

MARIAN PYTASZ, JAN ZARZYCKI, GRAŻYNA SZCZUDŁOWSKA

## GLIKOZA I GLIKOGEN NERKOWY U KRÓLIKÓW W NARKOZIE URETANOWEJ POD DZIAŁANIEM INSULINY

Z Zakładu Fizjologii AM we Wrocławiu

Kierownik: prof. dr A. Klisiecki

Z Zakładu Histologii i Embriologii WSR we Wrocławiu

Kierownik: prof. dr J. Zarzycki

Pod wpływem adrenaliny przemieszcza się glikogen nerki królika z części korowej do rdzennej. Dzieje się to w narkozie uretanowej [12]. Zaciekawieni tym zjawiskiem, badaliśmy z kolei działanie insuliny na glikogen i glikozę nerek zwierząt usypianych i zauważyliśmy, że glikogen tak samo wędrował z kory do rdzenia nerki.

Jaka jest tego przyczyna? Czy może narkoza uretanowa tak zmienia działanie insuliny jak czynią to różne inne czynniki, np. kwasica, środki znieczulające, zanieczyszczenia insuliny glukagonem, czy jest to jakiś specyficzny insulinowy proces?

Aby to wyjaśnić przebadaliśmy kolejno wpływ insuliny: 1) na cukier krwi u zwierzęcia przytomnego (a), w narkozie uretanowej (b); 2) na glikozę i glikogen nerki w narkozie uretanowej.

### METODYKA

Badania wykonano na 32 królikach różnej płci, wagi 1,60–3,50 kg usypianych uretanem, czasem eterem, pozbawionych na 24 godz. przed doświadczeniem pokarmu, przy dowolnej ilości wody. Insulinę produkcji krajowej w ilości 10–150 j./kg wagi wstrzykiwano do żyły brzeżnej usznej. W doświadczeniach z adrenaliną podawano ją w to samo miejsce w ilości 0,08 mg/kg.

Glikozę we krwi, w moczu, w skrawkach nerek i mięśniach oznaczano metodą Fujita — Iwatake [6], glikogen metodą Verzara i Wennera [6]. Jednocześnie z badaniami chemicznymi przeprowadzono badania histochemiczne, ażeby stwierdzić jak przedstawia się rozmieszczenie glikogenu w komórkach poszczególnych części nerek. Wycinki utrwalano w płynie Gendre w temp. 0°C, skrawki zaś barwiono metodą PAS (Periodic Acid Schiff) oraz metodą srebrową Gomoriego przystosowaną przez Zarzyckiego.

Wyniki poddano kontroli statystycznej obliczając istotność różnic testem „t” Studenta [13].

## WYNIKI .

## 1. Działanie insuliny na cukier krwi u zwierzęcia przytomnego i w narkozie

1a) U zwierzęcia przytomnego insulina powodowała obniżenie się poziomu cukru we krwi o ok. 60%, pośród ogólnego pobudzenia systemu nerwowego, chaotycznych drgawek, a nawet śmierci z uduszenia. Jest to klasyczny obraz działania insuliny. Duże dawki jak i małe działały równie intensywnie. Obniżki te w porównaniu z poziomem wyjściowym były statystycznie istotne. Tab. 1.

Tabela 1. Średnie zmiany poziomu cukru krwi po podaniu insuliny  
Table 1. Average blood sugar levels after insulin

Króliki 1)	Ilość doświadczeń 2)	Dawka insuliny w j. na kg. 3)	Poziomy cukru krwi w mg% 6)					
			wyjściowe 4)	narkoza 5)	po insulinie 7)			
					po 15'	po 30'	po 60'	po 120'
Przytomne 8)	5	10—150	91 (85—99)	—	40 (30—49)	34 (28—42)	33 (17—54)	36 (30—44)
W narkozie (dawki duże) 9)	6	150	102 (85—120)	124 (85—157)	147 (108—203)	139 (107—181)	134 (100—171)	133 (104—165)
W narkozie dawki (małe) 10)	6	10—15	95 (80—117)	124 (106—169)	101 (71—167)	77 (61—134)	69 (56—118)	75 (56—114)

Uwaga: cyfry w nawiasach oznaczają zakres rzeczywiście uzyskanych wartości w poszczególnych doświadczeniach.

Note: In parantheses the range of values actually recorded.

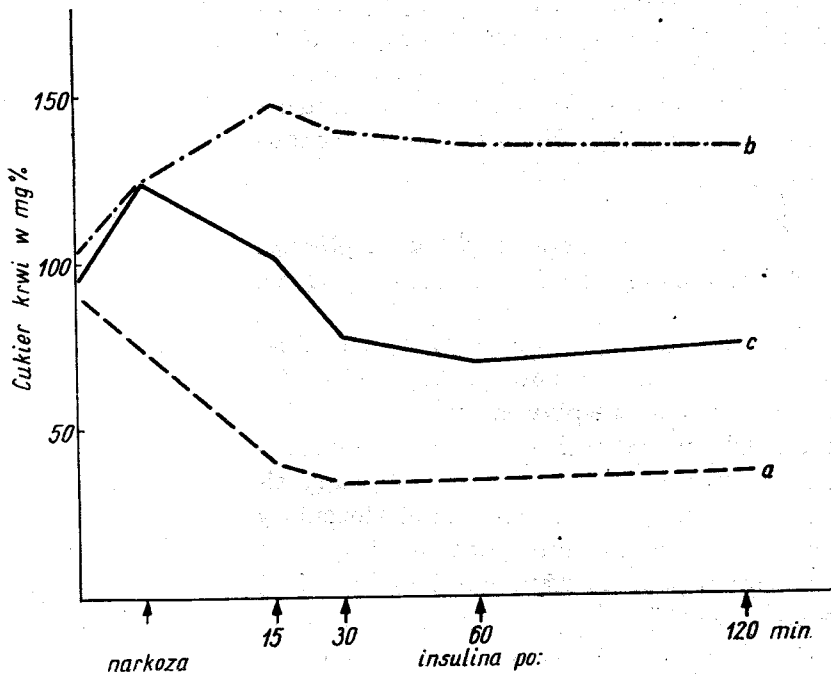
Rabbits 1); Number of experiments 2); Insulin dosage — u./kg. 3); original 4); under anaesthesia 5); Blood sugar levels — in mg% 6); after insulin 7); Conscious 8); Under anaesthesia large doses 9); Under anaesthesia — small doses 10).

1b) W narkozie uretanowej insulina wpływa na cukier krwi niejednolicie, zależnie od wielkości dawki (ryc. 1).. Jak widać z tabeli 1 już sama narkoza uretanowa, a także i eterowa, podwyższała stężenie cukru we krwi królików przeciętnie o 28%, przy czym wzrost ten był statystycznie istotny. Podwyższające cukier krwi działanie narkozy wykazał też Miętkiewski i wsp.

Względnie małe dawki insuliny (10—15 j./kg wagi) powodowały z reguły od 30 minuty obniżenie się poziomu cukru we krwi poniżej normal-

nego. W 120 minucie średnio o 32% i tylko ta obniżka była statystycznie istotna. Inne obniżki, w 15, 30 i 60 minucie okazały się statystycznie nieistotne.

Duże dawki insuliny (150 j. na kg wagi) działały inaczej niż małe. Nie tylko nie wywoływały hipoglikemii, ale hiperglikemię z podniesie-



Ryc. 1. Średnie zmiany poziomu cukru krwi po insulinie podanej: a) zwierzęciu przytomnemu — dawki różne, b) w narkozie uretanowej — dawki duże (150 j. na kg wagi), c) w narkozie uretanowej — dawki małe (10—15 j. na kg wagi).

Fig. 1. Average changes in blood sugar level after insulin: a) given in varying doses to a conscious animal; b) given in large doses (150 u./kg. body wt.) under urethan anaesthesia; c) given in small doses (10—15 u./kg. body wt.) under urethan anaesthesia.

niem poziomu cukru krwi o ok. 40% w porównaniu z wyjściowym. Dzieje się to szczególnie w pierwszych okresach po iniekcji insuliny, w 15 i 30 minucie od zastrzyku insuliny.

Zmienione działanie insuliny, przede wszystkim dużych jej dawek, nie mogło być efektem towarzyszących często insulinie zanieczyszczeń (glukagon), o czym wspominają Meduski, Chodera, Günther. Takiego działania nie miała insulina podawana królikom przytomnym. Poza tym hiperglikemia poinsulinowa trwała przez cały czas doświadczenia tj. przez dwie godziny, podczas gdy wzrosty cukru powodowane zanieczyszczeniem in-

suliny glukagonem są krótkotrwałe, w granicach 20 min., jak o tym piszą wyżej wymienieni.

Należałoby sądzić, że z dwóch czynników składających się na hyperglikemiczny efekt, tj. insuliny i narkozy, istotnym była narkoza uretanowa, która stale przeciwdziała wpływowi insuliny. Narkoza wyłączając ośrodki podkorowe regulacji cukru podwyższała glikozę krwi prawdopodobnie poprzez system nerwowy sympatyczny i nadnercza, albo też przez wpływ na przemianę węglowodanową organizmu. Poza narkozą, być może, i inne czynniki wpływają na insulinę na podobnych drogach. Zondeck i Ucko opisują wpływ chlorku magnezu i chlorku wapnia zmieniający działanie insuliny. Nieprawidłowe zachowanie się cukru krwi po insulinie opisują także Stöhr, Laqueur, Berkes.

## 2. Rozmieszczenie glikozy i glikogenu w nerce pod działaniem insuliny podawanej w narkozie uretanowej

W związku z teorią Klisieckiego wydzielania nerkowego ciekawi nas sprawa roli glikogenu nerkowego. Czy jest on tylko substancją zapasową, czy też może ma jakiś wpływ na cukier moczu. Poza tym chcieliśmy przekonać się jaki udział w krążeniu cukru mogą mieć poszczególne części nerki (korowa i rdzenna). Dlatego zajęliśmy się badaniem ilości i rozmieszczenia glikogenu, oraz zmianami stężenia glikozy w nerkach królików pod wpływem insuliny podawanej w narkozie uretanowej.

Po dożylnym podaniu uśpionym królikom 10 j. samej insuliny względnie razem z 4—5 g glikozy na kg wagi, stwierdzono wzrost poziomu glikozy w moczu, w nerce i w mięśniach. Wzrost ten jest statystycznie istotny (tab. 2). Szczególnie wyraźnie widać to po insulinie podanej razem z glikozą. Przekonano się przy tym, że mięśnie wykazują w porównaniu z innymi tkankami mniejszy wzrost glikozy, co wykazano już także w jednej z poprzednich prac [11]. Z pośród badanych tkanek i moczu po insulinie z glikozą najbardziej wzrastała glikoza w części rdzennej nerki i w moczu.

Ogólna ilość glikogenu w nerce po podaniu samej insuliny zmniejszyła się w porównaniu z nerką królika kontrolnego, zaś po insulinie z glikozą wzrosła (tab. 3). Zwiększyła się jego zawartość w części rdzennej nerki, a w części korowej nastąpił spadek. Statystycznie istotnym okazał się wzrost glikogenu w części rdzennej nerki po insulinie z glikozą. W mięśniach poziom glikogenu w obu wypadkach obniżył się istotnie. Wpływ samej insuliny na glikogen całej nerki był statystycznie nieistotny.

Jak wynika z tab 2 i 3 insulina podana w narkozie uretanowej, sama lub z glikozą, w działaniu na cukier nerki przypomina adrenalinę. Widać to dobrze w preparatach histologicznych. Zarówno po adrenalinie,

Tabela 2. Wpływ insuliny na cukier nerki i mięśni królików w narkozie

Table 2. The effect of insulin on the renal and muscular sugar of rabbits under anaesthesia

Badana tkanka 1)	Glikoza w mg% po: 2)					
	samej insuliny 3)			insuliny z glikozą 4)		
	przed 5)	po 6)	zmiany poziomu w % 7)	przed 5)	po 6)	zmiany poziomu w % 7)
Nerka cała 8)	217	247	+14	153	297	+ 95
Kora nerki 9)	171	272	+59	138	299	+117
Rdzeń nerki 10)	155	266	+46	121	310	+155
Mięśnie 11)	142	197	+38	148	208	+ 41
Mocz 12)	—	—	—	335	1783	+532

Tissue examined 1); Glucose in mg% after 2); insulin alone 3); insulin with glucose 4); before 5); after 6); Difference in % 7); Kidney (whole) 8); Renal cortex 9); Renal medulla 10); Muscles 11); Urine 12).

Tabela 3. Średnie zmiany poziomu glikogenu po podaniu insuliny w królików w narkozie.

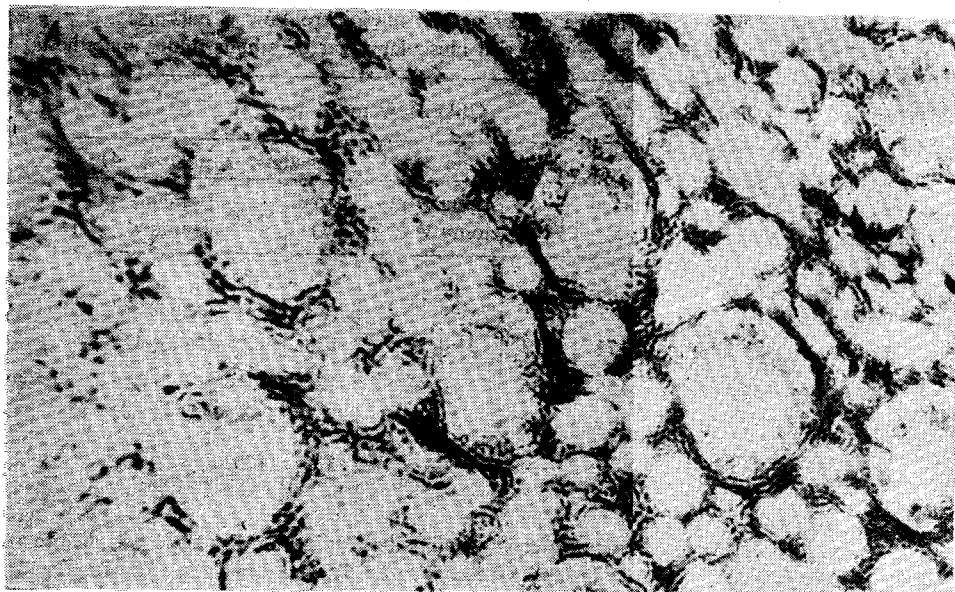
Table 3. The effect of insulin on the glycogen level in rabbits under anaesthesia

Badana tkanka	Glikogen w mg% po: 1)					
	samej insuliny			insuliny z glikozą		
	przed	po	zmiany poziomu w %	przed	po	zmiany poziomu w %
Nerka cała	119	111	— 7	122	134	+10
Kora nerki	121	90	—25	132	131	— 1
Rdzeń nerki	132	143	+ 7	132	147	+11
Mięśnie	627	401	—36	269	153	—43

Explanations as in Table 2.

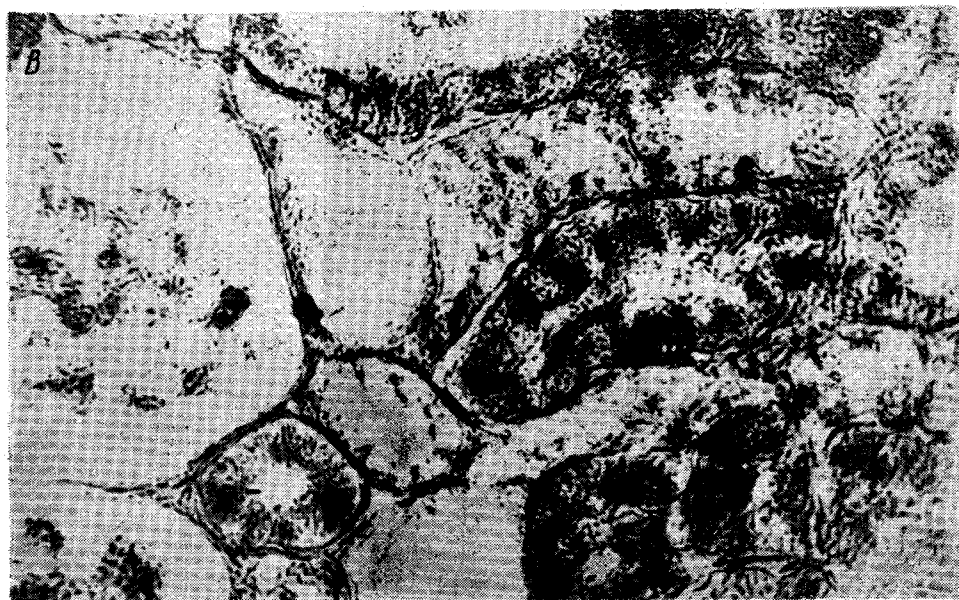
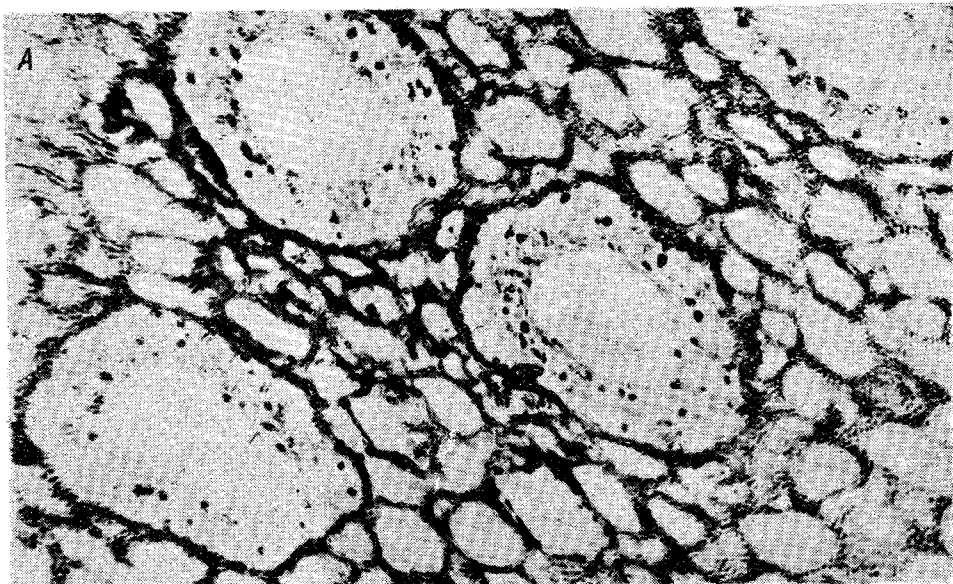
Glycogen in mg% after 1).

ryc. 3 A, B jak i po insuliny, ryc. 4 A, B podanej w narkozie uretanowej, glikogen jest usuwany z części korowej nerki i przemieszczany do rdziennej, gdzie gromadzi się obficie w komórkach kanalików wyprowadzających. Porównaj z ryc. 2 A, B nerki królika kontrolnego.



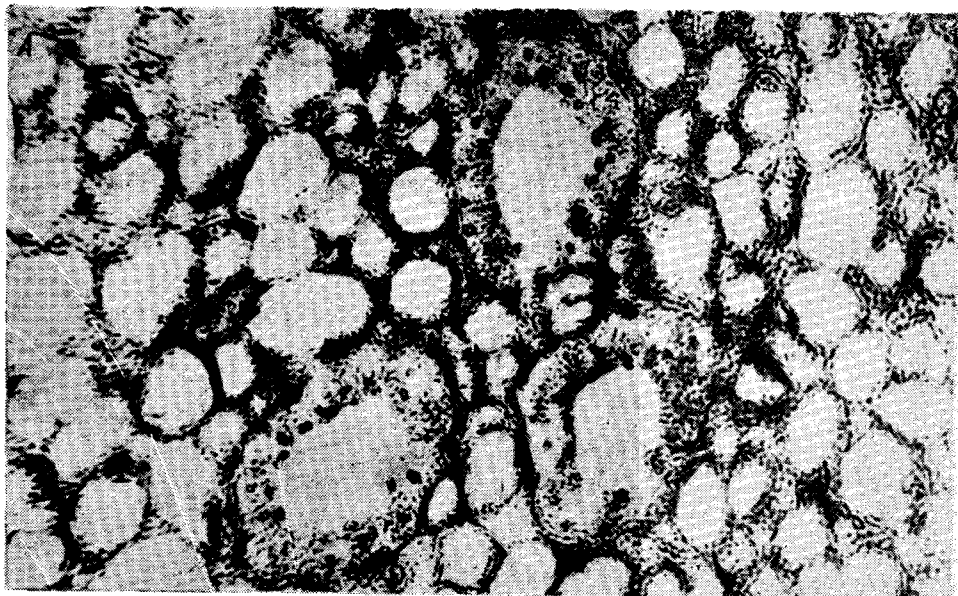
Ryc. 2. Rozmieszczenie glikogenu w nerce królika kontrolnego. Powiększenie 500 razy. A — część rdzenna nerki. Przekrój poprzeczny. W komórkach kanalików wyprowadzających bardzo nieliczne i małe ziarna glikogenu. B — część korowa nerki. W komórkach kanalików krętych liczne ziarna glikogenu.

Ryc. 2. Distribution of glycogen in the kidney of a control animal.  $\times 500$ . A — Medullary part. Cross-section. Few and small glycogen granules in the cells of the collecting tubules. B — Renal cortex. Numerous glycogen granules in the cells of the convoluted tubules.



Ryc. 3. Rozmieszczenie glikogenu w nerce królika po iniekcji adrenaliny. Powiększenie 500 razy. A — część rdzenna nerki. Przekrój poprzeczny. W komórkach kanalików wyprowadzających dość liczne i grube ziarna glikogenu. B — część korowa nerki. W komórkach kanalików krętych nieliczne ziarna glikogenu.

Fig. 3. Distribution of glycogen in the kidney of a rabbit after adrenaline injection.  $\times 500$ . A — Medullary part. Cross-section. In the cells of the collecting tubules, fairly numerous and large glycogen granules. B — Cortical part. Few grains of glycogen in the cells of convoluted tubules.



*Ryc. 4. Rozmieszczenie glikogenu w nerce królika w narkozie uretanowej po iniekcji insuliny. Powiększenie 500  $\times$ . A — część rdzenna nerki. Przekrój poprzeczny. W komórkach kanalików wyprowadzających dość liczne i grube ziarna glikogenu. B — część korowa nerki. W komórkach kanalików krętych stosunkowo nieliczne ziarna glikogenu.*

*Fig. 4. Distribution of glycogen in the kidney of a rabbit under urethan anaesthesia after insulin injection.  $\times 500$ . A — Medullary part. Cross-section. Fairly numerous and large glycogen granules in the cells of the collecting tubules. B — cortical region. Relatively few glycogen granules in the cells of the convoluted tubules.*



## OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przemieszczanie się glikogenu dowodzi, że nie jest on tylko biernie zalegającą w nerce substancją zapasową, ale że ma on jakąś rolę w krążeniu w niej cukru i wydalaniu go do moczu. W tych procesach widocznie czynne są kanaliki wyprowadzające, za czym przemawia gromadzenie się tam glikogenu. Kanaliki te zatem nie są tylko biernymi przewodami, przez które mocz spływa do miedniczek, lecz czynnie współpracują w wydalaniu przez nerkę różnych ciał, w tym przypadku cukru. Ich własna przemiana materii może mieć udział w procesie tworzenia moczu. W związku z powyższym wydaje się, że część wydzielnicza nerki nie kończy się na kanalikach drugiego rzędu, ale obejmuje i odcinki końcowe. Wobec tego dotychczasowy podział nerki na część wydzielniczą i wyprowadzającą nie ma uzasadnienia.

Przytoczone w pracy fakty oraz wypływające z nich wnioski potwierdzają jedno z założeń teorii nerkowej *Klisieckiego*, która między innymi głosi, że cała nerka, a więc i to co według *Cushny'ego* odgrywa bierną rolę, ma swój udział w procesie powstawania i wydalania moczu. Każda komórka nerki dzięki swoim przemianom wpływa na ostateczny jego skład. Z takim założeniem zgodne są wyniki badań ostatnich lat innych autorów. Podobne zjawisko udziału komórek kanalików zbiorczych w wędrowce mocznika w nerce oraz w zagęszczaniu moczu stwierdzili *Berliner* i wsp. (cytowane za *Manitusem*).

## WNIOSKI

1. Uretanowa narkoza wywołuje hiperglikemię. Może ona zniweczyć względnie osłabić właściwe insulinie działanie hipoglikemiczne.
2. W uretanowej narkozie insulina powoduje wzrost *glikozy* w całej nerce, zarówno w jej części korowej jak i rdzennej oraz w mięśniach. Zarazem zmniejsza się poziom *glikogenu* w mięśniach i w części korowej nerki, natomiast wzrasta w części rdzennej.
3. Przemieszczanie się glikogenu do komórek kanalików wyprowadzających nasuwa wniosek, że te partie kanalików mają czynny udział w wydalaniu cukru do moczu, jeśli okoliczności nie zezwalają na jego resorpcję. Wobec tego dotychczasowy podział nerki na część wydzielniczą i wyprowadzającą nie wydaje się w pełni uzasadniony. Wszystkie komórki nerki swą przemianą materii wpływają na skład moczu, podobnie jak wszystkie komórki innych tkanek decydują o składzie ich limfy i żylny krwi.

*М. Пыташ, Я. Зажуцки, Г. Шудловска*

## ГЛЮКОЗА И ПОЧЕЧНЫЙ ГЛИКОГЕН У КРОЛИКОВ В УРЕТАНОВОМ НАРКОЗЕ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИНСУЛИНА

### *Содержание*

Исследования, проведенные на 32 кроликах, обнаружили, что инсулин, введенный при уретановом наркозе, напоминает по своему действию адреналин. С целью выяснения этого явления авторы последовательно исследовали влияние инсулина на: 1) сахар крови у животного, находящегося в сознании (а) и в уретановом наркозе (б); 2) глюкозу и гликоген почки при наркозе уретаном.

У животных, находящихся в сознании, инсулин снижает уровень сахара в крови, при наркозе же действует он гипергликемическим образом, относительно слабо гипогликемическим, в зависимости от примененной дозы. Как кажется, эту неспецифическую реакцию инсулина вызывает уретановый наркоз, который сам повышая уровень сахара в крови, сводит на нет действие инсулина.

После применения различных доз инсулина под наркозом возрастает глюкоза в почке, в мышцах, в крови и в моче. Гликоген возрастает в мозговой части почки и во всей почке, снижаясь в корковой ее части и в мышцах. Из приведенных изменений статистически существенными являются только рост глюкозы, рост гликогена в мозговой части почки, а также снижение его в мышцах.

Таким образом эти изменения напоминали изменения, вызванные инъекцией адреналина, направления действия которого наркоз не изменял. Как после введения адреналина, так и после введения инсулина под наркозом, констатировали перемещение гликогена в мозговой слой почки. Такого рода отложение гликогена в клетках канальцев, причисляемых к выводным путям почки, должно влиять на выделение сахара в мочу. Констатирование, что эти канальцы могут принимать активное участие в выделении разных тел (в данном случае сахара) в мочу, вызывает сомнение относительно до настоящего времени принятого раздела почки на ее выделительную и выведенную части.

*М. Pytasz, J. Zarzycki, G. Szczudłowska*

## THE EFFECT OF INSULIN ON RENAL GLUCOSE AND GLYCOGEN IN RABBITS UNDER URETHAN ANAESTHESIA

### *Summary*

Investigations involving 32 rabbits, have shown the action of insulin given under urethan anaesthesia to resemble that of adrenaline. To clarify this, we consecutively investigated the effects of insulin on [1] the blood sugar of (a) conscious, and (b) urethan-anaesthetized animals, [2] renal glucose and glycogen under urethan anaesthesia.

In conscious animals insulin causes hypoglycaemia, and under urethan anaesthesia hyperglycemia or slight hypoglycaemia depending on dosage. The unspecific action of insulin seems to be attributable to urethan anaesthesia, which per se causes hyperglycaemia and thereby compensates the effect of insulin.

After varying doses of insulin given under anaesthesia, glucose increases in the kidneys, muscles, blood, and urine. Glycogen increases in the medullary part of the

kidney and in the kidney as a whole, but diminishes in the cortical part and in the muscles. Statistically significant is only the increase of glucose, and that of glycogen in the renal medulla, as well as its decrease in the muscles.

Consequently, the changes resembled those produced by adrenaline, the direction of which is not modified by anaesthesia. Glycogen was noted to shift to the renal medulla after both adrenaline and administration of insulin under anaesthesia.

This concentration of glycogen in the cells of the tubules that are reckoned among the collecting units of the kidney, must promote elimination of sugar with urine. The finding that the collecting tubules may actively participate in the excretion of various substances (in this case sugar) with urine raises reservations with regard to the current division of the kidney into an excretory and a collecting part.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Berkes J., Berkes P.: Hoppe Seyler's Ztschr. 1957, Bd. 308, 2, 136.
2. Brüggemann J., Schole J., Karg H.: Hoppe Seyler's Ztschr. 1955, 36, 41.
3. Chodera A., Chodera L.: Acta Physiol. Pol. 1956, 4, 449.
4. Chodera A., Chodera L.: Acta Physiol. Pol. 1958, 3, 359.
5. Günther W., Buddecke E., Kraft D.: Hoppe Saylor's Ztschr. 1956, Bd. 305, 2, 132.
6. Hinsberg K., Lang K.: Medizinische Chemie, zweite Auflage, Urban u. Scharzenberg, Munchen und Berlin, 1951, 201, 235.
7. Laqueur E., de Jough S. E.: Biochem. Ztschr. Bd. 1927, 163, 308.
8. Manñtius A.: Polski Tyg. Lek. 1960, 31, 103.
9. Meduski J., Mandes Z., Zabłocka B., Kozarzewska-Saper: Acta Physiol. Pol. 1954, 4, 639.
10. Miętkiewski E., Nowaczkiwicz K.: Acta Physiol. Pol. 1960, 3, 385.
11. Pytasz M.: Acta Physiol. Pol., 1957, 4, 623.
12. Pytasz M., Zarzycki J., Taborska J.: Acta Physiol. Pol. 1960, 5/6, 865.
13. Ruszczyc Z.: Metodyka doświadczeń zootechnicznych. Państw. Wyd. Roln. i Leśne. Warszawa, 1955, 194.
14. Stöhr R.: Hoppe Seyler's Ztschr. Bd. 1934, 5—6, 224, 229.
15. Zarzycki J.: Zoologica Poloniae, 1959—1960, 9, 4 (w druku).
16. Zondeck H., Ucko H.: Hoppe Seyler's Ztschr. Bd. 1925, 3, 111.

Otrzymano. 25. 2. 1961.

Adres autorów: Zakład Fizjologii AM, Wrocław, Chałubińskiego 10.