

WPŁYW SOMATOTROPINY NA WZROST I CUKROMOCZ U SZCZURÓW*

Z Zakładu Farmakologii Doświadczalnej A. M. w Warszawie

Kierownik: prof. dr P. Kubikowski

W roku 1921 *Evans* i *Long* wstrzykując młodym szczurom wyciągi przedniego płata przysadki mózgowej, wykazali przyśpieszenie wzrostu u tych zwierząt.

Działanie to związane jest z obecnością czynnika wzrostowego wytwarzanego przez komórki eozynochłonne przysadki (9, 28). Czynniki te wyodrębniono w postaci krystalicznej przez *C. H. Li* i wsp. w r. 1945 (somatotropina, STH) jest substancją białkową o słabym działaniu antygenowym, o ciężarze cząsteczkowym 44 250, zawiera tyrozę, tryptofan, kwas glutaminowy, alaninę, fenyloalaninę i inne. Hormon ten zwiększa wzrost szczurów zwykłych i pozbawionych przysadki, wskutek zwiększenia długości kości i szerokości chrząstek nasadowych oraz zwiększenia wagi narządów ciała. Podawany przez czas dłuższy wywołuje wzrost olbrzymi u tych zwierząt (11, 17).

Wzrostowe działanie hormonu wykazano doświadczalnie na młodych gołębiach, myszach, łasicach i kozach. Działanie to nie występuje u świnek morskich zwykłych i pozbawionych przysadki (19). Nie wykazano również działania wzrostowego u małp (19), ani u człowieka (21).

Bornstein (5) wykazał, że szczury reagują zwiększeniem wzrostu niezależnie od wieku. Zwiększenie wzrostu jest wynikiem zwiększonego podziału komórek, zwiększenia ich objętości, albo też następstwem uruchomienia czynników dyfuzyjnych typu hyaluronidazy (23).

Wielokierunkowy wpływ somatotropiny na przemianę ustroju przejawia się w warunkach doświadczalnych zmianą metabolizmu białek, tłuszczów i węglowodanów.

Zmniejszone wydalanie azotu z moczem i obniżenie poziomu kwasów aminowych we krwi wskazuje na zwiększoną syntezę białek oraz zatrzymanie wody w tkankach (2, 18).

Obniżenie współczynnika oddechowego wskazuje na uruchomienie magazynów tłuszczowych w wątrobie, przy czym tłuszcz ten służyć może jako źródło energii, albo do syntezy protein.

Obniżenie procesów utleniania wiąże się z działaniem wzrostowym, mlekotwórczym i diabetogennym. Mechanizm ten wyjaśnia względną przewagę hormonu somatotropowego podczas snu zimowego i wskazuje kierunki przemiany podczas hibernoterapii (15).

* Praca wygłoszona na posiedzeniu Oddziału Warszawskiego Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego dn. 25. czerwca 1954 r.

Diabetogenne działanie somatotropiny związane jest z działaniem wzrostowym, jednakże zależność ta występuje tylko w określonych warunkach. Zniszczenie własności diabetogennych powoduje utratę własności wzrostowych preparatu (22). *Young* (cyt. wg *Macha*, (17), *Mitchell* i wsp. (19) wykazali, że młode psy, młode koty, ciężarne samice reagują zwiększeniem wagi bez równoczesnego cukromoczu. U osobników starszych przyrosty wagi są nieznaczne, natomiast cukromocz wyraźny.

Houssay (14) i *Campbell* (7) omawiając zagadnienie cukrzycy przysadkowej znajdują różnice pomiędzy cukrzycą krótkotrwałą (*diabetes idiohypophysarius*) i cukrzycą długotrwałą (*diabetes metahypophysarius*).

Krótkotrwałą cukrzyca powstaje wskutek bezpośredniego działania somatotropiny na przemianę podstawową, podczas gdy cukrzyca długotrwałą uzależniona jest od wpływu tego hormonu na aparat wysepkowy trzustki.

Anderson i *Long* (1) uważają, że STH hamuje wydzielanie insuliny, podczas gdy *Foa* i wsp. (10) stwierdzili, że cukromocz przysadkowy jest następstwem wyrzucania glukagonu z kom. α trzustki.

Whitney i wsp. (30) przypuszczają, że sprzeczność tych poglądów wynika z użycia różnych gatunków zwierząt w doświadczeniu.

Sądzą oni, że u psa i kota STH powoduje wyrzucanie glukagonu z kom. α trzustki, podczas gdy u szczura pobudza kom. β , zwiększając poziom insuliny.

Somatotropina jest hormonem o niezwyklej dynamizmie biologicznym. Różnorodność i nasilenie wywołanych procesów porównane być może jedynie z działaniem hormonu adrenokortykotropowego. Trofotropowe działanie STH, przebiegające z przewagą procesów asymilacyjnych, przeciwstawia *Laborit* (15) ergotropowemu działaniu ACTH, objawiającemu się zwiększeniem procesów dysymilacyjnych.

W związku z pozostawieniem do naszej dyspozycji preparatu krystalicznego hormonu wzrostu*, celem naszej pracy było ustalenie czy otrzymany preparat charakteryzuje się właściwościami krystalicznego hormonu wzrostu oraz czy istnieje zależność pomiędzy zwiększeniem wzrostu i następnym cukromoczem u szczurów.

METODYKA

Do oznaczania identyczności i aktywności hormonu wzrostu używa się metod biologicznych opierających się na porównaniu przyrostów wagi wzgl. długości ogona u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką (12).

Wpływ STH na kościec a zwłaszcza zwiększenie szerokości chrząstki nasadowej piszczeli służyć może jako ocena jakości preparatu.

Do metod pewnych, najczęściej stosowanych należą: 1) zwiększenie wagi szczura z wagą ustaloną; 2) zwiększenie wagi szczura z usuniętą przysadką; 3) zwiększenie wagi myszy karłowatych; 4) wzrost długości ogona szczura; 5) wzrost szerokości chrząstki nasadowej szczura z usuniętą przysadką.

Do rzadziej stosowanych i mniej pewnych metod należą: 1) wzrost wagi wątroby; 2) zmiany zawartości azotu, fosforu i fosfaty we krwi; 3) wzrost syntezy białek

* Krystaliczny hormon wzrostu (STH-13 — II — KR) otrzymany został w Instytucie Leków przez *Władysława Pawelca* (20).

wykazany za pomocą izotopów radioaktywnych (16) oraz wzrost zawartości glikogenu kości piszczelowej u szczurów z usuniętą przysadką (8).

Bomskov (3), *Greenspan* (12), *Li* (16) przeprowadzali badania na szczurach dojrzalych płciowo. *Simon* i *Binder* (cyt. wg *Reissa* — 24) na szczurach o jednakowej wadze.

Bryan i *Geiser* (6) porównują liczbę dni koniecznych do uzyskania przyrostów wagi z 50 g do 200 g. *Wadehn* (29) używa białych myszy o wadze od 21 g do 25 g. *Thompson* (27), *Evans* (8, 9, 12) sądzą, że najdokładniejsza jest metoda porównywania przyrostów wagi, wreszcie zwiększenie wzrostu i przyrost długości ogona u szczurów pozbawionych przysadki. Zwierzęta użyte do doświadczeń muszą pozostawać na określonej diecie.

BADANIA WŁASNE

W badaniach naszych, jako ocenę działania krystalicznego hormonu wzrostu, przyjęliśmy metodę porównania przyrostów wagi oraz długości ogona szczurów zwykłych z wagą ustaloną. Do doświadczeń użyto 40 szczurów, samic 8 tygodniowych, pochodzących z jednej hodowli. Szczury te przez 12 tygodni trzymano w jednakowych warunkach, w temp. pokojowej, podając odpowiednią dietę i wodę *ad libidum*.

Postęgiwaliśmy się dietą proponowaną przez *Evansa* (8), która zawiera 67,5% pszenicy, 10% płatków owsianych, 10% mączki rybnej, 5% oleju rybnego, 1,5% NaCl, 3% kazeiny, 3% CaCO₃. Powyższa dieta zawiera około 40% protein i jest najchętniej stosowana w badaniach nad hormonem wzrostu.

Okres aklimatyzacji uzasadniony jest koniecznością dostawania się zwierząt do nowych warunków oraz potrzebą oddzielenia osobników wykazujących niedostateczne lub nadmierne przyrosty wagi. Zwierzęta ważono w odstępach 5-dniowych, przeprowadzając jednocześnie pomiary długości ogona. W celu ustalenia wpływu STH na stężenie cukru w moczu w 0, 5, 10, 15 dniu doświadczenia wkładano szczury do klatek metabolicznych, w których przebywały przez 12 godzin. Okres ten wystarczał do zebrania 1,0–1,5 ml moczu. Zawartość cukru w moczu oznaczaliśmy metodą kolorymetryczną *Sumnera* (13).

Przygotowanie zawiesiny. 50 mg krystalicznego hormonu wzrostu rozpuszczono w 48 ml soli fizjol. wolnej od pyrogenów. Zawiesinę zalkalizowano dodając kroplami 1/10 N. NaOH do uzyskania pH 8,5 i uzupełniono do obj. 50 ml. W celu zapewnienia pełnej aktywności preparatu zawiesinę sporządzono w 0, 5, 10, dniu doświadczenia i przechowywano w temp. + 4°.

Warunki wstrzykiwań. Wstrzyknięcia wykonano podskórnie, jeden raz w ciągu dnia, zawsze o tej samej godzinie, zachowując warunki aseptyki.

Po zakończonej aklimatyzacji wybrano 12 szczurów, samic 5-miesięcznych, u których przyrost wagi w ciągu 10 kolejnych dni nie przekroczył 10 g (16). Zwierzęta te podzielono na 3 grupy. Okres obserwacji od 16. III. 1954 do 30. III. 1954.

Ogółem wykonano 144 oznaczenia.

WYNIKI

Grupa pierwsza składająca się z 4 szczurów wagi od 130 g do 139 g otrzymała w ciągu 15 dni po 1 mg STH dziennie. W tej grupie

zwierząt średni przyrost wagi wynosi 38,7 g w przeliczeniu na 1 zwierzę i na 15 dni.

T a b e l a I
Grupa pierwsza. — Wagę podano w gramach

Nr	Dzień doświadczenia				Przyrost wagi
	0	5	10	15	
1	139.0	147.0	156.5	172.5	33.5
2	139.0	147.0	158.0	172.5	33.5
3	132.0	137.0	149.0	171.5	39.5
4	130.0	140.0	155.0	178.5	48.5

Grupa druga obejmuje 4 szczury wagi od 124 do 136 g. Zwierzęta te otrzymały po 0,3 mg STH dziennie. Po 15-dniowej obserwacji stwierdzono, że średni przyrost wynosi 34,0 g na 1 szczura.

T a b e l a II
Grupa druga. — Wagę podano w gramach

Nr	Dzień doświadczenia				Przyrost wagi
	0	5	10	15	
1	124,0	128,0	138,5	156,5	32,5
2	135,0	148,0	160,5	179,0	44,0
3	136,0	144,0	151,5	168,0	32,0
4	124,0	127,0	140,0	151,5	27,5

Grupa trzecia (kontrolna) obejmuje 4 szczury wagi od 125 g do 134 g. Otrzymywały one po 1 ml roztworu soli fizjologicznej. W tej grupie zwierząt średni przyrost wagi wynosi 9,5 g w przeliczeniu na 1 zwierzę (ryc. 1 i 2).

T a b e l a III
Grupa trzecia. — Wagę podano w gramach

Nr	Dzień doświadczenia				Przyrost wagi
	0	5	10	15	
1	128,0	129,0	130,0	131,0	3,0
2	125,0	127,0	129,0	131,0	6,0
3	127,0	129,0	135,0	139,0	12,0
4	134,0	140,0	145,5	151,0	17,0

Pomiary długości ogona. Po umocowaniu szczura w aparacie Thorpa, przesunięto ogon zwierzęcia przez kolistą nasadkę. Długość ogona mierzono podziałką milimetrową, przyjmując za punkt zerowy powierzchnię nasadki maksymalnie przyciśniętej do kości krzyżowej.

W pierwszej grupie średni przyrost długości ogona wynosi 6,5 mm.

W drugiej grupie średni przyrost długości ogona wynosi 6,5 mm.

W grupie kontrolnej średni przyrost wynosi 3,5 mm.

T a b e l a IV
Grupa pierwsza. — Wymiary podano w mm.

Nr	Dzień doświadczenia				Średni przyrost
	0	5	10	15	
1	165	169	170	170	6,5
2	147	149	150	153	
3	145	149	150	151	
4	150	153	155	159	

T a b e l a V
Grupa druga. — Wymiary podano w mm.

Nr	Dzień doświadczenia				Średni przyrost
	0	5	10	15	
1	138	140	143	145	6,5
2	151	152	153	158	
3	157	159	161	164	
4	115	117	119	120	

T a b e l a VI
Grupa trzecia (kontrolna). — Wymiary podano w mm.

Nr	Dzień doświadczenia				Średni przyrost
	0	5	10	15	
1	158	158	158	162	3,5
2	153	153	153	156	
3	156	158	158	160	
4	169	170	171	171	

Oznaczenie zawartości cukru w moczu. W pierwszej grupie zwierząt w 15 dniu podawania somatotropiny średnia zawartość cukru w moczu wynosi 0,08‰, w grupie drugiej 0,09‰, w grupie kontrolnej 0,09‰. Jeżeli uwzględnić, że w używanej przez nas metodzie ślad zabarwienia mógł być wynikiem obecności innych ciał redukcyjnych jak: kreatyny, kreatyniny lub glutationu (4), to z porównania powyższych danych wynika, że nie wywołaliśmy cukromoczu u szczurów otrzymujących krystaliczny hormon wzrostu.

Oznaczenie poziomu cukru w moczu.

T a b e l a VII
Grupa pierwsza. — Wartości podawano w ‰

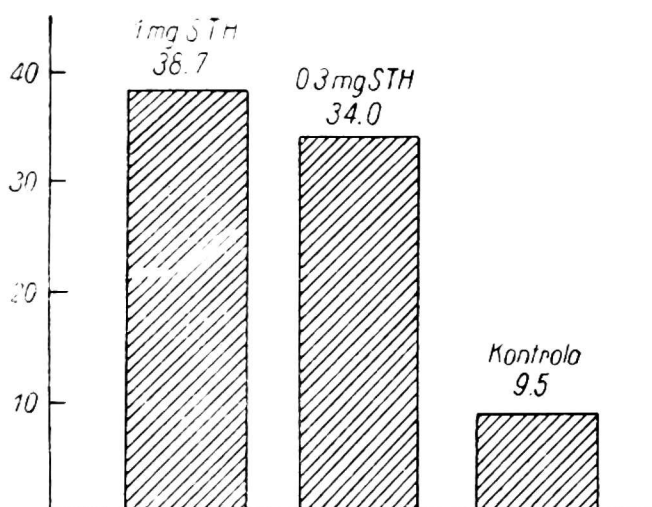
Nr	Dzień doświadczenia				Średnio
	0	5	10	15	
1	0.21	0.06	0.18	0.07	0.08
2	—	0.33	0.18	0.12	
3	0.15	0.40	0.11	0.07	
4	0.12	0.13	0.12	0.09	

T a b e l a VIII
Grupa druga. — Wartości podano w %

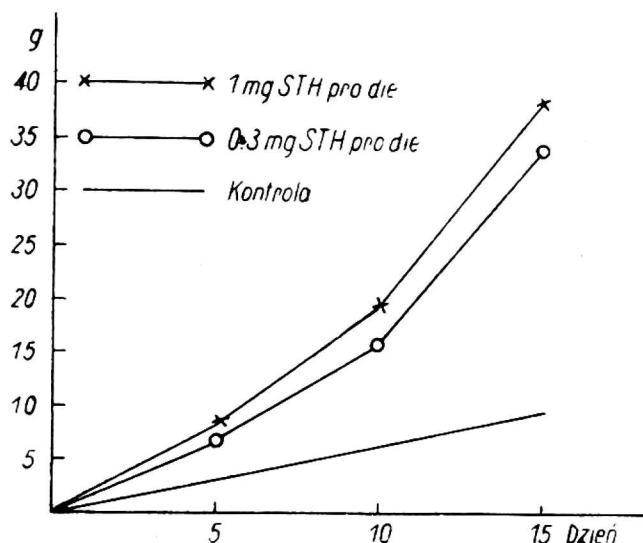
Nr	Dzień doświadczenia				Średnio
	0	5	10	15	
1	0.28	0.09	0.10	0.11	0.09
2	0.21	0.13	0.26	0.10	
3	0.45	0.13	0.22	0.09	
4	0.38	0.14	0.35	0.09	

T a b e l a IX
Grupa trzecia. — Wartości podano w %

Nr	Dzień doświadczenia				Średnio
	0	5	10	15	
1	0.22	0.04	0.00	0.06	0.09
2	0.26	0.06	0.04	0.05	
3	0.29	0.08	0.07	0.20	
4	0.28	0.09	0.09	0.07	



Ryc. 1. Średnie przyrosty wagi na 1 szczura (STH podawano przez 15 dni)



Ryc. 2. Średnie przyrosty wagi szczurów otrzymujących krystaliczny hormon wzrostu

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wśród zwierząt grupy pierwszej, otrzymujących po 1 mg krystalicznego hormonu wzrostu dziennie, po 15 dniach trwania doświadczenia średni przyrost wagi wynosi 38,7 g w przeliczeniu na 1 zwierzę.

W drugiej grupie zwierząt, otrzymujących po 0,3 mg STH średni przyrost wynosi 34,0 g, tzn. 368% w stosunku do przyrostu grupy kontrolnej.

Na podkreślenie zasługuje, że zwierzęta otrzymujące somatotropinę były mniej płochliwe, sierść miały gładszą i bardziej lśniącą niż kontrolne.

Z uzyskanych przez nas danych wynika, że badany preparat odznacza się właściwościami charakteryzującymi krystaliczny hormon wzrostu.

Zawartość cukru w moczu u szczurów otrzymujących po 1 mg STH w 15 dniu doświadczenia wynosi 0,08%, podczas gdy w grupie otrzymującej po 0,3 mg oznaczono 0,09%. Odpowiednie wartości dla grupy kontrolnej wynoszą 0,09%.

Wartości powyższe mieszczą się w granicach błędu metody wskazują, że somatotropina nie wywołała cukromoczu u młodych szczurów.

Spostrzeżenie to jest zgodne z danymi *Whitneyá* i *Bornsteina*.

Wpływ hormonu wzrostu na aparat wysepkowy trzustki może być dwójaki. Wskutek pobudzającego działania na kom. α trzustki i wtórne wyrzucanie glukagonu zwiększa się poziom cukru we krwi oraz występuje cukromocz. Mechanizm ten istnieje prawdopodobnie u psa i kota. Możliwy jest również pobudzający wpływ somatotropiny na komórki β wysepek Langerhansa.

Pomimo niewątpliwych antagonizmów istniejących pomiędzy insuliną i hormonem somatotropowym, na uwagę zasługuje spostrzeżenie *Saltera* i *Besta* (25) i *Ottawaya* (26) wykazujące, że w pewnych warunkach doświadczalnych STH nie zwiększa wzrostu bez obecności insuliny, podczas gdy sama insulina zwiększa wzrost nawet bez współdziałania hormonu somatotropowego.

Zgodnie z tymi spostrzeżeniami wydawałoby się, że nie występowanie cukromoczu u szczurów szybko rosnących wskutek podawania krystalicznego hormonu wzrostu mogłoby świadczyć o braku wpływu tego hormonu na kom. α trzustki.

WNIOSKI

1. Przebadany przez nas preparat (STH 13- II -KR) odznacza się właściwościami biologicznymi charakteryzującymi krystaliczny hormon wzrostu.

2. Krystaliczny hormon wzrostu nie wywołał cukromoczu u młodych szybko rosnących szczurów.

З. Мандес, З. Шренявски, Б. Заблоцка

ВЛИЯНИЕ СОМАТОТРОПИНА НА РОСТ И СОДЕРЖАНИЕ САХАРА В МОЧЕ У КРЫСЫ

Содержание

Кристаллический гормон роста, полученный в фармакологическом Институте в Варшаве, проверен по установленным биологическим методам.

Средняя прибавка веса у крыс, которые получают ежедневно по одному миллиграмму кристаллического гормона роста в течение 15 дней опыта достигает 38,7 г.

Эта прибавка веса дает 407% контрольной группы. Если крысе давать ежедневно по 0,3 мг, вес крысы повышается в среднем на 34,0 граммов — что составляет 368% прибавки веса контрольной группы.

После 15-дневного опыта в моче 5-месячной крысы сахара не обнаружено.

Z. Mandes, Z. Szreniawski, B. Zabłocka

INFLUENCE OF SOMATOTROPHIC HORMONE ON THE WEIGHT AND GLYCOSURIA IN RATS

S u m m a r y

The crystalline growth hormone obtained in the Drug Institute in Warsaw has been examined in accordance with standard biological methods. The average weight increase in rats to which 1 mg. of crystalline growth hormone has been administered daily amounts to 38.7 g on the fifteenth day of treatment this being 407 per cent of the increase of control group. 0.3 mg. of growth hormone administered daily increases the weight of a rat by on average of 34.0 g, which is 368% of the increase of control group.

On the fifteenth day of treatment with growth hormone no glycosuria in five month old rats has been detected.

PIŚMIENICTWO

1. Anderson F., Long J. A.: *Endocrinology* 1947, 40—98. — 2. Beaton G. H., Ozawa G., Beaton J., Mc Henry E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* 1953, 83, 781. —
3. Bomskov C.: *Methodik der Hormonforschung* 1939, t. II, Georg Thieme, Leipzig. — 4. Borel E., Hostetter F., Demel H.: *Helvetica Chimica Acta.* 1952, Vol. XXXV, fasc. I, 15, 115. — 5. Bornstein J., Reid E., Young F. G.: *Nature* 1951, Vol. 168, 4282, 903. — 6. Bryan, Geiser: *American Journal of Physiology* 1932, 99, 379. —
7. Campbell J. Chaikoff L., Davidson I. W. F.: *Endocrinology* 1954, 54:1, 48. — 8. Ellis S., Simpson M., Evans H. M.: *Endocrinology* 1953, 52, 554. —
9. Evans H. M., Simpson M. E.: *Amer. Journ. Physiol.* 1931, 98:511. — 10. Foa P. P., Magid E. B., Glassman M. D., Weinstein H. R.: *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* 1953, 83, 758.
11. Gaebler O. H. Galbraith: *Endocrinology* 1941, 28, 171. — 12. Greenspan F. S., Li C. H., Simpson M. E., Evans H. M. — rozdział w książce: *Hormone Assay* — C. W. Emmens wyd. Acad. Press Inc. Publishers New York, 1950. — 13. Hawk P., Oser B., Summerson W.: *Practical Physiological Chemistry.* The Blakiston Company-Philadelphia 1949. — 14. Houssay: *Amer. J. Med. Science* 1950, 219, 353. —
15. Laborit H., Farre A., Duchesne G., Dechen J., Bastit G.: *La Presse Medicinale,* 1953, 61, 53, 1085. — 16. Li C. H.: *Bioassay of Growth Hormone* — rozdział w książce *Ciba foundation colloquia of endocrinology,* 1953, Vol. V., part IV, 115, wyd. J. A. Churchill LTD. London, 1953. — 17. Mach R. S., Muller A., Mach E.: *Sch. Med. Wschr.* 1953, 51, 1223. — 18. Mileman A. E., de Moor, Lukens: *Am. J. Physiol.* 1951, 166, 354. — 19. Mitchell M. I., Guillemin R., Selye H.: *Endocrinology* 1954, 54:1, 111.
20. Pawelec W.: *Farmacja Polska* 1954, nr 1 i 5. — 21. Prader A.: *Sch. Med. Wschr.* 1954, 13, 375. — 22. Reid E.: *J. Endocr. (Brit.)* 1951, 8, 120. — 23. Reinhardt W. O., Li C. H.: *Science* 1953, 3038, 295. — 24. Reiss M.: *Die Hormonforschung u. ihre Methoden* 1934, str. 304. — 25. Salter J., Best C. H.: *Brit. Med. J.* 1953, 4832:353. — 26. Ottaway J. H.: *Brit. Med. J.* 1953, 4832:357. — 27. Thompson, Geisler: *Yale J. Biol. a. Med.* 1952, 4, 677. — 28. Voss H. E.: *Aerztliche Wschr.* 1951, 913. — 29. Wadehn F.: *Biochem. Zschr.* 1932, 255, 189. — 30. Whitney J. E., Bennet L. L., Li C. H., Evans H. M.: *Endocrinology* 1946, 43, 237.