

Katedra I i II Klinika Chorób Wewnętrznych. Wydział Lekarski.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr med. Jan Kowalewski

Janusz HANZLIK, Jerzy ŁOPATYŃSKI,
Włodzimierz TYBURCZYK, Janina PASZKOWSKA

Badania nad składem chemicznym ściany naczyniowej.
X. Badania nad dynamiką wpływu ACTH na mukopolisacharydy
ściany naczyniowej

Исследования химического состава стенки кровеносных сосудов.
X. Исследования динамики влияния ACTH на мукополисахариды стенки
кровеносных сосудов

Studies on the Chemical Composition of Arterial Wall. X. Studies of the Dynamics
of ACTH on Mucopolysaccharides of Arterial Wall

Ściana naczyniowa zbudowana jest głównie z elementów łącznotkankowych, stąd metabolizm ściany naczyniowej łączy się z metabolizmem tkanki łącznej. W obrębie składników pozakomórkowych tkanki łącznej wyróżnia się elementy upostaciowane — przeważnie włókna kolagenowe oraz bezpostaciową substancję podstawową zawierającą głównie mukopolisacharydy.

W poprzednich naszych pracach przedmiotem zainteresowania były badania nad dynamiką wpływu ACTH na niektóre frakcje kolagenu ściany tętnicy głównej (2, 8), obecnie zajmujemy się dynamiką wpływu ACTH na mukopolisacharydy ściany naczyniowej. Za biochemiczny wykładnik tak kwaśnych, jak i obojętnych mukopolisacharydów uważa się określenia stężenia heksozamin w hydrolizatach tkankowych ściany naczyniowej.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badania prowadzono na jednorocznych samicach szczura szczepu Wistar, które podzielono na następujące grupy doświadczalne: I grupa kontrolna (10 szczurów); szczury grupy II i III (po 10 szczurów każda) otrzymywały iniekcje ACTH w ilości 0,333 j/100 g wagi wyjściowej szczura 3× w tyg. przez 7 tyg. wg Wexlera i Millera (14). Zwierzęta grupy I zostały użyte do badań natychmiast po zakończeniu inj. ACTH, natomiast zwierzęta grupy III przez okres dalszych 7 tyg. przebywały w hodowli i dopiero po tym okresie zostały użyte do badań.

Tabela 1

Grupa dośw. rzut	Ilość zwierząt	Frakcja A			Frakcja B			Frakcja C			Frakcja D			Frakcja E		
		N	Hekso	Hekso	N	Hekso	Hekso	N	Hekso	Hekso	N	Hekso	Hekso	N	Hekso	Hekso
		mg/g wilg. tkanki	mg/g wilg. tkanki	mg/g wilg. tkanki	mg/g wilg. tkanki	mg/g wilg. tkanki	mg/g wilg. tkanki	mg/g wilg. tkanki	mg/g wilg. tkanki	mg/g wilg. tkanki	mg/g wilg. tkanki	mg/g wilg. tkanki	mg/g suchej masy	mg/g suchej masy	mg/g suchej masy	N
I	10	1,51 ± 0,47	0	7,66 ± 0,65	1,42 ± 0,36	0,18 ± 0,04	2,07 ± 0,22	0,89 ± 0,09	0,43 ± 0,07	1,06 ± 0,17	0,23 ± 0,02	0,21 ± 0,05	13,97 ± 2,13	0,646 ± 0,067	0,048 ± 0,009	
II	10	0,99 ± 0,48	0	9,68 ± 1,39	1,64 ± 0,34	0,17 ± 0,03	2,40 ± 0,58	0,65 ± 0,09	0,28 ± 0,07	0,81 ± 0,4	0,17 ± 0,06	0,24 ± 0,13	19,99 ± 2,02	0,714 ± 0,145	0,036 ± 0,008	
III	10	1,49 ± 1,08	0	8,29 ± 0,47	2,81 ± 0,98	0,34 ± 0,12	1,33 ± 0,21	0,76 ± 0,02	0,56 ± 0,06	0,88 ± 0,13	0,22 ± 0,01	0,26 ± 0,07	11,96 ± 3,81	0,507 ± 0,156	0,043 ± 0,011	
„P“	I-II	r.n.		< 0,01	r.n.	r.n.	r.n.	< 0,01	< 0,001	r.n.	r.n.	r.n.	< 0,01	r.n.	r.n.	r.n.
	I-III	r.n.		r.n.	< 0,02	< 0,01	< 0,001	< 0,05	< 0,01	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	< 0,05	< 0,05	< 0,05
	I-III	r.n.		< 0,05	< 0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,05	< 0,01	r.n.	r.n.	r.n.	< 0,01	< 0,05	< 0,05	r.n.

N — azot całkowity, Hekso — heksozamina, r. n. — różnica statystycznie nieistotna, Grupa II — została użyta do badań natychmiast po zakończeniu podawania ACTH, Grupa III — badano po 7-tyg. przerwie od zakończenia podawania ACTH.

N — total nitrogen, Hekso — hexosamines, r. n. — statistically insignificant difference, Group II — used in the experiments immediately after finishing ACTH administration, Group III — examined after 7-week interval following the finishing of ACTH administration.

Zwierzęta dekapitowano, przygotowując w całości tętnice główne. Od wypreparowanej aorty dokładnie oddzielano błonę wewnętrzną, używając do tego celu specjalnych nożyków. Po oczyszczeniu naczyń z resztek krwi, tętnice główne rozcinano i po kontroli wzrokowej natychmiast ważono. W każdym przypadku dokładnie przestrzegano tej samej procedury. Następnie aorty homogenizowano w szklanym homogenizatorze typu Potter-Elvehjem, sporządzając każdorazowo 2,5% homogenat wodny tkanki. Następnie zastosowano zmodyfikowane postępowanie ekstrakcyjne wg Greena i Lowthera (7, 2). W wyniku zastosowania wymienionego postępowania ekstrakcyjnego otrzymano 5 frakcji, które odpowiednio oznaczono literami A, B, C, D i E. Próbkę ze wszystkich frakcji hydrolizowano w 2N HCl w temp. 118°C przez 2 godz. We wszystkich hydrolizatach oznaczono zawartość heksozamin wg met. Elsona i Morgana (6) w mod. Boasa (1). Otrzymane wartości wyrażano w stosunku do zawartości azotu całkowitego poszczególnych frakcji, określanego wg met. Burcka (4).

Wyniki badań opracowano statystycznie za pomocą „testu małej próby” Studenta (11) i przedstawiono w tab. 1.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wiele doświadczeń wskazuje na fakt, że tkanka łączna z jej elementami upostaciowanymi i bezpostaciową substancją podstawową jest terenem oddziaływania kortykosterydów. Należy podkreślić, że ani czynnik sterujący wydzielaniem ACTH (corticotropin releasing factor) ani ACTH nie oddziałują na tkankę łączną. Działają na nią jedynie hormony sterydowe, dla których ACTH jest jedynym bodźcem wydzielniczym.

Sobel i wsp. (12, 13) po podawaniu kortyzonu stwierdzili zmniejszenie zawartości heksozamin w skórze. Podobnie zwolnienie syntezy mukopolisacharydów po podawaniu kortyzonu przy zastosowaniu izotopów ^{35}S i ^{14}C obserwowali Dorfman i Schiller (5). Badania Laytona (9, 10) potwierdziły hamowanie inkorporacji ^{35}S do mukopolisacharydów pod wpływem kortyzonu tak „in vitro”, jak „in vivo”. Badania autoradiograficzne Boströma (3) pozostają w zgodności z badaniami wymienionych wyżej autorów.

W badaniach własnych we frakcji A nie stwierdzono obecności heksozamin. We frakcji B — w grupie II stwierdzono zmniejszenie współczynnika heksozaminy/azot całkowity; wzrósł on jednak znacząco po 7 tyg. przerwie w stosowaniu ACTH. Podobny charakter miały zmiany we frakcji C. Różnice obserwowane we frakcji D nie były znaczne.

Wyniki naszych badań potwierdzają dane innych autorów o zwolnieniu syntezy mukopolisacharydów pod wpływem kortykosterydów. Na uwagę zdaje się zasługiwać fakt, że po 7 tygodniowej przerwie w podawaniu ACTH obserwuje się dążność do normalizacji stężeń heksozamin. Pozostawać to może w związku z dużą aktywnością metaboliczną

mukopolisacharydów, ujawniającą się dość szybko po zaprzestaniu podawania ACTH. W naszych poprzednich badaniach nad dynamiką oddziaływania ACTH na drugi zasadniczy składnik łącznotkankowy — kolagen — obserwowaliśmy zjawisko zupełnie odwrotne, a mianowicie nasilenie się zmian mimo zaprzestania podawania ACTH (2). Dokładniejsza jednak interpretacja tego zjawiska wymaga oczywiście dalszych badań.

Na podstawie przeprowadzonych badań wysuwamy następujące wnioski:

1. Podawanie ACTH w dawkach 0,333 j/100 g wagi wyjściowej szczura 3 × w tyg. przez 7 tyg. wg Wexlera i Millera powoduje zmniejszenie zawartości heksozamin w niektórych rozpuszczalnych frakcjach ściany naczyniowej.

2. W 7 tygodni po zaprzestaniu podawania inj. ACTH obserwuje się tendencję wzrostu zawartości heksozamin w rozpuszczalnych frakcjach ściany naczyniowej.

PIŚMIENNICTWO

1. Boas N. F.: *J. Biol. Chem.*, **204**, 553—557, 1953.
2. Borkowski T., Hanzlik J., Tyburczyk W., Paszkowska J.: *Pol. Arch. Med. Wewn.*, **37**, 13—16, 1966.
3. Boström H., Odelblad E.: *Arkiv. Kemi*, **6**, 39—41, 1953.
4. Burck H. C.: *Mikrochim. Acta*, **2**, 200—202, 1960.
5. Dorfman A., Schiller S.: *Rec. Progr. Hormone Res.*, **14**, 427—429, 1958.
6. Elson L. A., Morgan W. T. J.: *Biochem. Journ.*, **27**, 1824—1827, 1933.
7. Green N. M., Lowther D. A.: *Biochem. Journ.*, **71**, 55—59, 1959.
8. Hanzlik J.: *Pol. Arch. Med. Wewn.*, **35**, 120^e—1213, 1965.
9. Layton L. L.: *Arch. Biochem.*, **32**, 224—226, 1951.
10. Layton L. L.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **76**, 596—597, 1951.
11. Rydygier J.: *Pol. Tyg. Lek.*, **2**, 739—743, 1947.
12. Sobel H., Gybay S., Johnson C.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **99**, 296—298, 1958.
13. Sobel H., Mormorston J.: *Endocrinology* **55**, 21—23, 1954.
14. Wexler B. C., Miller B. F.: *Science*, **127**, 590—592, 1958.

Otrzymano 26 III 1969.

РЕЗЮМЕ

Определяли содержание гексозамина и полного азота в аортах крыс, которым давали АСТН. Исследования проводили на 30 крысах штамма Вистар. Часть из них исследовали непосредственно после инъекции АСТН, а остальных исследовали после 7-недельного пере-

рыва. Исследовали гомогенаты главных артерий, которые были подвергнуты модифицированной экстракционной процедуре по методу Грина и Ловтера.

У крыс, обследованных непосредственно после инъекции АСТН, наблюдали уменьшение гексозамина, а у крыс, обследованных после 7-недельного перерыва, наблюдали увеличение его содержания.

S U M M A R Y

Hexosamine concentration and total nitrogen content of the aortic wall was determined after the administration of ACTH. All the experiments were carried out on Wistar rats divided into two groups. The first group of rats was examined immediately after 7-week period of injections while the second group — after 7-week interval following the finishing of the course of ACTH injections. All the experiments were made on aortic homogenates subjected to a modified extraction procedure according to Green and Lowther.

Immediately after the finishing of the 7-week treatment with ACTH the decreased hexosamine concentration in the aortic wall was observed. In the second group of animals a slight tendency towards an increase in the aortic hexosamine concentration was stated.

