

STEFAN KUBICKI, WITOLD KRAŚNIK

WPŁYW NIEKTÓRYCH BIOLOGICZNYCH I FIZYCZNYCH
CZYNNIKÓW NA POZIOM GLIKOGENU W WĄTROBIE
U BIAŁYCH MYSZY

Z II Kliniki Chorób Wewnętrznych A. M. w Poznaniu

Kierownik: prof. dr J. Roguski

Proces magazynowania i rozpadu glikogenu w wątrobie należy do podstawowych czynności tego narządu, interesujących w jednakowy sposób biochemika, patologa i klinicystę. Przemiana ta przebiega przy współudziale czynników wątrobowych, regulowana jest złożonymi mechanizmami neurohormonalnymi, zależy od dwustronnej korelacji, jaka istnieje między tworzeniem glikogenu i zapotrzebowaniem na niego przez tkanki. Zapasy glikogenu wątrobowego sięgają prawie 40% całej zawartości wielocukrów w ustroju. Dostatecznie duże ilości tego związku w wątrobie warunkują prawidłowy poziom cukru we krwi, sprawny przebieg wielu prostych i złożonych przemian w całym ustroju oraz wydolność samej wątroby. Znikanie glikogenu z cytoplazmy jest pierwszą oznaką morfologicznego uszkodzenia komórki wątrobowej.

Mimo dużej liczby prac doświadczalnych, które przyczyniły się do bliższego poznania procesu glikogenosyntezy, istota i zachowanie się tej przemiany dalekie są od ostatecznego wyjaśnienia. Proces glikogenosyntezy podlegać ma prawom dobowej rytmiki (*Forsgren, Holmgren, Svenson, Petren, Sollberger* i in.). W dyskusji nad tym zjawiskiem nie brak jednak głosów kwestionujących okresowość przemian w wątrobie. *Higgins* twierdzi, że przemiana węglowodanowa w tym narządzie jest zupełnie niezależna od czynników zewnętrznych. Również *Marble* i współpr. oraz *Bomskow* i *Kaulla* nie spostrzegali uchwytnego rytmu w syntezie glikogenu w wątrobie.

Dalszych badań wymaga również problem jaki wpływ wywiera na proces glikogenosyntezy układ wegetatywny. Za zależnością odkładania się glikogenu w wątrobie od czynności wyższych ośrodków nerwowych przemawiają historyczne doświadczenia *Claude Bernarda* z drażnieniem nerwów współczulnych, przecięciem pnia nerwu błędnego oraz nakłuciem dna

komory czwartej. Wykazano również, że bodźce współczulne wzmagają rozpad chemiczny glikogenu w wątrobie, podniety przywspółczulne mają syntezę tego wielocukru wzmacniać (*Petrides, Schaffer*). Z drugiej jednak strony nie brak głosów, iż układ wegetatywny nie bierze większego udziału w przemianie materii wątroby.

Wiadomo, że przemiana materii wzmagają się równolegle do wielkości wykonywanej pracy i wysiłku. Zauważono także, że istnieje szkodliwy wpływ wstrząsów i wibracji na ustrój ludzki. Nie wyjaśniono jednak, czy wpływ tych szkodliwości dotyczy bezpośrednio tkanek i narządów, czy też oddziałują one za pośrednictwem mózgu. Wątroba należy do narządów najbardziej wrażliwych na niedobór tlenu. *Reynolds* umieszczając zwierzęta w środowisku typowym dla wysokości 6 tysięcy metrów ponad poziom morza, znajdował stałe zmniejszanie się poziomu glikogenu w wątrobie. Odmiennie wyniki otrzymali jednak *Nims, Langly* i *Clark* oraz *Biget* i *Gospa*, stwierdzając wzrost zapasów glikogenu w wątrobie od $1/2$ —3,6% przy przetrzymywaniu szczurów przez 24 godziny w atmosferze, wykazującej znaczny niedobór tlenu.

Wszystkie biologiczne czynniki i wpływy fizyczne, mogące zakłócić przebieg glikogenosyntezy nie są należycie poznane. Fakt ten skłonił nas do wykonania zespołu oznaczeń, pomyślanych w takich warunkach doświadczalnych, które uzasadniały kontrolne badania i dodatkowe oświetlenie. Za cel naszych doświadczeń przyjęliśmy następujące zagadnienia:

- 1) zachowanie się glikogenu w wątrobie w różnych okresach dnia i nocy;
- 2) zależność glikogenosyntezy od niektórych niedostatecznie jeszcze wyjaśnionych lub będących przedmiotem dyskusji czynników, kształtujących tzw. środowisko zewnętrzne, tj. światła, niedotlenienia, nadmiaru tlenu, przegrzania, wysiłku oraz hałasu;
- 3) wpływ układu nerwowego wegetatywnego na zawartość glikogenu w wątrobie w warunkach spokoju i przy oddziaływaniu na ustrój zwierzęcia pewnych bodźców zewnętrznych.

KRYTYKA METODY

Biologiczne sposoby oznaczania glikogenu w wątrobie nie są łatwe. Duża zmienność zapasów tego wielocukru oraz zależność od wielu wpływów zewnątrz- i wewnątrzustrojowych dowodzi, że wyniki tych metod badania wymagają bardzo krytycznej oceny. W tym też fakcie należy szukać wytłumaczenia, dlaczego stężenia glikogenu w wątrobie, znajdowane przez różnych autorów, są tak rozbieżne.

Do przyczyn nadmiernych wahań wyników badań, przeprowadzanych nad zawartością glikogenu należą m. in. trudności natury technicznej w postaci zbyt późnego wypreparowania oraz spóźnionego przeniesienia wątroby zwierzęcia do roztworu KOH, pociągającego za sobą ucieczkę glikogenu z żywej tkanki oraz przetrzymywanie zwierząt w zbyt zimnym lub nadmiernie przegrzanym i dusznym pomieszczeniu itp. Za najodpowiedniejszą dla tego rodzaju badań jest dla myszy ciepłota wa-

nająca się od 23 do 26°C. Do badań tych należy użyć zwierzęta o zbliżonej do siebie wadze i żywione pełnowartościową paszą. Pewne wahania w zawartości glikogenu zależą także od wieku zwierzęcia. Szczury w miarę starzenia się wykazują nieco wyższą zawartość glikogenu niż zwierzęta młode. O ile układ doświadczenia na to pozwala, zwierzęta powinny być poddawane próbie o stałej godzinie.

Nie bez znaczenia dla ostatecznego wyniku analiz glikogenu w wątrobie jest rodzaj metody. Niektórzy badacze uważają, że bardziej stałe wyniki daje metoda Pflügera, chociaż i ona nie jest pozbawiona pewnych wad; poza tym nie jest łatwa do wykonania. Również inne rodzaje badań, zmierzające do poznania roli glikogenezy w przemianie węglowodanowej, takie jak usuwanie zwierzęciu wątroby, przepuszczanie roztworu glikozy przez wyosobnioną wątrobę; metody histochemiczne skrawków wątrobowych nie dostarczają pewnych informacji o tym podstawowym procesie. Wadą tych ostatnich metod badania jest przede wszystkim nieuwzględnianie w końcowym ich wyniku zależności glikoneogenezy od pozostałych narządów i regulacji neurohormonalnej.

W badaniach własnych do oznaczania glikogenu w wątrobie używaliśmy białych myszy o wadze wahającej się od 20 do 26 g. Zwierzęta żywione były mieszanką przygotowaną wg przepisu Mc Calluma. Dla operowania wyższą zawartością glikogenu, ułatwiającą lepszą ocenę uzyskiwanych wyników, dodawano każdorazowo do podstawowej paszy 15% czystej glikozy. Glikogen oznaczano o stałej porze, w naszych warunkach w godzinach wieczornych. Glikogen w wątrobie myszy oznaczano wg metody podanej przez *Good, Kramer i Somogyi*. Glikozę otrzymaną po hydrolizie glikogenu oznaczano jodometrycznie wg metody *Schaffer-Somogyi*. Celem uzyskiwania jak najbardziej stałych wyników przeliczaliśmy ilości glikogenu otrzymane w miligramach na jego odsetek, przypadający na całkowitą wagę badanego zwierzęcia. Dla dalszego wyeliminowania możliwego błędu w każdym doświadczeniu posługiwano się grupą myszy kontrolnych, po czym uzyskane wyniki w obu grupach zwierząt porównywano ze sobą. Otrzymane w ten sposób stężenia glikogenu w wątrobie były na ogół wysokie i stałe, podobne do uzyskiwanych przez jednego z nas w badaniach nad zachowaniem się glikogenu w wątrobie w doświadczalnej nadtarzyczności zwierząt (*Kubicki*). U myszy kontrolnych wahały się one w granicach od 2,01 do 3,76%.

METODYKA BADAŃ I WYNIKI DOŚWIADCZEŃ

I. Zachowanie się glikogenu w wątrobie w różnych okresach dnia i nocy — spostrzeżenia rytmu dobowego glikogenezy

Doświadczenie 1. Białe myszy o wadze 20—26 g i żywione dietą Mc Calluma podzielono na 4 grupy po 5 myszy w każdej. Po 14-dniowym okresie przygotowawczym, w czasie którego zwierzęta dostosowywały się do nowego otoczenia i rodzaju paszy, przystępowano do oznaczania glikogenu w wątrobie. Doświadczenie z pierwszą grupą zwierząt przeprowadzono o godz. 7.00. W drugiej serii myszy glikogen oznaczano o godz. 12.30. Dalsze badanie wykonano o godz. 19.00, ostatnie oznaczenie przypadło na godz. 2.00 w nocy. Postępując w ten sposób staraliśmy się uzyskać wgląd w zachowanie się zapasów glikogenu w wątrobie w 4 różnych okresach dnia i nocy. Powyższe doświadczenie powtórzono w tym samym układzie dwukrotnie.

Ilości glikogenu w wątrobie, uzyskane w poszczególnych okresach doby przedstawia tabela 1. Jak wynika z niej, grupa zwierząt poddana badaniu

w godzinach rannych wykazywała stężenia glikogenu w wątrobie wahające się od 2,75 do 6,01‰; średnio 4,24‰. U myszy zbadanych w godzinach południowych zawartość glikogenu była wyraźnie niższa sięgająca wartości od 1,23 do 2,23‰; przeciętnie 1,68‰. U zwierząt poddanych badaniu w godzinach wieczornych poziom glikogenu wahał się w granicach 2,80 do 5,10‰; średnio 3,66‰. W nocy wreszcie zawartość tego wielocukru w wątrobie była najwyższa sięgająca stężeń od 5,08 do 6,44‰; średnio 5,79‰. Podobne wyniki uzyskaliśmy w doświadczeniu kontrolnym. Z prostego

Tabela 1. Dobowe wahania zawartości glikogenu w wątrobie
Table 1. Diurnal rate of content of glycogen in liver

Pora dnia 1)	Liczba myszy 2)	Zawartość glikogenu w wątrobie w ‰ 3)	Zawartość średnia 4)
Rano 5) g. 7 ⁰⁰	5	2,75; 3,75; 3,98; 4,71; 6,01	<u>4,24‰</u>
Południe 6) g. 12 ³⁰	5	1,23; 1,24; 1,53; 2,16; 2,23	<u>1,68‰</u>
Wieczór 7) g. 19 ⁰⁰	5	3,11; 2,80; 2,66; 4,63; 5,10	<u>3,66‰</u>
Noc 8) g. 2 ⁰⁰	5	5,08; 5,22; 6,20; 6,02; 6,44	<u>5,79‰</u>

Time of day 1); Number of mice 2); Content of glycogen in liver in ‰ 3); Average content 4); 7⁰⁰ a. m. 5); 0³⁰ p. m. 6); 7 p. m. 7); 2 a. m. 8).

w swym założeniu badania wynika, że najwyższe nagromadzenie się glikogenu w wątrobie zwierząt przypada na okres nocy (w naszych oznaczeniach na godz. 2⁰⁰—2³⁰). Po nocy zawartość glikogenu w tym narządzie stopniowo maleje, wykazując w godzinach rannych, wartości niższe niż w godzinach nocnych. Najniższe zapasy glikogenu w wątrobie przypadają na okres południa, w naszym doświadczeniu na godz. 12³⁰. W godzinach wieczornych i rannych zawartość glikogenu w wątrobie myszy wykazuje wartości pośrednie między stwierdzanymi w czasie nocy i południa.

Doświadczenie 2. Po stwierdzeniu narastania zapasów glikogenu w nocy oraz stopniowego ich ubywania w godzinach rannych i popołudniowych podjęliśmy się próby odwrócenia rytmu tej czynności wątroby. W doświadczeniu tym, podobnym do prób innych autorów chodziło nam o to, czy wyzyskując związki czasowe oraz oddziaływanie takich czynników jak ruch, hałas i światło, przypadające na okres dnia oraz ciszę, ciemność i spokój, charakteryzujące godziny nocne, uda się nam stworzyć doświadczalne warunki sztucznego dnia i nocy oraz odwrócić tą drogą cykliczny przebieg syntezy i rozpadu glikogenu w wątrobie.

Szesnaście białych myszek umieściliśmy w 4 oddzielnych klatkach. Klatki ze zwierzętami przechowywano w ciągu dnia w całkowitej ciemności i optymalnej ciszy. W godzinach wieczornych i nocą rzucono na nie natomiast bardzo jasny snop elektrycznego światła oraz wystawiano w miejscu, w którym mimo nocy panował ruch

i gwar. W tych warunkach zwierzęta przebywały przez okres 14 dni. Po tak długim okresie adaptacji do nowych warunków bytowania dokonywano oznaczeń glikogenu w wątrobie w 4 różnych porach sztucznej doby: w godzinach rannych, południowych, wieczornych i w nocy.

Jak wynika z tabeli 2, na której zestawiono uzyskane wyniki, najwyższa zawartość glikogenu w wątrobie przypadła w tym doświadczeniu na godzinę 12³⁰. Wynosiła ona 3,01 do 4,21^{0/0}; średnio 3,41^{0/0}. O godz. 7⁰⁰ rano

Tabela 2. Zachowanie się poziomu glikogenu w wątrobie myszy przy próbie odwrócenia rytmiki dobowej

Table 2. Behaviour of liver glycogen level in mice during attempts to reverse the diurnal rhythm

Pora dnia 1)	Liczba myszy 2)	Zawartość glikogenu w wątrobie w % 3)	Zawartość średnia 4)
Rano 5) g. 7 ⁰⁰	4	1,96; 4,00; 3,40; 3,10	<u>3,12^{0/0}</u>
Południe 6) g. 12 ³⁰	4	3,12; 4,21; 3,01; 3,30	<u>3,41^{0/0}</u>
Wieczór 7) g. 19 ⁰⁰	4	0,59; 1,68; 1,80; 1,40	<u>1,36^{0/0}</u>
Noc 8) g. 2 ⁰⁰	4	1,41; 1,95; 0,79; 1,53	<u>1,42^{0/0}</u>

Notation as in table 1.

ilości stwierdzonego glikogenu były nieco niższe i wahały się w granicach 1,96—4,00^{0/0}, wynosząc średnio 3,12^{0/0}. Najniższe stężenia glikogenu średnio 1,36 i 1,42^{0/0} przypadły na okres pozornego dnia, a mianowicie na godz. 19⁰⁰ i 2⁰⁰ w nocy. Otrzymane przez nas wyniki okazały się przeto przy stworzeniu sztucznego dnia i nocy podobne do uzyskanych w warunkach prawidłowych.

II. Zależność glikogenezy od niektórych czynników kształtujących tzw. środowisko zewnętrzne

1. *Wpływ światła na zawartość glikogenu w wątrobie.* Myszy służące do doświadczenia podzieliliśmy na trzy grupy. Pierwszą grupę zwierząt umieściliśmy w klatce oświetlonej przez dwie godziny źródłem światła o mocy 200 W. W czasie doświadczenia starano się, ażeby strumień światła padał stale na zwierzęta. Druga seria myszy, przebywając w tych samych warunkach otrzymywała uprzednio przez okres 7 dni środki: antycholinergiczne (0,01 mg atropiny) względnie sympatykolityczne (0,05 mg dihydroergotaminy). W tej części badania staraliśmy się prześledzić zachowanie się glikogenu w wątrobie przy równoczesnym wyłączeniu układu współczulnego lub zakończeń nerwu błędnego. Trzecia grupa, nie narażona na działanie silnego światła, służyła za kontrolę dla grup poprzednich.

Przeprowadzone przez nas badania z pierwszą grupą zwierząt zdają się przemawiać, że światło należy do silnych bodźców, wpływających na znikanie glikogenu z wątroby. I tak w grupie kontrolnych myszy zawartość glikogenu wahała się w granicach 2,26—4,34‰; średnio 3,34‰. W grupie zwierząt wystawionych na znaczne oświetlenie poziom tego wielocukru obniżył się od 0,45—1,40‰, przeciętnie do 0,79‰ (tabela 3). Na ucieczkę

Tabela 3. Wpływ światła na zawartość glikogenu w wątrobie myszy
Table 3. The effect of light on the liver glycogen level in mice

Nr myszy 1)	Waga wątroby myszy 2)	Zawartość glikogenu w wątrobie 3)		Zawartość średnia 4)
		w mg	w ‰	
1	1300	6,27	0,48	
2	1450	13,58	0,93	
3	1050	7,31	0,69	<u>0,79‰</u>
4	1700	24,00	1,41	
5	1300	6,10	0,47	

Myszy kontrolne 5)

3,34‰

Mouse No 1); Weight of liver 2); Liver glycogen in mg, in ‰ 3); Average content 4); Control animals 5).

glikogenu z wątroby nie miały również wpływu bodźce, wyzwalane z układu wegetatywnego. Średnia zawartość glikogenu w tym narządzie po uprzednim podaniu dihydroergotaminy wynosiła 0,61‰, po zastosowaniu zaś atropiny 0,65‰.

2. *Zachowanie się poziomu glikogenu w wątrobie w nadmiarze tlenu i przy niedotlenieniu.* Do badania zużyliśmy 3 grupy zwierząt w ogólnej liczbie 25. Pierwszą grupę myszy umieszczaliśmy w szczelnie zamkniętym słoju szklanym o pojemności 400 i 900 ml; druga grupa zwierząt znajdowała się w komorze, przez którą przepuszczano stały strumień tlenu; trzecia grupa myszy służyła za grupę kontrolną.

Początkowo w zachowaniu zwierząt, wystawionych na niedotlenienie nie było widać żadnych szczególnych objawów. W miarę upływu czasu i zwiększającego się niedoboru tlenu i nadmiaru wydalanego dwutlenku węgla zwierzęta zaczynały dyszeć, zdradzać niepokój, wreszcie starały się wydostać na zewnątrz słoja. Po 3 godzinach stawały się senne i apatyczne. Dwie myszki przebywające w mniejszym słoju padły. Po 4 godzinach utrzymującego się niedotlenienia oznaczano glikogen.

U myszek poddanych działaniu niedotlenienia (tab. 4) zawartość glikogenu wahała się od 0,20—2,35‰; średnio 1,84‰. W grupie zwierząt przebywających w atmosferze tlenu poziom glikogenu w wątrobie sięgał 3,0—3,80‰, przeciętnie wynosząc 3,46‰. U myszek zaś pozostających

w warunkach prawidłowych stężenie tego wielocukru wahało się w granicach od 3,41—3,95‰; średnio 3,76‰. Jak wynika z tych oznaczeń niedobór tlenu okazał się przyczyną spadku glikogenu w wątrobie, nadmiar natomiast utlenienia środowiska, w którym zwierzęta przebywały, nie wpłynął na jego wzrost w tym narządzie.

Tabela 4. Zawartość glikogenu w wątrobie myszy przy niedotlenieniu i w środowisku tlenu

Table 4. Liver glycogen in mice in oxygen deficit and in oxygen

Rodzaj doświadczenia 1)	Nr myszy 2)	Zawartość glikogenu w wątrobie		Zawartość średnia 4)
		w mg 3)	w ‰	
Przebywanie w środowisku niedotlenienia 5)	1	22,20	2,33	<u>1,84‰</u>
	2	16,50	2,38	
	3	23,50	2,10	
	4	myszka padła		
	5	21,60	2,26	
	6	4,20	0,20	
Przebywanie w środowisku tlenu 6)	1	32,40	3,60	<u>3,46‰</u>
	2	26,60	3,00	
	3	29,15	3,54	
	4	34,10	3,80	
	5	26,00	3,00	
Myszy kontrolne 7)				3,73‰

Experimental conditions 1); No. of mice 2); Liver glycogen in mg., in ‰ 3); Average content 4); In oxygen-deficient atmosphere 5); In oxygen atmosphere 6); Control animals 7).

3. *Wpływ przegrzania na zawartość glikogenu w wątrobie.* Działanie obniżonej temperatury otoczenia na zachowanie się glikogenezy jest dość dobrze poznane. Z tych względów w badaniach naszych zainteresowało nas głównie zagadnienie w jakim stopniu oddziałuje wysoka ciepłota na zapasy glikogenu w wątrobie oraz ich zachowanie w tych warunkach przy wyłączaniu układu nerwowego wegetatywnego.

Białe myszy w liczbie 24 umieszczano w cieplarni o temperaturze 42—43°C. W tych warunkach zwierzęta były przetrzymywane przez 3 godziny. Myszy początkowo spokojne, już po 30 minutach zaczęły wykazywać podniecenie, biegały niespokojnie po klatce, starając się z niej wydostać. W miarę dalszego upływu czasu zwierzęta pokrywały się potem, układały się na dnie klatki, dyszały, z kolei stawały się senne i bezwładne. Po 2 godzinach brano je z klatki i natychmiast oznaczano glikogen.

Część zwierząt, poddanych działaniu przegrzania, otrzymywała uprzednio przez okres 7 dni przetwórcę anticholinergiczną, sympatykolityczną, względnie oba środki równocześnie. Dla porównania wpływu podwyższonej temperatury z działaniem zimna 3 dalsze grupy zwierząt przechowywano w lodówce o temperaturze —2—3°C przez okres 2, 4 i 6 godzin.

Myszy, przebywające w środowisku, wykazującym podwyższoną ciepłotę wykazywały zawartość glikogenu w wątrobie, wahającą się w granicach od 1,18—2,06⁰/₀, przeciętnie 1,46⁰/₀; u zwierząt poddanych działaniu niskiej temperatury (—2—3°C), utrzymującej się przez okres 4—6 godzin, stwierdzało się stężenie glikogenu od 0,50—1,03⁰/₀, średnio 0,80⁰/₀; grupa natomiast kontrolnych myszy posiadała 1,91—2,01⁰/₀ glikogenu, przeciętnie 1,96⁰/₀. Jak widać z tego, największe obciążenie dla procesu glikogenezy stanowi czynnik zimna, mniejsze przegrzanie ustroju; zachowanie się poziomu glikogenu w wątrobie przy oddziaływaniu podwyższonej wzgl. obniżonej ciepłoty i zastosowaniu środków wpływających na układ wegetatywny omówione zostanie w oddzielnym rozdziale pracy.

4. *Wpływ wysiłku fizycznego i ruchu na odkładanie się glikogenu w wątrobie.*

Myszki, przeznaczone do doświadczenia, umieszczano w małym i zupełnie pustym pokoiku. Zwierzęta bardzo łatwo przyzwyczajały się do wysiłku fizycznego w postaci biegania. Po godzinnym szybkim poruszaniu się myszki były tak znacznie zmęczone, że nie udawało się ich skłonić do jakiegokolwiek ruchu. Na szczycie największego wyczerpania dokonywano oznaczania glikogenu.

Z oznaczeń naszych, zamieszczonych w tabeli 5, już na pierwszy rzut oka widać, iż u zwierząt narażonych na wysiłek dochodzi do wyraźnego spadku glikogenu w wątrobie. U myszy, poddanych temu obciążeniu już

Tabela 5. Wpływ przegrzania, wysiłku oraz hałasu na poziom glikogenu w wątrobie
Table 5. The effect of overheating, effort and noise on the liver glycogen level

Rodzaj doświadczenia 1)	Liczba myszy 2)	Zawartość glikogenu w wątrobie w % 3)	Zawartość średnia 4)
A. Myszy przechowywane w temp. — 42=43°C 5)	5	1,18; 1,26; 1,33; 2,06; 1,45;	<u>1,46%</u>
B. Myszy przechowywane w temp. — 2 = 3°C 6)	6	0,75; 1,26; 1,20; 1,05; 0,90; 0,50;	<u>0,89%</u>
C. Myszy obciążone wysiłkiem 7)	5	0,77; 0,71; 0,77; 0,75; 0,61;	<u>0,72%</u>
D. Myszy wystawione na działanie hałasu 8)	4	3,28; 3,49; 4,18; 2,15;	<u>3,30%</u>
Myszy kontrolne 9)	12	1,91; 2,01; 3,23; 3,12% dla każdej grupy, (A) (B) (C) (D)	

Experimental conditions 1); Number of mice 2); Liver glycogen in % 3); Average content 4); A. Mice in a temp. of —42=43° C 5); B. Mice in a temp. of —2—3° C 5); C. Working mice 6); D. Mice exposed to noise 7); Control animals 8).

po upływie godziny zapasy tego wielocukru w tym narządzie obniżyły się do wartości wahających się od 0,61—0,77⁰/₀, średnio do 0,72⁰/₀; w porów-

naniu do jego zawartości sięgających od 1,81—4,50%, przeciętnie 3,23% u zwierząt kontrolnych.

5. *Wpływ hałasu na poziom glikogenu w wątrobie.* Myszy poddane temu doświadczeniu znajdowały się w pojedynczych małych klatkach uniemożliwiających wykonywanie ruchów, w pobliżu których umieszczano mechaniczne brzęczyki, wydające ciągle i przerywane, przenikliwe i silnie wibrujące dźwięki. Hałasy pochodzące od brzęczyków wydawały się dla zwierząt bardzo drażniące i niepokojące je. Przemawiało za tym niespokojne ich zachowanie. Początkowo myszki usiłowały wydostać się z klatek, po czym po upływie około 15 min. uspokajały się nieco, sprawiając w dalszym ciągu wrażenie spłoszonych i załęczonych. Po upływie 2 godzin dokonywano u zwierząt oznaczania glikogenu w wątrobie.

W grupie zwierząt poddanych działaniu silnych bodźców słuchowych i wibracji, zawartość glikogenu w wątrobie wahała się w granicach od 2,15—4,18%, średnio 3,30%, u myszy kontrolnych, przebywających w zwykłych warunkach ilość glikogenu w wątrobie wynosiła w tym czasie przeciętnie 3,12%, wahając się od 2,21—4,06%. Jak wynika z tego nieskomplikowanego doświadczenia, krótkotrwałe hałasy i zakłócenia akustyczne zdają się nie wywierać wyraźnego wpływu na zawartość glikogenu w wątrobie, a tym samym nie odgrywają prawdopodobnie jako elementy środowiska zewnętrznego znaczniejszej roli w dobowym rytmie przemian zachodzących w tym narządzie.

III. Wpływ układu nerwowego współczulnego i przywspółczulnego na zawartość glikogenu w wątrobie

Niezależnie od ostatecznego wyniku toczącej się dyskusji ogólnie stwierdzić trzeba, że zależność przemiany materii wątroby od wpływów nerwowych nie jest jeszcze wystarczająco poznana. Odnosi się to zarówno do związku tego narządu z wyższymi ośrodkami nerwowymi jak i z układem nerwowym wegetatywnym. Wiemy wprawdzie, że drogi tego układu docierają bezpośrednio do komórek wątrobowych, nie wiadomo jednak w jakim stopniu mechanizmy te wpływają na przemiany zachodzące w wątrobie, w tej liczbie na odkładanie się glikogenu w wątrobie. W celu sprawdzenia tego interesującego i niewątpliwie ważnego zagadnienia przeprowadziliśmy następujące doświadczenia.

Do doświadczenia zużyto 48 myszy, podzielonych na 4 grupy. W pierwszej grupie zwierząt glikogen oznaczano po uprzednim, jak była już mowa, 7 dni trwającym stosowaniu przetworu porażającego zakończenia nerwu błędnego (atropiny w dawce 0,01 mg). W drugiej serii zwierząt stosowano przez okres tygodnia przed badaniem środek porażający zakończenia nerwów współczulnych (dihydroergotami w dawce 0,05 mg). Trzecia grupa myszy otrzymywała oba przetwory równocześnie. Ostatnia grupa myszy służyła jako grupa kontrolna. Zwierzęta te nie otrzymywały żadnych leków. Dla uniknięcia błędów doświadczenie w powyższym układzie powtórzono dwukrotnie. Z innymi poza tym grupami zwierząt, po 4—6 myszy w każdej, badano wpływ poszczególnych przetworów farmaceutycznych, a pośrednio udział układu

nerwowego współczulnego i przywspółczulnego na proces glikogenosyntezy w różnych warunkach doświadczalnych: w spokoju, w atmosferze niedotlenienia, przegrzania oraz w czasie wysiłku.

U zwierząt kontrolnych prawidłowy poziom glikogenu w wątrobie wahał się od 2,7—4,1‰, wynosząc średnio 3,20‰. U myszy otrzymujących przed i w czasie doświadczenia środek sympatykolityczny, zawartość glikogenu w tym narządzie wynosiła od 3,7 do 4,5‰, przeciętnie 4,2‰. W grupie zwierząt, które pozostawały pod wpływem przetworu anticholinergicznego, stężenie glikogenu w wątrobie sięgało od 2,0—3,7‰, obliczając średnio 2,5‰. W serii myszy, którym podano oba leki równocześnie, poziom glikogenu wahał się w granicach 3,6—5,1‰, przeciętnie 4,22‰ (tab. 6).

Tabela 6. Wpływ środków działających na zakończenie nerwowe sympatyczne i parasympatyczne na zawartość glikogenu w wątrobie myszy

Table 6. Effects on liver glycogen in mice of agents acting on sympathetic and parasymphathetic nerve terminals

Nr myszy 1)	Rodzaj środka farmakologicznego 2)	Zawartość glikogenu w wątrobie 3)		Zawartość średnia 4)
		w mg	w ‰	
1	wpływ dihydroergotaminy (0,05 mg) 5)	35,00	3,70	<u>4,20‰</u>
2		64,00	4,20	
3		52,00	4,50	
4		36,00	4,40	
1	wpływ atropiny (0,05 mg) 6)	25,00	2,10	<u>2,50‰</u>
2		37,00	3,70	
3		25,00	2,00	
4		26,00	2,20	
1	wpływ obu leków (dihydroergotaminy i atropiny) 7)	75,00	5,10	<u>4,22‰</u>
2		45,00	3,60	
3		60,00	4,30	
4		35,00	3,90	
Myszy kontrolne 8)				3,20‰

Mouse No. 1); Pharmacological agent 2); Liver glycogen in mg in ‰ 3); Average content 4); Effect of dihydroergotamine (0.05 mg) 5); Effect of atropine (0.05 mg) 6); Effect of both (dihydroergotamine and atropine) 7); Control animal 8).

Z osiągniętych w tym badaniu wyników widać, że stosowanie przetworów sympatykolitycznych (dihydroergotaminy) wywołuje u myszy nieznaczne zwiększenie zapasów glikogenu w wątrobie; lek o właściwościach anticholinergicznym prowadzi natomiast do ich spadku. Jednoczesne podanie zwierzęciu obu tych leków wywołało u nas nieznaczny wzrost poziomu glikogenu w wątrobie. Tłumaczymy to sobie przewagą w tym doświadczeniu działania dihydroergotaminy nad właściwościami atropiny.

Oddziaływanie obu leków farmakologicznych w stosunku do zjawiska glikogenezy znalazło potwierdzenie w dalszych badaniach nad wpływem niektórych czynników fizycznych na poziom glikogenu w wątrobie. I tak okazało się, iż atropina niezależnie od stopnia niedotlenienia i nadmiernego wysiłku prowadzi do jeszcze znacznieszego spadku tego wielocukru w wątrobie, przeciętnie do 0,025 względnie 0,52%, w stosunku do 1,12 wzgl. 3,23% glikogenu, stwierdzanego w tym samym czasie u myszy kontrolnych.

Zwierzęta pozostające w czasie doświadczenia pod wpływem przetworu sympatykolitycznego znosiły natomiast niedobór tlenu oraz częściowe przegrzanie lepiej niż zwierzęta kontrolne. W badaniu, w którym u myszy zastosowano oba przetwory farmakologiczne wyniki były niejednolite, nie pozwalające na wyciągnięcie wiążących wniosków.

W przeprowadzonych przez nas badaniach wpływ układu wegetatywnego nie okazał się jednak zbyt wyraźny i nie decydował sam w sobie o zachowaniu się zapasów glikogenu w wątrobie. Za takim wrażeniem przemawiają doświadczenia, w których posługiwano się energicznymi i odpowiednio silnymi bodźcami, zmniejszającymi zasoby glikogenu w wątrobie. I tak okazało się, że porażenie zakończeń nerwów współczulnych nie potrafi zapobiec znikaniu tego związku z wątroby wywołanemu przez tak silnie działające czynniki jak obniżona temperatura, światło i wysiłek fizyczny.

WNIOSKI

Proces glikoneogenezy i glikogenezy, odgrywający podstawową rolę w ogólnej przemianie materii zwłaszcza w przemianie węglowodanowej, był i jest nadal przedmiotem licznych dociekań. Wszystkie one zmierzają do jeszcze bliższego poznania spornych i niezgodnionych szczegółów fizjopatologii tego biochemicznego zjawiska. W badaniach naszych:

1. Potwierdziliśmy fakt niestalej zawartości glikogenu w wątrobie białych myszy w ciągu dnia i nocy. Okazuje się, że największe zapasy glikogenu w wątrobie przypadają na okres nocy, w naszych badaniach na godzinę 2⁰⁰; najniższy poziom glikogenu w wątrobie stwierdza się natomiast w godzinach południowych. Od tego czasu zawartość glikogenu w tym narządzie ponownie się zwiększa, by osiągnąć swój szczyt nagromadzenia się w okresie nocy. Ilość glikogenu w wątrobie w ciągu nocy przekraczała w naszych oznaczeniach przeszło 3-krotnie jego zawartość, przypadającą na godziny południowe.

Przestrzegając ściśle i przez odpowiednio długi okres czasu zespołu warunków doświadczalnych, naśladujących sztuczny dzień i noc, udaje się odwrócić dobowy cykl gromadzenia się glikogenu w wątrobie w godzinach nocnych oraz jego spadku w ciągu dnia.

2. Na prawidłowy przebieg przemiany glikogenu w wątrobie mają

wpływ wegetatywne bodźce nerwowe. Z badań, w czasie których zastosowano przetwory sympatykolityczne względnie środki o działaniu anticholinergicznym wynika, że impulsy współczulne zmniejszają zawartość glikogenu w wątrobie, w przeciwieństwie do bodźców przywspółczulnych, które zapasy glikogenu w wątrobie zwiększają. Wspomniany wpływ układu wegetatywnego widzieliśmy zarówno w warunkach spokoju, jak też przy obciążaniu zwierząt niektórymi czynnikami, przyspieszającymi chemiczny rozpad glikogenu w wątrobie.

3. Jednym z energicznych czynników fizycznych prowadzących do wyraźnego zmniejszenia się zapasów glikogenu w wątrobie okazało się w naszych badaniach nadmierne oświetlenie otoczenia, w którym przebywało zwierzę. Światło, zdaje się przeto, odgrywać dużą rolę w dobowym rytmie przemiany glikogenu w wątrobie, przyczyniając się do jego znikania w ciągu dnia i syntezy w godzinach nocnych.

4. Wątroba traci glikogen w czasie pracy i przy wysiłku. W tych warunkach zależnie od stopnia pracy zapasy tego wielocukru mogą się wielokrotnie zmniejszać w porównaniu do jego poziomu stwierdzanego w spokoju i ciszy. W badaniach własnych mieliśmy możliwość spostrzegać obniżenie się zapasów glikogenu w wątrobie pod wpływem wysiłku do 1/5 pierwotnych ich zawartości.

5. Czynności wątroby, w tej liczbie magazynowanie w niej glikogenu są bardzo wrażliwe na niedobór tlenu. Nadmiar tlenu nie wpływa natomiast na jego wzrost w wątrobie.

6. Zwierzęta lepiej znoszą wyższą ciepłotę niż oziębienie. W warunkach doświadczalnych spadek glikogenu w wątrobie przy przegrzaniu ustroju jest niższy, niż widzi się to, przy poddaniu zwierzęcia działaniu zimna.

7. Zakłócenia akustyczne, hałasy, wibracje, typowe dla większości środowisk zewnętrznych zdają się nie wywierać uchwytnego wpływu na zawartość glikogenu w wątrobie.

Liczba czynników zewnętrznych i wewnątrzustrojowych mogących wpłynąć na ostateczny wynik oznaczania poziomu glikogenu w wątrobie jest bardzo duża. Z tych względów biologiczne metody określania tego wielocukru w wątrobie wymagają szczególnej skrupulatności badania i zachowania jak najbardziej stałych warunków doświadczalnych z uwzględnieniem wahań, zależnych od dobowego rytmu syntezy i rozpadu glikogenu w tym narządzie.

С. Кубицки, В Краśник

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ И ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПРОЦЕСС ГЛИКОГЕНЕЗА

Содержание

Работа содержит наблюдения над изменениями содержания гликогена в печени животных под влиянием ряда факторов т. наз. внешней среды (освещение, физи-

ческое напряжение. шум, перегревание, температура среды, гипоксия). Исследовались также суточные колебания содержания гликогена и его связь с вегетативной нервной системой.

Содержание гликогена в печени мышей определяли по методу Гудат, Крамера и Сомоди. Глюкоза получившаяся при гидролизе гликогена определяли иодометрически по методу Шаффера-Сомоди.

В результате проведенных наблюдений авторы подтвердили наличие суточной ритмики процесса гликогенеза и обнаружили, что наивысшее содержание гликогена в печени мышей наблюдается ночью, наименьшее в полдень. Строго соблюдая экспериментальные условия в течение достаточно длительного периода можно изменить этот суточный цикл кумуляции и разложения гликогена в печени.

Вегетативные нервные импульсы влияют на содержание гликогена в печени: симпатические импульсы уменьшают его содержание, а парасимпатические увеличивают.

К физическим факторам приводящим к падению содержания гликогена в печени принадлежат м. др. свет, перегревание окружающей среды, кислородное голодание и физическое напряжение. Процесс гликогенеза менее чувствительный по отношению к повышению температуры чем к ее понижению. Акустические колебания и вибрации, повидимому не влияют заметно на обмен гликогена в печени.

S. Kubicki, W. Kraśnik

THE EFFECT OF SOME BIOLOGICAL AND PHYSICAL FACTORS ON LIVER-GLYCOGEN LEVEL IN WHITE MICE

Summary

The investigations concerned the effects exerted on liverglycogen level by a number of such factors as make up the so called external environment (light, effort, noise, overheating, ambient temperature, and oxygen deficit). Furthermore, the authors studied the diurnal behaviour of the glycogen level and the effects thereon of the autonomic nervous system.

Liver glycogen of mice was determined after the method described by Good, Kramer and Somogyi. The glucose obtained on glycogen hydrolysis was determined iodometrically after the Schaffer-Somogyi method.

The investigations confirmed the existence of a diurnal rhythm in glycogenesis, showing a nocturnal peak and midday low in liver glycogen reserves. Strict and continued maintenance of experimental conditions succeeded in reversing the diurnal cycle of liver glycogen accumulation and breakdown.

Glycogen metabolism in the liver is affected by neurovegetative stimuli in the sense that sympathetic impulses diminish and parasympathetic ones increase the level of that polysaccharide in the liver.

Physical factors which reduce the level of glycogen in the liver comprise among others light, overheating, oxygen deficit, and physical exertion. Heat is less apt to affect glycogenesis than cold. Noise and vibrations seem to have no perceptible effect on glycogen metabolism in the liver.

PIŚMIENICTWO

1. Abelin J., Jaffe J.: *Biochem. Ztsch.* 1920, 120, 58.
2. Beringer A.: *Dtsch. Med. Wschr.* 1950, 35, 1715.
3. Biget P., Gospa P.: *J. Physiol.* 1951, 43, 646.
4. Bomskow Ch., Kaulla K. N.: *Ztschr. Exp. Med.* 1959, 110, 603.
5. Bomskow Ch.: *Methodik der Hormonenforschung.* Leipzig 1933.
6. Drews R.: *Badania kliniczne i doświadczalne nad glikoneogenezą w stanach pooperacyjnych.* Poznań 1949.
7. Erbslöh E., Bierbrauer A., Osswald H.: *Ztschr. Exp. Med.* 1954, 2, 123.
8. Erbslöh E., Rös el W.: *Ztschr. Ges. Exp. Med.* 1954, 2, 123.
9. Eger W., Klarner C.: *Virch. Arch.* 1948, 315, 135.
10. Ekman C. A.: *Anat. Rec.* 1949, 104, 189.
11. Evans G.: *Amer. J. Physiol.* 1934, 110, 273.
12. Felnarska J.: *Pol. Gaz. Lek.* 1937, 11, 199.
13. Forsgren E.: *Acta Med. Scand.* 1953. Suppl. 278, 89.
14. Good C., Kramer M., Somogyi M.: *J. Biol. Chem.* 1933, 100, 695.
15. Guzek J., Żygalska H., Machowa W., Szafran L., Rembiesa R., Giędosz B.: *Pol. Tyg. Lek.* 1955, 38, 1833.
16. Higgins G., Anderson R.: *Arch. Path.* 1931, 12, 186.
17. Holmgren H., Ekman C.: *Acta Med. Scand.* 1955. Suppl. 278, 46—50.
18. Koch R.: *Intern. Ztschr. Vitaminforschung* 1950, 22, 136.
19. Kraśnik W.: *Wpływ snu farmakologicznego na poziom glikogenu w wątrobie i mięśniach szkieletowych u białych myszy. Badania z zakresu fitopatologii snu.* Poznań, 1959.
20. Kubicki S.: *Badania nad zmianami w wątrobie w doświadczalnej nadtarczyczności zwierząt.* P. A. M. W. 1952, 4a, 810.
21. Mikulaszek E.: *Przyczynek do serologii glicenu.* *Med. Dośw. i Społ.* 1948, 5, 101.
22. Mochnacka I.: *Synteza glikogenu w mięśniach szkieletowych.* Wrocław 1953.
23. Olmsted J. M.: *J. Amer. Dietetic* 1954, 302, 6, 545.
24. Pettren T., Selberger P.: *Acta Med. Scand.* 1953. Suppl. 278.
25. Petrides P., Schaffer E.: *Schw. Med. Wschr.* 1958, 80, 844.
26. Reynolds O. P.: *Amer. J. Physiol.* 1947, 150, 65.
27. Rożyńska D., Zagórska J.: *Acta Physiol. Polon.* 1954, 5, 625.
28. Schaffer P. A., Somogyi M.: *J. Biol. Chem.* 1933, 100, 695.
29. Sobota S.: *Badania doświadczalne nad rolą nadnerczy w glikoneogenezie u myszy poddanych działaniu obniżonej ciepłoty.* Poznań 1952.
30. Stolzman Z., Bławacka M., Both Z.: *Acta Physiol. Polon.* 1954, 5, 622.
31. Szabadasz A.: *Problemy gistochemicznego isledowania glikogena normalnoj nerwnoj sistemy.* Moskwa 1949, 2.
32. Stahle J.: *Acta Endocrin.* 1949, 2, 128.
33. Supniewski J.: *Farmakologia,* Warszawa 1956.
34. Thomas G., Morione M. D., Mamelok H. L.: *Amer. J. Path.* 1952, 3, 496.

Otrzymano: 28. 10. 1959.