

A. CHODERA, L. CHODERA

## WPŁYW GLUKAGONU NA PRZEBIEG POINSULINOWEJ KRZYWEJ GLIKEMICZNEJ U KRÓLIKÓW

Z Zakładu Farmakologii A. M. w Poznaniu  
Kierownik: prof. dr J. Dadlez

Z I Kliniki Chorób Wewnętrznych A. M. w Poznaniu  
Kierownik: prof. dr S. Kwaśniewski

Poprzednie nasze badania (2) poświęcone były regulacji hormonalnej w czasie poinsulinowych stanów niedocukrzenia. Wyszliśmy w nich z założenia, że podanie hormonów — antagonistów insuliny biorących hipotetycznie udział w mechanizmach wyrównawczych, uruchamianych przez organizm, winno nie dopuścić do hipoglikemii, względnie przerwać już rozwinięty stan niedocukrzenia. Doświadczenia te przeprowadziliśmy na królikach, wprowadzając w czasie rozwijającej się hipoglikemii poinsulinowej dostępne nam wówczas hormony z grupy antagonistów insuliny (adrenalina, kortyzon, ACTH, tyreoproteina). Stwierdziliśmy, że z wymienionych hormonów jedynie adrenalina była w stanie skutecznie przeciwdziałać poinsulinowemu niedocukrzeniu krwi. Nieznaczne działanie wykazywały także ACTH i tyreoproteina. Piśmiennictwo związane z tym zagadnieniem omówione zostało w poprzedniej pracy.

Wyniki badań, które przedstawiamy w niniejszej pracy, tyczą glukagonu i jego stosunku do insuliny. Hormon ten jest wytwarzany prawdopodobnie przez komórki A wysepek trzustki (*Bencosme, Liepa, Mariz, Frei* — wg *Elricka* (6), *Holt* i wsp. (9, 10), *Clement* (3), *Ferner* i *Runge* (7) *de Duve*) — a być może także poza trzustką [*Thiel* (15), *Czyżyk* (5), *Froesch* (8), *Creutzfeld* i *Tecklenborg* (4) i inni]. Według autorów wyżej wymienionych, jak i wielu innych badaczy, czynnik ten ma działanie wybitnie hiperglikemizujące i glikogenolityczne (stąd w piśmiennictwie anglosaskim nazwa HGF — *Hypertglycemic-Glycogenolytic Factor*). Uwalnianie glikogenu w wątrobie jest wg *Sutherlanda* i *Coriego* katalizowane pośrednio przez ten hormon, który aktywuje fosforylaze wątrobową. Inni autorzy spostrzegali wzmożone wydzielanie czynnika hiperglikemizującego przez trzustkę i podwyższony jego poziom we krwi żyły wrotnej [*Froesch* (8), *Best* wg *Elricka, Foa, Clement* (3)] pod wpływem insuliny i STH, choć nie wszyscy identyfikują czynnik ten z glukagonem ze względu na pewne odrębne zachowanie się po dihydroergotaminie (*Best*).

Glukagon pod względem chemicznym jest wg *Clementa* bardzo zbliżony do insuliny. Ma on wg *Elricka* i wsp. działanie synergiczne z insuliną, zwiększając obwodowe zużycie glukozy. Wiadomo, że glukagon zawarty jest w wielu preparatach fabrycznych insuliny, niedostatecznie oczyszczonych (*Abel*). *Meduski, Zabłocka* i *Kozarzewska-Saper* (11) wykazali to

w odniesieniu do insuliny krajowej. Stąd w pierwszych kilkunastu minutach działania takiej insuliny wprowadzonej dożylnie zamiast obniżenia poziomu cukru we krwi notuje się niekiedy jego wyżkę.

Prace doświadczalne mające na celu izolowane badanie komórek A, wzgl. w połączeniu z cukrzycą aloksanową wykazały, że po zniszczeniu tych komórek, np. przez IPTD, syntalinę lub chlorek kobaltu dochodzi najpierw do podobnego wzrostu poziomu cukru we krwi wskutek nadmiaru glukagonu pochodzącego z rozpadniętych komórek. Przy dalszej obserwacji zwierząt doświadczalnych stwierdza się w drugiej fazie ciężkie stany niedocukrzenia wskutek przewagi insuliny (v. Holt C., v. Holt L., Kröner, Kuhnu, 9, 10). Uwzględniając te dane z bardzo obszernego piśmiennictwa o działaniu glukagonu, umieściliśmy w poprzedniej naszej pracy ten hormon w 2. fazie schematu reakcji hormonalnych, które prawdopodobnie mają miejsce w czasie hipoglikemii.

W niniejszej pracy chcieliśmy w oparciu o własne spostrzeżenie doświadczalne wyjaśnić, czy glukagon jest w stanie skutecznie przeciwdziałać wystąpieniu stanu niedocukrzenia po wstrzyknięciu insuliny. Pozwoli to w pewnym sensie na ocenę udziału tego hormonu w endogennym mechanizmie wyrównywania niedocukrzenia krwi.

#### BADANIA WŁASNE

Do doświadczeń użyto królików wagi 2500—3000 g głodzonych przez 12—15 godzin. W badaniach naszych posługiwaliśmy się zawsze tą samą insuliną z jednej ampułki, zawierającej 40 j/ml (prod. Tarch. Zakł. Przem. Farm.). Insulinę rozcieńczaliśmy roztworem 0,9% NaCl w stosunku 1 : 1 przed samym wstrzyknięciem celem zwiększenia dokładności dawek.

Glukagon otrzymany w proszku bezpostaciowym (prod. f-my E. Lilly) rozpuszczaliśmy w 0,1% roztworze glicyny o pH 8,5. Przygotowaliśmy roztwory glukagonu o 2 stężeniach — 5 mg<sup>0</sup>/o (5 mg na 100 ml) oraz 0,5 mg<sup>0</sup>/o (5 mg na 1000 ml). Glukagon podawaliśmy wyłącznie dożylnie. Poziom cukru we krwi oznaczaliśmy met. Hagedorna-Jensena.

**Doświadczenie I.** 10 królikom wstrzyknięto wzrastające dawki glukagonu od 0,5—10  $\gamma$ /kg wagi, celem uchwycenia takiej dawki glukagonu, która miałaby działanie wyraźnie hiperglikemizujące. Krew pobierano przed wstrzyknięciem glukagonu oraz 4-krotnie w ciągu 90 min. po wstrzyknięciu. Wyniki zestawione są w tabeli I.

Na podstawie tych wyników stwierdzić można, że w warunkach naszego doświadczenia wzrost poziomu glukozy we krwi występuje przy dawkach wyższych niż 2  $\gamma$ /kg wagi królika. Nie widzieliśmy przy tym wyraźnej zależności wyżki poziomu cukru od podanej dawki glukagonu.

**Doświadczenie II.** Po stwierdzeniu, że dawki powyżej 2  $\gamma$ /kg wagi zwierzęcia podwyższają poziom cukru we krwi naszych królików, podaliśmy królikom dawkę 10  $\times$  większą, tj. 20  $\gamma$ /kg. Chodziło nam w tym badaniu o uchwycenie czasu trwania działania glukagonu oraz otrzymanie krzywych wzorcowych glikemii poglukagonowej. Krew pobierano przed wstrzyknięciem glukagonu oraz co 15 min. w ciągu 90 min. po wstrzyknięciu.

Ryc. 1 pozwala stwierdzić, że u wszystkich królików wystąpiło podwyższenie poziomu cukru we krwi od 41 mg<sup>0</sup>/o (36%<sup>0</sup>) — 73 mg<sup>0</sup>/o (88%<sup>0</sup>). Stopień wzrostu stężenia glukozy we krwi nie wiele przekraczał wyniki

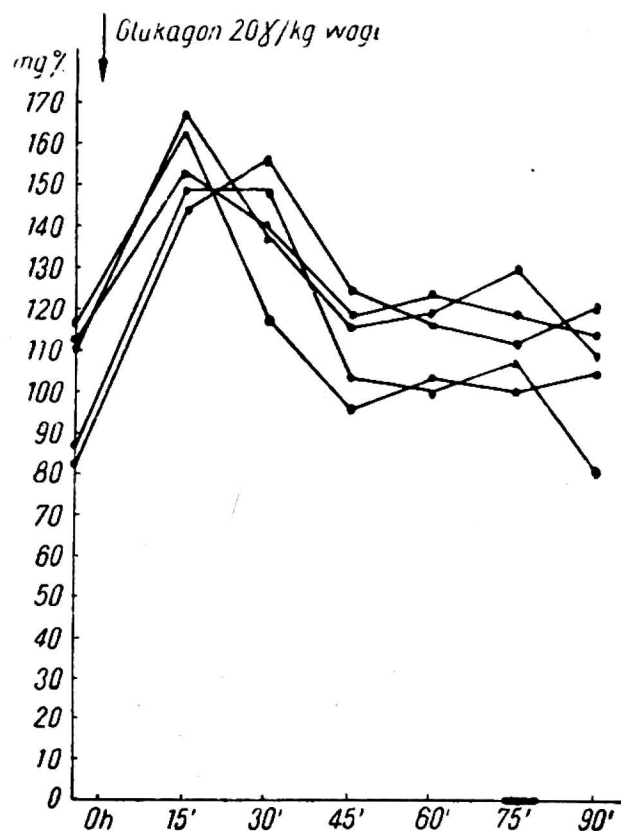
Tabela I

Poziom cukru we krwi królików w mg<sup>0</sup>/<sub>0</sub> po podaniu różnych dawek glukagonu.

*The sugar level in the blood of rabbits in mg<sup>0</sup>/<sub>0</sub> after administration of various doses of glucagone.*

L. p.	Przed glukagonem	Glukagon γ/kg	Po 15 min.	Po 30 min.	Po 60 min.	Po 90 min.
1	115	0,5	117	126	98	92
2	98		98	102	100	101
3	108	1,0	96	105	100	101
4	118		128	116	104	90
5	117	2,0	155	112	124	120
6	125		173	108	97	102
7	119	5,0	146	131	110	103
8	101		158	130	101	91
9	108	10,0	146	85	119	118
10	97		170	140	99	87

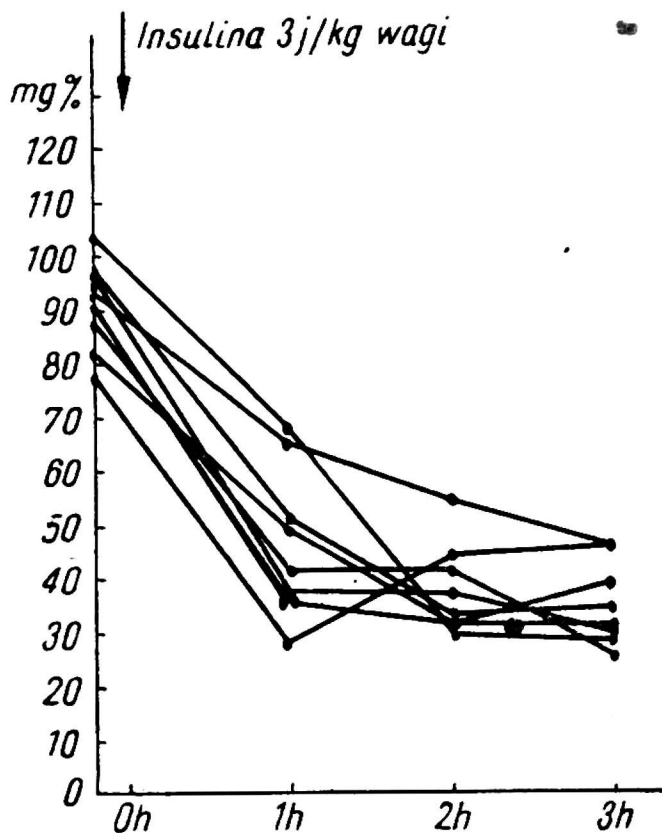
otrzymane w doświadczeniu I, przy znacznie niższych dawkach glukagonu. Działanie glukagonu jest wyraźnie po 15 min. i po 30 min., później zanika.



Ryc. 1.

Doświadczenie III. Z kolei oznaczyliśmy u 8 królików krzywe cukru po wstrzyknięciu 3 j. insuliny/kg wagi zwierzęcia. Insulinę wstrzykiwaliśmy do mięśni uda, celem uniknięcia działania ewentualnej domieszki glukagonu w insulinie krajowej. Przekonaliśmy się bowiem poprzednio, że przy dożylnym podaniu insuliny u królików często nie dochodziło do typowego obrazu hipoglikemii. Nie notowaliśmy natomiast tego braku działania insuliny w żadnym przypadku przy podawaniu domięśniowym. Poziom cukru oznaczaliśmy w odstępach godzinnych w ciągu 3 godzin, po czym stan niedocukrzenia przerwano wstrzyknięciem dożylnym 20 ml 30% glikozy oraz wstrzyknięto 30 ml 30% glukozy podskórnie celem zapobieżenia wtórnej hipoglikemii.

Wyniki doświadczenia przedstawia ryc. 2.

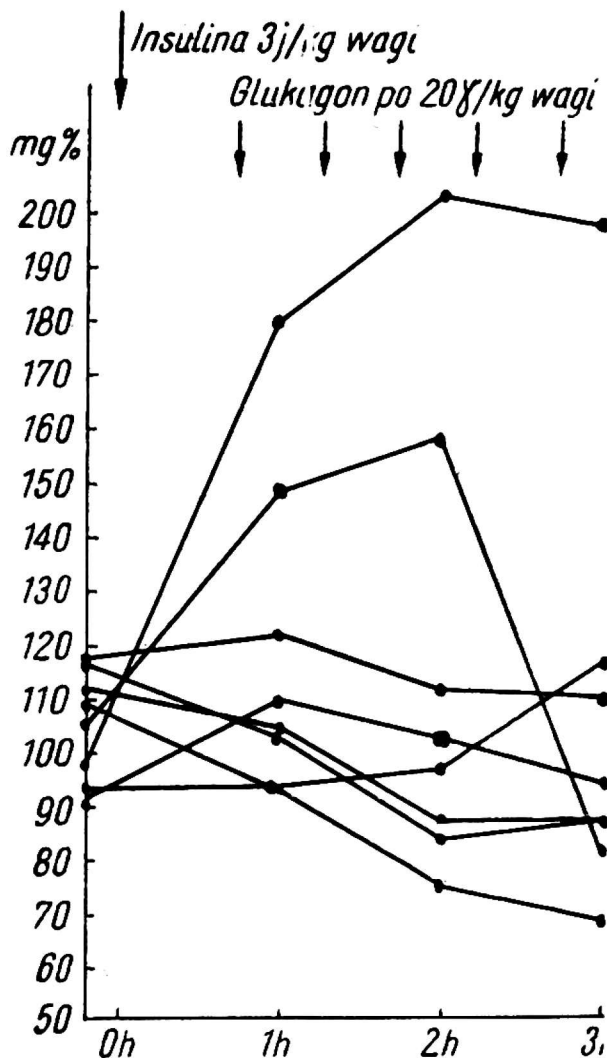


Ryc. 2.

U wszystkich królików otrzymaliśmy ciężkie stany niedocukrzenia z obniżeniem poziomu cukru do wartości 27—38 mg<sup>0</sup>/. U wszystkich królików z wyjątkiem jednego wystąpiły ciężkie powtarzające się napady drgawek. Poziom cukru utrzymywał się na niskim poziomie jeszcze po 3 g.

Doświadczenie IV. W tym doświadczeniu po pobraniu krwi wstrzyknęliśmy tym samym 8 królikom domięśniowo po 3 j. insuliny/kg wagi. Następnie wstrzykiwaliśmy co 30 min. dożylnie po 20  $\gamma$ /kg glukagonu. Krew pobierano co godzinę do 3 godzin.

Doświadczenie to (wykres III) wykazało, że glukagon podawany co 1/2 g w dawce 20  $\gamma$ /kg wagi w zupełności znosi działanie insuliny. U 2 królików notowaliśmy nawet znaczny wzrost stężenia cukru we krwi (o 53 mg<sup>0</sup>/o i 104 mg<sup>0</sup>/o).



Ryc. 3.

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

W ocenie wyżej podanych wyników należy uwzględnić 2 fragmenty badań: 1) działanie samego glukagonu, hormonu, który mimo bardzo licznych prac nie wyszedł jeszcze poza ramy badań doświadczalnych; 2) wpływ tego preparatu na przebieg poinulinowej krzywej glikemicznej.

1. Wykazaliśmy zgodnie z danymi w piśmiennictwie wyraźne działanie hiperglikemizujące glukagonu, przy czym wyniki nasze wydają się przemawiać za tym, że nie ma prostej zależności wyżki poziomu cukru od podanej dawki. Spostrzeżenie to, które należałoby jeszcze przebadać na szerszym materiale, poczyniliśmy na marginesie naszych dociekań. Jest ono jednak o tyle ciekawe, że mogłoby rzucić światło na mechanizm działania tego hormonu. Wydaje się, że działanie glukagonu musi być, jak przypuszczają *Cori* i *Sutherland*, pośrednie przez zwiększenie ilości będącej do dyspozycji aktywnej fosforylasy wątrobowej. Punkt uchwytu glukagonu leży wg *Sutherlanda* w systemie fosfokinazy, który przy współdziałaniu ATP i jonów  $Mg^{++}$  aktywuje nieczynną fosforylase. Być może, że hormon ten zaczepia o jeszcze inne ogniwo łańcucha przemiany węglowodanów. W każdym razie nie wydaje się prawdopodobne, aby przy prawidłowych zapasach glikogenu w wątrobie, jakie możemy przyjąć u naszych królików, które były zdrowe i dobrze karmione, zapasy te wystarczały tylko na średni i krótkotrwały wzrost glikozy we krwi. Bardziej

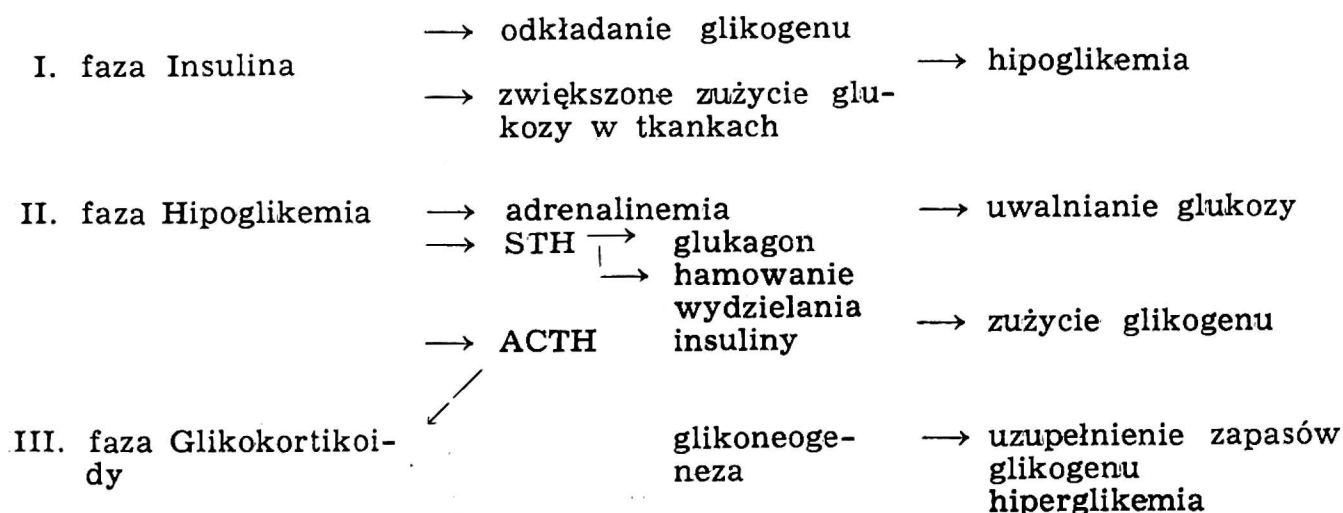


prawdopodobne jest przypuszczenie, że aktywność tego hormonu jest ograniczona tym, że działa on poprzez jakiś drugi czynnik, zwłaszcza z grupy fermentów. Być również może, że glukagon mając z jednej strony działanie glikogenolityczne, z drugiej strony, jak przypuszcza Elrick, zwiększa zużycie glikozy na obwodzie, nie dopuszczając do znacniejszego wzrostu jej we krwi. Trzecią możliwością tłumaczenia niewspółmierności zwyżki poziomu glikozy we krwi z dawkami glukagonu byłoby przyjęcie znacznego jego unieczynnienia przy większych dawkach, względnie uruchomienie mechanizmów wyrównawczych w postaci wyrzucenia insuliny z trzustki (*Clement*).

Czas trwania aktywności glukagonu po wprowadzeniu dożylnym jest krótki — około 30—45 min., odpowiada to mniej więcej czasowi trwania działania adrenaliny.

2. Wpływ glukagonu na poinsulinowe stany niedocukrzenia był wyraźny, w żadnym przypadku nie dopuścił on do rozwinięcia się obrazu hipoglikemii. Jednak ze względu na krótkie działanie tego hormonu (30—45 min.), a znacznie dłuższe działanie insuliny (kilka godzin) należy go podobnie jak adrenalinę podawać częściej. Podany w dostatecznej dawce co 1/2 godziny zapobiega wystąpieniu niedocukrzenia krwi.

Przenosząc te wyniki na reakcje hormonalne endogenne zachodzące w stanach niedocukrzenia w organizmie nie możemy oczywiście twierdzić, że to właśnie glukagon względnie adrenalina są głównymi ogniwami w łańcuchu hormonalnych reakcji wyrównawczych. Być może, że oba te czynniki współdziałają w jakiś sposób. Należy jednak stwierdzić, że jak wynika z dotychczasowych naszych badań, jedynie hormony o szybkim, choć krótkim działaniu były zdolne zapobiec stanom niedocukrzenia, a więc adrenalina i glukagon. Natomiast hormony o działaniu wolniejszym i bardziej przewlekłym (ACTH, kortyzon, tyreoproteina) tego wyraźnego działania nie miały. Jest to zrozumiałe o tyle, że odczyny w stanach niedocukrzenia winny być raczej szybko działające, o ile mają być skuteczne. W ten sposób glukagon mieści się dobrze w rozwiniętym przez nas schemacie wyrównawczych mechanizmów hormonalnych przedstawionym niżej.



#### WNIOSKI

1. Glukagon podany w czasie rozwijającej się hipoglikemii poinsulinowej znosi ją zupełnie.

2. Udział jego, podobnie jak adrenaliny w endogennych wyrównawczych odczynach hormonalnych w czasie hipoglikemii wydaje się pewny, zwłaszcza ze względu na szybkie jego działanie i zdolności zupełnego zniesienia hipoglikemii poinsulinowej przez ten hormon.

3. Czas trwania działania glukagonu jest krótki. Największa jego aktywność przypada na czas 15—30 min. po dożylnym wstrzyknięciu, po czym powoli wygasa.

4. Wzrost poziomu cukru po różnych dawkach glukagonu nie jest współmierny do zastosowanych dawek. Zjawisko to nie jest dostatecznie wyjaśnione i wymaga dalszych badań.

\*

\*

\*

Za bezinteresowne nadesłanie nam preparatu glukagonu składamy panu dr R. W. Kirtleyowi z The Lilly Research Laboratories serdeczne podziękowanie.

A. Ходера, Л. Ходера

### ВЛИЯНИЕ ГЛЮКАГОНА НА ПРОБЕГ ГЛИКЕМИЧЕСКОЙ КРИВОЙ У КРОЛИКОВ ПОСЛЕ ИНСУЛИНА

#### Содержание

Авторы обсуждают результаты своих экспериментов, которые состоят во взаимном противопоставлении действий инсулина и глюкагона.

Вывод из этих экспериментов заключается в том, что глюкагон в соответствующей дозе уничтожает гипогликемизирующее действие инсулина.

Наряду с адреналином этот гормон, повидимому, имеет существенное значение при выравнивании гипогликемического состояния после инсулина.

A. Chodera, L. Chodera

### THE EFFECT OF GLUCAGONE ON THE COURSE OF POST-INSULINE GLYCEMIC CURVE IN RABBITS

#### Summary

Following a short review of the literature dealing with the hormone of glucagone the authors present the results of their own experiments which consisted in comparing the effects produced by insulin and glucagone. These experiments have shown that an adequate dose of glucagone neutralizes the hypoglycaemizing action of insulin. Apart from adrenalin this hormone seems to be of special importance for balancing post-insulin hypoglycaemic conditions.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Cavallero C., Malandra B.: *Acta Endocr.*, 1953, 13, 79—88. — 2. Chodera A., Chodera L.: *Acta Phys. Pol.*, 1956, VII, 449—460. — 3. Clement R.: *La Presse Médicale*, 1955, 63, 746—749. — 4. Creutzfeldt W., Tecklenborg E.: *Pathologie und Pharmakologie*, 1955, 227, 23—61. — 5. Czyżyk A.: Referat wygłoszony na XVII Zjeździe Tow. Internistów Polskich w Szczecinie 15—17.IX.55. — 6. Elrick H., Staub A.: *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 1956, 81, 2106—2110. — 7. Ferner H., Runge W.: *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 1956, 81, 331—333. — 8. Froesch R.: *Schweil. Med. Wochenschr.*, 1955, 85, 121—127. — 9. Holt C. v., Holt L. v., Kröner B., Kühnau J.:

Archiv für Exper. Pathologie u. Pharmakol., 1955, 224, 66—77. — 10. Holt C. v., Holt L. v., Kröner B., Kühnau J.: Archiv für Exper. Pathologie u. Pharmakol., 1955, 224, 78—94.

11. Meduski J., Zabłocka B., Kozarzewska-Saper B.: Acta Phys. Pol., 1954, V, 639—640. — 12. Mohnike G.: Klinische Wochenschrift, 1955, 33, 132—133. — 13. Sutherland E. i Cori C.: J. Biol. Chem., 1951, cyt. wg Elricka i wsp. (6). — 14. Stotter G., Mohnike G., Creutzfeldt W., Seus R., Schlagintweit St., Ulrich H.: Deutsche Med. Wochenschrift, 1956, 81, 835—837. — 15. Thiel A.: Deutsch Med. Wochenschrift, 1957, 82, 349—350.

Otrzymano dnia: 11.VI.1957 r.