

Г. Т. АДУНЦ, Р. Р. НЕРСЕСЯН

## СОДЕРЖАНИЕ ГЛИКОГЕНА В КУРИНОМ ЭМБРИОНЕ В РАЗЛИЧНЫЕ ДНИ ЕГО РАЗВИТИЯ

Изучением образования гликогена при развитии куриного эмбриона занимался еще Клод Бернард [1] в 1856 г. Его исследования выяснили, что в печени куриного эмбриона накопление гликогена отстает от процесса органогенеза и морфогенеза. Дальнейшие исследования показали, что действительно гликогенная функция печени проявляется только во втором этапе развития куриного эмбриона, т. е. на 16-й день. П. Иордан [2] показал, что накопление в печени гликогена совпадает с секрецией панкреаса.

Определение количества гликогена в печени впервые проводил Г. Е. Владимиров [3]. Из его работ выяснилось, что в печени куриного эмбриона гликоген появляется на 14-й день его развития. При этом было установлено, что наряду с появлением гликогена в печени эмбриона его количество постоянно меняется, доходя в период вылупления цыпленка до своего максимума.

Изучению динамики количества гликогена в печени эмбриона посвящено много исследований. Л. Лейбсоном [4] установлено, что в печени эмбриона количество гликогена, начиная с 12-го дня, постепенно возрастает, доходя до своего максимума на 19-й день, после чего уменьшается.

Проведенные исследования в основном касаются гликогена печени, между тем, как содержание гликогена в других тканях эмбриона изучено недостаточно. Не проведены исследования в отношении изменения количества гликогена в желтке и желточном мешке в различные периоды развития эмбриона, что представляет несомненный интерес.

Целью данной работы было изучение сдвигов содержания гликогена в отдельных тканях, желтке и желточном мешке эмбриона, а также установление изменения различных фракций гликогена в зависимости от его развития.

**Методика.** Исследования проводились на куриных эмбрионах, инкубировались яйца кур породы Белый леггорн. Вначале определялось количество гликогена в свежих, не инкубированных яйцах. Каждый раз бралось по 5—10 яиц и в общей пробе определялся общий, связанный и свободный гликоген, затем те же самые фракции гликогена определялись в инкубированных яйцах. С этой целью брались пробы с первого до последнего (21) дня развития зародыша, а в некоторых случаях у 2—3-дневных цыплят. Количество гликогена определялось по методу Гуда, Кремера и Сомоджи [5], а в дальнейшем по Вильштеттеру [6] и Б. И. Хайкиной [7].

Метод Гуда и Кремера дает возможность определить только общий гликоген, что же касается свободного гликогена, то его можно определить по методу Вильштеттера и Б. И. Хайкиной. По этому методу можно определить гликоген, связанный как с липидами, так и с белками.

**Полученные данные и их обсуждение.** Желток куриного яйца при развитии зародыша обычно служит питательной средой, поэтому в наших исследованиях было обращено внимание на особенности динамики содержания гликогена в желтке на различных этапах развития эмбриона, так как до сих пор не раскрыты те изменения, которые имеют место в желтке в процессе развития зародыша. Известно, что в процессе развития зародыша желток подвергается значительным физико-химическим изменениям.

Полученные нами результаты показали, что количественные изменения гликогена в эмбрионе, желтке и желточном мешке протекают неодинаково. В желтке неинкубированных яиц содержание гликогена составляет 20—28 мг %. Яйца, взятые осенью, отличаются наиболее высоким содержанием гликогена. При развитии зародыша количество гликогена в нем колеблется в пределах 20—180 мг %, в желтке 20—90 мг %, в желточном мешке 30—280 мг %.

Параллельно с развитием зародыша количество общего гликогена в желтке вначале незначительно повышается (рис. 1), а на 4-й день — понижается, на 5-й день оно резко повышается с 15 мг % до 80 мг % (первый максимум); на 8-й день содержание гликогена вновь понижается, составляя 10—15 мг %, а на 9-й день оно вновь повышается до 60 мг %. Подобная закономерность отмечается в течение 10—16-го дня инкубации. На 15-й день количество гликогена повышается до 100 мг %, после чего на 17-й день резко снижается.

В период вылупления количество гликогена несколько повышается (10—28 мг %). На рис. 1 отображены также изменения в количестве свободного и связанного гликогена при развитии зародыша. Количество свободного гликогена колеблется от 5—50 мг %, доходя до своего максимума на 5-й день развития эмбриона. При дальнейшем развитии его количество снижается, по сравнению со связанным; количество связанного гликогена преобладает над свободным и колеблется в пределах 18—95 мг %. Количество связанного гликогена в желтке также повышается в процессе развития эмбриона, доходя на 7-й день до своего максимума (2 максимум). 3-й максимум наступает на 9-й день, который превышает как первый, так и второй. 4-й максимум отмечается на 15-й день, после чего количество гликогена уменьшается, а перед вылуплением незначительно повышается. Таким образом, не во всех случаях количество связанного и свободного гликогена совпадает. Так, например, с повышением количества связанного гликогена содержание свободного — падает. Другой отличительной чертой является то, что максимальное повышение связанного общего гликогена соответствует 15 дню развития эмбриона.

**Ж е л т о к**

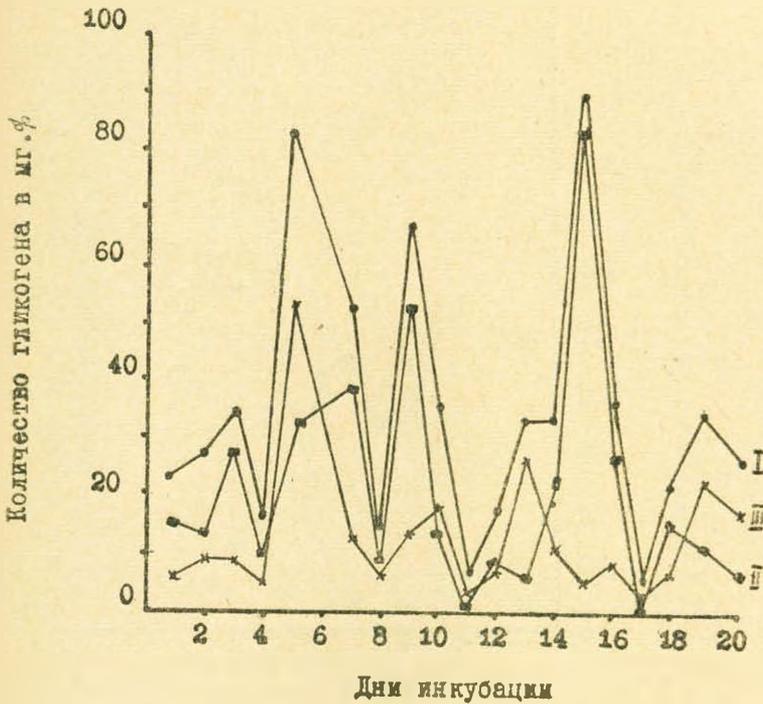


Рис. 1.  
 • — I общий гликоген  
 — II связанный гликоген  
 x — III свободный

Развитие желточного мешка идет соответственно с инкубацией и постепенно покрывается густой сетью кровеносных сосудов, в конце инкубации всасывается зародышем. Количество общего гликогена в желточном мешке в период инкубации подвергается определенным колебаниям. На 11-й день инкубации оно составляет 36 мг % (рис. 2), а в дальнейшем постепенно возрастает, доходя до своего максимума на 19-й день (300 мг %). На 20-й день наступает понижение его содержания. Количество же свободного гликогена непрерывно возрастает в процессе инкубирования, достигая своего максимума на 19-й день (240 мг %). В период вылупления цыпленка количество гликогена заметно снижается.

Количество связанного и свободного гликогена изменяется различно. Количество связанного гликогена меньше свободного и доходит до своего максимума на 15-й день, затем снижается до 50 мг %. До 16-го дня инкубации повышение содержания как свободного, так и связанного гликогена идет параллельно, после чего отмечается обратная связь между изменением их количеств: с увеличением количества свободного гликогена содержание связанного понижается.



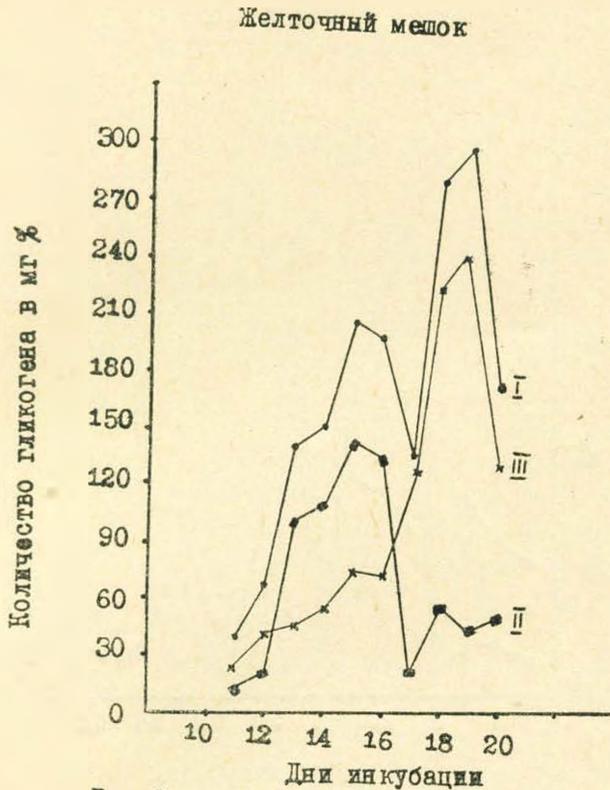


Рис. 2.

- - I общий гликоген
- - II связанный гликоген
- × - III свободный

Для количественного определения гликогена в зародыше мы брали пробу с 6-го дня его развития. Количество общего гликогена в первые дни развития зародыша очень низко (8 мг %). В дальнейшем (рис. 3) оно возрастает, но не непрерывно; в отдельные дни инкубации (12, 14, 16-й) имеет место заметное снижение его содержания. Особенное повышение отмечается на 18-й день (90 мг %); к 20-у дню содержание общего гликогена резко снижается (30 мг %).

Приведенные кривые (рис. 3) показывают, что изменения в количестве свободного гликогена носят такой же характер. Что же касается связанного гликогена, то динамика изменений его количества резко отличается от таковой общего и свободного гликогена. Связанный гликоген с 6-го дня инкубации постепенно увеличивается до 18 дня, составляя 46 мг %. На 19-й и 20-й дни наступает заметное снижение, как и у общего и свободного гликогена.

Из органов зародыша, в свете поставленной перед нами задачи, наибольший интерес представляет печень. Количество гликогена в печени приведено в таблице.

**В зародыше**

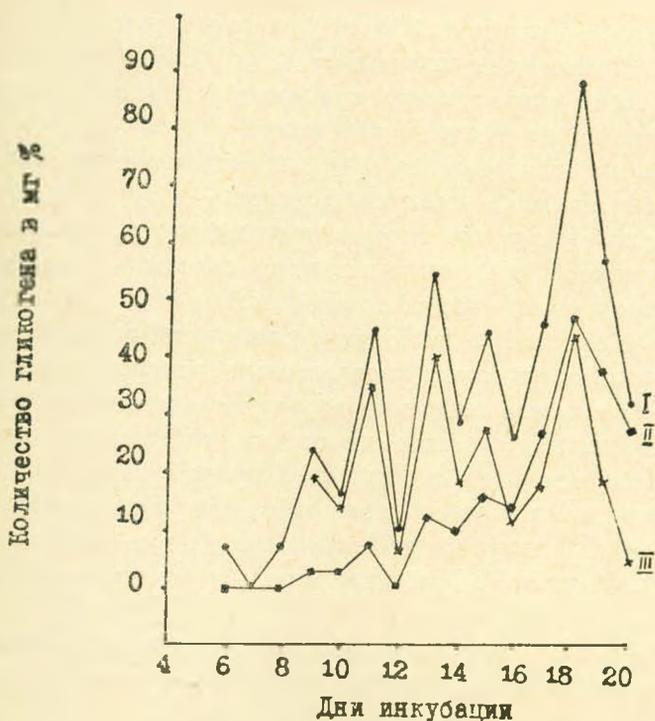


Рис. 3.

- — I общий гликоген
- — II связанный гликоген
- \* — III свободный

Таблица  
Содержание гликогена в печени  
в период инкубации

Дни инкубации	Количество гликогена в г %
14	0,769
15	0,987
16	1,245
18	2,284
19	2,491
20	2,287

Как видно из приведенных данных, количество гликогена в печени постепенно возрастает до 20 дня; особенное повышение отмечается в последние дни инкубации.

Сопоставляя полученные нами результаты в отношении динамики изменений отдельных фракций гликогена в желтке, желточном мешке, целом зародыше и печени, нетрудно заметить, что характер изменений в желточном мешке резко отличается от сдвигов, происходящих в желтке и зародыше. Желточный мешок отличается наибольшим содержа-

нием гликогена. В течение развития зародыша количество гликогена в желточном мешке доходит до 300 мг %, в то время как в желтке и зародыше его количество не превышает 90 мг %. Это свидетельствует о наличии активных синтетических процессов в желточном мешке, которые особо важны для развития зародыша.

По-видимому, для развития зародыша основным поставщиком гликогена-глюкозы является желточный мешок.

Это предположение подтверждается тем, что уровень гликогена в желточном мешке значительно выше, чем в зародыше, а синтез гликогена в зародыше и его миграции в желточный мешок вряд ли имеют место. Подобный процесс не является биологически целесообразным.

В образовании гликогена определенный интерес представляет и желток, где количество гликогена варьирует в пределах 80—90 мг %. Интересно отметить, что резкое повышение содержания гликогена в желтке наблюдается уже в течение 5—6 дня инкубации, между тем как в желточном мешке и зародыше снижение содержания гликогена имеет место после 10 дня инкубации. Полученные данные позволяют заключить, что на первых этапах развития зародыша в синтезе гликогена значительную роль играет желток.

Полученные нами результаты показывают, что как в желтке, так и в желточном мешке и зародыше содержание гликогена резко снижается в последние дни инкубации (19—20-й день).

Причину этого следует искать в интенсивном движении цыпленка в период вылупления.

Результаты наших исследований в отношении свободного и связанного гликогена, в основном, совпадают с данными Дженсенбиона и Портриджа [8], которые установили, что в различных органах куриного эмбриона кислотно-растворимый и нерастворимый, а также общий гликоген в течение эмбрионального развития распределяется неодинаково. Они установили, что количество гликогена в печени колеблется от 0,273—1,864 мг %, доходя своего максимума на 19-й день, после чего наступит заметное понижение. В сердечной мышце количество гликогена также варьирует в течение эмбрионального развития зародыша. Максимальное содержание гликогена отмечается на 13-й день (1,162 мг %).

В скелетных мышцах содержание гликогена намного меньше, чем в печени и сердце. Этими авторами изучены также различные фракции гликогена в пищеварительном тракте, в хордо-алантоической мембране и в мозгу. Полученные данные свидетельствуют о том, что кислотно-растворимые фракции гликогена более стабильны и количественно уступают щелочно-растворимой фракции; количество последней подвергается более значительным колебаниям.

Известно, что в образовании гликогена важную роль играет развитие функции инсулярного аппарата. Нидхем [9] показал, что в печени зародыша птиц на 8—9-й день развития начинается накопление гликогена. В этот период панкреас зародыша подвергается определенным морфологическим изменениям: островки Лангенса переходят в

островки Лангерганса; в них происходит образование  $\beta$  клеток с последующей их иннервацией, благодаря которым осуществляется секреция инсулина.

Шикинами [10] подробно изучил накопление гликогена в период развития зародыша и функцию инсулярного аппарата. Его исследования показали, что яйцо содержит определенное количество инсулина, выделенный из них инсулин вызывает у кроликов гипогликемию. Чтобы вызвать у кролика гипогликемию, необходимо было выделить инсулин из 4 яиц. Дальнейшие исследования показали, что количество инсулина в желтке на 4-й день инкубации понижается, а с 4 до 11-го дня совершенно отсутствует. На втором этапе развития зародыша появляется значительное количество инсулина.

В наших исследованиях в желтке на 5—7-й день инкубации отмечался значительный подъем содержания гликогена. Не исключена возможность образования инсулиноподобных веществ в этом периоде в самом зародыше.

Как показывают наши исследования, количество гликогена, особенно в желтке, повышается задолго до развития инсулярного аппарата. В образовании гликогена кроме инсулина участвуют и многие другие факторы, выявление которых при эмбриальном развитии должно служить предметом дальнейших исследований.

Карльсон [11] задался целью выяснить: поглощает ли плацента инсулин в период беременности? Удаляя панкреас у беременного животного, он установил возникновение диабета в первом периоде беременности животного, однако при удалении панкреаса во втором периоде беременности диабет отсутствовал и беременность протекала нормально. Отсюда был сделан вывод, что деятельность инсулярного аппарата зародыша начинается на втором этапе беременности и выделенный инсулин через плаценту переходит к матери.

Исследования Карльсона показали, что в первом периоде развития эмбриона большая роль в образовании гликогена принадлежит плаценте; с ее удалением нарушается нормальный обмен углеводов.

Желточный мешок у птиц играет ту же роль, что и плацента у млекопитающих, вероятно, особенно во втором периоде развития зародыша, когда он выделяет инсулин. Доказательством этого являются полученные нами данные в отношении накопления гликогена в желточном мешке.

### В ы в о д ы

В течение развития зародыша количество гликогена подвергается определенным изменениям. На 4-й день инкубации отмечается его понижение. Дальнейшее возрастание гликогена проходит через 3 максимума — на 5, 9 и 15-й день, после чего идет снижение. В желтке максимумы количества связанного и свободного гликогенов не совпадают. Макси-

мум свободного гликогена совпадает на 15-й день с минимумом свободного.

Содержание общего гликогена в желточном мешке преобладает по сравнению с желтком. Его максимум доходит до 300 мг %. В желточном мешке количество как общего, так и свободного и связанного гликогена в течение развития зародыша возрастает до 16-го дня, после чего отмечается понижение количества связанного гликогена. Последний на 17-й день достигает своего минимума, в то время как количество общего и свободного гликогенов продолжает возрастать, доходя своего максимума на 19-й день.

В течение своего развития количество гликогена в зародыше подвергается резким колебаниям. Изменение свободного и общего гликогена в течение инкубации происходит одинаково. 18-й день отличается наибольшим накоплением гликогена. Количество связанного гликогена не подвергается таким резким колебаниям, его количество в течение инкубации возрастает, доходя своего максимума на 18-й день, после чего незаметно снижается. Высокое содержание гликогена в желточном мешке свидетельствует о его важной роли в синтезе гликогена и тем самым в развитии зародыша.

Сектор биохимии  
Академии наук АрмССР

Поступило 9.V 1959 г.

Գ. Թ. ԱԳՈՒՆՅ, Ռ. Ռ. ՆԵՐՍԻԱՅԱՆ

ԳԼԻԿՈԳԵՆԻ ՔԱՆԱԿԱԿԱՆ ՓՈՓՈԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ ՀԱՎԻ ՍԱԳՄԻ ԶԱՐԿԱՑՄԱՆ

ՏԱՐԲԵՐ ԷՏԱՊՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Սաղմի զարգացման ընթացքում գլիկոգենի քանակի հետ կատարվում են որոշակի փոփոխություններ, այն է՝ ինկուբացիայի առաջին օրերին գեղնուցում նկատվում է գլիկոգենի քանակի նվազում (մինչև 4-րդ օրը): Հետագայում նրա քանակն աճում է, տարով երեք մաքսիմում 5-րդ, 9-րդ և 15-րդ օրերին:

Գլիկոգենն իր բացարձակ մաքսիմումին է հասնում միայն 15-րդ օրը, իսկ հետագայում շատ արագ իջնում է:

Գեղնուցում կապված և ազատ գլիկոգենի ֆրակցիաների մաքսիմումներն իրար չեն համընկնում. գետ ավելին՝ երբեմն, կապված գլիկոգենի մաքսիմումին համապատասխանում է ազատ գլիկոգենի մինիմումը (15-րդ օրը):

Սաղմի զարգացման ընթացքում գեղնուցում գլիկոգենի սինթեզման ասկայությունը, բնական է, պետք է պայմանավորված լինի բուն իսկ գեղնուցի ինսուլինի գործունեությամբ:

Գեղնուցային պարկում գլիկոգենի սինթեզը գեղնուցի նկատմամբ ընթանում է անհամեմատ ինտենսիվ կերպով: Սաղմի զարգացման ընթացքում գեղնուցային պարկում գլիկոգենը հասնում է իր մաքսիմումին 19-րդ օրը, որից հետո աստիճանաբար այդ քանակը նվազում է: Ըստ երևույթին գեղնուցային պարկն օժտված է ինսուլյար բջիջների ակտիվ գործունեությամբ:

Գեղնուցալին պարկում կապված և ազատ գլիկոգենի քանակները սաղմի զարգացման շրջանում միշտ էլ բարձր մակարդակների վրա պահպանվում էին 2—3 անգամ ավելի, քան գեղնուցում ու սաղմի հյուսվածքում:

Սաղմի հյուսվածքում գլիկոգենի քանակը սաղմի զարգացման ընթացքում շատ խիստ փոփոխվում է, տալով մի շարք մաքսիմումներ և մինիմումներ: Անհրաժեշտ է նշել, որ սաղմի հյուսվածքում կապված և ազատ գլիկոգենի մաքսիմումները և մինիմումները համընկնում են միմյանց:

Սաղմում գլիկոգենի քանակի բարձրացումը նկատվում էր 9-րդ օրը, իսկ 18-րդ օրը հասնում է իր մաքսիմումին:

Սաղմի հյուսվածքում գլիկոգենի քանակը չի գերազանցում 90 մգ  $\frac{1}{10}$ :

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Bernard Cl. J. physiol. 2, 335, 1895, 1 цит. по Лейбсону Л. Физиологич. журнал СССР, 34, 303, 1950.
2. Jordan P. Zellforsch u tier, Anat, 6, 558, 1928.
3. Владимиров Г. Е. Bioch. Ztsphr, 224, 69, 79, 1930.
4. Лейбсон Л. Г. Физиологич. журнал 2, 696, 1950.
5. Good C., Kramer H. and Somo Guy M. J. Biol. Chem. 100, 485, 1933.
6. Willstatter R. u Rohdewold M. Ztschr, f. physiol. Chem. 224, 103, 1933.
7. Хайкина Б. И. Доклады АН СССР, 111, 5, 1061, 1956.
8. Szepesenwol I. u Partridge M. J. physiol. 168, 175, 1952.
9. Needham J. Chem. Embryol. v. III, 1342, Лондон, 1931.
10. Shikunami S. exp. Med. 10, 1931. цит. по Needham J. v. III, 1343, 1931.
11. Car Ison A., Drennan F. J. Biol. Chem. 17, 19, 1914.