

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XVI, 6

SECTIO D

1961

Z Katedry i Zakładu Histologii i Embriologii Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej
w Lublinie

Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

z Katedry i Zakładu Radiologii Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Lublinie

Kierownik: doc. dr med. Kazimierz Skorzyński

Irena KRÓLIKOWSKA-PRASAŁ
i Jerzy SZYDŁOWSKI

Wpływ napromieniania ośrodkowego układu nerwowego szczura białego promieniami X na poziom glikogenu w komórce wątrobowej*

**Влияние облучения лучами X центральной нервной системы
белой крысы на уровень гликогена в печеночных клетках**

**Influence of X-Rays Irradiation of the Central Nervous System
of Albino Rats on the Glycogen Content in the Liver Cells**

Zagadnienie wpływu promieni jonizujących na wątrobę zostało szeroko opracowane i wyniki napromieniania tego organizmu są w chwili obecnej poznane zarówno od strony zmian morfologicznych, jak też czynnościowych. W przeprowadzonych badaniach stosowano zwykle napromienianie całego ciała, lub okolicy wątroby, w różnych dawkach i różnymi rodzajami promieniowania jonizującego. Przeważnie były to promienie X, stosowane jako źródło zewnętrzne. W latach czterdziestych badania te uzupełniono przez zastosowanie napromieniania wewnętrznego, drogą podawania do wnętrza organizmu naturalnych lub sztucznych pierwiastków promieniotwórczych.

Wszystkie badania potwierdzają pogląd, że komórki wątroby są promieniooporne i dopiero przy dawkach wyższych od normalnie stosowanych terapeutycznych widoczne są zmiany czynnościowe i morfologiczne w komórce (Seedin 1904, Smyth i Whipple 1924, Pohle i Bunting 1932, Ely, Ross i Gay 1947, Rhoades 1948). Zmiany mogą wystąpić podczas: 1) miejscowego działania promieni X na wątrobę, 2) działania pośredniego poprzez toksyny i enzymy wyzwolone przez produkty rozpadu tkankowego w przypadku napromieniania większego bloku tkanki i 3) zadziałania poprzez ośrodkowy układ nerwowy na drodze przysadki i całego układu gruczołów dokrewnych, mózgowia oraz układu wegetatywnego.

Ponieważ trzeci mechanizm został opracowany najmniej, postanowiliśmy przyczynić się do wyjaśnienia jego roli, rozważając wpływ napromieniania ośrodkowego układu nerwowego na poziom glikogenu wątroby.

* Praca wykonana na zlecenie i subwencje PAN.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Materiał stanowiły szczury białe obojga płci, wagi około 180 g, w ilości 85 sztuk, które w czasie doświadczenia przebywały w jednakowych warunkach, karmione *ad libitum*. Zwierzętom napromieniano okolicę głowy w ten sposób, że promień centralny padał na środek potylicy, pozostała część ciała była osłonięta pokrywą ołowianą grubości 6 mm oraz blaszką aluminiową grubości 1 mm chroniącą przed promieniowaniem wtórnym. Do napromieniania użyto aparatu Siemens Roentgen Bombe, stosując napięcie 190 KV, natężenie 25 mA, filtr 0,5 mm Cu i 1 mm Al. Dawka w odległości 40 cm od ogniska, 25 r./min. WZP = 1,6 mm Cu.

Zwierzęta podzielono na cztery grupy — trzy doświadczalne i jedną kontrolną. Każda z grup doświadczalnych liczyła 25 szczurów. W pierwszej napromieniano zwierzęta jednorazową dawką 600 r, w drugiej jednorazową dawką 1200 r, w trzeciej dwukrotnie dawką 600 r w odstępie 24 godzin. Grupę czwartą (10 sztuk) stanowiły zwierzęta kontrolne. Zwierzęta doświadczalne zabijane były bezpośrednio po napromienianiu, po 2 godz., po 24 godz. i po 7 i 21 dniach.

Małe wycinki wątroby utrwalono w mieszaninie alkoholu absolutnego i formolu w stosunku 3 : 1, w temperaturze 0°C przez 24 godz. i zatopiono w bloczki parafinowe, a skrawki grubości 6 μ barwiono na glikogen wg metody Besta.

Większe płyty wątroby szybko przepłukiwano w wodzie destylowanej i hydrolizowano w 30% roztworze KOH na łaźni wodnej w temp. 100°C przez 1 min., następnie rozcieńczano hydrolizat tak, by stosunek V : N > 1000 (V — objętość dolanej wody, N — waga tkanki wątrobowej) i filtrowano przez sączek Goota. Pobrane próbki oznaczano kolorymetrycznie, stosując metodę antroniową. Badania przeprowadzano na fotometrze Pulfricha przy długości fali świetlnej 620 m μ , jako wzorca użyto glikozy. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej stosując test t.

BADANIA WŁASNE

A. Badania histochemiczne

Analiza mikroskopowa preparatów barwionych wg metody Besta pozwoliła na przesledzenie wielkości i ilości ziaren glikogenu, oraz umiejscowienia jego w komórce wątrobowej pod wpływem napromieniania ośrodkowego układu nerwowego promieniami X.

Preparaty kontrolne w większości komórek wykazywały intensywny, prawie jednolicie różowy odczyn na glikogen na obszarze całej cytoplazmy. W niektórych komórkach widoczne były średniej wielkości ziarna glikogenu rozproszone równomiernie po całej cytoplazmie, tylko w bardzo nielicznych komórkach ziarna te umiejscowione były na obwodzie komórki (ryc. 2). W preparatach doświadczalnych natomiast po dawce 600 r intensywność odczynu bezpośrednio po ekspozycji była bardzo mała w porównaniu z preparatami kontrolnymi. Słaby odczyn histochemiczny na glikogen uzyskano również po 2 godz. po napromienianiu (ryc. 3). Po 24 godz. ilość glikogenu była już większa, ale znacznie mniejsza niż w preparatach kontrolnych i występowała nie we wszystkich komórkach w jednakowym skupieniu. Ziarna glikogenu były tutaj

grube i nagromadzone bardziej na obwodzie komórki (ryc. 4). Po 7 dniach intensywność odczynu na glikogen była większa niż to można zauważyć na preparatach kontrolnych. Glikogen w niektórych komórkach wypełniał cały jej obszar, w pozostałych był rozproszony równomiernie w formie ziarenek średniej wielkości (ryc. 5). Po 21 dniach obserwowano także duże ilości ziaren glikogenu równomiernie rozmieszczonego we wszystkich komórkach (ryc. 6).

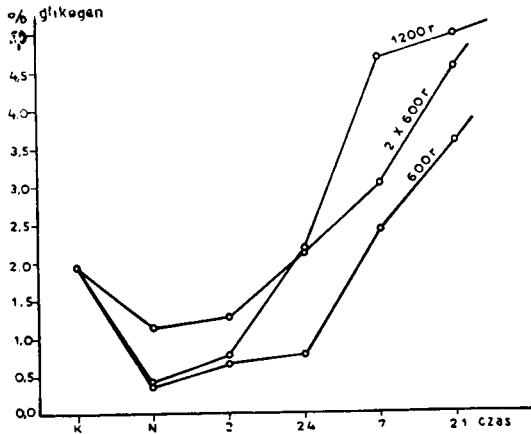
Przy dawce 1200 r zauważa się, że ilość glikogenu w komórce wątrobowej była mniejsza niż w preparatach kontrolnych i to zarówno bezpośrednio po napromienianiu, jak i w 2 godz. później (ryc. 7). Po 24 godz. intensywność odczynu wzrosła i była większa w porównaniu z kontrolą. Odczyn ten był dyfuzyjny, rozlany w całej cytoplazmie większości komórek, a w pozostałych obserwowano nieliczne ziarenka (ryc. 8). Po 7 i 21 dniach zauważono bardzo duże nagromadzenie glikogenu w komórce zarówno w postaci ziaren, jak i odczynu dyfuzyjnego (ryc. 9).

Przy dwukrotnie stosowanej dawce 600 r w odstępie 24 godz. intensywność odczynu bezpośrednio po ekspozycji była nieco mniejsza niż na obrazie mikroskopowym preparatów kontrolnych, jednakże odczyn ten nie we wszystkich komórkach był jednakowy i raczej intensywniejszy na obwodzie (ryc. 10), podobnie jak po 2 godz., a po 24 godz. można było zauważyć zwiększenie ilości glikogenu. Maksymalny wzrost odczynu można było obserwować po 7 i 21 dniach. Ziarna glikogenu były duże, obserwowano je we wszystkich komórkach, w niektórych gromadziły się na obwodzie (ryc. 11).

B. Badania kolorymetryczne

Oznaczanie glikogenu metodą antronową wykazało, że ilość jego w tkance wątrobowej pod wpływem stosowanych dawek promieniowania X ulega zmianom. Zauważono, że ilość glikogenu w wątrobie po napromienianiu głowy zwierzęcia dawką 600 r natychmiast po ekspozycji zmniejsza się (ryc. 1), utrzymując się poniżej wartości kontrolnej po 2 i 24 godz., a wzrost widoczny jest dopiero u zwierząt zabitych po 7 i 21 dniach. Nieco inaczej przedstawiają się zmiany glikogenu przy stosowanej dawce 1200 r. W tym przypadku bezpośrednio po napromienianiu obserwowano także gwałtowny spadek ilości glikogenu, po 2 godz. ilość jego była nieco mniejsza od wartości kontrolnej, zaś po 24 godz. widoczny był wyraźny wzrost ilości glikogenu, zbliżony do wartości kontrolnej i wzrastający u zwierząt zabitych po 7 i 21 dniach. Przy dwukrotnie stosowanej dawce 600 r podanej w odstępie 24-godzinnym obserwowano tylko minimalny spadek ilości glikogenu bezpośrednio po ekspozycji i po

2 godz., po 24 godz. zaś wartość ta równała się wartości kontrolnej, ale po 7 i 21 dniach ilość glikogenu wzrastała (ryc. 1).



Ryc. 1. Zależność procentowej zawartości glikogenu w wątrobie od czasu po napromienianiu zwierzęcia

Dependence of the percentage content of glycogen in liver on the time interval after irradiation of animal

C. Analiza statystyczna

Przeprowadzona analiza statystyczna pozwoliła określić wpływ czynnika eksperymentalnego na zmianę ilości glikogenu w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Do obliczeń zastosowano test t.

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{n_1 S_1^2 + n_2 S_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

gdzie \bar{X}_1 i \bar{X}_2 są ekstynkcjami dwóch grup porównywalnych ze sobą, tj. kontrolnej i doświadczalnej. S_1 i S_2 — wariacje dwóch porównywalnych grup, n_1 i n_2 odpowiadają ilości przypadków w grupie doświadczalnej (n_1) i kontrolnej (n_2).

Wyniki przedstawione są w tabeli 1. Wskazują one, że w pierwszej grupie zwierząt, tj. tej, w której napromieniano dawką 600 r, oraz drugiej, w której napromieniano dawką 1200 r obniżona ilość glikogenu zarówno bezpośrednio po napromienianiu, jak i w 2 godz. później, jest statystycznie znamienna, gdyż wartości t znacznie różnią się od wartości krytycznej ($t_{0,05} = 2,101$). Natomiast po 24 godz. wartość t wskazuje na istotną różnicę tylko przy dawce 600 r, natomiast przy dawce 1200 r różnica ta nie jest statystycznie znamienna, gdyż wyraża się wartością $t =$

Tab. 1. Ocena statystyczna wpływu promieniowania X na zawartość glikogenu w wątrobie szczura
 Statistical estimation of the influence of X-rays irradiation on glycogen content in the liver of rat

Grupa zwierząt	Czas po napromienianiu																			
	bezośrednio			2 godz.			24 godz.			7 dni			21 dni							
	\bar{E}_D	$\bar{E}_D - \bar{E}_K$	t	\bar{E}_D	$\bar{E}_D - \bar{E}_K$	t	\bar{E}_D	$\bar{E}_D - \bar{E}_K$	t	\bar{E}_D	$\bar{E}_D - \bar{E}_K$	t	\bar{E}_D	$\bar{E}_D - \bar{E}_K$	t					
	n			n			n			n			n							
Napromieniane dawką 600 r	5	0,39	-1,59	11,47	5	0,66	-1,32	10,88	5	0,79	-1,19	9,79	5	2,43	+0,45	2,80	5	3,51	+1,53	11,08
Napromieniane dawką 1200 r	5	0,38	-1,60	13,40	5	0,75	-1,23	8,63	5	2,20	+0,22	0,87	5	4,68	+2,70	9,07	5	4,98	+3,00	19,62
Napromieniane dwukrotnie daw- ką 600 r	5	1,15	-0,83	5,98	5	1,28	-0,70	5,61	5	2,13	+0,15	0,83	5	3,03	+1,05	6,31	5	4,56	+2,58	18,60

= 0,870. Po 7 i 21 dniach w obu grupach zwierząt doświadczalnych wartości t znacznie się różnią od wartości krytycznej i wskazują na istotny wzrost glikogenu. Przy dwukrotnie stosowanej dawce 600 r obniżenie ilości glikogenu w porównaniu z wartością kontrolną bezpośrednio po napromienianiu i w 2 godz. później jest też statystycznie znaczniejsze, lecz wartość t jest tu niższa niż w tym samym odstępie czasu przy dawkach 600 r i 1200 r. Po 24 godz. nie obserwuje się istotnych zmian, natomiast po 7 i 21 dniach wzrost ilości glikogenu jest statystycznie znamieny (tabela 1).

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Uchwytne zmiany morfologiczne dają się zauważyć w komórce wątrobowej dopiero po zastosowaniu większych dawek (2000—3000 r). Dla wyjaśnienia tego zjawiska podkreśla się dwie cechy tkanki wątrobowej: 1) jej ogromną zdolność regeneracyjną, 2) niski poziom ciśnienia cząsteczkowego tlenu w tkance (R h o o d e s 1948, S m y t h T. i A. W h i p o l e 1924, T o p o r o w a 1959, R o s s i E l y 1951).

Zauważone przez tych badaczy zmiany morfologiczne dotyczyły np. cząstek chromatyny, które po napromienianiu stawały się bardziej okrągłe i drobniejsze. Zamiast typowej nitkowatej struktury nukleoplazmy stwierdzono drobniutkie, blade barwiące się ziarnistości, zaś granice jąder były ciemniejsze, co mogło przemawiać za gromadzeniem się chromatyny wzdłuż błony jądrowej.

Przy napromienianiu płazów stwierdzono zbijanie i wakuolizację jąder w wątrobie, co zresztą występowało również i w innych organach. Większość autorów oceniło tego rodzaju zmiany jako wtórne i będące wynikiem toksemii spowodowanej uszkodzeniem innych organów (przy „total irradiation”) oraz, że napromienianie powoduje poszerzenie naczyń krwionośnych w wątrobie królików i świńek morskich, a komórki wątroby zmniejszają swe rozmiary. P o h l e i B u n t i n g (1932) zauważyli natomiast powiększenie się komórek po napromienianiu promieniami X (20). Inni znowu badacze jak B l o o m, autor „Histopathology of Irradiation”, przy napromienianiu zewnętrznym nie stwierdzał żadnych zmian, obserwując je natomiast u zwierząt, którym podawano pierwiastek promieniotwórczy do wewnątrz.

Rozpatrując zmiany czynnościowe i metaboliczne wątroby, uchwytne dzięki stosowaniu metod histochemicznych, zauważono, że tkanka wątrobowa w wyniku napromieniania całego ciała lub też okolicy wątroby wykazuje między innymi: 1) pojawienie się w wątrobie sudanofilnych ziarenek prawdopodobnie w wyniku uwolnienia się histoamino-pochodnych produktów rozpadu tkankowego (E l l i n g e r 1945), 2) zmniejsze-

nie się cholesterolu, oraz zwiększenie się glikogenu wątrobowego w ciągu pierwszych dwóch dni po całkowitym napromienianiu, co można tłumaczyć wzmożoną czynnością kwasową nadnerczy (North i Nims 1949). Poza tym stwierdza się częściowe zahamowanie procesów oksydacyjnych, normalnie katalizowanych przez enzymy sulfhydrylowe (Barron 1946, Du Bois 1950, 1951). Po dawkach letalnych aktywność katalazy wątroby jest zmniejszona, natomiast zasadowej fosfatazy pozostaje bez zmian (Feinstein 1950, Du Bois 1950). Zahamowanie procesów oksydacyjnych, jak też i czynności fosfatazy jest prawdopodobnie odpowiedzialne za stwierdzane obniżenie poziomu rozpuszczalnej w kwasie frakcji fosforu organicznego i zmniejszonego metabolizmu fosfolipidów i fosforu kwasu dezoksyrybonukleinowego.

Oznaczenia poziomu glikogenu jako jedna z form badania wpływu napromieniania ośrodkowego układu nerwowego na komórkę wątrobową napotyka na dość znaczne trudności, spowodowane przede wszystkim znacznymi wahaniami poziomu glikogenu u osobników normalnych. Czapllicki (1956) powołuje się na cały szereg wypowiedzi różnych autorów, którzy obserwowali znaczne wahania sezonowe i dobowe, a także zmiany uzależnione od ilości i rodzaju pożywienia, temperatury, ciśnienia tlenu itd. Poza wyżej wymienionymi czynnikami zewnętrznymi wchodzi w grę regulacja nerwowa i hormonalna. Ta ostatnia odbywa się pod wpływem: 1) dwóch hormonów wysp Langerhansa insuliny i glukagonu, 2) adrenaliny, 3) 11-oksysteroidów z kory nadnerczy wpływających na glikogenolizę białkową i 4) czynnika lipotropowego wpływającego na glikoneogenezę tłuszczową w wątrobie. Poza tym zauważono, że z bliżej nieznanymi przyczynami mogą istnieć różnice w zawartości glikogenu w zrazikach tego samego płata, a także poziom glikogenu w samym zraziku może się różnić na skutek odbywającej się dośrodkowo glikogenolizy i glikoneogenezy.

Dotychczasowe badania nad poziomem glikogenu pod wpływem napromieniania były przeprowadzone zarówno przez badaczy zachodnich jak i szkołę radziecką. Levy i Ruth (1953) uważali, że zmniejszenie ilości glikogenu zależne było w prostym stosunku od wielkości dawki i może być nawet miarą uszkodzenia popromiennego. Według tych autorów glikogen w wątrobie po 110 000 r po 3,5 godz. uległ spadkowi z około 3% do 0,3% (16).

Ross i Ely (1951) przy dawkach wynoszących 500 r, więc tego samego rzędu co nasze — stwierdzili u głodzonych szczurów wzrost glikogenu po napromienianiu całego ciała (22): Laurani i Lartigue (1951) uważali, że napromienianie całego ciała dawką 500 r hamuje syntezę glikogenu wątrobowego. Naogół badacze stwierdzili, że reakcja

organizmów ciepłokrwistych była żywsza niż zimnokrwistych, co prawdopodobnie mogło być wynikiem wolniejszej przemiany (14).

Używając podobnie wielkich dawek jak w (16), Lehiv re i wsp. doszli na drodze histochemicznych i biochemicznych do obserwacji spadku glikogenu wątrobowego po 60 000 r, ale tylko o $\frac{1}{3}$ w 60 min. po napromienianiu, przy czym nawet przy tak wielkich dawkach pewne strefy zrazika zachowywały glikogen.

Droschman (1960), podał dokładne obrazy ultrastruktury glikogenu komórki wątrobowej. Stwierdził on identyczność strukturalną glikogenu izoizowanego z wątroby z glikogenem ultracienkich skrawków wątroby po utrwaleniu w wodorotlenku ołowiu. Autor ten doszedł do wniosku, że istnieje ścisła zależność pomiędzy procesem glikogenolitycznym w komórce wątrobowej a obrazem mikroskopowym ergastoplazmy i mitochondriów (6).

Ryjwos z (1937) naświetlając głowę psa dawką 2500 r wykazał utratę możliwości resyntezy kwasu mlekowego w glikogen w wątrobie. Błochin i Grajewskaja (3) opisali przy napromienianiu głowy psów wzmoczenie zapotrzebowania na cukier w mięśniach i mózgu. Grajewskaja i Kejlina podały, że po napromienianiu szczurów na całe ciało dawką 1000—2000 r nastąpiło szybkie obniżenie poziomu glikogenu w wątrobie. Koch i Baland er (14) uważali, że całkowite napromienianie myszy w dawce 350—400 r zmniejsza codziennie poziom glikogenu do 27% wartości kontrolnej.

Błochin, Luga nowa i Rotfeld (1956) naświetlając psy promieniami X na całe ciało doszli do wniosku, że o nasileniu zaburzeń decyduje niedomoga wątroby, która nie potrafi akumulować wprowadzonej glikozy i soli sodowej kwasu mlekowego. Autorzy ci wykonali testy wątrobowe, używając adrenaliny i insuliny. Okazało się, że w pierwszym przypadku krzywa cukrowa miała przebieg odwrócony o małym przeciągającym się wroście cukru i niskim współczynnikiem hiperglikemicznym. Natomiast przy podawaniu insuliny (działającej na heksokinazę wątrobową) stwierdzono prawidłowe wykorzystanie egzogenego i endogenego kwasu mlekowego, oraz należyte zużycie cukru przez mięśnie. We wnioskach autorzy podali, że we wszystkich fazach choroby popromiennej niezależnie od dawki mają miejsce zaburzenia zarówno w procesie glikogenolizy jak i funkcji magazynowania glikogenu przez wątrobę, oraz że w leczeniu choroby popromiennej podawanie insuliny razem z glikozą może być bardzo pomocne.

Toporowa w swej pracy (26) obserwowała u szczurów głodzonych wzrost ilości glikogenu wątrobowego, co tłumaczy zwiększeniem szybkości zarówno syntezy glikogenu, jak też jego mobilizacji z innych organów i tkanek, a także przemianą z aminokwasów, kwasów nuklei-

nowych i tłuszczów. Jednocześnie zauważyła, że obok wzmożenia syntezy u zwierząt, którym podawano dawkę letalną następuje zahamowanie rozpadu w pierwszych godzinach po napromienianiu.

M a n d a r t i wsp. (17), ochraniając okolicę wątroby, doszli do wniosku, że wątroba spełnia znaczną rolę obronną, podwyższając lub obniżając progową dawkę śmiertelną promieni X oraz prawdopodobnie dostarcza szpikowi ciał niezbędnych do jego prawidłowego działania.

G o r d i e j e w a (10) w swojej pracy spostrzegła również obniżenie glikogenu wątroby szczurów napromienianych. Natomiast wprowadzenie glikozy i glikozy z insuliną zapobiegało temu zmniejszeniu. K e j l i n a (12) natomiast po napromienianiu całego ciała zwierzęcia dawkami letalnymi 1000 i 1200 r doszła do wniosku, że rozpad glikogenu odbywa się drogą nie fosforolizy jak normalnie, ale przede wszystkim przez hydrolizę, na co wskazuje trzykrotne wzmożenie tego procesu.

Istnieje kilka teorii próbujących wyjaśnić mechanizm wpływu promieniowania na poziom glikogenu wątrobowego. Między innymi niektórzy autorzy tłumaczą to stresem, zaś inni zadziałaniem zespołu przysadka — trzustka — nadnercze. Ponieważ w badaniach naszych całe ciało za wyjątkiem łba było osłonięte, a blok napromienianej tkanki niewielki, wydaje się, że ta ostatnia teoria może odnosić się do naszego typu doświadczeń.

Dużo światła odnośnie teorii zadziałania mechanizmu przysadkowo-nadnerczowego rzuca praca N i m s a i S u t t o n a (1954). Według nich należy przyjąć, że w następstwie napromieniania następuje zmniejszenie przyjmowania pokarmu przez zwierzę i prawdopodobnie (wg T o p o r o w e j) zaburzenia w trawieniu, które doprowadzają do spadku glikogenu. Wskutek zadziałania mechanizmu kompensującego przysadka-nadnercze spadek jest mniejszy i w późniejszym okresie wartość glikogenu może przekroczyć poziom wyjściowy.

W naszych badaniach zmiany glikogenu dotyczyły jego ilości, zmiany charakteru ziaren oraz topograficznego rozmieszczenia w komórce. Zauważone zmiany przebiegały w funkcji czasu. Przeprowadzenie porównania między wynikami naszych badań a wynikami badań przeprowadzonych przez wyżej cytowanych autorów jest rzeczą trudną, jeżeli nie wręcz niemożliwą. Spowodowane to jest następującymi względami: 1) Wielkość dawki promieniowania X stosowanej przez nas jest dużo mniejsza w porównaniu z dawkami większości cytowanych prac, które niejednokrotnie podają inny rząd wielkości np. dziesiątków i setek tysięcy rentgenów (L e h i v r e, B e t z i J o l i o t t e). 2) Większość autorów napromieniała całe ciało zwierzęcia, przez co nie może być tu mowy tylko o wpływie napromieniania ośrodkowego układu nerwowego. 3) Zaprojektowanie naszego doświadczenia w czasie pozwoliło na ocenę

zmian bezpośrednich wczesnych i późnych (w rozumieniu cytofizjologicznym), a tym samym na przebadanie tych zmian w funkcji czasu. Biorąc pod uwagę fakt, że wielkość stosowanych przez nas dawek i osłona wątroby prawie całkowicie eliminowały wystąpienie zmian wstecznych i zwyrodnieniowych, wydaje się możliwe przyjęcie stanowiska, że zmiany mają charakter czynnościowy przy współdziałaniu układu przysadka-nadnercze-wątroba oraz elektrolitów krwi. Wyżej wzmiankowana metodyka, stwierdzając zmiany bardzo bezpośrednie, tym samym podważyła częściowo pogląd Pohla i Buntinga (1932) jakoby tego rodzaju zmiany były jedynie wtórnym efektem zmian w ukrwieniu i toksemii spowodowanej uszkodzeniem innych organów.

WNIOSKI

Na podstawie wyników przeprowadzonych obserwacji dochodzimy do następujących wniosków:

1. Tkanka wątrobowa, oporna na działanie miejscowe promieni jonizujących, wykazuje zmiany w metabolizmie i procesach enzymatycznych, które można wykazać metodami histochemicznymi i chemicznymi.

2. Obserwowany przez nas spadek glikogenu w pierwszych godzinach po napromienianiu ośrodkowego układu nerwowego powstaje prawdopodobnie w wyniku utraty łaknienia i zaburzeń trawiennych, należących do zespołu słabo zaznaczonego ogólnego odczynu popromiennego.

3. Obserwowane podniesienie się wartości krzywej jest wynikiem zadziałania układu kompensującego przysadka-nadnercze na bodźce a) głodowanie, b) napromienianie.

4. Widoczny, znaczny spadek na krzywej (ryc. 1.) po 600 i 1200 r, może być wynikiem ograniczenia przyjmowania pokarmów, natomiast mniejszy spadek i większy wzrost wartości krzywych w okresie późniejszym jest prawdopodobnie spowodowany wytworzeniem silnego bodźca kompensującego poziom glikogenu przy niewielkiej różnicy w nasileniu ogólnego odczynu popromiennego.

Wskazane by było przeprowadzenie dalszych badań nad rolą kompensującą układ przysadka-nadnercze przez porównanie wyników napromieniania a) samej wątroby, b) wątroby i ośrodkowego układu nerwowego. Być może w przypadku odpowiednio dużej roli tego układu poziom glikogenu pomimo pochłonięcia większej ilości promieni w b), może być bardziej skompensowany.

PIŚMIENNICTWO

1. Barron E. S. G.: Effect of X-Rays on Tissue Metabolism. USNEC Report AECD 1946.
2. Bloom W.: Histopathology of Irradiation. Ed Mc. Graw-Hill Co, New York 1948.
3. Błochin N. N., Grajewskaja B. M.: (wg 4).
4. Błochin N. N., Ługanowa I. S., Rotfeld L. S.: Uglewodnaja funkcija pieczeni pri razwiti łuczewoj boleźni. Med. Rad. 1, 40—46, 1956.
5. Czaplicki J.: Zmiany dobowe w zawartości glikogenu wątroby myszki białej. Folia Morph. 7, 199—205, 1956.
6. Droschman P.: Etude au microscope électronique de l'aspect morphologique du glicogène et de sa localisation dans la cellule hépatique. Arch. Inter. de Phys. et de Bioch. 68, 3—4, 1960 (31^e réunion, Société Belge de Biochimie).
7. Dubois K. P., Cochrane K. W., Doull J.: Inhibition of Citric Acid Synthesis in Vivo by X-Irradiation. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 76, 422—427, 1951.
8. Ellinger F.: Response of Liver to Irradiation. Radiology 44, 241—254, 1945.
9. Ely J. O., Ross M. H., Gay D. M.: Changes Produced in Testes Spleen Bone Marrow, Liver and Kidneys of Rats by Neutron Irradiation in Neutron Effects of Animals. E. Mc. Donald, ed. The Williams and Wilkins Co Baltimore, Chapt. 20.
10. Feinstein R. N., Butler C. L., Hendley D. D.: Effect of Whole Body X-Radiation and of Intraperi Toreal Hydrogen Peroxide on Mouse Liver Catalase. Science 111, 149—150, 1950.
11. Gordiejewa K. W.: Wlijanije insulina i glukozy na sodierzanie glikogena w pieczeni pri łuczewoj boleźni. Wopr. Med. Chimii 7, 408—411, 1960.
12. Grajewskaja B. M., Kejlina R. J.: Uspiechy sowr. biol. 50, 230—238, 1955 (wg 4).
13. Kejlina R. J.: Wlijanie obszczego obłuczzenija żywotnych rentgenowymi łuczami na procesy glikogenoliza. Biochimia 20, 420—424, 1955.
14. Koch N., Balander H.: (wg 4).
15. Laurant M., Lartigue O.: Influence d'une irradiation générale du cobaye par les rayons X sur l'utilisation du glucose par le foie. J. Physiol. 43, 593—603, 1951.
16. Lehivre P., Betz H., Joliotte J.: Modification chimique et histochemique du foie après irradiation totale à fortes doses de rayons X. Comp. Rend. Soc. de Biol. 149, 1077—1079, 1955.
17. Levy B., Ruth R.: Hepate Glicogen in acute radiation death. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 82, 223—225, 1953.
18. Mandart M., Lambert G., Maisin H., Maisin J.: Importance de la protection de la région hépatique chez les rats soumis à une dose mortelle de rayons X. C. Rend. Soc. Biol. 146, 1647—1649, 1952.
19. Nims L. F., Sutton E.: Adrenal Cholesterol, Liver Glicogen and Water Consumption of Fasting and X-Irradiated. Amer. J. Phys. 177, 51—54, 1954.
20. North N., Nims L. F.: Time Dose Study of Biochemical Responses of Rats to X-Radiation. Federat. Proc. 8, 119—120, 1949.
21. Pohle E. A., Bunting C. H.: Studies on the Effect of Roentgen Rays on the Liver. Histochemical Changes in Liver of Rats Following Exposure to Single Grades of Filtered Rcentgen Rays. Acta Radiol. 13, 117—124, 1932.

22. Rhoades R. P.: Structures Accessory to Gastro-Intestinal Tract (wg Bloom. Histopathology of Irradiation.) Graw-Hill Book Co, New York 1948).
23. Ross M. H., Ely J. O.: Radiation Effect on Liver Glycogen in Rat J. Cell. Comp. Phys. 37, 163—173, 1951.
24. Ryjwosz M.: (wg 4).
25. Seldin M.: Über die Wirkung der Roentgen und Radiumstrahlen auf innere Organe und den Gesamtorganismus der Tiere. Fort. Geb. Röntgenstrahl. 7, 322—339, 1904.
26. Smyth T., Whipole A.: Bile Salt Metabolism Protease und X-Ray Intoxication. J. Biol. Chem. 59, 637—646, 1924.
27. Toporowa G. P.: Sodierżanie glikogena w pieczeni w pierwszyje czasy pośle obłuczenija kryś. Med. radiol. 4, 89—90, 1959.
28. Ullmann T.: Über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf den Kohlenhydratstoffwechsel normaler Tieriesher Gewebe. Strahlentherapie 46, 706—712, 1933.

РЕЗЮМЕ

Целью настоящей работы было обнаружение изменений в содержании гликогена в печеночных клетках белых крыс. Материал состоял из 10 контрольных и 75 подопытных белых крыс, подвергнутых облучению области головы лучами X при дозах 600 г, 1200 г и два раза по 600 г с суточным промежутком времени. Животные забивались тотчас же, спустя 2 часа, 24 часа, спустя 7 дней и 21 день. Полученный материал был подвергнут исследованию при помощи гистохимической техники по методам Беста, а также фотометрической — антроновым методом. После статистической обработки полученных результатов авторы пришли к следующим заключениям:

1. Печеночная ткань, устойчивая к локальному действию ионизирующих излучений, обнаруживает изменения в метаболизме и ферментических процессах, что можно доказать гистохимическими и химическими методами.

2. Наблюдаемое авторами снижение уровня гликогена в первые часы после облучения центральной нервной системы является, по всей вероятности, результатом потери аппетита и пищеварительных расстройств, принадлежащих к комплексу слабо выраженной общей реакции, вызванной облучением.

3. Наблюдаемое увеличение величин на кривой является результатом воздействия компенсирующей системы (гипофиз — надпочечники) на стимулы а) голодание, б) облучение.

4. Заметное значительное уменьшение величин на кривой после облучения дозами 600 г и 1200 г, можно рассматривать как результат ограниченного питания, в то время как менее значительное уменьшение и более значительное увеличение величин кривых

в более позднее время может быть результатом возникновения сильного раздражителя, компенсирующего уровень гликогена при сравнительно небольшой разнице в интенсивности общей реакции после облучения.

Рис. 1. Зависимость процентного содержания гликогена в печени от промежутка времени, ушедшего от облучения животного

Рис. 2. Печеночная ткань животных, неподвергнутых облучению. Видна интенсивная реакция на гликоген в цитоплазме печеночных клеток. Окрашивание по методу Беста. Микроскоп Nf Цейсс, объектив 60, окуляр 12,5 К, микрофот. Ехаста Vагех IIа.

Рис. 3. Печеночная ткань животных, облучиваемых дозой 600 г, забитых спустя 2 часа после экспозиции. Слабая гистохимическая реакция на гликоген во всех клетках. Окрашивание по методу Беста. Микроскоп Nf, Цейсс, объектив 60, окуляр 12,5 К, микрофот Ехаста Vагех IIа.

Рис. 4. Печеночная ткань животных облучиваемых дозой 600 г, забитых спустя 24 часа после экспозиции. Накопление гликогена не во всех клетках равномерно гораздо большее нагромождение зерен гликогена на периферии клетки. Окрашивание по методу Беста. Микроскоп Nf, Цейсс, объектив 60, окуляр 12,5 К, микрофот Ехаста Vагех IIа.

Рис. 5. Печеночная ткань животных облучиваемых дозой 600 г, забитых спустя 24 часа после экспозиции. Интенсивность окраски и число зерен гликогена больше, а во многих клетках заполняет все их пространство. Окрашивание по методу Беста. Микроскоп Nf, Цейсс, объектив 60, окуляр 12,5 К, микрофот Ехаста Vагех IIа.

Рис. 6. Печеночная ткань животных облучаемых дозой 600 г, забитых спустя 21 день после экспозиции. Видны большие количества зерен гликогена равномерно расположенных во всех клетках. Окрашивание по методу Беста. Микроскоп Nf, Цейсс, объектив 60, окуляр 12,5 К, микрофот Ехаста Vагех IIа.

Рис. 7. Печеночная ткань животных облучаемых дозой 1200 г, забитых спустя 2 часа после экспозиции. Незначительное количество зерен гликогена в цитоплазме клеток. Окрашивание по методу Беста. Микроскоп Nf, Цейсс, объектив 60, окуляр 12,5 К, микрофот. Ехаста Vагех IIа.

Рис. 8. Печеночная ткань животных облучаемых дозой 1200 г, забитых спустя 24 часа после экспозиции. Гистохимическая реакция на гликоген интенсивная. Окрашивание по методу Беста. Микроскоп Nf, Цейсс, объектив 60, окуляр 12,5 К, микрофот Ехаста Vагех IIа.

Рис. 9. Печеночная ткань животных облучаемых дозой 1200 г, забитых спустя 7 дней после экспозиции. Крупное нагромождение зерен гликогена в клетке. Окрашивание по методу Беста. Микроскоп Nf, Цейсс объектив 60, окуляр 12,5 К, микрофот Ехаста Vагех IIа.

Рис. 10. Печеночная ткань животных облучаемых два раза дозой 600 г с 24-часовым промежутком времени, забитых непосредственно после экспозиции. Видны зерна гликогена, но не во всех клетках одинаковые их скопления. Окрашивание по методу Беста. Микроскоп Nf, Цейсс, объектив 60, окуляр 12,5 К, микрофот Ехаста Vагех IIа.

Рис. 11. Печеночная ткань животных облучаемых два раза дозой 600 г с 24-часовым промежутком времени, забитых спустя 7 дней после экспозиции. Отчетливая реакция на гликоген. Крупные зерна видны во всех клетках. Окрашивание по методу Беста. Микроскоп Nf, Цейсс, объектив 60, окуляр 12,5 К, микрофот Ехаста Vагех IIа.

SUMMARY

The purpose of the present investigations was to demonstrate changes in the glycogen content in the liver cells of albino rats. The material consisted of 75 experimental animals and 10 control rats. The former received on their heads doses of 600 r, 1200 r and twice 600 r at 24 hours' interval. The animals were killed immediately or after 2 hours, 24 hours, 7 days, and 21 days. The material thus obtained was studied by the histochemical method of Best and by the photometric anthrone method. The results, which were analysed statistically, led to the following conclusion.

1. The liver tissue, which is resistant to the local action of ionizing radiation, presents metabolic and enzymatic changes, which can be detected by histochemical and chemical methods.

2. A decrease of the glycogen content, which is observed during the first hours after irradiation of the central nervous system, is probably a result of the loss of appetite and of digestive disturbances, entering into the complex of a mild general irradiation reaction.

3. The rise of the curve values is the result of the action of the compensatory system: pituitary gland — adrenals, reacting to the stimuli: a. fasting, b. irradiation.

4. The considerable fall in the curve after 600 and 1200 r may be due to a limited uptake of food; the less pronounced fall and greater rise in the curve values in the later period can be ascribed to the formation of a strong stimulus compensating the glycogen level when the difference in the intensity of the general irradiation reaction is comparatively small.

Fig. 2. Liver tissue of non-irradiated animals. Intense reaction to glycogen in cytoplasm of liver cells. Stained according to Best. Microscope Nf, Zeiss, objective 60, ocular 12.5 K, microphot. Exacta Varex IIa.

Fig. 3. Liver tissue of animals which received 600 r, killed two hours after exposition. Weak histochemical reaction to glycogen in all cells. Stained according to Best. Microscope Nf, Zeiss, objective 60, ocular 12.5 K, microphot. Exacta Varex IIa.

Fig. 4. Liver tissue of animals which received 600 r, killed 24 hours after exposition. Uneven distribution of glycogen in cells. Greater accumulation of glycogen grains on the periphery of cell. Stained according to Best. Microscope Nf, Zeiss, objective 60, ocular 12.5 K, microphot. Exacta Varex IIa.

Fig. 5. Liver tissue of animals which received 600 r, killed 7 days after irradiation. Great intensity of staining and great number of glycogen grains, which fill the whole area of numerous cells. Stained according to Best. Microscope Nf, Zeiss, objective 60, ocular 12.5 K, microphot. Exacta Varex IIa.

Fig. 6. Liver tissue of animals which received 600 r, killed 21 days after exposition. Large number of glycogen grains distributed uniformly in all cells. Stained according to Best. Microscope Nf, Zeiss, objective 60, ocular 12.5 K, microphot. Exacta Varex IIa.

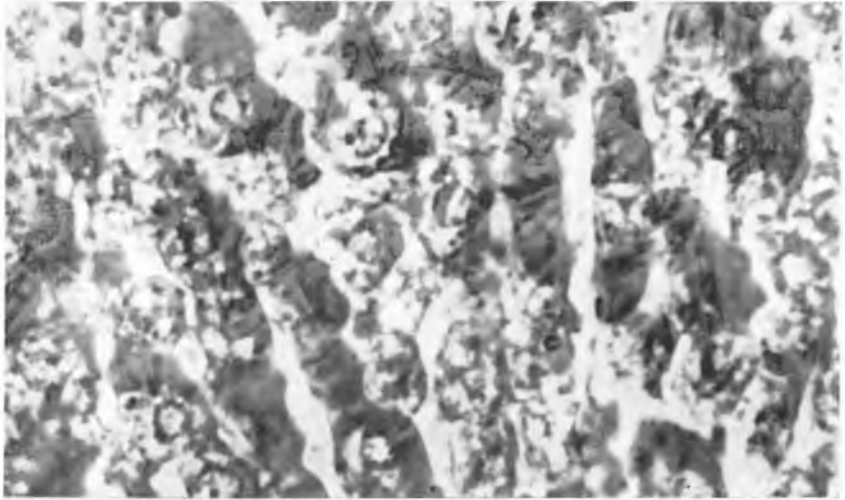
Fig. 7. Liver tissue of animals which received 1200 r, killed 2 hours after exposition. Small number of glycogen grains in cytoplasm of cells. Stained according to Best. Microscope Nf, Zeiss, objective 60, ocular 12.5 K, microphot. Exacta Varex IIa.

Fig. 8. Liver tissue of animals which received 1200 r, killed 24 hours after exposition. Intense histochemical reaction to glycogen. Stained according to Best. Microscope Nf, Zeiss, objective 60, ocular 12.5 K, microphot. Exacta Varex IIa.

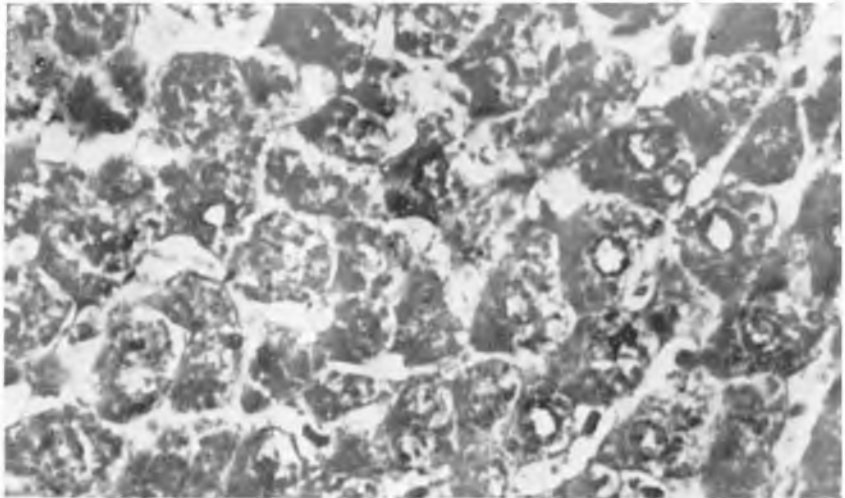
Fig. 9. Liver tissue of animals which received 1200 r, killed 7 days after exposition. Large accumulation of glycogen grains in cells. Stained according to Best. Microscope Nf, Zeiss, objective 60, ocular 12.5 K, microphot. Exacta Varex IIa.

Fig. 10. Liver tissue of animals which received twice 600 r, at 24 hours' interval, killed immediately after exposition. Glycogen grains are visible, but their accumulations are not identical in all cells. Stained according to Best. Microscope Nf, Zeiss, objective 60, ocular 12.5 K, microphot. Exacta Varex IIa.

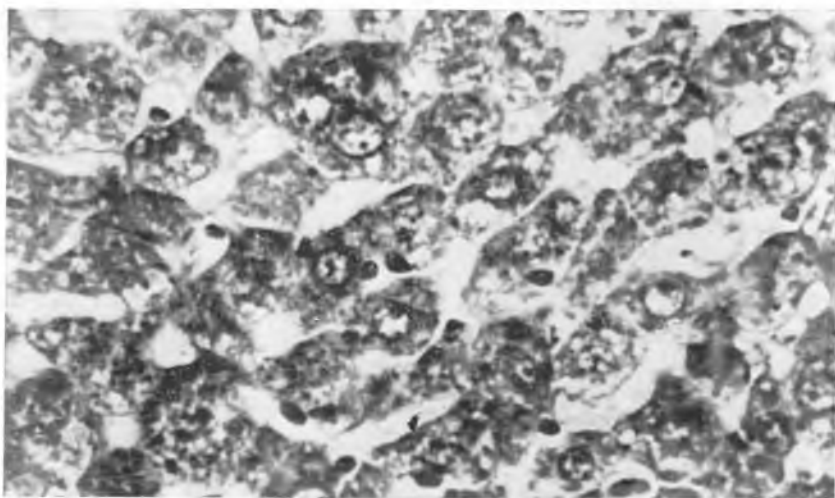
Fig. 11. Liver tissue of animals which received twice 600 r, at 24 hours' interval, killed 7 days after exposition. Distinct, intense reaction to glycogen. Grains large, present in all cells. Stained according to Best. Microscope Nf, Zeiss, objective 60, ocular 12.5 K, microphot. Exacta Varex IIa.



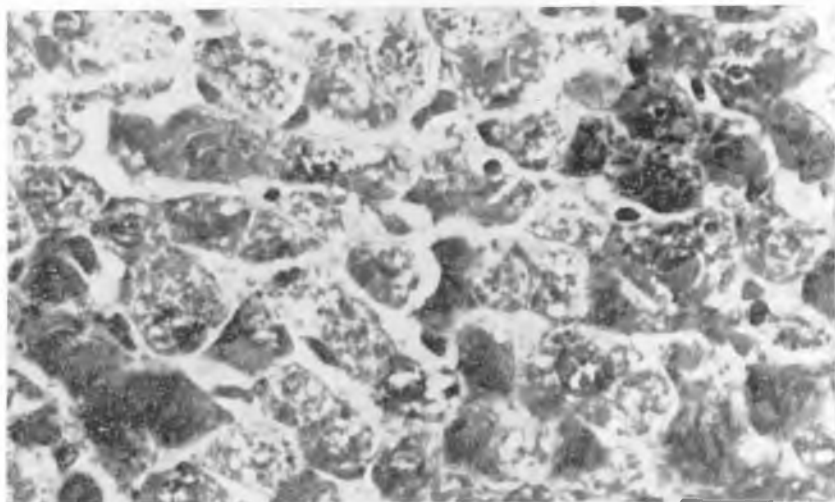
Ryc. 2. Tkanka wątrobowa zwierząt nie napromienianych. Widoczny intensywny odczyn na glikogen w cytoplazmie komórek wątrobowych. Barwienie met. Besta. Mikroskop Nf, Zeiss, obiektyw 60, okular 12,5 K, mikrofot. Exacta Varex II a



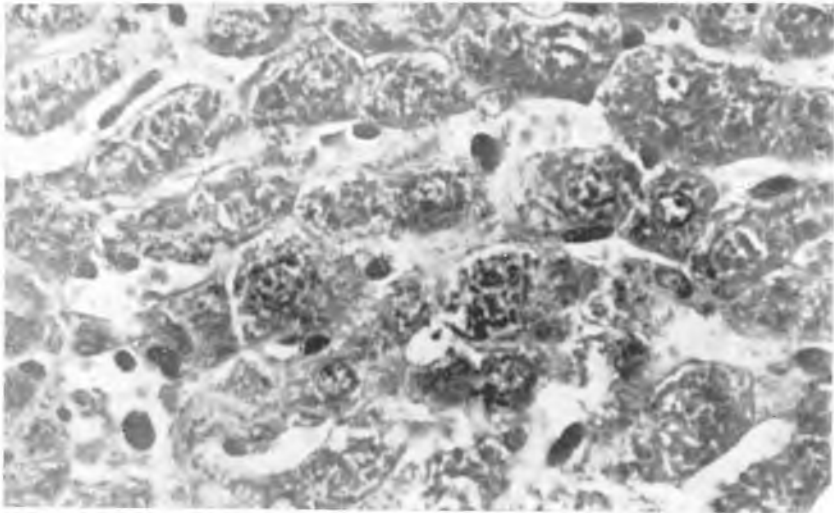
Ryc. 3. Tkanka wątrobowa zwierząt napromienianych dawką 600 r, zabitych w dwie godziny po ekspozycji. Słaby odczyn histochemiczny na glikogen we wszystkich komórkach. Barwienie met. Besta. Mikroskop Nf, Zeiss, obiektyw 60, okular 12,5 K, mikrofot. Exacta Varex II a



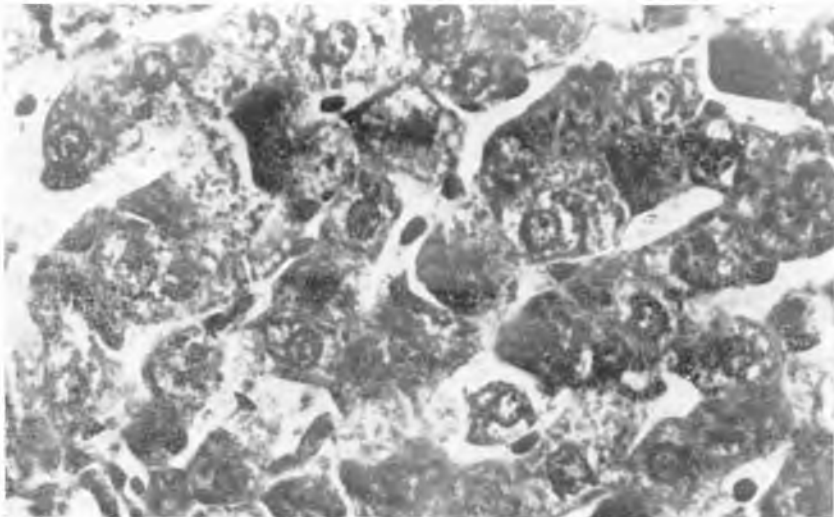
Ryc. 4 Tkanka wątrobowa zwierząt napromieniowanych dawką 600 r, zabitych w 24 godz. po ekspozycji. Skupienie glikogenu nie we wszystkich komórkach jednakowe, większe nagromadzenie ziaren glikogenu występuje na obwodzie komórki. Barwienie met. Besta. Mikroskop Nf, Zeiss, obiektyw 60, okular 12,5 K, mikrofol. Exacta Varex IIa



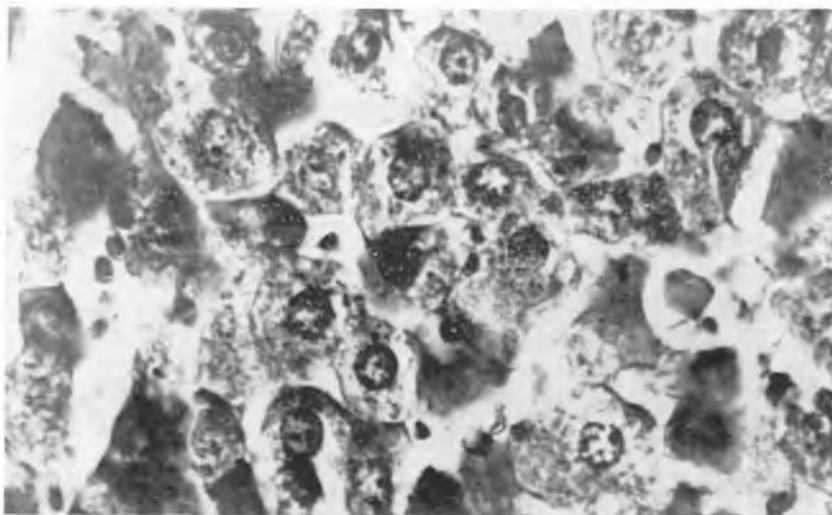
Ryc. 5. Tkanka wątrobowa zwierząt napromieniowanych dawką 600 r, zabitych w 7 dni po ekspozycji. Intensywność zabarwienia i ilość ziaren glikogenu duża i w wielu komórkach wypełnia cały jej obszar. Barwienie met. Besta. Mikroskop Nf, Zeiss, obiektyw 60, okular 12,5 K, mikrofol. Exacta Varex IIa



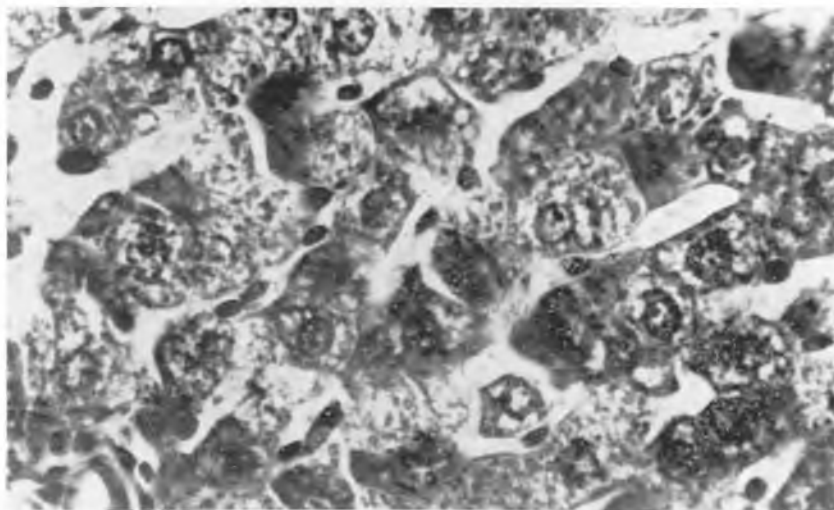
Ryc. 6. Tkanka wątrobowa zwierząt napromienianych dawką 600 r, zabitych w 21 dni po ekspozycji. Widoczne duże ilości ziaren glikogenu równomiernie rozmieszczonych we wszystkich komórkach. Barwienie met. Besta. Mikroskop Nf, Zeiss, obiektyw 60, okular 12,5 K, mikrofot. Exacta Varex IIa



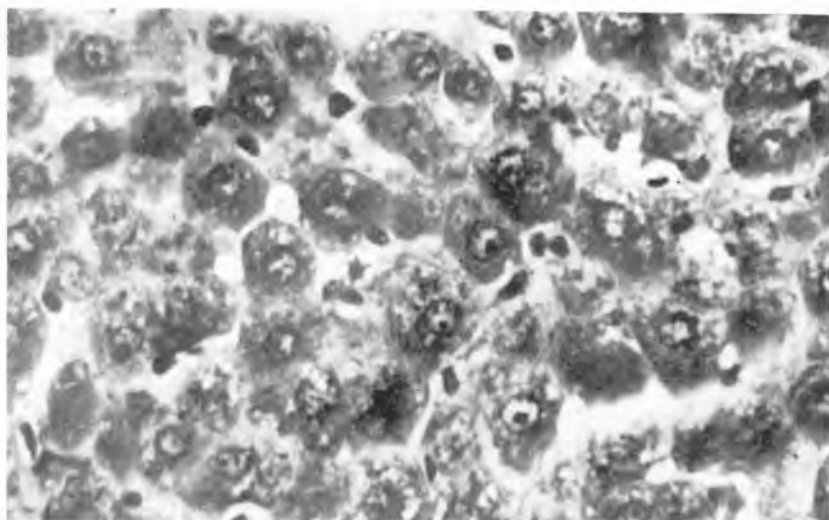
Ryc. 7. Tkanka wątrobowa zwierząt napromienianych dawką 1200 r, zabitych w 2 godz. po ekspozycji. Mała ilość ziaren glikogenu w cytoplazmie komórek. Barwienie met. Besta. Mikroskop Nf, Zeiss, obiektyw 50, okular 12,5 K, mikrofot. Exacta Varex IIa



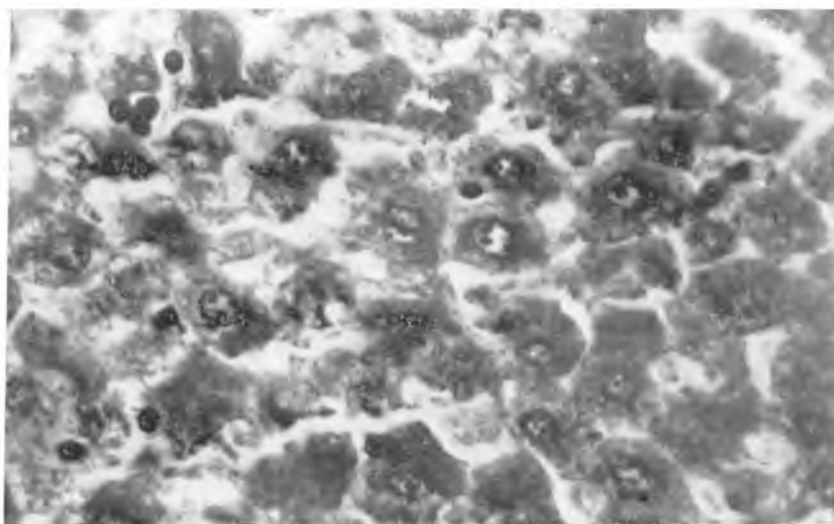
Ryc. 8. Tkanka wątrobowa zwierząt napromieniowanych dawką 1200 r, zabitych w 24 godz. po ekspozycji. Odczyn histochemiczny na glikogen intensywny. Barwienie met. Besta. Mikroskop Nf, Zeiss, obiektyw 60, okular 12,5 K, mikrofont. Exacta Varex IIa



Ryc 9. Tkanka wątrobowa zwierząt napromieniowanych dawką 1200 r, zabitych w 7 dni po ekspozycji. Duże nagromadzenie ziaren glikogenu w komórce. Barwienie met. Besta. Mikroskop Nf, Zeiss, obiektyw 60, okular 12,5 K, mikrofont. Exacta Varex IIa



Ryc. 10. Tkanka wątrobowa zwierząt napromieniowanych dwukrotnie dawką 600 r, w odstępie 24-godzinnym, zabitych bezpośrednio po ekspozycji. Widoczne ziarna glikogenu, lecz nie we wszystkich komórkach jednakowe skupienia. Barwienie met. Besta. Mikroskop Nf, Zeiss, obiektyw 60, okular 12,5 K; mikrofoto. Exacta Varex IIa



Ryc. 11. Tkanka wątrobowa zwierząt napromieniowanych dwukrotnie dawką 600 r, w odstępie 24-godzinnym, zabitych w 7 dni po ekspozycji. Wyraźny, intensywny odczyn na glikogen. Ziarna duże, widoczne we wszystkich komórkach. Barwienie met. Besta. Mikroskop Nf, Zeiss, obiektyw 60, okular 12,5 K, mikrofoto. Exacta Varex IIa

