ANNALES

UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA LUBLIN – POLONIA

Vol. XIV, 7	SECTIO D	1959
Vol. XIV, 7	SECTIO D	195

Z Katedry Histologii i Embriologii Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Lublinie Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

Grażyna RZESZOWSKA

Struktury Golgiego w komórkach piramidowych kory mózgu szczurów białych pozostających pod wpływem kwasu fenyloetylobarbiturowego

Структуры Гольджи в пирамидных клетках коры мозга у белых крыс, находящихся под влиянием фенилэтилбарбитуровой кислоты

The Golgi Elements, in the Pyramidal Cells of the Cerebral Cortex of the Rat (Rattus rattus L. albino), Examined after Treatment with Phenyloetylobarbituric Acid

Wpływ czynników biologicznych i farmakologicznych na struktury Golgiego w komórkach różnych narządów był przedmiotem badań A oyama (1931), Siang Hsu (1935), Grzyckiego (1949—1951), Staszyca (1952), Zawistowskiego (1954) i Horninga (1951) który obserwował zachowywanie się struktur Golgiego w komórkach nerwowych ssaków, pozostających pod wpływem morfiny.

Struktury Golgiego w komórkach nerwowych, jak wykazały badania Bakera (1944), Thomasa (1947—1948) craz Rau A Subbai Ludforda (1925) są utworzone z elementów ziarnistych, pałeczkowatych, nitkowatych, a także z ciałek sferoidalnych, które rozrzucone są po całej protoplazmie. Są one morfologicznie zdefiniowanym organoidem komórkowym i biorą udział w przemianie materii komórki. Rau A Subba i Ludford (1925) uważają, że rozproszenie elementów Golgiego po cytoplazmie komórek nerwowych może być wyrazem wysokiego stopnia metabolizmu tych komórek.

Nie znajdując w literaturze prac, które by określały wpływ pochodnych kwasu barbiturowego na komórki piramidowe kory mózgowej, postanowiono przebadać zachowanie się struktur Golgiego w tych komórkach u zwierząt, pozostających pod wpływem różnych dawek luminalu (kwasu fenyloetylobarbiturowego).

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania przeprowadzono na szczurach białych (*Rattus rattus L. albino*), samicach, wagi od 160 do 200 g. Szczury te podzielono na cztery grupy doświadczalne (po 5 zwierząt w każdej), którym podawano z pokarmem luminal w dawkach 0,025 g, 0,05 g i 0,1 g. Grupa I jako kontrolna nie otrzymywała luminalu. Grupa II zwierząt otrzymała dziesięciokrotnie w odstępach 24 godzinnych po 0,025 g luminalu (razem 0,25 g). Zwierzęta grupy III otrzymały trzykrotnie w odstępach 48 godzinnych po 0,05 g luminalu (razem 0,15 g). Natomiast zwierzętom grupy IV podano jednorazowo luminal w ilości 0,1 g, która okazała się śmiertelną. Po upływie 12 godzin od ostatniej dawki (w grupach II i III) pobierano materiał do badań, zaś z grupy IV po 3 godzinach.

Zwierzęta zabijano przez dekapitację, a mózg utrwalano wg metod Cajala. Da Fano i Kruszyńskiego, oraz w płynie Schaffera i w formalinie 1:10. Skrawki mikrotomowe grubości 5 mikronów, po odparafinowaniu, niebarwione lub barwione hematoksyliną i eozyną zamykano w balsamie kanadyjskim i oglądano w mikroskopie C. Zeiss Lumipan, obiektyw immersyjny apochrom. 100/1,25, okular K 17 \times T.

W badaniach naszych wzięto pod uwagę komórki piramidowe duże, znajdujące się w polu ruchowym kory mózgowej.

BADANIA WŁASNE

I.

Szczury białe, samice, grupa kontrolna.

Zastosowanie metcd srebrowych Cajala, Da Fano i Kruszyńskiego pozwoliło wyczernić w komórkach nerwowych piramidowych dużych kory mózgu szczura substancję Golgiego, która przeważnie umiejscowiona była w strefie dckołajądrowej i miała wygląd cienkich niteczek lub pałeczek, splatających siateczkę o nierównych oczkach, odgraniczającą się wyraźnie od otoczenia (ryc. 1 i 2).

Zauważono, że pałeczki lub niteczki mogą być gładkie lub różańcowate, przy czym te ostatnie miały zawsze wygląd poukładanych obok siebie ziarenek (ryc. 1). Ziarenka, nawet w tej samej pałeczce, nie były jednakowej wielkości, co mogło wskazywać, że posiadają one zdolność wzrostu. Widziało się nawet pojedyncze, duże ziarenka, z których jedne były wyczernione solami srebra całkowicie, a drugie słabiej. Ziarenka posiadające słabą impregnację miały dobrze czerniącą się otoczkę zewnętrzną, która otaczając chromofobną wakuolę stanowiła pierścień zamknięty albo poprzerywany, albo miała wygląd kilku lub kilkunastu ziarenek, przylegających do chromofobnej wakuoli wewnętrznej (ryc. 2). Powyższe obrazy pozwoliły zaliczyć te elementy do typowych ciałek systemowych Golgiego (ryc. 2), opisywanych przez Hirscha, a nazwanych przez Thomasa ciałkami sferoidalnymi (mulberry spheroid). Natomiast ziarenka nierównej wielkości, które posiadały całkowitą zdolność impregnacji solami srebra i układały się w pałeczki lub nitki

;

a nawet splatały siateczki można, jak wydaje się nam, nazwać ziarnami presubstancji Hirscha.

Struktury Golgiego zatem, w których elementami są ziarna, pałeczki, niteczki i ciałka sferoidalne, umiejscowione w strefie dokołajądrowej, a nawet ściśle przylegające do błony jądrowej są prawdopodobnie typowymi strukturami, występującymi w komórkach piramidowych w korze mózgowej szczurów kontrolnych.

II.

Szczury białe, samice, otrzymywały przez 10 dni, codziennie, w odstępach 24-godzinnych 0,025 g luminalu (razem 0,25 g).

Przeglądając preparaty z tej grupy doświadczalnej zauważono zwiększenie objętości ziarenek, niteczek i pałeczęk Golgiego bez zwiększenia ich ilości. Struktury te nie splatały typowej siatki dokoła jądra, a raczej tworzyły, krótkie nitki lub grube różańcowate pałeczki, przylegające bezpośrednio do błony jądrowej albo umiejscowione w pewnej odległości od jądra (ryc. 3 i 4).

Na hipertrofię struktur Golgiego, występującą w komórkach nerwowych po zadziałaniu morfiny zwrócił uwagę Horning, który opisuje także fragmentację tych struktur.

Pałeczki Golgiego obserwowane w naszym doświadczeniu utworzone były z dużych ziarenek presubstancji i ciałek sferoidalnych Golgiego-Thomasa (ryc. 4). Pojedynczych ziarenek i ciałek sferoidalnych było mało.

Zwiększenie się objętości struktur Golgiego w kcmórkach nerwowych pod wpływem małych dawek luminalu bez zwiększenia ilości elementów strukturalnych w zakresie niezmienicnej strefy Golgiego może świadczyć o zahamowaniu dynamiki przemian struktur Golgiego przy równoczesnym pobudzeniu przemian chemicznych, wewnątrzkomórkowych.

III.

Szczury białe, samice, otrzymały przez trzy dni co drugi dzień 0,05 g luminalu (razem 0,15 g).

Wpływ zwiększonej jednorazowej (0,05 g) dawki luminalu wyrażał się bardzo charakterystycznymi zmianami morfologicznymi struktur Golgiego w komórkach piramidowych kory mózgowej. Zmiany te dotyczyły przede wszystkim elementów nitkowatych, i pałeczkowatych, które uległy podziałowi na różnej wielkości ziarenka i ciałka sferoidalne o grubej srebrochłonnej otoczce zewnętrznej (ryc. 5). Umiejscowienie tych elementów w strefie dokołajądrowej tworzyło ziarniste pole Golgiego, którego szerokość w różnych komórkach była różna, zależna od ilości ziarenek znajdujących się w polu. Ziarenek i ciałek sferoidalnych było mniej w porównaniu z ilością substancji Golgiego występującej w komórkach nerwowych kontrolnych (ryc. 1 i 2). Zmniejszenie ilości substancji Golgiego i jej zmiany, a także częściowa zmiana barwliwości jąder wskazują na zahamowanie przemian wewnątrzkomórkowych.

IV.

Szczury białe, samice, otrzymały jednorazowo 0,1 g luminalu.

Dawka 0,1 g luminalu okazała się śmiertelną i szczury ginęły w zatruciu ostrym. Obraz struktur Golgiego uległ całkowitej zmianie ponieważ obserwowało się zmniejszenie ilości elementów do jednej lub dwóch pałeczek, przylegających do błony jądrowej. Pałeczki zatraciły swój charakter różańcowaty i stały się gładkie przy czym zachowały one całkowitą zdolność impregnacyjną solami srebra. Nie obserwowało się na preparatach ani elementów ziarnistych presubstancji ani ciałek sferoidalnych Golgiego-Thomasa (ryc. 6).

Dawka luminalu 0,1 g wywołała bardzo rozległe zmiany morfologiczne struktur Golgiego i cytologiczne (trudna barwliwość jąder komórkowych i błony jądrowej) co mogło wskazywać nie tylko na całkowite wstrzymanie procesów dynamicznych struktur Golgiego, ale także na częściową degenerację komórek piramidalnych.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ I WNIOSKI

Zmiany morfologiczne struktur Golgiego, występujące pod wpływem morfiny i opisane przez Horninga wskazują, że istnieje wyraźny wpływ czynników farmakologicznych z grupy opium na komórki nerwowe ośrodkowego układu. Wpływ czynników farmakologicznych, pochodnych kwasu barbiturowego był tematem naszych badań a uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że nawet małe dawki luminalu powodują zahamowanie dynamiki przemian struktur Golgiego, które wyrażało się zmniejszeniem ilości elementów Golgiego, przy równoczesnej hipertrofii ziarenek, niteczek i pałeczek Golgiego. Natomiast podanie dawki powodującej zatrucie ostre wywoływało zmniejszenie ilości elementów Golgiego, zniknięcie strefy czynnościowej protoplazmy i zmiany w barwliwości jądra i błony jądrowej.

PISMIENNICTWO

1. Aoyama F.: Zeitsch. f. Zellforsch. u. mikr. Anat. 12, 179-206, 1931. 2. Baker I. R.: Quart. J. micr. Sci. 85, 1-72, 1944. 3. Grzycki St.: Bull. Acad. Polon. Ser. B. II, 289-302, 1949. 4. Grzycki St.: Bull. Acad. Polon. Ser. B. II, 451-468, 1951. 5. Grzycki St.: Ann. Univ. Mariae Curie Skłodowska. Sec. D. 6, 297-322, 1951. 6. Horning E. S. cyt. wg Bourne G. H.: Cytology a. Cell Physiology. Ed. Oxford, At the Clarendon Press. 275, 1951. 7. Rau A Subba, R. J. Ludford: Quart. J. Micr Sci. 69, 509-517, 1925. 8. Siang Hsu W.: Zeitsch. f. Zellforsch. u. mikr. Anat. 22, 132-139, 1935. 9. Staszyc J.: Ann. Univ. Marize Curie Skłodowska. Sec. D. 7, 131-153, 1952. 10. Thomas O. L.: Quart. J. Micr. Sci. 88, 445-462. 1947. 11. Thomas O. L.: Quart. J. Micr. Sci. 89, 333-350, 1948. 12. Zawistowski S.: Fol. Morph. 5, 115-128, 1954.

OBJAŚNIENIA RYCIN

Ryc. 1. Komórka piramidowa, kontrolna. Pałeczkowate i nitkowate struktury Golgiego umiejscowione w strefie dokołajądrowej. Metoda srebrowa Cajala. Mikroskop Lumipan C. Zeiss. Obiektyw immersyjny apochrom. HI 100/1,25. Okular K 17 \times T. Mikrofot. Practina FX.

Ryc. 2. Komórka piramidowa, kontrolna. Przekrój pop.zeczny. Struktury Golgiego utworzone z nitek, różańcowatych paleczek, ziarenek i ciałek sferoidalnych oplatają jądro komórkowe. Metoda srebrowa Cajala. Mikroskop Lumipan C. Zeiss. Obiektyw immersyjny apochrom. HI 100/1,25. Okular K 17 \times T. Mikrofot. Practina FX.

Ryc. 3. Komórka piramidowa pod wpływem luminalu, dawka jednorazowa 0,025 g, dawka ogólna 0,25 g. Pogrubienie elementów struktur Golgiego umiejscowionych dokoła jądra. Metoda srebrowa Cajala. Mikroskop Lumipan C. Zeiss. Obiektyw immersyjny apochrom. HI 100/1,25. Okular K 17 \times T. Mikrofot. Practina FX.

Ryc. 4. Komórka piramidowa pod wpływem luminalu, dawka jednorazowa 0,025 g, dawka ogólna 0,25 g. Przekrój poprzeczny. Wyraźne ciałka sferoidalne i różańcowate pałeczki w strefie dokołajądrowej. Metoda srebrowa Cajala. Mikroskcp Lumipan C. Zeiss. Obiektyw immersyjny apochrom. HI 100/1,25. Okular K 17 \times T. Mikrofot. Practina FX.

Ryc. 5. Komórka piramidowa pod wpływem luminalu, dawka jednorazowa 0,05 g. dawka ogólna 0,15 g. Struktury Golgiego tworzą ziarniste pole Golgiego w strefie dokołajądrowej. Metoda srebrowa Cajala. Mikroskop Lumipan C. Zeiss. Obiektyw immersyjny apochrom. HI 100/1,25. Okular K 17 \times T. Mikrofot. Practina FX.

Ryc. 6. Komórka piramidowa pod wpływem luminalu, dawka jednorazowa C,1 g. Zatrucie ostre. Zmniejszenie ilości pałeczek Golgiego, brak ziazenek i ciałek sferoidalnych. Metoda srebrowa Cajala. Mikroskop Lumipan C. Zeiss. Obiektyw immersyjny apochrom. HI 100/1,25. Okular K 17 \times T. Mikrofot. Practina FX.

РЕЗЮМЕ

На основании исследований по влиянию люминала на структуры Гольджи в пирамидных клетках двигательной зоны коры мозга у белой крысы, автор предполагает, что малые дозы люминала (0,025 г поданные 10 раз) вызывают увеличение объема элементов Гольджи без увеличения их количества. Зона Гольджи не подвергается каким нибудь изменениям. Это, по автору, свидетельствует о заторможении участия структур Гольджи в обмене веществ при одновременном стимулировании внутриклеточного обмена веществ. Люминал в дозе 0,05 г, поданный 3 раза, вызывает уменьшение количества субстанции Гольджи, причем нитевидные и палочковидные элементы делятся на разной величины зернышки и сфероидные тельца. Выше упомянутые явления указывают на заторможение внутриклеточного обмена веществ. Смертельная доза люминала (0,1 г) вызвала количественное уменьшение структур Гольджи, исчезновение функциональной зоны протоплазмы, изменения в окрашиваемости ядра и ядерной оболочки, что можно считать признаком регрессии пирамидных клеток.

ОБЪЯСНЕНИЯ К РИСУНКАМ

Рис. 1. Пирамидная клетка, контрольная. Палочковидные и нитевидные элементы Гольджи, расположенные в околоядерной зоне. Серебрянный метод Кахала. Микроскоп Люмипан Цейс. Иммерсионный объектив, апохромат НІ 100/1,25. Окуляр К 17× Т. Микрофот. Ртестіпа FX.

Рис. 2. Пирамидная клетка, контрольная. Поперечный разрез. Элементы Гольджи, состоящие из нитей, четковидных палочек, зернышек и сфероидных телец, оплетают клеточное ядро. Серебрянный метод Кахала. Микроскоп Люмипан Цейс. Иммерсионный объектив, апохромат НІ 100/1,25. Окуляр К 17× Т. Микрофот. Practina FX.

Рис. 3. Пирамидная клетка под влиянием люминала. Дозы 0,025 г. суммарная доза 0,25 г. Утолщение элементов Гольджи, расположенных около ядра. Серебрянный метод Кахала. Микроскоп Люмипан Цейс. Иммерсионный объектив, апохромат HI 100/1,25. Окуляр К 17× Т. Микрофот. Practina FX.

Рис. 4. Пирамидная клетка под влиянием люминала. Доза 0,025 г. Суммарная доза 0,25 г. Поперечный разрез. Отчетливо видны сфероидные тельца и четковидные палочки в околоядерной зоне. Серебрянный метод Кахала. Микроскоп Люмипан Цейс. Иммерсионный объектив, апохромат НІ 100/1,25. Окуляр К 17× Т. Микрофот. Practina FX.

Рис. 5. Пирамидная клетка под влиянием люминала. Доза 0,05 г. Суммарная доза 0,15 г. Элементы Гольджи образуют зернистое поле Гольджи в околоядерной зоне. Серебрянный метод Кахала. Микроскоп Люмипан Цейс. Иммерсионный объектив, апохромат НІ 100/1,25. Окуляр К 17× Т. Микрофот. Practina FX.

Рис. 6. Пирамидная клетка под влиянием люминала. Разовая доза 0,1 г. Острое отравление. Уменьшение количества палочек Гольджи, отсутствие зернышек и сфероидных телец. Серебрянный метод Кахала. Микроскоп Люмипан Цейс. Иммерсионный объектив, апохромат НІ 100/1,25. Окуляр К 17× Т. Микрофот. Practina FX.

SUMMARY

Investigations into the influence of luminal on the Golgi elements of the pyramidal cells of the cerebral cortex of the rat suggest that small doses of the drug (ten doses of 0.025 g each) increase volume of the Golgi elements, leaving their quantity unchanged. The Golgi "collection" is left unchanged. All this proves that changes in the Golgi elements are inhibited while intracellular changes are at the same time stimulated. A dose of 0.05 g of luminal administered three times to the rats causes a quantitative decrease of the Golgi elements accompanied by a simultaneous disintegration of the filaments and rod-like elements into granules of various sizes and spheroidal bodies. All this testifies to inhibition in the intracellular changes. The lethal dose of luminal, i. e. 0.1 g, causes a quantitative decrease of the Golgi elements, the disappearance of the activity zone in the protoplasm, and changes in the staining capacity of the nucleus and nuclear membrane, that may be regarded as a sign of a degenerative process in the pyramidal cells.

EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. A pyramidal control cell. The Golgi elements in the shape of rods and filaments are located in the perinuclear region. Impregnation performed by Cajal's method. Carl Zeiss "Lumipan" microscope, oil immersion Apochromat HI 100/1,25 objective, K $17 \times T$ ocular, Practina FX with photomicrograph attachment.

Fig. 2. A pyramidal control cell. Transverse section. The Golgi elements formed of filaments, crenated rods, granules and spheroidal bodies are located round the nucleus. The photomicrograph was taken under the same conditions as in Fig. 1

Fig. 3. A pyramidal cell after treatment with luminal. Single dose 0.025 g. The total dose 0.25 g. The thickening of the Golgi elements is observed round the nucleus. The photomicrograph was taken under the same conditions as in Fig. 1.

Fig. 4. A pyramidal cell treated with luminal. Single dose 0.025 g. The total dose 0.25 g. Transverse section. Pronounced spheroidal bodies and crenated rods are seen in the perinuclear region. The photomicrograph was taken under the same conditions as in Fig. 1.

Fig. 5. A pyramidal cell treated with luminal. Single doze 0.05 g. The total dose 0.15 g. The Golgi elements form the granular field in the nuclear region. The photomicrograph was taken under the same conditions as in Fig. 1.

Fig. 6. A pyramidal cell treated with luminal (single dose of 0.1 g). An acute poisoning, a decrease of Golgi rods and the absence of granules and spheroidal bodies. Impregnation performed by Cajal's method. The microphotograph was taken under the same conditions as in Fig. 1.

Papier druk. sat. 111 kl. 80 g	Format 70x100	Druku 8 str. +3 kreda.
Annales U.M.C.S. Lublin 1960.	Lub. Druk. Prasowa—Lublin, Unicka	4. Zam. 1247 19.111.60.
800+125 eg2. S-3 Data	otrzymania manuskryptu 19.111.60 r.	Data ukończenia druku 25.VIII.60



Ryc. 1.



Ryc. 2.

Grażyna Rzeszowska



Ryc. 3.



Ryc. 4.



Ryc. 5.



Ryc. 6.

Grażyna Rzeszowska