

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XIV, 16

SECTIO D

1959

Z Katedry Chemii Fizjologicznej Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Lublinie
Kierownik: prof. dr Janina Opieńska-Blauth

i z Katedry II Kliniki Chorób Wewnętrznych Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej
w Lublinie
Kierownik: prof. dr Alfred Roman Tuszkiewicz

Tomasz BORKOWSKI i Jan POKORA

Badania nad zużytkowaniem galaktozy u chorych na cukrzycę

**Исследования по усваиванию галактозы
больными сахарным диабетом**

**Studies on the Utilization of Galactose by Patients Affected
with Diabetes Mellitus**

Liczne badania nad metabolizmem węglowodanowym w cukrzycy odnoszą się nie tylko do przemiany glukozy, ale dotyczą również i przemiany innych, strukturalnie podobnych cukrów. Denis i Rothstein (6) wykazali, że insulina pobudza zużycie glukozy, fruktozy i galaktozy przez drażnioną przeponę szczura w warunkach aerobowych. Fischer i Lindsay (7) przedstawili dane, z których wynika, że insulina stymuluje przechodzenie galaktozy przez półprzepuszczalną błonę komórkową w przepłukiwanym preparacie serca szczura. Przedstawiona przez Levina i współpracowników (11, 8) teoria o podstawowej roli insuliny w procesie przepuszczalności komórkowej dla glukozy znalazła potwierdzenie w innych pracach. Wick (14) w doświadczeniach na ewiscerowanych królikach wykazał, że insulina stymuluje przechodzenie galaktozy przez półprzepuszczalną błonę komórek mięśniowych. Badania Chaikoffa (5) przeprowadzone na skrawkach wątroby szczura z alloksanową cukrzycą dowiodły, że preparaty takie utleniają w sposób normalny fruktozę, podczas gdy utlenianie glukozy jest wyraźnie zahamowane. Lamprecht i Transchold (10), potwierdzając powyższe wyniki, wykazali ponadto bezpośredni wpływ insuliny na przemianę glukozy w wątrobie. Po dożylnym wstrzyknięciu fruktozy u ludzi chorych na cukrzycę, fruktoza jest znacznie szybciej zużytkowana aniżeli

glukoza, co tłumaczone jest właśnie zahamowaniem metabolizmu glikozy bez zaburzeń w metabolizmie fruktozy (2,12,9).

Tematem niniejszej pracy było przebadanie szybkości zużytkowania galaktozy przez chorych na cukrzycę oraz wykazanie wpływu na ten proces równocześnie podawanej insuliny.

METODYKA BADAŃ

Podstawę metodyczną badań stanowiły prace dotyczące chromatograficznej modyfikacji testu galaktozowego na wydolność wątroby (3, 4). Szybkość zużytkowania galaktozy obserwowano na zasadzie oznaczania galaktozemii i galaktozurii metodą chromatografii bibułowej po doustnym obciążeniu badanego galaktozą.

Przebieg postępowania jest następujący: U badanego na czczo pobierało się 0,1 ml krwi z opuszki palca i mieszało z równą objętością 10% kwasu trójchlorooctowego w małej probówce wirówkowej. Równocześnie badany opróżniał całkowicie pęcherz z moczu, z którego pobierało się małą próbkę do analizy. Następnie podało się w 200 ml wody destylowanej drogą doustną galaktozę w ilości 0,5 g na 1 kg wagi ciała. W odstępach 30 minutowych pobierało się próbki krwi z palca i próbki moczu, przy czym badany oddawał za każdym razem całkowitą ilość moczu. Całość badania przeprowadzało się w ciągu 2 godzin. Probki krwi i moczu poddawane były następnie analizie chromatograficznej.

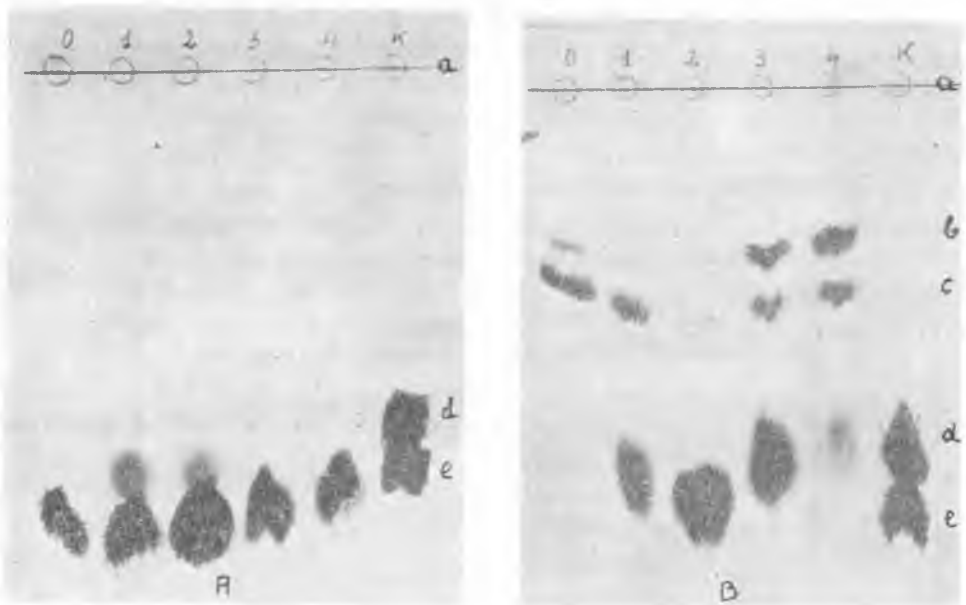
Dla uzyskania dobrych wyników rozdzielania odbiałzonej krwi próbki krwi nanoszono w ilości 40 μ l, zaś próbki moczu w ilości 20 μ l. Po rozwinięciu w układzie butanol-pirydyna-woda (40 : 25 : 45) i wywołaniu testem redukującym z azotanem srebra (13), obecność galaktozy w poszczególnych próbkach oraz jej stężenie oznaczano umownie znakami plus, w zależności od wielkości i intensywności zabarwienia plam.

BADANIA WŁASNE

Na wstępie przeprowadzono badania nad wpływem insuliny na szybkość zużytkowania galaktozy u ludzi zdrowych. Badanym na czczo po pobraniu próbki krwi i moczu równocześnie z podaniem galaktozy doustnie podawano podskórnie insulinę w ilości 0,4 j. na 1 kg wagi ciała. Wyniki uzyskane z doświadczeń przedstawia tab. 1, oraz ilustrują zdjęcia chromatogramów (ryc. 1 i 2).

Tab. 1. Wpływ insuliny na galaktozemię i galaktozurię u ludzi zdrowych.

| Czas w minutach | Bez insuliny | | Po insulinie | |
|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | Galaktoza we krwi | Galaktoza w moczu | Galaktoza we krwi | Galaktoza w moczu |
| 0 | — | — | — | — |
| 30 | ++ | + | ++ | + |
| 60 | + | ++ | + | ++ |
| 90 | — | ++ | — | ++ |
| 120 | — | + | — | + |



Ryc. 1. Chromatogram krwi i moczu człowieka zdrowego po doustnym obciążeniu galaktozą.

A — chromatogram krwi, B — chromatogram moczu, a — miejsce nakropienia, b — plamy kwasu uronowego, c — plamy kwasu moczowego, d — plamy galaktozy, e — plamy glikozy.

- 0 — próba zerowa przed podaniem galaktozy
- 1 — „ po 30 min. od podania galaktozy
- 2 — „ po 60 min. „ „ „
- 3 — „ po 90 min. „ „ „
- 4 — „ po 120 min. „ „ „
- K — cukry kontrolne

Chromatogram of blood and urine of a healthy man after oral administration of galactose.

A — chromatogram of blood, B — chromatogram of urine, a — the place with samples dropped for examination, b — spots of urinic acid, c — spots of uric acid, d — spots of galactose, e — spots of glucose.

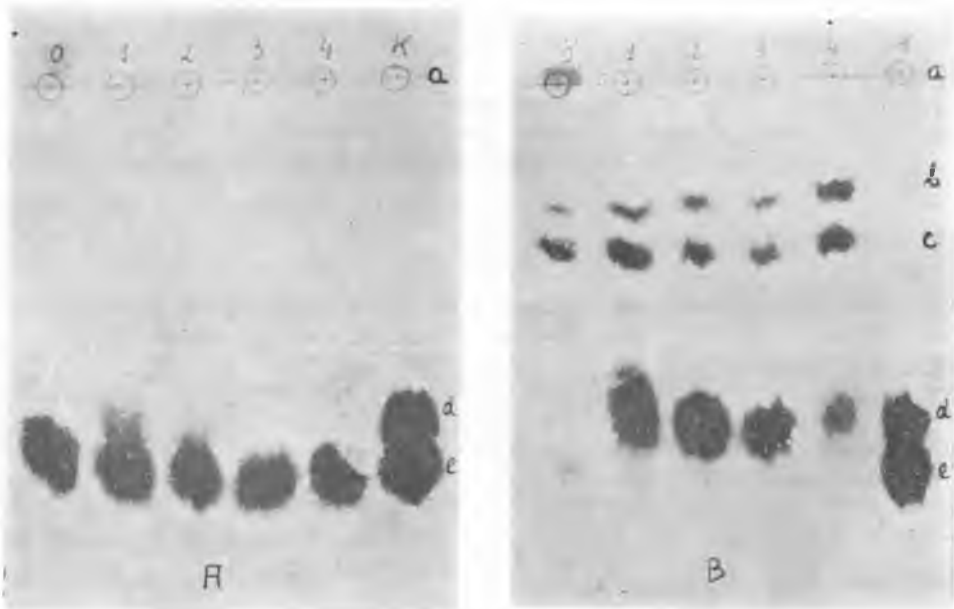
0 — the test performed before administration of galactose, 1 — the test performed 30 minutes after administration of galactose, 2 — the test performed 60 minutes after administration of galactose, 3 — the test performed 90 minutes after administration of galactose, 4 — the test performed 120 minutes after administration of galactose, K — control sugars.

Próby te przeprowadzone na pięciu ludziach zdrowych bez zaburzeń czynności wątroby, dały każdorazowo wynik jednoznaczny. Czas trwania galaktozemii i galaktozurii, jak również orientacyjnie określone stężenie galaktozy wskazują, że u ludzi zdrowych insulina nie wpływa w sposób widoczny na szybkość zużytkowania galaktozy.

Następna seria doświadczeń dotyczyła chorych z cukrzycą. U badanych wykonano oznaczenia galaktozemii i galaktozurii po doustnym podaniu galaktozy bez insuliny i z równoczesnym podskórnym jej wstrzyknięciem. Chorzy znajdowali się na diecie standardowej węglowodanowo-białkowej w stanie niewielkiej dekompensacji. Wyniki uzyskane z tych doświadczeń ilustruje tab. 2.

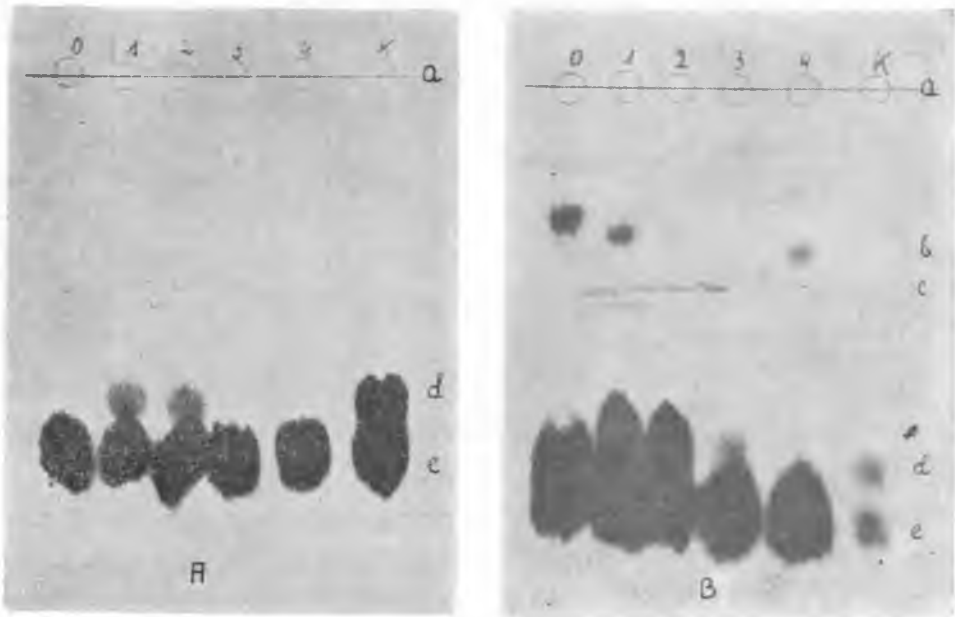
Tab. 2. Wpływ insuliny na galaktozemię i galaktozurię u ludzi chorych na cukrzycę.

| Czas w minutach | Bez insuliny | | Po insulinie | |
|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | Galaktoza we krwi | Galaktoza w moczu | Galaktoza we krwi | Galaktoza w moczu |
| 0 | — | — | — | — |
| 30 | ++ | + | ++ | + |
| 60 | + | ++ | + | ++ |
| 90 | — | + | — | + |
| 120 | — | śląd | — | śląd |



Ryc. 2. Chromatogram krwi i moczu człowieka zdrowego po doustnym obciążeniu galaktozą i równoczesnym podaniu insuliny. (objaśnienia, jak na ryc. 1).
Chromatogram of blood and urine of a healthy man after oral administration of galactose and simultaneous injection of insulin. (The same explanations as in Fig. 1).

Badania te przeprowadzono u trzech osobników przy czym uzyskane wyniki były jednakowe. Jak wynika z tab. 2, przebieg galaktozemii u chorych na cukrzycę nie różnił się od galaktozemii u ludzi zdrowych. Nie udało się również wykazać widocznego wpływu insuliny na szybkość zużytkowania galaktozy. Przebieg galaktozurii wskazuje na niewielkie zmniejszanie się wydalania galaktozy u chorych na cukrzycę, jednak bez widocznego wpływu insuliny na ten proces. Natomiast podanie insuliny w ilości 0,4 j. na 1 kg wagi ciała wyraźnie wpływa zarówno na poziom glikozy we krwi jak i na wysokość glikozurii. Ilustrują to zdjęcia chromatogramów (ryc. 3 i 4).



Ryc. 3. Chromatogram krwi i moczu chorego na cukrzycę (G. E.) po doustnym obciążeniu galaktozą (objaśnienia, jak na ryc. 1).

Chromatogram of blood and urine of a patient (G. E.) affected with diabetes mellitus after oral administration of galactose. (The same explanations as in Fig. 1).

Biorąc pod uwagę różne postaci i różne stany w przebiegu cukrzycy, przebadano zużytkowanie galaktozy u dziesięciu chorych przebywających w leczeniu w II Klinice Chorób Wewnętrznych. Wszyscy badani chorzy znajdowali się na specjalnej diecie węglowodanowo-białkowej stosowanej w tutejszej Klinice (tab. 3).

Podczas badania poziom cukru we krwi u chorych wahał się w granicach od 180—270 mg⁰/₁₀₀ przy równoczesnym dobowym wydalaniu gli-

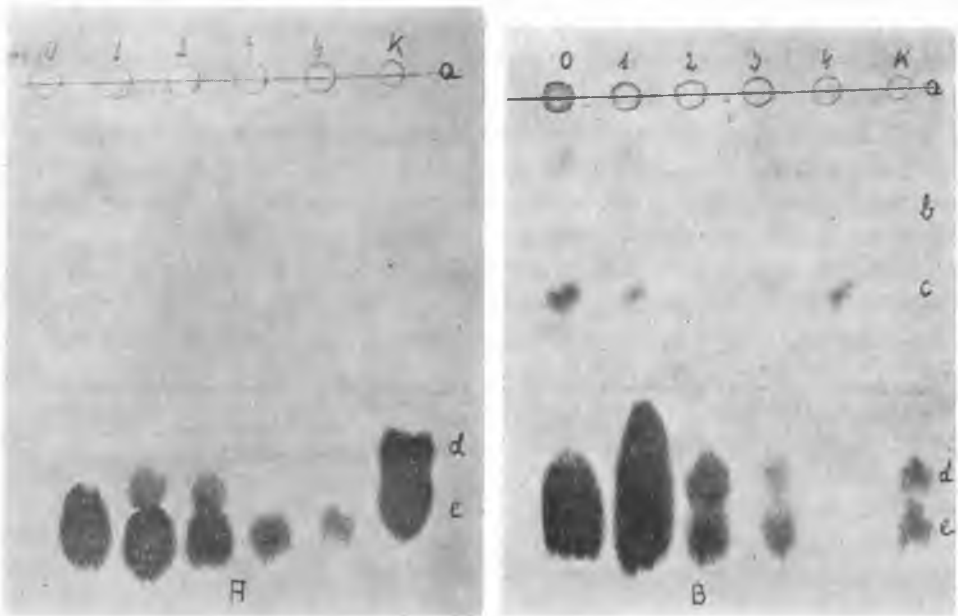
Tab. 3. Przebieg galaktozemii i galaktozurii u 10 chorych na cukrzycę.

| L. p. | Symbol | Analizowany materiał | Czas w minutach | | | | |
|-------|--------|----------------------|-----------------|----|------|------|------|
| | | | 0 | 30 | 60 | 90 | 120 |
| 1 | K. F. | krew | — | ++ | + | — | — |
| | | mocz | — | ++ | ++ | ++ | + |
| 2 | B. T. | krew | — | + | śląd | — | — |
| | | mocz | — | ++ | ++ | + | śląd |
| 3 | G. P. | krew | — | + | + | — | — |
| | | mocz | — | ++ | ++ | + | — |
| 4 | P. L. | krew | — | ++ | + | — | — |
| | | mocz | — | + | ++ | ++ | + |
| 5 | B. J. | krew | — | + | śląd | — | — |
| | | mocz | — | + | ++ | + | — |
| 6 | W. M. | krew | — | + | + | — | — |
| | | mocz | — | + | ++ | + | śląd |
| 7 | J. E. | krew | — | + | + | — | — |
| | | mocz | — | ++ | ++ | ++ | + |
| 8 | G. E. | krew | — | ++ | + | — | — |
| | | mocz | — | ++ | ++ | + | + |
| 9 | K. K. | krew | — | ++ | + | śląd | — |
| | | mocz | — | ++ | ++ | + | + |
| 10 | Z. S. | krew | — | + | + | — | — |
| | | mocz | — | + | ++ | + | + |

kozy w moczu od 7 do 60 g. Ilość podawanej insuliny na dobę wahała się od 40 do 70 j. w poszczególnych przypadkach. W dniu przeprowadzania próby chorzy nie otrzymywali insuliny. Ponadto u wszystkich badanych przeprowadzano kontrolę czynności wątroby, wykonując szereg badań pomocniczych, jak próbę tymolową, próbę kadmową, ilościowe oznaczenie frakcji białkowych surowicy i poziom bilirubiny we krwi. Wykonane próby wątrobowe nie wskazywały na obecność możliwego do wykazania stosowanymi metodami uszkodzenia mięszu wątrobowego.

Jak wynika z przytoczonej tabeli, przebieg galaktozemii w dziesięciu przebadanych wypadkach cukrzycy nie różnił się znacznie od przebiegu zużytkowania galaktozy u ludzi zdrowych. Obserwowane w dwóch wypadkach zmniejszenie natężenia galaktozemii w próbie po godzinie czasu, być może jest spowodowane zaciemnieniem obrazu chromatograficznego nadmierną hiperglikemią. Galaktozuria również nie różni się znacznie od szybkości wydalania galaktozy u ludzi zdrowych. U czte-

rech spośród dziesięciu badanych chorych w próbie dwugodzinnej nie stwierdzano lub stwierdzano jedynie śladowe ilości galaktozy, podczas gdy u pozostałych obecność galaktozy w próbie dwugodzinnej była zawsze wykazywana, podobnie jak to ma miejsce u ludzi zdrowych.



Ryc. 4. Chromatogram krwi i moczu chorego na cukrzycę (G. E.) po doustnym obciążeniu galaktozą i równoczesnym podaniu insuliny (objaśnienia jak na ryc. 1). Chromatogram of blood and urine of a patient (G. E.) affected with diabetes mellitus after oral administration of galactose and simultaneous injection of insulin. (The same explanations as in Fig. 1).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Spośród wielu teorii, starających się wyjaśnić rolę insuliny w metabolizmie węglowodanowym jedne oparte są o wyniki doświadczeń przeprowadzonych *in vitro* na tkance mięśniowej, inne na tkance wątrobowej. Wzrost aktywności glikozo-6-fosfatazy wątrobowej u szczurów alloksanowych, zmniejszany pod wpływem insuliny (1) wskazuje na udział wątroby w cukrzycowym zaburzeniu metabolizmu węglowodanowego. Lamprecht i Transchold (10) wykazali w doświadczeniach na wątrobie, że w cukrzycy alloksanowej rozkład glikozy jest zatrzymywany na etapie fosfotrioz przy równoczesnym prawidłowym przebiegu przemiany fruktozy.

W poprzednich obserwacjach wykazano (3, 4), że zastosowana w niniejszej pracy metodyka pozwala śledzić w warunkach *in vivo* szybkość

zużytkowania galaktozy u człowieka, któremu galaktoza była wprowadzona drogą doustną. Wykazano również, że zużytkowanie galaktozy znajduje się w bezpośrednim związku ze stanem funkcjonalnym wątroby.

Przeprowadzone obecnie przez nas doświadczenia nad szybkością zużytkowania galaktozy przez człowieka i wpływ insuliny na ten proces wykazały, że u ludzi zdrowych szybkość znikania galaktozy z krwiobieg i wydalania jej z moczem jest taka sama bez, jak i z równoczesnym podawaniem insuliny.

Równocześnie, wpływ insuliny na poziom glikozy we krwi, zaznaczał się wyraźnym zmniejszeniem intensywności plam glikozowych na chromatogramach jako wyraz przejściowej hipoglikemii. Doświadczenia, w których badano wpływ insuliny na zużytkowanie galaktozy u ludzi chorych na cukrzycę wykazały, że po podaniu równocześnie z galaktozą odpowiedniej dawki insuliny, występuje spadek glikozurii i wystąpienie hipoglikemii bez żadnych zmian w szybkości zużytkowania galaktozy.

Na podstawie tych wyników możnaby więc sądzić, że zarówno u ludzi zdrowych, jak i chorych na cukrzycę, insulina nie wywiera większego wpływu na szybkość metabolizowania galaktozy. Za słusznością tego twierdzenia przemawiać mogą również wyniki doświadczeń przeprowadzonych w dziesięciu wypadkach chorych na cukrzycę, u których podana doustnie galaktoza zużytkowana była z taką samą szybkością jak u człowieka zdrowego, niezależnie od aktualnie istniejącej hiperglikemii i glikozurii.

Przyjmując znaczny udział wątroby w cukrzycowym zaburzeniu metabolizmu glikozy (jak to było wykazane w licznych pracach prowadzonych *in vitro*) możnaby stwierdzić, że podobnie jak fruktoza również i galaktoza jest w tych warunkach metabolizowana w wątrobie prawidłowo. Zastrzec należy, że sposób określania galaktozemii i galaktozurii w naszej pracy miał charakter oznaczeń jakościowych, lub ilościowych. Stąd też wyniki doświadczeń nie dadzą się ująć liczbowo. Niemniej czas trwania galaktozemii i galaktozurii jest ściśle zależny od czynności wątroby i pozostaje w bezpośrednim związku z metabolizmem galaktozy.

P I S M I E N N I C T W O

1. Ashmore J., Hastings A. B., Nesbett F. B.: Proc. nat. Acad. Sci. Wash. **40**, 673, 1954.
2. Amaturi D. S., Stutzman F. I., Vanderbilt M. J., Norbit S.: J. Clin. Invest. **32**, 482, 1953.
3. Borkowski T.: Acta Physiol. Pol. **2**, 223, 1952.
4. Borkowski T., Tuszkiewicz A. R.: Ann. Univ. Mariae Curie Skłodowska. Sectio D. **9**, 131, 1954.
5. Chaikoff I. I.: Harveys Lectures Ser. **47**, 99, 1951.
6. Dennis D. J., Rothstein A.: Am. J. Physiol. **178**, 82, 1954.
7. Fisher R. B., Lindsay D. B.: J. Physiol. (London) **124**, 208, 1954.
8. Goldstein M. S., Henry W. L., Huddleston B., Levine R.: Am. J. Physiol. **173**, 207, 1953.
9. Jokipii G. G., Turpeinen O.: J. Clin. Invest. **33**, 452, 1954.

10. Lamprecht W., Transchold I.: H. S. Z. Physiol. Chem. 311, 245, 1958.
 11. Levine R., Goldstein M. S., Huddleston B., Klein S. P.: Am. J. Physiol. 163, 70, 1950. 12. Smith J. H. Jr., Ettinger R. H., Seligston D.: J. Clin. Invest. 32, 482, 1953. 13. Traveyan W. Z., Procter O. D., Harrison J. S.: Nature 166, 444, 1950. 14. Wick A. N. — cyt. wg Thompson R. H. S., King E. J.: Biochem. disorder in human disease — Churchill Ltd. London 1957.

Р Е З Ю М Е

Определяние галактоземии и галактозурии методом хроматографии на бумаге, после подачи исследуемому *per os* галактозы, авторами было применено для исследования, с какой скоростью галактоза подвергается усвоению здоровым человеком и человеком больным сахарным диабетом. Авторами установлено, что инсулин у здорового человека вовсе не влияет на скорость усвоения галактозы. Также и в случаях заболевания сахарным диабетом инсулин, вызывая появление гипогликемии и исчезновение гликозурии, совершенно не влияет на скорость усваивания галактозы. В десяти случаях сахарного диабета авторами не обнаружено более быстрого усвоения галактозы, а количество галактозы в крови и в моче не находилось в какой-нибудь зависимости от степени усиления гипергликемии и гликозурии.

Рис. 1. Хроматограмма крови и мочи здорового человека после подачи *per os* галактозы.

A — хроматограмма крови, B — хроматограмма мочи.

a — место нанесения, b — пятна урановой кислоты,

c — пятна мочевой кислоты, d — пятна галактозы,

e — пятна гликозы.

0 — нулевая проба до подачи галактозы

1 — проба спустя 30 мин. с момента подачи галактозы

2 — " " 60 " " " " "

3 — " " 90 " " " " "

4 — " " 120 " " " " "

K — контрольные сахара

Рис. 2. Хроматограмма крови и мочи здорового человека после подачи *per os* галактозы и одновременно инсулина (обозначения как рис. 1).

Рис. 3. Хроматограмма крови и мочи больного сахарным диабетом после подачи *per os* галактозы (обозначения как на рис. 1).

Рис. 4. Хроматограмма крови и мочи больного сахарным диабетом после подачи *per os* галактозы и одновременно инсулина (обозначения как на рис. 1).

Табл. 1. Влияние инсулина на галактоземию и галактозурию у здоровых людей.

Табл. 2. Влияние инсулина на галактоземию и галактозурию у больных сахарным диабетом.

Табл. 3. Характер процесса галактоземии и галактозурии у больных сахарным диабетом.

SUMMARY

Determinations of galactosaemia and galactosuria by paper chromatography were carried out after oral administration of galactose to healthy men and to some affected with diabetes mellitus in order to examine the rate of utilization of galactose. It was found that insulin exerted no effect on the rate of utilization of galactose in healthy men. In patients affected with diabetes mellitus, insulin causes the appearance of hypoglycaemia and disappearance of glycosuria but exerts no influence on the rate of utilization of galactose. The rate of utilization of galactose in 10 patients affected with diabetes mellitus was not increased and the degree of galactosaemia and galactosuria was independent of the intensity of hyperglycaemia and glycosuria.