

3483 ס

מינהל המחקר החקלאי  
המכון לבטלי-חיים

# היבטים בקינטיקה של הגלוקוז בעוף הבית

מאת

גד ריזנפלד

בולטין חסי 202

05  
15N

המחלקה לפירסומים מדעיים  
מרכז וולקני בית-דגן

המחלקה המרכזית  
לחקלאות  
בית-דגן

1979

## ה ב ע ת ת ו ד ה

הספריה המרכזית

למדעי החקלאות

ברצוני להודות למדריכי פרופ' ש' הורוויץ ופרופ' ע' ברמן

על הדרכתם המסורה.

לד"ר א' בר, למר א' איזנר, לגב' ר' דריליך ולגב' מ' קוטר

על עזרתם.

הספריה המרכזית

למדעי החקלאות

עבודה זו מוקדשת לזיכרם

של שאול אבס ודב שמיר ז"ל.

## תוכן העניינים

### עמוד

1	1. <u>מבוא</u>
1	1.1 הומאוסטאזיס הגלוקוז
1	1.1.1 המודל הבסיסי
2	1.1.2 ספיגת גלוקוז במערכת העיכול
4	1.1.3 הבקרה ההורמונלית של רמת הגלוקוז
6	1.2 מטאבוליזם האנרגיה וטרמורגולציה
7	1.2.1 מקורות האנרגיה וניצולם
9	1.2.2 ויסות טמפרטורת הגוף
11	1.3 הקינטיקה של הגלוקוז
11	1.3.1 הגישה המתודולוגית
	1.3.2 הקינטיקה של הגלוקוז במצבים פיזיולוגיים
14	שונים
16	1.4 הדגשים במטאבוליזם האנרגיה והגלוקוז בעוף הבית
17	1.5 מטרות העבודה וחשיבותה
18	2. <u>חומרים ושיטות</u>
18	2.1 חיות הניסוי
18	2.2 ספיגת גלוקוז ועיכול עמילן
18	2.2.1 מהלך הניסוי
19	2.2.2 הקביעות הכימיות והרדיואקטיביות
20	2.2.3 חישובים

## עמוד

20	מטאבוליזם הגזים	2.3
21	מערכת הזרימה הפתוחה	2.3.1
22	חישובים	2.3.2
23	הקינטיקה של הגלוקוז	2.4
23	קנולציה, הזרקה ודגימה	2.4.1
24	קביעת הגלוקוז	2.4.2
25	קביעת ה- $CO_2$	2.4.3
25	חישובים	2.4.4
26	הרכב הגופה	2.5
26	קביעת גליקוגן	2.5.1
26	קביעת שומן	2.5.2
27	קביעת חלבון	2.5.3
27	סטאטיסטיקה	2.6
28	<u>תוצאות</u>	3.
28	המודל הבסיסי של קינטיקת הגלוקוז	3.1
28	הגלוקוז בפלסמה	3.1.1
30	עקומת האקטיביות הספציפית של הגלוקוז	3.1.2
32	המודל של הגלוקוז ב-Steady State	3.1.3
34	האקטיביות הספציפית של ה- $CO_2$	3.1.4
35	ספיגת גלוקוז ועיכול עמילן לאורך המעי	3.2
35	בחירת סמן בלתי ניספג	3.2.1
36	ספיגת גלוקוז ועיכול עמילן	3.2.2

## עמוד

37	3.3	ניצול מאגרי האנרגיה
38	3.3.1	חילוף הגזים
39	3.3.2	הרכב גופה
41	3.4	הקינטיקה של הגלוקוז ומטאבוליזם האנרגיה
41	3.4.1	המודל הקינטי של פחמן הגלוקוז ושל יצור החום
	3.4.2	הקינטיקה של הגלוקוז ויצור החום בעופות
43		שבעים ומורעבים
	3.4.3	הקינטיקה של הגלוקוז ויצור החום בעופות
46		נורמותרמים, היפותרמים והיפרתרמים
53	4.	<u>ד י ו ן</u>
53	4.1	ספיגת גלוקוז ועיכול עמילן
53	4.1.1	עיכול עמילן
54	4.1.2	ספיגת גלוקוז
57	4.2	ניצול מאגרי האנרגיה
57	4.2.1	המטאבוליזם הנשימתי בתנאי שובע ורעב
58	4.2.2	השפעת צום על הרכב גופה
60	4.3	הקינטיקה של הגלוקוז
60	4.3.1	הגלוקוז בפלסמה - מודל בסיסי
63	4.3.2	הקינטיקה של הגלוקוז ויצור החום
66	4.3.3	הקינטיקה של הגלוקוז בעופות שבעים ומורעבים
	4.3.4	הקינטיקה של הגלוקוז בעופות היפותרמים,
71		נורמותרמים והיפרתרמים
75	5.	תמצית העבודה
78	6.	רשימת ספרות
100	7.	נספחים

## מ ב ו א

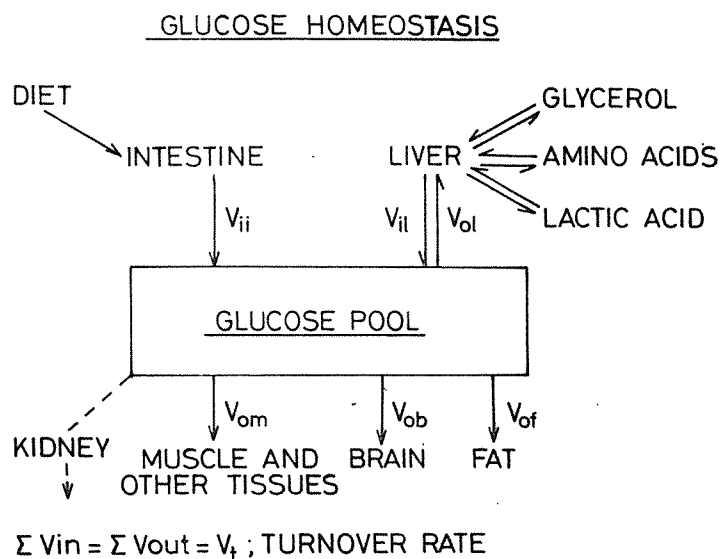
### 1.1 הומאוסטאזיס הגלוקוז

הגלוקוז הוא מקור האנרגיה העיקרי בכמותו במזון, הראשון בזמינותו לחימצון, והינו חיוני כדלק מטאבולי לחלק מהרקמות (עצבים, אריטרואיטים). רמתו בדם ובנוזלים האקסטראצלולריים יציבה, ומאפשרת את אספקתו הרציפה בתנאי הזנה וניצול משתנים. ריכוז הגלוקוז בדם של יונקים שונים הוא כ-100 mg/dl ופי 2-3 בעופות (Bell 1971).

#### 1.1.1 המודל הבסיסי

קיום המצב ההומאוסטאטי מתאפשר הודות לאינטראקציה מורכבת בין התת-מערכות המווסתות את הפרשת ההורמונים ואת אגירת הגלוקוז וניצולו (Finkelstein 1975). במערכת זאת, הכבד והפנקריאס הם אברים מווסתים ומבקרים, והרקמות הפריפריות הן צרכני הגלוקוז וספקי חומרי-הגלם לסינתוזו (Charette 1969). אינפורמציה על סטיות ברמת הגלוקוז (היפוגליצמיה, היפרגליצמיה) פרופורציונלית לסטיה ברמה, או לקצב הסטיה (דריווטיבית), או לסטיה המצטברת (אינטגרלית), מועברת לרגולטורים של רמת הגלוקוז-למאגרו ולאזורי ניצולו (Goldman 1960). בעוד רמת הגלוקוז בשארית קבועה - משתנים הקצבים של אספקתו וניצולו, מצב המוגדר כ-steady state (Newsholme 1973). במצב זה שווה סכום קצבי הכניסה של הגלוקוז למאגר - לסכום קצבי היציאה ממנו - הוא קצב השיחלוף (glucose turnover), (ציור מס' 1). הרגולציה של רמת הגלוקוז מתבצעת על התהליכים המטאבוליים הקשורים לאספקת הגלוקוז לדם או להוצאתו ממנו. קצב הכניסה של הגלוקוז למאגר הוא הסכום של קצב כניסתו מהמעיי ( $V_{i1}$ ) על-ידי ספיגה וקצב כניסתו מהכבד ( $V_{i2}$ ). קצב הכניסה מהכבד לדם נקבע על-ידי קצב פירוק הגליקוגן (glycogenolysis) וקצב סינתזת הגלוקוז (gluconeogenesis). פירוק גליקוגן חל גם בשריר, אך איננו מוציא גלוקוז למאגר. במצב של צום שווה קצב שיחלוף הגלוקוז לקצב סינתוזו ושחרורו מהרקמות הגלוקוני-

אוגניות (כבד וכליה). קצב היציאה מורכב מסכום היציאות לצרכים השונים ברקמות ובאברים. היציאה לצרכי חימצון חלה בכל הרקמות, ובעיקר לשריר ( $V_{om}$ ) הצורך גלוקוז מהמאגר גם לסינתזת גליקוגן (glycogenesis). בתנאי מחסור בגלוקוז יכול השריר לחמצן גם חומצות שומניות. לא כן רקמת העצבים, שלה מהווה הגלוקוז מקור אנרגיה חיוני ( $V_{ob}$ ) והמחמצנת, בעיקר בצום, גם גופיפי קטן (Newsholme 1973). הגלוקוז מהווה גם פרקורסור לסינתזת שומן ( $V_{of}$ ), החלה ביונקים בכבד וברקמת שומן (Masoro 1968), ובעופות - בעיקר בכבד (Goodridge 1967). הרגולציה ההורמו-נלית של הומאוסטאזיס הגלוקוז מתבצעת דרך השפעת ההורמונים על הנתיבים המטבוליים ברמה הצוללרית - על קצב פעולתם והאינטראקציה ביניהם (נספח מס' 2).



ציור מס' 1: הכניסות והיציאות למאגר הגלוקוז לפי Ganong (1975).

### 1.1.2 ספיגת גלוקוז במערכת העיכול

המקור העיקרי לאספקת גלוקוז הוא המזון, שצריכתו מושפעת מרמת הגלוקוז בדם (התיאוריה הגלוקוסטטית) ומגורמים אחרים (Robinson 1976); (Mayer 1967, 1968). ספיגת הגלוקוז, שרובו מתקבל מהידרוליזה של עמילן, נעשית ביונקים ובעופות בעיקר בחלקים העליונים של מערכת העיכול (Levin 1976); (Herman 1974). יוצאי-דופן הם מעלי-גירה בוגרים, שבהם מקור הגלוקוז הוא סינתוזו ברקמות הגלוקוניאוגניות (Young 1977). ספיגת הגלוקוז דרך דופן המעי הוא תהליך אקטיבי הצורך אנרגיה, החל נגד מפל הריכוזים ותלוי בנוכחות של יוני נתרן (Levin 1976).



רוב העבודות בנושא זה נעשו בתנאי *in vitro* ו-*in situ*. עבודות שנעשו *in vivo* מראות כי קלימים מנגנונים נוספים, פאסיביים או אקטיביים, שאינם תלויים ביוני נתרן. ליוני הנתרן תפקיד הקשור לשלב מעבר הגלוקוז ממקום הימצאו על גבי הממברנה של תאי דופן המעי הפונה לחלל המעי (enterocyte's brush border luminal membrane) מנגנון הפעולה האפשרי של יוני הנתרן - הוא גרימת שינוי בסימטריה ובאפניות של הנשא (carrier) הממברניאלי הנקשר לסוכר (Crane 1960), או שהשפעתו היא על המוביליות של הנשא (Goldner 1969). אפשרות אחרת היא שהנתרן גורם לצימוד בין תהליכי הטרנספורט של הגלוקוז לפעילות האנזים הממברניאלי  $\text{Na}^+, \text{K}^+ - \text{ATPase}$  (Kimmick: 1970). מודל אחר מציע, ש"הכוח המניע" של מעבר הסוכר הקשור לנשא הטעון - הוא הפרש הפוטנציאלים האלקטרוכימי של הנתרן משני צידי הממברנה (Hopfer 1973). בידודו ואיפיונו של הנשא בחיות עילאיות - לא נעשו; ומנגנון פעולתו איננו ברור. מעבר הסוכר לאורך התא לכיוון הסרוזי ודרך הממברנה הבאסולטרלית של האנטרוטציט היא, כנראה, פאסיבית ומונעת על-ידי הפרש הריכוזים (Levin 1976). רבים מהמנגנונים המעורבים בספיגת סוכרים ביונקים נמצאים ופועלים גם בעופות (Hudson 1971, Annison 1974).

מקום ספיגת הגלוקוז לאורך המעי *in vivo* לא נקבע בעופות, על אף היותה שאלה בסיסית. ספיגת הגלוקוז *in vivo* תלויה בריכוזו (Murakami 1977). בניסויים *in vivo* היו ריכוזי הסוכר לא פיזיולוגיים (Hudson 1971), דבר המשפיע על יכולת הספיגה (Levin 1976). נראה שקביעתו של Mitchel (1975), שהאפניות של מכניזמים לספיגת גלוקוז באיליום רבה יותר מאשר ב-Jejunum, לעומת דעתו של Bogner (1963) הגורס שספיגת הגלוקוז בעופות חלה בעיקר בחלקים המרכזיים של המעי, או מסקנתם של Fearson וחובריו (1968) שאין הבדל בכושר הספיגה בין קטעי המעי השונים - סותרות לכאורה. הראשון בדק את הספיגה בעופות מורדמים (Levin 1976) ושני האחרים בדקו למעשה *in situ uptake* ולא הספיגה. מההיבט ההומאוסטטי מהווה המעי מקור גלוקוז עיקרי מבחינה כמותית, אולם קצב הספיגה מהמעי איננו מווסת על-ידי רמת הגלוקוז בפלסמה או קצב ניצולו, אלא בעקיפין - דרך צריכת מזון.

הכבד הוא האיבר המגיב לריכוזי הגלוקוז ודלק מטאבולי אחר (ח' שומניות, ח' אמיניות) בדם, ואף שמכסימום הייצור בו הוא רק כשליש מכפי שמספק המעי - הוא האיבר הרגולטורי העיקרי של הומאוסטאזיס הגלוקוז.

### 1.1.3 הבקרה ההורמונלית של רמת הגלוקוז

הבקרה האנדוקרינית של הומאוסטאזיס הגלוקוז נעשית בעיקר על-ידי אינסולין וגלוקגון, וכן מעורבים ישירות גם ההורמונים הגלוקוקורטיקואידים, אדרנוקורטיקורופין, פרוסטאגלנדינים, קטכולאמינים והורמון הגדילה (Martin 1976).

האינסולין מוריד את רמת הגלוקוז בדם - על-ידי הגברת חדירתו לתאים וניצולו שם. במקביל מדכא האינסולין סינתזת גלוקוז ומוביליזציה וניצול של דקל מטאבולי אחר. בהיזון-חוזר משפיע הגלוקוז על הפרשת אינסולין מתאי  $\beta$  שבפנקריאס ועל סינתוזו (Goodner 1976, Fajans 1976, Randle 1976). כמו כן מעודדים את הפרשת האינסולין גם חומצות אמיניות, חומרים שמאקטבים אדניל ציקלאז (אך לא אפינפריין), (Travis 1970), סטימולציה  $\beta$  אדרנרגית, פפטידים גסטרואינסטינליים, גלוקגון פנקריאטי (לא ברעב) וסומטורופין (Lucy 1972, Malaisse 1972; Turner 1973; Schatz 1974; Nakazo 1973). השפעותיו המטאבוליות של האינסולין הן על כל תאי הגוף. להשפעת אינסולין על השרירים נודעת חשיבות רבה למניעת היפרגליצמיה. רקמה זו היא צרכן גלוקוז ניכר אך גמיש בשימוש בו, בהתאם לזמינותו. האינסולין מגביר את חדירת הגלוקוז לתאי השריר (Goodner 1972), את הפוספורילציה שלו לגלוקוז 6 פוספט, ואת השימוש בו לגליקוליזה או גליקוגנזה (Krahl 1974). השפעה זאת היא בעיקר על-ידי עידוד סינתזת האנזימים הפעילים בנתיבים מטאבוליים אלה. הרגולטור העיקרי של רמת הגלוקוז בדם הוא הכבד (Stalmas 1976). עליה בריכוז הגלוקוז בדם גורמת הגברה של ניצולו על-ידי הכבד, ייצור גליקוגן והקטנה בפירוקו ובשיחרורו. לעומת זאת, ירידה ברמת הגלוקוז בדם גורמת תגובה הפטית לתיקון הסטיה על-ידי פירוק הגליקוגן, ובשלב שני - סינתזת

הגלוקוז. התפקיד הגלוקוסטאטי של הכבד מתאפשר על-ידי היכולת של אנזימי המפתח המשתתפים בניצולו או סינתוזו להגיב לשינוי בריכוז הגלוקוז בדם (Stalmas 1976). האינסולין משפיע על הרמה ועל הפעילות של אנזימי הגליקוליזה, הגלוקוניאוגנזה, הגליקוגנזה והגליקוגנוליזה, וכן על האנזימים הליפוגניים ועל אנזימים הקשורים בסינתזת חלבון בכבד (Martin 1976, Stalmas 1976). השפעה חשובה, מהאספקט ההומאוסטאטי, יש לאינסולין על רקמת השומן. רקמה זו הינה מאגר אנרגיה קומפקטי, המשתתף בשמירת הומאוסטאזיס הגלוקוז. כאשר עולה רמת הגלוקוז בדם עולה גם ניצולו לסינתזת שומן, וכאשר יורדת רמתו - מספקת רקמת השומן חומרי-גלם לגלוקוניאוגנזה ההפטית (Newsholme 1973). האינסולין מגביר את חדירת הגלוקוז לתאי הרקמה ואת סינתזת הטריגליצרידים (Martin 1976). הגברת הליפוגנזה מתאפשרת על-ידי עידוד הגליקוליזה, המספקת גליצרול ו-ATP (Avruch 1972, Lowenstein 1972). בו-זמנית מדכא האינסולין את פירוק השומן על-ידי עיכוב פעולת הליפאזות (Lowenstein 1972). על רקמת העצבים משפיע האינסולין בעיקר באופן עקיף - על-ידי השפעה על נוירונים ספציפיים הקשורים לוויסות צריכת המזון (Robinson 1976). חדירת הגלוקוז לתאי העצבים היא פאסיבית (Martin 1976).

הגלוקגון הוא ההורמון העיקרי הקשור במניעת היפוגליצמיה. הפרשתו מתאי  $\alpha_2$  בפנקריאס, מופעלת על-ידי ירידת ריכוז הגלוקוז. כמו כן מעודדים את הפרשת הגלוקגון ירידה בריכוז יוני קלציום (Leclercq-Meyer 1973), חומצות אמינו גלוקוניאוגניות, וסטימולציה סימפטטית (Unger 1974). הגלוקגון משפיע על פירוק הגליקוגן בכבד (אך לא בשריר, שבו ההשפעה היא של אפינפרין). ההשפעה הגליקוגנוליטית חלה על-ידי עידוד עליה ברמת ה-cAMP וחדירת יוני סידן. cAMP ויוני סידן קשורים לשלבי המכניזם הגורם לקיום רמה גבוהה של פוספורילאז a, שהוא האנזים הקובע את קצב הגליקוגנוליזה ההפטית (Exton 1972). הגלוקגון גורם גם לעידוד הגלוקוניאוגנזה ההפטית מלקטאט, ובשיתוף עם cAMP - גם מחומצות אמיניות גלוקוניאוגניות (Unger 1974). הגלוקגון והאינסולין פועלים בוויסות רמת הגלוקוז במצב של קיום

מזון זמין לבעל-החיים. במצב זה, שבו עולה רמת הגלוקוז אחרי כל ארוחה ויורדת בין הארוחות, קיימת רגולציה קצרת מועד על-ידי הורמונים אלו. הסובסטרט העיקרי לפעולתם הוא הגליקוגן ההפטי כרגולטור רגיש ומהיר של רמת הגלוקוז (Stalmas 1976). בצום של שעות אחדות אוזל הגליקוגן ההפטי, ואספקת הגלוקוז מתאפשרת על-ידי סינתזו מלקטאט הנוצר בגליקוליזה, מגליצרול הנוצר בליפוליזה, ומחומצות אמיניות שמקורן בפירוק חלבון (Masoro 1968, Ganong 1975).

### הורמונים אחרים גלוקוקורטיקואידים חיוניים למוביליזציה של חלבון, מעודדים

סינתזת אנזימים המקטלזים דאמינציה של חומצות אמיניות גלוקוניאוגניות ושל אנזימים גלוקוניאוגניים. כמו כן מעודדים סינתזת אנזימים ליפוליטים, מוביליזציה של חומצות שומניות ומעכבים סינתזת שומן (Liddle 1974). ACTH, CRF ופרוסטאגלינ-דינים מעורבים בהומאוסטאזיס הגלוקוז דרך השפעתם על הפרשת גלוקוקורטיקואידים וקטכולאמינים (Martin 1976). הקטכולאמינים, בעיקר אפינפרין, גורמים לאקטיבציה של נתיבים מטאבוליים הקשורים לאספקת גלוקוז ולניצולו. האפינפרין מעודד גליקו-גבוליזה וגליקוליזה בשריר, וגליקוגנוליזה וגלוקוניאוגנזה בכבד. כמו כן הוא מעודד ליפוליזה וניצול חומצות שומניות במטאבוליזם החימצוני בשריר (Goodman 1971). רוב האפקטים הצלולאריים של האפינפרין מופעלים בקשר ל-cAMP (Axelsson 1971). סומטוטרופין (GH) מעודד גלוקוניאוגנזה הפטית מפירובאט, וכן מוביליזציה וקטאבוליזם של ליפידים (Goodman 1974).

## 1.2 מטאבוליזם האנרגיה וטרמורגולציה

ביטוי לקיום חיים - הוא שחרור אנרגיה, העברתה וניצולה (Newsholme 1973). כדי לנצל את האנרגיה המשתחררת ממקורותיה יש לאצור אותה בקשרים עתירי אנרגיה, בדרך-כלל ATP. מנקודת-ראות ביוכימית נמדדת היעילות של ריאקציה או של נתיב מטאבולי ביעילות הפקת ה-ATP מהסובסטרט המתחמצן. החום הנפלט במטאבוליזם החימצוני, במהלך העברת האנרגיה, נחשב לבזבז (Sryer 1975). לעומת גישה זאת,

רואה הפיזיולוג בחום המשתחרר את הצלחתה של החיה ההומאותרמית להתקיים בטמפרטורות סביבה נמוכות מטמפרטורת גופה. עניינו של פרק זה הוא לסקור את מקורות האנרגיה וניצולם לשמירת ההומאותרמיות, תוך הדגשת חלקו של הגלוקוז.

### 1.2.1 מקורות האנרגיה וניצולם

מקורות האנרגיה במזון הם פחמימות, שומנים וחלבונים. אחרי ספיגתם והובלתם לתאי הגוף הם מנוצלים באחת משתי דרכים אלה: א. חימצונם דרך אצטיל קו-אנזים A, מעגל החומצה התלת-קרבוקסילית והפוספורילציה האוקסידאטיבית. ב. סינתוזם מחדש למאגרי הגוף (שומנים, חלבונים, גליקוגן), המנוצלים בדרך-כלל בשלב מאוחר יותר (Stryer 1975). רמת חילוף החומרים (metabolic rate) מבטאת את סה"כ ליצור החום בחיה ונמדדת לפי צריכת החמצן (Brody 1945). השינויים ברמת חילוף החומרים, בעיקר כפונקציה של טמפרטורת סביבה, נלמדו ונסקרו בספרות בהרחבה ביונקים (Galíneo 1964) ובעופות (Barott 1946). שינויים אלו מראים על יכולתו של בעל-חיים להגביר את ליצור החום שלו בטמפרטורות סביבה נמוכות מהטמפרטורה הקריטית התחתונה של האיזור התרמונאוטרלי (King 1964).

רמת חילוף החומרים אינה אומרת ולא כלום על סוג הדלק המטאבולי המתחמצן. כדי להעריך את מקורות החימצון יש לקבוע את היחס בין צריכת החמצן לפליטת ה- $\text{CO}_2$  ( $RQ$ ). יחס זה נקבע בחיות השונות בעיקר בתנאי שובע ורעב, ונמצא קרוב ל-1.0 בבע"ח שבע וכ-0.7 ברעב (Freeman 1971). ב- $RQ$  קרוב ל-1.0 מהווה הגלוקוז סובסטרט עיקרי בחימצון, ובערך של 0.7 מהווים שומנים וחלבונים דלק מטאבולי עיקרי (Stryer 1975). המקדם הנשימתי מאפשר רק להעריך, אך לא לקבוע במדויק, את קצב החימצון הספציפי של דלק מטאבולי מסוים ותרומתו לייצור החום (Pirnay 1977). כמו כן אין בגישה זאת להסביר ערכי  $RQ$  הגבוהים מ-0.1 או נמוכים מ-0.7 (Sturkie 1954). זאת כנראה הסיבה, שסקירותיהם הספרותיות של Whitton (1976) ו-Freeman (1971), העוסקות במטאבוליזם האנרגיה וחילוף הגזים בעופות, אינן

מסבירות את החריגות שהתקבלו מהתחום של 0.7-1.0 שהתקבל במקדם הנשימתי בעבודתו-תיהם של Annison וחובריו (1969) ו-Romijn וחובריו (1964). לפי ערכי ה-RQ ורמת חומצות שומניות בדם הגיעו Tasaki וחובריו (1969) למסקנה, שקטאבוליזם הפחמימות בעופות שבעים הוא מקור של 87% מצריכת האנרגיה, ואת יתרתה מספק חימצון חלבונים (Freeman 1971). אחרי צום של 24 שעות עולה תרומתם של השומנים לכדי 30% מאספקת האנרגיה בעוף, בעוד שתרומת החלבונים איננה משתנה. כעבור שני ימי צום יורדת תרומת הפחמימות לכדי 4% בלבד מצריכת האנרגיה (Freeman 1971).

ערכים אלו סותרים את דעתו של Annison, שהיה היחיד שבדק בעופות את תרומת הגלוקוז וחומצות שומניות לאספקת האנרגיה במטאבוליזם החימצוני (בשיטה ישירה של שימוש בגלוקוז וחומצות שומניות רדיואקטיביים (Annison 1969). Annison וחובריו (1966, 1969) נתנו לעופות שבעים ומורעבים סובסטרטים רדיו-אקטיביים ( $^{14}\text{C}$ ) וקבעו את סילוקם מהדם והופעתם ב- $\text{CO}_2$  הנפלט. הערכתם היתה, כי חימצון הגלוקוז תורם 19%-ו-7% מייצור החום בעוף השבע והרעב, בהתאמה. את תרומת החומצות השומניות העריכו בכ-45%. בכלבים (Paul 1975), חולדות Shipley, חזירונים-ים (Wolfe 1977) ובני אדם (Young 1967) תרם הגלוקוז כ-10%-30% מה- $\text{CO}_2$  הנפלט בנשימה. עבודות אלו בוצעו בחיות מורעבות 12 שעות או יותר. תרומת הגלוקוז לייצור ה- $\text{CO}_2$  נבדקה בהשפעת צום בחולדות (Shipley 1975, Freminet 1976) והיתה כ-30% וכ-16% בחיות שבעות ורעבות, בהתאמה. ירידה בקצב החימצון ובתרומתו היחסית לייצור ה- $\text{CO}_2$  בצום נקבעו בעבודות אלו, אך הקשר בין ייצור החום לקינטיקה של הגלוקוז עדיין לא נחקר ישירות.

שיטה ניסויית נוספת להערכת ניצול מאגרי האנרגיה - היא על-ידי קביעת הרכב גופה. לפי הרכב הגופה אפשר לקבוע את התוספת או הדילדול נטו של מאגרי האנרגיה. כדי להעריך את תרומתם לייצור החום יש להניח שהשינוי בכמות המאגר הנבדק נבעה מפירוקו או סינתוזו בלבד, ולא מקיום סימולטני של הנתונים המטאבוליים

המנוגדים. הנחה זאת לגבי עופות מורעבים נכונה כנראה לגבי סינתזת שומן הנפסקת כמעט לחלוטין אחרי צום של שעות אחדות (Yeh Yu-Yan, 1970). סינתזת גליקוגן בכבד עופות לא נבדקה, אך כמותו ברקמה פוחתת באופן דראסטי תוך 6 שעות צום (Davison 1975).

## 1.2.2 ויסות טמפרטורת הגוף

בבעלי-חיים הומאותרמיים קיים שוויון בין ייצור החום לאיבודו. מנגנוני ייצור החום והפסדו לסביבה מבוקרים על-ידי מרכזים היפותלמיים (Bligh 1971, Myers 1970, Feldberg 1970) באמצעות מערכת העצבים האוטונומית (Ogata 1971, Maickel 1970). התגובות הטרמורגולטיביות מופעלות ביונקים ובעופות, לפי הפער באינפורמציה התרמית המגיעה להיפותלמוס הקדמי מסנסורים פריפריים והיפותלמים, לבין set point יוני בהיפותלמוס הקדמי (Myers 1970, Scott 1972). איבוד חום לסביבה נעשה בדרך של קרינה, הולכה והסעה (חום מורגש). איבוד חום פיזיקלי זה מוגבר על-ידי וסודילטציה פריפרית ואפקטיבי בטמפרטורות סביבה נמוכות מהנקודה הקריטית העליונה. בטמפרטורות סביבה גבוהות יותר מופעלת ביונקים ההזעה, ובעופות - האידוי הנשימתי, על-ידי נשימה מואצת (panting) (Richards 1970, 1971). המנגנונים העיקריים המאפשרים את שמירת היציבות של טמפרטורת הגוף הם מנגנוני ייצור החום. מנגנונים אלו מופעלים בהתאם לטמפרטורת הסביבה והם נסקרו בהרחבה ביונקים (Galineo, 1964) ובעופות (Whittow 1976). סקירה זאת תתרכז בדיון קצר בייצור החום מהאספקט הצלולרי ובקשר בין ייצור החום ובין הומאוסטאזיס הגלוקוז. קיימות שתי דרכים צלולריות לייצר חום. האחת על-ידי הידרוליזה של ATP, והשניה על-ידי חימצון סובסטרטים והעברת אלקטרונים בשרשרת הנשימה המיטוכונדריואלית (Stryer 1975, Hochachak 1974). אפשר להגביר את ייצור החום על-ידי הגברת הידרוליזה של ATP במנגנון כל שהוא, תהליך הגורר סטימולציה לסינתזה מחודשת של ATP והגברת החימצון.

אפשרות נוספת היא על-ידי הפרדה בין זרימת האלקטרונים בשרשרת הנשימה לבין סינתזת ה-ATP (uncoupling respiration), תהליך הגורר הגברת החימצון וייצור החום ללא סינתזת ATP (Hochachak 1974). בטמפרטורות סביבה נמוכות מטמפרטורת האיזור התרמונאוטרלי מופעל, ביונקים ובעופות, ייצור חום על-ידי רטט שרירים (shivering). ייצור החום במנגנון זה נובע מהידרוליזה של ATP, ויעילותו רבה בהעדר עבודה של השריר (Himms-Hagen 1976). הפעלתו של מנגנון זה היא מיידית ונעשית על-ידי מערכת העצבים האוטונומית (Hochachak 1974). בחשיפה ממושכת לקור מופעל המנגנון התרמוגני השניוני, המבוקר על-ידי ההורמון התירואידלי. הורמון זה מגביר את פעולת המיטוכונדריות, שבהן מופקים כ-75% מהחום הנוצר במטאבוליזם החימצוני, אך בעיקר הוא מגביר את פעילות האנזים ATP ase,  $K^+$ ,  $Na^+$  ברוב הרקמות (Hochachak 1974). בדומה לרטט שרירים מופק החום מהידרוליזה של ATP. ירידה ביחס ATP/ADP+P<sub>i</sub> גורמת עליה בפוספורילציה האוקסידאטיבית ובסינתזת ה-ATP (Newsholme 1976). אפקט קלורוגני יש גם לקטכולאמינים, המעודדים מוביליזציה של דלק מטאבולי וחימצונו, ומעבר יונים דרך ממברנות דרך השפעתם על רגולטורים צלולריים כ-cAMP (Himms-Hagen 1975). קטכולאמינים מעודדים גם ייצור חום על-ידי רקמת השומן החום (Horowitz 1978). רקמה זאת איננה קיימת בעופות (Freeman 1971), והיא אופיינית ליונקים צעירים ולחיות שעוברת עליהם תרדמת חורף (hibernators). ייצור החום ברקמה זו חל על-ידי חימצון חומצות שומניות מקומיות. חימצון זה מוגבר על-ידי uncoupling בפוספורילציה האוקסידאטיבית המגבירה את מעבר האלקט-רונים בשרשרת הנשימה. האטרקטיביות במנגנון זה היא בהיות החומצות השומניות גם הסובסטרט וגם הגורם ל-uncoupling (Hochachak 1974). בנוסף לחימצון מופק ברקמה חום על-ידי הידרוליזה של ATP במעגל המטאבולי העקר של פירוק שומן וסינתוזו (TG → FA + Glycerol → TG) (Newsholme 1973). נתיבים מטאבוליים עקרים (futile cycles) נמצאו במטאבוליזם הגלוקוז בכבד יונקים ועופות (Katz 1976) בנתיבים אלו נצרך ATP ומופק חום, אך ספק אם הם מנגנוני ייצור



חום בבעלי חוליות (Katz 1976).

### 1.3 הקינטיקה של הגלוקוז

מטאבוליזם הגלוקוז כולל מספר רב של ריאקציות ביוכימיות המאורגנות בנתיבים מטאבוליים. נתיבים אלו מבוקרים על-ידי רגולטורים צלולריים. המערכות המווסות את התהליכים המטאבוליים פועלות ברמות סטרוקטורליות שונות באורגניזם. רוב האינפורמציה האיכותית הקשורה למטאבוליזם הגלוקוז התקבלה במחקרים שנעשו *in vitro*. שאלות פיזיולוגיות *in vivo*, כגון מהו קצב סינתזת הגלוקוז בכבד, מהו שיעור התרומה של סובסטרטים שונים לסינתזת הגלוקוז בתנאים פיזיולוגיים שונים, מהי צורת הבקרה של הפונקציה הגלוקוסטטית של הכבד, ושאלות רבות אחרות – לא נענו, וגרמו התפתחות רבה של מחקר הקינטיקה של הגלוקוז *in vivo* (Vranic 1974, Ramberg 1977). גישה זאת מנסה לעקוב אחר תהליכים מטאבוליים *in vivo*, ולפתח דרכי מדידה אמינות ומודלים המתארים את המצב הביולוגי באורגניזם השלם.

#### 1.3.1 הגישה המתודולוגית

המחקר הקינטי מתבסס על שימוש בחומרים עוקבים (tracers), בדרך-כלל רדיואיזוטופים, המתנהגים מהבחינה הכימית והפיזיקלית כמו החומר הטבעי הנבדק, ואינם משפיעים על המערכת (Shipley 1972). אפשר לראות בגוף בעל-החיים מערכת של מאגרים (pools) הנוטים לשמור על גודל קבוע כתוצאה מקיום מצב של steady state (Browne 1966). הזרקה של עוקב רדיואקטיבי לגוף ודגימת המטאבוליט הנבדק ממדור כל שהוא (חלק ממערכת, אנאטומי, כימי או פיזיקלי, שבו האקטיביות הספציפית זחה) – מאפשרת לקבוע את גודל המדור, קצב ה-turnover שלו ופרמטרים קינטיים נוספים. המשתנה הנמדד הוא האקטיביות הספציפית (היחס בין הסמן לחומר הטבעי) במדור הנדגם, כגון היחס בין  $^{14}\text{C}$  glucose לגלוקוז בדם אחרי הזרקת  $^{14}\text{C}$  glucose. ממדור שבו נמצא הגלוקוז ב-steady state ואשר לתוכו יוזרק גלוקוז רדיואקטיבי

באופן חד-פעמי - יעלם הגלוקוז הרדיואקטיבי בהתאם לקינטיקה מסדר ראשון, ועקומת האקטיביות הספציפית תהיה אקספוננציאלית (Shipley 1972).

השיטה המקובלת לאנאליזה קינטית היא אנאליזה מדורית (compartmental analysis). לפי שיטה זו אפשר לקבוע את קצב הפיכת הגלוקוז למוצרים השונים (שומן, גליקוגן,  $\text{CO}_2$ ) אחרי הזרקה חד-פעמית (single dose) של גלוקוז רדיואקטיבי, קביעת האקטיביות הספציפית שלו ושל התוצרים וניתוח אקספוננציאלי של העקומות (Shipley 1972). לשיטה זו מספר מיגבלות: א. ריבוי מדורים יגרום ריבוי אקספוננטים וקושי בניתוח העקומה. ב. יש קושי בהתאמת נתוני האקטיביות הספציפית לעקומה רב-אקספוננציאלית מתאימה (Riggs 1963). ג. אין אפשרות לדגום באופן שוטף מהמדורים השונים (כבד, שומן) חוץ מהדם, דבר המצריך הריגה של חיות רבות. היתרון בשיטה היא הפשטות בהחדרת האיזוטופ בהזרקה חד-פעמית. בהתבסס על העקרונות שתוארו ובתוספת הנחות מעשיות לפישוט ניתוח התוצאות, הראו Shipley וחבריו (1967) שאין צורך באנאליזה מדורית מסובכת לקביעת הקינטיקה של הגלוקוז בחולדה, כפי שעשו הוא וחבריו בניסויים קודמים (Baker 1959). בכך התגברו על המיגבלה של הסיבוכן האנאליטי, אך לא על הקושי הניסויי שחייב להרוג מספר רב של חיות בפרקי-זמן שונים מההזרקה. על קושי זה התגברו Baker וחבריו (1972) בכך שפיתחו מודל חצי מדורי (semi-compartmental model), שהסתפק בקביעת האקטיביות הספציפית של הגלוקוז בדם לאורך זמן ושל התוצרים (end products) רק בנקודה אחת. בשיטה זו התגברו על מיגבלות א ו-ג. כדי להתגבר על מיגבלה ב, פיתחו Katz וחבריו (1974) מודל בלתי מדורי. קביעת הפרמטרים של קינטיקת הגלוקוז התבססה על עקומת האקטיביות הספציפית של הגלוקוז בדם בלבד ועל ניתוחה הגרפי הפשוט.

בשיטות שתוארו עד כה מוזרק הגלוקוז הרדיואקטיבי באופן חד-פעמי. תוך שימוש בטכניקה של אינפוזיה קבועה (constant infusion) של גלוקוז רדיואקטיבי אפשר להגיע לאקטיביות ספציפית קבועה בדם, וכך לחשב פרמטרים כמו קצב שיחלוף, אחוז  $\text{CO}_2$  שמקורו בגלוקוז ואחרים, ללא צורך בניתוח עקומה מולטי-אקספוננציאלית

(Shipley 1972). שיטה זו פותחה על-ידי Stetten (1951), נוסחה בהצלחה בכלבים על-ידי Searle וחבריו (1954), ונעשתה פופולרית על-ידי Steel וחבריו (1956), ומאז היא בשימוש רב בחיות שונות. לשיטת ה-constant infusion שני וריאנטים: האחד - עם הזרקה חד-פעמית (priming dose) לפני התחלת האינפוזיה, והשני - בלעדיה. לווריאנט הראשון יתרון של קיצור הזמן, המושג מהתחלת האינפוזיה עד התייצבות האקטיביות הספציפית, ולשני יתרון של פשטות-יתר בחישוב המתמטי (Eldridge 1975). לעומת היתרון האנאליטי של שיטת ה-constant infusion נראה חסרונה הטכני בצורך בקנולציה לכלי הדם וקיום אינפוזיה קבועה וממושכת. בשנים האחרונות פותחו שיטות טכניות ואנאליטיות לחקר הקינטיקה של הגלוקוז באברים ספציפיים, במדורים שאינם ב-steady state ובמצבים פיזיולוגיים משתנים בזמן הניסוי (Radjiuk 1978, Ramberg 1977).

חשיבות רבה יש לבחירת סוג הגלוקוז הרדיואקטיבי המוזרק בגלל מיחזור הגלוקוז (glucose recycling) והמעגלים המטאבוליים העקרים (futile cycles) בכבד. מיחזור הגלוקוז הוא התופעה שבה מוצרי הקטאבוליזם של הגלוקוז, ברקמות הפרי-פירות, משמשים כפרקורסורים לסנתזה מחודשת של גלוקוז (Altzuler 1975).

(Dunn 1976). השימוש החוזר בפחמן הגלוקוז גורם שינוי בעקומת האקטיביות הספציפית של ה- $^{14}\text{C}$  glucose והערכה מועטה מדי של קצב השיחלוף (Dunn 1976). כדי להתגבר על טעות זאת ולחשב את שיעור המיחזור, פיתחו Dunn וחבריו (1967) שיטה שלפיה מזריקים תערובת של  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ -glucose. לפי האקטיביות הספציפית של ה- $^3\text{H}$  glucose מחושב קצב שיחלוף הגלוקוז, ולפי ההפרש בין שתי העקומות - מחושב שיעור המיחזור. ההנחה שבשימוש בגלוקוז המסומן במימן היא שהמימנים מוסרים ממולקולות הגלוקוז בקטאבוליזם שלו ברקמות האקסטרהפטיות, ולא על-ידי שיחלוף לא מטאבולי (Katz 1976, Hetenyi 1970). אולם התברר כי הנחה זאת איננה נכונה ומימנים מוסרים מהגלוקוז על-ידי הבתיבים המטאבוליים העקרים של הגלוקוז בכבד (Judson 1972, Hue 1974, Dunn 1976). עקומת האקטיביות הספציפית של  $^3\text{H}$  glucose 2 תלולה יותר בגלל המעגל העקר  $\text{glucose} \rightarrow \text{G6P} \rightarrow \text{glucose}$  בארנבות (Katz 1974) ובעופות (Brady 1977). נמצא כי קצב ההסרה של המימן השישי של הגלוקוז הוא מינימלי ולא

משפיע על החישובים הקינטיים (Dunn 1976). הצירוף של התערובת ( $6^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ) glucose הוא איפוא המתאים ביותר לחישוב קצב שיחלוף הגלוקוז ומיחזורו.

### 1.3.2 הקינטיקה של הגלוקוז במצבים פיזיולוגיים שונים

היבטים שונים של קינטיקת הגלוקוז נחקרו בבני אדם (Insel 1974), קופים (Soling 1973), כלבים (Brady 1977), חולדות (Lavau 1975), עכברים (Baker 1964), ארנבות (Katz 1974), חזירונים-ים (Wolfe 1976), כבשים (Judston 1972), פרות (1964, Kronfeld 1977) ועופות (Annison 1966, Belo 1976). את הניסויים השונים אפשר לחלק לשני סוגים: א. ניסויים בעלי אופי מתודולוגי, שפיתחו גישות ניסוייות ואנאליטיות ומודלים כמותיים ואיכותיים, המתארים את קינטיקת הגלוקוז. סוג זה נסקר בסעיף הקודם. ב. ניסויים בעלי אופי פיזיולוגי-לוגי, שבדקו את קינטיקת הגלוקוז במצבים פיזיולוגיים שונים, כגון בטמפרטורות סביבתיות שונות (Depocas 1959), בצום (Brady 1977), בהזרקת הורמונים או כריתת בלוטה אנדוקרינית (Steel 1959, Kronfeld 1964). סוג זה של ניסויים הוא מעניינו של סעיף זה.

באופן כללי נחקרה הקינטיקה של הגלוקוז במצבים פיזיולוגיים שונים ובצורה יסודית רק במידה מועטה. רוב העבודות לוקות בשימוש בשיטות לא אמינות (כגון שימוש ב- $^{14}\text{C}$  glucose בלבד), וכן לא נבדקו כלל מצבים פיזיולוגיים נפוצים כגון הקינטיקה במצב שובע או בהשפעת חימום. השפעת צום על קצב שיחלוף הגלוקוז נבדקה בבני-אדם (Balasse 1973), חולדות (Baker 1959), וכלבים (Brady 1977). בכל העבודות נמצאה האטה בקצב השיחלוף בהשפעת רעב שלא השתנתה אחרי 24 שעות צום. בכל העבודות שבדקו את השפעת הצום על קינטיקת הגלוקוז היתה קבוצת הביקורת postabsorptive, ולכן נבדק בה קצב השיחלוף בחיות רעבות, או שהבדיקות נעשו ב- $^{14}\text{C}$  glucose בלבד. מיגבלות אלו נמנעו רק בעבודותיהם של Freminet וחבריו (1976) בחולדות, ושל Belo וחבריו (1976) בעופות. בעבודות אלו הורעבו החיות

0, 24 ו-72 שעות וקינטיקת הגלוקוז נבדקה בהן בעזרת התערובת  $^{14}\text{C}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $\text{U}$  glucose (2).

בחולדות (300 גר') התקבלה ירידה בקצב שיחלוף הגלוקוז מ-14 ל-7 מ"ג/דקה. ק"ג מ-0 ל-24 שעות צום. ירידה זאת התייצבה ב-24 שעות צום. בשיעור המיחזור של הגלוקוז התקבלה ירידה מ-37% ל-26% מכלל שיחלוף הגלוקוז, שהיו כ-4 ו-1.3 מ"ג/דקה ק"ג מטאבולי. בעופות, ששקלו כ-4 ק"ג, התקבלה ירידה דומה בקצב השיחלוף, ואילו שיעור המיחזור נקבע רק בצום והיה כ-50% מקצב השיחלוף ב-24 שעות צום. השימוש ב- $^3\text{H}$  glucose 2 גורם להערכת-יתר של קצב השיחלוף והמיחזור בעופות בגלל המעגל המטאבולי העקר  $\text{glucose} \rightarrow \text{G6P} \rightarrow \text{glucose}$  בכבד (Brady 1977). בבדיקה שנעשתה בעופות, בעזרת הצורך האיזוטופי המתאים, לא נמצא שינוי בקצב השיחלוף ובשיעור המיחזור מ-1 עד 8 ימי צום (Brady 1978). עבודות אלו עדיין לא מספקות את האינפורמציה הבסיסית על קצב השיחלוף והמיחזור בחיה השבעה ועל השפעת צום על מדדים אלו.

עניין מיוחד יש בלימוד קינטיקת הגלוקוז בטמפרטורות סביבה שונות ובהפעלה של מנגנונים טרמורגולטיים שונים. עניין זה נובע מכך שהגלוקוז הוא דלק מטאבולי במטאבוליזם החימצוני הנצרך יותר בקור, בצד הצורך לשמור על רמתו היציבה. בחולדות נמצאה עליה של 60% בקצה השיחלוף ב-6 מ"צ בהשוואה ל-30 מ"צ. העליה בקצב חימצון הגלוקוז וברמת המטאבוליזם היתה בשיעור של 90% ותרומתו היחסית של הגלוקוז בייצור ה- $\text{CO}_2$  לא השתנתה (Depocas 1960). בכלבים שנחשפו לטמפרטורות סביבה של 25- מ"צ ולטמפרטורה תרמונאוטרלית היתה עליה בכל המדדים: צריכת החמצן עלתה מ-5 ל-40 מ"ל/דקה, קצב השיחלוף - מ-2.8 ל-6.25 מ"ג/דקה ק"ג, וקצב החימצון - מ-1.2 ל-4.1 מ"ג/דקה ק"ג. תרומתו של הגלוקוז ירדה מ-20% ל-12% מייצור ה- $\text{CO}_2$  (Pernod 1972). את עיקר האנרגיה בכלבים סיפקו חימצון השומנים (75%) וכ-15% סיפק הגליקוגן (Minaire 1973). תוצאות אלו לא חזרו על עצמן בכלבים שקוררו באופן פחות דראסטי (4 מ"צ) (Paul 1975). כלבים אלו, שצמו כ-22 שעות, לא הראו שינויים משמעותיים בקצב שיחלוף הגלוקוז ובחימצונו, וכן לא היה הבדל במדדים אלו בין חיות כרותות תירואיד לחיות הביקורת. בניסוי מאוחר יותר,

בכלבים שצמו 16 ו-26 שעות, נמצאה עליה של 80% בקצב השיחלוף בכלבים חשופים ל-25- מ"צ לעומת 25 מ"צ. בכלבים אלו נמצאה עליה גם במיחזור הגלוקוז בקור ובצום הממושך, אך לא בשיעורו היחסי לקצב השיחלוף בקור (Forichon 1976). קבוצת חוקרים זאת הראתה גם כי לאפינפרין היתה השפעה מדכאת על הפרשת אינסולין בקור, דבר שגרם ירידה בניצול הגלוקוז. חוקרים אלו הציעו כי לקור אפקט ישיר על הפרשת אינסולין על-ידי אקטיבציה של המערכת הסימפטטית של הלב (Forichon 1977).

מסקירת הספרות בנושא זה נראה, כי השפעת טמפרטורה על קינטיקת הגלוקוז נלמדה במידה מועטה. העבודות שבדקו את הקשר בין הקינטיקה של הגלוקוז למטאבוליזם האנרגיה לקו במדידות הקינטיות (Depocas 1960, Paul 1975, Minaire 1973), ואלו שבדקו את הקינטיקה בצורה מדויקת (Forichon 1976, 1977) לא הדגישו את הפרמטרים הנשימתיים כ-RQ וזיכור החום.

#### 1.4 ההדגשים במטאבוליזם האנרגיה והגלוקוז בעוף הבית (DOMESTIC FOWL)

מטאבוליזם האנרגיה בעוף הבית איננו שונה ברמה הצלולרית באופן מהותי מהמצוי ביונקים. הייחוד של העוף הוא ברמת הרקמה והאבר, באינטראקציה ביניהם וברגולציה של הפעלתם. ייחוד זה מתבטא בתכונות הפיזיולוגיות של האורגניזם. בסעיפי המבוא הקודמים הובאה האינפורמציה לגבי העופות בשילוב עם הסקירה הרלוונטית בכל סעיף. התכונות המיוחדות למטאבוליזם האנרגיה והגלוקוז בעוף הבית מובאות בסעיף זה.

- א. טמפרטורת גוף גבוהה - 41.7 מ"צ (King 1964).
- ב. סינתזת החומצות השומניות נעשית בעיקר בכבד ואגירתו כשומן חלה ברקמה השומנית (Sturkie 1976).
- ג. העדר שומן חום ו-N.S.T. הנובע מחימונו (Freeman 1971).
- ד. החומצות השומניות מהוות מקור אנרגיה ניכר במטאבוליזם האוקסידאטיבי בהשוואה ליונקים (Annison 1969).

- ה. רמת הגלוקוז בדם גבוהה פי 2-3 מכיונקים (Bell 1971).
- ו. קצב מהיר של שיחלוף הגלוקוז ומיחזורו (Belo 1976).
- ז. עמידות יחסית גבוהה להיפוגליצמיה בצום (Belo 1976) והיפוגליצמיה אופיינית בהיפותרמיה (Sturkie 1976).
- ח. קומפרטמנטציה צלולרית אופיינית של אנזימים גלוקוניאוגניים (Sarkar 1971, Dickson 1977).
- ט. רגישות קטנה יותר לאינסולין ורבה לגלוקגון, רגולציה הורמונלית ספציפית למטאבוליזם הגלוקוז (Hazelwood 1971, 1973).
- י. בקרת האכילה על-ידי הצריכה הקאלורית (Polin 1973) ובקרה גלוקו סטאטית פחותה (Smith 1974).

## 1.5 מטרות העבודה וחשיבותה

מטרות העבודה היו:

1. קביעת שיעור ספיגת הגלוקוז ועיכול העמילן וספיגתו לאורך המעי *in vivo*.
  2. פיתוח הגישה הניסויית לקביעת הקינטיקה של הגלוקוז, הכוללת את קצב סינתוזו בכבד ואת קצב חימצונו ומיחזורו.
  3. קביעת הקינטיקה של הגלוקוז בעופות שבעים ורעבים, וכן בחימום וקירור, תוך שימוש במערכת הניסויית ובמודל שיפוח בשלב ב'.
  4. קביעת חילוף הגזים, הרכב גופה וטמפרטורת הגוף במצבים הפיזיולוגיים השונים, וקביעת הקשר בין מדדים אלו לקינטיקת הגלוקוז.
- חשיבות העבודה היא בגישתה האינטגרטיבית לאספקטים שונים במטאבוליזם האנרגיה בעוף; הומאוסטאזיס הגלוקוז בדם וההומאוסטאזיס של טמפרטורת הגוף. פיתוח מודל ניסויי ואנאליטי לקביעת המדדים הקינטיים של הגלוקוז ושל ייצור החום והאינטראקציה ביניהם. לימוד הפיזיולוגיה של מצבים תזונתיים וחומניים בעזרת המודל הנ"ל.

## חומרים ושיטות

### 2.1 חיות הניסוי

חיות הניסוי היו עופות ממין *Gallus domesticus*, פטמים מגזע White rock בני 5-8 שבועות. גזע העופות וגילם נבחרו לאור ההנחה, כי אף שהעבודה לא תוכננה לענות על שאלות אפליקטיביות - הרי העמקת הידע הפיזיולוגי הקשור למטאבוליזם האנרגיה של הפטם בתקופה שלפני השיווק, עשוי להיות בעל משמעות כלכלית בישומו החקלאי. האפרוחים גודלו מגיל יום בסוללות, כלול הניסוי של מרכז וולקני בבית-דגן. התערובת בגיל האימון הכילה 21% חלבון, כ-2900 קאלוריות מטאבוליות, 1% סידן וכ-0.7% זרחן ובגיל פיטום - 18% חלבון, כ-3000 קאלוריות מטאבוליות, 1% סידן ו-0.65% זרחן. משקל העופות היה כ-1.300 ו-2.000 קג' בגיל של 5 ו-8 שבועות בהתאמה.

### 2.2 ספיגת גלוקוז ועיכול עמילן לאורך המעי

עיקרון השיטה לקביעת הספיגה והעיכול הוא השוואת היחס בין מרכיב המזון הנבדק לבין מסמן בלתי נספג במזון ובתוכן המעי.

#### 2.2.1 מהלך הניסוי

בניסוי ראשון בשלב זה נקבע המסמן הבלתי נספג (non-absorbed reference) המתאים להערכת ספיגת גלוקוז במערכת העיכול של עופות *in vivo*. קבוצת אפרוחים (6) בני 3 שבועות קיבלה תערובת סינתטית שהכילה 40% גלוקוזמונוהידרט (נספח מס' 1). אחרי תקופת הכנה של 5 ימים עורבבו לתוך הדייטה שני חומרים רדיואקטיביים כסמנים בלתי נספגים (Sklan 1975). האחד -  $^{51}\text{CrEDTA}$  המסיס והנע במעי ברובו יחד עם הפאזה הנוזלית, והשני  $^{91}\text{Y}$  המפוזר בין הפאזה המוצקה לנוזלית של תוכן המעי (Kotb 1972). בניסוי שני בשלב זה נקבעו שיעור הספיגה של גלוקוז וכן



שיעור העיכול של עמילן והמיקום של תהליכים אלו לאורך המעי. בניסוי זה היו חיות הניסוי פטמים (6 בקבוצה) בני 7 שבועות, שקיבלו בגיל זה דייטה סינתטית שהכילה כ-70% גלוקוזמונוהידרט או 70% עמילן תירס כמקור יחיד של קרבוהידרטים (נספח מס' 1). קבוצה נוספת קיבלה תערובת פיטום רגילה ושימשה כביקורת גדילה. אחרי תקופת הסתגלות של שבוע עורבב לתוך התערובת סמן בלתי נספג  $^{91}\text{Y}$ . חמישה ימים אחרי הכנסת הסמן (בשני הניסויים) נקטלו העופות בהזרקת 2ml, 160mg *pentobarbital natrium solution*, Abbott, Belgium. תוכן המעי של החיות הקטולות נאסף מיד, טופל ב-NaF למניעת פירוק הגלוקוז, קורר, ואחר-כך הוקפא. איסוף תוכן המעי נעשה לכל מקטע בנפרד.

#### 2.2.2 הקביעות הכימיות והרדיואקטיביות

לדגימות תוכן המעי נעשה הימגון במים והן הובאו לידי נפח סטנדרטי. מכל הומוגנט נלקחו דגימות לשם קביעת ריכוז הגלוקוז, כמות ה- $^{51}\text{Cr}$  ו/או כמות ה- $^{91}\text{Y}$  וכן לקביעת ריכוז העמילן.

קביעת רמת הגלוקוז נעשתה בשיטת *glucose oxidase* (Hassid 1957). דוגמת הומוגנט מהולה הוכנסה לאמבט מים ב-37 מ"צ עם האנזים *PGO enzymes*, sigma וריאגנט צבע. הריכוז נקבע לפי הצפיפות האופטית (O.D.) באורך גל של 450mμ (Sigma 1972), בדיוק של 1%.

קביעת עמילן נעשתה על-ידי קביעת גלוקוז לפני ההידרוליזה חומצית של דוגמת הומוגנט תוכן מעי ואחריה. ההידרוליזה נעשתה ב- $\text{H}_2\text{SO}_4$  2% במשך 6 שעות בבקבוקי מדידה מפירקס עם מערכת קירור ועיבוי (reflux). תנאי ההידרוליזה אלה איפשרו פירוק מלא של העמילן ללא הרס הגלוקוז או פירוק צוללוזה. אחרי ההידרוליזה נוטרלו הדוגמות ב-NaOH והובאו לידי נפח סטנדרטי (Hurwitz 1972).

קביעת רדיואקטיביות נעשתה לדוגמה מההומוגנט אחרי ליבוש ב-105 מ"צ, שריפה ב-600 מ"צ, המסת האפר בחומצה ההידרוכלורית (ריכוז סופי 0.5N) ומיהול לנפח סטנדרטי. המניה נעשתה במונה נצנץ מטיפוס נוזלי (liquid scintillation spectrometer Packard 3003) לקביעת כמות ה- $^{51}\text{Cr}$  ובמונה מטיפוס נצנץ גבישי

(autogamma spectrometer Packard 5019) לקביעת כמות ה- $^{51}\text{Cr}$ . המניות שהתקבלו

הוכפלו בפקטור תיקון בגלל השפעת איזוטופ אחד על התוצאה בערוץ המניה של

האיזוטופ השני (Sklan 1975).

### 2.2.3 חישובים

חישובי ספיגת הגלוקוז, עיכול עמילן וספיגתו (כגלוקוז) מתבססים

על הישתנות היחס בין הגלוקוז (והעמילן) לבין הסמן הבלתי נספג מהמזון לאורך מערכת העיכול ועד הצואה, הנובע מספיגת הגלוקוז בלבד. האחוז המצטבר של הספיגה נטו של מרכיב המזון בכל אחד מחלקי המעי חושב לפי הנוסחה:

$$\% \text{ הספיגה נטו} = \left( 1 - \frac{\text{בסגמנט (גלוקוז/Y)}}{\text{במזון (גלוקוז/Y)}} \right) \cdot 100$$

האחוז המצטבר של עיכול עמילן בסגמנטים השונים של המעי חושב לפי הנוסחה:

$$\% \text{ העיכול} = \left( 1 - \frac{\text{(עמילן/Y) בסגמנט}}{\text{(עמילן/Y) במזון}} \right) \cdot 100 \quad (\text{Hurwitz 1972})$$

ספיגת העמילן חושבה לפי ערכי הגלוקוז שהתקבלו אחרי ההידרוליזה החומצית (2.1.2).

### 2.3 מטאבוליזם הגזים והמדדים התרמורגולטיביים

זרימת החום (heat flow), המתבטאת בצריכת חמצן ובייצור  $\text{CO}_2$ , נמדדה בשיטה

של קלורימטריה עקיפה (indirect calorimetry). מערכת הניסוי נבנתה באופן שתאפשר

להזריק ולדגום מהדם וכן לדגום  $^{14}\text{CO}_2$  באופן רציף וסימולטני עם מדידת חילוף

הגזים וטמפרטורת הגוף.

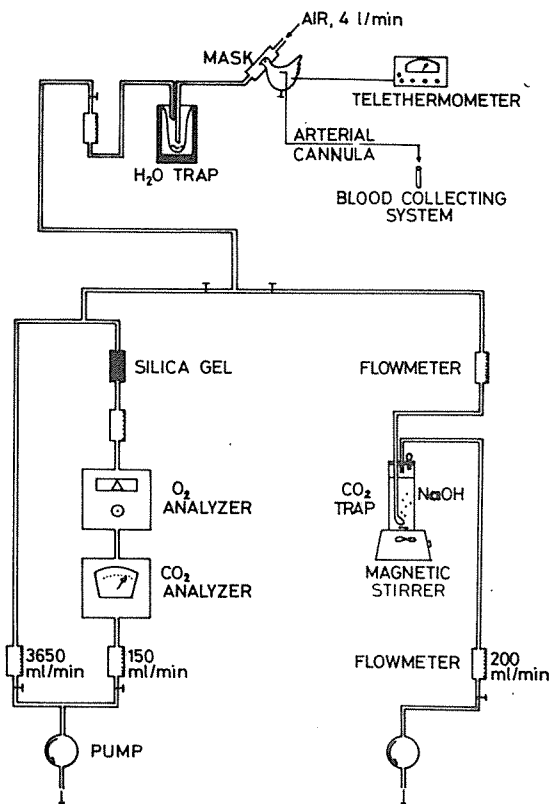
### מערכת הזרימה הפתוחה Open Circuit System

2.3.1

במערכת זאת נמדדו באופן רצוף צריכת החמצן, פליטת  $\text{CO}_2$ , טמפרטורת הגוף וכן נלקחו דגימות של  $^{14}\text{CO}_2$  כאשר הוזרק  $^{14}\text{C}$  glucose (ציור מס' 2).

#### ציור מס' 2: מערכת הזרימה

הפתוחה לקביעת צריכת חמצן, פליטת  $\text{CO}_2$ , איסוף  $^{14}\text{CO}_2$ , מדידת טמפרטורת גוף, הזרקה, ואיסוף דגימות דם.



ראש העוף הוכנס למסיכה שדרכה הוזרם אוויר חדר (4 ליטר/דקה) על-ידי משאבה (Reciprotor 506 R). האוויר שיצא מהמסיכה עבר דרך מערכת קירור, לעיבוי מי האידוי הנשימתי. דגימה של 200 מ"ל אוויר למד חמצן (Oxygen Paramagnetic Analyzer, Servomex OA 101) ולמד  $\text{CO}_2$  ( $\text{CO}_2$  Infrared Analyzer, Beckman 865) דגימה רציפה של 200 מ"ל אוויר היוצא מהמסיכה הוזרמה דרך מלכודת שהכילה 100 מ"ל  $\text{NaOH}$  2N (Rapkin 1962). האוויר שזרם דרך המלכודת בעבע על-ידי סינרת ועורבל בעזרת מערבול מגנטי. הפחמן הדו-חמצני שבו נלכד בשיעור של 100% (כאשר חוברה למלכודת בטור מלכודת נוספת, לא נמצא בה  $\text{CO}_2$ ). הסטיות בקצב זרימת האוויר

היו בשיעור של  $\pm 2\%$  ודיוק המדידה של צריכת החמצן ופליטת ה- $\text{CO}_2$  היה  $\pm 0.5\%$ .  
 טמפרטורת הגוף נמדדה על-ידי טרמיסטור שהוחזק בעומק של 5 ס"מ מפתח הבלב  
 וטלטרמומטר (YSI 46 Model, TUC). גוף העוף, שראשו הוכנס למסיכה, היה קשור  
 לסטאטיב שאיפשר ביצוע טיפולים. חימום העוף נעשה במנורות אינפרא-אדומות,  
 והקירור נעשה על-ידי הצמדת שקיות קרח לגופה. ויסות החימום על-ידי עוצמת  
 ההארה וויסות הקירור על-ידי מידת ההצמדה וכמות הקרח - איפשרו חימום או  
 קירור של טמפרטורת הגוף בשיעור של 2 מ"צ. דגימות דם נלקחו במהלך הניסויים  
 ללא השפעה על המדדים התרמורגולטיביים. למערכת הזרימה הפתוחה שתוארה לעיל  
 היו שני וריאנטים נוספים. האחד - ללא מלכודת לקליטת  $\text{CO}_2$ , אשר איפשר  
 מדידה סימולטנית של המדדים השונים וכן דגימות דם משתי חיות. הווריאנט השני  
 היתה מערכת למדידת צריכת חמצן ופליטת  $\text{CO}_2$  בלבד, אך בה אפשר היה למדוד 5  
 עופות בו-זמנית (נספח מס' 2). המדידות בוצעו בטמפרטורת חדר של 24 מ"צ,  
 בשעה קבועה בבוקר, החל מכשעה אחרי הקשירה למערכת.

### 2.3.2 חישובים

צריכת החמצן ופליטת ה- $\text{CO}_2$  חושבו לפי ההפרש ב-% החמצן וה- $\text{CO}_2$   
 בין אוויר החדר הנכנס למסיכה לבין האוויר היוצא ממנה, כפי שנמדדו ישירות  
 במערכת הזרימה הפתוחה. היחס בין צריכת החמצן ופליטת ה- $\text{CO}_2$  ה- $RQ$  חושב לפי:  

$$R.Q = \text{VCO}_2 / \text{VO}_2$$
 כאשר צריכת החמצן ( $\text{VO}_2$ ) ופליטת  $\text{CO}_2$  ( $\text{VCO}_2$ ). ייצור  
החום (M) חושב לפי הנוסחה:  $M = 3.871 \text{ VO}_2 + 1.194 \text{ VCO}_2$  (Freeman 1971).  
ייצור החום הנובע מחימצון של גלוקוז ( $M_G$ ) חושב על-ידי הכפלת קצב חימצון  
 הגלוקוז ל- $\text{CO}_2$  (2.3.4) בערכו הקלורי (3.78 קא"ל/גר'). ייצור חום הנובע  
 מחימצון דלק מטאבולי שאיננו גלוקוז, זאת-אומרת שומנים וחלבונים ( $M_{F+P}$ ),  
 התקבל מהנוסחה:  $M_{F+P} = M - M_G$ .

## 2.4 הקינטיקה של הגלוקוז

השיטה לקביעת המדדים הקינטיים של הגלוקוז, כגון קצב השיחלוף שלו, קצב מיחזורו וחימצונו, מתבססת בעיקר על אנאליזה של עקומת האקטיביות הספציפית של הגלוקוז בדם. עקומה זו מתקבלת על-ידי מניה רדיואקטיבית וקביעה כימית של הגלוקוז בדגימות הדם אחרי הזרקה של גלוקוז רדיואקטיבי. הגלוקוז המוזרק נמהל במאגר הגלוקוז בגוף ומתנהג כמוהו מבחינה כימית, בלי להשפיע על המערכת הנבדקת.

### 2.4.1 קבולציה, הזרקה ודגימה

עוף שהובא מהלול, נקשר לסטאטיב וראשו הוכנס למסיכה של מערכת הזרימה הפתוחה. אחרי שנרגע הושתלו בעורק ובווריד הכנף (Brachial artery & vein) קבולות (polyethylene, I.D 0.40 mm O.D 0.80 mm) בעומק של 3 ס"מ. הקבולציה בוצעה בהרדמה מקומית (Lidocaine 2%). קצב הנשימה, טמפרטורת הגוף, צריכת החמצן ופליטת ה- $CO_2$  נמדדו לפני הקבולציה ואחריה והתייצבו תוך חצי שעה מגמר הקבולציה (כשעה מהקשירה למערכת). אחרי התייצבות הערכים הוזרקה תמיסת הגלוקוז דרך הקבולה הוורידית.

ההזרקה היתה של 1 מ"ל תמיסת גלוקוז בתמיסת מים פיזיולוגיים (NaCl 0.9%), בד"כ תערובת של גלוקוז רדיואקטיבי  $^{14}C$  בכל הפחמנים עם גלוקוז מסומן  $^3H$  במימן השישי ביחס של 8:1 ( $^{14}C$  glucose; 40 & 5  $\mu$ ci/ml;  $^3H$ , U) (Bel 1976) (500 & 250  $\mu$ ci/mmol, Amersham).

דגימות דם של 0.4 מ"ל נלקחו דרך הקבולה העורקית החל ב-3 דקות אחרי ההזרקה ועד 6 שעות אחריה. דגימות הדם נלקחו למבחנות שטופלו בהפרין ובסודיום פלואוריד, למניעת קרישה ופירוק גלוקוז, והושמו בקרח. סה"כ נלקחו במהלך הניסוי 10 עד 15 דגימות, ואחרי כל דגימה הוחדר לדם 0.5 מ"ל סליין.

## 2.4.2 קביעת גלוקוז

בדגימות הדם נקבעה האקטיביות הספציפית של הגלוקוז. תוך מחצית

השעה מן הדגימה נעשתה צנטריפוגציה להשקעת האריטרוציטים. דגימה של 0.2

מ"ל פלסמה נמהלה עם 3 מ"ל מים מזוקקים וחלבון הושקע עם  $\text{Ba(OH)}_2$  -  $\text{ZnSO}_4$  (Sigma 1972). אחרי השקעת החלבון נלקחה דגימה לבדיקה אנזימטית של גלוקוז

(2.1.2) ודגימה נוספת נלקחה לקביעה רדיואקטיבית. כדי לקבוע את הרדיו-

אקטיביות של הגלוקוז בלבד היה צורך להפריד את הגלוקוז מיתר החומרים הרדיו-

אקטיביים שבפלסמה. חומרים אלו, בעיקר לקטט אך גם ח' אמינו ושומנים

(Dunn 1976), מסתמנים ב-  $^{14}\text{C}$  במהלך המטאבוליזם אחרי הזרקת  $^{14}\text{C}$  glucose.

הפרדת הגלוקוז נעשתה ע"ג קלונות של מחליפי יונים. דגימה של 1 מ"ל פלסמה

מהולה הושמה ע"ג הקולונה ונשטפה ב-3 מ"ל מים מזוקקים. הגלוקוז עבר את

הקולונה ונשטף ישירות לבקבוק הסנטימציה. מעבר הגלוקוז בקולונה היה בשיעור

של 95%-98%, ואילו לקטט ח' אמינו וח' שומניות עברו בשיעור של 0.1%. הקולונה

היתה עשויה מפלטת זכוכית בגודל 10 ס"מ. על גבי מסננת מצמר זכוכית הושמה

שיכבה של 1 מ"ל שרף (resin) מחליף קטיונים ועליו כ-1.5 מ"ל מחליף אניונים

(dowex 50  $\text{H}^+$  form & dowex 1  $\text{HAc}^-$  form). נוזל הקולונה והשטיפה היו מים

מזוקקים, וכל קולונה שימשה פעם אחת להפרדה של דגימה אחת בלבד (נספח מס' 3)

(Barkai 1975). בקבוק הסנטימציה, שאליו נשטף הגלוקוז מהקולונה, יובש בתנור

ב-60 מ"צ לנידוף ה- $^3\text{H}_2\text{O}$ . המנייה נעשתה במונה נצנץ לנוזלים, בנוזל סנטימציה

טריטון-טולואן (Packard) 300mg dimethyl POPOP /lit, 5gr PPO,

359 ml triton X 100 and toluen &) בשני ערוצים ל- $^{14}\text{C}$  ול- $^3\text{H}$ . המניות תוקנו

בהתאם לפקטור התיקון לכניסה של איזוטופ אחד לערוץ האיזוטופ השני (נספח מס' 3).

האקטיביות הספציפית בכל דגימה חושבה לפי היחס  $^{14}\text{C}$  cpm/mg &  $^3\text{H}$  cpm/mg.

### 2.4.3 קביעת $^{14}\text{CO}_2$

קביעת ה- $^{14}\text{CO}_2$  נעשתה ישירות על-ידי מניית דגימות ממלכודת ה- $\text{NaOH}$  שבמערכת הזרימה הפתוחה (2.2.1). דגימות של 1 מ"ל  $\text{NaOH}$  נלקחו במהלך הניסוי, החל ב-10 דקות אחרי הזרקת ה- $^{14}\text{C}$  glucose ועד 7 שעות ממנה. הדגימות הושמו מיד בבקבוקי סנטילציה בתוספת 6 מ"ל מים ו-10 מ"ל נוזל סנטילציה אינסטג'יל (packard), הושמו בקירור ונמנו בערוץ ה- $^{14}\text{C}$ . המניות הוכפלו בפקטור תיקון לנפח המלכודת ונפח זרימת האוויר הנידגם, ולקבלת האקטיביות הספציפית של ה- $^{14}\text{CO}_2$  חולקה התוצאה בנפח ה- $\text{CO}_2$  שניפלט מן החיה, כפי שנמדד במד ה- $\text{CO}_2$ .

### 2.4.4 חישובים

חישובי קינטיקת הגלוקוז התבססו על ניתוח עקומת האקטיביות הספציפית. נוסחת העקומה חושבה באופן גרפי (Solomon 1960) על-ידי התאמת הנתונים למודל של שני מדורים וקביעת הנוסחה הדו-מעריכית לפי השיפועים והחותכים  $S.A. = A_1 e^{-K_1 t} + A_2 e^{-K_2 t}$  כאשר  $K_1$  ו- $K_2$  הם שיפועי הקומפוננטים הליניאריים של העקומה ו- $A_1$  ו- $A_2$  הם החותכים (Shipley 1972). הדרך השנייה והעיקרית לחישוב הערכים הקינטיים התבססה על מודל לא-מדורי של קינטיקת הגלוקוז. הנקודות ע"ג העקומות חושבו כ- $\%$  מהדוזה המוזרקת, באופן שאפשר היה להשוות עופות שקיבלו מינון שונה לק"ג משקל גוף. החישובים התבססו על הפרוצדורות של Katz וחובריו (1974), של Shipley וחובריו (1978) ושל Shipley וחובריו (1972). קצב שיחלוף הגלוקוז ( $R_0$ ) glucose turnover חושב לפי הנוסחה:  $\text{dose}/\Sigma(A_i/\alpha_i)$ , כאשר  $A_i$  הוא המקדם של הביטוי האקספוננציאלי ו- $\alpha_i$  הוא המעריך. או לפי הנוסחה:  $R_0 = \text{dose}/\text{Area under S.A. curve}$ . מיחזור הגלוקוז glucose recycling חושב לפי ההפרש בערכי קצב השיחלוף שהתקבלו מעקומות האקטיביות הספציפית של  $^{14}\text{C}$  ו- $^3\text{H}$  גלוקוז:  $R_0(H) - R_0(C)/R_0(C)$ . גודל המדור הנדגם mass of sampling pool ( $M_s$ ) חושב לפי הנוסחה:  $\text{dose}/S.A._{(o)}$

או  $dose/\Sigma A_i$ .

נפח המדור הנדגם ( $V_s$ ) לפי Ms/glucose concentration וקצב היציאה ממנו ( $R_{11}$ ) לפי הנוסחה:  $\Sigma(A_i \alpha_i) \times dose/\Sigma(A_i)$  או לפי:  $slop(o) \times dose/S.A.(o)$  הקצבים של מעבר הפחמן ממאגר הגלוקוז ואליו (ציור מס' 4) חושבו כדלקמן: קצב הכניסה למאגר ( $R_1$ ) לפי קצב השיחלוף שהתקבל מעקומת ה- $^3H$  glucose. קצב המעבר ל- $CO_2$  ננשף ( $R_3$ ) לפי היחס בין שטחי העקומות של האקטיביות הספציפית של ה- $^{14}CO_2$  וה- $^{14}C$  glucose והכפלת המנה ב- $R_6$ . קצב היציאה מגלוקוז למאגרי הגוף לפי:  $R_2 = R_1 - R_3$ . קצב מיחזור הפחמן ( $R_4$ ) לפי מיחזור הגלוקוז. קצב היציאה ממאגרי הגוף ל- $CO_2$  לפי הנוסחה:  $R_5 = R_6 - R_3$ . האיבוד הישיר ב- $CO_2$  הנפלט התקבל ממדידה ישירה (2.2.1).

## 2.5 קביעת מרכיבי גופה

פטמים בני 7 שבועות (4 בקבוצה) הורעבו במשך 0, 6, 12, 24, 48 ו-96 שעות. בעופות אלו נבדקו המדדים הבאים:

2.5.1 קביעת גליקוגן: העופות הומתו על-ידי הזרקת נמבוטל (pentobarbital natrium) תוך 30 שניות מההזרקה נפתחו החיות וחתיכות של כ-1 גר' של כבד, שריר רגל ושריר חזה הוכנסו ל-30% KOH, שהורתח במשך חצי שעה לפירוק הרקמה. הגליקוגן הושקע על-ידי אתנול 95% ואחר-כך אתנול 60% ועבר הידרוליזה חומצית ב-0.6N HCl. אחרי קירור, ניטרול ב-NaOH והשלמה לנפח סטנדרטי נקבע גלוקוז בשיטת (Good 1933) glucose oxidase.

2.5.2 קביעת שומן: שומן בגופה נקבע בדגימה של הומוגנט שהתקבלה אחרי אוטוקלביזציה של העוף המרוט בטמפרטורה של 140 מ"צ במשך 3 שעות. כ-5 גר' הומוגנט יובשו בתנור במשך לילה, ומיצוי שומני נעשה בתערובת של כלורופורם



מתנול 1:2 בטילטול של 6 שעות. התמיסה סוננה לכוס כימית ונודפה באמבט. כמות השומן נקבעה על-ידי שקילה בדיוק של 0.0001 גר' (Folch 1957).

2.5.3 קביעת חלבון: קביעת חלבון נעשתה לפי Kigeldahl.

## 2.6 סטטיסטיקה

לתוצאות הניסויים נעשה ניתוח סטטיסטי של analysis of variance and multiple range test (Snedecor 1968). דרגת המובהקות המינימלית היתה של  $(P < 0.05), 95\%$ .

## תוצאות

התוצאות שהתקבלו בניסויים השונים היו משלושה סוגים. תוצאות מהסוג הראשון איפשרו לתאר את המודל הבסיסי של הקינטיקה של הגלוקוז בגוף העוף. תוצאות מהסוג השני מתארות את ניצול מאגרי האנרגיה (הרכב גופה וחילוף גזים) ואת ספיגת הגלוקוז ועיכול העמילן לאורך מעי הפטם. התוצאות מהסוג השלישי, והעיקרי בעבודה זאת, התקבלו מניסויים ששילבו את השימוש ברדיואיזוטופים ולימוד הקינטיקה של הגלוקוז עם בדיקת המטאבוליזם הנשימתי. תוצאות מהסוג השלישי איפשרו להרחיב את המודל הקינטי ולהעריך את הקשר בינו לבין המטאבוליזם החימצוני. התוצאות משלושת הסוגים התקבלו בעופות שבעים ורעבים, והתוצאות מהסוג השלישי – גם בעופות היפותרמיים והיפרתרמיים. אינטגרציה של התוצאות איפשרה לבחון את הקשר בין הומאוסטאזיס הגלוקוז וטמפרטורת הגוף, מצבים פיזיולוגיים ב-steady state.

### 3.1 המודל הבסיסי של קינטיקת הגלוקוז

מטרות הניסויים בשלב זה היו לבדוק את הנחות היסוד של הגישה המתודולוגית, להתאים שיטות למערכת הנבדקת, ולתאר באופן פורמלי את המודל הבסיסי של קינטיקת הגלוקוז בעוף (*Gallus domesticus*).

#### 3.1.1 הגלוקוז בפלסמה

שאלות היסוד לגבי הגלוקוז בפלסמת העוף היו: (1) מה רמתו בפלסמה; (2) האם הוא נמצא ב-steady state (3) האם רמתו בפלסמה קבועה במצבי הרעבה שונים (שינוי באספקת הגלוקוז), וטמפרטורות גוף שונות (שינויים בצריכת הגלוקוז). כדי להשיב על שאלות אלו נבדקה רמת הגלוקוז בפלסמת פטמים שהורעבו 0, 24, 48 ו-96 שעות, וכן בעופות נורמותרמיים (41.1 מ"צ), היפותרמיים (39.75 מ"צ)

והיפרתרמיים (42.7 מ"צ). דגימות הדם נלקחו במשך 6 שעות (הזמן הנחוץ לקבלת עקומת האקטיביות הספציפית). חימום העופות נעשה בעזרת מנורות אינפרא-אדומות, וקירורם - בעזרת שקיות קרח שהוצמדו לגוף. ויסות החימום והקירור איפשר לשמור על טמפרטורת הגוף בתחום סטיה של  $\pm 0.25$  מ"צ. רמת הגלוקוז בפלסמה במצבים השונים ויציבותה מוצגים בטבלה מס' 1 ובגרף מס' 1.

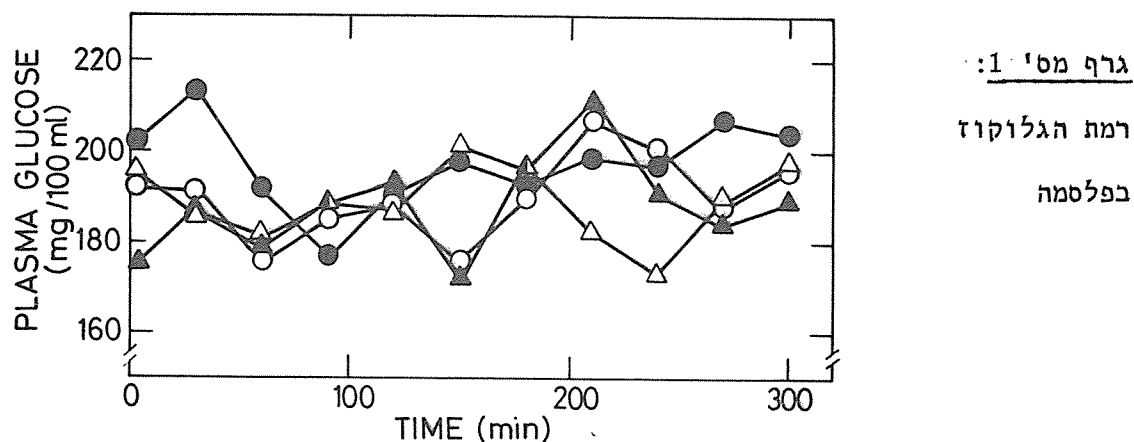
טבלה מס' 1: רמת הגלוקוז בפלסמה, השפעת צום, קירור וחימום

משך הצום-שעות	0	24			48	96
טמפרטורת הגוף - מ"צ	-	$39.7 \pm 0.2$	$41.1 \pm 0.1$	$42.7 \pm 0.1$	-	-
גלוקוז בפלסמה mg/dl	$204 \pm 12$	$149 \pm 8$	$189 \pm 6$	$185 \pm 5$	$185 \pm 6$	$192 \pm 6$

הערכים הם:  $\text{mean} \pm \text{S.E.}$  מארבע עופות בכל טיפול.

הערכים המוצגים בטבלה מס' 1 הם ממוצעים של 11 דגימות מכל עוף, שנלקחו כל חצי שעה במשך 6 שעות מקנולה עורקית. לא נמצא הבדל מובהק לפני הקנולציה ואחריה. לא נמצא הבדל מובהק בין הטיפולים, חוץ מהיפוגליצמיה במצב ההיפותרמי. ההיפוגליצמיה התקבלה תוך שעה וחצי מהתחלת הקירור ונשמרה במצב יציב עד גמר הדגימות.

רמת הגלוקוז בפלסמה היתה בעופות השבעים והמורעבים כ-200 mg/dl. רמה זאת היתה גם בעופות שהורעבו 24 שעות וחוממו עד להיפרתרמיה של כ-1.6 מ"צ. בכל הטיפולים (כולל בהיפוגליצמיה) נשמרה רמת הגלוקוז במצב יציב במשך 6 שעות הבדיקה (גרף מס' 1). מצב זה של steady state, שבו קצב הכניסה של הגלוקוז לפלסמה שווה לקצב הפינוי, איפשר לעבור לניסויים של הזרקת גלוקוז רדיואקטיבי לצורך קבלת עקומות האקטיביות הספציפיות שלו.

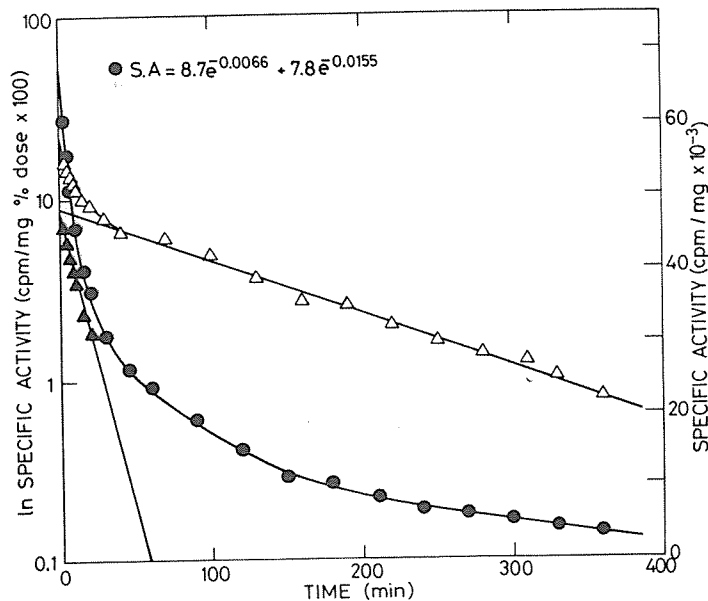


רמת הגלוקוז בפלסמת עופות מורעבים 0 (●), 24 (○), 48 (Δ), ו-96 שעות (Δ).  
כל נקודה היא ממוצע של דגימות מ-4 עופות.

### 3.1.2 עקומת האקטיביות הספציפית של הגלוקוז

עקומה זאת היא הבסיס האמפירי לחישובים הקינטיים ולמסקנות הפיזיולוגיות הנובעות מהם. השאלות הראשוניות לגבי העקומה היו: (1) שאלות טכניות, כגון מהו מס' הדגימות הנחוצות, מהו הזמן המינימלי אחרי ההזרקה שבו מעורבל הגלוקוז הרדיואקטיבי באופן מושלם במדור שלתוכו הוזרק, כעבור כמה זמן יורד הגלוקוז הרדיואקטיבי בדם לרמה הנמוכה מכ-5% מהדוזה המוזרקת. (2) שאלות שלהן חשיבות בתיאור המודל המדורי של הגלוקוז בעוף, כגון מהו מספר האקספוננטים בעקומה (מספר המדורים), תכונות האקספוננטים החותכים והשיפועים (גודל המדורים וקצב השיחלוף ביניהם). (3) מידת ההתאמה בין דרכי החישוב השונות. (4) שאלות בעלות משמעות פיזיולוגית, כגון מהם קצבי השיחלוף, המיחזור והחימצון של הגלוקוז.

לצורך מתן תשובות לשאלות מהסוג הראשון הוזרק גלוקוז רדיואקטיבי המסומן בכל פחמניו  $^{14}\text{C}$ -glucose, ולצורך מתן התשובות לשאלות מהסוגים האחרים הוזרק גם גלוקוז המסומן במימן השישי  $^3\text{H}$ -glucose. (6) ההזרקה והדגימה נעשו כמתואר בפרק השיטות, והאיזוטופים נבחרו לפי השיקולים הנדונים במבוא. דוגמה לצורה אופיינית של עקומת האקטיביות הספציפית של הגלוקוז בעוף ניתנת בגרף מס' 2.



גרף מס' 2: עקומת

האקטיביות  
הספציפית של  
הגלוקוז בעוף  
ופירוקה לשני  
אקספוננטים.

● עקומת האקטיביות הספציפית

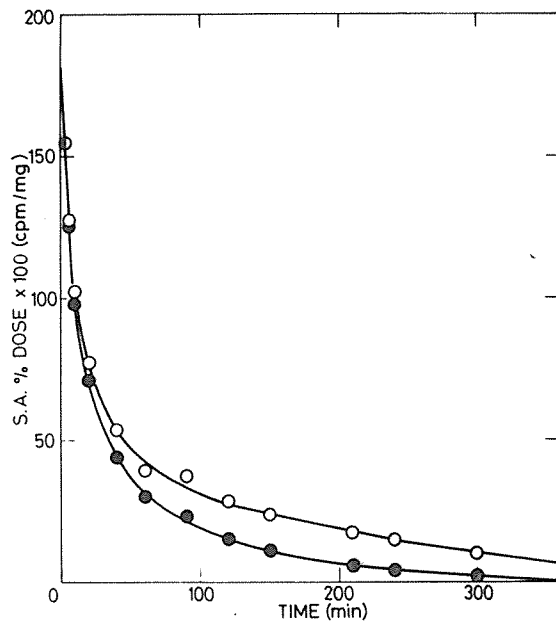
Δ הלוגריתם הטבעי של האקטיביות הספציפית

▲ ההפרש בין הלוגריתם הטבעי לערכי השיפוע הטרימינלי בפרק-הזמן  
מ-0 ועד 60 דקות

עקומת האקטיביות הספציפית של הגלוקוז התקבלה מדגימות שנלקחו כעבור 3 דקות ועד 6 שעות מהזרקת הגלוקוז הרדיואקטיבי. 3 דקות מהזרקת הן פרק-זמן מספיק קרוב לזמן 0, כדרוש לביתוח לא אקספוננציאלי של העקומה (Katz 1974) ומספיק רחוק כדרוש לעירבול מלא של הגלוקוז ולדיוק בדגימה. שיעור הרדיו-אקטיביות פחת תוך 6 שעות ביותר מ-95% מהדוזה המוזרקת מ-20000 ל-500 מניו לדקה.

העקומות שהתקבלו היו, ברוב המקרים, מורכבות משני קומפוננטים ליניאריים: השיפוע הטרימינלי של הלוגריתם הטבעי של האקטיביות הספציפית מכשעה אחרי ההזרקת ועד 6 שעות, והשיפוע הראשוני של ההפרש בין ערכי הלוגריתם לאלו של השיפוע הטרימינלי. הנתונים התאימו לנוסחה דו-אקספוננציאלית  $S.A. = H_1 e^{-\alpha_1 t} + H_2 e^{-\alpha_2 t}$ . בבדיקות 24 עקומות במחשב היתה מנת המיתאם בין ערכי הקומפוננטים לבין קו ישר בשיעור של

0.985 - 0.995 . בהזרקה של תערובת הגלוקוז הרדיואקטיבי המסומן  
 $^{14}\text{C}$  glucose ( $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ) התקבלו עקומות של אקטיביות ספציפית שונה לאיזוטופים  
 השונים (גרף מס' 3).



גרף מס' 3: האקטיביות  
 הספציפית של הגלוקוז  
 בעוף, השפעת המיחזור

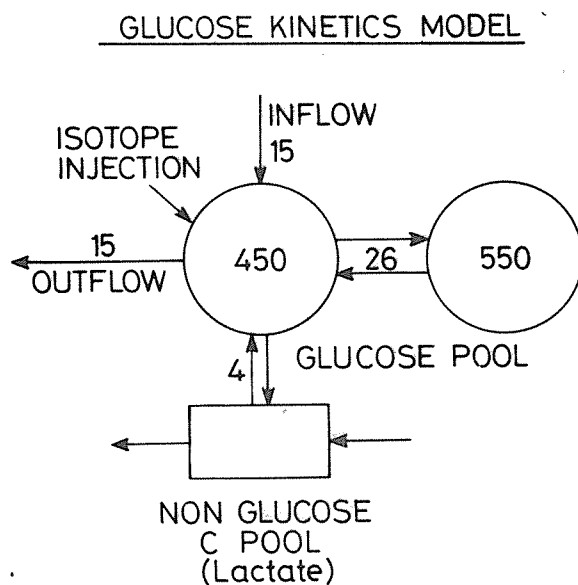
○ האקטיביות הספציפית של  $^{14}\text{C}$  glucose  
 ● האקטיביות הספציפית של  $^3\text{H}$  glucose

עקומת האקטיביות הספציפית של הגלוקוז  $^3\text{H}$  6 שימשה לחישוב קצב שיחלוף  
 הגלוקוז, גודל המאגרים ופרמטרים אחרים. ההפרש בין העקומות שימש לחישוב  
 קצב מיחזור הגלוקוז (2.3.4).

### 3.1.3 המודל של הגלוקוז ב-steady state

לפי עקומות האקטיביות הספציפית, אפשר לתאר את המערכת הדינמית של  
 הגלוקוז בגוף העוף. הגלוקוז החופשי נמצא במאגר (pool) המורכב משני מדורים  
 ונמצא ב-steady state, כתוצאה משוויון בקצבי הכניסה (מעל ורקמות גלוקוניאוגניות)  
 וקצבי היציאה מהמאגר (חימצון, השמנה, גליקוגן ועוד). המדור שלתוכו מוזרק  
 הגלוקוז הוא מהיר-עירבול (rapidly mixing pool), כולל את הפלסמה והוא גם

המדור הנדגם (sampling pool). המדור השני מייצג את יתר הגלוקוז בגוף ונמצא בשיווי-משקל עם המדור הראשון. בין שני המדורים קיים שיחלוף מהיר, באופן שגלוקוז רדיואקטיבי המוזרק למדור האחד מגיע במהרה לאקטיביות ספציפית שווה בשני המדורים (התייצבות השיפוע הטרימינלי). חלק מהגלוקוז היוצא מהמאגר (חימצון) חוזר אליו מחדש (סינתזה גלוקוז מלקטאט), מיחזור הגלוקוז (glucose recycling) (ציור מס' 3).



ציור מס' 3: המודל

הקינטי של הגלוקוז

בעוף לפי Katz

(1974)

קצב השיחלוף של הגלוקוז (glucose turnover) השווה לסכום קצבי הכניסה (inflow), או היציאה (outflow) אל המאגר וממנו, כולל את קצב מיחזור הגלוקוז (recycling). גודל המאגרים ניתן במג' / ק"ג והקצבים ב-מ"ג / דקה · ק"ג. הערכים הם ממוצעים מעוגלים של 4-6 עופות שבעים.

מודל זה שימש כמודל הניסויי הבסיסי; והמדדים הקינטיים המתוארים בו נקבעו במצבים פיזיולוגיים שונים. חישוב הפרמטרים נעשה לפי הגישה האקספוננציאלית (Shipley 1972) ובדרך גרפית פשוטה, ללא התאמת התוצאות לעקומה אקספוננציאלית (Katz 1974) שנתנו תוצאות דומות (טבלה מס' 2).

טבלה מס' 2: המדדים הקינטיים של הגלוקוז, חישוב בשתי דרכים

המדד והיחידות	קצב השיחלוף מ"ג/דקה·ק"ג	Glucose <del>Lactate</del> EXCHANGE מ"ג/דקה·ק"ג	גודל המדור הנדגם מ"ג	מיחזור %
סימון מקובל	$R_o^{14}C$	$R_o^3H$	$R_{11}$	$M_s$
אנאליזה מדורית	$10.96 \pm 0.8$	$15.28 \pm 1.0$	$26.3 \pm 3.7$	$500 \pm 55$
אנאליזה לא מדורית	$10.95 \pm 0.8$	$14.62 \pm 1.0$	-	$400 \pm 50$
				$28 \pm 4$
				$25 \pm 4$
				RECYCLING

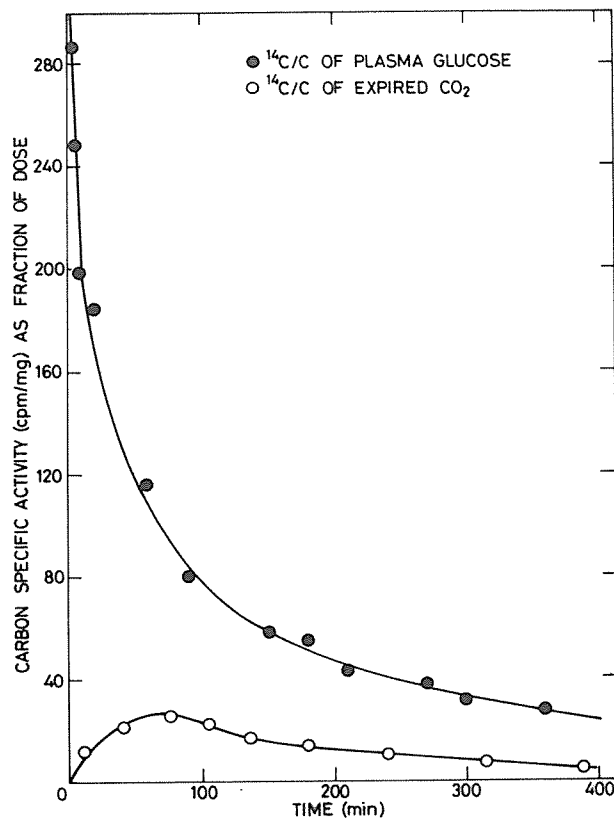
הערכים בטבלה הם ממוצעים וסטיות התקן של 4-6 עופות שבעים.

האקטיביות הספציפית של הגלוקוז איפשרה לקבוע את סכום קצבי היציאות של הגלוקוז מהמאגר. כדי לקבוע את קצב הפיכת הגלוקוז ל- $CO_2$ , יש לקבוע גם את האקטיביות הספציפית של הגלוקוז ושל- $CO_2$ .

#### 3.1.4 האקטיביות הספציפית של ה- $CO_2$

האקטיביות הספציפית של ה- $CO_2$  הנפלט כנשיפה נקבעה על-ידי מדידת ה- $CO_2$  וה- $^{14}CO_2$  במערכת הזרימה הפתוחה (2.2.1) אחרי הזרקת  $^{14}C$  glucose. לפי היחס בין השטחים שמתחת לעקומת האקטיביות הספציפית של ה- $^{14}CO_2$  וה- $^{14}C$  glucose (גרף מס' 4) אפשר היה לחשב את חלקו של ה- $CO_2$  שמקורו מחימצון גלוקוז. על-ידי הכפלה בקצב הפליטה של ה- $CO_2$  אפשר היה לחשב את קצב החימצון נטו של הגלוקוז ל- $CO_2$ . ולפי קצב השיחלוף שנקבע לפי עקומת האקטיביות הספציפית של ה- $^3H$  glucose את שיעור ההקצאה לחימצון מכלל קצב השיחלוף.





גרף מס' 4: האקטיביות

הספציפיות של  $^{14}\text{C}$

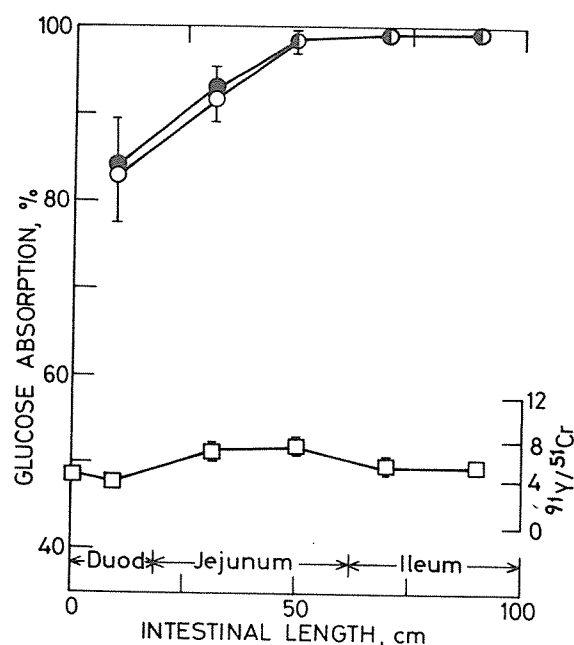
קצב חימצון הגלוקוז בעופות השבעים היה כ-35% מסה"כ קצבי היציאות ממאגר הגלוקוז (ציור מס' 3) שהיה כ-5.25 מ"ג/דקה-ק"ג. שיעור חימצון זה תרם כ-40% מה- $\text{CO}_2$  הנפלט.

### 3.2 ספיגת גלוקוז ועיכול עמילן לאורך המעי

בשלב זה נבדקו ספיגת גלוקוז נאכל וכן עיכול עמילן וספיגתו בקטעי המעי. הבדיקות נעשו על-ידי השוואת היחס בין גלוקוז או עמילן למסמן בלתי נספג במזון ולאורך המעי.

#### 3.2.1 בחירת סמן בלתי נספג

מטרת הניסוי הראשון בשלב זה היתה לבדוק את התאמתו של  $^{91}\text{Y}$  לשמש כסמן בלתי נספג, לקביעת ספיגת גלוקוז. בדיקה זאת נעשתה על-ידי השוואת שיעור הספיגה המחושב על-ידי שימוש ב- $^{91}\text{Y}$  וב- $^{51}\text{Cr}$ -EDTA (גרף מס' 5).



גרף מס' 5: ספיגת גלוקוז

לאורך המעי

● ה-% המצטבר של ספיגת גלוקוז כפי שנקבע בעזרת  $^{91}\text{Y}$ .

○  $^{51}\text{Cr}$  - EDTA " " " " " " " " " " " "

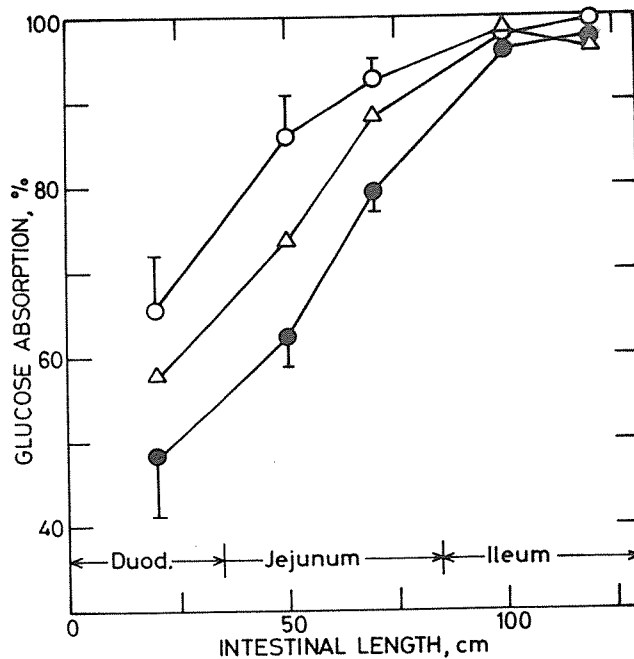
היחס  $^{91}\text{Y}/^{51}\text{Cr}$ . התוצאות הן  $\text{mean} \pm \text{S.E.}$

שיעור הספיגה של הגלוקוז במערכת העיכול נקבע בעזרת השימוש בסמנים בלתי נספגים -  $^{91}\text{Y}$  הנמצא ברובו בפאזה המוצקת של תוכן המעי, ו- $^{51}\text{Cr}$ -EDTA המסים יותר (Kotb 1972). יותר מ-80% מהגלוקוז שבמזון נספגו עד קצה ה-duodenum, ויותר מ-95% - עד קצה ה-jejunum. היחס בריכוז הסמנים לא השתנה באופן מובהק במזון ובקטעי המעי השונים (גרף מס' 5). שיעור הספיגה *in vivo*, כפי שחושב על-ידי שני הסמנים, לא היה שונה. לכן נבחר  $^{91}\text{Y}$  שהינו פחות מסיס מ- $^{51}\text{Cr}$ -EDTA, להיות הסמן בניסויי הספיגה של גלוקוז ועמילן (הפחות מסיס מגלוקוז).

### 3.2.2 ספיגת גלוקוז ועיכול גלוקוז

שיעור הספיגה של גלוקוז ומקומו וכן שיעור העיכול של עמילן וספיגתו

לאורך המעי נקבעו *in vivo* בפטמים בני 8 שבועות (גרף מס' 6). העופות (6 בקבוצה) קיבלו תערובות סינתטיות למניעת וריאציה בהידרוליזה אינטסטינלית של פחמימות במנה מסחרית. התערובות הכילו גלוקוז-מונוהידראט או עמילן כמקור יחיד של פחמימות (נספח מס' 1).



גרף מס' 6: ספיגת

גלוקוז ועיכול

עמילן.

○ % מצטבר של ספיגת גלוקוז

△ % מצטבר של עיכול עמילן

● % מצטבר של ספיגת עמילן. התוצאות הן  $\text{mean} \pm \text{S.E.}$

של 6 עופות בכל טיפול.

שיעור הספיגה של העמילן והגלוקוז שבמזון היה עד קצה המעי מעל 97% כ-65% מהגלוקוז הנאכל נספגו עד קצה ה-duodenum, וכ-85% עד קצה ה-jejunum העליון. העמילן עוכל בשיעור של כ-58% ב-duodenum. 72% עד קצה ה-jejunum העליון וכ-85% עד סוף ה-jejunum. העמילן נספג בשיעור של 48% ב-duodenum, כ-62% ו-77% עד קצה ה-jejunum העליון והתחתון והיתרה ב-ileum. חישוב של שיעור ספיגת העמילן לא כ-% מכמותו במזון (גרף מס' 6) אלא כ-% מכמותו הזמינה לספיגה (לפי % העיכול) - מראה שיעורי ספיגה כמו של הגלוקוז בסגמנטים השונים.

### 3.3 ניצול מאגרי האנרגיה

בשלב זה נבדק מטאבוליזם האנרגיה בפטמים שבעים ורעבים. המדידות נעשו

בשתי גישות משלימות:

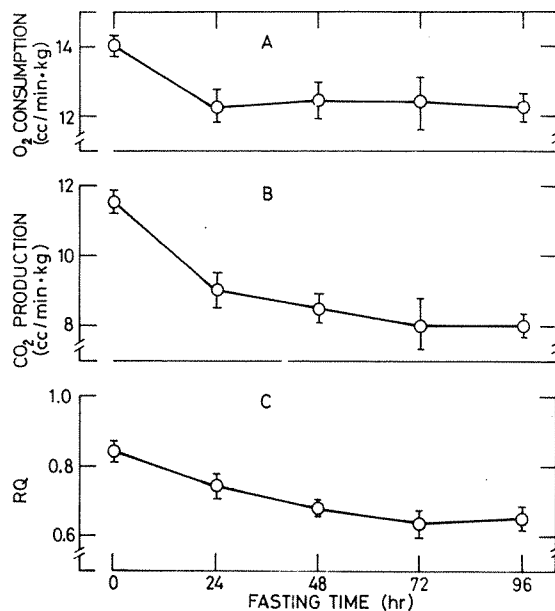
א. מדידת המטאבוליזם הנשימתי, חילוף הגזים כמדד לרמת המטאבוליזם (MR)

ואופיו (RQ).

ב. קביעת הרכב גופה כמדד כמותי לניצול מאגרי הדלק המטאבולי (שומן, חלבון, גליקוגן).

### 3.3.1 חילוף הגזים

בשלב זה נקבעו צריכת החמצן ( $\dot{V}O_2$ ), פליטת  $CO_2$ -ה- ( $\dot{V}CO_2$ ), וחושב היחס ביניהם בפטמים בני 7-9 שבועות, שהורעבו 0, 24, 48, 72 ו-96 שעות (גרף מס' 7). המדדים נקבעו במערכת הזרימה הפתוחה לעוף הבודד (ציור מס' 2) וחלקם במערכת הזרימה הסימולטנית (נספח מס' 2).



גרף מס' 7: חילוף הגזים בפטמים.

צריכת החמצן (A), פליטת  $CO_2$ -ה- (B) והמקדם הנשימתי (C). הערכים הם  $\text{mean} \pm \text{S.E.}$  כפי שנקבעו ב-10 עופות. הערכים של צריכת החמצן ופליטת  $CO_2$ -ה- בפרק הזמן מ-24 ועד 96 שעות צום שונים באופן מובהק ( $P < 0.05$ ), מהערך בטיפול 0 שעות צום. ה-RQ בפרקי הזמן 0, 24-48, 72-96 שונה באופן מובהק ( $P < 0.05$ ).

צריכת החמצן ירדה מ-14.0 מ"ל/דקה.ק"ג בעופות השבעים ל-12.2 מ"ל/דקה.ק"ג בעופות שהורעבו 24 שעות, ונשארה יציבה בערך זה עד 96 שעות צום. פליטת  $CO_2$ -ה- ירדה

מ-11.6 מ"ל/דקה·ק"ג והתייצבה רק אחרי 72 שעות צום בערך כל כ-8.0 מ"ל/דקה·ק"ג.  
ה-RQ ירד במקביל ל- $CO_2$  מ-0.83 ל-0.65 בעופות ב-0 שעות ו-72 שעות, בהתאמה.

### 3.3.2 הרכב הגופה

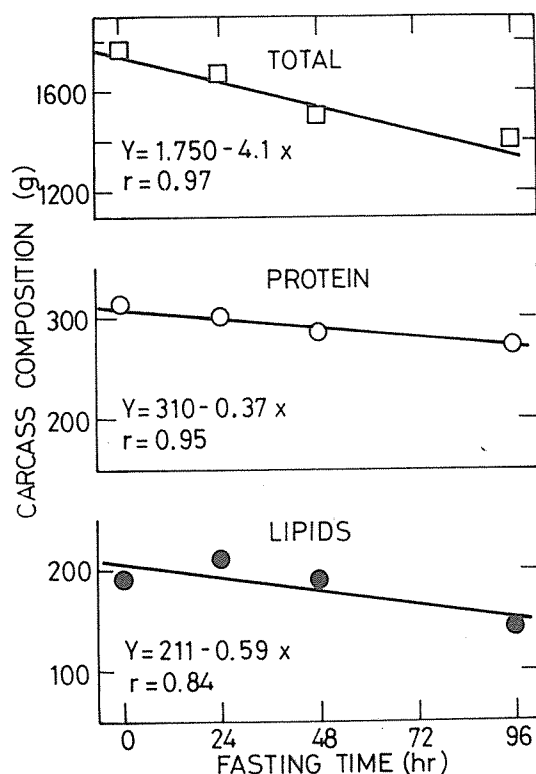
המדדים שנקבעו בשלב זה היו: משקל הגוף והכבד, כמות תוכן המעי, כמות הגליקוגן בכבד וריכוזו בשריר החזה והרגל, אחוז החומר היבש, החלבון והשומן בגופה (טבלה מס' 3). מדדים אלו נקבעו בפטמים בני כ-7 שבועות שהורעבו 0 ועד 96 שעות במטרה להעריך את גודלם של מאגרי האנרגיה, את קצב פירוקם ואת תרומתם האנרגטית (גרף מס' 8). מטרה נוספת היתה להגדיר את מצב הרעב לפי פרמטרים נוספים לצריכת חמצן, כגון תכולת המעי וגליקוגן הכבד.

טבלה מס' 3: גליקוגן בכבד ובשריר, השפעת צום

משך צום שעות	תוכן מעי גר'	משקל הכבד גר'	רמת הגליקוגן ברקמה - מ"ג/גר' רקמה		
			כבד	שריר החזה Pectoralis	שריר רגל Fibularis
0	23	$38.5 \pm 1.7$	$26.0 \pm 4.0$	$10.42 \pm 1.0$	$3.97 \pm 0.7$
6	5	$30.4 \pm 3.0$	$0.9 \pm 0.4$	$8.51 \pm 1.0$	$1.92 \pm 0.8$
12	2	$34.5 \pm 2.5$	$0.8 \pm 0.4$	$8.71 \pm 0.8$	$2.48 \pm 0.8$
24	1	$30.9 \pm 5.0$	$1.0 \pm 0.4$	$7.52 \pm 0.4$	$1.52 \pm 0.3$
48	1	$22.1 \pm 1.9$	$1.9 \pm 0.1$	$8.54 \pm 0.9$	$0.61 \pm 0.2$
96	1	$19.2 \pm 2.0$	$2.2 \pm 0.4$	$11.31 \pm 0.8$	$0.77 \pm 0.5$

ממוצע וסטיות התקן של 3 עופות בכל טיפול.

במדדים שנבדקו חלו השינויים הבאים: א. תוכן המעי נספג ברובו תוך 6 שעות הצום הראשונות ויתרתו תוך 12 שעות. ב. משקל הכבד ירד מ-38 גר' ל-19 גר' במשך ארבעת ימי הצום. ג. הגליקוגן בכבד ירד בשיעור של 97% תוך 6 השעות הראשונות



גרף מס' 8: השפעת צום

על משקל גוף, ותכולת

החלבון והשומן.

ממוצע משקל הגוף (■), כמות החלבון (○) והשומן (●) כפי שנקבעו ב-3 פטמים.

ורמתו הנמוכה נשמרה בכבד בהמשך הצום. הגליקוגנוליזה המהירה מונעת אפשרות של קביעת קצב הפירוק של הגליקוגן בשיטות המותאמות למצב של steady state. ד. הירידה ברמת הגליקוגן בכבד לוותה בירידת רמתו גם בשריר הרגל, אך בקצב מתון יותר. ה. רמת הגליקוגן בשריר החזה לא השתנתה באופן מובהק ( $P < 0.05$ ) במהלך הצום (טבלה מס' 3). כמו כן חלו שינויים בהרכב הגופה. ו. משקל הגוף ירד במהלך הצום בקצב ממוצע של 4.1 גר'/שעה. תוך הירידה במשקל גוף נשמרה יציבות בתכולת המים בגופה והיתה 67% (לעופות היתה גישה למים במשך הצום). ז. ריכוז החלבון בגופה לא השתנה באופן משמעותי והיה 18%-20% ממשקל הגופה. חלקו של החלבון בירידת משקל הגוף בצום היה בממוצע 0.37 גר'/שעה. השומן היווה כ-11%-13% ממשקל הגופה וקצב פירוקו הממוצע היה 0.59 גר'/שעה (גרף מס' 8).

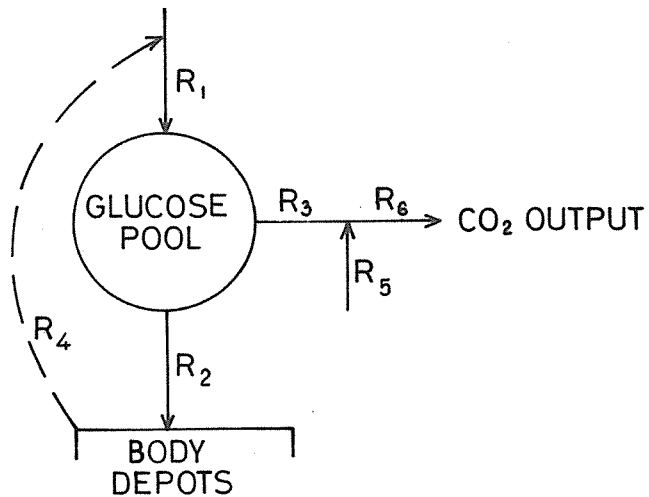
### 3.4 הקינטיקה של הגלוקוז ומטאבוליזם האנרגיה

בשלב זה בוצעו ניסויים ששילבו את המערכת למדידת המטאבוליזם הנשימתי עם השיטות לקביעת הקינטיקה של הגלוקוז. בצורה זאת נקבעו סימולטנית בכל עוף עקומות האקטיביות הספציפית של הגלוקוז  $^{14}\text{C}$  glucose ( $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ) של ה- $^{14}\text{CO}_2$  וכן חילוף הגזים. המדדים שנקבעו וחושבו מאופיינים בהיותם ערכים של קצב (rate) הן לגבי תנועת הגלוקוז והן לגבי ייצור החום. המדדים שנקבעו איפשרו להרחיב את המודל הקינטי של הגלוקוז. מטאבוליזם האנרגיה בעופות נבחן בעזרת מודל זה במצבים פיזיולוגיים של שובע ורעב, חימום וקירור.

#### 3.4.1 המודל הקינטי של פחמן הגלוקוז וייצור החום

הקביעה הסימולטנית של האקטיביות הספציפית של ה- $^{14}\text{C}$  glucose,  $^3\text{H}$  glucose ו- $^{14}\text{CO}_2$  6 וכן צריכת החמצן ופליטת ה- $\text{CO}_2$  איפשרה להרחיב את המודל הקינטי המתואר בציור מס' 3. במודל המורחב נכללים, בנוסף לקצב שיחלוף הגלוקוז ומיחזורו, גם קצב חימצונו ויציאתו למאגרי הגוף וכן קצב ייצור ה- $\text{CO}_2$  מגלוקוז וממקורות אחרים. כדי שאפשר יהיה להשוות בין הקצבים של תהליכים שונים (חימצון גלוקוז ל- $\text{CO}_2$  או סינתוזו בגוף) מבוטאים הקצבים של המודל הקינטי ביחידות של שינוי לכמות הפחמן (ציור מס' 4).

את סה"כ ייצור החום במטאבוליזם האוקסידאטיבי אפשר לחשב לפי צריכת החמצן ופליטת ה- $\text{CO}_2$ . בעזרת המודל הקינטי של פחמן הגלוקוז אפשר היה לחשב את ייצור החום שמקורו בחימצון גלוקוז (על-ידי הכפלת כמות הגלוקוז המתחמצנת ביחידת זמן ( $R_3$ ) בערכה הקלורי). כמו כן אפשר היה לחשב את ייצור החום שמקורו בחימצון דלק מטאבולי אחד (ערכו הקלורי של  $R_5$ ) לפי ההפרש בין כלל קצב ייצור החום (M) - לזה שמקורו בחימצון הגלוקוז ( $M_G$ ) (ציור מס' 5).



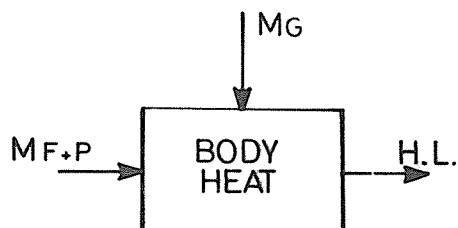
ציור מס' 4:

המודל הקינטי

של פחמן הגלוקוז

קצבי הטרנספורט של הפחמן (R) אל מאגר הגלוקוז וממנו:

- $R_1$  - קצב הכניסה למאגר הגלוקוז  
 $R_1$  - Input to glucose pool  
 $R_2$  - קצב היציאה מגלוקוז למאגרי הגוף  
 $R_2$  - Output from glucose to body depots  
 $R_3$  - קצב היציאה מגלוקוז ל- $CO_2$   
 $R_3$  - Output from glucose to expired  $CO_2$   
 $R_4$  - קצב המיחזור (גלוקוז + תוצר + גלוקוז)  
 $R_4$  - Glucose carbon recycling  
 $R_5$  - קצב היציאה ממאגרי הגוף ל- $CO_2$   
 $R_5$  - Output from non glucose sources to  $CO_2$   
 $R_6$  - קצב האיבוד ב- $CO_2$  הנפלט  
 $R_6$  - Loss as expired  $CO_2$

HEAT PRODUCTION AND LOSS

ציור מס' 5: קצב

ליצור החום

ממקורותיו

$T_b = \text{CONSTANT}, \quad \Sigma M = M_g + M_{F+P} = H.L.$   
 $M$  - HEAT PRODUCTION     $H.L.$  - HEAT LOSS  
 $M_g$  - HEAT PRODUCTION BY GLUCOSE OXIDATION  
 $M_{F+P} = M - M_g$  (fat and proteins)

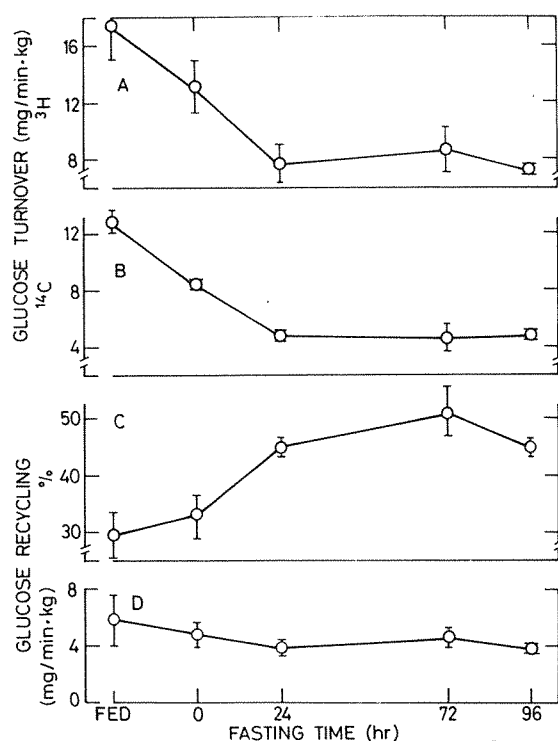


בטמפרטורת גוף קבועה שווה ייצור החום (M) לאיבודו (H.L.). ייצור החום הוא הסכום של פליטות החום ממקורות הדלק המטאבולי המתחמצנים. המקורות העיקריים הם החום הנפלט בחימצון גלוקוז ( $M_G$ ) וזה הנפלט בחימצון שומנים וחלבונים ( $M_{F+P}$ ).

בעזרת המודלים של קינטיקת הגלוקוז (ציור מס' 4) ושל ייצור החום (ציור מס' 5) נלמד מטאבוליזם האנרגיה בעופות שבעים ורעבים ובטמפרטורות גוף שונות.

### 3.4.2 הקינטיקה של הגלוקוז וייצור החום בעופות שבעים ורעבים

קצב שיחלוף הגלוקוז (glucose turnover) וקצב מיחזורו (glucose recycling) נקבעו בפטמים שהורעבו 0, 24, 72 ו-96 שעות (גרף מס' 9). בעופות אלו נקבע גם חילוף הגזים. קבוצה נוספת של פטמים הואכלה, במהלך 6 שעות הניסוי, מהזרקה ועד סיום, במנת מזון של כ-25 גר'. טיפול זה בוצע מכיוון שהעופות בטיפול של 0 שעות צום נעשו רעבים במהלך הניסוי. בקבוצה שהאכלה נמנעה בדיקת חילוף הגזים בגלל ההאכלה. הבדיקות הקינטיות ואלו של חילוף הגזים נעשו סימול-טנית בהיות העופות קשורים למערכת הזרימה הפתוחה (2.2.1).



גרף מס' 9: השפעת שובע וצום על קצב שיחלוף הגלוקוז ומיחזורו בעוף.

קצב שיחלוף הגלוקוז לפי  $^3\text{H}$  glucose (A), קצב שיחלוף הגלוקוז לפי  $^{14}\text{C}$  glucose (B), מיחזור הגלוקוז כ- % מקצב השיחלוף (C), מיחזור הגלוקוז כמותית (D). הערכים הם  $\text{mean} \pm \text{S.E.}$  של 3 חזרות בכל טיפול.

קצב שיחלוף הגלוקוז ירד בשיעור של כ-50% בהשפעת צום של 24 שעות, ואחר-

כך נשאר יציב עד 96 שעות צום. קצב השיחלוף שנקבע בעזרת  $^{14}\text{C}$  glucose היה

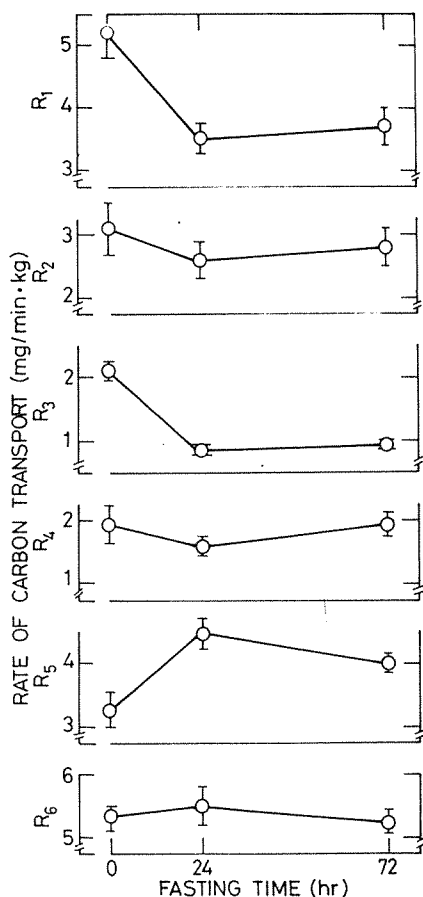
נמוך מזה שחושב לפי האקטיביות הספציפית של ה- $^3\text{H}$  glucose. קצב המיחזור

ירד באופן בלתי מובהק במהלך ההרעבה.

בשלושה מתוך הטיפולים המתוארים בגרף מס' 9 (0, 24, 72 שעות צום) נקבעה

גם האקטיביות הספציפית של  $^{14}\text{CO}_2$  הנפלט בנשימה, וחושבו לגביהם ערכי המודל

הקינטי המורחב (גרף מס' 10).



גרף מס' 10: הקינטיקה של

פחמן הגלוקוז בעופות,

שבועיים ורעבים.

קצבי מעבר הפחמן: למאגר הגלוקוז ( $R_1$ ), ממנו ל- $\text{CO}_2$  ( $R_3$ ) ולמאגרי הגוף

( $R_2$ ). קצב מיחזורו ( $R_4$ ), איבודו ב- $\text{CO}_2$  נפלט ( $R_6$ ) ויציאתו ממאגרי הגוף

ל- $\text{CO}_2$  ( $R_5$ ). הערכים הם  $\text{mean} \pm \text{S.E.}$  של 3 עופות בכל טיפול. הערכים של

$R_1$ ,  $R_3$  ו- $R_5$  שונים באופן מובהק ( $P < 0.05$ ) בזמן 0 מהערכים ב-24 ו-72

שעות צום.

בכל המדדים שבהם חלו שינויים בעופות המורעבים בהשוואה לשבועיים, הם התבטאו

אחרי 24 שעות צום ולא השתנו באופן משמעותי בהתמשך הצום ל-72 שעות.  $R_1$  ירד

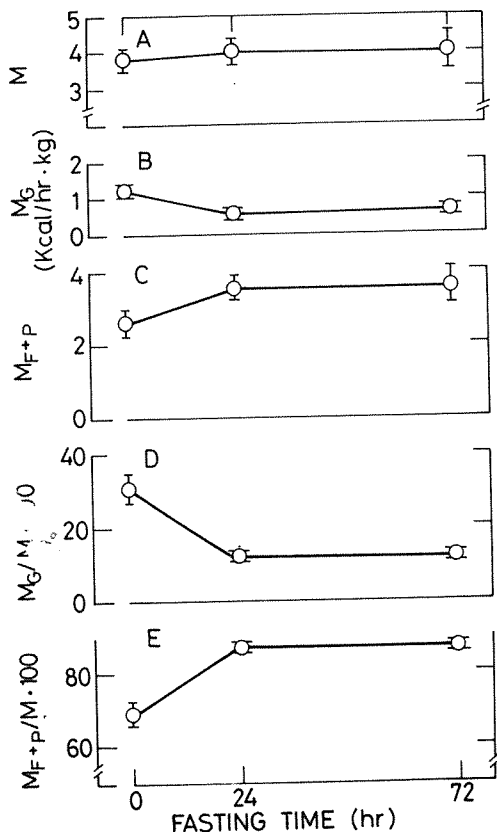
בשיעור של כ-30% בהשפעת הצום.  $R_2$  ירד מעט ובאופן מובהק.  $R_3$  ירד בשיעור של כ-55% מ-2.1 ל-0.9 מ"ג/דקה·ק"ג.  $R_4$  לא השתנה באופן מובהק.  $R_5$  עלה בשיעור ירידתו של  $R_3$  ו- $R_6$  נשאר יציב. ירידה משמעותית חלה איפוא, בהשפעת צום, בקצב שיחלוף הגלוקוז ובקצב חימצונו המתבטאים בירידת  $R_1$  ו- $R_3$ , בהתאמה. עליה רבה היתה בחימצון מקורות דלק אחרים (חלבון ושומן) המתבטאת ב- $R_5$ . בקצב מעבר הגלוקוז למאגרי הגוף ובקצב מיחזורו חלו ירידות קטנות בהשפעת הצום, המתבטאות ב- $R_2$  ו- $R_4$ . רמת המטאבוליזם היתה יציבה, כפי שנראה לפי פליטת ה- $CO_2$  המתבטאת על-ידי  $R_6$ .

שילוב של ערכי המודל הקינטי עם המודל המתאר את שטף החום (גרף מס' 11) מתאפשר

על-ידי חישוב ייצור החום (M) על בסיס המקדם הנשימתי, וחישוב ייצור החום

הנובע מחימצון גלוקוז ויתר הסובסטרטים בעזרת ערכי המודל של  $R_3$  ו- $R_6$  (2.3.4)

ו-3.4.1).



גרף מס' 11: ייצור החום

בעוף, בהשפעת רעב.

ייצור החום הכללי (M), ייצור החום המתקבל מחימצון גלוקוז ( $M_G$ ), ושיעורו

( $M/M_G$ ), ייצור החום מחימצון שומנים וחלבונים ( $M_{F+P}$ ) ושיעורו היחסי

( $M/M_{F+P}$ ). הערכים הם  $\text{mean} \pm \text{S.E.}$  מ-3 עופות בכל טיפול. כל המדדים (חוץ

מ-M) שונים באופן מובהק ( $p < 0.05$ ) ב-0 לעומת 24-72 שעות צום.

ליצור החום (M) בכל המצבים התזונתיים היה דומה, כ-4 קקא"ל/שעה·ק"ג. ייצור החום מחימצון גלוקוז היה כ-1.2 קקא"ל/שעה·ק"ג ב-0 שעות צום וירד לכדי 0.5 קקא"ל/שעה·ק"ג אחרי צום של 24 שעות שהיוו כ-31% ו-13% מכלל ייצור החום, בהתאמה. ייצור החום הנובע מחימצון יתר הסובסטרטים עלה מ-2.6 ל-3.5 קקא"ל/שעה·ק"ג שהיוו 69% ו-87% מכלל ייצור החום ב-0 ו-24 שעות צום.

### 3.4.3 הקינטיקה של הגלוקוז וייצור החום בעופות נורמותרמיים, היפותרמיים והיפרתרמיים

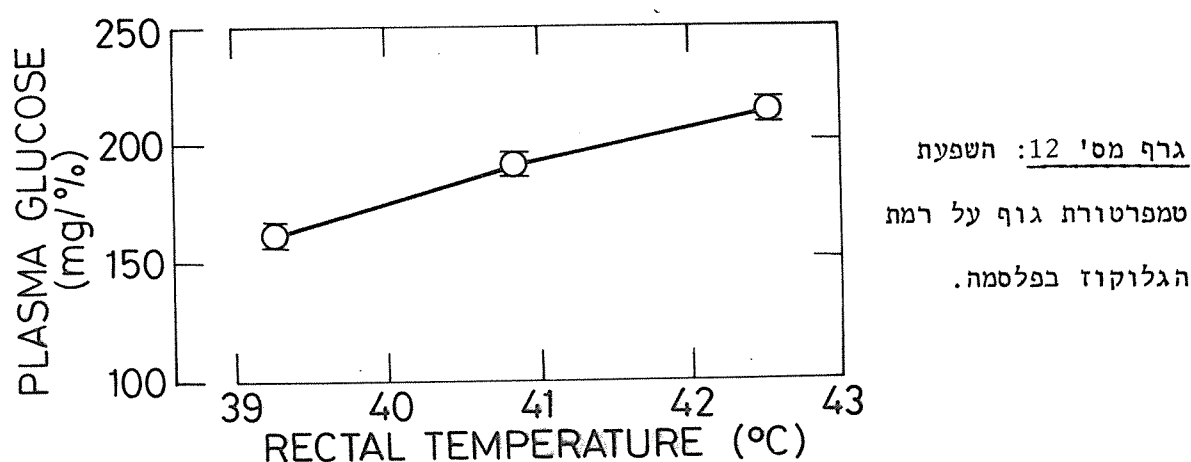
הקינטיקה של הגלוקוז והמטאבוליזם הנשימתי נקבעו גם בעופות מקוררים ומחוממים שהורעבו 24 שעות. קבוצת הביקורת הנורמותרמית שימשה גם כטיפול הצום של 24 שעות בניסוי ההרעבה (3.4.2). מקור הגלוקוז בעופות נלסוי זה הוא סינתוזו ברקמות הגלוקונאוגניות בלבד. קצב ניצולו והקצאתו לנתיבים השונים נלמדו במשטרים חומניים שונים. התגובות לטיפולים התרמיים שונה בעוצמתה ובמנגנונים התרמורגולטיביים המופעלים על-ידי העופות: נשימה מואצת (panting) בחימום ורטט שרירים (shivering) בקרור (טבלה מס' 4). טמפרטורת הגוף בטיפולים השונים נשמרה ב-steady state במשך כל הניסוי והסטיות לא עלו על  $0.25 \pm 0.025$  מ"צ.

#### טבלה מס' 4: השפעת קירור וחימום על טמפרטורת הגוף וקצב הנשימה

הטיפול	משקל גוף ק"ג	טמפרטורת גוף מ"צ	קצב נשימה נשימות/דקה	מצב
קירור	$1.83 \pm 0.2$	$39.26 \pm 0.4$	$38 \pm 6$	רטט שרירים (shivering)
ביקורת	$1.79 \pm 0.2$	$40.82 \pm 0.1$	$26 \pm 5$	רגיל
חימום	$1.87 \pm 0.1$	$42.51 \pm 0.2$	$130 \pm 30$	נשימה מואצת (panting)

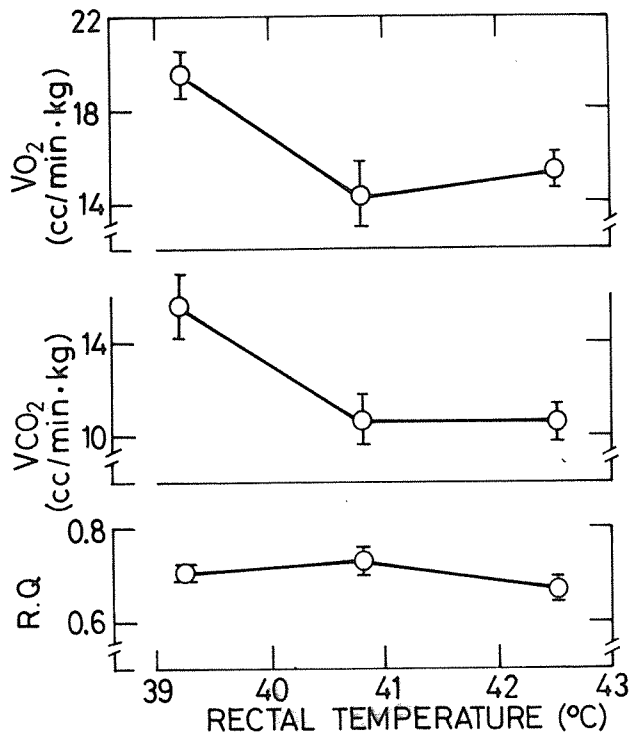
הערכים בטבלה הם  $\text{mean} \pm \text{S.E.}$  של 3 עופות בטיפול. הבדלים מובהקים ( $P < 0.05$ ) קיימים בטמפרטורת הגוף בין שלושת הטיפולים ובקצב הנשימה של הקבוצה המחוממת, לעומת הקבוצה המקוררת וקבוצת הביקורת.

קירור העופות גרם היפותרמיה של 1.56 מ"צ ורטט שרירים רצוף במהלך הניסוי.  
 החימום גרם היפרתרמיה של 1.69 מ"צ וקצב נשימה מהיר. התייצבות קצב הנשימה,  
 טמפרטורת הגוף ורמת הגלוקוז בפלסמה חלה כשעה אחרי התחלת הטיפול התרמי ובמצב  
 זה הוזרק הגלוקוז הרדיואקטיבי. הטיפולים החומניים גרמו שינויים בריכוז  
 הגלוקוז בפלסמה (גרף מס' 12), בחילוף הגזים (גרף מס' 13), בקינטיקת הגלוקוז  
 (גרף מס' 14, 15) ובייצור החום (גרף מס' 16) כלהלן:



רמת הגלוקוז בפלסמה היא  $\text{mean} \pm \text{S.E.}$  של 3 עופות בכל טיפול. הרמה  
 בטמפרטורת גוף של 39.3 מ"צ היתה נמוכה באופן מובהק ( $P < 0.05$ ) מהרמה  
 ב-40.8 ו-42.5 מ"צ.

רמת הגלוקוז בפלסמה היתה 190 mg/dl בעופות הנורמותרמיים ו-210 mg/dl בהיפר-  
 תרמיים. בעופות ההיפותרמיים חלה היפוגליצמיה לערך של 163 mg/dl.



גרף מס' 13: השפעת

טמפרטורת גוף על

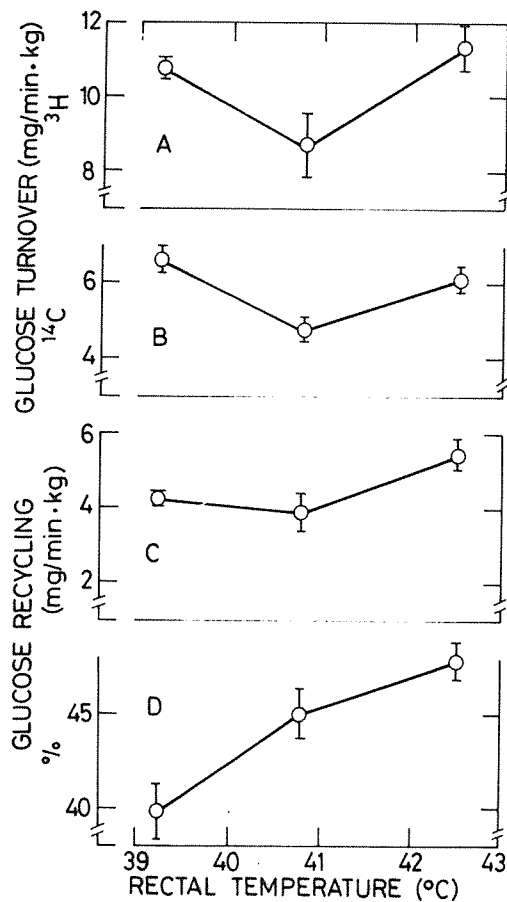
חילוף הגזים.

צריכת החמצן ( $VO_2$ ), פליטת  $CO_2$  ( $VCO_2$ ) המקדם הנשימתי (R.Q.). הערכים הם  $\pm S.E.$  של 3 עופות בכל טיפול. הערכים של צריכת החמצן ופליטת  $CO_2$  שונים באופן מובהק ( $P < 0.05$ ) בעופות ההיפותרמיים בהשוואה למצב הנורמותרמי וההיפרתרמי.

צריכת החמצן עלתה בשיעור של 45% בעופות המקוררים, אך לא בחימום. פליטת  $CO_2$  עלתה בשיעור דומה במצב ההיפותרמי. העליה הרבה ברמת המטאבוליזם לא לוותה בשינוי המקדם הנשימתי (R.Q.).

במקביל לקביעת המדדים הנשימתיים נקבע גם קצב שיחלוף הגלוקוז

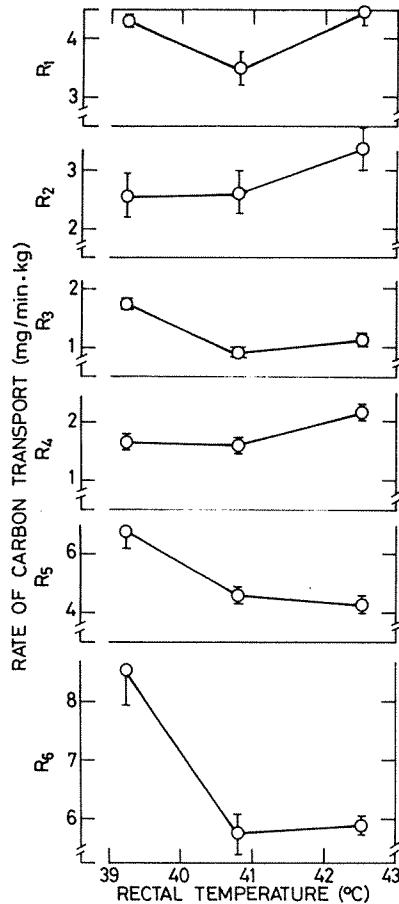
ומיחזורו.



גרף מס' 14: קצב שיחלוף  
הגלוקוז ומיחזורו בעופות  
נורמותרמיים, היפותרמיים  
והיפרתרמיים.

קצב שיחלוף הגלוקוז לפי  $^3\text{H}$  glucose (A) ולפי  $^{14}\text{C}$  glucose (B),  
מיחזור הגלוקוז (C) ושיעורו היחסי (D). קצב השיחלוף מהיר באופן  
מובהק ( $P < 0.05$ ) בעופות ההיפותרמיים והיפרתרמיים, בהשוואה לביקורת  
הנורמותרמית. הערכים הם  $\text{mean} \pm \text{S.E.}$  של 3 עופות בטיפול.

קצב השיחלוף עלה בשיעור של 25%-30% בעופות ההיפותרמיים וההיפרתרמיים בהשוואה  
למצב הנורמותרמי. מיחזור הגלוקוז לא השתנה בקירור אך עלה בחימום, באופן  
ששיעורו היחסי היה כ-40% בקור וקרוב ל-50% בעופות המחוממים. השפעת הטיפולים  
התרמיים על קינטיקת הגלוקוז מתבטאת בשינויים שחלו בערכי המודל הקינטי המורחב  
(ציור מס' 4).



גרף מס' 15: הקינטיקה של

פחמן הגלוקוז בעופות נורמו-

תרמיים, היפותרמיים, והיפר-

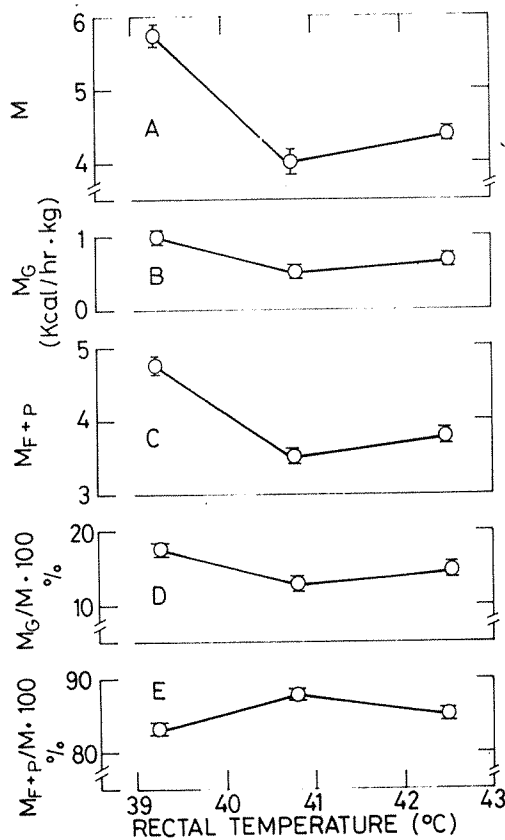
תרמיים.

קצבי מעבר הפחמן: למאגר הגלוקוז ( $R_1$ ) וממנו ל- $CO_2$  ( $R_3$ ) ולמאגרי הגוף ( $R_2$ ), קצב מיחזורו ( $R_4$ ), איבודו ב- $CO_2$  הנפלט ( $R_6$ ) ויציאתו ל- $CO_2$  ממאגרי הגוף ( $R_5$ ). הערכים הם  $\text{mean} \pm \text{S.E.}$  של 3 עופות בטיפול הערכים בעופות ההיפותרמיים היו שונים באופן מובהק ( $P < 0.05$ ) מערכי הביקורת ב- $R_1$  ומערכי הביקורת וההיפרתרמיה גם במדדים  $R_3$ ,  $R_5$  ו- $R_6$ . הערכים במצב ההיפרתרמי היו גבוהים באופן מובהק מערכי הביקורת במדדים  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ .

השינויים שחלו במדדים הקינטיים בעופות ההיפותרמיים וההיפרתרמיים היו כדלקמן: בעופות ההיפותרמיים עלה  $R_1$  בכ-25% ו- $R_3$  עלה ב-95% מ-0.89 מ"ג/דקה·ק"ג ל-1.73 מ"ג/דקה·ק"ג. עליה של כ-45% ב- $R_5$  ושל כ-55% ב- $R_6$ . השפעת הקירור היתה, איפוא, על עליה בקצב שיחלוף הגלוקוז והכפלה בקצב חימצונו המתבטאת ב- $R_1$  ו- $R_3$ . כן גרם הקירור עליה ניכרת בקצב החימצון של מקורות שאינם גלוקוז ( $R_5$ ) ובקצב החימצון הכללי, כפי שנראה בפליטת ה- $CO_2$ . בעופות ההיפרתרמיים חלה עליה של כ-30% בקצב שיחלוף הפחמן ( $R_1$ ) ויציאתו למאגרי הגוף ( $R_2$ ). עליה של 37% חלה



גם בקצב מיחזור הפחמן ( $R_4$ ), שהיה כ-0.5 מ"ג/דקה·ק"ג. השינויים בקצב המעבר ממאגר הגלוקוז ל- $CO_2$  ( $R_6$ ), בקצב יציאתו ל- $CO_2$  מגלוקוז ( $R_3$ ) וממאגרי הגוף ( $R_5$ ) היו קטנים. השינויים בקינטיקת הפחמן במדדים  $R_3$ ,  $R_5$  ו- $R_6$  משקפים את השינויים שחלו ברמת המטאבוליזם ובקצב החימצון של המקורות השונים. המשמעות התרמית של מדדים אלו מתבטאת בערכי ייצור החום הנפלט בחימצונם.



גרף מס' 16: ייצור החום

בעופות נורמותרמיים,

היפותרמיים והיפרתרמיים

ייצור החום הכללי ( $M$ ), ייצור החום המתקבל מחימצון גלוקוז ( $M_G$ )

ומחימצון שומנים וחלבונים ( $M_{F+P}$ ), התרומה היחסית של גלוקוז

( $M/M_G \cdot 100$ ) ושל יתר הסובסטרטים ( $M/M_{F+P} \cdot 100$ ), הערכים הם

$\text{mean} \pm \text{S.E.}$  של 3 עופות בכל טיפול. הערכים של המדדים בעופות

היפותרמיים שונים באופן מובהק ( $P < 0.05$ ) מערכיהם בעופות הנורמו-

תרמיים וההיפרתרמיים.

בעופות ההיפותרמיים חלו שינויים בהשוואה לקבוצה הנורמותרמית במדדים הבאים:

ייצור החום ( $M$ ) עלה מ-4 ל-5.7 קקא"ל/שעה·ק"ג, עליה של כ-42%. 3.5 קקא"ל/

דקה·ק"ג נוצרו בעוף הנורמותרמי מחימצון סובסטרטים שאינם גלוקוז וכ-0.5

קקא"ל/דקה.ק"ג נוצרו במהלך חימצון הגלוקוז ( $M_G$ ). בעופות ההיפותרמיים עלה ייצור החום מגלוקוז ל-1.0 קקא"ל/שעה.ק"ג, וחימצון יתר המקורות תרם 4.7 קקא"ל/שעה.ק"ג (82%). בעופות היפרתרמיים לא היו שינויים מובהקים בהשוואה למצב הנורמותרמי. ייצור החום (M) היה כ-3.8 קקא"ל/שעה.ק"ג, שנוצרו בשיעור של כ-85% מחימצון שומנים וחלבונים וכ-15% מחימצון גלוקוז. בכל הטיפולים היתה טמפר' הגוף, צ, בה במהלך הניסוי ומכך ניתן להסיק על קיום השוויין בין ייצור החום לאיבודו.

## ד ו ו ן

עבודה זאת עוסקת בעיקרה בקינטיקה של שני משתנים פיזיולוגיים - רמת הגלוקוז בדם וטמפרטורת הגוף. ההומאוסטאזיס של הגלוקוז נשמר על-ידי ויסות קצבי אספקתו וניצולו, ושל טמפרטורת הגוף על-ידי ויסות התהליכים הקשורים לייצור החום ולאיבודו. חימצון הגלוקוז מהווה תהליך משותף במערכות המווסתות את רמת הגלוקוז וטמפרטורת הגוף, בהיותו יציאה ממאגר הגלוקוז מחד, ודלק מטאבולי שבמהלך חימצונו מופק חום, מאידך. במצב של אכילה ושובע, מהווה ספיגת הגלוקוז במעי מקור גלוקוז עיקרי, ועודפים שאינם משמשים לחימצון נאגרים כשומן. במצב של צום מהווה הכבד מקור בלעדי לאספקת גלוקוז ומאגרי הגוף מספקים סובסטרא-טים לגלוקוניאוגנזה ולמטאבוליזם החימצוני. ספיגת הגלוקוז, ניצול מאגרי האנרגיה, הקינטיקה של הגלוקוז ושל שטף החום והקשר ביניהם, נידונים להלן.

### 4.1 ספיגת גלוקוז ועיכול עמילן

העמילן הוא מקור הגלוקוז העיקרי במזון עופות. עיכולו מתחיל על-ידי העמילאז שברוק ובמשך על-ידי עמילאזות המופרשות שם (Annison 1974). ספיגת הגלוקוז המתקבל מהידרוליזה של עמילן, דרך דופן מערכת העיכול, מהווה את ה-input העיקרי למאגר הגלוקוז בגוף ונתון לשינויים מרחיקי לכת בהתאם לכמות המזון הנאכל והרכבו. בשלב הראשון נקבעו השיעור והמקום של עיכול עמילן וספיגת גלוקוז לאורך המעי.

#### 4.1.1 עיכול עמילן

שיעור עיכול העמילן היה כ-98% (גרף מס' 6). רובו נעכל בחלקים העליונים של המעי, ומיעוטו באזורים האמצעי והאחורי. שיעור עיכול כה גבוה

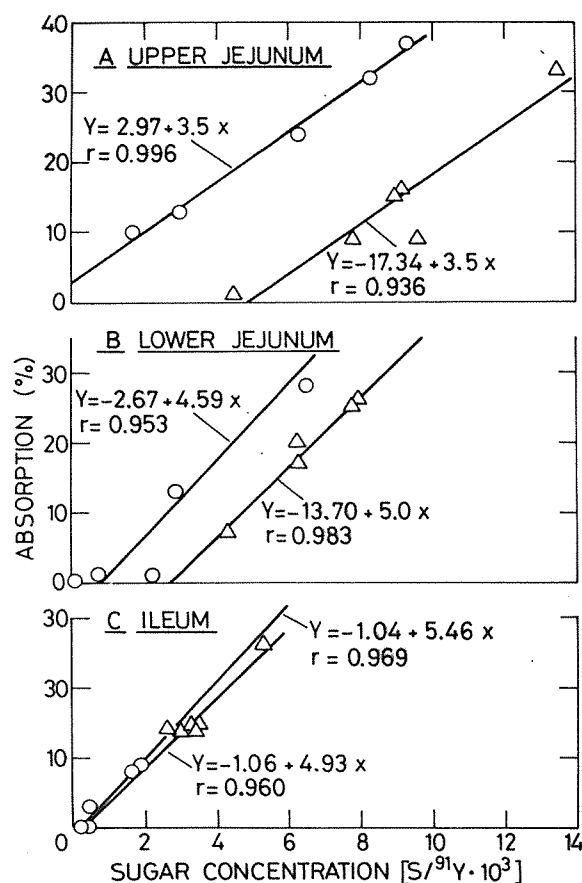
כפי שנמצא גם על-ידי Ariyoshi וחבריו (1964), מצביע על יעילותו של מעי העופות לגבי ספיגת פחמימות. Nitsan וחבריו (1964) הראו כי פעילות  $\alpha$  amylase רבה פי 3 ב-jejunum וב-ileum מאשר ב-duodenum, וזאת באפרוחים שקיבלו מנת מזון שהכילה 38% עמילן. גם Hurwitz וחבריו (1972) הראו כי בתוכן מעי של אפרוחים היתה פעילות העמילאזות מכסימלית ב-jejunum העליון. נראה לכן שריכוז האנזים איננו תואם את שיעור ההתעכלות של העמילן שהגיע לכדי כ-60% כבר בתריסריון, ורק כ-15% באיליום. נראה, איפוא, שאין להקיש מריכוז האנזים לגבי שיעור העיכול של העמילן *in vivo*.

#### 4.1.2 ספיגת גלוקוז

כדי לקבוע סימולטנית את עיכול העמילן וספיגתו כגלוקוז, היה צורך בסמן בלתי נספג שיתאים בקצב תנועתו לאורך המעי הן לעמילן הבלתי מסיס והן לגלוקוז המסיס. בניסוי 1 בשלב זה נבדקו, איפוא, הסמנים  $^{91}\text{Y}$  הנע בעיקר בפרקציה הבלתי מסיסה ו- $^{51}\text{Cr-EDTA}$  המסיס יותר (Kotb 1972). לא נמצא הבדל בשיעור הספיגה כפי שחושב לפי כל אחד משני הסמנים (גרף מס' 5) ו- $^{91}\text{Y}$  נבחר כסמן. ספיגת הגלוקוז שמקורו במזון היתה בשיעור של כ-65% עד קצה ה-duodenum, כ-85% עד קצה ה-jejunum וכ-99% עד קצה המעי (גרף מס' 6). שיעור ספיגת הגלוקוז שהתקבל מעיכול עמילן היה מעט קטן יותר ב-duodenum וב-jejunum. הבדל זה נבע, כנראה, מכך שאת ספיגת הגלוקוז שמקורו בעיכול העמילן הגביל שיעור פידוק העמילן.

שיעורי הספיגה בעופות *in vivo* מובאים לראשונה בעבודה זאת. לכן אפשר להשוותם רק לתוצאות שהתקבלו *in vitro*. Fearson וחבריו (1968) לא מצאו הבדל בכושר ספיגת הגלוקוז בין קטעי המעי השונים בעופות. Bogner וחבריו (1963) הציעו, שספיגת הגלוקוז בעוף נעשית בעיקר באיזור האמצעי. לעומתם הראה Levin (1976) שהאיפיוניות של האיליום לספיגת גלוקוז רבה משל הג'ג'ונום.

עבודות אלו לא נעשו in vivo ולא במצב של steady state לגבי אספקת הגלוקוז. נראה, איפוא, שספיגת הגלוקוז בפטמים חלה בעיקר בחלקים העליונים של המעי. שיעורי הספיגה כפי שחושבו בעבודה זאת היו ממוצעים של 6 עופות בכל טיפול. הווריאציה בשיעור הספיגה בין העופות בכל טיפול מאפשרת לתאי את שיעור הספיגה כנגד ריכוז הסוכר המגיע לסגמנט (גרף מס' 17). ריכוז הסוכר המגיע לסגמנט חושב לפי היחס בין ריכוז הסוכר לסמן הבלתי נספג בסגמנט הקודם.



גרף מס' 17: השפעת

ריכוז הסוכר על שיעור

ספיגתו.

שיעור ספיגת הגלוקוז (o)

והעמילן (Δ) ב-upper

jejunum וב-lower (A)

jejunum וב-ileum (C).

ספיגת הגלוקוז כפונקציה של ריכוזו בסגמנטים השונים (גרף מס' 17) מאופיינת בתכונות הבאות: 1. שיעור הספיגה עולה באופן קווי עם עליית הסוכר המגיע לסגמנט. 2. אין הבדל מובהק בשיפוע הפונקציה בין הסגמנטים השונים, וכן אין השפעה של מקור הגלוקוז - ישירות מהמזון או מפירוק עמילן על שיפועי העקומות. 3. בשום מקרה לא נראה כי עקומת הספיגה החלה להתקרב לרוויה למרות שהדיאטות היו עשירות בסוכר (נספח מס' 1).

על סמך ניסויים שנעשו בשיטות *in vitro* ו-*in situ*, מקובל בספרות כי תלוקוז נספג דרך דופן המעי באופן אקטיבי (Levin 1976) על אף שאין מפקפקים בקיום תהליך דיפוזי כאשר קיים מפל ריכוזים בין תוכן התאים לנוזל החוץ תאי. מציאת מנגנון אקטיבי במעי בעבודה *in vitro*, אינה מצביעה בהכרח על החשיבות של מנגנון זה בבעל החיים הנתון במשטר תזונה "נורמלי". בספרות ידוע רק מקרה אחד, בו ניסו Murakami וחבריו (1977) להעריך את חשיבות המנגנונים הפאסיבי והאקטיבים המשתתפים בספיגת גלוקוז במעי חולדות. על-ידי שילוב של טכניקת "לולאות" מעי *in situ*, וקביעת ריכוז הגלוקוז בתוכן המעי *in vivo*, הראו חוקרים אלה כי עקב ריכוזו הגבוה בתוכן המעי נספג רוב הגלוקוז על-ידי תהליך פאסיבי. בעבודה זאת לא קבענו ערכים מקבילים לאלה שנקבעו על-ידי Murakami וחבריו, בכל אופן העובדה שבעוף התקבלה פונקציה ליניארית של הספיגה בעליית הריכוז, מראה כי מרבית הספיגה *in vivo* היא פאסיבית ושהמנגנונים האקטיביים המצויים במעי העופות לא נכנסו לפעולה משמעותית בתנאי ההזנה כפי שהיו בניסוי זה או שהתהליך האקטיבי רחוק מאוד מרוויה. כאשר מדובר בתהליך דיפוזי, מוגדרת החדירות (פרמאביליות) כשיפוע עקומת התלות של הספיגה בריכוז. השיפועים במקטעי המעי השונים, בעבודה זאת (גרף מס' 17), לא היו שונים באופן מובהק ביניהם, כך שהחדירות לגבי גלוקוז שווה בכל הסגמנטים, ההבדל בין המקטעים השונים נובע מריכוז הגלוקוז שבהם בלבד. ההבדלים בין מקטעי המעי השונים לגבי פעילות "הנשא" של הגלוקוז (Barker 1977), לא התבטאו בתוצאות עבודה זאת כנראה עקב העובדה שהמנגנון האקטיבי כולו, לא בא לידי ביטוי. הבדלי החותכים בין העקומות של ספיגת הגלוקוז והעמילן, נובעים מנוכחות של עמילן בלתי מפורק במקטעים אלו. בהתאם לשיעור הספיגה של הגלוקוז (98%) וצריכת המזון (50%-70% עמילן) של כ-150 גרם ליום בפטמים ששקלו כ-1.800 ק"ג - אפשר להעריך קצב ספיגת גלוקוז יומי ממוצע של כ-30 מ"ג/דקה ק"ג. ערך זה גבוה מהערך של כל קצב השיחלוח שהתקבל בעבודה זאת (גרף מס' 9) או על-ידי Belo וחבריו (1976) בעופות שבעים. אי-התאמה זאת מצביעה על אפשרות שחלק מהגלוקוז הנספג במעי, איננו מתערבב

במאגר הכללי, מגיע ישירות לכבד דרך המערכת הוורידית הפורטלית, ועובר פירוק באבר זה.

#### 4.2 ניצול מאגרי האנרגיה

במעבר משובע לרעב חלים במטאבוליזם החימצוני שינויים כמותיים ואיכותיים, המביאים לידי ביטוי את ההתמחות הפיזיולוגית-מטאבולית של הרקמות להגיב בתנאים אלו. הבולטים שבשינויים הם: הפסקת סינתזת השומן והגברת פירוקו והובלתו, מעבר לחימצון כמעט בלעדי של חומצות שומניות בשרירים, פירוק גליקוגן, סינתזת גלוקוז וגופיפי קטו בכבד, וכן ירידה ברמת חילוף החומרים (Newsholm 1973; Masoro 1968). תהליכים אלו גורמים ניצול של מאגרי האנרגיה בגוף, דבר המתבטא בשינויים בהרכב הגופה ובחילוף הגזים. בשלב זה נבדקו השינויים בכמות מאגרי האנרגיה ובקצב חימצונם.

##### 4.2.1 המטאבוליזם הנשימתי בתנאי שובע ורעב

רמת חילוף החומרים (MR) ירדה במהלך הצום בשיעור של כ-15% (גרף מס' 7). צריכת החמצן ירדה והתייצבה כעבור 24 שעות צום. ההתייצבות בפליטת ה- $CO_2$  חלה אחרי 72 שעות צום, ומכאן ההתייצבות המקבילה במקדם הנשימתי (RQ). הירידה בקצב חילוף הגזים מבטאת את הירידה ברמת המטאבוליזם והתקבלה בצום גם על-ידי Romijn וחובריו (1966) בעופות ובחיות שונות (Brody 1945). בניגוד להתייצבות צריכת החמצן אחרי 24 שעות צום, הוסיפה פליטת ה- $CO_2$  לרדת - ולכן גם ה-RQ ירד לערך הנמוך מ-0.6. ירידת המקדם הנשימתי הוא הביטוי לשינוי בסוגי הדלק המתחמצן, אך הערך התיאורטי האפשרי הנמוך ביותר הוא 0.7 (Stryer 1975). ירידה דומה במקדם הנשימתי של עופות מורעבים קיבלו גם Romijn וחובריו (1966) ו-Annisson וחובריו (1969), אך ללא הסבר לתופעה. יתכן, אפוא, שלא כל ה- $CO_2$  שנוצר במטאבוליזם החימצוני נפלט באוויר הננשף, ושהמקדם הנשימתי איננו מדד

מדויק בצום ממושך. אפשרות זאת מתחזקת לאור עבודתם של Shipley וחבריו (1975), שהראו בחולדות מורעבות כי יש מעבר של פחמן מ- $\text{CO}_2$  בדם לגלוקוז בשיעור של כ-5% מכלל ה- $\text{CO}_2$  הנוצר. המקדם הנשימתי (RQ) איננו מאפשר קביעה כמותית מדויקת של הדלק המטאבולי המתחמצן. קצב חימצון הגלוקוז נקבע בעבודה זאת על-ידי מדידות קינטיות, ולצורך הערכת קצב הניצול של חלבונים ושומנים נבדקו השינויים בהרכב הגופה במהלך הצום.

#### 4.2.2 השפעת צום על הרכב גופה

ניצול מאגרי האנרגיה במהלך הצום, בא לידי ביטוי בשינויים שחלו בהרכב הגוף (טבלה מס' 3, גרף מס' 8).  
 רמת הגליקוגן בכבד ירדה במשך 6 שעות הצום הראשונות מ-26 ל-1 מ"ג/גרם כבד. גליקוגנוליזה הפטית מהירה בצום התקבלה גם בחולדות (Baker 1972) ובעופות (Davison 1975) והוא ביטוי לפונקציה הגלוקוסטטית של הכבד (Stalmas 1976). משקל הכבד בעופות השבעים היה כ-38 גרם, כך שתכולת הגליקוגן בו בעוף השבע היתה כ-1 גרם, כמות השווה לכמות הגלוקוז החופשי במאגר (ציור מס' 3) או לכמות שצורך עוף במשך כשעה אחת (Belo 1976).

נראה כי הגליקוגן ההפטי בעופות, הוא מקור גלוקוז בשלב הראשון של הצום, שבו עדיין חלה ספיגת גלוקוז ממערכת העיכול. פירוק הגליקוגן המהיר תוך פרק-זמן קצר ממניעת המזון לפטמים - מעיד על היות העופות ברעב. ואמנם שקילת תוכן המעי העידה כי כ-80% ממנו נספג תוך 6 שעות צום (טבלה מס' 3). יתכן שהסיגנל לגליקוגנוליזה מופעל על-ידי הירידה הקטנה בריכוז הגלוקוז תוך כחצי שעה עד שעתיים ממניעת מזון מהעופות (Yeh, Yu-Yan 1970), הגורמת עליה ברמת הגלוקגון המעודד את פעילות הפוספורילאזות בכבד (Hazelwood 1976).

התגובה לצום של הגליקוגן שבשרירים היתה שונה לחלוטין (טבלה מס' 3). הגליקוגן בשריר החזה ירד אך במעט ובאופן בלתי מובהק, וזה שבשריר הרגל ירד



באופן ניכר רק אחרי 48 שעות צום. היציבות היחסית ברמת הגליקוגן בשרירים ידועה ביונקים (Lehninger 1970) ובעופות (Whittow 1976), אף שידועה גם תנודה יממתית וירידה בצום בחולדות (Funabici 1975). ההסבר לשוני בין הגליקוגן שבכבד לזה שבשריר הוא בתגובה האנזימטית לפעילות האנדוקרינית. הגליקוגן שבכבד רגיש לירידה ברמת האינסולין ולעליה ברמת הגלוקגון הנגרמים בצום וגורמים אקטיבציה של הפוספורילאזות (Hijing 1975). לעומת זאת, האפקט הגליקוגנוליטי בשריר מיוחס בעיקר לקטכולאמינים (Goodman 1970). בהתאם לכך משמש הגליקוגן שבכבד למניעת היפוגליצמיה בשעות הראשונות של הצום (Martín 1976) תפקיד המתאפשר בעזרת האנזים ההידרוליטי גלוקוז 6 פוספאטאז, שאיננו נמצא בשריר (Stryer 1975). לעומתו נראה שהגליקוגן שבשריר משמש בעיקר כמקור גלוקוז 6 פוספאט לגליקוליזה במצב של פעילות מאומצת (Martín 1976). זאת היא, כנראה, הסיבה לירידה המהירה ברמת הגליקוגן בשרירי החזה של יונים שהיו ברטט שרירים או התכווצות שרירים שנגרמו על-ידי סטימולציה חשמלית (Parker 1974, 1975). ההבדל ברמת הגליקוגן בשריר החזה והרגל במשך הצום נובע, כנראה, מסוג הסיבים המרכיבים את השריר. סיבים אלו - מטיפוס לבן, אדום או מעורב - מרכיבים את שרירי השלד ביחסים כמותיים שונים (George 1966), והם צרכני דלק מטאבולי מסוגים שונים: גלוקוז או ח' שומניות (Parker 1974).

ירידה ניכרת היתה גם במשקל הכבד במהלך הצום (טבלה מס' 3). משקל הכבד ירד מכ-40 גרם לכ-20 גרם תוך 69 שעות צום. ירידה זו, שהיא גדולה יחסית לירידה במשקל הגוף, התקבלה גם בעופות (Yeh, Yu-Yan 1970) ובחולדות מורעבות (Suzuki 1975). הירידה במשקל הגוף לא שינתה באופן מובהק את אחוז הליפידים והחלבון בגופה. הרכב הגופה כלל 11% ליפידים ו-18% חלבון בעופות השבעים ו-10% ו-20% בצום של 96 שעות, בהתאמה. כמו כן היה שיעור החומר היבש 33% בכל הטיפולים. ערכים אלו מתאימים לידוע בחיות אחרות, כחולדות (Suzuki 1975) ועופות (Washborn 1975). את תרומתם הכמותית של השומנים והחלבון כמקורות

אנרגיה אפשר להעריך על-פי קביעת שיעור פירוק במהלך הצום. קצב הפירוק של מאגרים אלו היה בממוצע 0.37 ו-0.59 גרם/שעה של חלבון ושומנים, בהתאמה (גרף מס' 8), שערכם הקאלורי 0.873 ו-3.229 קק"ל/שעה·ק"ג. אחרי פירוק הגליקוגן מהווים השומנים והחלבונים את מקורות האנרגיה, והם מפורקים ומובלים לאתרי החימצון. חלקם מתחמצן ישירות או משמש כפרקורסור לסינתזת גלוקוז המתחמצן רובו ככולו (נספח מס' 2). סה"כ ליצור החום המופק מחימצונם בפטם הרעב היה, איפוא, 4.10 קק"ל/שעה·ק"ג; ובכך תורם השומן כ-79% וחלבון כ-21%.

#### 4.3 הקינטיקה של הגלוקוז

הדגש בגישה הניסויית הושם במדידה בו-זמנית של מדדים פיזיולוגיים רבים בבעל-החיים השלם. היתרון בגישה זאת הוא שהמשתנים שנבדקו שיקפו מצבים פיזיולוגיים *in vivo*. המגבלה בגישה זאת היא הקושי לכודד את הגורמים המשפיעים על המצב הפיזיולוגי (הבקרה העצבית והאנדוקרינית ברמות השונות) ולהעריך את השפעתם הכמותית הספציפית. הקינטיקה של הגלוקוז וחילוף הגזים נבדקו במשטרים תזונתיים וחומניים שונים, ונדון הקשר בין הומאוסטאזיס הגלוקוז ובין ליצור החום.

##### 4.3.1 הגלוקוז בפלסמה

רמת הגלוקוז בפלסמה היתה בשיעור של כ-200 mg/dl בעופות שבעים ומורעבים (גרף 1, טבלה 1). הרמה הגבוהה של הגלוקוז בפלסמת עופות יחסית ליובקים ידועה (Bell 1971), וכן ידועה עמידות רבה של עופות להיפוגליצמיה בצום (Sturkie 1976). רמת הגלוקוגון בפנקריאס העופות גבוהה פי 5-10 מביונקים, ולו אפקט היפרגליצמי ניכר (Hazelwood 1973). יתכן כי השמירה על רמת הגלוקוז בצום מווסתת על-ידי גלוקגון, השערה המחייבת בדיקה ישירה שלא נעשתה בעופות עד כה. היפוגליצמיה התקבלה בעופות ההיפותרמיים (טבלה מס' 1). תופעה זאת

ידועה בעופות (Whittow 1976), אף כי סיבותיה אינן ברורות. רמת הגלוקוז בפלסמה אינה מדד משמעותי להערכת התהליכים ההומאוסטאטיים בהיותה הגורם שיציבותו נשמרת. כמו כן מייצגת רמתו בפלסמה את מאגר הגלוקוז הזמין בגוף, שכמותו הכללית היא בעלת משמעות מנקודת-ראות אנרגטית.

על-ידי השימוש בגלוקוז רדיואקטיבי  $^{14}\text{C}$ ,  $^3\text{H}$  glucose וקביעת האקטי- ביזת הספציפית שלו בדם אפשר היה לקבוע את גודל המאגר, הקומפרטמנטציה שלו וקצב השיחלוף והמיחזור שלו (ציור מס' 3). תוצאות עבודה זאת מראות שמודל דו-מדור מתאר את ההתנהגות הקינטית של הגלוקוז בטווח הזמן הנמדד. הגדרת המדורים היא פורמלית באשר קיים מדור מהיר-עירבול, שהוא גם המדור הנדגם וזה שאליו הוזרק האיזוטופ ומדור אחר הכולל את יתר הגלוקוז החופשי במאגר והנמצא בשיווי-משקל עם המדור הראשון (Katz 1974). מודל דו-מדורי של מאגר הגלוקוז תואר גם בחולדות (Shiple 1976) ובארנבות (Katz 1974), אך גם תאור תלת-מדורי נמצא בחולדות (Baker 1959), בבני-אדם (Insel 1975) ובפרות (Kronfeld 1977). מבחינה פיזיולוגית אין חשיבות למספר המדורים אלא לגודלם. לכן הולך וגדל מספר העבודות המתפרסמות בספרות, המחשבות את המדדים הקינטיים ישירות מעקומת האקטיביות הספציפית של הגלוקוז, ללא צורך להתאים את הנתונים לעקומה אקספוננציאלית זאת או אחרת. גישה זו פיתחו Katz (1974) וחובריו לגבי חולדות וארנבות, והיא נכונה גם לגבי העופות בניסוי זה. בטבלה מס' 2 נראה כי חישוב בשתי הדרכים המקובלות נותן תוצאות דומות לגבי קצב שיחלוף הגלוקוז ומיחזורו. המודל המתואר בציור מס' 3 הוא וריאנט נבחר מתוך תשע אפשרויות לתיאור מודל דו-מדורי (Shiple 1972), והוא מניח כי הכניסות למאגר הגלוקוז והיציאות ממנו הן דרך המדור מהיר-העירבול. גודל מאגר הגלוקוז, קצב השיחלוף והמיחזור של הגלוקוז המוצגים במודל המתואר בציור מס' 3 - התקבלו בעופות שבעים, והם שונים מהידוע לגבי חיות אחרות, ובחלקם גם מהידוע בעופות.

- א. מאגר הגלוקוז בפטמים היה כ-1000 מ"ג/ק"ג (ציור מס' 3). ערך זה גבוה מבארנבות - 275 מ"ג (Dunn 1976), חולדות - 330 מ"ג (Katz 1974) ובני-אדם - 215 מ"ג (Insel 1975). בעופות נמצאו ערכי מסת גלוקוז של 510 מ"ג/ק"ג בעופות במשקל 3.5 ק"ג (Belo 1976), של 640 מ"ג/ק"ג בעופות ששקלו כ-2 ק"ג (Phillips 1977) ו-970 מ"ג/ק"ג באפרוחים במשקל כ-800 גרם (Brady 1977). בעבודה זו, בעופות השבעים היה ריכוז הגלוקוז כ-200 מ"ג/100 מ"ל (טבלה מס' 1). בהתאם לריכוז זה, הרי נפח מאגר הגלוקוז הוא כ-500 מ"ל/ק"ג. את הגבולות האנאטומיים של המאגר אי-אפשר לדעת לפי ריכוז הגלוקוז או מסת המאגר; אך נפח המאגר נמצא בין ההערכה המינימלית של נפח נוזלי הגוף להערכה המכסימלית של נפח הנוזלים האקסטראצלולריים בעופות (Sturkie; Freeman 1971). מאגר זה איננו כולל את הגליקוגן המוסקולרי, שאיננו הופך לגלוקוז בהעדר האנזים G6 Pase בשריר, וכן איננו כולל את הגליקוגן ההפטי המתפרק לחלוטין בצום (טבלה מס' 3), בעוד שגודל המאגר יורד בצום אך במעט (Belo 1976).
- ב. קצב שיחלוף הגלוקוז בפטמים היה כ-15 מ"ג/דקה-ק"ג (ציור מס' 3, טבלה מס' 2). שיעור זה גדול בכ-30%-50% מהידוע בבעלי-חיים אחרים, ומתאים לידוע בעופות (Brady 1977; Belo 1976). קצב שיחלוף מהיר של גלוקוז בעופות מצאו גם Annison וחבריו (1969), אשר הראו גם כי ניצולו לחימצון נמוך בהשוואה לחיות אחרות, וכי החומצות השומניות הן מקור האנרגיה העיקרי בעופות. על אף היות קצב השיחלוף גבוה באופן יחסי, הרי הוא עדיין נמוך בהשוואה לערכו המשווער בהסתמך על צריכת המזון ותכולת הגלוקוז בו. לפי הערכה זאת, הרי קצב אספקת הגלוקוז על-ידי ספיגתו במעי הוא במוצע לפחות 30 מ"ג/דקה-ק"ג. לפער בין הערכת קצב השיחלוף, לזה שהתקבל, מספר אפשרויות: 1. לא כל הגלוקוז שנספג במעי מגיע למאגר ומתערבל בו. יתכן שחלק מהגלוקוז שנספג מגיע ישירות לכבד דרך המערכת הוורידית הפורטלית, המנקזת דם מהמעי ישירות לכבד (Nickel 1977). גלוקוז זה לא חוזר למאגר, כי הוא הופך בכבד למוצר

סינתזה אחר. 2. קצב השיחלוף בניסוי היה נמוך מהמוצע היומי בגלל פעילות מעטה של העופות שהיו קשורים במהלך הניסוי. 3. למעשה, עופות הניסוי לא היו שבעים, כי הם התחילו את הניסוי עם מערכת עיכול מלאה שהתרוקנה במהלכו (טבלה מס' 3), וקצב השיחלוף מייצג מצב של רעב. אפשרות זאת נבדקה בעבודה זו על-ידי קביעת קצב השיחלוף בעופות שהואכלו במהלך הניסוי (3.4.2).

ג. קצב המיחזור של הגלוקוז היה כ-4 מ"ג/דקה·ק"ג שהוא כ-25-28% מקצב השיחלוף (ציור מס' 3, טבלה מס' 2). שיעור מיחזור זה קטן מכפי שמצאו בעופות Belo וחובריו (1976) ו-Brady וחבריה (1977). הערכים הגבוהים בעבודתם של Belo וחובריו נובעים משימוש בגלוקוז רדיואקטיבי מהטיפוס glucose ( $^{14}\text{C}, ^3\text{H}$ ), הגורם סטיה בקביעת קצב השיחלוף ושיעור המיחזור עקב פעילותו של הנתב המטאבולי העקר (futile cycle) בכבד בשלב של  $\text{glucose} \rightleftharpoons \text{G6P}$  (Dunn 1976, Brady 1977). הערכים הגבוהים של שיעור מיחזור הגלוקוז בעבודתה של Brady וחבריה מושפעים כנראה מהיות העופות בצום של 24 שעות. במצב זה עולה שיעור הגלוקוניאוגנזה ההפסית ויורד קצב השיחלוף, באופן שתיתכן עליה בשיעור המיחזור דרך לקטאט (Dunn 1976) ופרקורסורים תלת-פחמניים אחרים (Hall 1977). הדיון במודל הבסיסי של הגלוקוז נעשה לצורך הצגתו לראשונה בעבודה זו, ולצורך השוואת הערכים של המדדים העיקריים עם הידוע בחיות אחרות ובעופות. המשמעות הפיזיולוגית של הקינטיקה של הגלוקוז במצבים שונים תידון בהמשך.

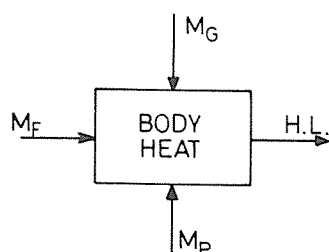
#### 4.3.2 הקינטיקה של הגלוקוז וליצור החום

בבעלי החיים השונים, נבדקו בנפרד מטאבוליזם הגלוקוז וחילוף הגזים. להוציא עבודות אחדות (Annison 1966; Minaire 1973; Paul 1975; Pernod 1972) אשר לקו בשימוש ב- $^{14}\text{C}$  glucose בלבד במדידות הקינטיות, לא נעשו עבודות שבדקו באופן סימולטני את קינטיקת הגלוקוז והמטאבוליזם הנשימתי. לכן גם לא היה

אפשרי, ללמוד מעבודות אלה על הקשר בין השפעת חימצון הגלוקוז על סינתוזו בכבד וניצולו לצרכים אחרים, לבין תרומתו לכלל ייצור החום. המדידות שנעשו בעבודה זאת של בדיקה סימולטנית של קינטיקת הגלוקוז וחילוף הגזים, אפשרו לקבוע לראשונה בעופות את המדדים הבאים: א. קצב החימצון נטו של הגלוקוז *in vivo*. ב. קצב החימצון של כלל הסובסטרטים האחרים. ג. התרומה של הגלוקוז לכלל ייצור החום. ד. קביעה סימולטנית של קינטיקת הגלוקוז עם ייצור החום *in vivo*. הקינטיקה של הגלוקוז ושל ייצור החום מתוארת במודלים של זרימת פחמן הגלוקוז (ציור מס' 4) ושל שטף החום (ציור מס' 5). המודל הקינטי של פחמן הגלוקוז כולל את קצבי מעבר הפחמן אל מאגר הגלוקוז (כולל קצב מיחזור) וממנו ל- $CO_2$  ולמאגר הגוף, וכן את קצב סינתזת ה- $CO_2$  ממקורות שאינם גלוקוז. ייחודו בכך ש- $R_1$  חושב לפי האקטיביות של  $^3H$  glucose,  $R_3$  לפי האקטיביות הספציפית של  $^{14}CO_2$  ו- $^{14}C$  glucose ו- $R_4$  לפי שני סוגי הגלוקוז הרדיואקטיבי. ייחודו אף בכך שהוא כולל את קצב ייצור ה- $CO_2$  ממאגרי הגוף שאינם גלוקוז ( $R_5$ ). המודל של זרימת החום בעוף (ציור מס' 5) כולל את קצב ייצור החום מחימצון של גלוקוז  $M_G$  ושל כלל הדלק המטאבולי שאיננו גלוקוז  $M_{F+P}$ . לפי קביעה של השינויים שחלו בהרכב הגופה במהלך צום (3.3.2 ו-4.2.2) אפשר היה לקבוע את קצב הפירוק של מאגרי החלבון והשומן בגוף ואת ייצור החום המופק מחימצונם. בעזרת נתוני הרכב הגופה אפשר היה להרחיב את המודל של שטף החום (ציור מס' 6) ולכלול בו את ייצור החום הנובע מחימצון גלוקוז, את ייצור החום הנובע מחימצון ישיר של חלבונים ( $M_P$ ) ואת זה הנוצר בחימצון ישיר של שומנים ( $M_F$ ).

ייצור החום ( $M$ ) של הפטמים שהיו בצום, לפי צריכת החמצן ופליטת ה- $CO_2$  בניסוי שקבע גם את קינטיקת הגלוקוז, היה כ-4.1 קקא"ל/שעה·ק"ג (גרף מס' 11). ייצור החום שנבע מחימצון גלוקוז ( $M_G$ ) בניסוי זה היה כ-0.5 קקא"ל/שעה·ק"ג שהיו כ-13% מכלל ייצור החום במטאבוליזם החימצוני (גרף מס' 11). יתרת ייצור החום מקורה בחימצון מקורות דלק מטאבולי אחר, שהוא למעשה שומנים וחלבונים ( $M_{F+P}$ ).

### HEAT PRODUCTION (MODEL)



צ'ור מס' 6: ייצור החום

מחיצון גלוקוז, שומן

וחלבון.

$T_b = \text{CONSTANT}$ ,  $\Sigma M = M_G + M_F + M_P = H.L.$   
 M - HEAT PRODUCTION H.L. - HEAT LOSS  
 $M_G$  - HEAT PRODUCTION BY GLUCOSE OXIDATION  
 $M_F$  - HEAT PRODUCTION BY FAT OXIDATION  
 $M_P$  - HEAT PRODUCTION BY PROTEIN OXIDATION

ייצור החום של הפסמים, שבהם נבדק הרכב הגופה, הוערך גם כ-4.1 קק"ל/שעה. ק"ג, וזאת לפי קצב פירוק הגוף במהלך הצום (4.2.2). קבלת תוצאה זהה בשתי דרכים שונות מאפשרת להעריך את התרומה של מקורות הדלק המטאבולי השונים לייצור החום בפסם הרעב.

בניסוי הרכב גופה היה היחס בין ערכם הקאלורי של השומנים שפורקו לזה של החלבונים 3.7:1.0. בהתאם ליחס זה אפשר להעריך, כי בייצור החום של 4.1 קק"ל/שעה. ק"ג תרמו הגלוקוז, השומנים והחלבונים 0.5 (13%), 3.0 (73%) ו-0.6 (14%) קק"ל/שעה. ק"ג, בהתאמה. חישוב תרומתם הספציפית של השומנים והחלבונים מתבסס על יחס בערך הקאלורי של הכמות המפורקת במהלך הצום. אחרי פירוקם מתחמצנים חומצות האמינו, הגליצרול והחומצות השומניות, אך גם משמשים כפרקורסורים לגלוקוניאוגנזה (Newsholme 1973). לכן היחס הנדון איננו בהכרח גם יחס חימצונם, ויתכן שתורמתם היחסית לסינתזת הגלוקוז שונה. אולם ההשפעה של טעות אפשרית בהערכת תרומתם לייצור החום היא מזערית, כי הגלוקוז תורם רק 13% מייצור החום וכן כ-47% ממנו נוצרו ממיחזורו (גרף מס' 9). בפסם המורעב מהווים, איפוא, השומנים דלק מטאבולי עיקרי, שחימצונם הישיר תורם כשלושה רבעים מייצור החום. יתר החום נוצר בחימצונם של חלבונים וגלוקוז, שכל אחד מהם תורם כשמינית מייצור החום. ערכים אלו מתאימים למגמה המקובלת בספרות (Annison 1969 ; Freeman 1971),

אך זו נקבעה באופן ישיר in vivo לראשונה בעבודה זאת.

### 4.3.3 הקינטיקה של הגלוקוז בעופות שבעים ורעבים

קצב שיחלוף הגלוקוז ומיחזורו נקבעו בפטמים שבעים שהואכלו במהלך הניסוי, ובפטמים רעבים שצמו 0, 24, 72 ו-96 שעות (גרף מס' 9). קצב שיחלוף הגלוקוז בפטמים שהואכלו היה כ-17.5 מ"ג/דקה·ק"ג. במצב זה, שבו חלה אספקה סדירה של גלוקוז ממערכת העיכול - הפרשת הגלוקוגון מינימלית וכן גם פירוק גליקוגן בכבד, המהווה מאגר לשעת מחסור (Ruderman 1975). קצב ספיגת הגלוקוז במעי כנראה מהיר מקצב השיחלוף, ונראה כי חלק מהגלוקוז הנספג במעי איננו מתערבב במאגר ואיננו נכלל בכלל השיחלוף (4.3.2). מיחזור הגלוקוז היה כ-30% מקצב השיחלוף, בערך של כ-5 מ"ג/דקה·ק"ג, דבר המעיד על גלוקוני-אוגנזה ניכרת גם בעוף השבע.

הפטמים בקבוצה שצמה 0 שעות היו במצב ביניים. הם התחילו את הניסוי שבעים וגמרוהו רעבים. הערכים בקבוצה זאת היו, איפוא, ערכי ביניים - בין אלו שהתקבלו בפטמים המואכלים ובין אלו שהתקבלו בפטמים שהורעבו 24 שעות או יותר. קצב השיחלוף היה כ-13 מ"ג/דקה·ק"ג, והוא התקבל מספיגת גלוקוז במעי, מגליקו-גנוליזה הפטית ומגלוקוניאוגנזה. לפי השינוי בתכולת הגליקוגן בכבד (טבלה מס' 3) אפשר להעריך את קצב הפירוק והשחרור של הגליקוגן ההפטי ב-1.5 מ"ג/דקה·ק"ג. שיעור מיחזור הגלוקוז עלה לכדי 35% מקצב השיחלוף, וזאת ללא שינוי בערך המוחלט שלו. אחרי 24 שעות צום התייצבו השינויים בקצב שיחלוף הגלוקוז ומיחזורו (גרף מס' 9). בשלב זה אין עוד ספיגה ממערכת העיכול, ופירוק הגליקוגן נגמר זה מכבר (טבלה מס' 3). לכן מהוות הרקמות הגלוקוניאוגניות מקור גלוקוז בלעדי וקצב השיחלוף הוא גם קצב סינתוזו ושחרורו מהן. קצב זה היה כ-8 מ"ג/דקה·ק"ג, והוא מהיר מזה הידוע בחולדות (Shipley 1967), בעכברים (Baker 1969), בארנבות (Katz 1974), בפרות (Young 1977), בחזירונים-ים (Wolf 1977)



ובאדח (Young 1967) בשיעור של עד כ-50% לעופות, איפוא, כושר גלוקוניאוגנטי ניכר. כבד העופות מאופיין גם בכך שהאנזים הגלוקוניאוגנטי PEP Carboxy Kinase ממוקם במיטוכונדריה, ואילו בחולדות הוא בציטוזול (Hanson 1974), ובחזירונים - ים - בשניהם (Arinze 1973). שוני זה מוצע כהסבר לשוני בניצול פרקורסורים גלוקוניאוגניים על-ידי המינים השונים (Sarkar 1971).

שיעור מיחזור הגלוקוז עלה מ-30% בעוף השבע לכ-50% אחרי 72 שעות צום (גרף מס' 9). עליה זאת מיוחסת לירידה בקצב השיחלוף, שכן קצב המיחזור ירד בערכים אבסולוטיים בכ-20%. מיחזור הגלוקוז נעשה בעיקר דרך לקטאט (Dunn 1977), שהוא פרקורסור מועדף לגלוקוניאוגנזה בעופות (Sarkar 1971). הכמות האבסולוטית של מיחזור הגלוקוז בבעלי-חיים שבעים ובאלה שבצום מתמשך נבדקה רק בחולדות (Fremint 1976) ובאדם (Streja 1977). בחולדות נמצאה ירידה בשיעור היחסי ובכמות הגלוקוז שעבר מיחזור במהלך הצום, ואילו באדם לא גרם צום ממושך שינוי בכמות הגלוקוז הממוחזר. הניסוי בחולדות נעשה בעזרת האיזוטופים  $^{14}\text{C}$  glucose ו- $^3\text{H}$  glucose. 2. האחרון גורם הערכה מוגזמת של קצב שיחלוף הגלוקוז בגלל הירידה של המימן בעמדה 2 בשלב של המעגל המטאבולי העקר בכבד  $\text{glucose} \rightleftharpoons \text{G6P}$  (Dunn 1976). הירידה באקטיביות הספציפית של הגלוקוז בדם מושפעת, איפוא, מפעילות המעגל העקר, ולא מניצול פיזיולוגי אקסטראהפטי של הגלוקוז. יתכן, איפוא, שהירידה בהערכת המיחזור בחולדות הצמות נבעה מירידה בפעילות המעגל הנדון ולא במיחזור הגלוקוז. פעילות המעגלים העקרים בכבד, בתנאי צום, לא נחקרה; אך מעגלים אלו הם צרכני ATP (Newsholme 1976), שחיסכון בו, במצב של צום, הוא אפשרות שיכולה להיות הסבר לירידת הפעילות של נתיבים אלה בצום. לסיכום, השפעת הצום על קצב שיחלוף הגלוקוז ומיחזורו נראה, כי קצב השיחלוף בתנאי שובע וצום, מהיר בעופות מאשר בבעלי-חיים אחרים. הגלוקוניאוגנזה המכסימלית מושגת כבר אחרי 24 שעות צום, ולא כעבור 48 שעות (Davison 1975). מיחזור הגלוקוז איננו מנגנון המותאם לחיסכון של פרקורסורים גלוקוניאוגניים בצום, ועם זאת איננו מנגנון המגיב על שינוי משובע לצום קצר או ממושך. הירידה

בקצב שיחלוף הגלוקוז היא התגובה המטאבולית העיקרית, שמשמעותה הפיזיולוגית היא חיסכון בגלוקוז.

השינויים בניצול הגלוקוז לחימצון ולסינתזת מאגרי הגוף נבדקו בעזרת המודל הקינטי המורחב בפטמים שצמו 0, 24 ו-72 שעות (גרף מס' 10). השינויים בקצבים השונים המרכיבים את המודל הקינטי התייצבו אחרי 24 שעות צום והיו כלהלן:  
 $R_1$  ירד בכ-30% בפטמים המורעבים לעומת השבעים והוא ביטוי לירידה בקצב שיחלוף הגלוקוז הנידונה בחלקו הראשון של סעיף זה.

בהיות הגלוקוז במאגרו במצב של steady state, מתאזנת הירידה בקצב כניסת הגלוקוז למאגר - בירידה מקבילה בקצבי יציאתו ממנו, ואלה באים לידי ביטוי בירידה ב- $R_2$  וב- $R_3$ .  $R_2$  הוא קצב היציאה של פחמן מגלוקוז למאגרי הגוף, למעשה קצב המעבר למטאבוליטים השונים (חוץ מ- $CO_2$ ). מטאבוליטים אלה הם בעיקר שומנים, חלבונים וגליקוגן (end products) וחומרי ביניים תלת-פחמניים (בעיקר לקטאט).

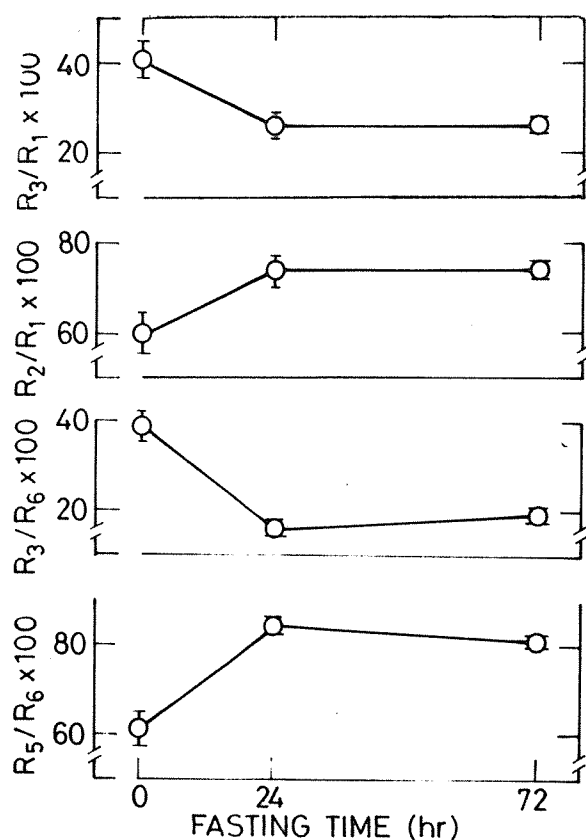
במצב של צום יורדת בעופות הסינתזה של מאגרי הגוף (שומן, חלבון וגליקוגן) תוך שעות אחדות מהתחלתו (Leveille 1968). היחידים שקבעו קצב זה ( $R_2$ ) in vivo היו Shipley וחבריו (1975), שהראו בחולדות ירידה של 65% בקצב מעבר הגלוקוז למאגרי הגוף בצום, שהיה אז כ-25% מכלל קצב השיחלוף. בעבודה זאת היה  $R_2$  כ-60% מכלל קצב השיחלוף ( $R_1$ ) בשובע וכ-70% בצום (גרף מס' 18). הירידה הקטנה יחסית ב- $R_2$  בפטמים שצמו 24 שעות. לעומת 0 שעות צום, מעידה

על סינתזה-מינימלית של מאגרי הגוף כבר בעופות שצמו רק במהלך הניסוי. השיעור היחסי הגבוה של  $R_2$  מתוך  $R_1$  נובע במידה רבה מקצב המיחזור ( $R_4$ ). מיחזור הפחמן כלול בקצב היציאה ממאגרי הגוף ומהווה כ-60% ממנו, ואי-השינוי בו בצום מונע ירידה דראסטית ב- $R_2$ . ירידה ניכרת היתה בקצב חימצון הגלוקוז, המתבטאת בקצב המעבר של הפחמן מגלוקוז ל- $CO_2$  ( $R_3$ ). הירידה מ-2.1 ל-0.9 מ"ג/דלקה ק"ג אחרי צום של 24 שעות לעומת 0 שעות צום (גרף מס' 10) לוותה גם בשינוי בשיעור הקצאת הגלוקוז לצורכי חימצון, שירדה מ-40% ל-25% מכלל קצב השיחלוף ומ-40% ל-18% מכלל קצב ייצור ה- $CO_2$  (גרף מס' 18). הירידה בחימצון הגלוקוז לוותה בעליה

בחימצון מקורות הדלק המטאבולי האחרים, והתבטאה בעליית  $R_5$ .

הירידה בחימצון בגלוקוז בצום ( $R_3$ ) מקטינה את סכנת ההיפוגליצמיה, והעליה בחימצון מקורות אחרים ( $R_5$ ) מבטיחה מפני היפותרמיה. ידיעת התרומה היחסית של מקורות האנרגיה השונים, במצבים פיזיולוגיים שונים, מאפשרת להעריך את המנגנונים השונים המופעלים במצבים אלו כגון מעגל הגלוקוז/חומצות שומניות. השוואה בין הערכים שהתקבלו בעבודה זאת ובין אלה שהתקבלו בחיות אחרות קשה בגלל התנאים השונים והמגוונים שבהם נעשו עבודות אלה. בכלבים ובבני-אדם שבעים היתה הקצאת הגלוקוז לצרכי חימצון 25% ו-50% מכלל קצב השיחלוף ו-45% ו-33% מכלל ייצור ה- $CO_2$  (Young 1967 Balasse 1971). בחולדות ירד קצב המעבר של פחמן מגלוקוז ל- $CO_2$  מ-3.3 ל-1.5 מ"ג/דקה. ק"ג בחיות שבעות לעומת רעבות, והיה 52% ו-64% מקצב השיחלוף ו-32% ו-16% מקצב ייצור ה- $CO_2$  (Shipley 1975). השוואה בין עבודה זאת לזו של Shipley וחבריו (1975) מראה, כי חולדות מחמצנות באופן יחסי יותר גלוקוז מעופות. מסקנה זאת מתאימה גם לדעתו של Annison (1966), שהראה כי הגלוקוז תורם 20% מייצור ה- $CO_2$  בעופות שבעים ו-10% ברעבים.

החשיבות בקביעה הכמותית של  $R_3$  היתה גם ביכולת לקבוע את ייצור החום הנובע מחימצון הגלוקוז על-ידי הכפלת קצב חימצונו בערכו הקאלורי. קצב ייצור החום היה 1.2 ו-0.5 קקא"ל/שעה. ק"ג בעופות השבעים והרעבים והיו 31% ו-13% מכלל ייצור החום, בהתאמה (גרף מס' 11). יתכן שייצור חום זה קטן מעט מייצור החום האמיתי כתוצאה מחימצון גלוקוז, כי הוא מחושב לפי קצב החימצון בטו, בעוד שיתכן כי חלק מה- $CO_2$  הנוצר מחימצון הגלוקוז איננו נפלט בנשיפה ומשמש לסינתזת תוצרים אחרים, כפי שמצאו Shipley וחבריו (1975) בחולדות. שיעור זה לא עלה בחולדות על 5% בצום, ולו השפעה מזערית על חישוב ייצור החום. המסקנות מקביעת הקצבים  $R_3$  ו- $R_5$  והשינויים שחלו בהם בצום הם כלהלן:



גרף מס' 18: התרומה היחסית

של הפחמן מגלוקוז ול- $CO_2$

בעופות שבעים ורעבים.

ההקצאה היחסית של פחמן הגלוקוז ל- $CO_2$  ( $R_3/R_1$ ) ולמאגרי הגוף ( $R_2/R_1$ ), התרומה היחסית של גלוקוז ומקורות שאינם גלוקוז ל- $CO_2$  ( $R_3/R_6$ ,  $R_5/R_6$ ), הערכים ב-24-72 שעות צום שונים באופן מובהק ( $P < 0.05$ ) מ-0 שעות צום בכל המדדים.

- (1) המטאבוליזם החימצוני בפטם השבע מורכב מכ-40% חימצון גלוקוז ו-60% חימצון מקורות אנרגיה אחרים. יחס זה משתנה בצום ל-15% ו-85%, בהתאמה. (2) הירידה בקצב חימצון הגלוקוז בצום, אך לא בקצב מיחזורו, מאפשרת לשמור על הומאוסטאזיס הגלוקוז למרות הירידה בקצב כניסתו למאגר. (3) הירידה בקצב חימצון הגלוקוז מפוצה בעליה בקצב החימצון של מקורות אחרים, דבר המאפשר לשמור על טמפרטורת הגוף במצב יציב. (4) עובדת היות החלבונים והשומנים מקורות אנרגיה תחליפים לגלוקוז ידועה ביונקים (Balasse 1973) ובעופות (Whittow 1971), אולם קצב חימצונם in vivo ניתן לראשונה בעבודה זאת.

עניין מיוחד מעוררת העובדה, שקצב מיחזור הגלוקוז לא עלה במהלך הצום לעומת העוף השבע (גרפים מס' 9 ו-10). תוצאה זאת אינה עולה בקנה אחד עם הדעה המקובלת כי מיחזור הגלוקוז הוא מנגנון המגיב למצב צום כחלק מהתגובה לשמירת הומאוסטאזיס הגלוקוז. בהנחה שרוב המיחזור חל דרך לקטאט (Dunn 1977), ולכן קצב המיחזור הוא קצב הפעולה של מעגל קורי (cori cycle) - נשאלת השאלה מהי משמעותו הפיזיולוגית של מעגל זה. יתכן כי הפיכת הלקטאט לגלוקוז יותר משהיא דרך לשמירת הומאוסטאזיס הגלוקוז - היא דרך למנוע עליה ברמת הלקטאט בדם וירידה ב-pH. רמת הלקטאט איננה עולה בעופות כתנאי צום (Belo 1976), אך עולה בהיפרתרמיה ונשימה מואצת (Frankel 1978). אם הרעיון כי מעגל קורי הוא דרך מטאבולית להיפטר מעודפי לקטאט, הרי קצב המיחזור של הגלוקוז יעלה בנשימה מואצת (panting) אך לא ברטט שרירים (shivering). ברטט שרירים אמנם נוצר לקטאט בקצב מואץ, אך איננו מגיע לדם אלא מחומצן ישירות בתאים. אפשרויות אלו נבדקו בניסוי השפעת הטמפרטורה על קינטיקת הגלוקוז.

#### 4.3.4 הקינטיקה של הגלוקוז בעופות נורמותרמיים, היפותרמיים והיפרתרמיים

הקינטיקה של הגלוקוז, חילוף הגזים וייצור החום נבדקו בעופות שהורעבו 24 שעות במשטרים חומניים שונים. בצום של 24 שעות נמצא העוף במצב שבו חילוף החומרים שלו מותאם למחסור באספקת מקורות אנרגיה אקסוגניים (Masoro 1968). רמת חילוף החומרים נמוכה (גרף מס' 7), הגליקוגן ההפטי פורק זה מכבר (טבלה מס' 3), סינתזת השומנים נפסקה, ומאגרי השומן מפורקים ומובלים לחימצון ברקמות הגוף ובעיקר בשרירים (Masoro 1968). מקורות האנרגיה העיקריים הם חומצות שומניות, גופיפי קטו וחומצות אמיניות (Newsholme 1973), שהימצונם מתבטא במקדם הנשימתי (RQ) ובקצב פליטת ה- $CO_2$  הנוצר בחימצונם (גרף מס' 7, גרף מס' 10).

חשיפת העופות למשטרים חומניים שונים גורמת שינוי בצרכים האנרגטיים והפעלה של מנגנונים תרמורגולטיביים. השינוי במטאבוליזם האנרגיה נבדק בשלב זה בעופות היפותרמיים והיפרתרמיים בהשוואה לעופות נורמותרמיים. טמפרטורת הגוף בעופות הנורמותרמיים היתה  $40.8^{\circ}\text{C}$  מ"צ וקצב נשימתם 26 נשימות/דקה (טבלה מס' 4), ערכים המתאימים לידוע בספרות (Freeman 1971). בעופות המטופלים היתה תגובה תרמורגולטיבית נמרצת. העופות המקוררים היו בהיפותרמיה יציבה של  $1.6^{\circ}\text{C}$  מ"צ והפעילו רטט שרירים נראה לעין במהלך הניסוי. העופות המחוממים היו בהיפרתרמיה של  $1.7^{\circ}\text{C}$  מ"צ והפעילו נשימה מואצת של 130 נשימות/דקה (טבלה מס' 4). התגובה הנשימתית מתאימה להיפרתרמיה מעיקה אך לא מכסימלית היכולה להגיע בעופות לעליה של  $2-3^{\circ}\text{C}$  מ"צ בטמפרטורת הגוף וקצב נשימה כפול (Richards 1970). רמת הגלוקוז בפלסמה ירדה בעופות המקוררים באופן מובהק (גרף מס' 12). היפוגליצמיה היפותרמית ידועה בעופות (Sturkie 1976). בניסוי זה היתה ההיפוגליצמיה יציבה במהלך הניסוי, תופעה המצביעה על שוויון בין קצב סינתזת הגלוקוז (העופות היו בצום של 24 שעות) לקצב ניצולו. צריכת החמצן ופליטת ה- $\text{CO}_2$  עלו בעופות ההיפותרמיים ב-45%, אך לא השתנו בעופות המחוממים (גרף מס' 13). המקדם הנשימתי ( $RQ$ ) היה יציב בכל הטיפולים בערך של כ-0.7. העליה בחילוף הגזים בעופות המקוררים נובעת מהפעלת רטט השרירים, שהוא מנגנון ייצור החום העיקרי בחשיפה פתאומית לקור. העליה היתה ברמת חילוף החומרים, אך לא בהרכב הדלק המטאבולי המתחמצן שהיה דומה בכל המצבים. השומן הוא הדלק המטאבולי העיקרי בקור (Masoro 1968). חלקו של הגלוקוז בייצור ה- $\text{CO}_2$  ירד בכלבים חשופים לקור (Pernod 1972).

כדי לקבוע את השינויים האיכותיים בכמות וביחס של חימצון מקורות הדלק המטאבולי השונים בעופות המורעבים, ההיפותרמיים וההיפרתרמיים בוצעו הניסויים הקינטיים שכללו, את המודל הקינטי המורחב (ציור מס' 4). קצב שיחלוף הגלוקוז ומיחזורו נקבעו בעזרת  $\text{glucose } (^{16}\text{C}, ^3\text{H})$ . קצב השיחלוף עלה בשיעור של 20%-30% בעופות ההיפותרמיים וההיפרתרמיים, בהשוואה לנורמותרמיים (גרף מס' 14).

עליה זו מיוחסת לעליה בקצב הגלוקוניאוגנזה, המעידה כי במצב הנורמותרמי לא חלו סינתזה ושחרור גלוקוז מכסימליים למרות מצב הצום. קצב השיחלוף נמדד בחיות שונות, בהשפעת קור. אך לא בהשפעת חום. התוצאות הידועות בספרות אינן אחידות, ומראות על עליה בקצב השיחלוף של גלוקוז בחולדות שבעות ומקורות (Depocas 1962) ובכלבים מורעבים שנחשפו לטמפרטורה של 25 מ"צ (Forichon 1976), אך גם להעדר שינוי בפרמטר הנדון באותן חיות באותם תנאים (Paul 1975 ; Depocas 1959). בכל העבודות שבהן נבדקה השפעת הקירור על קצב השיחלוף ניצלו החוקרים השונים רק  $^{14}\text{C}$  glucose לקביעה הקינטית - חוץ מבעבודות של Forichon וחבריו (1976, 1977), שמצאו בכלבים מקוררים עליה בקצב השיחלוף, אך לא בקצב המיחזור. לצורך הערכת המשמעות של השינויים בקצב השיחלוף - יש להעזר בשינויים שחלו בקצב המיחזור וביתר מרכיבי המודל הקינטי המורחב (גרף מס' 15). בעופות ההיפותרמיים לא עלה קצב מיחזור הגלוקוז, כך שהעליה בקצב הכניסה של הגלוקוז למאגר מקורה בעליה בסינתזה הגלוקוז ממקורות בלתי ממוחזרים. מקורות אלה בתנאי צום, הם כנראה חומצות האמינו הגלוקוני-אוגניות וגליצרול. אפשרות זאת נתמכת בעובדה, שבמקביל חלה עליה בחימצון שומנים וחלבונים, שהתבטאה בעליה של קצב הפיכתם ל- $\text{CO}_2$  ( $R_5$ ). בעופות ההיפו-תרמיים לא חל שינוי בקצב המעבר מגלוקוז למאגרי הגוף ( $R_2$ ) וכל העליה בסינתזה הגלוקוז מתאזנת בעליה בקצב חימצון הגלוקוז ל- $\text{CO}_2$  ( $R_3$ ). העליה בייצור ה- $\text{CO}_2$  בטיפול זה שווה לסכום העליה ב- $R_3$  וב- $R_5$  (גרף מס' 15).

לעומת המצב בעופות המקוררים, הרי העליה בקצב השיחלוף של הגלוקוז בעופות ההיפותרמיים היתה מלווה בעליה בקצב מיחזורו, ובקצב יציאתו למאגרי הגוף (גרפים מס' 14 ו-15). נראה, איפוא, כי את העליה בקצב השיחלוף אפשר לייחס לעליה במיחזור הגלוקוז. מיחזור זה, רובו ככולו, נעשה דרך לקטאט (Dunn 1977). עליה של מיחזור הגלוקוז דרך לקטאט בזמן היפותרמיה ונשימה מואצת מראה על אפשרות, כי משמעותו הביולוגית של מעגל קורי היא סילוק עודפי הלקטאט, ולא-

דווקא סינתזת הגלוקוז בתנאי צום. אפשרות זאת העלו גם Phillips וחבריו (1977), שהראו *in vitro* עליה בסינתזת גלוקוז מלקטאט על-ידי הכבד, וגם עליה בשחרור לקטאט משריר שהתכווץ כתוצאה מסטימולציה חשמלית. בנשימה מואצת בעופות יש עליה בשחרור לקטאט לדם (Frankel 1961) אך לא בחימצון (גרף מס' 13), מצב היוצר סכנת שינוי ה-pH ב-panting.

קינטיקת הגלוקוז בחימום מוצגת לראשונה בעבודה זאת, מציגה עליה במיחזור הגלוקוז, ומציעה הסבר ל"משמעות" של מעגל מיחזור הגלוקוז דרך לקטאט. בעופות ההיפותרמיים לא חלו שינויים ברמת המטאבוליזם ובמדדים  $R_3$  ו- $R_5$ . תופעה זאת מעידה על צריכת האנרגיה המעטה הדרושה לביצוע הפנטינג. כמו כן, לא חלו בחימום שינויים בהקצאת הגלוקוז לחימצון ( $R_5/R_1$ ) או בחלקו בכלל ה- $CO_2$  הנוצר ( $R_3/R_6$ ). לעומת זה חלה עליה בקצב חימצון הגלוקוז ומקורות אחרים בעופות ההיפותרמיים ( $R_3$ ,  $R_5$  ו- $R_6$ ), וגם בשיעור הקצאת הגלוקוז לחימצון מכלל קצב היציאות ממאגרי הגוף ( $R_3/R_1$ ). העליה בצריכת החמצן ובקצב חימצון הגלוקוז ומאגרי הגוף בעופות ההיפותרמיים הביאה לידי עליה של כ-40% בייצור החום המטאבולי (M) (גרף מס' 16). העליה בייצור החום נגרמה בשל עליה בשיעור דומה בייצור החום שמקורו בחימצון גלוקוז ( $M_G$ ) ומקורות דלק מטאבולי אחרים ( $M_{F+P}$ ). ניצול מקורות אלה תרם 75%-80% מייצור החום בכל המשטרים החומניים. העדר השינוי בהרכב הדלק המטאבולי המחמצן במצב ההיפותרמי מהווה הוכחה עקיפה להעדר Non-Shivering Thermogenesis בעופות אשר קיומו היה גורם לעליה יחסית גדולה יותר בתרומת השומנים לייצור החום. השינויים שחלו במטאבוליזם הגלוקוז ובמטאבוליזם החימצוני, בהשפעה סימולטנית של צום וטיפול תרמי, מראים כי לצום השפעה דומיננטית על הרכב הדלק המטאבולי המנוצל, ואילו המצב החומני קובע את רמת חילוף החומרים.



### תמצית העבודה

בעבודה זאת נלמדו הקינטיקה של הגלוקוז בעוף הבית (*Gallus domesticus*) והקשר שבין השמירה על הומאוסטאזיס הגלוקוז בנוזלים האקסטראצלולריים לבין ייצור החום ושמירה על טמפרטורת גוף קבועה. מטאבוליזם האנרגיה נבחן בעזרת מודלים המתארים את קינטיקת הגלוקוז ואת זרימת החום הנוצר במטאבוליזם החימצוני בפטמים שבעים ורעבים ובמשטרים חומניים שונים. העבודה כללה ארבעה שלבים:

א. המודל הבסיסי של קינטיקת הגלוקוז נבנה לפי עקומות האקטיביות הספציפית (גרפים מס' 2 ו-3) של הגלוקוז בפלסמה, אחרי הזרקת של  $(U^{14}C_6, {}^3H)$  glucose לפי עקומות אלו (ציור 3) נמצא הגלוקוז החופשי בגוף במאגר המורכב משני מדורים: מדור מהיר עירבול הכולל את הפלסמה, ומדור אחר המייצג את יתר הגלוקוז החופשי בגוף. רמת הגלוקוז במאגר יציבה (steady state), כתוצאה משוויון בין סכומי קצבי הכניסה והיציאה מהמאגר ואליו. במודל זה נקבעו המדדים הבאים: (1) גודל המדורים וקצב מעבר הגלוקוז ביניהם. (2) סכום קצבי הכניסה למאגר - קצב השיחלוף-glucose turnover (3) קצב מיחזור הגלוקוז glucose recycling הנובע מסינתזת גלוקוז (בכבד) מפרקורסורים תלת-פחמניים (בעיקר לקטאט), שמקורם בקטאבוליזם של גלוקוז ברקמות הפריפריות. כמו כן נקבע בשלב זה קצב היציאה של גלוקוז מהמאגר ל- $CO_2$  הנפלט בנשימה.

ב. עיכול עמילן וספיגת גלוקוז נקבעו על סמך היחס בין המטאבוליט הנבדק לבין סמן בלתי נספג במזון ובקטעי המעי. נמצא כי כ-50% מהעמילן נעכלים עד קצה התריסריון, כ-85% עד סוף ה-jejunum, וכ-98% עד קצה ה-ileum. שיעור הספיגה של הגלוקוז הנאכל היה כ-65% עד קצה ה-duodenum, כ-90% עד קצה ה-jejunum, והיתרה עד 97% ב-ileum (גרף מס' 6). שיעור הספיגה של הגלוקוז בקטעים השונים עלה באופן ליניארי כפונקציה של ריכוזו בסגמנט (גרף מס' 17). לא היה הבדל בקינטיקה של הספיגה בין הסגמנטים השונים של המעי, ושיעור הספיגה

כפונקציה של ריכוז הסוכר במעי לא הגיע לרוויה בשום מקרה. לא נמצאה, איפוא, השפעה נראית לעין של מנגנוני הספיגה על שיעור הספיגה *in vivo* של הגלוקוז במעי.

ג. נבדק הניצול של מאגרי האנרגיה בפטמים שבעים ומורעבים, על-ידי מדידת המטאבוליזם הנשימתי ועל-ידי קביעת הרכב הגופה. השפעת צום מ-0 ועד 96 שעות, על חילוף הגזים נבדקה כמדד לרמת המטאבוליזם ואופיו (גרף מס' 7). צריכת החמצן ופליטת ה- $\text{CO}_2$  ירדו בהשפעת הצום וביטאו את הירידה ברמת המטאבוליזם. הירידה ביחס ביניהן ( $RQ$ ) ביטאה את השינוי בהרכב הדלק המטאבולי המתחמצן (גלוקוז לעומת חלבונים ושומנים). קביעה של הרכב הגופה במשך הצום איפשרה להעריך את קצב פירוקם ותרומתן האנרגטית של מאגרי האנרגיה - שומנים, חלבונים וגליקוגן (טבלה מס' 3, גרף מס' 8). נמצא כי בשלב הראשון של הצום (6 שעות) מסתיימת מירב הספיגה והגליקוגן ההפטי מהווה מקור גלוקוז עיקרי, חוץ מהגלוקוז הנספג במעי. בשלב השני ועד 96 שעות צום מפרק הגוף חלבון וליפידים בערך אנרגטי ממוצע של כ-0.9 ו-3.2 קקא"ל/שעה. ק"ג מסך של ייצור חום בשיעור של 4.1 קקא"ל/שעה. ק"ג. מקור הגלוקוז בשלב זה הוא מסינתזו ברקמות הגלוקוניאו-גניות בלבד.

ד. נלמדה הקינטיקה של הגלוקוז וחילוף הגזים במצבים תזונתיים וחומניים שונים ונבדק הקשר בין קינטיקת הגלוקוז לייצור החום ולהומאותרמיה בעופות. קביעה סימולטנית של האקטיביות הספציפית של  $^3\text{H}$  glucose,  $^{14}\text{C}$  glucose ושל  $^{14}\text{CO}_2$  יחד עם צריכת חמצן ופליטת  $\text{CO}_2$  איפשרה להרחיב את המודל הקינטי הבסיסי ולכלול בו גם את קצב החימצון של הגלוקוז, וכן את קצב יציאתו למאגרי הגוף ואת קצב ייצור ה- $\text{CO}_2$  ממקורותיו השונים (ציור מס' 4). כמו כן, חושב ייצור החום הנוצר באופן ספציפי מחימצון גלוקוז, חלבון ושומן (ציור מס' 5). קצב שיחלוף הגלוקוז ירד מכ-17 ל-8 מ"ג/דקה. ק"ג בעופות שבעים, לעומת מורעבים - 24 שעות. קצב מיחזור הגלוקוז לא השתנה באופן מובהק במהלך צום עד 96 שעות

(גרף מס' 9). כל השינויים בהשפעת צום חלו תוך 24 שעות (גרף מס' 10) והיו משמעותיים בעופות שצמו 24 שעות בהשוואה ל-0 שעות צום במדדים הבאים: ירידה בקצב הכניסה של פחמן למאגר הגלוקוז, ירידה בקצב המעבר מגלוקוז ל- $\text{CO}_2$ , עליה בסינתזת  $\text{CO}_2$  ממקורות שאינם גלוקוז. משינויים אלו הוסק, שהחיסכון בגלוקוז במצב צום גובה בעיקר מירידה בקצב חימצונו. שמירת רמת הגלוקוז הפלסמה מתאפשרת על-ידי גלוקוניאוגנזה בקצב השווה לקצב ניצול הגלוקוז.

מיחזור הגלוקוז הוא מרכיב ניכר בשיעור סינתוזו (עד 45%, אך איננו עולה כמותית בצום ואיננו מבוקר על-ידי המצב התזונתי. הגלוקוז תרם כ-30% מייצור החום בעוף השבע וכ-13% אחרי צום של 24 שעות ויותר (גרף מס' 11). את יתרת ייצור החום תרם חימצון סובסטרטים אחרים, שנוצר במצב רעב בשיעור של כ-73% מחימצון ליפידים ובשיעור של כ-14% מחימצון חלבון. השוואה נעשתה גם בין עופות מורעבים נורמותרמיים, לעופות היפותרמיים שהפעילו רטט שרירים, ועופות היפרתרמיים שנשמו בשימה מואצת (טבלה מס' 4). הקירור גרם עליה של 45% ברמת המטאבוליזם, אך לא ב- $\text{RQ}$ . חימום לא שינה את חילוף הגזים (גרף מס' 13). הטיפולים התרמיים גרמו עליה בקצב הסינתזה והשיחרור של גלוקוז מהרקמות הגלוקו-ניאוגניות, אך עליה במיחזור הגלוקוז היתה רק בחימום (גרף מס' 14). עליה התקבלה בקצב החימצון של גלוקוז וסובסטרטים אחרים בקירור, ושל קצב המעבר של פחמן הגלוקוז למאגרי הגוף ומיחזורו, בחימום (גרף מס' 15).

נדונה האפשרות כי מעגל קורי ( $\text{glucose} \rightarrow \text{lactate} \rightarrow \text{glucose}$ ) הוא מנגנון

שמשמעותו הפיזיולוגית היא סילוק עודפי לקטאט, ולא מיחזור הגלוקוז לצרכי הומאוסטאזיס. בכל הטיפולים התרמיים של העופות המורעבים היה ייצור החום, הנובע מחימצון גלוקוז, רק כ-15% מסך ייצור החום. העדר שינוי בהרכב הדלק המטאבולי המתחמצן במצב היפותרמי, לעומת ביקורת והיפרתרמיה, מחזק את הטענה של העדר *non shivering thermogenesis* בעופות.

המודל של קינטיקת הגלוקוז בצורתו המפורטת מובא לגבי עופות לראשונה בעבודה זאת, הקשר בין מודל זה למודל של זרימת החוץ בגוף *in vivo*, מובא בעבודה זאת לראשונה גם לגבי בעלי-חיים אחרים.

Bibliography

1. Allred, J.B. and Karla L. Roehrig. Hepatic gluconeogenesis and glycolysis in chickens fed "carbohydrate-free" diets. J. Nutr. 100: 615-622, 1970.
2. Altzuler, N., A. Barkai, C. Bjerknes, G. Gottlieb, and R. Steele. Glucose turnover values in dog obtained with various species of labeled glucose. Am. J. Physiol. 229(6): 1662-1667, 1975.
3. Alvarado, F. D-xylose transport in the chicken small intestine. Comp. Biochem. Physiol. 20: 461-470, 1967.
4. Alvarado, F. and Monreal, J.  $\text{Na}^+$  dependent active transport of phenylglucosides in the chicken small intestine. Comp. Biochem. Physiol. 20: 471-488, 1967.
5. Annison, E.F. Dietary sources of energy. In: Energy Requirements of Poultry, edited by T.R. Morris and B.M. Freeman. pp. 135-149. British Poultry Science Ltd., Edinburgh, 1974.
6. Annison, E.F., K.J. Hill, D.H. Shrimpton, D.A. Stringer, and C.E. West. Glucose turnover and oxidation in the domestic fowl. Br. Poult. Sci. 17: 319-320, 1966.
7. Annison, E.F., D.H. Shrimpton, and C.E. West. Glucose and fatty acid metabolism in chickens in relation to overall energy expenditure. In, Energy Metabolism of Farm Animals, pp. 339-347. Stocksfield: Oriel Press, 1969.
8. Arinze, I.J., A.J. Garber, and R.W. Hanson. The regulation of gluconeogenesis in mammalian liver. The role of mitochondrial phosphoenolpyruvate carboxykinase. J. Biol. Chem. 248: 2266-2274, 1973.

9. Ariyoshi, S., T. Koike, F. Furuta, K. Ogone, Y. Matsumura, M.K. Dimick, W.L. Hunter, W. Wang, and S. Lepkovsky. The digestion of protein, fat and starch in the depancreatized chicken. *Poultry Sci.* 43: 232-238, 1964.
10. Avruch, J., J.R. Carter, and D.B. Martin. The effect of insulin on the metabolism of adipose tissue. In: *Handbook of Physiology. Sec. 7: Endocrinology, Vol. I.*, edited by R.O. Greep and E.B. Astwood. *Am. Physiol. Soc.*, pp 545-562, 1972.
11. Axelsson, S. Catecholamine function. *Ann. Rev. Physiol.* 33: 1-30, 1971.
12. Baker, Nome, Measurement of glucose recycling and liver glycogen synthesis in mice using doubly labeled substrates. *Federation Proc.* 36: 253-258, 1977.
13. Baker, Nome and Robert Huebotter. Glucose metabolism in mice. *Am. J. Physiol.* 207(5): 1155-1160, 1964.
14. Baker, N. and R.J. Huebotter. Rapid activation and inactivation of fatty acid synthesis from glucose in vivo. *J. Lipid Research* 13:329-336, 1972.
15. Baker, N., and R.J. Huebotter. Compartmental and semicompartmental approaches for measuring glucose carbon flux to fatty acids and other products in vivo. *J. Lipid Research* 13: 716, 1972.
16. Baker, N., R.A. Shipley, R.E. Clark, and G.E. Incefy.  $^{14}\text{C}$  studies in carbohydrate metabolism: glucose pool size and rate of turnover in the normal rat. *Am. J. Physiol.* 196(2): 245-252, 1959.
17. Balasse, E.O. Effect of free fatty acids and ketone bodies on glucose uptake and oxidation in the dog. *Horm. Metab. Res.* 3: 403-409, 1971.
18. Balasse, E.O. and M.A. Neef. Influence of nicotinic acid on the rates of turnover and oxidation of plasma glucose in man. *Metabolism* 22(9): 1193-1204, 1973.

19. Barber, P.C., R.J. Levin, and M.A. Mitchell. Estimation of real  $K_m$  for in vivo absorption of glucose. *J. Physiol.* 276: 54-55, 1978.
20. Barkai, A., S. Mahadik and M.M. Rapport. Flow in vivo of glucose carbon to brain protein in rats: effect of starvation. *J. Neurochem.* 22: 511-516, 1974.
21. Barkai, A., and M.M. Rapport. Flow of glucose carbon into brain lipids in adult rats following food deprivation. *J. Neurochem.* 25: 55-59, 1975.
22. Barott, H.G. and E.M. Pringle. Energy and gaseous metabolism of the chicken from hatch to maturity as affected by temperature. *J. Nutr.* 31: 35, 1946.
23. Bell, D.J., Plasma glucose. In: *Physiology and Biochemistry of Domestic Fowl*, edited by D.S. Bell and B.M. Freeman. chapt. 39. Academic Press, London, New York, 1971.
24. Belo, P.S., D.R. Romsos, and G.A. Leveille. Blood metabolites and glucose metabolism in the fed and fasted chicken. *J. Nutr.* 106: 1135-1143, 1976.
25. Belo, P.S., D.R. Romsos, and G.A. Leveille. Influence of diet on glucose utilization and on gluconeogenic enzyme activities in the dog. *J. Nutr.* 106:1465-1474, 1976.
26. Belo, P.S., D.R. Romsos, and G.A. Leveille. Influence of diet on lactate alanine and serine turnover and incorporation into glucose in the dog. *J. Nutr.* 107: 397-403, 1977.
27. Bligh, J., W.H. Cottle, and M. Maskrey. Influence of ambient temperature on thermoregulatory responses to 5HT, NAD and Ach injected into lateral cerebral ventricles of sheep, goats and rabbits. *J. Physiol., London* 212: 377, 1971.

28. Bogner, P.H., I.A. Haines, and P.L. McLain. Comparison of aerobic and anaerobic active transport by different intestinal regions of young female chicks. *American Zool.* 3: 437, 1963.
29. Brady, Linda J., M.K. Armstrong, Kathleen L. Muiruri, D.R. Romsos, W.C. Bergen, and G.A. Leveille. Influence of prolonged fasting in the dog on glucose turnover and blood metabolites. *J. Nutr.* 107(6): 1053-1061, 1977.
30. Brady, L.J., D.R. Romsos, P.S. Brady, G. Bergen, and G.A. Leveille, The effect of fasting on body composition, glucose turnover, enzymes and metabolites in the chicken. *J. Nutr.* 108: 648-652, 1976.
31. Brady, L.J., D.R. Romsos, and G.A. Leveille. Glucose turnover in the young chicken (*Gallus domesticus*) using variously labeled ( $^3\text{H}$ ,  $\text{U-}^{14}\text{C}$ ) tracers. *Comp. Biochem. Physiol.* 56B: 421-425, 1977.
32. Bray, G.A., and L.A. Campfield. Metabolic factors in the control of energy stores. *Metabolism* 24(1): 99-117, 1975.
33. Brody, S. *Bioenergetics and Growth*. New York: Reinhold, 1945.
33. Brownell, G.L., and A.B. Ashare. Definition of pool and space. *Proc. Symp. on Compartments, Pools, and Spaces in Medical Physiology*. U.S. A.R.C., Div. Techn. Inform., pp 15-19, Oct. 1966.
34. Chalmers, T.M. Lipid-mobilizing activity during fasting. In: *Handbook of Physiology. Sec. 5: Adipose Tissue*, edited by A.E. Renold and G.F. Cahill, Jr. *Am. Physiol. Soc.*, pp 549, Washington D.C., 1965.
35. Charette, W.P., A.H. Kadish, and R. Seidhar. Modeling and control aspects of glucose homeostasis. In: *Hormonal Control Systems*. New York, American Elsevier, 115-149, 1969.
36. Chayoth, R. Carbohydrate metabolism of heat-acclimated hamsters. V. Control of gluconeogenesis. *J. Appl. Physiol.* 41(6): 871-873, 1976.

37. Clark, M.G., D.P. Bloxham, P.C. Holland, and H.A. Lardy. Estimation of the fructose 1,6-diphosphatasephosphofructokinase substrate cycle and its relationship to gluconeogenesis in rat liver in vivo. J. Biol. Chem. 249(1): 279-290, 1974.
38. Conlee, R.K., M.J. Rennie, and W.W. Winder. Skeletal muscle glycogen content: diurnal variation and effects of fasting. Am. J. Physiol. 231(2): 614-618, 1976.
39. Crane, R.K. Intestinal absorption of sugars. Physiol. Rev. 40: 789-825, 1960.
40. Davison, T.F., and D.R. Langslow. Changes in plasma glucose and liver gluconeogenic precursors to the starving fowl. Comp. Biochem. Physiol. 52A: 645-649, 1975.
41. Depocas, Florent. The pool size, turnover rate, and oxidation rate of body glucose in anesthetized warm- and cold-acclimated rats exposed to a warm environment. Canad. J. Biochem. Physiol. 37: 285-295, 1959.
42. Depocas, S., and R. Masironi. Body glucose as fuel per thermogenesis in the white rat exposed to cold. Am. J. Physiol. 199(6): 1051-1055, 1960.
43. Dickson, A.J., and Langslow, D.R. Gluconeogenesis in isolated chicken hepatocytes. Biochem. Soc. Trans. 569th Meet., Sussex 983-986, 1977.
44. Dunn, A., M. Chenoweth and K. Bever. Use of  $^3\text{H}$  and  $^{14}\text{C}$  doubled labeled glucose and amino acids in the study of hormonal regulation of gluconeogenesis in rats. Fed. Proceed. 36(2): 245-252, 1977.
45. Dunn, A., M. Chenoweth, and L.D. Schaeffer. Estimation of glucose turnover and the cori cycle using glucose 6-t- $^{14}\text{C}$ . Biochem. 6: 6-11, 1967.
46. Dunn, A., J. Katz, S. Golden, and M. Chenoweth. Estimation of glucose turnover and recycling in rabbits using various [ $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ] glucose labels. Am. J. Physiol. 230: 1159-1162, 1976.



47. Eldridge, F.L. Relationship between turnover rate and blood concentration of lactate in exercising dogs. J. appl. Physiol. 39(2): 231-234, 1975.
48. Eldridge, F.L., Linda T'so, and Helen Chang. Relationship between turnover rate and blood concentration of lactate in normal dogs. J. appl. Physiol. 37(3): 316-320, 1974.
49. Fajans, S.S., and J.C. Floyd, Jr. Stimulation of islet cell secretion by nutrients and by gastrointestinal hormones released during digestion. In: Handbook of Physiology. Sec. 7: Endocrinology, Vol. I, pp. 473-494, Am. Physiol. Soc., 1972.
50. Fearson, J.R., and F.H. Bird. Site and rate of active transport of D-glucose in the intestine of the fowl at various initial glucose concentrations. Poultry Sci. 47: 1412-1416, 1968.
51. Feldberg, W.S. The monoamines of the hypothalamus as mediators of temperature responses. In: Physiological and Behavioral Temperature Regulation. Springfield, Illinois: Thomas, part. V, chapt. 34, p. 493, 1970.
52. Finkelstein, S.M., M.A. Bleicher, S. Batthany, and J. Tiefenbrun. In vivo modeling for glucose homeostasis. Biomed. Engin. BME-22(1): 47-52, 1975.
53. Foa, P.P. The secretion of glucagon. In: Handbook of Physiology. Sec. 7: Endocrinology, Vol. I. pp. 77-90. Am. Physiol. Soc., 1972.
54. Folch, S., M. Lees, and G.H. Sloane-Stanley. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226: 479-509, 1957.

55. Forichon, J., M.J. Jomain, G. Dallevet, and Y. Minaire. Reversible and irreversible glucose disposal in dogs: Influence of fasting and cold exposure. *Metabolism* 25(8): 897-902, 1976.
56. Forichon, J., M.J. Jomain, G. Dallevet, and Y. Minaire. Effect of cold and epinephrine on glucose kinetics in dogs. *J. appl. Physiol.* 13(2): 230-237, 1977.
57. Frankel, H.M., and D. Frascella. Blood respiratory gases, lactate and pyruvate during thermal stress in the chicken. *Proc. Soc. Exptl Biol. Med.* 127: 997-999, 1968.
58. Freeman, B.M. Metabolic energy and gaseous metabolism. In: *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl*. London, New York: Academic Press, Vol. 1, chapt. 10, pp. 279-291, 1971.
59. Freeman, B.M. Non shivering thermogenesis in birds. In: *Non Shivering Thermogenesis Symposium*. Academia: Czechoslovak. Academy of Sciences, Prague. 1971.
60. Freeman, B.M. Thermoregulation in the young fowl (Gallus domesticus). *Comp. Biochem. Physiol.* 54A: 141-144, 1976.
61. Freeman, B.M., and A.C.C. Manning. Circadian rhythms in the glycaemic and lipolytic responses of Gallus domesticus to handling and repeated blood sampling. *Comp. Biochem. Physiol.* 57A: 211-214, 1977.
62. Freminet, A., C. Poyart, L. LeClerc, and M. Gentil. Effect of fasting on glucose recycling in rats. *FEBS Letters* 61(2): 294-297, 1976.
63. Funabiki, R., S. Ide, N. Ebe, O. Taguchi, and K. Yasuda. Diurnal changes in glycogen content in skeletal muscle of meal-fed rats during starvation. *Agr. Biol. Chem.* 39(4): 791-793, 1975.

64. Galineo, S. Organ system in adaptation: the temperature regulation system. In: Handbook of Physiology, Sec. 4, Am. Physiol. Soc., Washington, D.C., 1964.
65. Ganong, W.F. Review of Medical Physiology. L.M.P., Los Altos, California, 1975.
66. George, J.C., and A.J. Berger. Avian Miology. Academic Press, New York, London. 1966.
67. Goldman, S. Cybernetic aspects of homeostasis. In: Mineral Metabolism, edited by C.L. Comar and F. Bronner, chapt. 3. Academic Press, New York, London, 1960.
68. Goldner, A.M., Schultz, S.G. and Curran, P.F. Sodium and sugar fluxes across the mucosal border of rabbit ileum. J. gen. Physiol. 53: 362-383, 1969.
69. Good, C.A., H. Kramer, and M. Somogyi. The determination of glycogen. J. Biol. Chem. 100: 415-491, 1933.
70. Goodman, H.M., and S. Schwartz. Growth hormone and lipid metabolism. In: Handbook of Physiology. Sec. 7: Endocrinology, Vol. 4. Am. Physiol. Soc., Washington, D.C. 1974.
71. Goodman, L.S., and A. Gilman. The Pharmacologic Basis of Therapeutics. Macmillan Co., New York, 1970.
72. Goodner, C.J., and D. Forte, Jr. Determinants of basal islet secretion in man. In: Handbook of Physiology. Sec. 7: Endocrinology, Vol. 1. Am. Physiol. Soc., Washington D.C., 1972.
73. Goodridge, A.G., and G. Ball. Lipogenesis in the pigeon. in vivo studies. Am. J. Physiol. 213: 245, 1967.

74. Griminger, P. Protein metabolism. In: Avian Physiology, 3rd ed., edited by P.D. Sturkie. pp. 233-251. Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin. 1976.
75. Griminger, P. Lipid metabolism. In: Avian Physiology, 3rd ed., edited by P.D. Sturkie, PP. 252-262. Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin. 1976.
76. Hall, Susan E.H., R. Goebel, and M. Berman. The turnover and conversion to glucose of alanine in newborn and grown dogs. Federation Proc. 36: 239-244, 1977.
77. Hall, S.E.H., A.J. Hall, R.A. Layberry, M. Berman, and G. Hetenyi, Jr. Effect of age and fasting on gluconeogenesis from glycerol in dogs. Am. J. Physiol. 230(2): 362, 1976.
78. Hanson, R.W. The choice of animal species for studies of metabolic regulation. Nutr. Reviews 32: 1-8, 1974.
79. Hassid, W.Z., and S. Abraham. Chemical procedures for analysis of polysaccharides. 1. Determination of glycogen and starch. In: Enzymology, Vol. III., edited by S.P. Colowick and N.W. Kaplan. pp. 34. Academic Press Inc., N.Y. 1957.
80. Hazelwood, R.L. Endocrine control of avian carbohydrate metabolism. Poultry Sci. 50: 9-18, 1971.
81. Hazelwood, R.L. The intermediary metabolism of birds. In: Avian Biology, edited by D.S. Farner and J.R. King. Academic Press, New York, London. 1973.
82. Hazelwood, R.L. The avian endocrine pancreas. Amer. Zool. 13: 699-709, 1973.

83. Hazelwood, R.L. Carbohydrate metabolism. In: Avian Physiology, 3rd ed. edited by P.D. Sturkie. pp. 210-232. Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin. 1976.
84. Hazelwood, R.L., and F.W. Lorenz. Effects of fasting and insulin on carbohydrate metabolism of the domestic fowl. *Am. J. Physiol.* 197(1): 47-51, 1959.
85. Herman, R.H. Hydrolysis and absorption of carbohydrates. In: Sugars in Nutrition, edited by H.L. Sipple and K.W. McNutt, chapt. 11. Academic Press, New York, San Francisco, London. 1974.
86. Hetenyi, G. Jr. and D. Mak.  $^3\text{H}$ -2-glucose as tracer in turnover studies. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 48: 732-734, 1970.
87. Hill, K.J. The physiology of digestion. In: Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl, edited by D.J. Bell and B.M. Freeman, Vol. I. A Academic Press. New York, London. 1971.
88. Himms-Hagen, Jean. Cellular thermogenesis. *Ann. Rev. Physiol.* 38: 315, 1976.
89. Himms-Hagen, J., W. Behrens, M. Muirhead, and A. Hbous. Adaptive changes in the calorogenic effect of catecholamines: role of changes in the adenyl cyclase system and of changes in the mitochondria. *Mol. Cell. Biochem.* 6(1): 15-31, 1975.
90. Hochachak, P.W. Regulation of heat production at the cellular level. *Fed. Proc.* 33: 2162-2169, 1974.
91. Hohtola, E., R. Hissa, and S. Saarela. Effect of glucagon on thermogenesis in the pigeon *Am. J. Physiol.* 232(5): E451-E455, 1977.
92. Hopfer, U., K. Neison, J. Perrotto, and K.J. Isselbacher. Glucose transport in isolated brush border membrane from rat small intestine. *J. biol. Chem.* 248: 25-32.

93. Horowitz, J., and R.E. Plant. Control cellular energy conversion in brown adipose tissue thermogenesis. *Am. J. Physiol.* 235(3): R212-R129, 1978.
94. Hudson, D.A., R.J. Levin, and O.H. Smyth. Absorption from the alimentary tract. In: *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl*, edited by D.J. Bell and B.M. Freeman, pp. 51-71. Academic Press, London, New York. 1971.
95. Hue, L., and H.G. Hers. On the use of [ $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ] labeled glucose in the study of the so-called "futile cycles" in liver and muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 58: 532-539, 1974.
96. Huijing, Frans. Glycogen metabolism and glycogen-storage diseases. *Physiological Reviews* 55(4): 609-656, 1975.
97. Hurwitz, S., N. Shamir, and A. Bar. Protein digestion and absorption in the chick: effect of Ascardia galli. *Am. J. clin. Nutr.* 26: 311-316, 1972a.
98. Hurwitz, S., N. Shamir, and Z. Nitsan. Effect of Ascardia galli on lumen activity of enzymes in the intestine of chicks. *Poultry Sci.* 51: 1462-1463, 1972b.
99. Insel, P.A., K.J. Kramer, R.S. Sherwin, J.E. Liljenquist, J.D. Tobin, R. Anders, and M. Berman. Modeling the insulin-glucose system in man. *Fed. Proc.* 33(7): 1865-1868, 1974.
100. Insel, P.A., J.E. Liljenquist, J.D. Tobin, R.S. Sherwin, P. Watkins, R. Anders, and M. Berman. Insulin control of glucose metabolism in man. A new kinetic analysis. *J. clin. Inves.* 55(5): 1057-1066, 1975.
101. Joel, C.D. The physiological role of brown adipose tissue. In: *Handbook of Physiology*, Sec. 5: Adipose Tissue. Am. Physiol. Soc., Washington, D.C. 1965.

102. Judson, G.J., and R.A. Leng. Estimation of the total entry rate and resynthesis of glucose in sheep using glucoses uniformly labeled with  $^{14}\text{C}$  and variously labeled with  $^3\text{H}$ . Australian J. Biol. Sci. 25: 1313-1332, 1972.
103. Katz, J., and A. Dunn. Glucose-2-t as a tracer for glucose metabolism. Biochemistry 6(1): 1-5, 1967.
104. Katz, J., A. Dunn and M. Chenowith. Determination of synthesis, recycling and body mass of glucose in rats and rabbits in vivo with  $^3\text{H}$  and  $^{14}\text{C}$  labeled glucose. Biochem. J. 142: 171-183, 1974.
105. Katz, J., and R. Rognstad. Futile cycles in the metabolism of glucose. In: Current Topics in Cellular Regulation, edited by B.L. Horecker and E.S. Stadtman, Vol. 10: 238. Academic Press, New York. 1976.
106. Katz, J., H. Rostami, and A. Dunn. Evaluation of glucose turnover, body mass and recycling with reversible and irreversible tracer. Biochem. J. 142: 161, 1974.
107. Kimmich, G.A. Active sugar accumulation by isolated intestinal epithelial cells. A new model for sodium-dependent metabolite transport. Biochemistry, N.Y. 9: 3669-3677, 1970b.
108. Kimmich, G.A. Preparation and properties of mucosal epithelial cells isolated from small intestine of the chicken. Biochemistry, N.Y. 9: 3659-3668, 1970a.
109. King, J.R., and D.C. Farner. Terrestrial animal in humid heat: birds. In: Handbook of Physiology. Sec. 4. Am. Physiol. Soc. Washington, D.C. 1964.
110. Kolb, A.R., and T.D. Luckey. Markers in nutrition. Nutr. Abstr. Rev. 42: 813-845, 1972.

111. Krah1, M.E. Endocrine function of the pancreas. *Ann. Rev. Physiol.* 36: 331-360, 1974.
112. Kronfeld, D.S. Glucose transport and recycling determined by means of two tracers and multicompartmental analysis. *Fed. Proc.* 36: 259-264, 1977.
113. Kronfeld, D.S., and Fiora Raggi. Glucose kinetics in normal, fasting, and insulin-treated cows. *Am. J. Physiol.* 206(1): 109-112, 1964.
114. Lacy, P.E., and Marie H. Greider. Ultrastructural organization of mammalian pancreatic islets. In: *Handbook of Physiology. Sec. 7: Endocrinology, Vol. I: pp 77-90, Am. Physiol. Soc.* 1972.
115. Langslow, D.R., and C.N. Hales. The role of the endocrine pancreas and catecholamines in the control of carbohydrate and lipid metabolism. In: *Physiology and Biochemistry of Domestic Fowl*, edited by D.J. Bell and B.M. Freeman. Academic Press, London, New York. 1971.
116. Lavau, M. and C. Susini. [U-<sup>14</sup>C] glucose metabolism in vivo in rats rendered obese by a high fat diet. *J. Lipid Res.* 16: 134-142, 1975.
117. Leclercq-Meyer, V., J. Marchand, and W.J. Malaisse. The effect of calcium and magnesium on glucagon secretion. *Endocrinology* 93: 1360-1370, 1973.
118. Lehninger, A.L. *Biochemistry.* North Publishers, Inc. New York. 1970.
119. Leveille, G.A., E.K. O'Hea and K. Chakrabarty. In vivo lipogenesis in the domestic chicken. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 128: 398, 1968.
120. Levin, R.J. Digestion and absorption of carbohydrate - from embryo to adult. In: *Digestion in the Fowl.* Edited by K.N. Boorman and B.M. Freeman, British Poultry Science Ltd. Edinburgh. pp 63-116, 1976.



121. Liddle, G.H. The adrenals. In: Textbook of Endocrinology. Edited by R. H. Williams. W.B. Saunders Co., Philadelphia. 1974.
122. Lowenstein, J.M. Is insulin involved in regulating the rate of fatty acid synthesis? In: Handbook of Physiology. Sec. 7: Endocrinology, Vol. I PP 415-424. Am. Physiol. Soc. 1972.
123. Maickel, P.R. The interaction of drugs with autonomic nervous function and thermoregulation. Fed. Proc. 29: 1973, 1970.
124. Malaisse, W.J. Hormonal and environmental modification of islet activity. In: Handbook of Physiology. Sec. 7: Endocrinology, Vol. I: pp 237-260, Am. Physiol. Soc. 1972.
125. Martin, Constance R. Textbook of Endocrine Physiology. Sec. II, chapt. 5-10, New York, Oxford Univ. Press.
126. Masoro, E.J. Role of lipogenesis in nonshivering thermogenesis. Fed. Proc. Symp. Temperature Acclimation 22. 1963.
127. Masoro, E.J. Lipid and carbohydrate metabolism. In: Physiological Chemistry of Lipids in Mammals, chapt. 19, pp. 211-221. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto. 1968.
128. Masoro, E.J. Lipid metabolism during cold exposure. In: Physiological Chemistry of Lipids in Mammals, chapt. 21: 229. W.B. Saunders Company Phila., London, Toronto. 1968.
129. Mayer, J. and E.A. Arees. Ventromedial glucoreceptors system. Fed. Proc. 27: 1345-1348. 1968.
130. Mayer, J. and D.W. Thomas. Regulation of food intake and obesity. Science 156: 328-337. 1967.
131. Minaire, Y., J.C. Vincent-Falquet, A. Pernod, and J. Chatoruet. Energy supply in acute cold exposed dogs. J. appl. Physiol. 35(1): 51-57, 1973.

132. Murakami, E., M. Saito, and M. Suda. Contribution of diffusive pathway in intestinal absorption of glucose in rat under normal feeding condition. *Experientia* 33: 1469-1470. Birkhauser Verlag, Basel (Schweiz) 1977.
133. Myers, R.D. The role of hypothalamic transmitter factors in the control of body temperature. In: *Physiological and Behavioral Temperature Regulation*. part. VI, chapt. 44:648. Springfield, Illinois: Thomas. 1970.
134. Nakazo, W. Innervation of pancreatic islets. In: *Neuroendocrine Control*. edited by K. Yagi and S. Yoshida. J. Wiley and Sons, New York. 1973.
135. Newsholme, E.A. The role of the fructose 6-phosphate/fructose 1,6-diphosphate cycle in metabolic regulation and heat generation. *Biochemical Society Transactions*, 565th Meeting, Stirling, Workshop organized on behalf of the Carbohydrate Biochemistry Group, Vol. 4: 978-984. 1976.
136. Newsholme, E.A., and C. Start. Carbohydrate metabolism in liver. In: *Regulation in Metabolism*, chapt. 6: 247-292. London: John Wiley and Sons. 1973.
137. Nickel, R., A. Schummer, and E. Seiferle. *Anatomy of Domestic Birds*. Verlag Paul Parey. Berlin, Hamburg. 1977.
138. Nitsan, Z., and I. Bartov. Comparison between the nutritional value of potato and corn starch for chicks. *Poultry Sci.* 51: 836-940. 1972.
139. Ogata, K. Physiological approach to the adaptability to cold and heat. *Bull. Ins. Constit. Med., Kumamoto Univ.* 21, 1971.
140. Parker, G.H. and J.C. George. Effect of in vivo cold-exposure on intracellular glycogen reserves in the "starling type" avian pectoralis. *Life Sciences* 15: 1415-1423, 1974.

141. Parker, G.H., and J.C. George. Glycogen utilization by the white fibres in the pigeon pectoralis as main energy process during shivering thermogenesis. *Comp. Biochem. Physiol.* 50A: 433-437, 1975.
142. Parker, G.H., and J.C. George. Effects of short and long term exercise on intracellular glycogen and fat in pigeon pectoralis. *Jap. J. Physiol.* 25: 175-184, 1975.
143. Paul, P., M. Donohue and W.L. Holmes. Glucose metabolism in thyroidectomized and normal dogs during rest and acute cold exposure. *J. appl. Physiol.* 38(2): 236-240, 1975.
144. Pernod, A., J-C. Vincent-Falquet, M.J. Jomain, and Y. Minaire. Glucose and glycogen as fuels for thermogenesis in cold exposed dogs. *Life Sciences* 11(10): 475-482, 1972.
145. Phillips, J.W. and F.J.R. Hird. Gluconeogenesis in vertebrate livers. *Comp. Biochem. Physiol.* 57B: 127-131, 1977.
146. Phillips, J.W. and F.J.R. Hird. Ketogenesis in vertebrate livers. *Comp. Biochem. Physiol.* 57B: 133-138, 1977.
147. Phillips, J.W., and C.F. Nockels. Glucose kinetics in vitamin A deficient chickens. *J. Nutr.* 107: 1229-1234, 1977.
148. Pirnay, F., M. Lacroix, F. Mosora, A. Luyckx, and P. Leffbure. Glucose oxidation during prolonged exercise evaluated with naturally labeled [ $^{13}\text{C}$ ] glucose. *J. Appl. Physiol.* 43(2): 258-261, 1977.
149. Polin, D., and J.H. Wolford. Factors influencing food intake and caloric balance in chickens. *Federation Proc.* 32: 1720-1726. 1973.
150. Radziuk, J., K.H. Norwich, and M. Vranic. Measurement and validation of nonsteady turnover rates with applications to the insulin and glucose systems. *Federation Proc.* 33(7): 1855-1864, 1974.

151. Radziuk, J., K.H. Norwich, and M. Varnic. Experimental validation of measurements of glucose turnover in nonsteady state. *Am. J. Physiol.* 234(1): E84-E93, 1978.
152. Ramaiah, Abburi. Minireview: Regulation of glycolysis in skeletal muscle. *Life Sciences* 19: 455-466.
153. Ramberg, C.F. Jr. The role of tracer methodology in the study of glucose recycling and gluconeogenesis in vivo. *Federation Proc.* 36(2): 225-228, 1977.
154. Randle, P.J., and G.N. Hales. Insulin release mechanism. In: *Handbook of Physiology. Sec. 7: Endocrinology, Vol. I*: 77-90. *Am. Physiol. Soc.* 1972.
155. Rapkin, E. Measurement of  $^{14}\text{CO}_2$  by scintillation techniques. *Packard Technical Bulletin* 7: 1-7, 1962.
156. Richards, S.A. Physiology of thermal panting in birds. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 10: 151, 1970.
157. Richards, S.A. The role of hypothalamic temperature in the control of panting in the chicken exposed to heat. *J. Physiol. London* 211: 341, 1970.
158. Richards, S.A. Brain stem control of polypnoea in the chicken and pigeon. *Respir. Physiol.* 11: 315, 1971.
159. Riggs, D.S. *The Mathematical Approach to Physiological Problems*. The Williams and Wilkins Company. Baltimore. 1963.
160. Robinson, B. The involvement of the olfactory bulbs in the hypothalamic control of thyrotropic somatotropic activities, and its relation in food intake level: studies with cocks. Doctoral thesis. Hebrew Univ. of Jerusalem. 1976.

161. Romijn, C., and W. Lokhorst. Heat regulation and energy metabolism in the domestic fowl. In: Physiology of the Domestic Fowl, chapt. 24: 211-227. Edinburgh, London: Oliver and Boyd. 1966.
162. Ruderman, N.B. Muscle amino acid metabolism and gluconeogenesis. Ann. Rev. Med. 26: 245-258, 1975.
163. Sarkar, N.K. Gluconeogenesis and the factors that control the process in the chicken. Life Sciences 10(11): 293-300, 1971.
164. Schatz, H., J. Otto, M. Hinz, V. Maier, C. Nierle, and E.F. Pfeiffer. Gastro-intestinal hormones and function of pancreatic islets: studies on insulin secretion, 3-H-leucine incorporation and intracellular free leucine pool in isolated pancreatic mouse islets. Endocrinology 94: 248-253, 1974.
165. Scott, N.R., and A. van Tienhoven. Body temperature response of poultry to biogenic amines injected into cerebral ventricles. Am. Soc. Agric. Eng., 1972.
166. Searle, G.L., E.H. Strisower, and I.L. Chaikoff. Glucose pool and glucose space in the normal and diabetic dog. Am. J. Physiol. 176: 190-193, 1954.
167. Shipley, R.A., E. Buchwald Chudzik, and A.P. Gibbons. Rate of glucose transformation in the rat by whole-body analysis after glucose-<sup>14</sup>C. Am. J. Physiol. 213(5): 1149-1158, 1967.
168. Shipley, R.A., and R.E. Clark. Tracer Methods for In Vivo Kinetics. Academic Press, New York and London, 1972.
169. Shipley, R.A., and A.P. Gibbons. Rate of incorporation of CO<sub>2</sub> carbon into glucose and other body constituents in vivo. Can. J. Physiol. Pharmacol. 53(5): 895-902, 1975.

170. Sigma Chemical Company. A simple procedure for determining glucose using enzymes glucose oxidase and peroxidase. Sigma Technical Bull. 510: 1-9, 1972.
171. Sklan, D., D. Dubrov, U. Eisner, and S. Hurwitz.  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA,  $^{91}\text{Y}$  and Cr as nonabsorbed reference substances in the gastrointestinal tract of the chicken. J. Nutr. 105: 1549-1552.
172. Smith, C.J.V. and B. Bright-Taylor. Does a glucostatic mechanism for food intake control exist in chickens? Poultry Sci. 58: 1720-1724, 1974.
173. Smith, C.J.V., J. Hatfield, S. Fowler, and B. Bright-Taylor. Changes in food consumption and blood glucose levels in the domestic chicken, Gallus domesticus, in response to the administration of 2-deoxy-D-glucose. Comp. Biochem. Physiol. 51A: 811-814, 1975.
174. Snedecor, G.W., and W.G. Cochran. Statistical Methods. 6th ed., Iowa State University Press, Ames, Iowa.
175. Soling, H.D., J. Kleineke, B. Willms, G. Janson, and A. Kuhn. Relationship between intracellular distribution of phosphoenol-pyruvate, carboxykinase, regulation of gluconeogenesis, and energy cost of glucose formation. Eur. J. Biochem. 37: 233-243. 1973.
176. Solomon, A.K. Compartmental methods of kinetic analysis. In: Mineral Metabolism, edited by C.L. Comar and F. Bronner, chapt. 5. Academic Press, New York, London. 1960.
177. Stalmans, W. The role of the liver in the homeostasis of blood glucose. In: Current Topics in Cellular Regulation, edited by B.L. Horecker, and E.R. Stadtman, Vol. II: 51-97, Academic Press, New York, San Francisco, London. 1976.

178. Steele, R., N. Altszuler, J.S. Wall, A. Dunn, and R.C. de Bodo. Influence of adrenalectomy on glucose turnover and conversion to CO<sub>2</sub>: studies with C<sup>14</sup> glucose in the dog. *Am. J. Physiol.* 196(2): 221-230., 1959.
179. Steele, R., J.S. Wall, R.C. de Bodo, and N. Altszuler. Measurement of size and turnover rate of body glucose pool by the isotope dilution method. *Am. J. Physiol.* 187: 15-24, 1956.
180. Stetten, DeWitt, Jr., I.D. Welt, D.J. Ingle, and E.H. Morley. Rates of glucose production and oxidation in normal and diabetic rats. *J. Biol. Chem.* 192: 817-830, 1951.
181. Streja, D.A., G. Steiner, E.B. Marliss, and M. Vranic. Turnover and recycling of glucose in man during prolonged fasting. *Metabolism*, 26 (10): 1089-1097, 1977.
182. Stryer, L. *Biochemistry, Part 2.* W.H.F. Freeman and Company, San Francisco. 1975.
183. Sturkie, P.D. *Avian Physiology.* chapt. 3 and 9. New York: Cornell Univ. Press, 1954.
184. Sturkie, P.D. Heart and circulation: Anatomy hemodynamics, Blood pressure, blood flow, and body fluids. In: *Avian Physiology*, 3rd ed., edited by P.D. Sturkie, pp. 76-101. Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin. 1976.
185. Suzuki, Hiroo, Hisako Goshi and Hiroshi Sugisawa. Effects of previous feeding of a high carbohydrate or a high fat diet on changes in body weight and body composition of fasted rats. *J. Nutr.* 105(1): 90-95. 1975.
186. Travis, R.H., and G. Sayer. Insulin and oral hypoglycemic drugs. In: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, edited by L.S. Goodman and A. Gilman. chapt. 71. The Macmillan Company, London, Toronto. 1970.

187. Turner, D.S., A. Shabaan, L. Etheridge, and V. Marks. The effect of an intestinal polypeptide fraction on insulin release in the rat. *Endocrinology* 93: 1323-1328, 1973.
188. Unger, R.H. The pancreas as a regulator of metabolism. In: *Endocrine Physiology*, edited by S.M. McCann. Chap. 6, pp. 179-204. MTP Intern. Rev. Sci. Series One, Vol. 5. University Park Press, Baltimore. 1974.
189. Vranic, Mladen. Tracer methodology and glucose turnover. *Federation Proc.* 33(7): 1837-1840, 1974.
190. Washburn, K.W., R.A. Guill, and H.M. Edwards, Jr. Influence of genetic differences in feed efficiency on carcass composition of young chickens. *J. Nutr.* 105: 1311-1317, 1975.
191. Wassermann, F. The development of adipose tissue. In: *Handbook of Physiology*. Sec. 5: pp 87. *Adipose Tissue*, Am. Physiol. Soc., Washington D.C. 1965.
192. Whittow, G.C. Regulation of Body temperature. In: *Avian Physiology*, 3rd ed., edited by P.D. Sturkie, chapt. 7: 147-170. New York, Heidelberg, Berlin: Springer-Verlag. 1976.
193. Whittow, G.C. Energy metabolism. In: *Avian Physiology*, 3rd ed., edited by P.D. Sturkie, pg. 174-184. New York, Heidelberg, Berlin: Springer-Verlag, 1976.
194. Wolfe, R.R., and J.F. Burke. Effect of burn trauma on glucose turnover, oxidation, and recycling in guinea pigs. *Am. J. Physiol.* 233(2): E80-E85, 1977.
195. Wolfe, R.R., J.J. Spitzer, H.I. Miller, and Dariush Elahi. Effects of insulin infusion on glucose kinetics in normal and burned guinea pigs. *Life Sciences*, 19: 147-156, 1976.



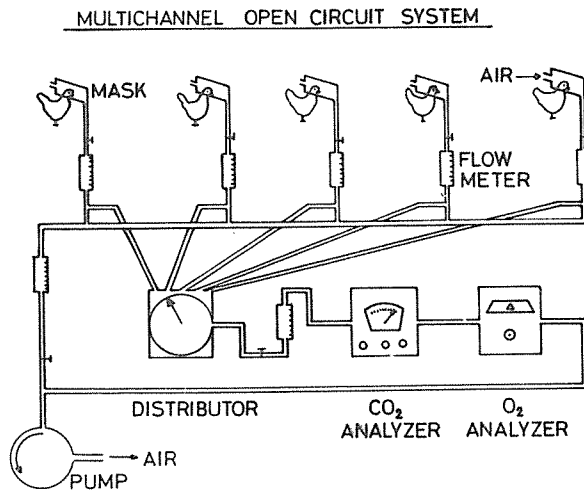
196. Yeh, Yu-Yan, and G.A. Leveille. Hepatic fatty acid synthesis and plasma free fatty acid levels in chicks subjected to short periods of food restriction and refeeding. *J. Nutr.* 100: 1389-1398, 1970.
197. Young, D.R., R. Pelligra, J. Shapira, R.R. Adashi, and K. Skretingland. Glucose oxidation and replacement during prolonged exercise in man. *J. appl. Physiol.* 23: 734-741, 1967.
198. Young, J.W. Gluconeogenesis in cattle: Significance and Methodology. *J. Dairy Sci.* 60(1): 1-15, 1977.

נספח מס' 1 - הרכבי תערובות ניסוי הספלה

Ingredient (%)	Trial 1	Trial 2	
	1	1	2
Glucose monohydrate	39.3	73	-
Corn starch	-	-	73
Soybean oil neil	50	-	-
Casein	-	12	12
Gelatine	-	5	5
Soybean oil, refined	4	4	4
DL-Methionine	0.15	0.10	0.10
Choline chloride (50%)	0.2	0.2	0.2
Alfa cell	2	-	-
Trace minerals	0.1	0.1	0.1
NaCl	0.25	0.3	0.3
CaCO <sub>3</sub>	0.1	-	-
CaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.5	4	4
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	-	0.65	0.65
MgSO <sub>4</sub>	-	0.05	0.05
Vitamins A + B <sub>2</sub>	0.2	0.2	0.2
Vitamin D <sub>3</sub>	0.2	0.2	0.2

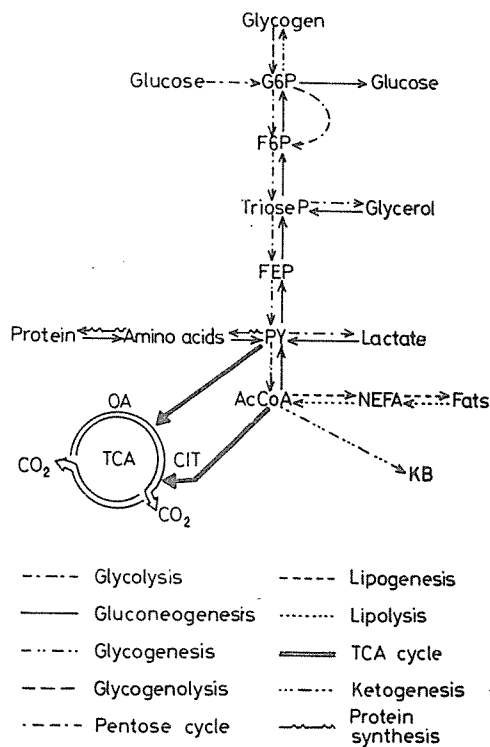
# נספח 2

## 1. מערכת זרימה פתוחה



## 2. נתיבים מטבוליים בתא כבד

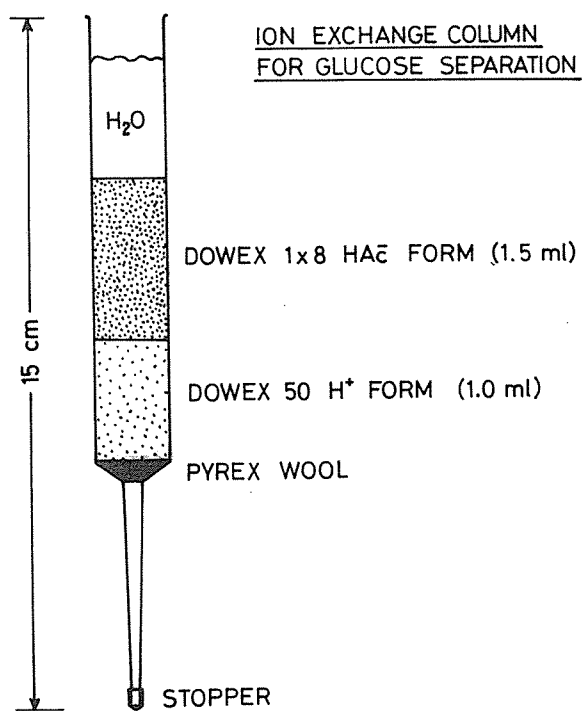
### METABOLIC PATHWAYS OF GLUCOSE METABOLISM IN LIVER CELL



נספח מס' 3 - הפרדת גלוקוז ומנייתו

1. קולונת מחליפי יונים להפרדת

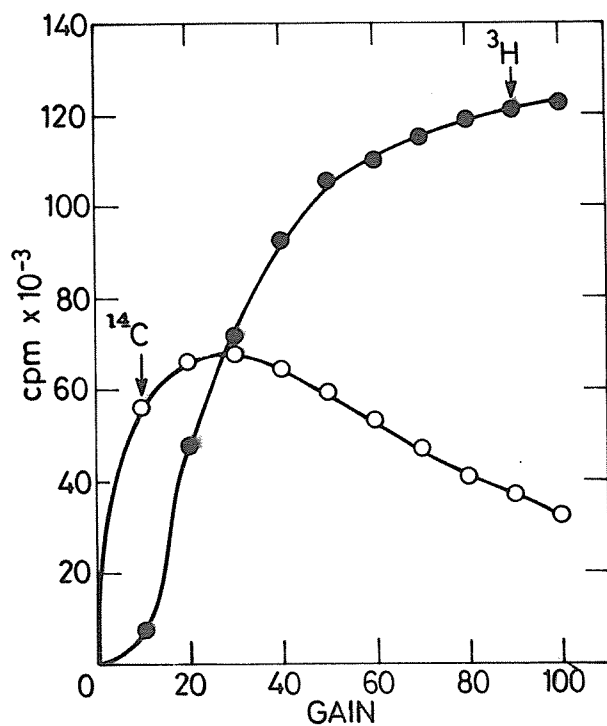
גלוקוז



2. מניית הרדיואיזוטופים

<sup>14</sup>C Glucose

ו- <sup>3</sup>H Glucose



This work was carried out under the supervision of  
Prof. S. Hurwitz and Prof. A. Berman

הספריה המרכזית  
למדעי החקלאות

הספריה המרכזית  
למדעי החקלאות

## CONTENTS

	<u>Page</u>
1. INTRODUCTION	
1.1 Glucose homeostasis	1
1.1.1 The basic model	1
1.1.2 Glucose absorption	2
1.1.3 Hormonal regulation of glucose in blood	4
1.2 Energy metabolism and thermoregulation	6
1.2.1 Utilization of metabolic fuels	7
1.2.2 Regulation of body temperature	9
1.3 Glucose kinetics	11
1.3.1 The methodological approach	11
1.3.2 Glucose kinetics under various physiological conditions	14
1.4 Energy and glucose metabolism	16
1.5 Aims and significance of the research	17
2. MATERIAL AND METHODS	18
2.1 Experimental animals	18
2.2 Glucose absorption and starch digestion	18
2.2.1 Experimental procedures	18
2.2.2 Chemical and isotope assays	19
2.2.3 Calculations	20
2.3 Gaseous metabolism	20
2.3.1 Open circuit system	21
2.3.2 Calculation	22

הספרייה המרכזית  
למדעי החקלאות

	<u>Page</u>
2.4 Glucose kinetics	23
2.4.1 Cannulation, injection and sampling	23
2.4.2 Glucose determination	24
2.4.3 CO <sub>2</sub> determination	25
2.4.4 Calculations	25
2.5 Carcass composition	26
2.5.1 Glycogen determination	26
2.5.2 Lipid determination	26
2.5.3 Protein determination	27
2.6 Statistical procedures	27
3. RESULTS	28
3.1 The basic model of glucose kinetics	28
3.1.1 Plasma glucose	28
3.1.2 Glucose specific activity	30
3.1.3 Model of glucose flow at steady state	32
3.1.4 CO <sub>2</sub> specific activity	34
3.2. Glucose absorption and starch digestion	35
3.2.1 Non-absorbed reference substance	35
3.2.2 Glucose and starch absorption	36
3.3 Utilization of body depots	37
3.3.1 Gaseous exchange	38
3.3.2 Carcass composition	39
3.4 Glucose kinetics and energy metabolism	41
3.4.1 The models of glucose-carbon kinetics and of heat production	41

	<u>Page</u>
3.4.2 Glucose kinetics and heat production of fed and fasted chickens	43
3.4.3 Glucose kinetics and heat production of normothermic, hypothermic and hyperthermic chickens	46
4. DISCUSSION	53
4.1 Glucose absorption and starch digestion	53
4.1.1 Starch digestion	53
4.1.2 Glucose absorption	54
4.2 Utilization of body depots	57
4.2.1 Respiratory metabolism in satiety and fasting	57
4.2.2 Effect of fasting on body composition	58
4.3 Glucose kinetics	60
4.3.1 The basic model of plasma glucose	60
4.3.2 Glucose kinetics and heat production	63
4.3.3 Glucose kinetics of fed and fasted chickens	66
4.3.4 Glucose kinetics of normothermic, hypothermic and hyperthermic chickens	71



# I

## ABSTRACT

The aims of this work were to study glucose kinetics in the chicken, to determine the interaction between glucose kinetics and heat production through oxidative metabolism, and to evaluate the effect of various physiological conditions on overall energy metabolism *in vivo*.

The experiments were carried out with domestic fowl (*Gallus domesticus*) White Rock chicks, about 6-8 weeks old. The study was carried out in four parts, as follows:

1. The basic pattern of the rate of glucose flow into and out of the pool was studied. Time curves of the specific activity of plasma glucose were obtained over a 6-hour period after an injection of a single dose of ( $U^{14}C, 6^3H$ ) glucose. The mass of glucose pool was about 1000 mg/kg in a volume of 500 ml (200 mg/dl). The mass of glucose sampling pool ( $M_s$ ) was 450 mg/kg and the rate of glucose outflow from it ( $R_{11}$ ) was 26 mg/min·kg. The glucose turnover rate ( $R_o$ ) of a fed chick was 15 mg/min·kg, including about 4 mg/min·kg of recycling. The values of glucose mass of pool, turnover and recycling were higher in chicks than those reported for other mammalian species. The total turnover of glucose in a fed chicken was lower than the estimated glucose absorption, suggesting that a large portion of glucose intestinal absorption is directly transported to the liver via the hepatic portal vein, and metabolized there.

## II

2. Glucose absorption and starch digestion along the intestine were estimated from the ratios between the sugar and an unabsorbed reference substance ( $^{91}\text{Y}$ ) in feed and in intestinal segments. About 50% of the ingested starch was digested up to the duodenal end, 85% up to the end of the jejunum, and about 98% at the end of the ileum. Glucose absorption was about 65% up to the end of the duodenum, and 85% and 98% up to the end of the jejunum and the ileum, respectively. Glucose absorption increased linearly with the increase of sugar concentration (starch or glucose) in the segment. The response to glucose concentration was similar in all intestinal segments without any hint of saturation. Thus, no differences could be detected in vivo between the intestinal absorptive mechanism of glucose among the various intestinal segments.

3. The depletion of various body depots (lipids, protein and glycogen) during fasting was studied together with the respiratory metabolism, i.e., oxygen consumption ( $\text{VO}_2$ ) and  $\text{CO}_2$  production ( $\text{VCO}_2$ ). The experiments were performed with chicks fed or fasted for up to 96 hours.

Oxygen consumption decreased from 14 to 12 ml/min·kg after 24 hours of fasting, and then remained constant up to 96 hours of fasting.  $\text{CO}_2$  production decreased from 11.6 to 8.0 ml/min·kg during 72 hours of fasting and then stabilized, resulting in a decrease of RQ from 0.83 to 0.65. Thus the decrease of the metabolic rate was associated with a change in the pattern of oxidative metabolism. Intestinal

### III

contents decreased from 23 to 5 g during 6 hours of fasting and then decreased to 1 g after 24 hours. Liver glycogen decreased from 26 to 0.9 mg/g tissue during 6 hours of fasting.

During 96 hours of fasting body weight, body protein and lipids decreased at an average rate of 4.1, 0.37 and 0.59 g/h, respectively. The caloric value of lipids and protein depleted was 3.2 and 0.9 Kcal/h·kg, respectively. Plasma and body temperature did not change during the fasting period. Glucose inputs to the glucose pool were from intestinal absorption and hepatic glycogenolysis in the first stage of fasting and from gluconeogenesis later on. Body temperature remained constant due to lowering of the metabolic rate and to oxidation of body energy stores.

4. An integrative study was made of both glucose kinetics and respiratory metabolism. The experimental system enabled the simultaneous determination of ( $U^{14}C$ ) glucose, ( $6^3H$ ) glucose and  $^{14}CO_2$  specific activities, and of oxygen consumption and  $CO_2$  production. Through this interdisciplinary approach, the models of glucose kinetics and of heat flow could be expanded to include interactions between them. The models were used to evaluate the physiological responses of the chicks to fasting, heating, and cooling. The kinetic model estimated the rates of glucose carbon transport ( $R$ ), including:  $R_1$  - input to glucose pool,  $R_2$  - output from glucose to body depots,  $R_3$  - net output from glucose to expired  $CO_2$ ,  $R_4$  - glucose carbon recycling,  $R_5$  - output from non-glucose sources to expired  $CO_2$ , and  $R_6$  - loss as expired  $CO_2$ . The model of heat flow included the rates of heat production by glucose

#### IV

oxidation ( $M_G$ ) and the rate of heat production by other metabolic fuels' oxidation ( $M_{F+P}$ ). The former was obtained from glucose oxidation rate ( $R_3$ ) and the latter from the difference between total heat' production ( $M$ ) and ( $M_G$ ).

Glucose turnover and recycling were determined in chicks fasted from 0 to 96 hours. Since the experimental procedure had taken about 6 hours, the 0-hours fasting group became post-absorptive (see part 3). Therefore, another group of chicks was given 25 g of food during the experiment by crop intubation. Glucose turnover rate decreased from 17 mg/min·kg in the fed chicks down to 8 mg/min·kg in the 24-hour fasted group and then remained constant up to 96 hours of fasting. Glucose recycling was 30%, 35%, 45% and 51% of the turnover rate in fed and in fasted chickens 0, 24 and 72 hours respectively. Yet glucose recycling rate decreased from 5.8 mg/min·kg in fed chicks to 3.8 mg/min·kg in 96 hours of fasting. The treatments of 0, 24 and 72 hours of fasting were examined using the models of the carbon kinetics and of heat flow. All the changes were established in 24 hours of fasting and then stabilized up to 72 hours. Twenty-four hours of fasting resulted in: (a) a decrease of 30% in  $R_1$ , (b) a slight decrease in  $R_2$ , (c) a decrease of 55% in  $R_3$ , (d) an increase in  $R_5$  equal to the decrease in  $R_3$ , and (e) no significant change in  $R_4$  or  $R_6$ . Thus, the main effect of fasting was the decrease in glucose turnover by a decrease in glucose input from the intestine and a parallel decrease in glucose output to body depots, and in glucose oxidation. The decrease in glucose oxidation rate was accompanied by an increase in other metabolites oxidation. Glucose recycling (Cori cycle) was not regulated by fasting.

Heat production by glucose oxidation ( $M_G$ ) decreased from 1.2 to 0.5 Kcal/h·kg in 0 and 24-hour fasted chicks, respectively. These values were 31% and 13% of total heat production ( $M$ ). The contribution of other metabolic fuels, i.e. lipids and protein oxidation, was 2.6 and 3.5 Kcal/h·kg in 0 and 24 hours of fasting, respectively.

Glucose kinetics and heat production were determined in 24-hour fasted chicks under conditions of heating and of cooling. Cooling caused visible shivering and heating caused visible panting. Body temperature was maintained constant during the experiment at 39.3°, 40.8° and 42.5°C in the hypothermic, normothermic and hyperthermic chickens, respectively. Respiratory rate was 26 and 130 br/min in the normothermic and hyperthermic groups, respectively. The hypothermic group maintained a hypoglycemic situation of 160 mg/dl of plasma glucose compared with 200 mg/dl in other treatments. Oxygen consumption was 20 cc/min·kg in the hypothermic chickens and about 14 cc/min·kg in the normo- and hyperthermic groups. The RQ was about 0.7 regardless of treatment. Glucose turnover rate, i.e. synthesis or release from the gluconeogenic tissues, was about 9 mg/min·kg in the control group and 11 mg/min·kg in the thermal treatments. Glucose recycling was 39%, 45% and 51% in the hypo-, normo- and hyperthermic chicks, respectively, but the rate of recycling was 4 mg/min·kg in the two first groups and about 5.5 mg/min·kg in the last group. Since glucose recycling was not altered during fasting but increased with panting respiration, which promotes the release of lactate into circulation, it is suggested that the physiological role of the Cori cycle is to remove lactate from the

## VI

circulation. The hypothermic condition resulted in an increase in the kinetics parameters of  $R_1$ ,  $R_3$ ,  $R_5$  and  $R_6$ , i.e. an increase in glucose turnover and oxidation, and in  $CO_2$  production from glucose and other sources. The hyperthermic condition resulted in an increase in  $R_1$ ,  $R_4$  and  $R_2$ , i.e. glucose turnover, recycling and output to body depots. Heat production was 5.7 Kcal/h·kg in the hypothermic group and about 4 Kcal/h·kg in the other treatments. The relative contribution of glucose oxidation to total heat production was 15% in the normothermic and hyperthermic chicks and 19% in the hypothermic chicks. It is thus suggested that hypothermia did not induce non-shivering thermogenesis and that fasting (24 h) determined the composition of metabolic fuels for oxidation while body temperature determined the metabolic rate.

AGRICULTURAL RESEARCH ORGANIZATION  
INSTITUTE OF ANIMAL SCIENCE

SOME ASPECTS OF GLUCOSE KINETICS  
IN THE DOMESTIC FOWL

by

Gad Riesenfeld

Pamphlet No. 202

Division of Scientific Publications  
The Volcani Center, Bet Dagan,  
Israel

1979