

Über Stoffwechselwirkungen von Prostaglandinen

I. Der Einfluß von Prostaglandin E₁ auf den Glucose- und Fettstoffwechsel des epididymalen Fettgewebes der Ratte*

E. BÖHLE, E. DÖBERT, J. AMMON und H. DITSCHUNEIT**

I. Medizinische Klinik (Direktor Prof. Dr. F. HOFF,) und Abteilung für Klinische Endokrinologie
(Leiter: Prof. Dr. E. F. PFELFFER)

Eingegangen am 25. Februar 1966

On the metabolic effects of prostaglandins. I. The influence of prostaglandin E₁ on carbohydrate and lipid metabolism of rat epididymal fatty tissue.

Summary. Prostaglandins are hormone-like substances, which are synthesized in mammals from C₂₀-fatty acids with 3–5 double bonds. Recently it was shown that these substances inhibit the activation of lipolysis in fatty tissue. We have investigated the effect of 0.1 µg/ml PGE₁ (prostaglandin E₁) on the carbohydrate and fat metabolism of isolated epididymal tissue in rats, utilizing glucose-containing buffers with and without addition of 500 µU/ml insulin, 0.1 µg/ml adrenaline and 25 µg/ml human growth hormone. At the above mentioned concentration, PGE₁ influenced the basal lipolysis (release of glycerol) to a greater extent than insulin. — The growth hormone- and adrenaline-induced activation of glycerol liberation from fatty acids was decreased by PGE₁. The basal oxidation of 1-¹⁴C-glucose to ¹⁴CO₂ was stimulated by about 70% through the action of PGE₁. This stimulation amounted to nearly one-tenth of the effect of 500 µU/ml of insulin. The influence of PGE₁ on glucose oxidation could be significantly increased by the addition of adrenaline and growth hormone. Glucose oxidation stimulated by PGE₁ amounted to one-third of the stimulation produced by insulin; and corresponded to the effect of 0.1 µg/ml of adrenaline and 25 µg/ml of growth hormone. PGE₁ only intensified the increase in glucose uptake caused by adrenaline. The effect of growth hormone was not influenced. Addition of PGE₁ to the incubation media raised by almost 80% the incorporation of 1-¹⁴C-glucose into the lipids of the epididymal fatty tissue; this corresponded to approximately 10% of the effect of insulin, 40% of the effect of adrenaline and 80% that of growth hormone. The effect of the last two hormones was slightly stimulated by the simultaneous addition of PGE₁ to the incubation media. These experiments indicate that PGE₁ influences both glucose and lipid metabolism in epididymal fatty tissue. It is proposed that the stimulating effect of PGE₁ on glucose utilization is a consequence of regulatory changes in cellular metabolism and is closely related to antilipolytic activity.

L'action métabolique des prostaglandines. I. L'influence de la prostaglandine E₁ sur le métabolisme des lipides et hydrates de carbone du tissu adipeux épидидymaire du rat.

Résumé. Les prostaglandines sont des substances dont les actions sont semblables à celles des hormones et qui sont synthétisées dans l'organisme des mammifères à partir d'acides gras à 20 atomes de carbone avec 3–5 doubles liaisons. On a décrit récemment que ces substances inhibent l'activation de la lipolyse au niveau du tissu adipeux. — Nous avons étudié l'action de la prostaglandine E₁ (PGE₁), 0.1 µg/ml, sur le métabolisme des lipides et des hydrates de carbone dans le tissu adipeux épидидymaire du rat. Les tissus ont été incubés

dans une solution tampon contenant du glucose, avec ou sans insuline, 500 µU/ml, adrénaline, 0.1 µg/ml, ou hormone somatotrope, 25 µg/ml. Nous avons observé que la lipolyse basale est affectée davantage par la PGE₁ que par l'insuline, aux concentrations indiquées, et que la PGE₁ diminue fortement l'activation de la libération de glycérol induite par la présence de somatotropine ou d'adrénaline. En présence de PGE₁ l'oxydation basale de glucose-1-C¹⁴ est augmentée de 70%, ce qui représente un effet de dix fois inférieur à celui de l'insuline. L'action de la PGE₁ sur l'oxydation du glucose est augmentée en présence d'adrénaline ou d'hormone somatotrope. La PGE₁ augmente également l'utilisation du glucose bien que son effet ne représente environ qu'un tiers de celui de l'insuline; cet effet est approximativement équivalent de celui résultant de la présence de 0.1 µg/ml d'adrénaline ou de 25 µg/ml d'hormone somatotrope. L'augmentation de l'utilisation du glucose résultant de la présence de l'adrénaline est renforcée par la PGE₁; l'action de l'hormone somatotrope n'est pas influencée par sa présence. La PGE₁ augmente de 80% l'incorporation de glucose-1-C¹⁴ dans les lipides épидидymaires du tissu adipeux, un effet qui, de nouveau, représente environ un dixième de celui de l'insuline et environ 40 à 80% de l'action de l'adrénaline ou de l'hormone somatotrope. L'action de ces deux hormones est augmentée par l'addition simultanée de la PGE₁ au milieu d'incubation. — Il semblerait donc que la PGE₁ n'influence pas seulement le métabolisme du glucose mais également celui des lipides du tissu adipeux épидидymaire de rat. Il est probable que la stimulation du métabolisme du glucose par la PGE₁ est le résultat des réajustements du métabolisme cellulaire par suite de son action antilipolytique.

Zusammenfassung. Prostaglandine sind hormonartige Wirkstoffe, die im Säugetierorganismus aus C₂₀-Fettsäuren mit 3–5 Doppelbindungen synthetisiert werden. Vor kurzem wurde nachgewiesen, daß diese Verbindungen die Freisetzung von unveresterten Fettsäuren und Glycerin aus dem Fettgewebe hemmen. — In eigenen Versuchen wurde die Wirkung von 0.1 µg/ml Prostaglandin E₁ (PGE₁) auf den Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel des isolierten epididymalen Fettgewebes der Ratte in glucosehaltiger Pufferlösung mit und ohne Zusatz von 500 µE/ml Insulin, 0.1 µg/ml Adrenalin und 25 µg/ml menschlichem Wachstumshormon geprüft. — In den angegebenen Konzentrationen ist der Einfluß von PGE₁ auf die basale Lipolyse (Glycerinfreisetzung) etwas größer als die Insulinwirkung. Die durch Wachstumshormon und Adrenalin induzierte Aktivierung der Glycerinfreisetzung aus dem Fettgewebe wird durch PGE₁ stark herabgesetzt. — Die basale Oxydation von 1-¹⁴C-Glucose zu ¹⁴CO₂ wird durch PGE₁ um annähernd 70% gesteigert. Im Vergleich zur Wirkung von 500 µE/ml Insulin ist der PGE₁-Effekt um fast eine Zehnerpotenz geringer. Der Einfluß von PGE₁ auf die Glucoseoxydation läßt sich durch Zusatz von Adrenalin und Wachstumshormon signifikant erhöhen. — Die Glucoseaufnahme erfährt durch PGE₁ eine Steigerung, die annähernd 1/3 der Insulinwirkung ausmacht und die in etwa der Wirkung von 0.1 µg/ml Adre-

* Herrn Prof. Dr. F. Hoff zum 70. Geburtstag gewidmet.

** Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

nalin und 25 $\mu\text{g/ml}$ Wachstumshormon entspricht. PGE_1 verstärkt lediglich die durch Adrenalin verursachte Zunahme der Glucoseaufnahme. Der Effekt des Wachstumshormons wird nicht beeinflusst. — Durch Zusatz von PGE_1 zum Inkubationsmedium wird der Einbau von $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Glucose in die Lipide des epididymalen Rattenfettgewebes um fast 80% verstärkt. Das entspricht etwa 10% der Insulinwirkung und 40% bzw. 80% der Wirkung von Adrenalin bzw. Wachstumshormon. Die Effekte der bei-

den letztgenannten Hormone werden durch gleichzeitige Zugabe von PGE_1 zur Inkubationsflüssigkeit gering gesteigert. — Aus den Untersuchungen geht hervor, daß PGE_1 sowohl in den Glucose- als auch in den Fettstoffwechsel des epididymalen Rattenfettgewebes eingreift. Es wird vermutet, daß der stimulierende Effekt von PGE_1 auf die Glucoseutilisation Folge einer regulatorischen Umstellung im Zellstoffwechsel ist und mit seiner antilipolytischen Wirkung zusammenhängt.

Die Erforschung der metabolischen Wirkungen der Prostaglandine (Übersicht siehe BERGSTRÖM u. SAMUELSSON, [8] erstreckte sich bisher im wesentlichen auf Untersuchungen ihres antilipolytischen Effektes. STEINBERG et al. [33] konnten 1963 zeigen, daß Prostaglandin E_1 (PGE_1) in vitro sowohl die basale als auch die gesteigerte Glycerinfreisetzung durch Adrenalin, Noradrenalin, ACTH, Glucagon und TSH aus dem epididymalen Fettgewebe gefütterter Ratten hemmt. Weitere Untersuchungen haben diese Befunde bestätigt [4, 9, 34, 35]. Eine Beeinträchtigung der in vitro-Lipolyse durch PGE_1 wurde neuerdings auch am menschlichen Fettgewebe beobachtet [3]. Darüber hinaus ergaben sich auf Grund tierexperimenteller Untersuchungen Anhaltspunkte für eine Wirkung von PGE_1 auf die gesteigerte Lipolyse nach Brenzkatechinaminen [5, 9, 13] beim Diabetes mellitus (Houssay-Hund) [10] und im Hungerzustand [10]. Nach eigenen Beobachtungen hemmt PGE_1 bei Kaninchen auch die heparininduzierte intravasale Triglyceridhydrolyse [11].

Soweit bei diesen Studien der Kohlenhydratstoffwechsel berücksichtigt wurde, beschränkten sich die Untersuchungen zumeist auf das Verhalten des Blutzuckers. BERGSTRÖM et al. [5] und STEINBERG et al. [34] stellten fest, daß beim Hund die Adrenalinhyperglykämie durch PGE_1 nicht beeinflusst wird. Alleinige PGE_1 -Injektion verursacht lediglich einen leichten Blutzuckeranstieg [5, 10, 34]. Nach BERGSTRÖM und CARLSON [3] wird die in vitro-Glucoseaufnahme von menschlichem Fettgewebe durch Noradrenalin, PGE_1 oder Zusatz beider Wirkstoffe zum Inkubationsmedium nicht verändert.

Systematische Untersuchungen zur Frage der Beeinflussung des Kohlenhydratstoffwechsels durch Prostaglandine stehen allerdings noch aus. Wir prüften daher unter standardisierten Versuchsbedingungen am isolierten epididymalen Fettgewebe der Ratte die Wirkung von Prostaglandin E_1 auf die Oxydation von $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Glucose zu $^{14}\text{CO}_2$, auf die Glucoseaufnahme, die Lipidsynthese und die Glycerinfreisetzung mit und ohne Zusatz von Insulin, Wachstumshormon und Adrenalin.

Material und Methodik

Männliche Wisterratten (160–180 g), die mit der Standard-Diät Altromin (Fa. Altrogge, Lage) ad libitum gefüttert waren, wurden dekapitiert und entblutet. Das epididymale Fettgewebe der Tiere wurde sofort in die Inkubationsflüssigkeit (s. u.) verbracht, die die verschiedenen Wirkstoffe enthielt. Den einzel-

nen Meßwerten lagen jeweils Doppelbestimmungen zu Grunde. Der eine Inkubationsansatz enthielt 3 distale Fettzipfel der rechten Hoden von 3 verschiedenen Ratten, der andere Ansatz 3 distale Fettzipfel der linken Hoden der entsprechenden Tiere. Das Gesamtgewicht von 3 Fettzipfeln eines Ansatzes betrug etwa 100 mg. Die Gesamt-Inkubationszeit belief sich bei sämtlichen Versuchen auf 3 Stunden.

Die Messung der Glucoseoxydation erfolgte entsprechend dem von DITSCHUNEIT et al. [16] beschriebenen Verfahren zur Bestimmung von Insulin im Blut. Als Inkubationsmedium diente Phosphatpuffer folgender Zusammensetzung: M/150 K_2HPO_4 , 0.9% NaCl, 200 mg% Glucose, 10% Hämaccel; pH = 8.0. Die freigesetzte $^{14}\text{CO}_2$ -Aktivität wurde durch Imp/min/mg Fettgewebe angegeben.

Gleichzeitig wurde die Glucoseaufnahme des Rattenfettgewebes nach AMMON et al. [2] durch Bestimmung der Glucosekonzentration vor und nach der dreistündigen Inkubation mit Hilfe eines Autoanalyzers unter Verwendung der Anilinesessig-Methode im Inkubationsmedium gemessen. Die Differenz wurde auf mg Fettgewebe bezogen und die Glucoseaufnahme somit als μg Glucose/mg Fettgewebe angegeben.

Die Messung der in vitro-Lipolyse erfolgte nach 3 Stunden durch Bestimmung der Glycerinfreisetzung in das Inkubationsmedium. Aus 2 cm Medium wurde der Glyceringehalt nach EGGSTEIN und KREUTZ [18] ermittelt. Die erhaltenen Werte beziehen sich auf μmol freigesetztes Glycerin pro g Fettgewebe pro 3 Stunden Inkubation.

Zur Bestimmung der Lipidsynthese wurden die Fettzipfel nach FOLCH und VAN SLYKE [21] mit Chloroform-Methanol extrahiert und der Lipidextrakt nach Zugabe von 0.02% wässriger CaCl_2 -Lösung durch Phasenverteilung zweimal gewaschen. Ein aliquoter Teil der gereinigten Chloroformphase wurde unter Stickstoff eingeengt und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Nach Lösung der Lipide in Toluol erfolgte die Messung der Radioaktivität des Lipidextraktes im Flüssigkeits-Szintillationszähler.

Prostaglandin E_1 ¹ Nor-Prostaglandin E_1 ¹ (ein biosynthetisiertes C_{19} -Prostaglandin), Arachidonsäure¹,

¹ Für die Überlassung von PGE_1 , Nor- PGE_1 und Arachidonsäure sind wir Herrn Dr. VAN DORP (Unilever Res. Labor. Vlaardingen) zu großem Dank verpflichtet. Das menschliche Wachstumshormon mit einer biologischen Aktivität von 2 E/mg stellte uns freundlicherweise Frau Dr. STEWART, Abteilung für Klinische Endokrinologie der Universität Frankfurt a/M., zur Verfügung.

kristallines Schweine-Insulin (Hoechst), menschliches Wachstumshormon¹, und Adrenalin als Hydrochlorid wurden aus Standardlösungen mit Phosphatpuffer verdünnt und in den angegebenen Konzentrationen dem Inkubationsmedium, dessen Gesamtvolumen jeweils 3 ml betrug, zugesetzt.

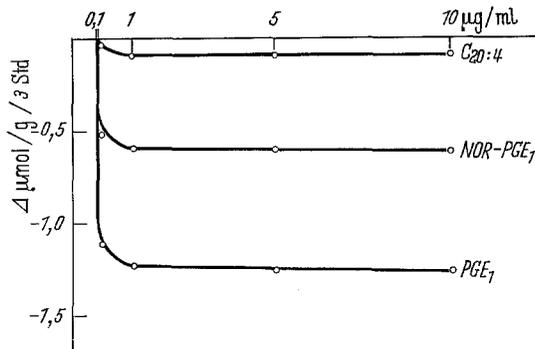


Abb. 1. Änderung der basalen Glycerinfreisetzung des epididymalen Fettgewebes der Ratte nach Zusatz verschiedener Konzentrationen von Prostaglandin E₁ (PGE₁), Nor-Prostaglandin E₁ (Nor-PGE₁) und Arachidonsäure (C_{20:4}). Jedem Meßwert liegen 6 Doppelbestimmungen zu Grunde

Ergebnisse

In vergleichenden Untersuchungen wurde zunächst der Einfluß von PGE₁, Nor-PGE₁ und Arachidonsäure (als der biologischen Vorstufe von PGE₂) auf die Glycerinfreisetzung und die Oxydation von 1-¹⁴C-Glucose zu ¹⁴CO₂ durch das epididymale Fettgewebe der Ratte ohne Zusatz sonstiger Wirkstoffe geprüft.

Wie aus Abb. 1 hervorgeht, vermindern Zusätze von 0.1 bzw. 1.0 $\mu\text{g/ml}$ PGE₁ zum Inkubationsmedium die basale Glycerinfreisetzung um durchschnittlich 1.12 bzw. 1.27 $\mu\text{mol/g/3 Std}$. Die weitere Erhöhung der PGE₁-Konzentration bis auf 10 $\mu\text{g/ml}$ verursacht keine stärkere Senkung der Glycerinabgabe. Nor-PGE₁ hat in den angegebenen Konzentrationen eine deutlich schwächere Wirkung auf die Glycerinfreisetzung. Sie entspricht etwa der Hälfte des PGE₁-Effektes. Arachidonsäure beeinflusst dagegen die Glycerinabgabe nicht.

Auch bei der Glucoseoxydation ergibt sich eine deutliche Abhängigkeit von der Art und Menge der zum Inkubationsmedium zugesetzten Verbindungen. Abb. 2 läßt erkennen, daß Konzentrationen von 0.1 bzw. 1.0 $\mu\text{g/ml}$ PGE₁ im Inkubationsmedium die basale ¹⁴CO₂-Produktion aus 1-¹⁴C-Glucose um durchschnittlich 1.5 bzw. 3.0 Imp/min/mg Fettgewebe steigern. Höhere PGE₁-Konzentrationen in der Inkubationsflüssigkeit bis 10 $\mu\text{g/ml}$ erhöhen die basale Glucoseoxydation nur noch geringfügig. 20 $\mu\text{g/ml}$ PGE₁ steigern die CO₂-Produktion nicht mehr weiter. Die Wirkung von Nor-PGE₁ und Arachidonsäure auf die Glucoseoxydation durch das epididymale Fettgewebe entspricht etwa $\frac{1}{6}$ bzw. $\frac{1}{12}$ der biologischen Aktivität von PGE₁, wobei sich die Meßwerte nach Arachidon-

säurezusatz gegenüber den Kontrollen (Puffer und Glucose) nicht mehr voneinander unterscheiden. Freilich zeigt sich auch beim Nor-PGE₁, daß in

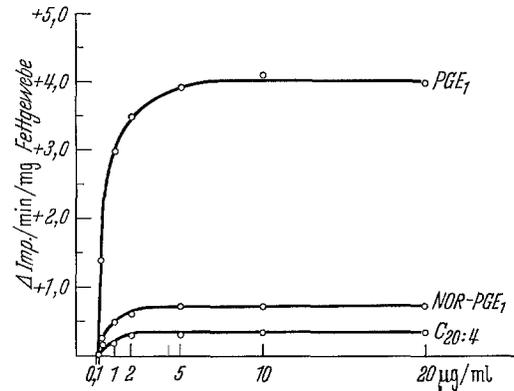


Abb. 2. Änderung der basalen Oxydation von 1-¹⁴C-Glucose zu ¹⁴CO₂ durch das epididymale Fettgewebe der Ratte nach Zusatz verschiedener Konzentrationen von Prostaglandin E₁ (PGE₁), Nor-Prostaglandin E₁ (Nor-PGE₁) und Arachidonsäure (C_{20:4}). Jedem Meßwert liegen 4 Doppelbestimmungen zu Grunde

niedrigen Konzentrationsbereichen (0.1–2.0 $\mu\text{g/ml}$) eine Relation zwischen dem Gehalt dieser Säure in der Inkubationsflüssigkeit und der ¹⁴CO₂-Produktion besteht.

Die weiteren Untersuchungen galten der Frage nach den Wirkungen von PGE₁ auf die basale und die durch verschiedene Stoffwechselhormone veränderte Glycerinfreisetzung, Glucoseoxydation, Glucoseaufnahme und Lipidsynthese des epididymalen Rattenfettgewebes. Hierbei konnte folgendes festgestellt werden:

Wie aus Tab. 1–4 hervorgeht, beeinflussen PGE₁-Konzentrationen von 0.1 $\mu\text{g/ml}$ in der glucosehaltigen Inkubationsflüssigkeit sämtliche geprüften Stoffwechsellleistungen des epididymalen Fettgewebes. So wird durch diese Substanz nicht nur die Glycerinfreisetzung gehemmt, sondern auch die basale Glucoseoxydation, Glucoseaufnahme und Lipidsynthese des epididymalen Fettgewebes gesteigert.

Der PGE₁-Effekt auf die Glucoseoxydation und die Lipidsynthese ist dabei im Vergleich zur Wirkung von 500 $\mu\text{E/ml}$ Insulin um etwa eine Zehnerpotenz geringer. Hinsichtlich der Glucoseaufnahme durch das epididymale Fettgewebe ergeben sich zwischen Insulin und PGE₁ Wirkungsunterschiede von 2.7:1. Die Glycerinfreisetzung wird durch 0.1 $\mu\text{g/ml}$ PGE₁ in etwas stärkerem Maße gehemmt als durch Zusatz von 500 $\mu\text{E/ml}$ Insulin zur Inkubationsflüssigkeit.

Weiterhin kann festgestellt werden, daß PGE₁ die Insulinwirkung auf die verschiedenen Stoffwechsellvorgänge praktisch nicht beeinflusst. Demgegenüber steigert PGE₁-Zusatz zum Inkubationsmedium die durch menschliches Wachstumshormon und Adrenalin verursachte, an sich geringfügige Erhöhung der Glucoseoxydation etwa um das 7- bzw. 4-fache. Auch die

Tabelle 1. Glycerinfreisetzung durch das epididymale Fettgewebe der Ratte nach Zusatz verschiedener Stoffwechsellormone mit und ohne Prostaglandin E_1 ($\mu\text{mol/g/3 Std.}$). Mittelwerte und Standardabweichungen

	+ PGE ₁ 0.1 $\mu\text{g/ml}$	
	1a	1b
Phosphatpuffer + 200 mg% Glucose (n = 7)	2.12 \pm 0.20	1.16 \pm 0.19
		$p_{1a-1b} < 0.001$
	2a	2b
Insulin 500 $\mu\text{E/ml}$ (n = 7)	1.47 \pm 0.29	1.14 \pm 0.23
	$p_{1a-2a} < 0.001$	$p_{2a-2b} < 0.05$
	3a	3b
STH 25 $\mu\text{g/ml}$ (n = 7)	4.09 \pm 0.60	1.52 \pm 0.28
	$p_{1a-3a} < 0.001$	$p_{3a-3b} < 0.001$
	4a	4b
Adrenalin 0.1 $\mu\text{g/ml}$ (n = 7)	7.57 \pm 0.74	3.89 \pm 0.42
	$p_{1a-4a} < 0.001$	$p_{4a-4b} < 0.001$

Tabelle 2. Oxydation von $1\text{-}^{14}\text{C}$ Glucose zu $^{14}\text{CO}_2$ durch das epididymale Fettgewebe der Ratte nach Zusatz verschiedener Stoffwechsellormone mit und ohne Prostaglandin E_1 (Imp./min/mg Fettgewebe). Mittelwerte und Standardabweichungen. n.s. = nicht signifikant

	+ PGE ₁ 0.1 $\mu\text{g/ml}$	
	1a	1b
Phosphatpuffer + 200 mg% Glucose (n = 10)	2.5 \pm 0.23	4.2 \pm 1.36
		$p_{1a-1b} < 0.01$
	2a	2b
Insulin 500 $\mu\text{E/ml}$ (n = 7)	14.0 \pm 1.00	13.4 \pm 1.84
	$p_{1a-2a} < 0.001$	p_{2a-2b} n.s.
	3a	3b
STH 25 $\mu\text{g/ml}$ (n = 10)	3.1 \pm 1.14	6.9 \pm 1.83
	p_{1a-3a} n.s.	$p_{3a-3b} < 0.001$
	4a	4b
Adrenalin 0.1 $\mu\text{g/ml}$ (n = 10)	3.3 \pm 1.06	5.4 \pm 1.74
	$p_{1a-4a} < 0.05$	$p_{4a-4b} < 0.01$

Wirkung von STH und Adrenalin auf die Lipidsynthese erfährt durch Zusatz von 0.1 $\mu\text{g/ml}$ PGE₁ eine signifikante Wirkungssteigerung.

Bei der Prüfung der Glucoseaufnahme ergibt sich, daß der Einstrom von Glucose in das Fettgewebe durch STH eine deutliche Steigerung (+49%) erfährt, durch Adrenalin dagegen nur geringfügig vermehrt wird

Tabelle 3. Aufnahme von Glucose durch das epididymale Fettgewebe der Ratte nach Zusatz verschiedener Stoffwechsellormone mit und ohne Prostaglandin E_1 ($\mu\text{g/mg}$ Fettgewebe). Mittelwerte und Standardabweichungen. n.s. = nicht signifikant

	+ PGE ₁ 0.1 $\mu\text{g/ml}$	
	1a	1b
Phosphatpuffer + 200 mg% Glucose (n = 10)	7.8 \pm 1.88	10.8 \pm 2.41
		$p_{1a-1b} < 0.01$
	2a	2b
Insulin 500 $\mu\text{E/ml}$ (n = 10)	15.9 \pm 1.28	15.5 \pm 0.99
	$p_{1a-2a} < 0.001$	p_{2a-2b} n.s.
	3a	3b
STH 25 $\mu\text{g/ml}$ (n = 10)	11.6 \pm 1.17	11.6 \pm 1.68
	$p_{1a-3a} < 0.001$	p_{3a-3b} n.s.
	4a	4b
Adrenalin 0.1 $\mu\text{g/ml}$ (n = 10)	9.9 \pm 0.85	12.7 \pm 1.49
	$p_{1a-4a} < 0.01$	$p_{4a-4b} < 0.001$

Tabelle 4. Lipidsynthese aus $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Glucose durch das epididymale Fettgewebe der Ratte nach Zusatz verschiedener Stoffwechsellormone mit und ohne Prostaglandin E_1 (Imp./min/mg Fettgewebe). Mittelwerte und Standardabweichungen. n.s. = nicht signifikant

	+ PGE ₁ 0.1 $\mu\text{g/ml}$	
	1a	1b
Phosphatpuffer + 200 mg% Glucose (n = 7)	1.68 \pm 0.23	3.00 \pm 0.35
		$p_{1a-1b} < 0.001$
	2a	2b
Insulin 500 $\mu\text{E/ml}$ (n = 7)	14.70 \pm 1.70	14.54 \pm 1.87
	$p_{1a-2a} < 0.001$	p_{2a-2b} n.s.
	3a	3b
STH 25 $\mu\text{g/ml}$ (n = 7)	3.26 \pm 0.39	4.32 \pm 0.90
	$p_{1a-3a} < 0.001$	$p_{3a-3b} < 0.02$
	4a	4b
Adrenalin 0.1 $\mu\text{g/ml}$ (n = 7)	5.01 \pm 0.92	6.08 \pm 0.65
	$p_{1a-4a} < 0.001$	$p_{4a-4b} < 0.05$

(+27%). Durch PGE₁ läßt sich dieser STH-Effekt nicht weiter verstärken. Demgegenüber wird die Adrenalinwirkung durch PGE₁ um mehr als das Doppelte erhöht. Schließlich ist festzustellen, daß die STH- und adrenalininduzierte Aktivierung der Glycerinfreisetzung aus dem Fettgewebe durch PGE₁ nachhaltig herabgesetzt wird (-63% bzw. -49%).

Diskussion

Die bisherigen in-vitro-Studien über den Wirkungsmechanismus der Prostaglandine galten in erster Linie der Charakterisierung des antilipolytischen Effektes dieser Verbindungen. Sie wurden daher vorwiegend in glucosefreien [9, 33, 34, 35], vereinzelt auch in glucosehaltigen [4] Inkubationsmedien am epididymalen Fettgewebe der Ratte vorgenommen.

In unseren Untersuchungen hat sich herausgestellt, daß in glucosehaltigen Testansätzen der Einfluß von PGE₁ auf den Stoffwechsel des isolierten Fettgewebes offenbar umfassender ist, als bisher angenommen wurde: PGE₁ greift sowohl in den Mechanismus der Lipolyse als auch in die metabolischen Umsetzungen der Glucose ein.

Im einzelnen konnte in Übereinstimmung mit BERGSTRÖM und CARLSON [4] nachgewiesen werden, daß Zusatz von 0.1 µg/ml PGE₁ zum glucosehaltigen Inkubationsmedium die basale Glycerinfreisetzung um 45% vermindert. STEINBERG et al. [34] fanden bei gleichen Wirkstoffkonzentrationen in glucosefreiem Milieu eine etwas geringere Senkung der basalen Glycerinabgabe von 33%. Die von diesen Autoren mitgeteilten Ergebnisse hinsichtlich der Wirkung von PGE₁ auf die adrenalininduzierte Aktivierung der Lipolyse entsprechen unseren Befunden. In beiden Serien beträgt die Verminderung der Glycerinfreisetzung nahezu 50%.

STEINBERG et al. [34] haben weiterhin festgestellt, daß PGE₁ in vitro auch die lipolysestimulierende Wirkung von Noradrenalin, Glucagon, ACTH und TSH bremst. Nach unseren Versuchen wird darüber hinaus auch der STH-Effekt auf die Lipolyse durch PGE₁ beeinflusst.

Daraus ergibt sich, daß PGE₁ eine antagonistische Wirkung gegenüber den meisten, bisher bekannten lipolytisch aktiven Stoffwechselhormonen aufweist. Es kann in dieser Hinsicht dem Insulin an die Seite gestellt werden.

Von anderen Prostaglandinen ist bekannt, daß PGE₂ eine ebenso starke antilipolytische Potenz besitzt wie PGE₁. Als weniger aktiv erwiesen sich PGE₃ und PGE_{2z} [34]. Das unphysiologische C₁₉-Prostaglandin E₁ hemmt nach unseren Beobachtungen die Triglycerid-Hydrolyse im Fettgewebe in deutlich geringerem Umfange als PGE₁. Arachidonsäure als Vorstufe von PGE₂ beeinflusst die Glycerinfreisetzung überhaupt nicht.

Die Wirkungsweise der Prostaglandine auf die Triglyceridspaltung im Fettgewebe ist bisher unbekannt. Wichtig erscheint vor allem die bereits von STEINBERG et al. [34] hervorgehobene Tatsache, daß der signifikante antilipolytische PGE₁-Effekt bereits durch Mengen hervorgerufen wird, die stöchiometrisch unter den Konzentrationen der zugesetzten, chemisch differenten lipolytischen Stoffwechselhormonen liegt. Man muß daraus schließen, daß die verschiedenen Hormone ihre Wirksamkeit offenbar nicht durch eine

einfache Bindung an Prostaglandine einbüßen. Auch die Möglichkeit einer indirekten Beeinflussung der Lipolyse über eine Aktivierung von u. U. am isolierten Fettgewebe haftendem Insulin durch PGE₁ läßt sich nach unseren Untersuchungen ausschließen, weil der antilipolytische Effekt des Insulins durch PGE₁ nicht nennenswert gesteigert wird. Somit erscheint vorläufig die Annahme gerechtfertigt, daß der Angriffspunkt der Prostaglandinwirkung im Fettgewebe selbst, d. h. an der Reaktionskette der Lipase-Aktivierung (RIZACK [31]) zu suchen ist.

In welchem Umfange die Prostaglandine bei der physiologischen Regulation der Lipolyse eine Rolle spielen, ist noch nicht sicher zu entscheiden. Immerhin dürften die bei unseren Inkubationsversuchen verwendeten PGE₁-Mengen den physiologischen Bereich nicht wesentlich überschreiten. Prostaglandinbestimmungen in verschiedenen tierischen und menschlichen Geweben (Lunge, Thymus, Gehirn) ergaben Wirkstoffkonzentration zwischen 0.3 und 0.8 µg/g Gewebe (Frischgewicht) [1, 6, 7, 32]. Der antilipolytische Effekt von PGE₁ könnte daher durchaus einem physiologischen Wirkungsmechanismus entsprechen.

Vergleicht man in diesem Zusammenhang die lipolysehemmende Wirkung der den Testansätzen zugefügten PGE₁- und Insulinmengen miteinander, so läßt sich errechnen, daß die molaren Wirkstoffkonzentrationen von PGE₁ ungefähr 100-fach höher liegen als die des Insulins (3.0×10^{-10} gegenüber 3.3×10^{-12}).

Es konnte weiterhin gezeigt werden, daß PGE₁ in gewissem Umfange die basale Glucoseoxydation, Glucoseaufnahme und die Lipidsynthese aus 1-¹⁴C-Glucose durch das isolierte Fettgewebe steigert. Darüber hinaus wird auch die an sich geringe Adrenalin- und STH-Wirkung auf diese einzelnen Stoffwechselfvorgänge in unterschiedlichem Ausmaß durch PGE₁ verstärkt.

Im Verhältnis zu den gemessenen Insulineffekten sind die durch PGE₁ hervorgerufenen Änderungen der biochemischen Reaktionen des isolierten Fettgewebes gering. Die Zunahme der Glucoseoxydation durch PGE₁ ist zwar mit 68% gegenüber dem Leerwert signifikant und gegenüber der STH- bzw. Adrenalinwirkung mäßig erhöht, sie macht aber nur etwa 1/7 der Insulinwirkung aus. Andererseits wird die Glucoseoxydation durch die Kombinationen STH + PGE₁ bzw. Adrenalin + PGE₁ sehr viel stärker angehoben als durch die genannten Hormone allein. In dieser Hinsicht ergeben sich gewisse Parallelen zur Potenzierung der CO₂-Produktion durch die Hormonkombinationen Adrenalin bzw. Noradrenalin + Insulin oder STH + Insulin [12, 17, 24, 30].

Die Beeinflussung der CO₂-Produktion durch PGE₁ läßt sich vorläufig mit den bisher bekannten Stoffwechseleffekten dieser Wirkstoffgruppe auf das isolierte Fettgewebe nicht erklären. Auch ein Vergleich mit der mehrfach beobachteten leichten Verstärkung der Glucoseoxydation durch verschiedene lipolytisch aktive

Hormone, wie Adrenalin, Noradrenalin, ACTH, STH, Glucagon (Lit. siehe [26]) ist nicht möglich. Die Wirkung der letztgenannten Hormone auf die Glucoseoxydation wird als Sekundäreffekt gedeutet. Er soll dadurch zustandekommen, daß ein Teil der bei der Triglyceridhydrolyse freigesetzten unveresterten Fettsäuren zur Reveresterung herangezogen und dabei mit Coenzym A aktiviert wird [22, 36, 38]. Bei diesem Vorgang wird ATP verbraucht, wobei die Verluste an energiereichem Phosphat durch eine verstärkte oxydative Phosphorylierung mit vermehrtem Glucoseverbrauch ausgeglichen werden. Da beim PGE₁ jedoch die antilipolytische Wirkung im Vordergrund steht, erscheint die Annahme eines solchen, durch PGE₁ induzierten Sekundäreffektes auf den Kohlenhydratstoffwechsel allenfalls in Verbindung mit der STH- oder Adrenalinwirkung möglich. Die Steigerung der CO₂-Produktion durch PGE₁ allein kann jedoch auf diese Weise nicht zustandekommen.

Hinsichtlich der PGE₁-Wirkung auf die Glucoseaufnahme durch das epididymale Rattenfettgewebe ergeben sich etwas andere Verhältnisse als bei der CO₂-Produktion. Die basale Glucoseaufnahme wird durch Zusatz von 0.1 µg/ml zum Inkubationsmedium um durchschnittlich 38% gesteigert. Diese Zunahme macht etwa 1/3 der Wirkung von 500 µE/ml Insulin aus. Sie entspricht annähernd dem Effekt von 25 µg/ml STH und 0.1 µg/ml Adrenalin. Die Adrenalinwirkung wird durch PGE₁-Zusatz zur Inkubationsflüssigkeit um rund 100% verstärkt, die STH-Wirkung erfährt dagegen durch PGE₁ keine Änderung.

Nach den Untersuchungen von BERGSTRÖM und CARLSON [3] wird die in-vitro-Glucoseaufnahme von menschlichem Fettgewebe durch Zusatz von 1.0 µg/ml PGE₁ zum Inkubationsmedium nicht beeinflusst. In den Versuchen dieser Autoren war freilich auch kein signifikanter Noradrenalineffekt festzustellen, wie er in Testansätzen mit Rattenfettgewebe beobachtet wurde [37]. Es kann vermutet werden, daß die negativen Resultate von BERGSTRÖM und CARLSON [3] auf die im Vergleich zum Hodenfettgewebe der Ratte wesentlich geringere in-vitro-Ansprechbarkeit des menschlichen Fettgewebes zurückzuführen sind [19, 28, 29].

Die von uns beobachteten PGE₁-Effekte auf die Adrenalin- und STH-abhängige Glucoseaufnahme unterscheiden sich von einigen bekannten Insulinwirkungen. Während Insulin den Einfluß von Adrenalin auf die Glucoseaufnahme rel. wenig, den STH-Effekt dagegen beträchtlich steigert [17, 20; 24, 27], verstärkt PGE₁ lediglich die Adrenalinwirkung. Auch für diese PGE₁-abhängigen Änderungen der Glucoseaufnahme ergibt sich vorläufig noch keine Erklärung. Wir wissen bisher nicht, ob der durch PGE₁ hervorgerufene vermehrte Glucoseeinstrom in die Fettzelle mit einer Steigerung des Substratdurchflusses über den glykolytischen Abbauweg oder den Pentose-Phosphatcyclus einhergeht. Es ist zunächst nur zu vermuten, daß PGE₁ in erster Linie die Bereitstellung und Veresterung von α-Glycerophosphat begünstigt und auf diese Weise

Einfluß auf die Glucoseutilisation nimmt. Hierfür spricht auch die mäßige Verstärkung der Lipidsynthese aus 1-¹⁴C-Glucose im epididymalen Fettgewebe durch PGE₁. Ob sie allein durch einen gesteigerten Einbau von α-Glycerophosphat in Triglyceride zustandekommt oder ob hierbei in gewissem Umfang auch eine PGE₁-abhängige Fettsäuresynthese erfolgt, wird z. Zt. von uns geprüft.

Insgesamt dürfte der stimulierende Effekt von PGE₁ auf die Glucoseutilisation in erster Linie mit seiner lipolysehemmenden Wirkung zusammenhängen und insofern Folge einer regulatorischen Umstellung im Zellstoffwechsel sein. Freilich lassen sich die Änderungen der CO₂-Produktion, der Glucoseaufnahme und der Lipidsynthese aber auch als Zeichen einer direkten PGE₁-Wirkung auf die Glucoseutilisation verstehen. Von einer insulinähnlichen Beeinflussung des Kohlenhydratstoffwechsels durch PGE₁ kann jedoch vorerst noch nicht die Rede sein. Da Insulin nicht nur den Glucoseeintritt in die Zelle begünstigt [14, 15, 23, 25, 30] sondern auch mehr oder weniger Einfluß auf sämtliche Bereiche des intrazellulären Glucoseumsatzes nimmt [20], erscheint die Annahme begründet, daß sich die PGE₁-Wirkung auf bestimmte Partialfunktionen der Insulinwirkung beschränkt. Die Auf-findung der Angriffspunkte von PGE₁ in den eng miteinander verknüpften metabolischen Prozessen des Glucose- und Fettstoffwechsels muß das Ziel weiterer Untersuchungen sein.

Literatur

- [1] ÄNGGARD, E., K. GREEN and B. SAMUELSSON: Synthesis of tritium labeled prostaglandin E₂ and studies on its metabolism in guinea pig lung. *J. biol. Chem.* **240**, 1932—1940 (1965).
- [2] AMMON, J., H. DITSCHUNEIT, S. DUNKER und E.F. PFEIFFER: Automatische Blutzuckerbestimmung mit Anilin-Eisessig. Internat. Technikon-Symposium „Automation in der analytischen Chemie“, Frankfurt/M. 4.—6. 10. 1965, Ref.-Nr. 51.
- [3] BERGSTRÖM, S., and L.A. CARLSON: Inhibitory action of prostaglandin E₁ on the mobilization of free fatty acids and glycerol from human adipose tissue in vitro. Prostaglandin and related factors. *Acta physiol. scand.* **63**, 195—196 (1965).
- [4] — — Influence of the nutritional state on the inhibition of lipolysis in adipose tissue by prostaglandin E₁ and nicotinic acid. Prostaglandin and related factors 46. *Acta physiol. scand.* **65**, 383—384 (1965).
- [5] — — and L. ORÖ: Effect of prostaglandins on catecholamine induced changes in the free fatty acids of plasma and in blood pressure in the dog. Prostaglandin and related factors 22. *Acta physiol. scand.* **60**, 170—180 (1964).
- [6] —, F. DRESSLER, L. KRABISCH, R. RYHAGE and J. SJÖVALL: The isolation and structure of a smooth muscle stimulating factor in normal sheep and pig lung. Prostaglandin and related factors 9. *Ark. Kemi* **20**, 63—66 (1963).
- [7] —, and B. SAMUELSSON: Isolation of prostaglandin E₁ from calf thymus. *Acta chem. scand.* **17**, 282—285 (1963).
- [8] — — Prostaglandins. *Ann. Rev. Biochem.* **34**, 101—107 (1965).
- [9] BERTI, F., R. LENTATI, F. PICCININI, M.M. USARDI, P. MANTEGAZZA and R. PAOLETTI: Some interrela-

- tions between pharmacological and metabolic effects of prostaglandin E_1 . 2nd Internat. Sympos. on drugs affecting lipid metabolism, Milan 13.—15. 9. 1965. Progress in Biochemical Pharmacology Vol. 2, S. Karger, Basel 1966 im Druck.
- [10] BÖHLE, E., R. DÖBERT, J. AMMON und J. BEYER: Untersuchungen über die Wirkungen von Prostaglandin E_1 (PGE_1) auf den Fettstoffwechsel. Tagung d. Dtsch. Ges. f. Fettwissenschaft Münster 10.—15. 10. 1965. in *Fette in der Medizin*, Hrsg. N. Henning und G. Berg, Pallas Verlag, Lochham bei München, 7, 20—25 (1966)
- [11] — — The action of prostaglandin E_1 on heparin-induced lipoprotein lipase activity. 2nd Internat. Sympos. on drugs affecting lipid metabolism, Milan 13.—15. 9. 1965. Progress in Biochemical Pharmacology Vol. 2, S. Karger, Basel 1966 im Druck.
- [12] CAHILL, G. F., B. LEBOEUF and R. B. FLINN: Studies on rat adipose tissue in vitro. VI. Effect of epinephrine on glucose metabolism. *J. biol. Chem.* **235**, 1246—1250 (1960).
- [13] CARLSON, L. A.: The action of prostaglandins on lipid metabolism in man and dog. 2nd Internat. Symp. on drugs affecting lipid metabolism, Milan 13.—15. 9. 1965. Progress in Biochemical Pharmacology Vol. 2, S. Karger, Basel 1966 im Druck.
- [14] CROFFORD, O. B., and A. E. RENOLD: Glucose uptake by incubated rat epididymal adipose tissue. Rate limiting steps and site of insulin action. *J. biol. Chem.* **240**, 14—21 (1965)
- [15] DIPIETRO, D. L.: Hexokinase of white adipose tissue. *Biochim. biophys. Acta* **67**, 305—312 (1963).
- [16] DITSCHUNEIT, H., J. D. FAULHABER und E. F. PFEIFFER: Verbesserung der Methode zur Bestimmung von Insulin im Blut mit Hilfe radioaktiver $1-C^{14}$ -Glucose und dem epididymalen Rattenfettgewebe. *Atompraxis* **8**, 172—175 (1962).
- [17] — R. ZIEGLER und E. F. PFEIFFER: Über die Bestimmung von Insulin im Blute am epididymalen Fettanhang der Ratte mit Hilfe markierter Glucose. V. Mitt. Die Wirkung von menschlichem und bovinem Wachstumshormon und anderen Stoffwechsellormonen auf den Kohlenhydratstoffwechsel des isolierten Rattenfettgewebes. *Klin. Wschr.* **39**, 426—430 (1961).
- [18] EGGSTEIN, M., und F. H. KREUTZ: Die enzymatische Bestimmung der Neutralfette im Blutserum. *Ergebn. Laboratoriumsmed.* **2**, 99—103 (1965).
- [19] FESSLER, A., and J. C. BECK: The effect of insulin on the metabolism of human adipose tissue in vitro. *Biochim. biophys. Acta* **106**, 199—201 (1965).
- [20] FLATT, J. P., and E. G. BALL: Studies on the metabolism of adipose tissue. XV. An evaluation of the major pathways of glucose catabolism as influenced by insulin and epinephrine. *J. biol. Chem.* **239**, 675—685 (1964).
- [21] FOLCH, J., and D. D. VAN SLYKE: Preparation of blood lipid extracts free from non-lipid extractives. *Proc. Soc. exp. Biol.* **41**, 514—515 (1939).
- [22] FROESCH, E. R., P. BALLY, U. GUHL, E. RAMSEIER und A. LABHART: Die Wirkung des Glukagons auf das Fettgewebe. *Schweiz. med. Wschr.* **90**, 1329—1332 (1960).
- [23] —, and J. L. GINSBERG: Fructose metabolism of adipose tissue. I. Comparison of fructose and glucose metabolism in epididymal adipose tissue of normal rats. *J. biol. Chem.* **237**, 3317—3324.
- [24] HAGEN, J. H., and E. G. BALL: Studies on the metabolism of adipose tissue. IV. The effect of insulin and adrenalin on glucose utilisation, lactat production, and net gas exchange. *J. biol. Chem.* **235**, 1545—1549 (1960).
- [25] HERNANDEZ, A., and A. SOLS: Transport and phosphorylation of sugars in adipose tissue. *Biochem. J.* **86**, 166—172 (1963).
- [26] JEANRENAUD, B.: Dynamic aspects of adipose tissue metabolism: A review. *Metabolism* **10**, 535—581 (1961).
- [27] JUNGAS, R. L., and E. G. BALL: Studies in the metabolism of adipose tissue. V. The effect of a growth hormone preparation and insulin on the oxygen consumption, glucose uptake, and lactic acid production. *J. biol. Chem.* **235**, 1894—1899 (1960).
- [28] KAHLLENBERG, A., and N. KALANT: The effect of insulin on human adipose tissue. *Canad. J. Biochem.* **42**, 1623—1635 (1964).
- [29] POZZA, G., and A. GHIDONI: The metabolism of human adipose tissue in vitro. 5. Congr. Internat. Diabetes Fed., Toronto (1964).
- [30] RENOLD, A. E., O. B. CROFFORD, W. STAUFFACHER and B. JEANRENAUD: Hormonal control of adipose tissue metabolism, with special reference to the effects of insulin. *Diabetologia* **1**, 4—12 (1965).
- [31] RIZACK, M. A.: Observations on the mechanism of hormonal interaction in the control of lipolysis in adipose tissue. 2nd Internat. Symp. on drugs affecting lipid metabolism, Milan, 13.—15. 9. 1965. Progress in Biochemical Pharmacology Vol. 2, S. Karger, Basel 1966 im Druck.
- [32] SAMUELSSON, B.: Identification of prostaglandin $F_{2\alpha}$ in bovine lung. Prostaglandins and related factors 26. *Biochem. biophys. Acta* **84**, 707—713.
- [33] STEINBERG, D., M. VAUGHAN, P. J. NESTEL and S. BERGSTRÖM: Effects of prostaglandin E opposing those of catecholamines on blood pressure and on triglyceride breakdown in adipose tissue. *Biochem. Pharmacol.* **12**, 764—766 (1963).
- [34] — — — O. STRAND and S. BERGSTRÖM: Effects of the prostaglandins on hormone induced mobilisations of free fatty acids. *J. clin. Invest.* **43**, 1533—1540 (1964).
- [35] STOCK, K., E. BÖHLE and E. WESTERMANN: Differential effects of prostaglandin E_1 on lipolysis induced by various lipolytic stimuli. 2nd Int. Symp. on drugs affecting lipid metabolism, Milan 13.—15. 9. 1965. Progress in Biochemical Pharmacology Vol. 2, S. Karger, Basel 1966 im Druck.
- [36] TIETZ, A. and B. SHAPIRO: The synthesis of glycerides in liver homogenates. *Biochem. biophys. Acta* **19**, 374—375 (1956).
- [37] VAUGHAN, M.: Effect of hormones on glucose metabolism in adipose tissue. *J. biol. Chem.* **236**, 2196—2199 (1961).
- [38] WEISS, S. B., E. P. KENNEDY and J. Y. KIYASU: The enzymatic synthesis of triglycerides. *J. biol. Chem.* **235**, 40—44 (1960).

Priv.-Doz. Dr. E. BÖHLE
1. Med.Univ.-Klinik
6 Frankfurt/M.
Ludwig-Rehn-Str. 14