

ABSORBȚIA ȘI DISTRIBUȚIA $P_{32}O_4H_2NA$ LA LILIAC (*NYCTALUS NOCTULA*) IN PERIOADA DE HIBERNARE

de

IOAN OROS și EUGEN A. PORA

Un studiu amplu a hibernării este făcut de Kalabuhov în 1956 [1].

În timpul hibernației liliciei se trezesc adesea din cauza temperaturii externe, care fie că se ridică în anumite momente de încălzire, fie că scade la valori de sub -10° , determinând trezirea animalelor adăpostite în incinte sau adăposturi de iernat (2).

În timpul trezirii ridicarea temperaturii corpului se face foarte repede. Pentru a putea ști cui se datorește această ridicare de temperatură noi am utilizat metoda radioizotopilor.

Animalele au fost strânse de la strașinile clădirii catedrei de zoologie din str. Mikó 5-7 din Cluj și introduse în saci de sîrmă, au fost coborîte în pivnița clădirii noastre, unde temperatura mediului se menține la $+4^{\circ}$. Animalele au fost repartizate în loturi de cîte 10 indivizi în saci de sîrmă. Loturile au fost menținute la următoarele temperaturi:

- la temperatura de $+4^{\circ}$ (lot martor, în hibernație normală)
- la temperatura de $0^{\circ}-1^{\circ}C$
- la temperatura de $-10^{\circ}C$
- la temperatura de $+15^{\circ}C$.

Animalelor, de o greutate între 22-24 g și de sex masculin, li s-a injectat prin ochiurile sîrmei, sub tegumentul dorsal cîte 0,1 ml. ser Ringer în care era introdus fosfatul monosodic marcat cu P^{32} , astfel ca de fiecare gram de animal viu să revină cîte 44 400 impulsuri pe minut, astfel că la greutatea de 24 grame revenea cîte 0,5 micro C.

După injecție, la 30 minute, 1, 6, 12, sau 48 ore se sacrificau animalele și se luau probe din organele corpului, în ordinea următoare: sînge, inimă, ficat, pulmon, limbă, stomac, intestin, mușchi pectoral, testicol, splină, suprarenală, pancreas, rinichi, emisfere cerebrale, mezencefal, cerebel, bulb, măduvă.

Fragmentele de organe în greutate de cca 0,1 g au fost repartizate uniform pe ținte, apoi uscate și în urmă citite la o instalație B-2. Rezultatele s-au raportat la 0,1 g țesut proaspăt și la timpul injectării făcîndu-se corecțiunile respective.

REZULTATE OBȚINUTE

În tabelul nr. 1 sînt date rezultatele noastre de măsurare pentru diferite temperaturi și pentru probele luate la intervale de timp diferite. Ele exprimă media valorilor obținute în experiențele noastre. În coloana II este dată media impulsurilor organelor cercetate pentru intervalul de timp respectiv. Nu s-au dat rezultatele pe celelalte organe din cauză că nu sînt semnificative.

Pentru a putea comenta mai bine aceste rezultate trebuie să ne adresăm reprezentărilor din fig. 1.

Tabel nr. 1

Valoarea impulsurilor pe minut și gram de țesut proaspăt, numărate în diferitele organe la litiaul ștuit la temperaturi diferite și la timp diferit după administrarea aceleiași cantități de substanță radioactivă

Timpul de la injecție	singe	inimă	ficat	pulmon	stomac	m. pectoral	supra-renală	ri-nichi	emi-sfere	Media celor 9 organe
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
+4°C										
d. 30 min.	317	—	—	—	—	—	—	—	—	35
d. 1 oră	611	128	103	282	60	72	200	158	—	179
d. 6 ore	757	302	463	651	246	180	280	799	39	413
d. 12 ore	906	1454	1855	1618	789	726	1100	1340	66	1095
-10°C										
d. 30 min.	543	561	1573	621	287	641	341	867	48	606
d. 1 oră	292	605	1438	616	373	1167	8200	824	62	677
d. 6 ore	256	563	1256	600	519	1092	900	634	101	658
0°-1°C										
d. 30 min.	263	215	—	—	—	364	300	—	—	127
d. 1 oră	434	360	1239	446	360	633	575	1028	57	570
d. 6 ore	325	838	1258	509	394	726	750	689	101	621
d. 12 ore	312	802	1106	523	516	670	1200	662	113	658
+15°C										
d. 30 min	234	131	—	—	—	—	—	—	—	40
d. 1 oră	325	838	1134	427	197	586	400	734	55	522
d. 6 ore	275	923	1339	328	366	740	1200	784	90	671
d. 12 ore	267	419	1270	327	407	419	1800	639	130	631

DISCUȚIA REZULTATELOR

Din loturile noastre numai cel păstrat la +4° a rămas în hibernație. El a fost considerat ca lot martor. Toate celelalte loturi s-au trezit. Animalele de la temperatura de la 0°-1°C. după trezire au manifestat o slabă activitate motoare; animalele de la +15°C erau treze și se mișcau pe pereții sacului de sîrmă; animalele introduse la -10°C după cca 5 minute erau complet treze, se agitau puternic, băteau din aripi și se cățarau pe pereții.

custei de sîrmă în mod continuu. Animalele introduse la -10°C erau cele mai active dintre toate loturile de experiență.

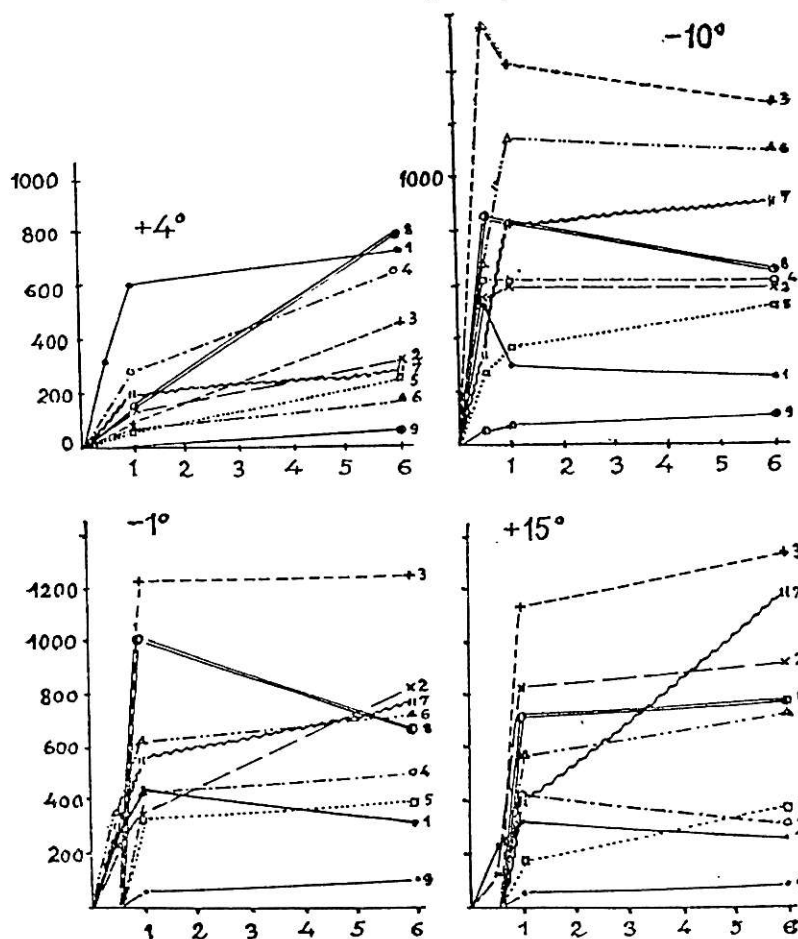


Fig. 1. Valoarea impulsurilor pe 0,1.g țesut proaspăt și minut, la diferite organe de la lilieci supuși diferitelor temperaturi în funcție de timp. Pe ordonată: numărul impulsurilor medii; pe abscisă: timpul în ore. 1 = singe; 2 = inimă; 3 = ficat; 4 = pulmon; 5 = stomac; 6 = mușchiul pectoral; 7 = suprarenale; 8 = rinichi; 9 = emisfere cerebrale.

Urmărind absorbția substanței marcate constatăm că pentru temperatura de $+4^{\circ}\text{C}$ la 30 minute de la injecție numai în singe se găsește o cantitate nu prea mare de P^{32} și că abia la 1 oră după injecție, se poate constata prezența substanței marcate în toate organele viscerale și somatice, dar încă lipsește în sistemul nervos central. Se știe din lucrările lui L. e n-

n art H. [3] că bariera hemato-encefalică este foarte greu permeabilă fosfatului. Aceasta face ca în toate experiențele noastre cantitatea de substanță marcată, intrată târziu în sistemul nervos, să fie relativ mică față de celelalte organe. La temperatura de la 0° – 1°C după 30 de minute P^{32} este fixat în sînge, inimă, mușchi pectoral, suprarenale; la temperatura de 15°C după același interval de timp P^{32} se găsește numai în sînge și inimă; la temperatura de -10° după 30 de minute P^{32} se găsește prezent în toate organele inclusiv sistemul nervos.

Absorbția P^{32} este deci cu atît mai rapidă cu cît animalele erau într-o stare motoare mai accentuată, adică mai treze. Temperaturile de 0°C la -1°C , de $+15^{\circ}\text{C}$ sau de -10°C acționează asupra lilieciilor în hibernație ca un agent agresor (stress) față de care organismul se adaptează cu atît mai puternic cu cît și acțiunea agresoare este mai puternică.

În ceea ce privește distribuția substanței marcate, care este o moleculă macroergică, se constată că în toate cazurile de stress cantitatea cea mai mare se găsește în ficat (-10°C); (0° la -1° ; $+15^{\circ}$), în mușchi (-10°C). Acestea sînt deci organele care produc căldura necesară trecerii animalului din starea de hibernație în starea de veghe. Fosfatul fiind o moleculă macroergică este angajat în procesele energetice termoproducătoare ce au loc în timpul trezirii. Se confirmă deci în mod experimental că la liliac căldura de trezire este produsă mai ales de ficat, apoi de mușchi și numai apoi de alte organe.

Dacă reprezentăm mediile impulsurilor sumei tuturor organelor cercetate la intervale de timp diferite (fig. 2, col. 11-a tabelului nr. 1) constatăm că fixarea fosfatului în hibernație ($+4^{\circ}\text{C}$) este mai mică decît la celelalte loturi. La cele de la temperatura de 0° pînă la -1°C și $+15^{\circ}\text{C}$ fixarea este cam de aceeași valoare, iar la lotul de -10°C (pentru timpul de 6 ore) este cea mai mare, cea de denotă și cea mai ridicată valoare de metabolism. Acest rezultat este conform cu starea de mișcare care se observă la aceste animale; animalele de la -10°C nu au putut fi urmărite mai mult de 8–10 ore, din cauză că mureau la această temperatură, față de care nu aveau mijloace de luptă în cazul cînd durata de expunere depășea acest timp.

Trebuie să remarcăm că în cazurile de stress (-10°C ; 0°C – 1°C ; $+15^{\circ}\text{C}$) fosfatul se fixează în cantități mari în suprarenale. Acest lucru este în acord cu datele din literatură (Selye). Eliberarea de adrenalină și cortină pune la dispoziția organismului glucoza și sărurile minerale necesare pentru a face față acțiunii agresoare. Acest mecanism face parte din răs-

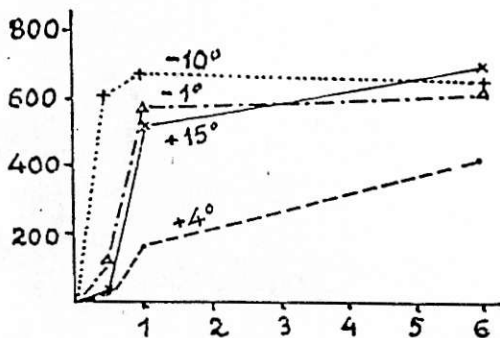


Fig. 2. Valoarea medie totală a impulsurilor tuturor organelor examinate la diferite temperaturi și în funcție de timpul în ore.

n a r t H. [3] că bariera hemato-encefalică este foarte greu permeabilă fosfatului. Aceasta face ca în toate experiențele noastre cantitatea de substanță marcată, intrată târziu în sistemul nervos, să fie relativ mică față de celelalte organe. La temperatura de la 0° – 1°C după 30 de minute P^{32} este fixat în sînge, inimă, mușchi pectoral, suprarenale; la temperatura de 15°C după același interval de timp P^{32} se găsește numai în sînge și inimă; la temperatura de -10° după 30 de minute P^{32} se găsește prezent în toate organele inclusiv sistemul nervos.

Absorbția P^{32} este deci cu atît mai rapidă cu cît animalele erau într-o stare motoare mai accentuată, adică mai treze. Temperaturile de 0°C la -1°C , de $+15^{\circ}\text{C}$ sau de -10°C acționează asupra liliicilor în hibernație ca un agent agresor (stress) față de care organismul se adaptează cu atît mai puternic cu cît și acțiunea agresoare este mai puternică.

În ceea ce privește distribuția substanței marcate, care este o moleculă macroergică, se constată că în toate cazurile de stress cantitatea cea mai mare se găsește în ficat (-10°C); (0° la -1° ; $+15^{\circ}$), în mușchi (-10°C). Acestea sînt deci organele care produc căldura necesară trecerii animalului din starea de hibernație în starea de veghe. Fosfatul fiind o moleculă macroergică este angajat în procesele energetice termoproducătoare ce au loc în timpul trezirii. Se confirmă deci în mod experimental că la liliac căldura de trezire este produsă mai ales de ficat, apoi de mușchi și numai apoi de alte organe.

Dacă reprezentăm mediile impulsurilor sumei tuturor organelor cercetate la intervale de timp diferite (fig. 2, col. 11-a tabelului nr. 1) constatăm că fixarea fosfatului în hibernație ($+4^{\circ}\text{C}$) este mai mică decît la celelalte loturi. La cele de la temperatura de 0° pînă la -1°C și $+15^{\circ}\text{C}$ fixarea este cam de aceeași valoare, iar la lotul de -10°C (pentru timpul de 6 ore) este cea mai mare, cea de denotă și cea mai ridicată valoare de metabolism. Acest rezultat este conform cu starea de mișcare care se observă la aceste animale; animalele de la -10°C nu au putut fi urmărite mai mult de 8–10 ore, din cauză că nureau la această temperatură, față de care nu aveau mijloace de luptă în cazul cînd durata de expunere depășea acest timp.

Trebuie să remarcăm că în cazurile de stress (-10°C ; 0°C – 1°C ; $+15^{\circ}\text{C}$) fosfatul se fixează în cantități mari în suprarenale. Acest lucru este în acord cu datele din literatură (Selye). Eliberarea de adrenalină și cortină pune la dispoziția organismului glucoza și sărurile minerale necesare pentru a face față acțiunii agresoare. Acest mecanism face parte din răs-

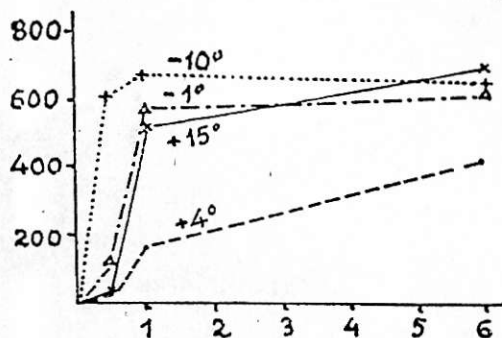


Fig. 2. Valoarea medie totală a impulsurilor tuturor organelor examinate la diferite temperaturi și în funcție de timpul în ore.

punsul general al organismului față de acțiunii agresoare (contra-șoc). Dacă examinăm rezultatele obținute pe diferite segmente ale axului nervos central (fig. 3) constatăm că între lotul de la $+4^{\circ}\text{C}$ (hașurat) și cel de la -10°C (spațiul alb) există deosebiri de fixare importante. La lotul de la -10°C toate segmentele examinate fixează mai mult P^{32} decât lotul de la $+4^{\circ}\text{C}$. Dar în special fixează mezecefalul (MZ) care se consideră că este sediul centrului termoregulator la mamifere.

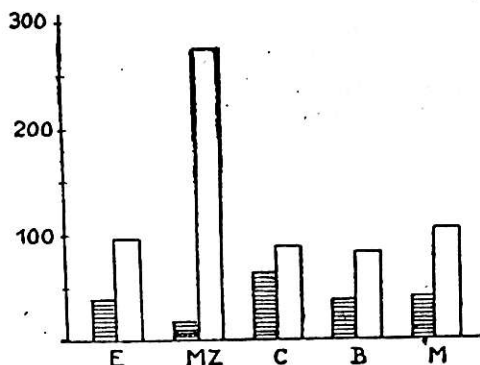


Fig. 3. Cantitatea de P^{32} fixată de diferitele segmente ale axului nervos central la liliecii în hibernație țineți la $+4^{\circ}$ (hașurat) și la cei ținuți la -10° (în alb). E = scoarța emisferelor; MZ = mezecefal; C = cerebel; B = bulb; M = măduvă spinării.

CONCLUZIUNI

1. Liliecii în hibernație puși în condiții de temperaturi de $0^{\circ}\text{C}-1^{\circ}$; $+15^{\circ}\text{C}$ sau -10°C se trezesc. Aceste temperaturi constituie pentru ei acțiuni de stress. Trezirea este însoțită de ridicarea temperaturii corpului care se realizează prin mecanisme chimice la nivelul ficatului în primul rând și al musculaturii scheletice în al doilea rând. Celelalte organe au o contribuție secundară în acest proces.

2. Absorbția P^{32} se face mai repede la animalele de la -10°C decât cele de la $0^{\circ}-1^{\circ}\text{C}$ sau $+15^{\circ}$. După 30 minute de la administrarea substanței marcate aceasta se găsește în toate organele liliecilor care au stat la -10°C ; numai în sânge și inimă la cel care au stat la $+15^{\circ}$ și în sânge, inimă, mușchi pectoral, suprarenale la cele care au fost ținute la $0^{\circ}-1^{\circ}\text{C}$.

3. Fixarea și menținerea P^{32} se face mai ales în ficat la animalele trezite, apoi în mușchii scheletici și mai puțin în restul organelor examinate. O cantitate mare se fixează în suprarenale.

Fixarea de P^{32} ne arată intensitatea proceselor de metabolism energetic care în timpul trezirii liliecilor, produc căldura necesară ridicării temperaturii corpului.

4. La temperatura de -10°C liliecii nu pot rezista mai mult de 8-10 ore. Ei se trezesc după 5 minute de la introducerea lor în acest mediu de temperatură scăzută. Pentru a face față acestei agresiuni ei își dezvoltă la maximum mecanismele anti-șoc (secreții suprarenale, glicemie, activitate musculară).

5. Dacă se examinează nivelul metabolic al loturilor noastre se constată că valoarea acestuia este minimă la animalele menținute la $+4^{\circ}\text{C}$, adică cele care se găsesc în hibernație la limita critică la temperaturii ambiante; valoarea metabolismului la animalele de la $0^{\circ}-1^{\circ}\text{C}$ și $+15^{\circ}\text{C}$ este cam aceeași, iar metabolismul liliecilor de la -10°C în timpul celor 6 ore de supraviețuire a avut valoarea cea mai ridicată.

6. La animalele de la -10° se constată că mezencefalul fixează cea mai mare parte de P^{32} comparativ cu celelalte segmente ale axului nervos, ceea ce denotă participația lui activă în procesul de ridicare activă a temperaturii și de luptă contra răcirii. Aici se găsește foarte probabil centrul nervos termo-regulator.

Catedra de fiziologia animalelor

BIBLIOGRAFIE

1. Kalabuho, I. N., *Spiacika životnih*. Izd. Univ. Gorkovo, Harkov, 1956.
2. Dumitrescu, M., Tanasachi, J. și Orghidan, T., *Contribuțiuni la studiul de biologia Cheiropterelor*. „Bul. șt. secț. biologie, Acad. R.P.R.”, 7 nr. 2 (1955) pag. 117.
3. Lennart-Herlin, *On phosphate exchange in the CNS with special reference to metabolic activity in barriess*. „Acta physiol. Scandinavica”, 37, suppl. 127, 1956.

АБСОРБЦИЯ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ $P^{32}O_2Na$ У ЛЕТУЧЕЙ МЫШИ В ПЕРИОД ЗИМНЕЙ СПЯЧКИ

(Краткое содержание)

Летучие мыши, находящиеся в состоянии зимней спячки и поставленные в условия температур 0° — $1^{\circ}C$; $+15^{\circ}C$ или $-10^{\circ}C$, просыпаются. Указанные температуры для них равносильны стрессу. Пробуждение сопровождается повышением температуры тела, осуществляемым при посредстве химических процессов на уровне печени, в первую очередь, и, во-вторых, — скелетной мускулатуры. Остальные органы играют в этом процессе второстепенную роль.

Абсорбция P^{32} протекает быстрее у животных при $-10^{\circ}C$, чем у животных при 0° — $1^{\circ}C$ или $+15^{\circ}C$. Через 30 минут после введения меченого вещества оно обнаруживается во всех органах летучих мышей, содержащихся при $-10^{\circ}C$; только в крови и сердце у животных, содержавшихся при $+15^{\circ}C$; в крови, сердце, грудной мышце, надпочечниках у животных, содержавшихся при 0° — $1^{\circ}C$. Задержание и сохранение P^{32} имеет место в особенности в печени разбудженных животных, позднее — в мышцах скелета и меньше всего в остальных обследованных органах. Значительное количество вещества задерживается в надпочечнике.

Задержание P^{32} выявляет интенсивность процессов энергетического обмена, которые во время пробуждения летучих мышей продуцируют тепло, необходимое для повышения температуры тела.

Температуру в $-10^{\circ}C$ летучие мыши не могут выдерживать больше 8—10 часов. Они просыпаются через 5 минут после помещения их в эту среду с пониженной температурой. Животные реагируют на этот шок максимальным развитием ряда защитных функций (секреция надпочечников, глициемия, деятельность мышц).

В результате исследования метаболического уровня наших подопытных групп было установлено, что его величина является минимальной для животных, содержавшихся при $+4^{\circ}C$, т. е. для животных, зимняя спячка которых протекает на критическом пределе температуры среды. Интенсивность обмена веществ у животных при 0° — $1^{\circ}C$ и $+15^{\circ}C$ остается приблизительно одинаковой, тогда как обмен веществ у летучих мышей при $-10^{\circ}C$ за 6 часов выживания показал самую высокую интенсивность.

У животных при -10° обнаруживается, что средний мозг задерживает большую часть P^{32} по сравнению с остальными отделами нервного ствола, что указывает на его активное участие в процессе повышения температуры и борьбы с охлаждением. Здесь, вероятно, локализуется нервный центр терморегуляции.

ABSORPTION ET DISTRIBUTION DE P^{32} CHEZ LA CHAUVE-SOURIS EN HIBERNATION

(Résumé)

Les chauves-souris en hibernation placées dans des conditions de température de $0^{\circ} - 1^{\circ}\text{C}$; $+15^{\circ}\text{C}$ ou -10°C se réveillent. Ces températures constituent pour elles des actions de stress. Leur réveil est accompagné d'élévation de la température du corps, élévation qui se réalise grâce à des mécanismes chimiques au niveau du foie en premier lieu et de la musculature squelettique en second lieu. Les autres organes n'ont qu'un rôle secondaire dans ce processus.

L'absorption de P^{32} s'effectue plus rapidement chez les animaux à -10°C que chez les animaux à $0^{\circ} - 1^{\circ}\text{C}$ ou à $+15^{\circ}\text{C}$. Trente minutes après l'administration de la substance marquée, celle-ci se retrouve dans tous les organes des chauves-souris qui ont été à -10°C ; seulement dans le sang et le cœur de celles qui ont été à $+15^{\circ}\text{C}$; dans le sang, le cœur, le muscle pectoral, les surrénales de celles qui ont été tenues à $0^{\circ} - 1^{\circ}\text{C}$. La fixation et le maintien de P^{32} se fait surtout dans le foie chez les animaux réveillés, mais aussi, par la suite, dans les muscles squelettiques et, dans une moindre mesure, dans le reste des organes examinés. Une quantité notable se fixe dans la surrénale.

La fixation de P^{32} nous montre l'intensité des processus de métabolisme énergétique qui, durant le réveil des chauves-souris, produisent la chaleur nécessaire à l'élévation de la température du corps.

A la température de -10°C les chauves-souris ne peuvent pas résister plus de 8 à 10 heures. Elles se réveillent 5 minutes après leur introduction dans ce milieu de basse température. Pour faire face à l'agression, elles développent au maximum leurs mécanismes anti-chock (sécrétions surrénales, glycémie, activité musculaire).

Si l'on examine le niveau métabolique de nos lots, on constate que sa valeur est minima chez les animaux maintenus à $+4^{\circ}\text{C}$, c'est-à-dire chez ceux qui se trouvent en hibernation à la limite critique de la température ambiante; la valeur du métabolisme chez les animaux de $0^{\circ} - 1^{\circ}\text{C}$ à $+15^{\circ}\text{C}$ est à peu près la même; c'est le métabolisme des chauves-souris placées à -10°C qui, durant les 6 heures de survie, atteint la valeur la plus élevée.

Chez les animaux placés à -10°C on constate que le mésencéphale fixe la plus grande partie de P^{32} , en comparaison aux autres segments de l'axe nerveux, ce qui dénote sa participation active dans le processus d'élévation de la température et de lutte contre le refroidissement. C'est là que se trouve très probablement le centre nerveux thermorégulateur.