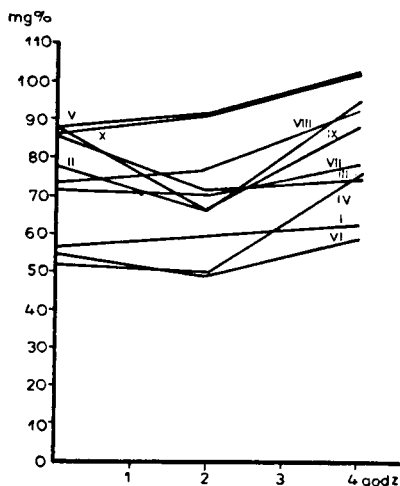
Na podstawie tych badań określono:

1. Zachowanie się krzywej cukrowej po domięśniowym jednorazowym podaniu MYOTRIPHOS.
2. Zachowanie się krzywej cukrowej po 7-dniowym domięśniowym podawaniu MYOTRIPHOS.
3. Wpływ dożylnego podawania MYOTRIPHOS na poziom cukru we krwi królików.
4. Wpływ równoczesnego podawania MYOTRIPHOS i insuliny na przebieg krzywej cukrowej u królików.
5. Wpływ dożylnych iniekcji MYOTRIPHOS na zachowanie się krzywej cukrowej u zwierząt z hipoglikemią spowodowaną uprzednim podaniem insuliny.

Zachowanie się krzywej cukrowej po domięśniowym jednorazowym podaniu MYOTRIPHOS

Badania przeprowadzono na 10 królikach wagi 2 000—2 500 g. Po 18-godzinnym głodzeniu u wszystkich królików oznaczono we krwi poziom cukru, który wahał się w granicach od 52 do 88 mg/‰. Następnie wszystkim królikom wstrzyknięto MYOTRIPHOS w ilości 3 mg/kg, po czym oznaczano poziom cukru we krwi w dwie i cztery godziny po

podaniu. U sześciu królików poziom cukru pozostał bez zmian (nieznaczne różnice były w granicach odchylenia poziomu), u czterech królików poziom cukru nieco wzrastał wykazując maksimum po czterech godzinach. Otrzymane wyniki upoważniają do stwierdzenia, że MYOTRIPHOS podany domięśniowo nie wpływa na poziom cukru we krwi królików.

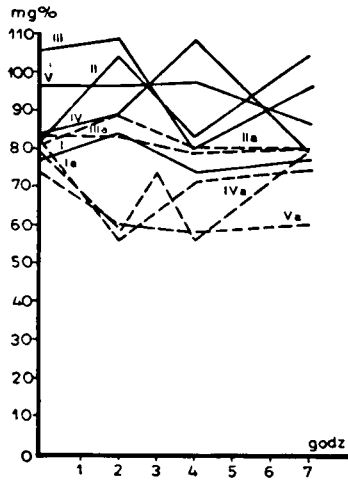


Ryc. 1. Poziom cukru we krwi królików nr I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X po jednorazowym domięśniowym podaniu MYOTRIPHOS.

Zachowanie się krzywej cukrowej po siedmiodniowym domięśniowym podawaniu MYOTRIPHOS

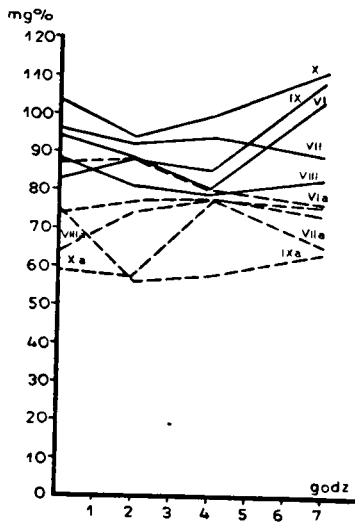
Do badań użyto 10 królików wagi 2 000—2 500 g. Przed przystąpieniem do podawania ATP u wszystkich królików po 18-godzinnym głodzeniu oznaczono poziom cukru, pobierając krew do badania czterokrotnie w ciągu dnia. Przez 7 kolejnych dni podawano zwierzętom MYOTRIPHOS w iniekcjach domięśniowych w ilości 3 mg na kilogram. W ciągu tego czasu króliki były karmione normalnie (100 g owsa, 200 g zielonej paszy i siana). Następnego dnia po ostatnim podawaniu preparatu pobierano krew do badania, również po 18-godzinnym głodzeniu, czterokrotnie w ciągu dnia.

Porównując otrzymane wyniki, przedstawione na ryc. 2 i 3 zaobserwowano, że MYOTRIPHOS podawany królikom w ciągu 7 dni spowodował nieznaczne tylko obniżenie poziomu cukru we krwi od 10 do 30 mg⁰/o.



Ryc. 2

- poziom cukru we krwi królików nr I, II, III, IV, V przed podawaniem MYOTRIPHOS,
 - - - - - poziom cukru we krwi królików nr I, II, III, IV, V, po siedmiodniowym domięśniowym podawaniu MYOTRIPHOS 3 mg kg.

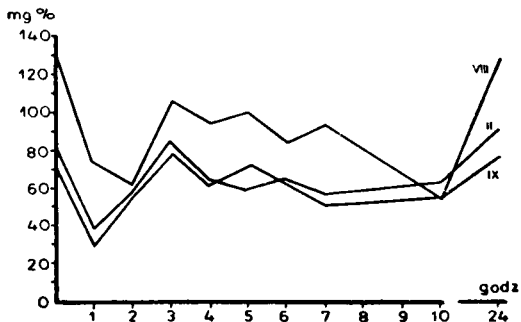


Ryc. 3.

- poziom cukru we krwi królików nr VI, VII, VIII, IX, X przed podawaniem MYOTRIPHOS,
 - - - - - poziom cukru we krwi królików nr VI, VII, VIII, IX, X po siedmiodniowym domięśniowym podawaniu MYOTRIPHOS.

*Wpływ dożylnego podawania MYOTRIPHOS na poziom cukru
we krwi królików*

Do badań wzięto 3 króliki wagi 2 000 g. Przed rozpoczęciem badań króliki były głodzone przez 18 godzin. Po oznaczeniu poziomu cukru na czczo zwierzętom podawano MYOTRIPHOS dożylnie w ilości 1 mg/kg. Następnie pobierano krew do badania w odstępach 1-godzinnych w ciągu 7 godzin, oraz w 10 godzin po podawaniu. Stwierdzono, że maksymalna obniżka poziomu cukru występuje po 1—2 godzinach od chwili podania MYOTRIPHOS i wynosi średnio 40 mg⁰/₀, w około 3 godziny, poziom cukru znacznie wzrastał osiągając u 2 królików poziom wyjściowy, a w ciągu następnych 7 godzin stopniowo obniżał się, ulegając w międzyczasie wahaniom. Po 10 godzinach od chwili podania poziom cukru był niższy o około 20 mg⁰/₀. Po upływie 24 godzin od chwili podania zawartość cukru we krwi królików równa była wartości wyjściowej.



Ryc. 4. Poziom cukru we krwi królików nr II, VIII i IX po jednorazowym dożylnym podaniu MYOTRIPHOS 1 mg/kg.

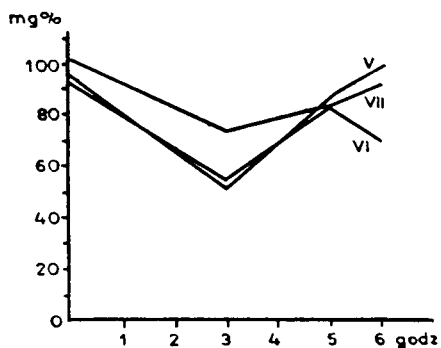
*Wpływ równoczesnego podania MYOTRIPHOS i insuliny
na przebieg krzywej cukrowej u królików*

Doświadczenia przeprowadzono na 6 królikach wagi około 2 000 g. Po 18-godzinym głodzeniu od królików pobrano krew do badania. Następnie podzielono króliki na 2 grupy.

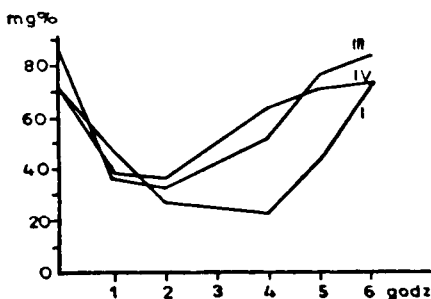
Grupa I.: Trzy króliki otrzymały insulinę podskórną w dawce 0,5 j/kg oraz MYOTRIPHOS dożylnie w ilości 1 mg/kg.

Grupa II.: Trzem królikom wstrzyknięto samą insulinę w dawce 0,5 j/kg. W dalszym ciągu badań pobierano krew u królików I grupy po 1, 2, 3, 4, 5 i 6 godzinach od chwili podania leków, królikom grupy II po 3, 5 i 7 godzinach. W przebiegu doświadczenia u jednego z królików grupy I po 4 godzinach od podania leków wystąpiły drgawki kloniczno-toniczne, wzmożone napięcie mięśniowe a następnie osłabienie. Atak drgawek trwał około 5 minut, po czym ustąpił samoistnie. Zaznaczamy,

iż króliki te otrzymywały uprzednio insulinę w dawce 0,5 j/kg i u żadnego z nich drgawek nie zaobserwowano. U królików grupy II drgawki nie wystąpiły. Z analizy otrzymanych krzywych cukrowych wynikało, że maksymalny spadek poziomu cukru u królików I grupy zaznacza się w czasie 2 do 4 godzin od chwili podania substancji, a następnie stopniowo podnosi się, aby po upływie 6 do 7 godzin powrócić do normy wyjściowej. Krzywa cukrowa u królików grupy II wykazywała spadek po



Ryc. 5. Poziom cukru we krwi królików nr V, VI i VII po podaniu insuliny 0,5 j/kg podskórnice.

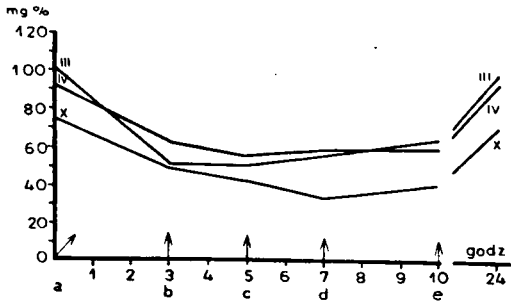


Ryc. 6. Poziom cukru we krwi królików nr I, III i IV po podaniu MYOTRIPHOS dożylnie 1 mg/kg oraz insuliny podskórnice 0,5 j/kg.

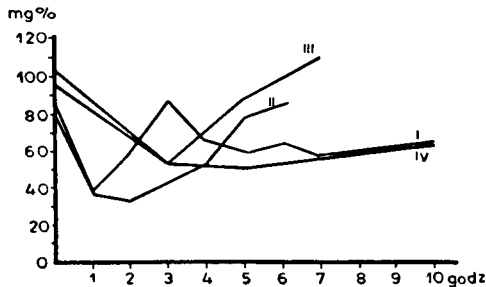
3 godzinach, powrót do normy — po 5 godzinach i wreszcie poziom wyższy od wyjściowego po 7 godz. Porównanie obu krzywych wykazywało, że po równoczesnym podaniu MYOTRIPHOS i insuliny obniżka poziomu cukru wynosiła w przybliżeniu tyle, ile po podaniu samej insuliny (około 40 mg), lecz poziom ten utrzymywał się dłużej niż po podaniu samej insuliny.

Wpływ dożylnych iniekcji MYOTRIPHOS na zachowanie się krzywej cukrowej u zwierząt w okresie stanu hipoglikemicznego spowodowanego uprzednim podaniem insuliny

Do badań użyto 3 króliki wagi około 2 000 g. Królikom głodzonym przez 18 godzin pobrano krew do badania, po czym każdy z nich otrzymał insulinę w iniekcji podskórnej w dawce 0,5 j/kg. W 2 godziny po podaniu insuliny królikom wstrzyknięto dożylnie MYOTRIPHOS w dawce 1 mg/kg. Następnie pobierano krew do badania w 2-godzinnych odstępach czasu. Ostatnie pobranie krwi wykonano po 10 oraz 24 godzi-

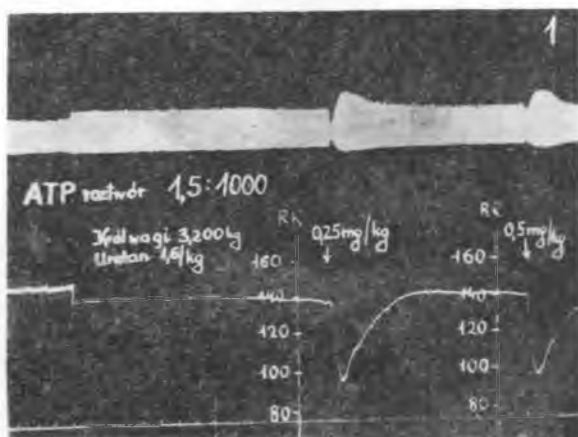


Ryc. 7. Poziom cukru we krwi królików nr III, IV i X po podaniu 0,5 j/kg insuliny podskórnie oraz MYOTRIPHOS 1 mg/kg z opóźnieniem dwugodzinnym; a — poziom cukru we krwi królików na czczo, b — poziom cukru we krwi królików w 3 godziny po podaniu insuliny i w 1 godzinę po podaniu MYOTRIPHOS, c — poziom cukru we krwi królików w 5 godzin po podaniu insuliny i w 3 godziny po podaniu MYOTRIPHOS, d — poziom cukru we krwi królików w 7 godzin po podaniu insuliny i w 5 godzin po podaniu MYOTRIPHOS, e — poziom cukru we krwi królików w 10 godzin po podaniu insuliny i w 8 godzin po podaniu MYOTRIPHOS.

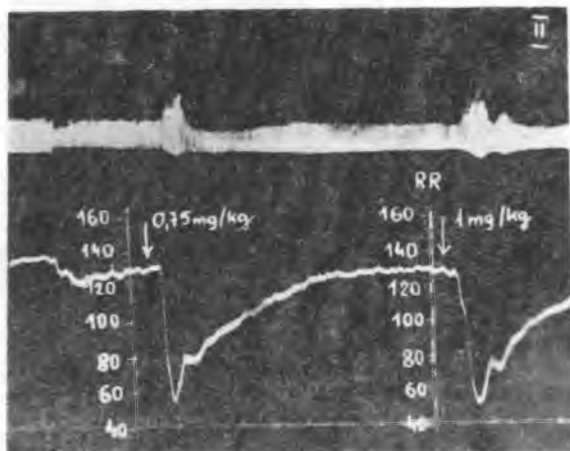


Ryc. 8. Królik nr I — po dożylnych iniekcji MYOTRIPHOS 1 mg/kg, Królik nr II — po dożylnym podaniu MYOTRIPHOS 1 mg/kg oraz insuliny podskórnie 0,5 j/kg, Królik nr III — po podskórnym podaniu insuliny 0,5 j/kg, Królik nr IV — po podskórnym podaniu insuliny 0,5 j/kg oraz MYOTRIPHOS dożylnie 1 mg/kg z dwugodzinnym opóźnieniem.

nach od chwili podania insuliny. Analiza krzywych cukrowych wykazała maksymalną obniżkę poziomu cukru po 5 godzinach od podania insuliny i po 7 godzinach od podania MYOTRIPHOS. Następnie krzywe cukrowe wznoszą się powoli, lecz po upływie 10 godzin jeszcze nie wykazywały powrotu do poziomu wyjściowego, utrzymując się na poziomie niższym o około 40 mg/0/0 od normy. Po 24 godz. poziom cukru powrócił do poziomu wyjściowego.



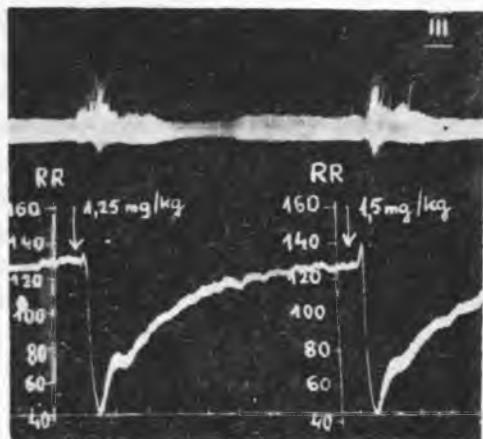
Ryc. 9. Krzywa górna przedstawia zapis oddechu. Krzywa dolna przedstawia zapis ciśnienia w tętnicy szyjnej lewej. Prosta dolna przedstawia zapis czasu co 20 sekund.



Ryc. 10. Krzywa górna przedstawia zapis oddechu. Krzywa dolna przedstawia zapis ciśnienia w tętnicy szyjnej lewej. Prosta dolna przedstawia zapis czasu co 20 sekund.

Porównanie poziomów cukru we krwi królików po podaniu MYOTRIPHOS, insuliny oraz MYOTRIPHOS łącznie z insuliną (ryc. 8).

Dodatkowo w celu stwierdzenia zachowania się ciśnienia krwi i oddechu u zwierząt doświadczalnych pod wpływem MYOTRIPHOS wykonano badania w doświadczeniach krwawych na kotach notując wyniki na taśmach kimografu. Do doświadczeń krwawych użyto roztworu



Ryc. 11. Krzywa górna przedstawia zapis oddechu. Krzywa dolna przedstawia zapis ciśnienia w tętnicy szyjnej lewej. Prosta dolna przedstawia zapis czasu co 20 sekund.

MYOTRIPHOS 1,5 : 1000. Zwierzętom wstrzykiwano dożylnie od 0,25 do 1,50 mg/kg MYOTRIPHOS we wzrastających dawkach. Otrzymane kimogramy wykazywały po upływie około 10 sekund od chwili podawania leku nagłe obniżenie ciśnienia krwi oraz przyspieszenie i wzrost amplitudy oddechów. Po około 5 minutach nastąpił powrót ciśnienia i oddechu do normy. Ryc. 9, 10, 11.

WNIOSKI

Na podstawie otrzymanych wyników z przeprowadzonych doświadczeń można przyjąć, że:

1. Jednorazowe domięśniowe podawanie MYOTRIPHOS w dawce 3 mg/kg nie wpływa wyraźnie na poziom cukru we krwi zwierząt doświadczalnych.

2. Przewlekłe domięśniowe podawanie MYOTRIPHOS w dawce 3 mg/kg powodowało obniżenie poziomu cukru we krwi królików w granicach od 10 do 30 mg⁰/₁₀₀ w porównaniu z poziomem cukru w próbach wykonywanych na czczo.

3. Dożylnie wprowadzanie MYOTRIPHOS w dawce 1 mg/kg powodowało obniżkę poziomu cukru we krwi królików po 1 do 2 godzinach o około 40 mg^{0/0}, po 3 godzinach poziom cukru osiągał wartość wyjściową, po czym stopniowo w ciągu dalszych 7 godzin obniżał się średnio o 20 mg^{0/0}. Po 24 godzinach stwierdzono powrót poziomu cukru we krwi do normy.

4. Równoczesne podawanie dożylnie MYOTRIPHOS w dawce 1 mg/kg i podskórne insuliny w dawce 0,5 j./kg powodowało obniżenie poziomu cukru we krwi zwierząt doświadczalnych, mało różniące się od obniżenia spowodowanego podawaniem samej insuliny (około 40 mg^{0/0}) obniżony poziom cukru utrzymywał się o około 2 godziny dłużej niż po iniekcjach samej insuliny.

5. Podawanie dożylnie MYOTRIPHOS w dawce 1 mg/kg królikom u których wywoływano uprzednio stan hipoglikemiczny insuliną osiągając obniżkę poziomu cukru średnio o 40 mg^{0/0} spowodowało utrzymywanie się obniżonego poziomu cukru w ciągu 10 godzin. Po 24 godzinach stwierdzono powrót poziomu we krwi do normy.

PIŚMIENNICTWO

1. Baranowski T.: *Chemia Fizjologiczna*, Wydawnictwo Polskie, Warszawa 1959, ss. 350.
2. Supniewski J.: *Farmakologia*, Wydawnictwo Polskie, Warszawa 1959, ss. 401.
3. Dadlez J., Kubikowski P.: *Farmakologia*, Wydawnictwo Polskie, Warszawa 1954, ss. 245.
4. Lehoczky, Margit Halasy: *Neuere Beitrage zur Pathogenез und zu Heilversum der multiplen Sklerose, Therapia Hungarica*, 1953, II.
5. Marchlewski L.: *Chemia Fizjologiczna*. Tom II, Wydawnictwo Polskie, Kraków 1950, s. 137—138.

РЕЗЮМЕ

Целью настоящей работы является рассмотреть влияние аденозинтрифосфорной кислоты на характер кривой сахара в крови у подопытных животных (кроликов). В опытах применяли аденозинтрифосфорную кислоту (препарат MYOTRIPHOS amp. 1мл = 15 мг АТФ), прод. Тархоминских Фармацевтических заводов. Уровень сахара в крови кроликов определяли по методу Гагедорна с модификацией Енсена. В общем итоге авторами было произведено около 1000 определений уровня сахара после введения животным внутримышечно и внутривенно АТФ. Авторами установлено на основании характера

кривой, что уровень сахара в крови незначительно снижается после введения АТФ внутримышечно и в очень заметной степени после внутривенной инъекции этой кислоты (около 40 мг). Затем авторами определялся уровень сахара после совместной инъекции АТФ и кристаллического инсулина. При сравнении полученных кривых, иллюстрирующих уровень сахара в крови, с кривыми после введения одного лишь инсулина оказалось, что сниженный уровень сахара дольше удерживается после инъекции АТФ и инсулина (ок. 60 мин.). Целью дальнейших исследований было проанализировать характер кривой, изображающей уровень сахара в крови у животных с послеинсулиновой гипогликемией, после введения АТФ через 2 часа после подкожной инъекции инсулина. Тщательное проанализирование кривых показало дальнейшее увеличение времени, в течении которого удерживался сниженный уровень сахара по сравнению с совместным введением АТФ и инсулина (около 4 часов). Из произведенных исследований следует, что АТФ вводимый внутривенно обладает свойством снижать уровень сахара в крови кроликов, а также более длительно удерживать послеинсулиновую гипогликемию.

S U M M A R Y

The aim of the present paper was to demonstrate the influence of ATP on the behaviour of the glycaemic curve of experimental animals (rabbits). In their experiments the authors used adenosinetriphosphoric acid in the form of the preparation MYOTRIPHOS (amp. 1 ml = 15 mg ATP), produced by Tarchomińskie Zakłady Farmaceutyczne. The sugar level in the animals' blood was determined by Hagedorn's method in Jensen's modification. About 1000 estimations of the sugar level after intramuscular and intravenous administration of ATP were carried out. The authors found a lowering of the sugar curve, slight after intramuscular and distinct after intravenous administration of ATP (about 0.40 mg).

The second stage of the investigations consisted in administering ATP along with crystalline insulin. A comparison of sugar curves thus obtained with those obtained after administration of insulin only, revealed a prolonged decrease of the sugar-level after administration of ATP and insulin (about one hour).

Further investigations were aimed at determining the behaviour of the sugar curve in animals with post-insulin hypoglycaemia, when ATP was administered 2 hours after the injection of insulin. It was found

that the duration of the decreased sugar level was again extended in comparison with that after simultaneous administration of ATP and insulin (about 4 hours).

The results from the present study show that ATP, when administered intravenously, has the property of lowering the sugar level in the blood of rabbits and of extending the duration of post-insulin hypoglycaemia.