



Zs
132
H3143

Józef Langfort

AKTYWNOŚĆ RUCHOWA JAKO CZYNNIK MODYFIKUJĄCY WRAZLIWOŚĆ MIĘSNI
SZKIELETOWYCH NA DZIAŁANIE INSULINY.

Praca doktorska

wykonana w Zakładzie Fizjologii Stosowanej
Instytutu-Centrum Medycyny Doświadczalnej
i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk

Promotor:

Prof. dr hab. Hanna Kaciuba-Uściłko

WARSZAWA 1989

Promotorowi pracy - Pani prof. dr hab. Hannie Kaciuba-Uściłko - serdecznie dziękuję za opiekę, cierpliwość i pomoc okazywaną mi podczas przygotowywania niniejszej pracy.

Dziękuję również Pani prof. dr hab. med. Krystynie Nazar i dr Leszkowi Budohoskiemu za cenne rady i wskazówki oraz uwagi krytyczne.

SPIS TRESCI

I. WSTEP

1. Wprowadzenie	4
2. Metody oceny ogólnej wrażliwości na insulinę	4
3. Mechanizm działania insuliny	6
4. Udział różnych tkanek w kształtowaniu wrażliwości insulinowej oraz główne efekty działania insuliny w tych tkankach	7
5. Metody oceny wrażliwości tkanek na insulinę	10
5.1. Metody in vivo	10
5.2. Metody in vitro	11
6. Czynniki fizjologiczne wpływające na tolerancję glukozy i wrażliwość tkanek na insulinę	12
7. Wpływ zwiększonej aktywności ruchowej na tolerancję glukozy i wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę	13
7.1. Tolerancja węglowodanów i wrażliwość insulinowa mięśni po jednorazowych wysiłkach fizycznych	13
7.2. Tolerancja węglowodanów i wrażliwość insulinowa mięśni po treningu fizycznym	16
8. Założenia i cel pracy	19

II. MATERIAŁ I METODY

1. Zwierzęta	21
2. Modele wysiłków fizycznych	21
2.1. Jednorazowe wysiłki fizyczne	21
2.2. Trening fizyczny	22
3. Przebieg doświadczeń	23

4. Zasada i opis metody oznaczania wrażliwości mięśni szkieletowych na insulinę	24
5. Test tolerancji glukozy	25
6. Pomiar zawartości glikogenu mięśniowego	26
7. Opis metod oznaczania aktywności enzymów	26
7.1. Pomiar aktywności heksokinazy	26
7.2. Oznaczenie aktywności dehydrogenazy α -ketoglutaranu	27
8. Matematyczne opracowanie wyników	27

III. WYNIKI

1. Wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę u zwierząt kontrolnych	28
2. Wpływ jednorazowego wysiłku fizycznego o różnej charakterystyce na wrażliwość mięśni na insulinę i zawartość glikogenu	28
2.1. Mięsień płaszczkowaty	28
2.2. Mięsień nadbłoczkowy	33
3. Wpływ treningu fizycznego na wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę i zawartość glikogenu	40
3.1. Ocena efektywności treningu na podstawie aktywności niektórych enzymów w mięśniach	40
3.2. Wpływ treningu fizycznego na tolerancję glukozy	40
3.3. Wpływ wytrzymałościowego i "sprinterskiego" treningu fizycznego na wrażliwość insulinową mięśnia płaszczkowatego	43

3.4. Wpływ wytrzymałościowego i "sprinterskiego" treningu fizycznego na wrażliwość insulinową mięśnia nadbłoczkowego	45
IV. DYSKUSJA	53
V. WNIOSKI	63
VI. STRESZCZENIE	65
VII. PISMIENNICTWO	69

WSTĘP

1. Wprowadzenie.

Upośledzenie tolerancji węglowodanów może być spowodowane brakiem insuliny bądź też wynikiem zmniejszonej wrażliwości tkanek na działanie tego hormonu. Badania populacyjne z ostatnich lat (26) wskazują, że zaburzenia tolerancji węglowodanów związane ze zmniejszeniem wrażliwości tkanek na insulinę występują u coraz większej liczby ludzi. Związane z tymi zaburzeniami: hiperinsulinemia, hiperglikemia i hiperlipidemia zaliczane są do grupy tzw "czynników ryzyka" choroby wieńcowej.

2. Metody oceny ogólnej wrażliwości na insulinę.

Termin "wrażliwość insulinowa" został użyty po raz pierwszy w latach 30-tych naszego wieku przez Himsworth'a (46) oraz Himsworth'a i Kerr'a (47).

Wśród testów stosowanych w diagnostyce zaburzeń przemiany węglowodanów, stosuje się najczęściej próby polegające na obciążeniu organizmu glukozą. Po doustnym lub dożylnym podaniu określonej dawki tego cukru ocenia się przebieg glikemii, mierząc poziom glukozy we krwi w 15 - 30 min odstępach czasu przez 1-2 godz. W 1979 r. Komitet Ekspertów ds Cukrzycy ujednotocił zasady wykonywania i interpretacji doustnego testu tolerancji glukozy (80). Niektórzy autorzy preferują dożylne podanie glukozy, które umożliwia wyliczenie w przybliżeniu tempa przyswajania glukozy. Zastosowanie testu tego typu pozwala ponadto pominąć wpływ peptydów przewodu pokarmowego, takich jak np GIP (gastric inhibitory polypeptide), na wydzielanie insuliny (6,15,

33,114). W celu oceny wyników testu tolerancji glukozy, niezależnie od sposobu jej podawania (doustne, dożylne), na ogół wylicza się pole powierzchni pod krzywymi glikemicznymi, porównując je z odpowiednimi wartościami kontrolnymi. Jednoczesne oznaczenie poziomu insuliny i ewentualne wyliczenie stosunku stężenia glukozy do insuliny pozwala na orientacyjną ocenę ogólnej wrażliwości insulinowej. Krytykując wyżej opisane metody oceny tolerancji węglowodanów organizmu zwraca się uwagę na fakt, że zarówno podczas wykonywania dożylnego jak i doustnego testu tolerancji glukozy (TTG) nie zostaje wyłączony mechanizm sprzężenia zwrotnego pomiędzy stężeniem glukozy we krwi a wydzielaniem insuliny przez komórki beta trzustki. Wyłączenie tego mechanizmu, stwarzające możliwość utrzymania stałego poziomu insuliny i glukozy we krwi za pomocą ciągłej dożylnej infuzji tych związków, pozwala na określenie w sposób ilościowy metabolizmu glukozy w $\text{mg} \times \text{min}^{-1} \times \text{kg-b.m.c}$ (b.m.c. - beztłuszczowej masy ciała) lub w $\text{mg} \times \text{min}^{-1} \times \text{m}^2$. Obecnie stosuje się dwie metody, które wyłączają wyżej wspomniany mechanizm sprzężenia zwrotnego. Reaven i wsp. (10) opracowali test supresji insulinowej ("insulin suppression test") a Andres i wsp. (1) metodę tzw klamru glukozowego ("glucose clamp"), którą rozwinęli następnie DeFronzo i wsp. (31). Test supresji insulinowej polega na zablokowaniu wydzielania endogennej insuliny i uwalniania glukozy z wątroby poprzez jednorazową iniekcję propranololu (5 mg), a następnie zastosowaniu ciągłej infuzji tego blokera receptorów β -adrenergicznych przez 150 min ($0.08 \text{ mg} \times \text{min}^{-1}$) z równoczesną infuzją adrenaliny ($6 \text{ mg} \times \text{min}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$). W przebiegu tego testu podaje się jednocześnie w ciągłej infuzji glukozę (ok. $6 \text{ mg} \times$

$\text{min}^{-1} \times \text{kg}^{-1}$) oraz insulinę (ok. $80 \text{ mU} \times \text{min}^{-1}$), tak aby jej poziom we krwi osiągnął $100 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$.

Klamp glukozowy polega na ciągłej dożylniej infuzji glukozy (w formie 20% roztworu) i insuliny w takiej dawce, aby utrzymać stały poziom glukozy we krwi. Gdy zawartość glukozy we krwi utrzymywana jest na stałym poziomie powyżej $5.55 \text{ mmol} \times \text{l}^{-1}$, to metoda ta nosi nazwę "klampu hiperglikemicznego" ("hyperglycemic clamp"), natomiast gdy zawartość tego cukru we krwi podczas badania utrzymywana jest w granicach stężeń fizjologicznych - "klampu normoglikemicznego" ("euglycemic insulin clamp"). Im więcej insuliny potrzeba dla utrzymania stężenia glukozy na stałym poziomie tym mniejsza jest wrażliwość organizmu na ten hormon.

3. Mechanizm działania insuliny.

Insulina jest peptydowym hormonem syntetyzowanym przez komórki B trzustki. Jest ona transportowana z krwią do obwodowych tkanek organizmu, gdzie powstaje odwracalny kompleks ze swoistym receptorem zlokalizowanym w błonie komórek docelowych. Receptor insulinowy występuje w wielu tkankach ssaków, w tym także w mięśniach szkieletowych (44,86,132). Został on wyizolowany, oczyszczony oraz określono jego budowę. Składa się on z dwóch podjednostek: podjednostki α (o ciężarze cząsteczkowym 125-135 kD) i podjednostki β (o ciężarze cząsteczkowym 90-95 kD), które połączone siarkowymi mostkami tworzą kompleks $\alpha_2\beta_2$. Podjednostka α jest elementem regulacyjnym, z którym łączy się insulina. Podjednostka β jest elementem katalitycznym, zawierającym enzym - kinazę tyrozynową, który po połączeniu się insuliny z elementem regulacyjnym ulega autofosforylacji (58,132). W wyniku tego procesu zwiększa się

aktywność kinazy tyrozynowej, co z kolei może mieć związek z działaniem wtórnego przekaźnika dla insuliny (132). Natura wtórnego przekaźnika jest nieznana. Postuluje się, że funkcje taką mogą spełniać takie związki jak: cAMP (39,54), fosfolipidy (109), dwuacyloglicerol (110), inozyloglikan (107,109), jony: Ca^{2+} (14,19), K^+ (78), Na^+ (78) a także hiperpolaryzacja (79) oraz fosforylacja/defosforylacja białek (20,64).

4. Udział różnych tkanek w kształtowaniu wrażliwości insulinowej oraz główne efekty działania insuliny w tych tkankach.

Działanie insuliny na tkanki docelowe ma głównie charakter anaboliczny. W zależności od czasu, który upływa od zadziałania tego hormonu do pojawienia się efektów komórkowych, wyróżnia się efekty szybkie, ujawniające się w krótkim czasie oraz działanie opóźnione, które stwierdza się w kilka do kilkunastu godzin po połączeniu się insuliny z receptorem. Do pierwszej grupy należą np. zmiany w transporcie glukozy przez błony komórkowe oraz zmiany dotyczące kontroli metabolizmu węglowodanów, lipidów i białek (20,32,41,126). Insulina powoduje zwiększenie wychwytu aminokwasów przez tkanki, podwyższenie tempa syntezy białka jednocześnie hamując jego rozpad w mięśniach szkieletowych (126). Udział tego hormonu w metabolizmie białek, choć nader ważny, nie wiąże się bezpośrednio z tematem obecnej pracy, toteż nie będzie szczegółowo omawiany.

Od chwili odkrycia insuliny (w 1921 roku) hormon ten został uznany jako podstawowy w utrzymywaniu homeostazy glukozy w organizmie. W wątrobie głównym efektem działania insuliny jest stymulacja syntezy glikogenu i hamowanie uwalniania glukozy do krwi, natomiast transport glukozy do hepatocytów nie zależy od insuliny (84). W narządzie tym

stwierdzono ponadto insulino-zależne zwiększenie produkcji wolnych kwasów tłuszczowych i triacylogliceroli (53,63). Tkankami, które wychwytyją najwięcej glukozy z krwi pod wpływem insuliny są mięśnie szkieletowe, mięsień sercowy oraz tkanka tłuszczowa biała i brunatna (21,29,63).

W badaniach prowadzonych na tkance tłuszczowej stwierdzono, że pod wpływem działania insuliny następuje wzrost dokomórkowego transportu glukozy, zwiększenie tempa wytwarzania mleczanu, zwiększenie tempa estryfikacji wolnych kwasów tłuszczowych i syntezy triacylogliceroli z glukozy i octanu z towarzyszącym hamowaniem procesu lipolizy (84). Wykazano ponadto, że insulina zwiększa aktywność lipazy lipoproteinowej w tkance tłuszczowej (34,88) ułatwiając w ten sposób wychwyt triacylogliceroli z osocza krwi.

Z badań *in vitro* prowadzonych na komórkach tłuszczowych (adipocytach) pobranych od ludzi wynika, że ich wrażliwość na działanie insuliny ulega bardzo znacznej poprawie po wcześniejszym spożyciu glukozy (2). Wykazano również, że wytrzymałościowy trening fizyczny (pływanie) powoduje u szczurów znaczne przyspieszenie tempa transportu 3-O-[U¹⁴C] metyloglukozy do adipocytów tkanki tłuszczowej trenowanych zwierząt w stosunku do zwierząt kontrolnych pozostających w spoczynku (129). Trzy-O-[U¹⁴C] metyloglukozą jest analogiem glukozy, niemetalizowanym w komórkach i swobodnie dyfundującym przez błonę komórkową. Opisano istotny wzrost wbudowywania [U-¹⁴C] glukozy do lipidów tkanki tłuszczowej po treningu fizycznym (Vinten i Galbo, 1982). Udowodniono ponadto, że wrażliwość tkanki tłuszczowej na działanie insuliny zależy od rozmiarów adipocytów (23,86,87), przy czym maleje ona wraz z powiększaniem się

rozmiarów adipocytów. W izolowanych komórkach tłuszczowych wrażliwość wychwytu glukozy i hamowania lipolizy na działanie insuliny jest podobna. W obu przypadkach połowę maksymalnego efektu stwierdzono przy stężeniu insuliny w medium inkubacyjnym wynoszącym około $10 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ (42).

W mięśniach szkieletowych insulina wpływa bezpośrednio na transport glukozy do komórek mięśniowych, przebieg procesu glikolizy oraz syntezę glikogenu, przy czym uważa się, że głównym czynnikiem determinującym metabolizm glukozy w tkance mięśniowej jest jej dokomórkowy transport (84).

Znaczna część glukozy, która przedostaje się do komórki mięśniowej pod wpływem insuliny jest wbudowywana w glikogen, ponieważ insulina wpływa na aktywność syntazy glikogenowej zwiększając aktywność czynnej formy a tego enzymu (27,76,103). W badaniach mechanizmu tego zjawiska wykazano, że pod wpływem insuliny następuje obniżenie stopnia ufosforylowania cząsteczki syntazy glikogenowej (67,89). Opisana wyżej defosforylacja zachodzi być może poprzez zahamowanie aktywności kinazy fosforylazy b lub zwiększenie aktywności fosfatazy fosfoproteinowej - enzymu defosforylującego syntazę glikogenową.

Jak już wspomniano, insulina zwiększa tempo glikolizy w mięśniach szkieletowych (7,8,17,24). Efekt ten jest wynikiem podwyższonego dokomórkowego transportu glukozy a w jego następstwie zwiększenia ilości substratu dla enzymów cyklu glikolitycznego (76,84). Wykazano (102), że insulina stymuluje transport glukozy poprzez zwiększenie maksymalnego tempa tego procesu (V_{max}), przy niezmięnionej stałej Michaelisa (K_m). Wielu autorów (62,83,133) uważa, że molekularny mechanizm tego zjawiska polega na wbudowywaniu większej liczby

białkowych transporterów glukozy do błony komórkowej, a może również na wzroście ich aktywności transportującej w błonie. Należy podkreślić, że białkowe transportery glukozy występują w wielu tkankach, także w tkance mięśniowej. Zostały one oczyszczone i scharakteryzowane (133). Insulina działa ponadto bezpośrednio na niektóre enzymy kontrolujące przebieg glikolizy tj. heksokinazę i fosfofruktokinazę, powodując zwiększenie ich aktywności niezależnie od zawartości substratu (76,85).

Ze względu na fakt, że mięśnie szkieletowe stanowią około 40% masy ciała, charakteryzując się jednocześnie większą niż inne tkanki zmiennością zużycia glukozy w zależności od stanu czynnościowego, odgrywają one niewątpliwie ważną rolę w kształtowaniu tolerancji węglowodanów i wrażliwości na insulinę. Po doustnym obciążeniu glukozą ludzi w warunkach spoczynkowych jest ona w około 35% metabolizowana w tkance mięśniowej podczas gdy tkanka tłuszczowa zużywa w tych warunkach zaledwie 5% wchłoniętej glukozy (25). Metabolizm glukozy w mięśniach szkieletowych może wzrosnąć nawet do 85%, przy podwyższonym poziomie insuliny we krwi (30).

5. Metody oceny wrażliwości tkanek na insulinę.

5.1. Metody in vivo.

Kraegen i wsp. (63) oraz James i wsp. (52) stosując klamp glukozowy z jednoczesnym podaniem dożylnym glukozy znakowanej węglem, trytem bądź [³H]-2-deoksyglukozy określili in vivo wrażliwość insulinową zarówno całego organizmu jak i niektórych tkanek (mięśniowej, tłuszczowej, wątroby) u szczurów po wysiłku fizycznym. Wyżej wymienieni autorzy określili wrażliwość według następującego wzoru:

$$R_g (\mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}) = \frac{C_p \times C_{m^*}(45)}{\int_0^{45} C_p^*(t) dt}$$

gdzie: R_g - wskaźnik metabolizmu glukozy, C_p - poziom glukozy podczas klampu, $C_{m^*}(45)$ - akumulacja w tkance [^3H] 2 deoksyglukozy-6-fosforanu w 45 min trwania testu, $\int_0^{45} C_p^*(t) dt$ - pole powierzchni pod krzywą [^3H] deoksyglukozy, $t=0$ w chwili podania [^3H] 2 deoksyglukozy.

W celu oceny wrażliwości mięśni szkieletowych na insulinę Richter i wsp. (103) zastosowali metodę perfuzji kończyny szczura *in situ*. Ocena wrażliwości oparta była na pomiarze wychwytu 2-[[1,2- ^3H] deoksyglukozy przez mięśnie przy wzrastającym stężeniu insuliny w płynie perfuzyjnym od 0 do 40000 $\mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$.

5.2. Metody *in vitro*.

W 1980 r Crettaz i wsp. (24) zastosowali metodę *in vitro* do określenia wrażliwości insulinowej mięśni szkieletowych. Została ona następnie zmodyfikowana przez Challissa i wsp. (17) oraz Budohoskiego i wsp. (7). Metoda ta polega na inkubacji mięśnia (najczęściej płaszczkowatego) w buforze Krebsa-Ringera zawierającym różne stężenia insuliny (od 1 do 10000 $\mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$) i pomiarze tempa produkcji mleczanu oraz tempa syntezy glikogenu. Na podstawie tych pomiarów można określić reaktywność ("responsiveness") i wrażliwość tkanki mięśniowej na insulinę. Pojęcie reaktywności oznacza zmianę tempa lub zmianę przebiegu procesu insulino-zależnego pod wpływem zmieniającego się stężenia insuliny. Pod pojęciem tym rozumie się niekiedy wielkość tej zmiany tj. bezwzględną wartość z różnicy pomiędzy maksymalną odpowiedzią tempa reakcji biochemicznej (np. produkcją kwasu mlekowego, syntezą glikogenu) stymulowaną insuliną a odpowiedzią tego procesu bez insuliny lub w obecności jej śladowych ilości. Mianem

wrażliwości na insulinę ("insulin sensitivity") określa się stosunek zmian reakcji metabolicznej (np. produkcji mleczanu, syntezy glikogenu) na określoną zmianę wielkości bodźca (zmiana stężenia insuliny). Dla celów praktycznych mierzy się wartości wybranych wskaźników metabolizmu węglowodanów w obecności minimalnego, maksymalnego oraz kilku pośrednich stężeń insuliny, a wrażliwość na insulinę danego procesu oblicza się jako stężenie tego hormonu, które wywołuje 50 % odpowiedzi maksymalnej.

6. Czynniki fizjologiczne wpływające na tolerancję glukozy i wrażliwość tkanek na insulinę.

Tolerancja glukozy może być modyfikowana przez czynniki fizjologiczne jak np. poziom aktywności ruchowej, temperaturę otoczenia bądź rodzaj stosowanej diety. Ulega ona ponadto zmianom wraz z wiekiem oraz w okresie ciąży. Upośledzenie tolerancji węglowodanów, spowodowane obniżeniem wrażliwości na insulinę opisano w cukrzycy typu II (123), w otyłości wynikającej ze stosowania niebilansowanej diety (60), w ciąży (43) oraz w warunkach znacznego ograniczenia aktywności ruchowej (79). Istnieją dowody, że obniżenie tolerancji glukozy z wiekiem (29) jest głównie wynikiem ograniczenia aktywności ruchowej (113) u starszych osób, ponieważ nie stwierdza się jej u byłych sportowców stale prowadzących aktywny tryb życia. Badania prowadzone u szczurów (11) dostarczyły dowodów świadczących, że nawet unieruchomienie tylko jednej kończyny zwierzęcia (poprzez jednostronną tenotomię) prowadzi do znacznego obniżenia wrażliwości mięśnia płaszczkowego pobranego z tej kończyny na insulinę w porównaniu z tym samym mięśniem uzyskanym z drugiej kończyny zwierzęcia nie poddanej zabiegowi operacyjnemu.

Z wyników kompleksowych badań Vallerand'a i wsp. (127) prowadzonych u szczurów wynika, że ekspozycja do niskiej temperatury przez 48 godz. polepsza tolerancję glukozy z towarzyszącym obniżeniem stężenia insuliny we krwi. Zjawisko to, występujące zresztą również u zwierząt jednocześnie głodzonych, autorzy przypisują zwiększonemu wychwytowi glukozy przez tkanki (głównie mięśniową), ze względu na występujące w tych warunkach intensywne drżenie mięśniowe. W tej samej pracy stwierdzono również poprawę tolerancji glukozy przy niskim poziomie krążącej insuliny, u szczurów zaaklimatyzowanych do zimna, u których dodatkowe ciepło wytwarzane jest głównie na drodze termogenezy bezdrżeniowej w brunatnej tkance tłuszczowej. Zwiększony wychwyt glukozy przede wszystkim przez tę tkankę, ale również przez adipocyty białej tkanki tłuszczowej, mięśnie szkieletowe i wątrobę jest zapewne wynikiem zwiększonego przepływu krwi przez tkanki i narządy w warunkach ekspozycji do zimna. Należy wspomnieć, że brunatna tkanka tłuszczowa ma znaczny udział w ogólnym wychwycie glukozy przez organizm (21). Poprawę tolerancji węglowodanów i zwiększenie wrażliwości mięśni szkieletowych na insulinę (ocenianą *in vitro*) u szczurów eksponowanych do zimna wykazali także Budohoski i wsp. (8), którzy łączą te korzystne zmiany ze zmianą lokalnych czynników np. adenozyiny i prostaglandyn.

7. Wpływ zwiększonej aktywności ruchowej na tolerancję glukozy i wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę.

7.1. Tolerancja węglowodanów i wrażliwość insulinowa mięśni po jednorazowych wysiłkach fizycznych.

Pomimo iż zarówno wysiłek fizyczny jak i insulina stymulują metabolizm węglowodanów w mięśniach szkieletowych wciąż brak jest

Jednoznacznych danych na temat tolerancji glukozy po uprzednio wykonanym wysiłku. U ludzi niektórzy autorzy (45,91) opisali wprawdzie w tych warunkach polepszenie tolerancji glukozy, inni jednak stwierdzili jej pogorszenie (48,70,125) bądź brak zmian stężenia glukozy we krwi w odpowiedzi na obciążenie tym cukrem w okresie powysiłkowym w porównaniu z warunkami podstawowymi. W większości tych badań wykazano natomiast zmniejszenie reakcji insulinowej na bodziec (obciążenie glukozą) zastosowany po jednorazowym wysiłku fizycznym. W pracy Nazar i wsp. (81) porównano reakcje na doustne obciążenie glukozą po długotrwałym (90 min) wysiłku wytrzymałościowym u zdrowych, młodych mężczyzn z normalną i nieco zmniejszoną w spoczynku tolerancją glukozy. Okazało się, iż polepszenie tolerancji glukozy pod wpływem zastosowanego wysiłku wystąpiło tylko u osób tej drugiej grupy badanych, chociaż u obydwu grup stwierdzono obniżenie sekrecji insuliny w odpowiedzi na obciążenie glukozą po wysiłku. Istotne zmniejszenie sumy stężeń glukozy (BG) i insuliny (IRI) w teście tolerancji glukozy przeprowadzonym po wysiłku u osób z obniżoną w spoczynku tolerancją glukozy sugeruje, że u badanych tej grupy czynniki ułatwiające wychwyt glukozy w okresie powysiłkowym przeważały nad skutkami zmniejszonej reakcji insulinowej. Autorzy pracy sugerują udział zwiększenia wrażliwości na insulinę, bądź też niezależnego od insuliny wzrostu transportu glukozy do mięśni (130) w opisanym powysiłkowym teście tolerancji glukozy u tej grupy osób. Należałoby wspomnieć, iż u mężczyzn z normalną w warunkach podstawowych tolerancją węglowodanów, wysiłek fizyczny nie tylko jej nie polepszył ale nawet wystąpiła u nich pewna tendencja do pogorszenia. Z kolei Lampman i wsp. (65) stwierdzili, że u ludzi z upośledzoną tolerancją

węglowodanów i towarzysząca jej hiperlipidemia różnica między wynikami testu tolerancji glukozy w warunkach podstawowych i po wysiłku polega jedynie na obniżeniu reakcji insulinowej w tym drugim przypadku.

Badania prowadzone na zwierzętach pozwoliły uzyskać nieco więcej informacji o wpływie jednorazowych wysiłków fizycznych na wrażliwość mięśni pracujących na insulinę (28,37,40,50,52,103,104), aczkolwiek uzyskane dane są często kontrowersyjne. Richter i wsp. (103), Garetto i wsp. (40) w badaniach na izolowanej, perfundowanej kończynie szczurów poddanych uprzednio umiarkowanemu (45 min) wysiłkowi fizycznemu wykazali istotne zwiększenie wrażliwości syntezy glikogenu na insulinę w mięśniach o przewadze włókien czerwonych. Utrzymywało się ono co najmniej przez 4 godz. po zakończeniu wysiłku, pomimo iż wyczerpane przez wysiłek zasoby glikogenu w tych mięśniach zostały znacznie wcześniej uzupełnione. Autorzy ci nie zaobserwowali natomiast wpływu zastosowanego wysiłku fizycznego na wrażliwość produkcji mleczanu na insulinę w analizowanych typach mięśni. Brak wpływu jednorazowego wysiłku fizycznego na wrażliwość insulinową mięśni *in situ* opisali natomiast Ivy i Holloszy (50). Inną metodą (*in vitro*) oceny zmian wrażliwości mięśni szkieletowych na insulinę zastosowali Espinal i wsp. (37). Autorzy ci nie stwierdzili wpływu 90 min wysiłku fizycznego ani na wrażliwość syntezy glikogenu ani procesu glikolizy na insulinę w mięśniu płaszczkowatym szczura. Odmienne wyniki uzyskali Davis i wsp. (28) w badaniach prowadzonych na izolowanym mięśniu nadbłoczkowym (składającym się głównie z włókien FT₁) pobieranym od szczurów w różnym czasie po wykonaniu 2 godz. wysiłku (pływanie). Badania te są jedynymi, w których prześledzono dynamikę zmian wrażliwości insulinowej mięśnia w okresie powysiłkowym. Wykazano w

nich istotny wzrost wrażliwości tego mięśnia na insulinę, przejawiający się zwiększeniem tempa transportu glukozy, tempa glikolizy oraz syntezy glikogenu szczególnie silnie zaznaczony w pierwszej godzinie po zakończeniu wysiłku. We wcześniejszych pracach (40) stymulujący wpływ insuliny na wykorzystanie glukozy przez białą część mięśnia brzuchatego łydki szczura uzyskano jedynie po intensywnym wysiłku fizycznym. Przedstawione wyżej wyniki badań wskazują na brak jednoznacznych opinii na temat korzystnego wpływu jednorazowego wysiłku fizycznego na tolerancję glukozy i wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę. Przyczynami istniejących rozbieżności mogą być między innymi: analiza zmian w jednym tylko punkcie czasowym po zakończeniu wysiłku, stosowanie różnych typów wysiłków wytrzymałościowych (np. pływanie i bieg na bieżni) o niejednakowym czasie trwania i intensywności, a także zróżnicowane metody oceny tolerancji glukozy a przede wszystkim wrażliwości insulinowej mięśni stosowane przez cytowanych autorów.

7.2. Tolerancja węglowodanów i wrażliwość insulinowa mięśni po treningu fizycznym.

Lohman i wsp. (73) oraz Bjorntrop i wsp. (4) wykazali, że wytrenowani biegacze charakteryzują się niskim stężeniem insuliny w warunkach podstawowych oraz obniżeniem reakcji insulinowej na obciążenie glukozą. Z kolei Koivisto i wsp. (61) stosując technikę klamru insulinowego stwierdzili, że insulino-zależny wychwyty glukozy jest o 41% większy u biegaczy długodystansowych niż u osób nietreningujących w odpowiednim wieku i o zbliżonej masie ciała, pomimo podobnego stężenia insuliny. Co więcej, tempo utylizacji glukozy biegaczy i badanych kontrolnych okazało się ściśle skorelowane z ich

wydolnością fizyczną ($\dot{V}O_2$). Poprawę tolerancji węglowodanów u sportowców uprawiających dyscypliny wytrzymałościowe opisali również inni badacze (73,111,113). ◻ korzystnym wpływie wzmożonej aktywności aerobowej na tolerancję węglowodanów świadczy ponadto fakt stopniowego zwiększania wrażliwości organizmu na insulinę w ciągu 6-tyg. treningu wytrzymałościowego osób prowadzących uprzednio siedzący tryb życia (118). Wyniki te dowodzą, że aktywność fizyczna o charakterze aerobowym prowadzi do istotnego wzrostu ogólnej wrażliwości na insulinę.

U sportowców uprawiających "sporty siłowe" o charakterze anaerobowym (np. ciężarowcy, kulturysty) również stwierdzono korzystne zmiany tolerancji węglowodanów (61,122). Poprawa tolerancji glukozy u tej grupy sportowców przy równoczesnym obniżeniu stężenia insuliny dowodzi, iż zwiększenie masy mięśni szkieletowych powoduje wzrost insulino-zależnego wychwytu glukozy. W obecnej chwili trudno jeszcze odpowiedzieć na pytanie, czy mechanizmy zmian tolerancji glukozy pod wpływem treningu wytrzymałościowego i siłowego są podobne. Według koncepcji Yki-Jarvinen i Koivisto (134) wzmożone tempo wychwytu glukozy u ciężarowców jest wyłącznie wynikiem zwiększenia masy mięśni (około 35%), nie zaś poprawy wrażliwości tkanki mięśniowej na insulinę, podczas gdy u sportowców uprawiających dyscypliny wytrzymałościowe masa mięśni nie ulega tak znacznym zmianom, natomiast wrażliwość na insulinę wyraźnie się poprawia, być może ze względu na zmniejszenie zawartości tłuszczu. Istnieją doniesienia w piśmiennictwie (65) sugerujące, iż trening wytrzymałościowy o umiarkowanej intensywności zastosowany u osób w średnim wieku charakteryzujących się podwyższonym stężeniem triacylogliceroli we

krwi i obniżoną tolerancją glukozy, nie zmienia nadmiernej reakcji glukozowej w doustnym teście tolerancji glukozy, pomimo iż stężenie insuliny ulega istotnemu obniżeniu w 90 i 120 min testu. Wydaje się więc, że we wszystkich przypadkach można mówić o poprawie ogólnej wrażliwości na insulinę pod wpływem treningu wytrzymałościowego.

W badaniach prowadzonych na zwierzętach uzyskano dane świadczące iż mięśnie szkieletowe a nie wątroba bądź tkanka tłuszczowa są odpowiedzialne za poprawę tolerancji glukozy i zwiększenie ogólnej wrażliwości organizmu na insulinę po długotrwałym (niewymuszonym) treningu wytrzymałościowym (77). Autorzy przypisują te zmiany zmniejszeniu przyrostów masy ciała u szczurów o zwiększonej aktywności ruchowej oraz zwiększeniu aktywności mięśniowych enzymów determinujących transport i utlenianie węglowodanów. Znaczną poprawę wrażliwości insulinowej mięśni pod wpływem treningu wytrzymałościowego udowodnili Espinal i wsp. (37), James i wsp. (52) oraz Davis i wsp. (28). Espinal i wsp. (37) podkreślają fakt, że istotnemu wzrostowi ulega w tych warunkach insulino-zależny transport glukozy do poddanego analizie mięśnia płaszczkowatego, podczas gdy wrażliwość procesu syntezy glikogenu na insulinę w tym mięśniu pozostaje niezmienną. James i wsp. (52) stosując metodę glikemicznego klampu z jednoczesnym podawaniem znakowanych analogów glukozy wykazali potreningowy wzrost wrażliwości na insulinę zarówno mięśni czerwonych jak i białych oraz mięśnia przepony, czego wyrazem było zwiększenie stymulowanego insuliną wychwyty 2-deoksyglukozy (2DG) przez te mięśnie. Podobnie do wyników uzyskanych przez Espinala i wsp. (37) również i w tej pracy nie stwierdzono zmian wrażliwości syntezy glikogenu na insulinę u trenowanych zwierząt, co dowodzi iż wychwytywana przez mięśnie glukoza

podlega przede wszystkim procesowi utleniania. Bardzo istotne jest spostrzeżenie autorów, że potreningowe zmiany wrażliwości insulinowej dotyczą także tych mięśni, które nie brały bezpośrednio udziału w wykonywaniu wysiłków sesji treningowej oraz tkanki tłuszczowej, w której zaobserwowano wzmożony insulino-zależny wychwyt 2-deoksyglukozy i jej wbudowywanie do kwasów tłuszczowych. Uzasadniony jest więc wniosek, iż poprawa ogólnej wrażliwości insulinowej organizmu pod wpływem wzmożonej aktywności ruchowej jest wynikiem zarówno czynników ogólnych ("systemic") jak i lokalnych. Korzystny wpływ stosunkowo krótkiego (4 tyg.) treningu wytrzymałościowego na wrażliwość insulinową mięśnia nadbłoczkowego udowodniła Davis i wsp. (28), pomimo że trening tego typu nie zmieniał tempa glikolizy i wychwytu glukozy przez ten mięsień w warunkach podstawowych. Insulino-zależny wzrost natężenia tych procesów okazał się istotnie większy u zwierząt trenowanych, natomiast wrażliwość syntezy glikogenu na insulinę nie uległa poprawie.

8. Założenia i cel pracy.

Dotychczasowe badania dotyczące wrażliwości insulinowej mięśni nie wyjaśniły czy jej zmiany zależą od intensywności i czasu trwania wysiłku, czy obejmują w jednakowym stopniu różne typy mięśni i jak długo utrzymują się po zakończeniu pracy. Nie wiadomo też, czy efekty treningowe zależą od rodzaju wysiłków zastosowanych podczas procesu treningowego, typu mięśni zaangażowanych w ich wykonanie, oraz jak długo zmiany wrażliwości insulinowej mięśni utrzymują się po zakończeniu treningu. Niejasne jest również, czy ewentualne zmiany zachodzące w mięśniach szkieletowych po jednorazowym wysiłku bądź treningu o różnej charakterystyce dotyczą w jednakowym stopniu syntezy

glikogenu i produkcji mleczanu odzwierciedlającego z dużym przybliżeniem wychwyt glukozy przez komórki mięśniowe.

Celem podjętych badań było więc: 1) zbadanie wpływu pojedynczych wysiłków fizycznych o różnej charakterystyce na wrażliwość mięśni szkieletowych na działanie insuliny ocenianą *in vitro* na podstawie pomiaru wytwarzania mleczanu i syntezy glikogenu, 2) zbadanie wpływu treningu fizycznego o charakterze wytrzymałościowym i "sprinterskim" na wrażliwość na insulinę mięśni szkieletowych oraz tolerancji węglowodanów po dożylnym obciążeniu glukozą, 3) porównanie wpływu zwiększonej aktywności ruchowej na wrażliwość insulinową mięśni o przewadze włókien wolnokurczących się (mięsień płaszczkowaty, 35) i szybko kurczących się (mięsień nadbloczkowy, 82) porównując wrażliwość mięśnia płaszczkowatego i nadbloczkowego. Prześledzono ponadto dynamikę zmian wrażliwości wybranych typów mięśni na działanie insuliny w różnym czasie po zakończeniu pojedynczych wysiłków fizycznych oraz treningu fizycznego.

MATERIAŁ I METODY

1. Zwierzęta.

Doświadczenia przeprowadzono na 394 szczurach samcach szczepu Wistar o masie ciała 180-200 g pochodzących z jednej hodowli. Przebywały one w drucianych klatkach o wymiarach 0.43 x 0.33 x 0.25 m po 5 zwierząt w klatce w Zwierzętarzni Zakładu Fizjologii Stosowanej I-CMDiK PAN w pomieszczeniu o stałej temperaturze 24°C i 12 godz. cyklu światło - ciemność. Zwierzęta otrzymywały standardową granulowaną mieszankę paszową produkcji Zakładów Doświadczalnych Wytwórni Pasz w Motyczu przy Centralnym Laboratorium Przemysłu Paszowego w Lublinie oraz wodę ad libitum. Szczury pozbawiano pokarmu na 12 godz. przed doświadczeniem za wyjątkiem badań, w których przeprowadzono test tolerancji glukozy, kiedy to pokarm zabierano na 6 godz przed jego rozpoczęciem.

Szczury stanowiące materiał doświadczalny obecnej pracy podzielono na następujące grupy: I. kontrolną (K) - zwierzęta nie wykonujące żadnych wysiłków, II. szczury poddane jednorazowym wysiłkom fizycznym (JWF) i III. zwierzęta poddane treningowi fizycznemu (TF). Szczury wykonywały wysiłki fizyczne na elektrycznej bieżni taśmowej (typ KT-10-02, produkcji Centralnego Ośrodka Techniki Medycznej, Białystok). W doświadczeniach wstępnych sprawdzano każdorazowo, które zwierzęta nadają się do badań wysiłkowych i oswajano je z bieżnią.

2. Modele wysiłków fizycznych.

2.1. Jednorazowe wysiłki fizyczne.

Zwierzęta grupy JWF, u których badano wpływ jednorazowego wysiłku fizycznego o różnej charakterystyce na wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę, podzielono na następujące podgrupy:

1. JWF-1 - szczury poddane jednorazowemu wytrzymałościowemu wysiłkowi o umiarkowanej intensywności ($v=20\text{m} \times \text{min}^{-1}$, czas biegu = 60 min.,

kąt nachylenia bieżni = 0°). Obciążenie przy wykonywaniu takiego wysiłku wynosi około 50-60% $\dot{V}O_{2\max}$ (3,119).

2. JWF-2 - szczury wykonujące jednorazowy wytrzymałościowy wysiłek o dużej intensywności i krótszym czasie trwania ($v=25 \text{ m} \times \text{min}^{-1}$, czas biegu = 30 min., kąt nachylenia bieżni = 10°). Obciążenie przy takim wysiłku wynosi w przybliżeniu 70- 80% $\dot{V}O_{2\max}$ (3,119).

3. JWF-3 - zwierzęta poddane wysiłkowi "sprinterskiemu", który składał się z sześciu dziesięciosekundowych biegów, z 50 s przerwami pomiędzy nimi. Intensywność takiego wysiłku zbliżona jest do 100% $\dot{V}O_{2\max}$ (3,119).

2.2. Trening fizyczny.

Grupę zwierząt TF poddano 5-tygodniowemu treningowi fizycznemu: wytrzymałościowemu (podgrupa TFW) bądź "sprinterskiemu" (podgrupa TFS). Proces treningowy rozpoczynano, gdy ciężar ciała zwierząt wynosił 70 - 80 g.

Trening wytrzymałościowy (TFW) polegał na stosowaniu codziennych, jednogodzinnych wysiłków o umiarkowanej intensywności na elektrycznej bieżni taśmowej 5 razy w tygodniu przez 5 tygodni. W pierwszym tygodniu treningu prędkość biegu wynosiła $16 \text{ m} \times \text{min}^{-1}$ a kąt nachylenia bieżni 0°. W następnym okresie treningu prędkość biegu zwiększano co tydzień o $4 \text{ m} \times \text{min}^{-1}$ aż do osiągnięcia szybkości $28 \text{ m} \times \text{min}^{-1}$ w czwartym i piątym tygodniu procesu treningowego.

Trening "sprinterski" (TFS) polegał na stosowaniu codziennie 5 razy w tygodniu przez 5 tygodni sześciu 10 s biegów na bieżni z 50 s przerwami między nimi. W pierwszym tygodniu treningu prędkość biegu wynosiła $42 \text{ m} \times \text{min}^{-1}$ a kąt nachylenia bieżni 0°. W kolejnych okresach treningu prędkość zwiększano o $4 \text{ m} \times \text{min}^{-1}$ a kąt nachylenia bieżni o 5° tygodniowo aż do osiągnięcia w 4 i 5 tyg. treningu szybkości $54 \text{ m} \times \text{min}^{-1}$ i nachylenia bieżni 15°.

3. Przebieg doświadczeń.

W celu określenia wrażliwości mięśni szkieletowych na insulinę w warunkach *in vitro* zwierzęta stanowiące grupę kontrolną oraz zwierzęta z grup JWF i TF dekapitowano przez przerwanie rdzenia przedłużonego. Mięśnie płaszczkowaty i nadbloczkowy pobierano natychmiast po dekapitacji od szczurów kontrolnych oraz w 0.25, 2 i 24 godz. po zakończeniu każdego z wysiłków jednorazowych. W przypadku zwierząt wykonujących wysiłek wytrzymałościowy o umiarkowanej intensywności dodatkowo pobierano mięsień płaszczkowaty w 48 godz po jego zakończeniu. U zwierząt poddanych treningowi wytrzymałościowemu pobierano mięsień płaszczkowaty w 24 , 48 i 72 godz. a mięsień nadbloczkowy w 24 i 48 godz. po ostatnim wysiłku wchodzącym w skład cyklu treningowego. W przypadku treningu "sprinterskiego" oba mięśnie pobierano w 24 i 48 godz. po ostatnim wysiłku. W każdej serii doświadczeń zawsze pobierano obydwie mięśnie od kilku zwierząt kontrolnych i traktowano je identycznie, jak próbki mięśni uzyskanych od zwierząt z grup JWF i TF.

Dla określenia wrażliwości tkanki mięśniowej na insulinę mięsień płaszczkowaty dzielono podłużnie na dwie równe części (30 - 35 mg), które zawieszano na stalowych zaczepach tak, aby zachować fizjologiczne napięcie spoczynkowe. Mięsień nadbloczkowy (30 - 35 mg) pobierano w całości, inkubując go po odcięciu przyczepów i bez zawieszania. W dodatkowych doświadczeniach przeprowadzanych na odrębnych grupach zwierząt kontrolnych, JWF i TF pobierano obydwie mięśnie w takich samych odstępach czasu po wysiłku bądź treningu jak w przypadku oceny wrażliwości mięśni na działanie insuliny w celu oznaczenia zawartości glikogenu.

Ponadto dla określenia efektów treningu w 24 godz. po ostatnim wysiłku każdej serii treningowej pobierano mięsień płaszczkowaty i oznaczano w nim maksymalną aktywność heksokinazy i dehydrogenazy X-

ketoglutaranu. W mięśni naddbłoczkowym trenowanych zwierząt oznaczano tylko maksymalną aktywność heksokinazy. Mięśnie pobrane w celu określenia zawartości glikogenu oraz aktywności enzymów biorących udział w kontroli przemian węglowodanowych zamrażano w ciekłym azocie i przetrzymywano tam aż do czasu przeprowadzenia odpowiednich analiz.

W odrębnej grupie zwierząt kontrolnych oraz u szczurów w 24 godz. po zakończeniu treningu wytrzymałościowego i "sprinterskiego", wykonano także dożylny test tolerancji glukozy (DTTG).

4. Zasada i opis metody oznaczania wrażliwości mięśni szkieletowych na insulinę.

Półówki mięśnia płaszczkowatego bądź mięsień naddbłoczkowy inkubowano w zlewkach Erlenmeyera w 5 ml buforu Krebsa - Ringera zmodyfikowanego przez Challiss'a i wsp. (17) oraz Budohoskiego i wsp. (7). Zawierał on 1.5% (w/v) albuminy pozbawionej wolnych kwasów tłuszczowych i 5.5 mM glukozy. Bufor nasycano mieszaniną O_2/CO_2 w proporcji 19:1 przez 30 min przed rozpoczęciem inkubacji. Próbkę mięśni poddawano preinkubacji przez 15 min w celu przywrócenia metabolizmu spoczynkowego. Płyn preinkubacyjny nasycano stale mieszaniną O_2/CO_2 w proporcji 19:1. Następnie próbki mięśni przenoszono do naczyń zawierających świeży bufor, 0.25 μCi [$U-^{14}C$] glukozy $\times ml^{-1}$ oraz insulinę w stężeniu od 1 do 10000 $\mu U \times ml^{-1}$ i inkubowano przez 60 min. Mieszaninę inkubacyjną nasycano O_2/CO_2 w proporcji 19:1 przez 45 min okresu inkubacji (36).

Oznaczano stężenie kwasu mlekowego (LA) w mieszaninie inkubacyjnej oraz wbudowywanie ^{14}C w glikogen mięśniowy. W celu oznaczenia stężenia kwasu mlekowego bufor odbiałczano 25% kwasem nadchlorowym a następnie czysty nadsącz zobojętniano 40% KOH. Powstały osad ($KClO_4$) usuwano po odwirowaniu przez 10 min przy szybkości obrotów 3000 $\times min^{-1}$ w temperaturze 4°C. Stężenie LA oznaczano w nadsączu według metody opisanej przez Challiss'a (17). Wbudowywanie D[$U-^{14}C$] glukozy d

glikogenu określano metodą opisaną przez Challissa i wsp. (17) i Budohoskigo i wsp. (7). Próbkę mięśnia bezpośrednio po zakończeniu inkubacji poddawano trawieniu 1 M NaOH w temperaturze 70°C przez 1 godz., po czym glikogen wytrącano 75% roztworem etanolu. Po trzykrotnym przemyciu osadu 75% roztworem alkoholu, rozpuszczano go w 0.5 ml redestylowanej wody i przenoszono do naczynka scyntylicyjnego. We wszystkich analizach używano uprzednio przygotowanego scyntylicyjatora w skład którego wchodził toluen - 1500 ml, triton - 750 ml, PPO - 6 g i POPOP - 0.15 g. Impulsy zliczano w liczniku promieniowania β firmy LKB Wallac, Szwecja.

Dla wyznaczenia jednej krzywej opisującej zależność produkcji mleczanu bądź syntezy glikogenu od różnych stężeń insuliny (1 - 10000 $\mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$) używano 5 próbek mięśni.

Przebieg tej zależności pozwala ocenić zmiany tempa produkcji mleczanu oraz syntezy glikogenu pod wpływem insuliny. Wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę określano na podstawie stężenia hormonu przy którym tempo produkcji mleczanu bądź syntezy glikogenu osiągało połowę wartości maksymalnej (ED_{50}). Obliczano ją stosując komputerową transformację danych według funkcji krzywej sigmoidalnej w formie log/logitowej (121). W każdej serii doświadczalnej dla mierzonych wartości produkcji kwasu mlekowego i syntezy glikogenu wyliczano średnią arytmetyczną (\bar{x}) i błąd standardowy ($\pm \text{SE}$), natomiast w przypadku' wrażliwości mięśni szkieletowych na insulinę obliczono średnią geometryczną i odpowiadające jej błędy standardowe. Statystyczną istotność różnic pomiędzy odpowiednimi podgrupami oceniano stosując test t-Studenta dla zmiennych niesparowanych. Hipotezę zerową odrzucano przy $p < 0.05$.

5. Test tolerancji glukozy.

W warunkach lekkiej narkozy eterowej wprowadzono do tętnicy szyjnej prawej szczura cewnik wypełniony roztworem heparyny (25 j.m. $\times \text{ml}^{-1}$),

który podskórnie przeprowadzano do grzbietu, wyprowadzając go na zewnątrz pomiędzy łopatkami. Cewnik utrzymywano u badanych zwierząt przez 74 godz. od chwili zakończenia treningu. Dożylny test tolerancji glukozy przeprowadzono w 24, 48 i 72 godz. od chwili zakończenia ostatniego wysiłku, podając 50% roztwór glukozy zawierający 1 g glukozy na 1 kg masy ciała. Krew do oznaczeń stężenia glukozy pobierano z żyły ogonowej bezpośrednio przed podaniem glukozy oraz w 5, 10, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 i 120 min po jej wprowadzeniu. W 100 μ l odbiałczonej krwi oznaczano stężenie glukozy metodą enzymatyczną według Soar i wsp. (116). Obliczano pole powierzchni zawarte pod wykreślonymi krzywymi testu tolerancji glukozy. Wyniki uzyskane u zwierząt trenowanych porównywano z otrzymanymi u szczurów kontrolnych.

6. Pomiar zawartości glikogenu mięśniowego.

W próbkach mięśnia płaszczkowatego i nadbłoczkowego oznaczano zawartość glikogenu, według metody opisanej przez Hultmana (49). Tkanekę mięśniową hydrolizowano w 1 M roztworze HCl w temperaturze 100°C. Po odwirowaniu hydrolizatu (3000 obrotów \times min⁻¹) nadsącz neutralizowano 2.1 M roztworem KHCO₃ aż do osiągnięcia pH 7.0 i oznaczano reszty glukozyłowe metodą kolorymetryczną, używając zestawu do oznaczania glukozy firmy Boehringer (Mannheim GmbH, RFN).

7. Opis metod oznaczania aktywności enzymów.

7.1. Pomiar aktywności heksokinazy.

W celu określenia maksymalnej aktywności heksokinazy próbki mięśni homogenizowano w 10 objętościach roztworu o pH 7.4 w skład którego wchodziło: 150 mM KCl, 5 mM MgCl₂, 5 mM EDTA, 5 mM merkaptoetanolu. Aktywność heksokinazy oznaczano w warunkach optymalnych (temperatura 30°C i pH 7.4). Mieszanina reakcyjna zawierała 0.2 M Tris, 42 mM MgCl₂, 6.5 mM NADP⁺, 42 mM ATP, 4.17 mM glukozy, 25 j.m./ml dehydrogenazy G-6-P i 120 mM merkaptoetanolu. Reakcję rozpoczynano

dodając do tej mieszaniny 50 μ l homogenatu. Końcowa objętość mieszaniny reakcyjnej w kiuwecie wynosiła 2.5 ml. Maksymalną aktywność heksokinazy mierzono oceniając tempo wytwarzania NADPH w mieszaninie reakcyjnej. Zmiany absorpcji odczytywano przez 15 min i zapisywano je graficznie przy długości fali 340 nm (112).

7.2. Oznaczanie aktywności dehydrogenazy α -ketoglutaranu.

Próbkę mięśnia homogenizowano w 10 objętościach 5 mM buforu HEPES, przy pH 7.4 zawierającego 250 mM manitolu i 1 mM EGTA. Aktywność dehydrogenazy α -ketoglutaranu oznaczano w temperaturze 25 $^{\circ}$ C w mieszaninie reakcyjnej zawierającej 250 mM manitol, 10 mM fosforan potasu, 100 mM Tris/HCl - pH 7,4, 10 mM KCl, 5 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 0.05 % (v/v) Triton X - 100, 2 mM NAD⁺, 0.63 mM CoA, 10 mM 2 - glutaran. Reakcję rozpoczynano dodając 20 μ l homogenatu mięśni. Końcowa objętość mieszaniny reakcyjnej w kiuwecie wynosiła 2.0 ml. Maksymalną aktywność enzymu oceniano na podstawie pomiaru tempa wytwarzania NADH. Zmiany absorpcji odczytywano przez 15 min, zapisując je graficznie przy długości fali 340 nm (22).

8. Matematyczne opracowanie wyników.

W każdej serii doświadczalnej dla mierzonych wartości obliczono średnią arytmetyczną (\bar{x}) i błąd standardowy (+/-SE). Statystyczna istotność różnic pomiędzy grupami obliczano testem t-Studenta dla zmiennych niesparowanych. Hipotezę zerową odrzucano przy $p < 0.05$.

WYNIKI

1. Wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę u zwierząt kontrolnych.

Użyte w badaniach mięśnie (płaszczkowy i nadbłoczkowy) reagowały na zwiększanie stężenia insuliny w mieszaninie inkubacyjnej wzrostem tempa syntezy glikogenu oraz tempa produkcji mleczanu (Tab. 1,2,4,5,10,11). Krzywe charakteryzujące odpowiedź obydwu procesów na wzrost stężenia insuliny w warunkach kontrolnych u szczurów niewykonujących wysiłków fizycznych mają kształt sigmoidalny, a wyliczona wrażliwość na insulinę wynosi ok. $100 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ (Ryc. 1,2,5,6).

2. Wpływ jednorazowego wysiłku fizycznego o różnej charakterystyce na wrażliwość mięśni na insulinę i zawartość glikogenu.

2.1. Mięsień płaszczkowy.

Jednorazowy wysiłek fizyczny typu wytrzymałościowego (JWF-1) spowodował zmiany zależności między produkcją mleczanu przez mięsień płaszczkowy a stężeniem insuliny w płynie inkubacyjnym. Największy wzrost tempa produkcji LA stwierdzono w 0.25 godz po zakończeniu wysiłku fizycznego tego typu, przy czym przy wszystkich stosowanych stężeniach insuliny powyżej $1 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ tempo produkcji LA było istotnie wyższe od uzyskanego w warunkach kontrolnych (Tab. 1). W 2 godz po zakończeniu 60 min wysiłku wytrzymałościowego tempo produkcji LA określone dla stężenia insuliny $10 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ i $100 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ było istotnie wyższe od wartości kontrolnych i wynosiło odpowiednio: 12.40 ± 0.83 vs. 9.58 ± 0.32 ($p < 0.01$) i 16.70 ± 0.7 vs. 13.80 ± 0.33 ($p < 0.001$) $\mu\text{mol} \times \text{h}^{-1} \times \text{g}^{-1}$ świeżej tkanki (Tab. 1). Po 24 godz od chwili zakończenia wysiłku tego typu tempo produkcji LA różniło się istotnie od stwierdzonego u zwierząt kontrolnych jedynie przy stężeniu insuliny $10 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ (Tab. 1).

Zmiany wrażliwości procesu produkcji LA na insulinę w różnym czasie po zakończeniu wysiłku wytrzymałościowego o umiarkowanej intensywności

TABELA 1. Wpływ jednorazowych wysiłków fizycznych o różnej charakterystyce w różnych odstępach czasu od chwili ich zakończenia na zmiany tempa produkcji mleczanu w mięśniach płaszczkowatym szczura inkubowanym w obecności zróżnicowanych stężeń insuliny.

STĘŻENIE INSULINY ($\mu\text{U/ml}$)	ZWIERZĘTA KONTROLNE	CZAS PO ZAKOŃCZENIU WYSIŁKU (h)	TEMPO PRODUKCJI MLECZANU ($\mu\text{mole} \times \text{g}^{-1} \times \text{h}^{-1}$)		
			WYSIŁEK WYTRZYMAŁOŚCIOWY O UMARKOWANEJ INTENSYWNOŚCI	WYSIŁEK WYTRZYMAŁOŚCIOWY O DUŻEJ INTENSYWNOŚCI	WYSIŁEK "SPRINTERSKI"
1	8,83+/-0,23 (26)	0,25	9,65+/-0,54 (7)	8,93+/-0,58 (7)	8,51+/-0,50 (7)
10	9,58+/-0,32 (26)		15,98+/-0,78 (7)****	9,87+/-0,67 (7)	9,38+/-0,47 (7)
100	13,80+/-0,33 (26)		18,08+/-0,65 (7)****	15,80+/-0,79 (7)**	11,70+/-0,65 (7)
1000	18,80+/-0,38 (26)		21,27+/-0,28 (7)***	19,30+/-0,42 (7)	17,60+/-0,55 (7)
10000	19,80+/-0,28 (26)		22,20+/-0,33 (7)****	19,60+/-0,81 (7)	18,30+/-0,51 (7)
1		2,00	9,32+/-0,05 (7)	8,95+/-0,43 (7)	8,50+/-0,61 (7)
10			12,40+/-0,83 (7)***	9,98+/-0,32 (7)	9,19+/-0,53 (7)
100			16,70+/-0,70 (7)****	15,90+/-0,24 (7)***	12,30+/-0,61 (7)
1000			18,90+/-0,56 (7)	19,30+/-0,75 (7)	17,90+/-0,58 (7)
10000			20,10+/-0,59 (7)	19,80+/-0,47 (7)	18,70+/-0,58 (7)
1		24,00	9,56+/-0,82 (7)	8,80+/-0,54 (7)	9,00+/-0,57 (7)
10			12,10+/-0,81 (7)***	9,68+/-0,41 (7)	9,48+/-0,71 (7)
100			14,50+/-1,02 (7)	13,00+/-0,52 (7)	13,20+/-0,90 (7)
1000			19,60+/-0,64 (7)	17,70+/-0,63 (7)	18,50+/-0,54 (7)
10000			19,70+/-0,62 (7)	19,00+/-0,57 (7)	19,10+/-0,72 (7)
1		48,00	8,76+/-0,38 (7)		
10			9,52+/-0,56 (7)		
100			13,30+/-0,55 (7)		
1000			19,10+/-0,52 (7)		
10000			19,80+/-0,56 (7)		

Wartości podano jako średnie arytmetyczne +/- błąd standardowy (SE). Ilość badanych próbek mięśni podano w nawiasach. Różnice statystycznie znamienne w stosunku do wartości kontroli oznaczono: ** $p < 0,02$, *** $p < 0,01$, **** $p < 0,001$.

w stosunku do grupy kontrolnej ilustruje Ryc.1. Wrażliwość tempa produkcji LA na insulinę w omawianym mięśniu uległa istotnej poprawie w stosunku do wartości uzyskanych u zwierząt kontrolnych w 0.25 i 2 godz. od chwili zakończenia wysiłku.

Umiarkowany wysiłek wytrzymałościowy spowodował poprawę wrażliwości syntezy glikogenu na insulinę w mięśniu płaszczkowatym tylko w 24 godz. od chwili jego zakończenia (Ryc. 1), chociaż istotne różnice tempa tego procesu stwierdzono 0.25, 2 i 24 godz. Tempo syntezy glikogenu mierzone w 0.25 godz. po wysiłku tego typu było istotnie podwyższone przy wszystkich stężeniach insuliny z wyjątkiem $100 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$. Tempo tego procesu mierzone w 2 i 24 godz. po zakończeniu wysiłku było istotnie wyższe od wartości kontrolnych przy wszystkich stężeniach insuliny (Tab. 2).

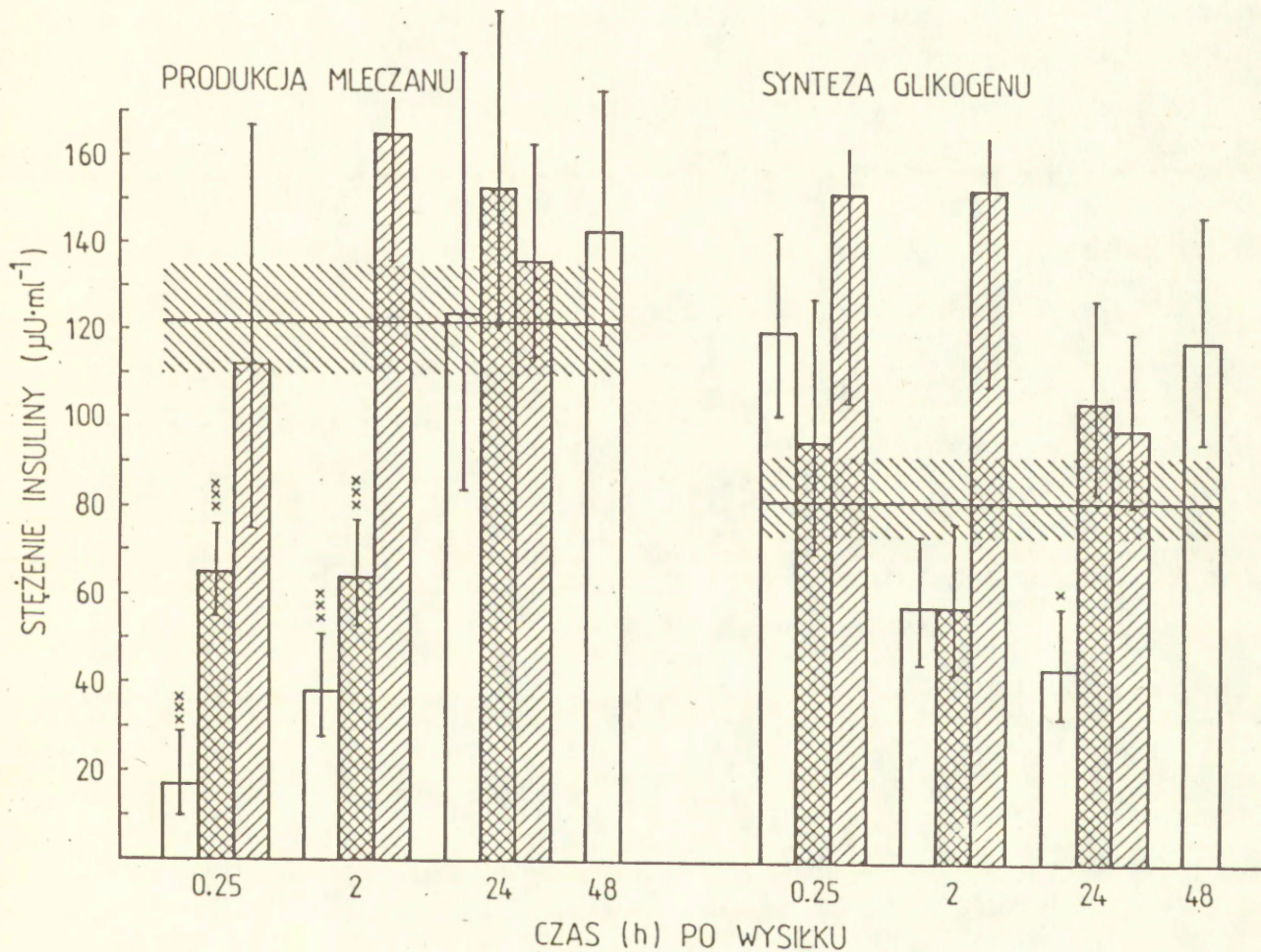
Wysiłek wytrzymałościowy o dużej intensywności (JWF-2) spowodował zwiększenie tempa produkcji LA jedynie przy stężeniu insuliny $100 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$. Było ono istotnie wyższe od kontrolnego zarówno w 0.25 jak i w 2 godz. po zakończeniu wysiłku tego typu (Tab. 1).

Wrażliwość tempa produkcji LA na insulinę po tym wysiłku uległa poprawie po 0.25 i 2.0 godz. od chwili jego zakończenia (Ryc. 1).

Zmiany tempa syntezy glikogenu po JWF-2 stwierdzono po 0.25 i 2 godz. od zakończenia wysiłku tego typu. W 0.25 godz. tempo syntezy glikogenu było podwyższone przy stężeniu insuliny $10 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$, różniąc się istotnie od wartości kontrolnej. Po 2 godz. od chwili zakończenia wysiłku tempo tego procesu było istotnie wyższe od wartości kontrolnych dla wszystkich zastosowanych stężeń insuliny (Tab. 2).

Wysiłek wytrzymałościowy o dużej intensywności nie spowodował istotnych zmian wrażliwości procesu syntezy glikogenu na insulinę (Ryc. 1) w badanych okresach po jego zakończeniu.

Ryc. 1. Wrażliwość tempa produkcji mleczanu oraz tempa syntezy glikogenu na insulinę w mięśniu płaszczkowatym zwierząt pozostających w spoczynku i po jednorazowych wysiłkach w różnych odstępach czasu od chwili ich zakończenia.



- ▨ - kontrola
- - jednorazowy wysiłek wytrzymałościowy o umiarkowanej intensywności
- ▩ - jednorazowy wysiłek wytrzymałościowy o dużej intensywności
- ▤ - jednorazowy wysiłek "sprinterski"

Wartości podano jako średnie arytmetyczne \pm błąd standardowy (SE). Różnice statystycznie znamienne w stosunku do wartości kontrolnych oznaczono: * $p < 0.05$, *** $p < 0.01$.

TABELA 2. Wpływ jednorazowych wysiłków fizycznych o różnej charakterystyce w różnych odstępach czasu od chwili ich zakończenia na zmiany tempa syntezy glikogenu w mięśniach płaszczkowatym szczura inkubowanym w obecności zróżnicowanych stężeń insuliny.

STĘŻENIE INSULINY ($\mu\text{U/ml}$)	ZWIERZĘTA KONTROLNE	CZAS PO ZAKOŃCZENIU WYSIŁKU (h)	TEMPO SYNTEZY GLIKOGENU ($\mu\text{mole} \times \text{g}^{-1} \times \text{h}^{-1}$)		
			WYSIŁEK WYTRZYMAŁOŚCIOWY O UMIARKOWANEJ INTENSYWNOŚCI	WYSIŁEK WYTRZYMAŁOŚCIOWY O DUŻEJ INTENSYWNOŚCI	WYSIŁEK "SPRINTERSKI"
1	1,54 \pm 0,09 (24)	0,25	2,26 \pm 0,50 (7)***	1,96 \pm 0,30 (7)	1,50 \pm 0,27 (7)
10	1,78 \pm 0,09 (24)		2,37 \pm 0,37 (7)*	2,44 \pm 0,21 (7)***	1,75 \pm 0,20 (7)
100	2,93 \pm 0,11 (24)		3,38 \pm 0,31 (7)	3,20 \pm 0,18 (7)	2,39 \pm 0,25 (7)
1000	3,80 \pm 0,14 (24)		4,63 \pm 0,14 (7)*	4,27 \pm 0,47 (7)	3,91 \pm 0,38 (7)
10000	4,02 \pm 0,15 (24)		4,75 \pm 0,13 (7)**	4,36 \pm 0,42 (7)	4,37 \pm 0,30 (7)
1		2,00	2,38 \pm 0,27 (7)***	2,53 \pm 0,25 (7)****	1,49 \pm 0,18 (7)
10			3,05 \pm 0,44 (7)****	3,24 \pm 0,42 (7)****	2,09 \pm 0,29 (7)
100			4,52 \pm 0,17 (7)****	4,50 \pm 0,48 (7)****	2,72 \pm 0,24 (7)
1000			5,74 \pm 0,69 (7)****	5,38 \pm 0,50 (7)****	4,15 \pm 0,26 (7)
10000			5,92 \pm 0,56 (7)****	5,79 \pm 0,53 (7)****	4,28 \pm 0,23 (7)
1		24,00	2,11 \pm 0,17 (7)***	1,91 \pm 0,27 (7)	2,01 \pm 0,34 (7)
10			2,78 \pm 0,21 (7)****	1,94 \pm 0,24 (7)	2,03 \pm 0,32 (7)
100			4,08 \pm 0,17 (7)****	2,95 \pm 0,27 (7)	3,00 \pm 0,34 (7)
1000			4,60 \pm 0,28 (7)**	3,77 \pm 0,30 (7)	3,78 \pm 0,34 (7)
10000			4,95 \pm 0,27 (7)	3,99 \pm 0,27 (7)	3,94 \pm 0,28 (7)
1		48,00	1,62 \pm 0,20 (7)		
10			1,76 \pm 0,20 (7)		
100			2,70 \pm 0,25 (7)		
1000			3,58 \pm 0,25 (7)		
10000			3,88 \pm 0,22 (7)		

Wartości podano jako średnie arytmetyczne \pm błąd standardowy (SE). Ilość badanych próbek mięśni podano w nawiasach. Różnice statystycznie znamienne w stosunku do wartości kontrolnych oznaczono: * $p < 0,05$, ** $p < 0,02$, *** $p < 0,01$, **** $p < 0,001$.

Przy żadnym z zastosowanych stężeń insuliny nie stwierdzono istotnych zmian ani tempa produkcji mlecznu ani syntezy glikogenu w mięśni płaszczkowatym pobranym od szczurów poddanym wysiłkowi "sprinterskiemu". Nie stwierdzono również modyfikującego wpływu wysiłku tego typu na wrażliwość obydwu procesów na insulinę (Tab. 1, 2, Ryc. 1).

Zawartość glikogenu w mięśni płaszczkowatym obniżyła się w stosunku do wartości spoczynkowych (28.42 ± 0.77 μmol jednostek glukozylowych) po wysiłkach wszystkich typów. Najniższy średni poziom tego substratu stwierdzono w 0.25 godz. od chwili zakończenia wysiłku "sprinterskiego" (7.11 ± 0.85 ($p < 0.001$) μmol jedn. glukozył. $\times \text{g}^{-1}$ świeżej tkanki). Istotnie niższa zawartość glikogenu mięśniowego w stosunku do wartości kontrolnych utrzymywała się w 2 godz. po zakończeniu wysiłku tego typu (Tab. 3).

Zawartość glikogenu w mięśni płaszczkowatym była istotnie obniżona jedynie w 0.25 godz. po zakończeniu wysiłku wytrzymałościowego o umiarkowanej i dużej intensywności. W 2 i 24 godz. po zakończeniu JWF-1 stwierdzono zwiększenie zawartości glikogenu w mięśni płaszczkowatym. w stosunku do wartości spoczynkowej. JWF-2 spowodował zwiększenie zawartości glikogenu w tym mięśni dopiero w 24 godz. od chwili jego zakończenia (Tab. 3).

2.2. Mięsień nadbłoczkowy.

W mięśni nadbłoczkowym zmiany przebiegu tempa produkcji LA w odpowiedzi na zwiększone stężenie insuliny stwierdzono po obydwu zastosowanych wysiłkach jednorazowych tzn. wytrzymałościowym i "sprinterskim". Największy wzrost tempa produkcji LA notowano po jednorazowym wysiłku sprinterskim w 0.25 i 2 godz. od chwili jego zakończenia przy stężeniu insuliny wynoszącym 10 i 100 $\mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ (Tab. 4). Tempo produkcji mleczanu w tym mięśni było także istotnie wyższe od spoczynkowego po wysiłku wytrzymałościowym o umiarkowanej

Tabela 3. Zawartość glikogenu mięśniowego ($\mu\text{mole jednostek glukozylowych} \times \text{g}^{-1}$ świeżej tkanki) w mięśniu płaszczkowatym szczura po jedorazowych wysiłkach fizycznych i treningu wytrzymałościowym oraz "sprinterskim" oznaczonych w różnych odstępach czasu od chwili ich zakończenia.

CZAS PO ZAKOŃCZENIU WYSIŁKU	WYSIŁEK WYTRZYMAŁOŚCIOWY O UMIARKOWANEJ INTENSYWNOŚCI	WYSIŁEK WYTRZYMAŁOŚCIOWY O DUŻEJ INTENSYWNOŚCI	WYSIŁEK "SPRINTERSKI"	TRENING WTRZYMAŁOŚCIOWY	TRENING "SPRINTERSKI"
0,25 h	16,17 \pm 0,56 (10)****	10,74 \pm 0,96 (8)****	7,11 \pm 0,85 (8)****		
2,00 h	34,22 \pm 0,77 (11)****	29,77 \pm 0,59 (8)	22,06 \pm 0,84 (8)****		
24,00 h	30,90 \pm 0,68 (9)*	31,97 \pm 0,71 (8)**	28,99 \pm 0,98 (7)	38,02 \pm 0,30 (8)****	29,60 \pm 0,97 (8)
48,00 h	23,30 \pm 0,45 (8)			37,02 \pm 0,30 (8)****	28,82 \pm 0,63 (8)
72,00 h				32,89 \pm 0,82 (8)	

Zawartość glikogenu w mięśniu płaszczkowatym zwierząt kontrolnych wynosiła 28,42 \pm 0,77 $\mu\text{moli jedn. glukozył.} \times \text{g}^{-1}$ tk, (n=9). Wartości podano jako średnie arytmetyczne \pm błąd standardowy (SE). Ilość badanych próbek mięśni podano w nawiasach. Różnice statystycznie znamienne w stosunku do wartości kontrolnych oznaczono: ** p<0,02, *** p<0,01, **** p<0,001.

TABELA 4 Wpływ jednorazowego wysiłku wytrzymałościowego i "sprinterskiego" w różnych odstępach czasu od chwili ich zakończenia na zmiany tempa produkcji mleczanu w mięśni nadbłoczkowym szczura inkubowanym w obecności zróżnicowanych stężeń insuliny .

STĘŻENIE INSULINY ($\mu\text{U}/\text{ml}$)	ZWIERZĘTA KONTROLNE	CZAS PO ZAKOŃCZENIU WYSIŁKU (h)	TEMPO PRODUKCJI MLECZANU ($\mu\text{mole} \times \text{g}^{-1} \times \text{h}^{-1}$)	
			WYSIŁEK WYTRZYMAŁOŚCIOWY O UMARKOWANEJ INTENSYWNOŚCI	WYSIŁEK "SPRINTERSKI"
1	7,89+/-0,24 (16)	0,25	8,70+/-0,71 (7)	8,43+/-0,31 (7)
10	8,21+/-0,32 (16)		9,92+/-0,78 (7)*	9,40+/-0,36 (7)*
100	11,07+/-0,21 (16)		12,06+/-1,29 (7)	12,40+/-0,35 (7)***
1000	14,12+/-0,28 (16)		14,12+/-0,28 (7)	14,69+/-0,24 (7)
10000	14,84+/-0,29 (16)		14,84+/-0,96 (7)	14,85+/-0,24 (7)
1		2,00	8,40+/-0,29 (7)	8,47+/-0,48 (7)
10			9,26+/-0,22 (7)*	10,30+/-0,55 (7)***
100			12,37+/-0,67 (7)*	12,96+/-0,31 (7)****
1000			14,56+/-0,18 (7)	14,89+/-0,35 (7)
10000			14,89+/-0,28 (7)	14,71+/-0,39 (7)
1		24,00	7,97+/-0,41 (7)	7,54+/-0,44 (7)
10			8,50+/-0,54 (7)	8,20+/-0,41 (7)
100			11,65+/-0,46 (7)	11,39+/-0,34 (7)
1000			14,44+/-0,26 (7)	14,17+/-0,27 (7)
10000			14,61+/-0,45 (7)	14,86+/-0,24 (7)

Wartości podano jako średnie arytmetyczne +/- błąd standardowy (SE). Ilość badanych próbek mięśni podano w nawiasach. Różnice statystycznie znamienne w stosunku do wartości kontroli oznaczono: † p<0,05, *** p<0,01, **** p<0,001.

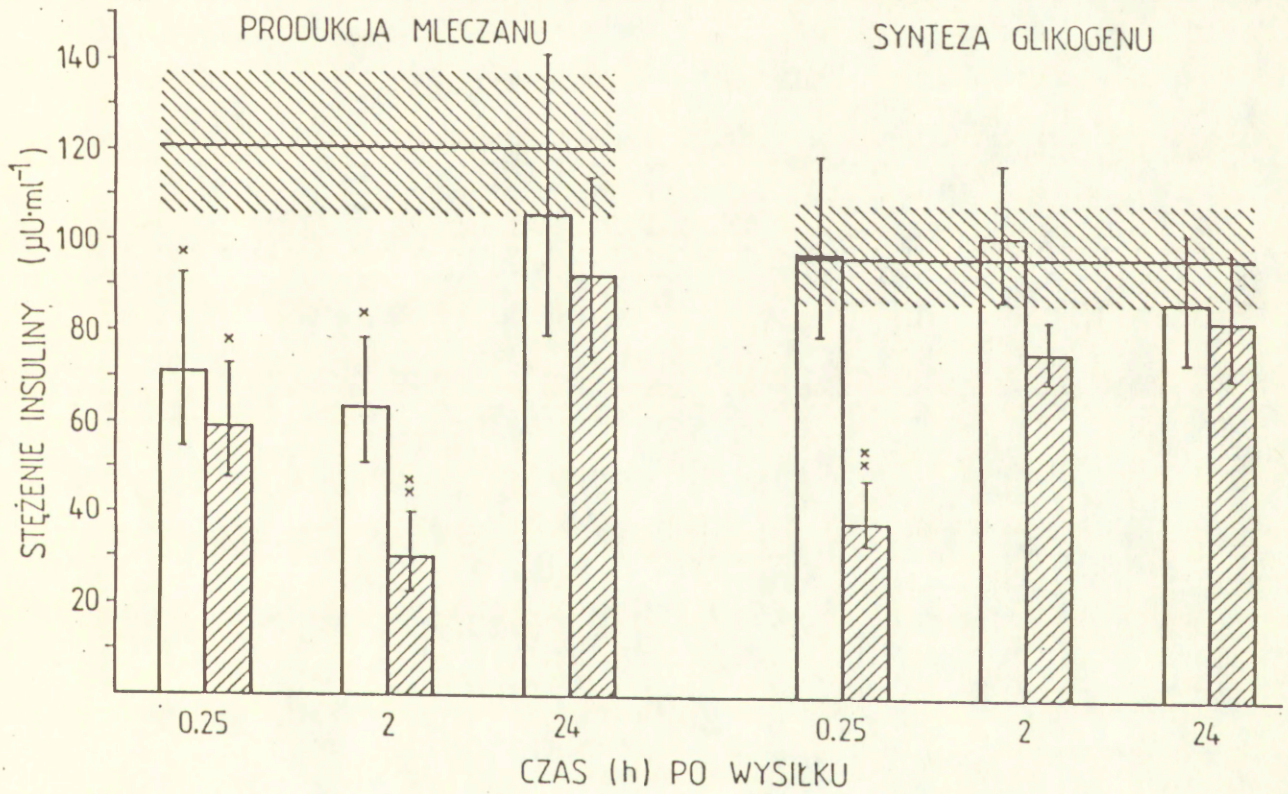
intensywności przy stężeniu insuliny $10 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ w 0.25 godz. od chwili zakończenia wysiłku tego typu oraz przy stężeniu insuliny 10 oraz $100 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ w 2 godz. po zakończeniu tego typu wysiłku (Tab. 4). Wrażliwość tempa produkcji mleczanu na insulinę w mięśniach naddbłoczkowych uległa istotnej poprawie po obydwu zastosowanych wysiłkach, utrzymując się na tym poziomie przynajmniej przez 2 godz. po ich zakończeniu (Ryc. 2).

Zastosowane w badaniach jednorazowe wysiłki fizyczne spowodowały także zmianę przebiegu krzywych charakteryzujących współzależność między tempem syntezy glikogenu w mięśniach naddbłoczkowych i stężeniem insuliny w płynie inkubacyjnym (Tab. 5). Najwyraźniejsze zmiany obserwowano w 0.25 i 2 godz. po jednorazowym wysiłku sprinterskim przy czym w okresach tych tempo syntezy glikogenu było istotnie zwiększone tylko w obecności niższych stężeń insuliny ($1 - 100 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$) (Tab. 5). Po wysiłku wytrzymałościowym o umiarkowanej intensywności tempo syntezy glikogenu w mięśniach naddbłoczkowych było istotnie wyższe w obecności śladowych stężeń insuliny (1 i $10 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$) co ujawniło się w 0.25 i 2 godz. po zakończeniu wysiłku tego typu (Tab. 5).

Istotną poprawę wrażliwości tempa syntezy glikogenu na insulinę w mięśniach naddbłoczkowych (Ryc. 2) stwierdzono tylko w 0.25 godz po zakończeniu jednorazowego wysiłku "sprinterskiego".

Zawartość glikogenu w mięśniach naddbłoczkowych w tym wczesnym okresie po zakończeniu wysiłku "sprinterskiego" obniżyła się istotnie ($p < 0.02$) w stosunku do wartości spoczynkowych (wynosiła $23.87 \pm 1.89 \mu\text{M}$ jedn. glukozyli. $\times \text{g}^{-1}$ świeżej tkanki). Istotne ($p < 0.05$) zmniejszenie zawartości glikogenu w tym mięśniach stwierdzono również w 0.25 godz po zakończeniu wysiłku wytrzymałościowego (Tab. 6).

Ryc. 2. Wrażliwość tempa produkcji mleczańu oraz tempa syntezy glikogenu na insulinę w mięśniu nadbłoczkowym zwierząt pozostających w spoczynku i po jednorazowych wysiłkach w różnych odstępach czasu od chwili ich zakończenia.



- ▨ - kontrola
- - Jednorazowy wysiłek wytrzymałościowy o umiarkowanej intensywności
- ▩ - Jednorazowy wysiłek wytrzymałościowy o dużej intensywności
- ▧ - Jednorazowy wysiłek "sprinterski"

Wartości podano jako średnie arytmetyczne ± błąd standardowy (SE). Różnice statystycznie znaczne w stosunku do wartości kontrolnych oznaczono: * p<0.05, ** p<0.02.

TABELA 5. Wpływ jednorazowego wysiłku wytrzymałościowego i "sprinterskiego" w różnych odstępach czasu od chwili ich zakończenia na zmiany tempa syntezy glikogenu w mięśniu nadbłoczkowym szczura inkubowanym w obecności zróżnicowanych stężeń insuliny.

STĘŻENIE INSULINY ($\mu\text{U/ml}$)	ZWIERZETA KONTROLNE	CZAS PO ZAKOŃCZENIU WYSIŁKU (h)	TEMPO SYNTEZY GLIKOGENU ($\mu\text{mole} \times \text{g}^{-1} \times \text{h}^{-1}$)	
			WYSIŁEK WYTRZYMAŁOŚCIOWY O UMARKOWANEJ INTENSYWNOSCI	WYSIŁEK "SPRINTERSKI"
1	0,84 \pm 0,06 (16)	0,25	1,43 \pm 0,15 (7)****	1,88 \pm 0,17 (7)****
10	0,99 \pm 0,05 (16)		1,40 \pm 0,20 (7)**	2,01 \pm 0,21 (7)****
100	2,06 \pm 0,08 (16)		2,37 \pm 0,18 (7)	3,21 \pm 0,18 (7)****
1000	3,11 \pm 0,19 (16)		3,21 \pm 0,19 (7)	3,34 \pm 0,24 (7)
10000	3,21 \pm 0,12 (16)		3,30 \pm 0,19 (7)	3,42 \pm 0,15 (7)
1		2,00	1,35 \pm 0,17 (7)***	1,35 \pm 0,17 (7)****
10			1,39 \pm 0,18 (7)**	1,88 \pm 0,22 (7)****
100			2,37 \pm 0,17 (7)	2,69 \pm 0,20 (7)***
1000			3,33 \pm 0,18 (7)	3,23 \pm 0,17 (7)
10000			3,38 \pm 0,20 (7)	3,36 \pm 0,17 (7)
1		24,00	0,81 \pm 0,08 (7)	0,81 \pm 0,08 (7)
10			0,93 \pm 0,12 (7)	0,93 \pm 0,09 (7)
100			2,11 \pm 0,20 (7)	2,21 \pm 0,19 (7)
1000			3,17 \pm 0,24 (7)	3,20 \pm 0,13 (7)
10000			3,17 \pm 0,26 (7)	3,29 \pm 0,13 (7)

Wartości podano jako średnie arytmetyczne \pm błąd standardowy (SE). Ilość badanych próbek mięśni podano w nawiasach. Różnice statystycznie znamienne w stosunku do wartości kontrolnych oznaczono: ** $p < 0,02$, *** $p < 0,01$, **** $p < 0,001$.

Tabela 6. Zawartość glikogenu mięśniowego ($\mu\text{mole jednostek glukozylowych} \times \text{g}^{-1}$ świeżej tkanki) w mięśniu nadbłoczkowym szczura po jednorazowych wysiłkach fizycznych i treningu wytrzymałościowym oraz "sprinterskim" oznaczona w różnych odstępach czasu od chwili ich zakończenia.

CZAS PO ZAKOŃCZENIU WYSIŁKU	WYSIŁEK WYTRZYMAŁOŚCIOWY O UMIARKOWANEJ INTENSYWNOŚCI	WYSIŁEK "SPRINTERSKI"	TRENING WTRZYMAŁOŚCIOWY	TRENING "SPRINTERSKI"
0,25 h	29,87 \pm 0,79 (9)*	23,87 \pm 1,89 (8)**		
2,00 h	39,92 \pm 1,68 (8)	36,04 \pm 1,64 (8)		
24,00 h	40,86 \pm 1,80 (7)	41,44 \pm 1,84 (8)	46,89 \pm 0,27 (7)*	48,21 \pm 0,31 (8)**
48,00 h			40,35 \pm 1,87 (8)	38,20 \pm 2,34 (8)

Zawartość glikogenu w mięśniu nadbłoczkowym zwierząt kontrolnych wynosiła 39,74 \pm 1,81 μmole jedn. glukozył. g^{-1} tk. (n=9). Wartości podano jako średnie arytmetyczne \pm błąd standardowy (SE), [liczba badanych próbek mięśni podano w nawiasach. Różnice statystycznie znamienne w stosunku do wartości kontrolnych oznaczono: * $p < 0,05$, ** $p < 0,02$.

3. Wpływ treningu fizycznego na wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę i zawartość glikogenu.

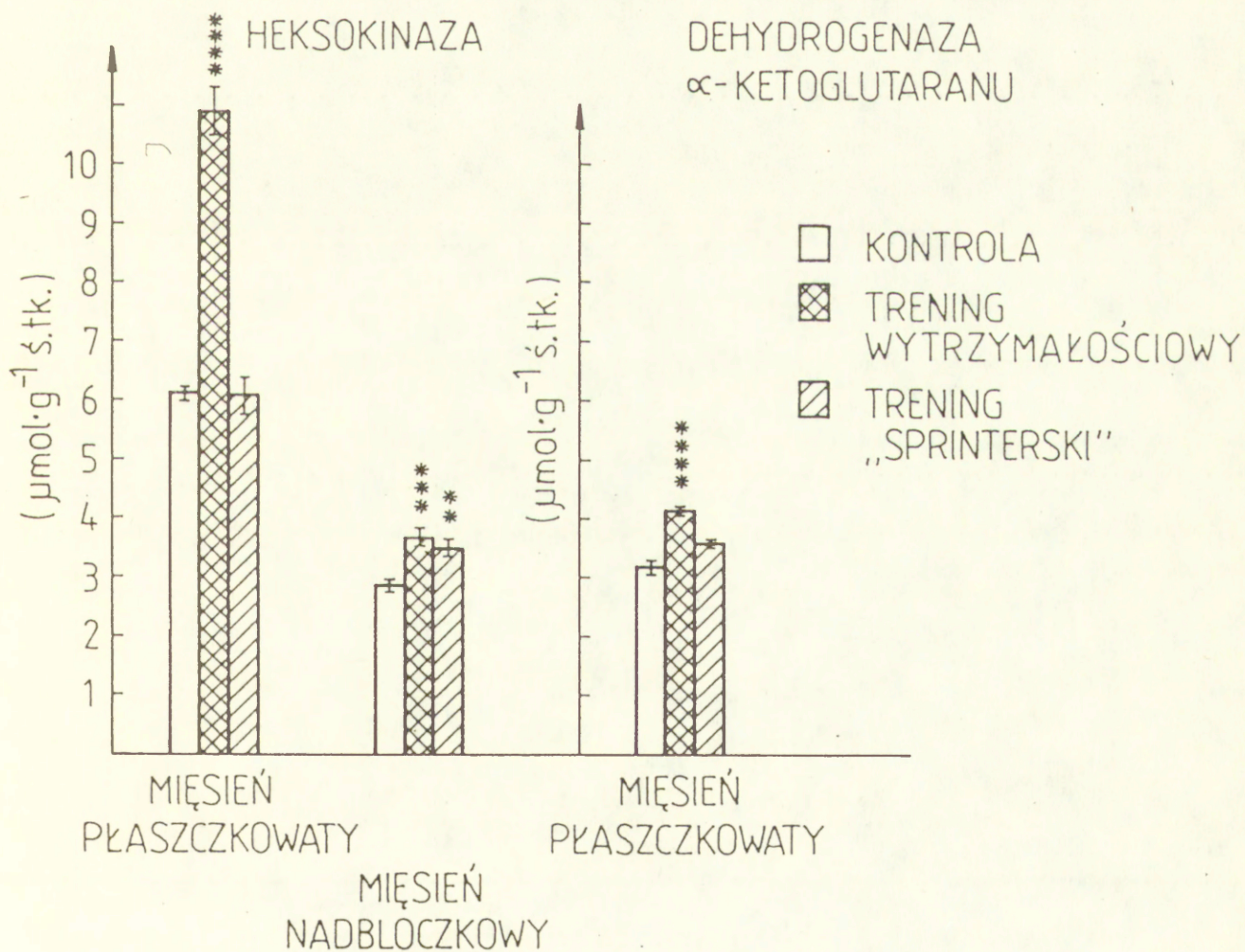
3.1. Ocena efektywności treningu na podstawie aktywności niektórych enzymów w mięśniach.

Trening fizyczny typu wytrzymałościowego spowodował prawie dwukrotny wzrost całkowitej maksymalnej aktywności heksokinazy i około 30% zwiększenie całkowitej maksymalnej aktywności dehydrogenazy α -ketoglutaranu w mięśniu płaszczkowatym (Ryc. 3). Przed treningiem aktywność heksokinazy wynosiła $6.13 \pm 0.16 \mu\text{mol} \times \text{min}^{-1} \times \text{g}^{-1}$ a dehydrogenazy α -ketoglutaranu $3.2 \pm 0.18 \mu\text{mol} \times \text{min}^{-1} \times \text{g}^{-1}$ świeżej tkanki. Trening "sprinterski" nie wywołał istotnych zmian aktywności tych enzymów w stosunku do wartości kontrolnych. W mięśniu naddłoczkowym pod wpływem 5 tyg. treningu wytrzymałościowego i "sprinterskiego" całkowita maksymalna aktywność heksokinazy uległa istotnemu podwyższeniu odpowiednio o 30 i 26% (Ryc. 3).

3.2. Wpływ treningu fizycznego na tolerancję glukozy.

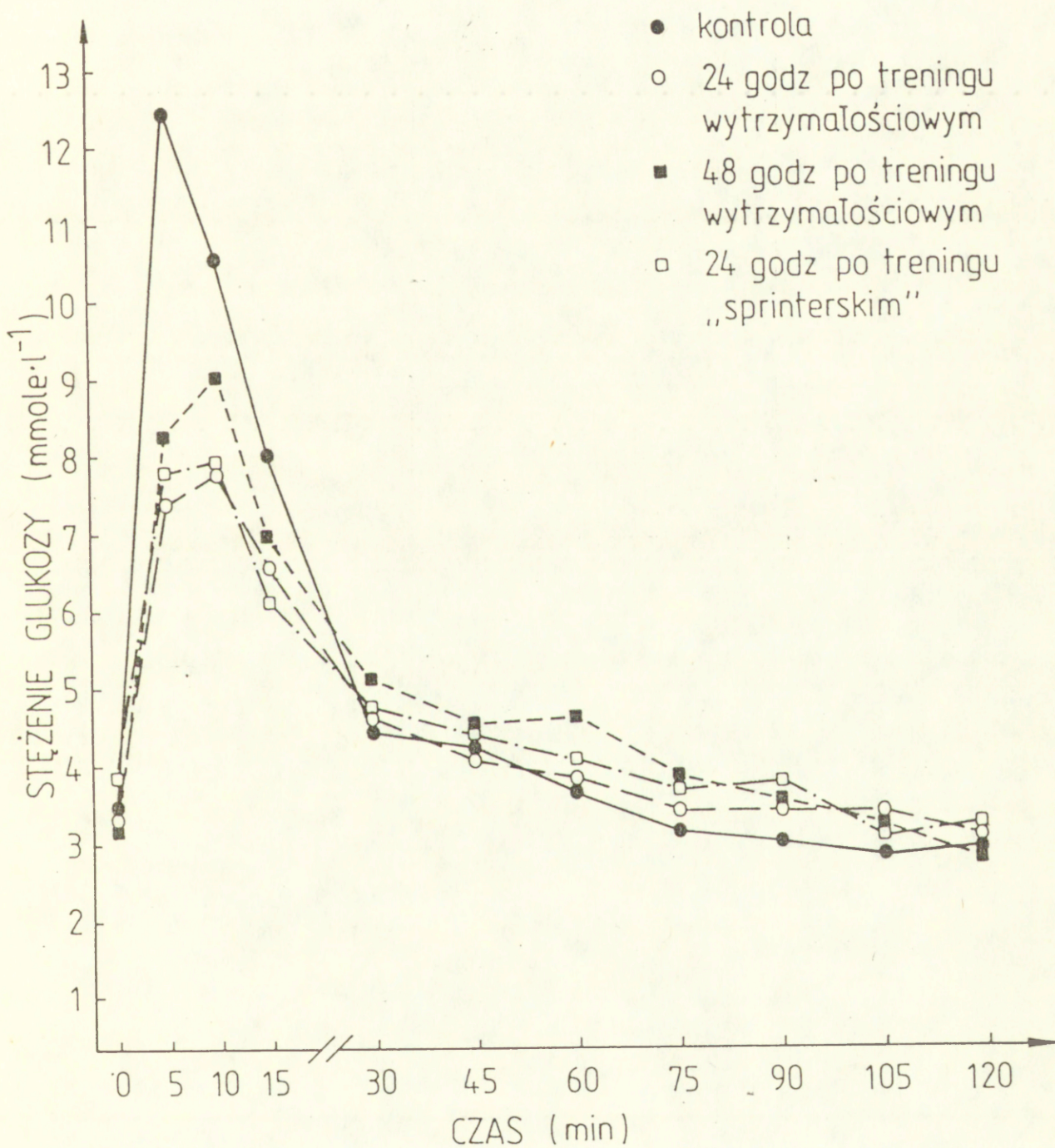
U zwierząt poddanych treningowi wytrzymałościowemu tolerancja glukozy uległa istotnej poprawie w stosunku do warunków kontrolnych, co stwierdzono w 24 i 48 godz. po zakończeniu treningu. W przypadku treningu "sprinterskiego" istotną poprawę tolerancji glukozy stwierdzono jedynie w 24 godz. od jego zakończenia (Ryc. 4, Tab. 7).

Ryc. 3. Aktywność heksokinazy w mięśniach - płaszczkowatym i nadbłoczkowym oraz dehydrogenazy α -ketoglutaranu w mięśniu płaszczkowatym szczura pobranych 24 godz. po zakończeniu treningu wytrzymałościowego i "sprinterskiego".



Wartości podano jako średnie arytmetyczne +/- błąd standardowy (SE). Ilość badanych próbek mięśnia płaszczkowatego wynosiła 8 a mięśnia nadbłoczkowego - 7. Różnice statystycznie znamienne w stosunku do wartości kontrolnych oznaczono: * $p < 0.05$, *** $p < 0.01$.

Ryc. 4. Dożylny test tolerancji glukozy u szczurów w różnych odstępach czasu po zakończeniu treningu wytrzymałościowego i "sprinterskiego".



Wartości podano jako średnie arytmetyczne. Miary rozrzutu pominięto dla uzyskania wyraźniejszego obrazu graficznego.

TABELA 7. Dożylny test tolerancji glukozy u szczurów w różnych odstępach czasu po zakończeniu treningu wytrzymałościowego i "sprinterskiego".

	CZAS PO ZAKOŃCZENIU TRENIGU (GODZ.)					
	KONTROLA	WYTRZYMAŁOŚCIOWEGO			"SPRINTERSKIEGO"	
		24	48	72	24	48
POLE						
POWIERZCHNI	553.12	515.10*	520.55*	556.19	517.82*	548.21
POD KRZYWĄ	+/-6.21	+/-8.41	+/-5.85	+/-10.29	+/-7.79	+/-13.92
\int_0^{120}	(7)	(7)	(7)	(7)	(7)	(7)

Wartości pól pod krzywymi glikemicznymi podano jako średnie arytmetyczne +/- błąd standardowy (SE). Ilość krzywych w każdym badanym przypadku podano w nawiasie. Różnice statystycznie znamienne w stosunku do wartości kontrolnej oznaczono: * $p < 0.05$.

3.3. Wpływ wtrzymłościowego i "sprinterskiego" treningu fizycznego na wrażliwość insulinową mięśnia płaszczkowatego.

Pięcioletniowy trening wytrzymałościowy spowodował zmiany przebiegu krzywych charakteryzujących współzależność między tempem produkcji LA w mięśniu płaszczkowatym i stężeniem insuliny w płynie inkubacyjnym. Zwiększenie tempa tego procesu stwierdzono w 24 i 48 godz. po zakończeniu procesu treningowego. W tych okresach tempo produkcji LA różniło się istotnie od wartości spoczynkowych przy wszystkich stężeniach insuliny z wyjątkiem śladowego ($1 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$) (Tab.8).

Wrażliwość tempa produkcji LA na insulinę w mięśniu płaszczkowatym uległa znacznej poprawie po treningu wytrzymałościowym. Te korzystne zmiany były nie tylko większe niż po jednorazowych wysiłkach

TABELA 3. Wpływ treningu wytrzymałościowego oraz "sprinterskiego" na zmiany tempa produkcji mleczału w mięśniach płaszczkowatym szczura inkubowanym w różnych stężeniach insuliny w różnych odstępach czasu od chwili zakończenia sesji treningowej.

STĘŻENIE INSULINY ($\mu\text{U}/\text{ml}$)	ZWIERZĘTA KONTROLNE	CZAS PO ZAKOŃCZENIU WYSIŁKU (h)	TEMPO PRODUKCJI MLECZANU ($\mu\text{mole} \times \text{g}^{-1} \times \text{h}^{-1}$)	
			TRENING WYTRZYMAŁOŚCIOWY	TRENING "SPRINTERSKI"
1	8,83 \pm 0,23 (26)	24,00	9,39 \pm 0,54 (7)	7,91 \pm 0,53 (7)
10	9,58 \pm 0,32 (26)		17,82 \pm 0,67 (7)****	8,49 \pm 0,54 (7)
100	13,80 \pm 0,33 (26)		19,47 \pm 0,84 (7)****	13,76 \pm 0,61 (7)
1000	18,80 \pm 0,38 (26)		21,64 \pm 0,58 (7)****	17,54 \pm 0,61 (7)
10000	19,80 \pm 0,28 (26)		23,16 \pm 0,90 (7)****	18,88 \pm 0,68 (7)
1		48,00	9,26 \pm 0,58 (7)	9,10 \pm 0,43 (7)
10			15,34 \pm 0,78 (7)****	9,43 \pm 0,47 (7)
100			18,14 \pm 0,67 (7)****	14,32 \pm 0,52 (7)
1000			21,22 \pm 0,93 (7)***	19,30 \pm 0,68 (7)
10000			22,40 \pm 1,05 (7)***	19,53 \pm 0,44 (7)
1		72,00	9,85 \pm 0,36 (7)	
10			10,90 \pm 0,53 (7)	
100			15,06 \pm 0,48 (7)	
1000			19,55 \pm 0,59 (7)	
10000			19,42 \pm 0,58 (7)	

Wartości podano jako średnie arytmetyczne \pm błąd standardowy (SE). Ilość badanych próbek mięśni podano w nawiasach. Różnice statystycznie znamienne w stosunku do wartości kontrolnych oznaczono: *** $p < 0,01$, **** $p < 0,001$.

wytrzymałościowych ale także utrzymywały się dłużej po zakończeniu ostatniego wysiłku sesji treningowej (Ryc. 5).

W wyniku treningu wytrzymałościowego wystąpiły również zmiany przebiegu krzywych charakteryzujących współzależność między tempem syntezy glikogenu w mięśniu płaszczkowatym i wzrostem stężenia insuliny w płynie inkubacyjnym. Największy wzrost tempa syntezy glikogenu stwierdzono w 24 godz. po zakończeniu procesu treningowego przy wszystkich zastosowanych stężeniach insuliny. W 48 godz. po zakończeniu treningu tego typu tempo syntezy glikogenu było istotnie podwyższone jedynie przy stężeniu insuliny 10, 100 i 1000 $\mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ (Tab. 9).

Wrażliwość tempa syntezy glikogenu na insulinę w mięśniu płaszczkowatym także uległa istotnej poprawie po treningu wytrzymałościowym ($p < 0.05$) w stosunku do wartości kontrolnych, co stwierdzono zarówno w 24 jak i w 48 godz. po ostatnim wysiłku serii treningowej (Ryc. 5).

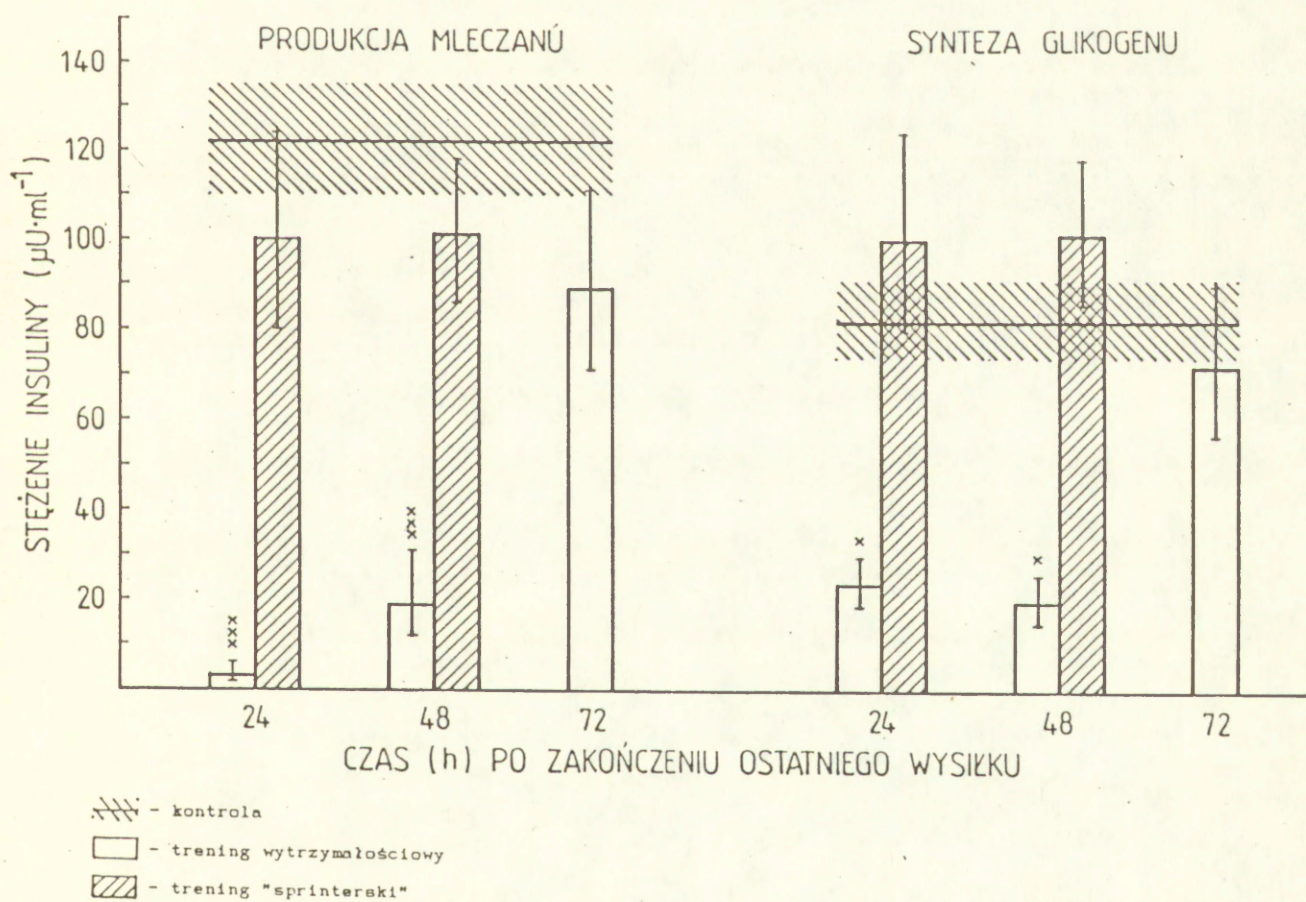
Pięcioletniowy trening "sprinterski" nie spowodował istotnych zmian tempa produkcji LA, syntezy glikogenu oraz wrażliwości tych procesów na insulinę w omawianym mięśniu (Tab. 8 i 9, Ryc. 5).

Zawartość glikogenu w mięśniu płaszczkowatym po zakończeniu treningu "sprinterskiego" nie różniło się od wartości stwierdzonych w tym mięśniu u zwierząt kontrolnych. Po treningu wytrzymałościowym zawartość glikogenu mięśniowego uległa natomiast istotnemu podwyższeniu w stosunku do wartości kontrolnych, co stwierdzono zarówno w 24 i w 48 godz. po ostatnim wysiłku serii treningowej (Tab. 3).

3.4. Wpływ wytrzymałościowego i "sprinterskiego" treningu fizycznego na wrażliwość insulinową mięśnia nadbloczkowego.

W mięśniu nadbloczkowym przebieg krzywych charakteryzujących współzależność między tempem produkcji LA i stężeniem insuliny w

Ryc. 5. Wrażliwość tempa produkcji mleczażu oraz tempa syntezy glikogenu na insulinę w mięśniu płaszczkowatym zwierząt pozostających w spoczynku i po treningu wytrzymałościowym oraz "sprinterskim" w różnych odstępach czasu od chwili zakończenia sesji treningowej.



Wartości podano jako średnie arytmetyczne \pm błąd standardowy (SE). Różnice statystycznie znamienne w stosunku do wartości kontrolnych oznaczono: * $p < 0.05$, *** $p < 0.01$.

TABELA 9. Wpływ treningu wytrzymałościowego i "sprinterskiego" na zmiany tempa syntezy glikogenu w mięśniach płaszczkowatym szczura inkubowanym w różnych stężeniach insuliny w różnych odstępach czasu od chwili zakończenia sesji treningowej.

STĘŻENIE INSULINY ($\mu\text{U/ml}$)	ZWIERZETA KONTROLNE	CZAS PO ZAKOŃCZENIU WYSIŁKU (h)	TEMPO SYNTEZY GLIKOGENU ($\mu\text{mole} \times \text{g}^{-1} \times \text{h}^{-1}$)	
			TRENING WYTRZYMAŁOŚCIOWY	TRENING "SPRINTERSKI"
1	1,54 \pm 0,09 (24)	24,00	2,20 \pm 0,33 (7)**	1,16 \pm 0,19 (7)
10	1,78 \pm 0,09 (24)		3,13 \pm 0,42 (7)****	1,51 \pm 0,22 (7)
100	2,93 \pm 0,11 (24)		4,53 \pm 0,38 (7)****	2,65 \pm 0,76 (7)
1000	3,80 \pm 0,14 (24)		5,07 \pm 0,37 (7)****	3,50 \pm 0,26 (7)
10000	4,02 \pm 0,15 (24)		5,16 \pm 0,34 (7)****	3,67 \pm 0,25 (7)
1		48,00	2,07 \pm 0,35 (7)	1,75 \pm 0,20 (7)
10			2,95 \pm 0,37 (7)****	1,92 \pm 0,22 (7)
100			4,13 \pm 0,22 (7)****	2,75 \pm 0,24 (7)
1000			4,60 \pm 0,29 (7)**	3,80 \pm 0,30 (7)
10000			4,57 \pm 0,39 (7)	4,03 \pm 0,20 (7)
1		72,00	1,75 \pm 0,32 (7)	
10			2,06 \pm 0,46 (7)	
100			3,14 \pm 0,35 (7)	
1000			4,08 \pm 0,26 (7)	
10000			4,13 \pm 0,24 (7)	

Wartości podano jako średnie arytmetyczne \pm błąd standardowy (SE). Ilość badanych próbek mięśni podano w nawiasach. Różnice statystycznie znamienne w stosunku do wartości kontrolnych oznaczono: ** $p < 0,02$, **** $p < 0,001$.

pływie inkubacyjnym uległ zmianie zarówno po treningu "sprinterskim" jak i wytrzymałościowym. Największy wzrost tempa produkcji mleczanu w stosunku do wartości u zwierząt kontrolnych stwierdzono w 24 godz. po zakończeniu treningu wytrzymałościowego przy wszystkich stosowanych stężeniach insuliny (Tab. 10). W 48 godz. po zakończeniu treningu wytrzymałościowego tempo tego procesu było istotnie podwyższone tylko przy stężeniu insuliny $10 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ (Tab. 10). Po treningu "sprinterskim" tempo produkcji mleczanu w mięśniu nadbłoczkowym było najwyższe w 24 godz. od chwili jego zakończenia różniąc się istotnie od wartości kontrolnych przy stężeniach insuliny od 1 do $1000 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$. W 48 godz. po zakończeniu treningu tego typu tempo produkcji LA było istotnie podwyższone jedynie przy stężeniach insuliny 1 i $10 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ (Tab. 10).

Wrażliwość tempa produkcji LA na insulinę w mięśniu nadbłoczkowym uległa poprawie po obydwu zastosowanych formach treningu przy czym poprawa ta utrzymywała się conajmniej przez 24 godz. (Ryc. 6).

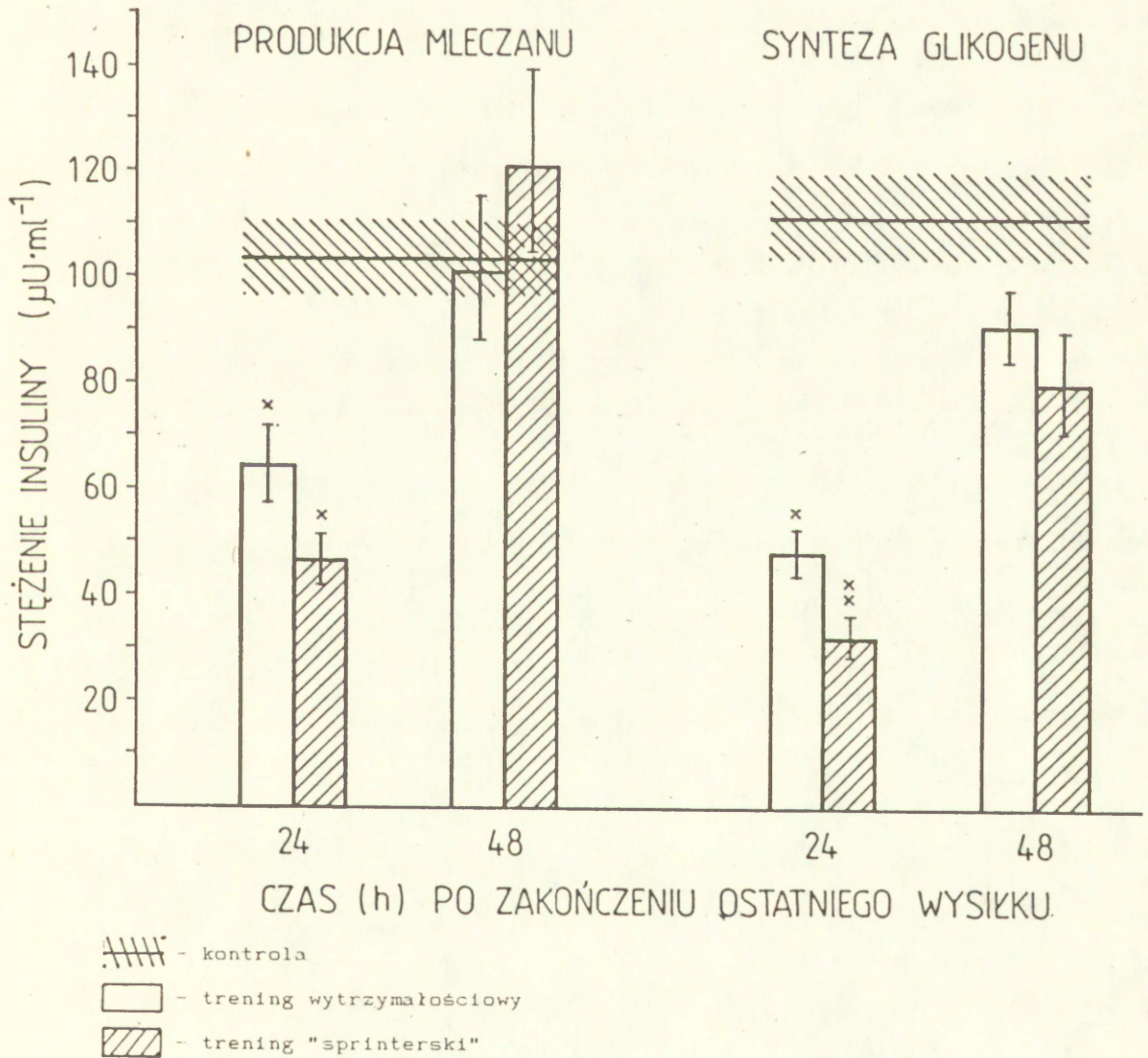
Zarówno trening "sprinterski" jak i trening wytrzymałościowy spowodowały zależne od stężenia insuliny istotne zmiany przebiegu tempa syntezy glikogenu w stosunku do wartości kontrolnych. Największy wzrost tempa tego procesu stwierdzono w 24 godz. po zakończeniu treningu i było ono istotnie wyższe przy wszystkich zastosowanych stężeniach insuliny. W 48 godz. od chwili zakończenia treningu "sprinterskiego" tempo syntezy glikogenu było istotnie podwyższone przy stężeniu insuliny 1 i $100 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ (Tabela 11). W 48 godz. po treningu wytrzymałościowym tempo syntezy glikogenu przy wszystkich zastosowanych stężeniach insuliny nie różniło się istotnie od wartości kontrolnych, chociaż pewną tendencję w kierunku zwiększenia tempa syntezy glikogenu w tych warunkach obserwowano w zakresie stężeń insuliny od 1 - $1000 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ (Tabela 11).

TABELA 10. Wpływ treningu wytrzymałościowego i "sprinterskiego" na zmiany tempa produkcji mleczanu w mięśniu nadbłoczkowym szczura inkubowanym w różnych stężeniach insuliny w różnych odstępach czasu od chwili zakończenia sesji treningowej.

STĘŻENIE INSULINY ($\mu\text{U/ml}$)	ZWIERZĘTA KONTROLNE	TEMPO PRODUKCJI MLECZANU ($\mu\text{mole} \times \text{g}^{-1} \times \text{h}^{-1}$)			
		TRENING WYTRZYMAŁOŚCIOWY		TRENING "SPRINTERSKI"	
		CZAS PO ZAKOŃCZENIU OSTATNIEGO BIEGU		CZAS PO ZAKOŃCZENIU OSTATNIEGO BIEGU	
		24 h	48 h	24 h	48 h
1	5,69 \pm 0,17 (10)	7,15 \pm 0,16 (6)****	6,25 \pm 0,20 (6)	7,29 \pm 0,22 (6)****	6,55 \pm 0,26 (6)*
10	6,05 \pm 0,23 (10)	7,83 \pm 0,15 (6)****	7,26 \pm 0,28 (6)*	7,94 \pm 0,29 (6)****	7,44 \pm 0,32 (6)*
100	8,68 \pm 0,24 (10)	10,69 \pm 0,46 (6)***	8,94 \pm 0,24 (6)	10,92 \pm 0,31 (6)****	9,33 \pm 0,25 (6)
1000	10,95 \pm 0,37 (10)	12,92 \pm 0,22 (6)***	11,46 \pm 0,48 (6)	12,29 \pm 0,37 (6)*	11,47 \pm 0,31 (6)
10000	11,75 \pm 0,24 (10)	12,64 \pm 0,24 (6)*	12,08 \pm 0,28 (6)	12,30 \pm 0,32 (6)	12,54 \pm 0,26 (6)

Wartości podano jako średnie arytmetyczne \pm błąd standardowy (SE). Ilość badanych próbek mięśni podano w nawiasach. Różnice statystycznie znamienne w stosunku do wartości kontrolnych oznaczono: * $p < 0,05$, *** $p < 0,01$, **** $p < 0,001$.

Ryc. 6. Wrażliwość tempa produkcji mleczańu oraz tempa syntezy glikogenu na insulinę w mięśniu nadbłoczkowym zwierząt pozostających w spoczynku i po treningu wytrzymałościowym oraz "sprinterskim" w różnych odstępach czasu od chwili zakończenia sesji treningowej.



Wartości podano jako średnie arytmetyczne +/- błąd standardowy (SE). Różnice statystycznie znamienne w stosunku do wartości kontrolnych oznaczono: * p < 0.05, ** p < 0.02.

TABELA II. Wpływ treningu wytrzymałościowego i "sprinterskiego" na zmiany tempa syntezy glikogenu w mięśniu naddłoczkowym szczura inkubowanym w różnych stężeniach insuliny w różnych odstępach czasu od chwili zakończenia sesji treningowej.

STĘŻENIE INSULINY ($\mu\text{U/ml}$)	ZWIERZETA KONTROLNE	TEMPO SYNTEZY GLIKOGENU ($\mu\text{mole} \times \text{g}^{-1} \times \text{h}^{-1}$)			
		TRENING WYTZYMAŁOŚCIOWY		TRENING "SPRINTERSKI"	
		CZAS PO ZAKOŃCZENIU OSTATNIEGO BIEGU		CZAS PO ZAKOŃCZENIU OSTATNIEGO BIEGU	
		24 h	48 h	24 h	48 h
1	0,65 \pm 0,06 (10)	1,54 \pm 0,15 (6)****	0,87 \pm 0,15 (6)	1,83 \pm 0,12 (6)****	0,95 \pm 0,12 (6)*
10	0,72 \pm 0,07 (10)	1,71 \pm 0,19 (6)****	0,96 \pm 0,16 (6)	2,19 \pm 0,13 (6)****	1,17 \pm 0,22 (6)
100	1,57 \pm 0,10 (10)	2,98 \pm 0,23 (6)****	1,85 \pm 0,13 (6)	3,09 \pm 0,29 (6)****	2,17 \pm 0,28 (6)*
1000	2,34 \pm 0,15 (10)	3,45 \pm 0,15 (6)****	2,58 \pm 0,16 (6)	3,58 \pm 0,19 (6)****	2,78 \pm 0,22 (6)
10000	2,59 \pm 0,13 (10)	3,45 \pm 0,19 (6)***	2,65 \pm 0,23 (6)	3,44 \pm 0,18 (6)***	3,02 \pm 0,17 (6)

Wartości podano jako średnie arytmetyczne \pm błąd standardowy (SE). Ilość badanych próbek mięśni podano w nawiasach. Różnice statystycznie znaczne w stosunku do wartości kontrolnych oznaczono: * $p < 0,05$, *** $p < 0,01$, **** $p < 0,001$.

Istotną poprawę wrażliwości tempa syntezy glikogenu na insulinę w mięśniu nadbłoczkowym stwierdzono w 24 godz. po zakończeniu treningu wytrzymałościowego i "sprinterskiego" (Ryc. 6).

Zawartość glikogenu w tym mięśniu uległa istotnemu podwyższeniu w stosunku do wartości kontrolnych po 24 godz. od zakończenia obydwu zastosowanych typów treningu (Tab. 6).

DYSKUSJA

Jak wspomniano we wstępie, wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę określa się różnymi metodami zarówno *in vitro* jak i *in vivo* (24,36,52,103), przy czym otrzymane różnymi metodami wyniki są zbliżone, a obliczona wrażliwość tkanki mięśniowej na działanie tego hormonu w warunkach spoczynkowych wynosi około $100 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$ insuliny. W przedstawionych w obecnej pracy doświadczeniach u zwierząt kontrolnych uzyskano podobne wartości wrażliwości na insulinę zarówno wówczas, gdy oceniano ją na podstawie produkcji mleczanu jak i syntezy glikogenu w mięśniu płaszczkowatym i nadbloczkowym. Zastosowanie w tych badaniach metody *in vitro* umożliwiło wyeliminowanie bezpośredniego wpływu układu nerwowego, hormonów oraz zmian przepływu krwi przez mięśnie na wrażliwość mięśni szkieletowych na działanie insuliny a także pozwoliło rozpocząć pomiar dynamiki zmian metabolizmu glukozy pod wpływem tego hormonu w stosunkowo krótkim czasie po zakończeniu wysiłku fizycznego. W metodach stosowanych przez innych autorów pomiar wskaźników metabolizmu glukozy możliwy był najwcześniej w 30 min po stymulacji mięśni (31,63,103).

Wcześniejsze badania Budohoskiego i wsp. (8), Challissa i wsp. (17) oraz Espinala i wsp. (36) wykazały, że glukoza wychwytywana przez tkankę mięśniową jest przede wszystkim wykorzystywana w procesie glikolizy, mniejsza jej część (20-30 %) wbudowywana jest w glikogen a tylko 10% ulega utlenieniu do CO_2 i H_2O . Tempo produkcji mleczanu w próbkach mięśnia płaszczkowatego i nadbloczkowego, inkubowanych w zmodyfikowanym buforze Krebsa - Ringera zawierającym insulinę jest istotnie skorelowane z dokomórkowym transportem glukozy. Dane te wskazują, że podczas inkubacji próbek mięśni produkcja kwasu mlekowego

określana na podstawie jego poziomu w mieszaninie inkubacyjnej stosunkowo wiernie odzwierciedla tempo transportu glukozy do mięśni szkieletowych. Ci sami autorzy stwierdzili ponadto różnicę w stężeniu kwasu mlekowego nie przekraczającą 10%, gdy w tych samych doświadczeniach oznaczano je metodą radiochemiczną i enzymatyczną (7,17,36).

Należy podkreślić, że niektórzy autorzy (5,72) sugerują, że upośledzenie tolerancji glukozy towarzyszące otyłości lub innym stanom patologicznym jest przede wszystkim związane z obniżeniem tempa syntezy glikogenu oraz tempa beztlenowego metabolizmu glukozy, tj. glikolizy w mięśniach szkieletowych, a zatem tych procesów, których wrażliwość insulinową oceniano w przedstawianej pracy.

Uzyskane w obecnej pracy wyniki dostarczyły dalszych dowodów świadczących o tym, że zwiększona aktywność ruchowa zwiększa wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę, co przynajmniej częściowo tłumaczy poprawę tolerancji węglowodanów w tej sytuacji. Wykazano jednak, że skutki zwiększonej aktywności ruchowej na tolerancję glukozy i wrażliwość insulinową tkanki mięśniowej zależą od typu mięśni zaangażowanych w wykonaniu pracy oraz od rodzaju wysiłku. W dotychczasowych badaniach stosowano tylko jeden typ wysiłku, przy czym były to wysiłki o długim czasie trwania. Brak jest natomiast danych dotyczących wpływu intensywnych, krótkotrwałych obciążeń na wrażliwość insulinową mięśni. Spośród wybranych 3 rodzajów jednorazowego wysiłku, wrażliwość na insulinę produkcji mleczanu w mięśniu płaszczkowatym uległa zwiększeniu tylko po wysiłkach o charakterze wytrzymałościowym. Jednorazowy wysiłek "sprinterski" nie zmienił natomiast wrażliwości tempa produkcji kwasu mlekowego na insulinę w tym mięśniu. Jak

wiadomo, mięsień płaszczkowaty zawiera około 95% włókien wolnokurczących się (35), które - jak się przypuszcza - są rekrutowane głównie podczas wysiłków o umiarkowanej intensywności. Można było więc oczekiwać w tym mięśniu braku zmian wrażliwości na insulinę zarówno tempa produkcji mleczanu jak i tempa syntezy glikogenu po wysiłku sprinterskim. Z drugiej jednak strony, znaczniejsze wyczerpanie glikogenu w tym mięśniu po wysiłku sprinterskim niż po wysiłkach wytrzymałościowych stwierdzone w obecnej pracy świadczy o tym, że jednostki motoryczne mięśnia płaszczkowatego były również zaangażowane podczas wysiłku sprinterskiego. Być może czas trwania tego ostatniego wysiłku był zbyt krótki aby spowodować istotne zmiany wrażliwości insulinowej tego mięśnia, chociaż problem ten wciąż pozostaje otwarty. Na uwagę zasługuje to, że najwyraźniejsze i najdłużej utrzymujące się zmiany wrażliwości produkcji mleczanu na insulinę stwierdzone po wysiłku o najdłuższym czasie trwania. Czas wysiłku ma więc chyba istotne znaczenie w determinowaniu wrażliwości insulinowej.

W mięśniu nadbloczkowym, składającym się głównie (w 95 %) z włókien szybkokurczących się (32) wrażliwość tempa produkcji mleczanu na insulinę zwiększała się zarówno po wysiłku wytrzymałościowym jak i po wysiłku "sprinterskim". W mięśniu tym zawartość glikogenu była obniżona po obydwu zastosowanych wysiłkach, co dowodzi udziału tego mięśnia w ich wykonaniu. Różnice w odpowiedzi wrażliwości insulinowej na wysiłek "sprinterski" między dwoma typami mięśni, różniącymi się istotnie składem włókien nie wynikają więc z ich specyficznego udziału w określonym typie wysiłku, lecz najprawdopodobniej z właściwości tych włókien.

Tempo syntezy glikogenu w mięśniu płaszczkowatym wzrastało istotnie zarówno po wysiłku wytrzymałościowym o umiarkowanej jak i dużej intensywności, natomiast po wysiłku "sprinterskim" było podobne jak w warunkach kontrolnych u zwierząt w spoczynku, chociaż zawartość glikogenu była najniższa po zakończeniu wysiłku tego typu. Przypuszczalnie fakt ten tłumaczyć można większą aktywacją glikogenolizy w czasie bardzo intensywnych wysiłków i utrzymywaniem się podwyższonego stężenia czynników glikogenolitycznych w komórkach mięśniowych przez pewien czas po zakończeniu wysiłku.

Brak ścisłej współzależności pomiędzy powysiłkowym tempem syntezy glikogenu a zawartością tego substratu wykazali wcześniej Garetto i wsp. (40), Maehlum i wsp. (75), Wallberg-Henriksson i Holloszy (130). W obecnej pracy nie stwierdzono też wyraźnej zależności pomiędzy wrażliwością syntezy glikogenu na insulinę a tempem tego procesu.

W mięśniu płaszczkowatym wrażliwość syntezy glikogenu na insulinę wykazywała tendencję wzrostu 2 godz. po wysiłkach tego wytrzymałościowych i istotne zwiększenie w 24 godz. po zakończeniu długotrwałego wysiłku tego typu. Zasoby glikogenu były już w tym czasie odbudowane (nawet nieco wyższe od wartości kontrolnych) a tempo syntezy glikogenu utrzymywało się wciąż na podwyższonym poziomie. Po wysiłku "sprinterskim", przynajmniej w ciągu pierwszych 2 godzin, zaznaczała się tendencja zmniejszenia wrażliwości insulinowej tego procesu. Rozrzut tych wyników był jednak bardzo znaczny.

W mięśniu nadbłoczkowym zawartość glikogenu zarówno w spoczynku jak i po obydwu typach wysiłku (wytrzymałościowym o umiarkowanej intensywności i "sprinterskim") była wyższa niż w mięśniu płaszczkowatym. Tempo syntezy glikogenu ulegało istotnemu, chociaż

krótkotrwałemu zwiększeniu zarówno po wysiłku wytrzymałościowym jak i "sprinterskim" W przeciwieństwie jednak do mięśnia płaszczkowatego wrażliwość tego procesu na insulinę wzrosła przejściowo lecz wyraźnie tylko po wysiłku "sprinterskim".

Jak wynika z opisanych powyżej danych badane w obecnej pracy 2 typy mięśni wykazują odmienne reakcje na wysiłki, zwłaszcza zaś na wysiłki o bardzo dużej intensywności. Podobne różnice stwierdzono również porównując zmiany potreningowe w tych samych 2 typach mięśni. Mechanizmy leżące u podstawy powysiłkowych i potreningowych zmian wrażliwości insulinowej tkanek są dalekie od wyjaśnienia. Niektórzy autorzy uważają, że poprawa wrażliwości insulinowej w tych sytuacjach związana jest ze zwiększeniem liczby receptorów insulinowych. W istocie, stwierdzono wzrost liczby receptorów dla tego hormonu w monocytach (59) i mięśniach szkieletowych (69,90). Jednakże w mięśniach pozbawionych wpływów nerwowych, a więc preparatach podobnych do stosowanych w obecnej pracy, zmian takich nie obserwowano (13,115). Smith i Lawrence (115) wykazali ponadto w badaniach in vitro szybką degradację kompleksu insulina - receptor w mięśniu nadbłoczkowym, której tempo było podobne w warunkach spoczynkowych i po wysiłku.

Stwierdzony w obecnej pracy brak równoległości zmian wrażliwości produkcji mleczanu (transportu glukozy) i syntezy glikogenu na insulinę sugeruje, że efekty wzmożonej aktywności ruchowej związane są ze zmianami postreceptorowymi w komórkach mięśniowych. Mogą one np. obejmować modyfikację przenoszenia informacji przez błonę komórkową, tworzenia przekaźnika drugiego stopnia jak i aktywności enzymów katalizujących procesy metaboliczne. Neshar i wsp. (83) w oparciu o

badania *in vitro* wiążą powysiłkowy wzrost wychwytu glukozy przez mięśnie ze zwiększeniem aktywności transporterów glukozy w błonie komórkowej. Stwierdzono także wzrost ilości tych transporterów w błonie komórkowej w wyniku ich wbudowywania w tę strukturę z cytoplazmy (62,131). Ten ostatni proces zależny jest od insuliny, toteż jego zmiany mogą wpływać na insulinową wrażliwość transportu glukozy, której odzwierciedleniem jest produkcja mleczanu w komórkach mięśniowych oznaczana w obecnych badaniach.

Wśród lokalnych czynników modyfikujących wrażliwość insulinową mięśni duże znaczenie przypisuje się w ostatnich latach adenozyinie. Wykazano, że dodanie do płynu inkubacyjnego deaminazy adenozyiny - enzymu rozkładającego adenozyinę - powoduje zwiększenie wrażliwości na insulinę transportu glukozy do mięśni szkieletowych a pozostaje bez wpływu na wrażliwość procesu syntezy glikogenu na ten hormon (7,9,16). Udowodniono również, że agoniści i antagoniści receptorów adenozyinowych modyfikując wrażliwość transportu glukozy na insulinę, nie wywierają żadnego efektu na wrażliwość procesu syntezy glikogenu w tkance mięśniowej (7,8,9,16,36).

Niektóre biologiczne efekty adenozyiny są wywoływane zmianami stężenia cAMP w komórce, ponieważ w zależności od typu receptora z którym się łączy, adenozyina aktywuje lub hamuje cyklazę adenylową (74,128). Wiadomo, że wzrost stężenia cAMP jest czynnikiem silnie aktywującym glikogenolizę, poprzez wpływ na fosforylaze i fosfofruktokinazę, oraz hamującym syntezę glikogenu poprzez obniżenie aktywności syntetazy glikogenu (27,105). Challiss i wsp. (16) opisali wzrost stężenia cAMP w inkubowanym mięśniu płaszczkowatym w warunkach stymulacji receptora adenozyinowego przez 2-chloroadenozyinę - agonistę

receptora adenosynowego. Ci sami autorzy wykazali nieznaczne obniżenie tego cyklicznego nukleotydydu, gdy na mięśniowy receptor adenosynowy działano jego antagonistą - 8-fenylteofiliną. Dane te przemawiają na korzyść hipotezy w myśl której adenozyne może modyfikować wrażliwość procesu produkcji mleczanu na insulinę przez zmiany stężenia cAMP. Badania tych samych autorów z dwumaślanem cAMP nie wykazały jednak zmniejszenia a z izoprenalina - poprawy wrażliwości na insulinę mięśnia płaszczkowego (18). Należy podkreślić, że efekty adenozyne zależą od rodzaju tkanek. [ile w mięśniu szkieletowym związek ten hamuje wrażliwość na insulinę wychwyty glukozy, to w mięśniu sercowym i tkance tłuszczowej stwierdzono efekt przeciwny (55,56,57,66).

Brak jest danych, które jednoznacznie wskazywałyby na to, że zawartość adenozyne w mięśniach pracujących ulega zmniejszeniu. Przeważają natomiast poglądy, że w czasie wysiłku wytwarzanie adenozyne jest zwiększone. Związek ten powstaje poprzez hydrolizę AMP, którego poziom w komórce wzrasta (68,106,120,124). Nie można jednak wykluczyć, że w warunkach wzmożonej aktywności ruchowej dochodzi do zmian liczby i powinowactwa receptorów adenosynowych, które mogłyby prowadzić do zmniejszenia efektu działania tego związku. Efekty wysiłku fizycznego, a zwłaszcza treningu na wrażliwość insulinową mięśni, mogą być związane również z oddziaływaniem innych czynników np. zmianami przepływu krwi przez mięśnie (51) lub zmianami stężenia i działaniem krążących we krwi hormonów. Tę ostatnią sugestię potwierdzają, przynajmniej częściowo, badania wykazujące iż codzienne iniekcje adrenaliny u szczura wywołują zmiany w mięśniach szkieletowych podobne do tych, które opisano w procesie treningowym (38). Poprawę wrażliwości mięśnia płaszczkowego na insulinę

stwierdzono w warunkach przewlekłej (5 dniowej) hiperadrenalinemii (10). Istnieją ponadto obserwacje (12,71) wskazujące, że prostaglandyny typu E powodują istotną poprawę wrażliwości transportu glukozy na insulinę, podczas gdy indometacyna - inhibitor syntezy prostaglandyn wywiera wpływ zmniejszający działanie insuliny. Prostaglandyny możnaby więc uznać za drugi obok adenozyliny lokalny czynnik odpowiedzialny za wzrost wrażliwości insulinowej mięśni po wysiłku.

W przedstawionych w obecnej pracy badaniach wykazano, że zarówno trening wytrzymałościowy jak i trening sprinterski poprawiają ogólną tolerancję węglowodanów u szczurów, ocenianą na podstawie zmian stężenia glukozy we krwi po obciążeniu tym cukrem. Zmiany te utrzymywały się przynajmniej przez 48 godz. po zakończeniu treningu wytrzymałościowego a tylko przez 24 godz. po treningu "sprinterskim". Zmiany tolerancji glukozy wykazywały więc zbieżność w czasie z opisanymi uprzednio zmianami wrażliwości insulinowej mięśni badanych in vitro. Ta zbieżność sugeruje, że poprawa tolerancji węglowodanów po treningu fizycznym jest przynajmniej częściowo wynikiem zwiększenia wrażliwości tkanki mięśniowej na insulinę. W mięśniu złożonym głównie z włókien szybkokurczących się (m. nadbłoczkowy) zarówno efekt jednorazowego wysiłku jak i treningu utrzymywały się krócej, można więc przypuszczać, że w początkowym okresie po zakończeniu sesji treningowej (ok. 24 godz.) w zwiększonym metabolizmie glukozy biorą udział zarówno mięśnie zawierające włókna o metabolizmie tlenowym jak i beztlenowym, natomiast w późniejszym okresie (do ok. 48 godz.) tylko mięśnie o przewadze włókien o metabolizmie tlenowym (wolnokurczące się).

Warto może zwrócić uwagę, iż w okresie powysiłkowym a zwłaszcza po treningu, wrażliwość produkcji kwasu mlekowego na insulinę w mięśniach zbliża się do wartości stwierdzonych w tkance tłuszczowej (42). Wartość ta wynosi około $10 \mu\text{U} \times \text{ml}^{-1}$, jest więc około 10-ciokrotnie niższa niż w tkance mięśniowej pobranej od zwierząt w spoczynku. W warunkach kontrolnych wpływ insuliny na mięśnie ma w znacznym stopniu charakter pośredni. Hormon ten hamuje bowiem uwalnianie kwasów tłuszczowych z tkanki tłuszczowej co z kolei prowadzi do zwiększenia metabolizmu glukozy w mięśniach na zasadzie opisanego przez Randla i wsp. (100) cyklu glukoza - wolne kwasy tłuszczowe. Pod wpływem zwiększonej aktywności ruchowej dochodzi do spotęgowania tego efektu dzięki zwiększeniu wrażliwości insulinowej mięśni nawet przy niskim stężeniu insuliny (37). Podsumowując: obecne badania wykazały, że zarówno jednorazowe wysiłki jak i trening fizyczny zwiększają wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę, co przynajmniej częściowo tłumaczy poprawę tolerancji węglowodanów w wyniku zwiększonej aktywności ruchowej. Rodzaj i wielkość obserwowanych zmian wrażliwości mięśni szkieletowych zależą od składu włókien mięśniowych i charakteru wysiłku. Korzystne skutki treningu na wrażliwość insulinową mięśni utrzymują się dłużej niż efekty jednorazowego wysiłku, co świadczy o tym, że zachodzące w procesie treningowym zmiany w komórkach mięśniowych mają charakter istotnych zmian adaptacyjnych w przeciwieństwie do bezpośrednich efektów wysiłkowych. Z porównania wpływu wysiłków o różnej charakterystyce na metabolizm glukozy w mięśniach szkieletowych (uwzględniając łącznie proces tworzenia mleczanu i syntezy glikogenu) wynika, że efekty wysiłków wytrzymałościowych są większe niż krótkotrwałych wysiłków nawet o

bardzo dużej intensywności. Jednakże i ten typ aktywności ruchowej może zwiększać wrażliwość insulinową mięśni, przynajmniej włókien szybkokurczących się.

WNIOSKI

1. Zwiększenie aktywności ruchowej powoduje poprawę wrażliwości na insulinę tempa produkcji mleczanu i syntezy glikogenu w mięśniach szkieletowych szczura. Zmiany te zależą od rodzaju wysiłku oraz typu włókien mięśniowych.

2. Jednorazowy wysiłek wytrzymałościowy powoduje zwiększenie wrażliwości tempa produkcji mleczanu zarówno w mięśniu płaszczkowatym - o przewodze włókien wolnokurczących się jak i w mięśniu nadbloczkowym zawierającym włókna szybkokurczące się. W mięśniu płaszczkowatym po wysiłku tego typu stwierdza się również przejściowy wzrost wrażliwości syntezy glikogenu na insulinę. Bardzo intensywny wysiłek "sprinterski" wywołuje zwiększenie wrażliwości na insulinę badanych procesów wyłącznie w mięśniu nadbloczkowym.

3. Trening fizyczny o charakterze wytrzymałościowym powoduje zwiększenie wrażliwości na insulinę zarówno tempa produkcji mleczanu jak i tempa syntezy glikogenu w mięśniu płaszczkowatym. Trening sprinterski nie wywołuje zmian wrażliwości na insulinę w tym mięśniu. W mięśniu nadbloczkowym poprawę wrażliwości na insulinę tempa produkcji mleczanu i syntezy glikogenu wykazano zarówno po treningu wytrzymałościowym jak i "sprinterskim".

4. Poprawa wrażliwości mięśni szkieletowych na insulinę utrzymuje się dłużej po treningu fizycznym niż po jednorazowych wysiłkach.

5. Zwiększenie wrażliwości mięśni szkieletowych na insulinę w znacznym stopniu tłumaczy poprawę ogólnej tolerancji węglowodanów stwierdzaną w warunkach zwiększonej aktywności ruchowej.

6. Przebieg w czasie zmian wrażliwości na insulinę procesu transportu glukozy (ocenianego na podstawie produkcji mleczanu) oraz syntezy glikogenu nie jest równoległy co sugeruje post-receptorowy charakter zmian wrażliwości tkanki mięśniowej na insulinę w warunkach wzmożonej aktywności ruchowej.

STRESZCZENIE

Upośledzenie tolerancji węglowodanów należy do często występujących zaburzeń metabolicznych prowadzących pośrednio do rozwoju miażdżycy i cukrzycy. Ważną rolę w kształtowaniu tolerancji węglowodanów odgrywają mięśnie szkieletowe, ponieważ jest to tkanka o dużej masie (około 40% masy ciała) charakteryzująca się większą niż inne tkanki zmiennością zużycia glukozy w zależności od stanu czynnościowego (aktywności fizycznej). Dotychczasowe badania wykazały, że jednorazowe wysiłki i trening typu wytrzymałościowego powodują poprawę tolerancji węglowodanów, z jednoczesnym zmniejszeniem wydzielania insuliny. Ograniczenie aktywności ruchowej prowadzi natomiast do pogorszenia tolerancji węglowodanów pomimo zwiększonego wydzielania insuliny. Dane te sugerują, że poziom aktywności ruchowej może modyfikować wrażliwość mięśni na insulinę. Mechanizm obserwowanych zmian nie został jeszcze wyjaśniony, nie wiadomo czy mają one charakter lokalny czy też ogólnoustrojowy. Nie jest również jasne czy wrażliwość tkanki mięśniowej na insulinę zależy od rodzaju aktywności ruchowej i typu włókien mięśniowych.

Celem obecnej pracy było wyjaśnienie czy i w jaki sposób ocenianą *in vitro* wrażliwość mięśni szkieletowych na działanie insuliny modyfikują pojedyncze wysiłki i trening fizyczny o różnej charakterystyce. Starano się również ocenić wpływ zwiększonej aktywności ruchowej na mięśnie o różnym składzie włókien wolnokurczących się (ST) i szybko kurczących się (FT₂) porównując dwa mięśnie szczura: mięsień płaszczkowaty i nadbloczkowy.

Przeanalizowano ponadto dynamikę zmian wrażliwości insulinowej mięśni na działanie insuliny w różnym czasie po zakończeniu pojedynczych wysiłków bądź treningu fizycznego.

Doświadczenia przeprowadzono na szczurach samcach rasy Wistar o masie ciała 180 - 200 g. Zwierzęta doświadczalne podzielono na następujące grupy: grupę kontrolną - pozostającą w spoczynku, grupę wykonującą jednorazowy wysiłek fizyczny oraz grupę poddaną treningowi fizycznemu. Zwierzęta, u których badano wpływ jednorazowych wysiłków na wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę podzielono na trzy podgrupy: 1) wykonujące jednorazowy wysiłek : o umiarkowanej intensywności ($v=20$ m/min, kąt nachylenia bieżni= 0° , czas biegu=1 godz.), 2) o dużej intensywności ($v=25$ m/min, kąt nachylenia bieżni= 10° , czas biegu=0.5 godz.), oraz 3) wysiłek "sprinterski" (sześć dziesięciosekundowych biegów z szybkością $v=43$ m/min i 50-sekundowymi przerwami pomiędzy nimi, kąt nachylenia bieżni= 0°). Zwierzęta trenowane poddane były treningowi: a) wytrzymałościowemu bądź b) "sprinterskiemu". Trening wytrzymałościowy polegał na codziennych jednogodzinnych biegach o umiarkowanej intensywności przez 5 tygodni. Trening sprinterski polegał na codziennych sześciu dziesięciosekundowych biegach z 50-sekundowymi przerwami.

Próbki mięśnia płaszczkowatego (95 % włókien ST) i nadbłoczkowego (95 % włókien FT) inkubowano w zmodyfikowanym buforze Krebsa-Ringera, który zawierał 1.5 % (w/v) albuminę pozbawioną wolnych kwasów tłuszczowych, glukozę w stężeniu 5.5 mM, 0.25 μ Ci [$U-^{14}C$] glukozy \times ml $^{-1}$ oraz insulinę w stężeniach od 1 - 10000 μ U \times ml $^{-1}$.

Zwierzęta doświadczalne dekapitowano 0.25, 2, 24 lub 48 godzin od chwili zakończenia jednorazowych wysiłków fizycznych oraz 24, 48 lub 72 godziny po zakończeniu procesu treningowego. Za miarę wrażliwości mięśni szkieletowych na insulinę przyjmowano stężenie hormonu, przy którym wzrost produkcji mleczanu (LA) oraz syntezy glikogenu osiągał połowę odpowiedzi maksymalnej. Pierwsza z tych reakcji określa z dużym przybliżeniem tempo transportu glukozy do komórki mięśniowej.

Jednorazowy wysiłek wytrzymałościowy o umiarkowanej intensywności spowodował wzrost produkcji LA i zwiększenie wrażliwości tego procesu na insulinę w mięśniu płaszczkowatym pobranym w 0.25 i 2 h po zakończeniu wysiłku. Podobne zmiany w mięśniu płaszczkowatym zaobserwowano po jednorazowym wysiłku wytrzymałościowym o dużej intensywności. Jednorazowy wysiłek sprinterski nie zmieniał wrażliwości tego mięśnia na insulinę. Jednorazowy wysiłek wytrzymałościowy zwiększał tempo syntezy glikogenu, natomiast istotnie większą wrażliwość tego procesu na insulinę stwierdzono jedynie w 24 godz. po zakończeniu wysiłku. Trening wytrzymałościowy spowodował zwiększenie wrażliwości na insulinę zarówno tempa produkcji LA jak i syntezy glikogenu w mięśniu płaszczkowatym, które utrzymywało się przez conajmniej 48 godzin od chwili zakończenia ostatniego wysiłku. Trening sprinterski nie wywołał zmian wrażliwości mięśnia płaszczkowatego na insulinę.

Wrażliwość tempa produkcji LA na insulinę w mięśniu nadbłoczkowym ulegała poprawie zarówno po jednorazowym wysiłku wytrzymałościowym jak i "sprinterskim" i utrzymywała się na podwyższonym poziomie

przez conajmniej 2 godziny od chwili zakończenia tych wysiłków. Przejściowy wzrost wrażliwości tempa syntezy glikogenu na insulinę w tym mięśniu stwierdzono tylko po jednorazowym wysiłku "sprinterskim". Trening wytrzymałościowy wywołał w mięśniu nadbloczkowym zwiększenie wrażliwości tempa produkcji LA i syntezy glikogenu na insulinę utrzymujące się przez 24 godziny po ostatnim wysiłku. Takie same zmiany obserwowano po treningu "sprinterskim".

Ani po jednorazowych wysiłkach ani po treningu fizycznym nie zaobserwowano zależności między zawartością glikogenu mięśniowego, bądź tempem syntezy tego związku a wrażliwością jego syntezy na insulinę.

Uzyskane wyniki dostarczyły dowodów świadczących iż zarówno jednorazowe wysiłki jak i trening fizyczny zwiększają wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę, co przynajmniej częściowo tłumaczy poprawę tolerancji węglowodanów w tych sytuacjach. Wykazano, że efekty aktywności ruchowej mogą być różne w zależności od typu mięśni i rodzaju wysiłku. Stwierdzono ponadto, że korzystne skutki treningu na wrażliwość insulinową mięśni utrzymują się dłużej niż efekty jednorazowego wysiłku.

PISMIENNICTWO

1. Andres, R., Swerdloff, R., Pozefsky, T., Coleman, D. Manual feedback technique for the control of blood glucose concentration.
W: Automation in Analytical Chemistry. Wyd: L.T. Skeggs Jr. Mediad. Inc., New York 1966, 486 - 512.
2. Arner, P., Bolinder, J., Ostman, J.: Marked increase in insulin sensitivity of human fat cells 1 hour after glucose ingestion. J. Clin. Invest. 1983, 71, 709 - 714.
3. Bedford, T.G., Tipton, C.M., Wilson, N.C., Oppliger, R.A., Gisolfi, C.V.: Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. J. Appl. Physiol 1979, 47, 1278 - 1283.
4. Bjorntrop, P., Fahlenm M., Grimby, G., Gustafson, A., Holm, J., Renstrom, P., Schersten, T.: Carbohydrate and lipid metabolism in middle-aged physically well trained men. Metabolism 1972, 21, 1037 - 1044.
5. Bogardus, C., Lillioja, S., Howard, B.V., Reaven, G., Mott, D.: Relationships between insulin secretion, insulin action, and fasting plasma glucose concentration in nondiabetic and non - insulin dependent diabetic subjects. J. Clin. Inves. 1984, 74, 1238 - 1246.
6. Brown, J.C., Dryburgh, J.R., Ross, S.A., Dupre, J.: Identification and actions of gastric inhibitory polypeptide. Recent Prog. Horm. Res. 1975, 31, 487 - 532.
7. Budohoski, L., Challiss, R.A.J., McManus, B., Newsholme, E.A.: Effects of analogues of adenosine and methylxanthines on insulin sensitivity in soleus muscle of the rat. FEBS Lett. 1984, 167, 1 - 4.

8. Budochoski, L., Challiss, R.A.J., Lozeman, F.J., McManus, B., Newsholme, E.A.: Increased insulin sensitivity in soleus muscle from cold - exposed rats: reversal by an adenosine - receptor agonist. FEBS Lett. 1984, 175, 402 - 406.
9. Budochoski, L., Challiss, R.A.J., Cooney, G.J., McManus, B., Newsholme, E.A.: Reversal of dietary - induced insulin resistance in muscle of the rat by adenosine deaminase and an adenosine - receptor antagonist. Bioch. J. 1984, 224, 327 - 330.
10. Budochoski, L., Challiss, R.A.J., Dubaniewicz, A., Kaciuba-Uściłko, H., Leighton, B., Lozeman, F.J., Nazar, K., Newsholme, E.A., Porta, S.: Effects of prolonged elevation of plasma adrenaline concentration in vivo on insulin sensitivity in soleus muscle of the rat. Bioch. J. 1987, 244, 655 - 660.
11. Budochoski, L., Kozłowski, S., Dubaniewicz, A., Nazar, K., Kaciuba-Uściłko, H., Newsholme, E.A.: Reduced insulin sensitivity of tenotomized muscle: a possible role of adenosine. Horm. Metabol. Res. 1986, 18, 496 - 497.
12. Budochoski, L., Panczenko-Kresowska, B., Langfort, J., Jabłńska, E., Dubaniewicz, A., Ziemiański, S., Challiss, J.A.R., Newsholme, E.A., Kaciuba-Uściłko, H.: Effect of saturated and polyunsaturated fat enrich diet on the insulin sensitivity in skeletal muscle of the rat. Biochem. J. 1989, w druku.
13. Burant, C.F., Lemmon, S.K., Treutelaar, M.K., Buse, M.G.: Insulin resistance of denervated rat muscle: a model for impaired receptor-function coupling. Am. J. Physiol. 1984, 247, E657 - E666.

14. Butcher, R.W., Sneyd, J.G.T., Park, C.R., Sutherland, E.W.: Effect of insulin and adenosine 3', 5'-monophosphate in the rat epididymal fat pad. *J. Biol. Chem.* 1966, 241, 1651 - 1653.
15. Cataland, S., Crockett, S.E., Brown, J.C., Mazzaferri, E.L.: Gastric inhibitory polypeptide stimulation by oral glucose in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1973, 39, 223 - 228.
16. Challiss, R.A.J., Budohoski, L., McManus, B., Newsholme, E.A.: Effects of an adenosine - receptor antagonist on insulin-resistance in soleus muscle from obese Zucker rats. *Bioch. J.* 1984, 221, 915 - 917.
17. Challiss, R.A.J., Espinal, J., Newsholme, E.A.: Insulin sensitivity of rates of glycolysis and glycogen synthesis in soleus, epitrochlearis and hemi-diaphragm muscles of the rat. *Biosci. Rep.* 1983, 3, 675 - 679.
18. Challiss, R.A.J., Leighton, B., Lozeman, F.J., Newsholme, E.A.: The hormone-modulatory effects of adenosine in skeletal muscle. W: *Topics and perspectives in Adenosine Research*. Wyd: E. Gerlach, B.F. Becker, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg 1987.
19. Clausen, T., Elbrink, J., Dahl-Hansen, A.B.: The relationship between the transport of glucose and cations across cell membranes in isolated tissues. IX. The role of cellular calcium in the activation of the glucose transport system in rat soleus muscle. *Bioch. Biophys. Acta* 1975, 375, 292 - 308.
20. Cohen, P.: The role of protein phosphorylation in the hormonal control of enzyme activity. *Eur. J. Bioch.* 1985, 151, 439 - 448.

21. Cooney, G.J., Caterson, I.D., Newsholme, E.A.: The effect of insulin and noradrenaline on the uptake of 2-[1-¹⁴C] deoxyglucose in vivo by brown adipose tissue and other glucose-utilising tissues of mouse. FEBS Lett. 1985, 188, 257 - 261.
22. Cooney, G.J., Taegtmeier, H., Newsholme, E.A.: Tricarboxylic acid cycle flux and enzyme activities in the isolated working rat heart. Bioch. J. 1981, 200, 701 - 703.
23. Craig, B.W., Foley, P.J.: Effects of cell size and exercise on glucose uptake and metabolism in adipocytes of female rats. J. Appl. Physiol. 1984, 57(4), 1120 - 1125.
24. Crettaz, M., Prentki, M., Zaninetti, D., Jeanrenaud, B.: Insulin resistance in soleus muscle from obese Zucker rats. Biochem. J. 1980, 186, 525 - 534.
25. Curtis-Prior, P.B., Trethewey, J., Stewart, G.A., Hanley, T.: The contribution of different organs and tissues of the rat to assimilation of glucose. Diabetologia 1969, 5, 384 - 395.
26. Czyżyk, A.: Patofizjologia i klinika cukrzycy. PZWL, Warszawa 1987.
27. Danforth, W.H.: Glycogen synthetase activity. Interconversion of two forms and control of glycogen synthesis. J. Biol. Chem. 1965, 240, 588 - 593.
28. Davis, T.A., Klahr, S., Tegtmeyer, E.D., Osborne, D.F., Howard, T.L., Karl, I.E.: Glukose metabolism in epitrochlearis muscle of acutely exercised and trained rats. Am. J. Physiol. 1986, 250, E137 - E143.
29. DeFronzo, R.A.: Glucose intolerance and aging: evidence for tissue insensitivity to insulin. Diabetes 1979, 28, 1095 - 1101.

30. DeFronzo, R.A., Ferrannini, E., Sato, Y., Felig, P., Wahren, J.: Synergistic interaction between exercise and insulin on peripheral glucose uptake. *J. Clin. Invest.* 1981, 68, 1468 - 1474.
31. DeFronzo, R.A., Tobin, J.D., Andres, R.: Glucose clamp technique: A method of quantifying insulin secretion and resistance. *Am. J. Physiol.* 1979, 237, E214 - E223.
32. Denton, R. M., Brownsey, R.W., Belsham, G.J.: A partial view of the mechanism of insulin action. *Diabetologia* 1981, 21, 347 - 362.
33. Ebert, R., Creutzfeldt, W.: Gastric inhibitory polypeptide. *Clin. Gastroenterol.* 1979, 9, 679 - 698.
34. Eckel, R.H., Prasad, J.E., Kern, P.A., Marshall, S.: Insulin regulation of lipoprotein lipase in cultured isolated rat adipocytes. *Endocrinology* 1984, 114, 1665 - 1671.
35. Edstrom, L., Hultman, E., Sahlin, K., Sjoholm, H.: The contents of high - energy phosphates in different fibre types in skeletal muscle from rat, guinea-pig and man. *J. Physiol. (Lond.)* 1982, 265, 489 - 506.
36. Espinal, J., Challiss, R.A.J., Newsholme, E.A.: Effect of adenosine deaminase and an adenosine analogue on insulin sensitivity in soleus muscle in rat. *FEBS Lett.* 1983, 158, 103 - 106.
37. Espinal, J., Dohm, G.L., Newsholme, E.A.: Sensitivity to insulin of glycolysis and glycogen synthesis of isolated soleus - muscle strips from sedentary, exercised and exercise - trained rats. *Biochem. J.* 1983, 212, 453 - 458.

38. Fell, R.D., Terblanche, S.E., Winder, W.W., Holloszy, J.O.:
Adaptive responses of rats to prolonged treatment with epinephrine.
Am. J. Physiol. 1981, 241, C55 - C58.
39. Foulkes, J.G., Cohen, P., Strada, S.J., Everson, W.V., Jefferson,
L.S.: Antagonistic effects of insulin and β -adrenergic agonists on
the activity of protein phosphatase inhibitor-1 in skeletal muscle
of the perfused rat hemicorpus. J. Biol. Chem. 1982, 257,
12493 - 12496.
40. Garetto, L., P., Richter, E.A., Goodman, M.N., Ruderman, N.E.:
Enhanced muscle glucose metabolism after exercise in the rat: the
two phases. Am. J. Physiol. 1984, 246, E471 - E475.
41. Garlick, P.J., Fern, M., Preedy, V.R.: The effect of insulin
infusion and food intake on muscle protein synthesis in
postabsorptive rats. Biochem. J. 1983, 210, 669 - 676.
42. Green, A., Newsholme, E.A.: Sensitivity of glucose transport and
lipolysis of adipocytes to insulin and the effects of some
metabolites. Biochem. J. 1979, 180, 356 - 365.
43. Hauguel, S., Gilbert, M., Girard, I.: Pregnancy-induced insulin
resistance in liver and skeletal muscles of the conscious rabbit.
Am. J. Physiol. 1987, 252, E165 - E169.
44. Haynes, F.J., Helmerhorst, E., Yip, C.C.: The structure of the
hepatic insulin receptor and insulin binding. Biochim. J. 1986,
239, 126 - 133.
45. Heath, G.W., Gavin III, J.R., Hinderliter, J.M., Hagberg, J.M.,
Bloomfield, S.A., Holloszy, J.O.: Effects of exercise and lack of
exercise on glucose tolerance and insulin sensitivity. J. Appl.
Physiol. 1983, 55, 512 - 517.

46. Himsworth, H.P.: The physiological activation of insulin. *Clin. Sci.* 1933, 1, 1 - 5.
47. Himsworth, H.P., Kerr, R.B.: Insulin-sensitive and insulin-insensitive types of diabetes mellitus. *Clin. Sci.* 1939, 4, 119 - 126.
48. Holm, G., Bjerntrop, P., Jagenburg, R.: Carbohydrate, lipid and amino acid metabolism following physical exercise in man. *J. Appl. Physiol.* 1978, 45, 128 - 131.
49. Hultman, E.: Muscle glycogen in men determined in needle biopsy specimens. Method and normal values. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1967, 19 (Supl.91), 1 - 63.
50. Ivy, J., Holloszy, J.: Persistent increase in glucose uptake by rat skeletal muscle following exercise. *Am. J. Physiol.* 1981, 241, C200 - C203.
51. James, D.E., Burleigh, K.M., Storlien, L.H., Bennett, S.P., Kraegen, E.W.: Heterogeneity of insulin action in muscle: influence of blood flow. *Am. J. Physiol.* 1986, 251, E422 - E430.
52. James, D.E., Kraegen, E.W., Chisholm, D.J.: Effects of exercise training on in vivo insulin action in individual tissues of rat. *J. Clin. Invest.* 1985, 76, 657 - 666.
53. Jeanrenaud, B.: An hypothesis on the aetiology of obesity: dysfunction of the central nervous system as a primary cause. *Diabetologia* 1985, 28, 502 - 513.
54. Jefferson, L.S., Exton, J.H., Butcher, R.W., Sutherland, E.W., Park, C.R.: Role of adenosine 3',5'-monophosphate in the effects of insulin and anti-insulin serum on liver metabolism. *J. Biol. Chem.* 1968, 243, 1031 - 1038.

55. Joost, H.G., Steinfeld, H.J.; Modulation of insulin sensitivity by adenosine: effects on glucose transport, lipid synthesis, and insulin receptors of the adipocyte. *Mol. Pharmacol.* 1982, 22, 614 - 618.
56. Joost, H.G., Steinfeld, H.J.: Effects of theophylline on insulin receptors and insulin action in the adipocyte. *Mol. Cell. Biochem.* 1983, 57, 177 -183.
57. Joost, H.G., Weber, T.M., Cushman, S.W., Simpson, I.A.: Insulin-stimulated glucose transport in rat adipose cells: modulation of transporter intrinsic activity by isoproterenol and adenosine. *J. Biol. Chem.* 1986, 261, 10033 - 10036.
58. Kasuga, M., Karlsson, F.A., Kahn, C.R.: Insulin stimulates the phosphorylation of 95 000 dalton subunit of its own receptor. *Science* 1982, 215, 185 - 187.
59. Koivisto, V.A., Soman, V., Felig, P.: Effects of acute exercise on insulin binding to monocytes in trained athletes: Changes in the resting state and after exercise. *J. Clin. Invest.* 1979, 64, 1011 - 1015.
60. Koivisto, V.A., Soman, V., Felig, P.: Effects of acute exercise on insulin binding to monocytes in obesity. *Metabolism* 1980, 39, 168 - 172.
61. Koivisto, V.A., Yki-Jarvinen, H., DeFronzo, R.: Physical training and insulin sensitivity. *Diabetes/Metabolism Reviews* 1986, 1, 445 - 481.

62. Kono, T., Suzuki, K., Dansey, L.E., Robinson, F.W., Enevins, T.L.: Energy dependent and protein synthesis independent recycling of insulin - sensitive glucose transport mechanism in rat cells. *J. Biol. Chem.* 1981, 256, 6400 - 6407.
63. Kraegen, E.W., James, D.W., Jenkins, A.B., Chisholm, D.J.: In vivo insulin sensitivity in the rat determined by euglycemic clamp. *Am. J. Physiol.* 1985, 248, E353 - E362.
64. Krebs, E.G., Beavo, J.A.: Phosphorylation - dephosphorylation of enzymes. *Ann. Rev. Bioch.* 1979, 48, 923 - 959.
65. Lampman, R.M., Schteingart, D.E., Santinga, J.T., Savage, P.J., Hydrick, C.R., Bassett, D., Block, W.D.: The influence of physical training on glucose tolerance, insulin sensitivity, and lipid and lipoprotein concentrations in middle-aged hypertriglyceridaemic, carbohydrate intolerant men. *Diabetologia* 1987, 30, 380 - 385.
66. Law, W.R., McLane, M.P., Raymond, R.M.: Adenosine is required for myocardial insulin responsiveness in vivo. *Diabetes* 1988, 37, 842 - 845.
67. Lawrence, J.C. Jr, Hiken, J.F., DePaoli-Roach, A.A., Roach, P.J.: Hormonal control of glycogen synthase in rat hemidiaphragms. Effects of insulin and epinephrine on the distribution of phosphate between two cyanogin bromide fragments. *J. Biol. Chem.* 1983, 258, 10710 - 10719.
68. Lawson, J.W., Veech, R.L.: Effects of pH and free Mg^{2+} on the K_{eq} of the creatine kinase reaction and other phosphate hydrolyses and phosphate transfer reactions. *J. Biol. Chem.* 1979, 254, 6528 - 6537.

69. LeBlanc, J., Nadeau, A., Boulay, M., Rosseau-Migneron, S.: Effects of physical training and adiposity on glucose metabolism and ¹²⁵I-insulin binding. *J. Appl. Physiol.* 1979, 46, 235 - 239.
70. LeBlanc, J., Nadeau, A., Richard, D., Tremblay, A.: Studies on the sparing effect of exercise on insulin requirements in human subjects. *Metabolism* 1981, 30, 1119 - 1124.
71. Leighton, B., Budohoski, L., Lozeman, F.J., Challiss, R.A.J., Newsholme, E.A.: The effect of prostaglandins E₁, E₂ and P₂ and indomethacin on the sensitivity of glycolysis and glycogen synthesis to insulin in stripped soleus muscles of the rat. *Biochem. J.* 1985, 227, 337 - 340.
72. Lillioja, S., Mott, D.M., Zawadzki, J.K., Young, A.A., Abbott, W.G., Bogardus, C.: Glucose storage in a major determinant of in vivo insulin resistance in subjects with normal glucose tolerance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1986, 62, 922 - 927.
73. Lohman, D., Liebold, F., Heilmann, W., Senger, H., Pohl, A.: Diminished insulin response in highly trained athletes. *Metabolism* 1978, 27, 521 - 524.
74. Londos, C., Wolf, J.: Two distinct adenosine sensitive sites on adenylate cyclase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1977, 74, 5482 - 5486.
75. Maehlum, S., Felig, P., Wahren, J.: Splanchnic glucose and muscle glycogen metabolism after glucose feeding during postexercise recovery. *Am. J. Physiol.* 1978, 235, E255 - E260.

76. Mandarino, L.J., Wright, K.S., Verity, L.S., Nichols, J., Ball, J.M., Kolterman, O.G., Beck - Nielsen, H.: Effects of insulin infusion on human skeletal muscle pyruvate dehydrogenase, phosphofructokinase, and glycogen synthase. *J. Clin. Invest.* 1987, 80, 655 - 663.
77. Modon, C.E., Doklas, C.B., Reaven, V.M.: Site of enhanced insulin sensitivity in exercise trained rats at rest. *Am. J. Physiol.* 1980, 239, E169 - E177.
78. Moore, R.D.: Effects of insulin upon ion transport. *Biochim. Biophys. Acta* 1983, 737, 1 - 49.
79. Myllynen, P., Koivisto, V.A., Nikkila, E.A.: Glucose tolerance and insulin resistance accompany immobilization. *Acta Med. Scand.* 1987, 222, 75 - 81.
80. National Diabetes Data Group: Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 1979, 28, 1039 - 1057.
81. Nazar, K., Kaciuba-Uściłko, H., Chwalbińska-Moneta, J., Krotkiewski, M., Bicz, B.: Plasma insulin and C-peptide responses to oral glucose load after physical exercise in men with normal and impaired glucose tolerance. *Acta Physiol. Pol.* 1987, 38, 458 - 466.
82. Neshar, R., Karl, J.E., Kaiser, K.E., Kipnis, D.M.: Epitrochlearis muscle. I. Mechanical performance, energetics, and fiber composition. *Am. J. Physiol.* 1980, 239, E454 - E460.
83. Neshar, R., Karl, I.E., Kipnis, D.M.: Dissociation of thje effects of insulin and contraction on glucose transport in rat epitrochlearis muscle. *Am. J. Physiol.* 1985, 249, C226 - C232.

84. Newsholme, E.A., Leech, A.R.: Biochemistry for the Medical Sciences, John Wiley & Sons, London 1983.
85. Noble, E.G., Ianuzzo C.D.: Influence of training on skeletal muscle enzymatic adaptations in normal and diabetic rats. Am. J. Physiol. 1985, 249, E360 - E365.
86. Olefsky, J.M.: The effects of spontaneous obesity on insulin binding, glucose transport, and glucose oxidation of isolated rat adipocytes. J. Clin. Invest. 1976, 57, 842 - 851.
87. Olefsky, J.M., Reaven, G.M.: Effects of age and obesity on insulin binding to isolated adipocytes. Endocrinology 1975, 96, 1486 - 1498.
88. Ong, J.M., Kirchgessner, T.G., Schotz, M.C., Kern, P.A.: Insulin increases the synthesis rate and messenger RNA level of lipoprotein lipase in isolated rat adipocytes. J. Biol. Chem. 1988, 263, 12933 - 12938.
89. Parker, P.J., Caudwell, F.B., Cohen, P.: Glycogen synthase from rabbit skeletal muscle: effect of insulin on the state of phosphorylation of the seven phospho residues in vivo. Eur. J. Biochem. 1983, 130, 227 - 234.
90. Pedersen, O., Beck - Nielsen, H., Heding, L.: Increased insulin receptors after exercise in patients with insulin - dependent diabetes mellitus. N. Engl. J. Med. 1980, 302, 886 - 892.
91. Pruett, E.D.: Insulin and exercise in non-diabetic and diabetic man. W: Exercise endocrinology, Wyd: K. Fotherby, S.B. Pal, 1 - 23, Walter de Gruyeter and Co, Berlin - New York 1985.

100. Randle, P.J., Garland, P.E., Hales, C.N., Newsholme, E.A.: The glucose fatty acids cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1963, i, 785 - 789.
101. Reaven, G.M., Bernstein, R., Davis, B., Olefsky, J.M.: Nonketotic diabetes mellitus: insulin deficiency or insulin resistance. *Am. J. Med.* 1976, 60, 80 - 87.
102. Rennie, M.J., Idstrom, J - P., Mann, G.E., Schersten, T., Bylund-Fellenius, A-C.: A paired - tracer dilution method for characterizing membrane transport in the perfused rat hindlimb. *Biochem. J.* 1983, 214, 737 - 743.
103. Richter, E.A., Garetto, L.P., Goodman, M.N., Ruderman, N.B.: Muscle glucose metabolism following exercise in the rat. Increased sensitivity to insulin. *J. Clin. Invest.* 1982, 69, 785 - 793.
104. Richter, E.A., Garetto, L.P., Goodman, M.N., Ruderman, N.B.: Enhanced muscle glucose metabolism after exercise: modulation by local factors. *Am. J. Physiol.* 1984, 246, E476 - E482.
105. Richter, E.A., Ruderman, N.B., Gavras, H., Belur, E.R., Galbo, H.: Muscle glycogenolysis during exercise: dual control by epinephrine and contractions. *Am. J. Physiol.* 1982, 242, E25 - E32.
106. Sahlin, K., Palmskoy, G., Hultman, E.: Adenine nucleotide and IMP contents of the quadriceps muscle in man after exercise. *Pflugers Archiv* 1978, 374, 193 - 198.

107. Saltiel, A.R., Cuatrecasas, P.: Insulin stimulates the generation from hepatic plasma membranes of modulators derived from an inositol glycolipid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986, 83, 5793 - 5797.
108. Saltiel, A.R., Cuatrecasas, P.: In search of a second messenger for insulin. *Am. J. Physiol.* 1988, 255, C1 - C11.
109. Saltiel, A.R., Sorbara-Cazan, L.R.: Inositol glycan mimics the action of insulin on glucose utilization in rat adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1987, 149, 1084 - 1092.
110. Saltiel, A.R., Sherline, P., Fox, J.A.: Insulin-stimulated diacylglycerol production results from the hydrolysis of a novel phosphatidylinositol glycan. *J. Biol. Chem.* 1987, 262, 1116 - 1121.
111. Sato, Y., Iguchi, A., Sakamoto, N. Biochemical determination of training effects using insulin clamp technique. *Horm. Metab. Res.* 1984, 16, 483 - 486.
112. Scheer, W.D., Lehmann, H.P., Beeler, M.F.: An improved assay for hexokinase activity in human tissue homogenates. *Anal. Biochem.* 1978, 91, 451 - 463.
113. Seals, D.R., Hagberg, J.M., Allen, W.K., Hurley, B.F., Dalsky, G.P., Ehsani, A.A., Holloszy, J.O.: Glucose tolerance in young and older athletes and sedentary men. *J. Appl. Physiol.* 1984, 56, 1521 - 1525.
114. Siegel, E.G., Creutzfeldt, W.: Stimulation of insulin release in isolated rat islets by GIP in physiological concentrations and its relation to islet cyclic AMP content. *Diabetologia* 1985, 28, 857 - 861.

115. Smith, R.L., Lawrence, J.C.: Insulin action in denervated skeletal muscle. *J. Biol. Chem.* 1985, 260, 273 - 278.
116. Soar, P.K., Davies, C.M.T., Fentem, P.H., Newsholme, E.A: The effect of endurance training on the maximum activities hexokinase, 6-phosphofructokinase, citrate synthase and oxoglutarate dehydrogenase in red and white muscle of the rat. *Biosci. Rep.* 1983, 3, 831 - 835.
117. Soderling, T.R.: Role of hormones and protein phosphorylation in metabolic regulation. *Fed. Proc.* 1982, 41, 2615 - 2617.
118. Soman, V.J., Koivisto, V.A., deibert, D., Felig, P., DeFronzo, R.A.: Increased insulin sensitivity and insulin binding to monocytes after physical training. *N. Engl. J. Med.* 1979, 301, 1200 - 1204.
119. Sonne, B., Galbo, H.: Simultaneous determinations of metabolic and hormonal responses, heart rate, temperature and oxygen uptake in running rats. *Acta Physiol. Scand.* 1980, 109, 201 - 209.
120. Sparks, H.V., Fuchs, B.D.: Adenosine as a mediator of sustained exercise hyperemia. *W: Frontiers of exercise biology. Human Kinetics Publishers, Champaign, Illinois* 1983, 119 - 127.
121. Stupnicki, R.: A single-parameter quality control in radioimmunoassays. *Endokrinologie* 1982, 80, 48 - 51.
122. Szczypaczewska, M., Nazar, K., Kaciuba-Uściłko, H.: Glucose tolerance and insulin response to glucose load in body builders. *Int..J. Sports Med.* 1989, 10, 34 - 37.
123. Tatoń, J.: *Diabetologia kliniczna. PZWL, Warszawa* 1986.

124. Tarjung, R.L., Dudley, G.A., Meyer, R.A., Hood, D.A., Górski, J.: Purine nucleotide cycle function in contracting muscle. W: Biochemistry of exercise VI. Wyd: B. Saltin. Human Kinetics Publishers, Champaign, Illinois 1986, 131 - 147.
125. Tremblay, A., Fointaine, E., Nadeau, A.: Contribution of the exercise-induced increment in glucose storage to the increased insulin sensitivity of endurance athletes. Eur. J. Appl. Physiol. 1985, 54, 231 - 235.
126. Trownbridge, M., Draznin, B.: Insulin internalization and intracellular protein degradation: a quantitative correlation. Horm. Met. Res. 1986, 18, 156 - 158.
127. Vallerand, A.L., Lupien, J., Bukowiecki, L.J.: Interaction of cold exposure and starvation on glucose tolerance and insulin response. Am J. Physiol. 1983, 245, E575 - E581.
128. Van Calker, D., Muller, M., Hamprecht, B.: Adenosine regulates via two different types of receptors, the accumulation of cyclic AMP in cultured cells. J. Neurochem. 1979, 33, 999 - 1005.
129. Vinten, J., Galbo, H.: Effect of physical training on transport and metabolism of glucose in adipocytes. Am. J. Physiol. 1982, 244, E129 - E134.
130. Walberg-Henrikson, H., Holloszy, J.O.: Contractile activity increases glucose uptake by muscle in severely diabetic rats. J. Appl. Physiol. 1984, 57, 1045 - 1049.
131. Wardzala, L.J., Jeanrenaud, B.: Potential mechanism of insulin action of glucose transport in the isolated rat diaphragm. J. Biol. Chem. 1981, 256, 7090 - 7093.

132. Wang, C.: Purification and autophosphorylation of insulin receptors from rat skeletal muscle. *Biochim. Biophys. acta* 1986, 888, 107 - 115.
133. Wardzala, L.J., Jeanrenaud, B.: Identification of D-glucose - inhibitable cytochalasin B binding site as the glucose transporter in rat diaphragm plasma and microsomal membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 1983, 730, 49 - 56.
134. Yki-Jarvinen, H., Koivisto, V.A.: Effects of body composition on insulin sensitivity. *Diabetes* 1983, 32, 965 - 969.