

СТАНОВЛЕННЯ ГЛІКОГЕНОЛІТИЧНИХ МЕХАНІЗМІВ ТА ЇХ ЗВ'ЯЗОК З РОЗВИТКОМ ХРОМАФІННОЇ СИСТЕМИ У ЗРІЛО- І НЕЗРІЛОНАРОДЖУВАНИХ ТВАРИН

Л. Я. Данилова, Н. М. Коврижко

*Кафедра патологічної фізіології і кафедра патологічної анатомії
Київського медичного інституту ім. акад. О. О. Богомольця*

В наших раніше опублікованих дослідженнях [1, 2] було встановлено, що однією з особливостей вуглеводного обміну незрілונароджуваних тварин (щуренята, кролики, щенята, котенята) є стабільність вмісту глікогену і неможливість його використання як енергетичного матеріалу. Здатність розщеплювати глікоген у котенят з'являється лише після прозрівання. В зв'язку з цими даними і виникло питання про механізм становлення глікогенолітичних реакцій.

Оскільки у дорослих тварин глікогеноліз при охолодженні пов'язаний з гіперадреналемією, то, природно, виникає питання про стан хромафінної системи у новонароджених. І хоч за допомогою різних методів вдається виявити адреналін у надниркових залозах не тільки новонароджених, а й плодів [4, 8], досі залишається неясним питання про здатність хромафінної тканини збільшувати синтез і секрецію катехоламінів у разі виникнення підвищеної потреби в них.

Що ж до впливу адреналіну на вуглеводний обмін новонароджених, то, очевидно, він менш виражений, ніж у дорослих. Так, за літературними даними [3, 7], введення адреналіну новонародженим кроликам і щенятам викликає менше підвищення рівня цукру в крові, ніж у дорослих.

В цій роботі з метою вивчення питання про становлення глікогенолітичних механізмів проводилось порівняльне дослідження здатності до глікогенолізу при охолодженні і розвитку хромафінної системи у зріло- і незрілונароджуваних тварин.

Методика досліджень

Досліди були поставлені на 68 незрілונароджуваних щуренятах і 30 кроликах, а також на 30 зрілונароджуваних морських свинках. Крім того, були досліджені 60 котенят і 19 щенят, які за ступенем зрілості до моменту народження займають проміжне положення між зріло- і незрілונароджуваними. Для порівняння проводили експерименти на 37 дорослих щурах, 8 кроликах, 10 кішках і 8 морських свинках.

Частина тварин служила контролем і була досліджена в умовах нормотермії, решта була піддана охолодженню в рефрижераторі без застосування наркозу. Щоб мати уявлення про динаміку змін, у деяких тварин дослідження проводили на початку охолодження, коли температура знижувалась лише на 3–4°, а у інших — при розвитку глибокої гіпотермії, коли температура тіла становила 17°С.

Наприкінці дослідів у частини тварин визначали рівень цукру в крові за методом Хагедорна-Ієнсена та вміст глікогену в печінці і м'язах за Пфлюгером, а також активність фосфорилази в печінці за методом Сутерланда [9]. Морфологічне дослідження мозкової речовини надниркових залоз проводили за методами Хілларпа і Хекфелта [5, 6] (хромафінна та йодатна реакція) і Шморля — на катехоламіні.

Ступінь вираженості реакції оцінювали за інтенсивністю забарвлення секреторних гранул і позначали плюсами від одного до чотирьох.

Результати досліджень обробляли за методом варіаційної статистики із зазначенням імовірної середньої похибки ($\pm m$) і ступеня імовірності різниці (p).

Результати досліджень

Насамперед будуть наведені дані про динаміку змін рівня цукру в крові і вмісту глікогену в печінці при охолодженні щуренят віком 4, 7, 13, 18 і 30 днів, дорослих щурів і новонароджених морських свинок. З табл. 1 випливає, що охолодження різного ступеня у щуренят віком чотири і сім днів не впливає ні на рівень цукру в крові, ані на вміст глікогену в печінці. Інша картина спостерігається з 13-денного віку, коли зниження температури тіла викликає глікогеноліз. У 30-денних щуренят вміст глікогену в печінці починає зменшуватись уже на початку охолодження при зниженні температури тіла на 3—4°. У дорослих щурів охолодження викликає двофазну зміну рівня цукру в крові (спочатку відзначається його підвищення, а в міру поглиблення охолодження — зниження) та значне зменшення (у вісім разів) кількості глікогену в печінці.

Таблиця 1

Вплив охолодження на рівень цукру в крові і вміст глікогену в печінці у щурів різного віку та новонароджених морських свинок

Вік, дні	Статистичні показники	Контроль		Охолодження (зниження температури тіла на 3—4°)		Охолодження (температура тіла 17°C)	
		Цукор крові, мг %	Глікоген печінки, г %	Цукор крові, мг %	Глікоген печінки, г %	Цукор крові, мг %	Глікоген печінки, г %
4	<i>M</i>	100	1,79			99	2,50
	$\pm m$	± 10	$\pm 0,45$			$\pm 0,5$	$\pm 0,49$
	<i>p</i>					$>0,1$	$>0,2$
7	<i>M</i>	95	1,40	89	1,36	98	2,13
	$\pm m$	± 15	$\pm 0,06$	± 13	$\pm 0,12$	± 6	$\pm 0,36$
	<i>p</i>			$>0,5$	$>0,5$	$>0,5$	$=0,05$
13	<i>M</i>	106	2,52			125	1,10
	$\pm m$	± 4	$\pm 0,3$			± 5	$\pm 0,19$
	<i>p</i>					$<0,05$	$<0,05$
18	<i>M</i>	106	5,75			126	3,09
	$\pm m$	± 3	$\pm 0,74$			± 10	$\pm 0,73$
	<i>p</i>					$=0,05$	$<0,02$
30	<i>M</i>	81	2,93	87	1,78	116	0,68
	$\pm m$	± 14	$\pm 0,55$	± 18	$\pm 0,4$	± 17	$\pm 0,09$
	<i>p</i>			$>0,5$	$>0,1$	$>0,2$	$<0,001$
Дорослі щури	<i>M</i>	137	1,62	172	0,42	81	0,20
	$\pm m$	± 8	$\pm 0,11$	± 2	$\pm 0,08$	± 5	$\pm 0,04$
	<i>p</i>			$<0,01$	$<0,01$	$<0,001$	$<0,05$
Морські свинки (новонароджені)	<i>M</i>	107	3,32			199	1,58
	$\pm m$	± 12	$\pm 0,57$			± 25	$\pm 0,27$
	<i>p</i>					$<0,01$	$<0,02$

Що ж до зрілонароджуваних морських свинок, то у них, як і у дорослих, охолодження супроводжується глікогенолізом.

Отже, проведені експерименти показали, що становлення глікогенолітичних механізмів у щуренят завершується на 13-й день життя, тобто в період прозрівання, а у морських свинок — до моменту народження.

В наступних дослідах, ураховуючи роль адреналіну в мобілізації

глікогену у дорослих тварин, ми вивчали здатність хромафінної тканини зріло- і незрілонороджуваних тварин до посилення гормонотворення та гормоновиведення при охолодженні. Було встановлено, що при охолодженні семиденних щуренят у мозковій речовині надниркових залоз відбувається посилення хромафінної реакції з трьох (+++) до чотирьох (++++) плюсів, що, очевидно, є результатом збільшеного утворення адреналіну. Проте, в зв'язку з функціональною недо-

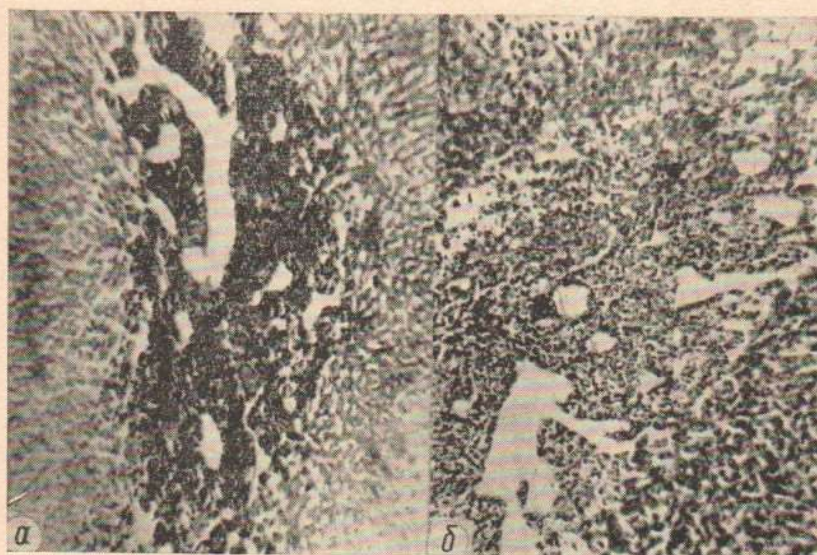


Рис. 1. Мозкова речовина надниркової залози дорослого кролика:
а — контроль; б — охолодження до 30° С — ослаблення хромафінної реакції.
Покрашування за Хілларпом—Хекфельтом з дофарбуванням еозин-гематоксином.
Збільш. Гамаль 2; об. — 8.

сконалістю хромафінної тканини виведення гормона в кров не підвищується. Йодатної реакції клітини не дають.

У 30-денних щуренят, з одного боку, активується утворення адреналіну в умовах нормотерапії (реакція ++++), а з другого — з'являється здатність посилювати виділення гормона в кров. На це вказує ослаблення хромафінної реакції з ++++ до +++ при зниженні температури тіла на 3—4°. Одночасно з'являються ознаки глікогенолізу — зниження вмісту глікогену в печінці. Однак, при більш глибокому охолодженні ця здатність хромафінної тканини пригнічується, і адреналін починає нагромаджуватись у клітинах. Реакція повертається до ++++.

Аналогічні зміни спостерігаються і у дорослих щурів з тією лише різницею, що у них гормонотворна функція зберігається і при більш глибокому охолодженні, ніж при 33—34°, оскільки реакція +++ спостерігається і при 17° (в умовах нормотермії хромафінна реакція становить ++++).

Що ж до йодатної реакції, то при нормотермії вона оцінюється в ++ або +++ і не змінюється при охолодженні.

У новонароджених кроликів мозкова речовина надниркових залоз невелика за площею і нерізно відмежована від кори, серед хромафінних елементів розташована значна кількість коркових клітин. Хромафінна реакція становить +++ або ++++. Йодатреактивних елементів у наднирковій залозі нема. Охолодження кроликів викликає

посилення хромафінної реакції, причому це відбувається уже при зниженні температури на $3-4^{\circ}$, тимчасом як у щуренят воно спостерігається лише при глибокій гіпотермії. У дорослих кроликів хромафінна тканина надниркових залоз більша за об'ємом і різкіше відмежована від коркового шару. Медулярні клітини більші за розміром, менш витягнуті. Хромафінна реакція однорідна і становить $+++$. В окремих клітинах можна бачити зерна секрету та поодинокі прозорі



Рис. 2. Мозкова речовина надниркової залози новонародженого щеняти:
а — контроль; б — охолодження до 26°C — посилення хромафінної реакції.
Покрашування за Хілларіом—Хекфельтом з дофарбуванням еозин-гематоксиліном.
Збільшення таке саме, як на рис. 1.

вакуолі. Йодатна реакція найчастіше негативна (—) або виявляється непостійно та характеризується незначним нагромадженням блідозабарвленого продукту ($\pm$). При охолодженні хромафінна реакція знижується до $++$, що можна розглядати як результат посиленого виведення адреналіну (рис. 1).

При вивченні мозкової речовини надниркових залоз новонароджених щенят виявлено два типи клітин — хромафінні та йодатні. Хромафінні розташовані рівномірно, забарвлені хроматом калію в жовтий колір, окремі з них містять дрібні гранули, розсіяні на фоні гомогенної цитоплазми. Реакція становить $+++$ або $++++$. Йодатні забарвлені в коричневий колір ($+++$), чергуються з незабарвленими елементами. На початку охолодження інтенсивність реакції наростає до $++++$ і зберігається на цьому рівні при дальшому зниженні температури до 17° (рис. 2).

Аналогічна картина спостерігається і у сліпих котенят. У прозорілих же — об'єм хромафінних елементів і інтенсивність реакції збільшуються. Охолодження цих котенят ослаблює хромафінну реакцію, що можна розглядати як результат виведення гормону. Ще у виразнішій формі ці зміни спостерігаються у дорослих кішок.

У новонароджених морських свинок, так само як і у дорослих, мозкова речовина надниркових залоз не має зовсім або містить дуже мало норадреналінових клітин, що реагують з йодистим калієм. В цьому відношенні вони схожі з кроликами. Хромафінна тканина у ново-

народжених свинок за ступенем зрілості аналогічна з цією тканиною у дорослих. Хромафінна реакція становить + + +. З віком тільки дещо збільшуються окремі клітини і мозкова речовина в цілому (рис. 3).

Що ж до реакції на холод, то спрямованість змін інтенсивності хромафінної реакції у дорослих і новонароджених однакова, а саме, на початку охолодження вона трохи посилюється, вказуючи на посилення гормонотворення, а в дальшому, при більш глибокому охолоджен-



Рис. 3. Мозкова речовина надниркової залози морської свинки:

а — новонароджена, б — доросла. Однотипність будови та ступеня хромафінної реакції. Пофарбування за Хілларпом—Хекфельтом з дофарбуванням еозин-гематоксином. Збільш. Гамаль 2, об. 10.

ні — ослаблюється, причому у дорослих свинок в цитоплазмі хромафінних клітин з'являється велика кількість прозорих вакуолей, що можна розглядати як результат посиленого виділення адреналіну в кров. У новонароджених такі вакуолі трапляються рідше.

Зіставлення даних про здатність новонароджених до глікогенолізу і розвиток хромафінної тканини вказує на певну залежність між цими показниками. Так, у незрілонароджуваних неможливість мобілізації глікогену при охолодженні поєднується з недосконалістю мозкової речовини надниркових залоз, тимчасом як у зрілонароджуваних можливість глікогенолізу забезпечується цілком зрілою у морфологічному та функціональному відношенні хромафінною системою.

На підставі одержаних даних виникло уявлення про те, що однією з причин стабільності вмісту глікогену у незрілонароджуваних є низький рівень секреції адреналіну. І якщо це дійсно так, то введення адреналіну іззовні має викликати глікогеноліз. Однак досліди на щуренятах семиденного і 13-денного віку, яким вводили адреналін (50 мкг/100 г ваги), показали, що введення адреналіну семиденним щуренятам не супроводжується зменшенням кількості глікогену в печінці і м'язах (табл. 2), правда рівень цукру в крові підвищується. Що ж до 13-денних щуренят, то у них адреналін викликає всі ознаки глікогенолізу — підвищення рівня цукру в крові і зменшення вмісту глікогену в печінці і м'язах.

Таблиця 2
Вплив адреналіну на рівень цукру в крові і вміст глікогену в печінці і м'язах у щурят віком 7 і 13 днів

Характер досліджу	Статистичні показники	7-денні				13-денні			
		n	Цукор крові, мг %	Глікоген, %		n	Цукор крові, мг %	Глікоген, %	
				Печінка	М'язи			Печінка	М'язи
Контроль	M	9	111	1,88	0,49	16	106	2,52	0,47
	±m		±6	±0,23	±0,04		±4	±0,3	±0,04
Адреналін	M	8	168	1,58	0,52	13	123	0,52	0,20
	±m		±4	±0,07	±0,04		±5	±0,07	±0,04
	p		<0,001	>0,2	>0,5		<0,02	<0,001	<0,001

Таблиця 3
Вплив охолодження та адреналіну на активність фосфорилази в печінці семиденних щурят і дорослих щурів

Характер досліджу	Статистичні показники	Семиденні				Дорослі			
		n	Фосфорилаза, мг Р/г тканини			n	Фосфорилаза, мг Р/г тканини		
			a	t	a/t · 100		a	t	a/t · 100
Контроль	M	6	0,8	4,7	17	7	2,0	5,9	34
	±m		±0,2	±0,1	±5		±0,2	±0,4	±5
Охолодження	M	6	0,9	3,4	26	7	2,8	5,2	54
	±m		±0,1	±0,3	±3		±0,3	±0,5	±7
	p		>0,5	<0,01	>0,1		<0,05	>0,2	<0,05
Адреналін	M	6	1,8	4,4	41				
	±m		±0,3	±0,4	±8				
	p		<0,02	>0,2	<0,05				

Очевидно, недостатня секреція адреналіну не є єдиною причиною стабільності рівня глікогену у новонароджених. Можливо, що певну роль в цьому відіграють і особливості ферментативного складу печінки. Щоб уточнити це питання, у новонароджених і дорослих щурів вивчали вплив охолодження та адреналіну на активність печінкової фосфорилази. Одержані при цьому дані наведені в табл. 3, з якої видно, що у семиденних щурят активність фосфорилази в печінці нижча, ніж у дорослих щурів, причому охолодження не впливає на активність фосфорилази у щурят і водночас підвищує її у дорослих щурів в результаті переходу неактивної форми «в» в активну «а». Аналогічні зміни у семиденних щурят викликає введення адреналіну.

Отже, неможливість глікогенолізу у новонароджених залежить не тільки від недостатнього рівня секреції адреналіну, а й від низької активності фосфорилази в печінці.

Обговорення результатів досліджень

Аналіз одержаних нами даних виявляє певну залежність між здатністю до глікогенолізу і розвитком хромафінної тканини у новонароджених. Це проявляється в тому, що у незрілонароджуваних щурят охолодження не викликає глікогенолізу. Разом з тим їх хромафінна тканина виявляє ознаки функціональної недосконалості, що особливо виразно помічається в умовах охолодження. З віком не тільки збільшується площа секреторних елементів, а й підвищується гормоно-

поез. У прозрілих щуренят і котенят під впливом охолодження інтенсивність хромафінної реакції ослаблюється, що розцінюється нами як результат виведення адреналіну в кров. З цього ж віку зниження температури тіла починає супроводжуватись мобілізацією глікогену з печінки і м'язів, тобто глікогенолізом.

Така залежність між здатністю до глікогенолізу і розвитком хромафінної тканини спостерігається і у зрілороджуваних морських свинок, у яких можливість мобілізувати глікоген при охолодженні поєднується з досить досконалою у морфологічному та функціональному відношенні хромафінною системою.

Проте становлення глікогенолітичних механізмів пов'язане не тільки з розвитком хромафінної системи. Досліди з введенням адреналіну, а також визначення активності печінкової фосфорилази свідчать про те, що певну роль у цьому процесі відіграє і підвищення активності ферментів, які беруть участь у глікогенолізі, зокрема фосфорилази.

Висновки

1. Охолодження чотири- і семиденних щуренят не супроводжується глікогенолізом. Глікогеноліз можливий тільки з 13-денного віку.
2. У незрілороджуваних тварин (щуренят, кроликів, котенят, щенят) мозкова речовина надниркових залоз характеризується недостатнім розвитком гормонотворювальної та гормонотвірної активності клітин, що виробляють адреналін. Після прозрівання функціональна здатність хромафінної тканини підвищується.
3. У семиденних щуренят активність печінкової фосфорилази нижча, ніж у дорослих, і не змінюється при охолодженні.
4. Становлення глікогенолітичних механізмів у незрілороджуваних завершується в період прозрівання.
5. Охолодження зрілороджуваних морських свинок супроводжується глікогенолізом.
6. Мозкова речовина надниркових залоз новонароджених морських свинок у морфологічному і функціональному відношенні подібна до цієї речовини у дорослих свинок.
7. Існує взаємозалежність між здатністю до глікогенолізу і розвитком хромафінної тканини.

Література

1. Данилова Л. Я.—В кн.: Теплообразование в организме, «Наукова думка», 1964.
2. Данилова Л. Я.—Патол. физиол. и эксп. терап., 1965, 6, 51.
3. Лауер Н. В.—Питання патофізіол. гіпоксичних станів у новонароджених, К., Вид-во АН УРСР, 1959.
4. Eranko O., Räisänen L.—Endocrinol., 1957, 60, 6, 753.
5. Hillarp N., Hökfelt B.—Acta Physiol. Scand., 1953, 30, 1, 55.
6. Hillarp N., Hökfelt B.—J. Histochem. a. Cytochem., 1955, 3, 1, 1.
7. Larson A., Enderstrom H.—Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med., 1962, 110, 1, 131.
8. Leikes Z.—Endocrinol., 1941, 23, 259.
9. Sutherland E.—Polysaccharide Phosphorilase Liver. Methods in Enzymology, N. Y., 1955, 1, 215.

Надійшла до редакції
15.III 1968 р.

СТАНОВЛЕНИЕ ГЛИКОГЕНОЛИТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ И ИХ СВЯЗЬ С РАЗВИТИЕМ ХРОМАФФИННОЙ СИСТЕМЫ У ЗРЕЛО- И НЕЗРЕЛО- РОЖДАЮЩИХСЯ ЖИВОТНЫХ

Л. Я. Данилова, Н. М. Ковришко

Кафедра патологической физиологии и кафедра патологической анатомии
Киевского медицинского института им. акад. А. А. Богомольца

Резюме

В опытах на незрелорождающихся крысах, кроликах, щенках и котят, а также на зрелорождающихся морских свинках установлено, что у незрелорождающихся охлаждение не сопровождается гликогенолизом. Наряду с этим у них отмечается недостаточное развитие гормонообразовательной и гормоновыделительной функций хромаффинной ткани надпочечников, а также низкая активность печеночной фосфорилазы. С возрастом функция хромаффинной ткани совершенствуется и уже у прозревших крысят и котят под влиянием холода усиливается секреция адреналина, что приводит к гликогенолизу и падению содержания гликогена в печени.

У зрелорождающихся морских свинок гликогенолиз возможен с первых дней жизни и это сочетается с наличием у них хромаффинной ткани, подобной в морфологическом и функциональном отношении хромаффинной ткани взрослых животных.

Таким образом, установлена определенная зависимость между развитием хромаффинной ткани, активностью печеночной фосфорилазы и способностью новорожденных к гликогенолизу при охлаждении. Эта зависимость определяет становление гликогенолитических механизмов у незрелорождающихся в период прозревания, а у зрелорождающихся к моменту рождения.

FORMATION OF GLYCOGENOLYTIC MECHANISMS AND THEIR CONNECTION WITH THE DEVELOPMENT OF CHROMAFFINE SYSTEM IN MATURE- AND IMMATURE-BORN ANIMALS

L. Ya. Danilova, N. M. Kovrizhko

Department of Pathological Physiology and Pathological Anatomy,
the A. A. Bogomoletz Medical Institute, Kiev

Summary

In experiments with immature-born rats, rabbits, puppies and kittens and also with mature-born guinea pigs it was established that in immature-born animals the cooling is not accompanied by glycogenolysis, but defective development of hormonogenic and hormonosecretory functions of the suprarenal chromaffine tissue and low activity of the liver phosphorylase were observed in them. With an age the function of the chromaffine tissue is improved.

In mature-born guinea pigs the glycogenolysis is possible from the first days of life.

A definite dependence is established between the development of the chromaffine tissue, activity of liver phosphorylase and ability of new-born animals to glycogenolysis during cooling. This dependence determines the formation of glucogenolytic mechanisms in immature-born animals in the period of getting a sight and in mature-born ones to the moment of birth.