ANNALES

UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA LUBLIN – POLONIA

VOL. XVIII, 1

SECTIO D

1963

Pracownia Mikroskopii Elektronowej. Akademia Medyczna Lublin Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

> UNCS LUBLIN

Alina PAWŁOWSKA

Badania nad ultrastrukturą komórki mezotelialnej krezki myszy

Исследования над ультраструктурой мезотелиальной клетки мезентерия мышей.

An Investigation into the Ultrastructure of the Mesothelial Cell of the Mouse Mesenterium

Rozmieszczenie i struktura błon cytoplazmatycznych, które Sjöstrand (1956) nazywa wewnątrzkomórkowymi błonami cytoplazmatycznymi, a Porter (1962) siatką endoplazmatyczną (RE), były przedmiotem licznych badań prowadzonych przeważnie nad komórkami gruczołowymi. Brak jest natomiast badań w mikroskopie elektronowym komórek płaskich, tworzących nabłonek jednowarstwowy. Zagadnienie rozmieszczenia błon cytoplazmatycznych w tego typu komórkach może rzucić pewne światło na słuszność badań Sjöstranda, Portera, Palade (1955), Palade i Siekevitza (1956) oraz Heitza (1957) w komórkach roślinnych, tym bardziej, że Porter mówi o trójwymiarowym rozmieszczeniu sieci, a Sjöstrand odróżnia α , β i γ -błony cytoplazmatyczne.

Najbardziej typowym nabłonkiem jednowarstwowym płaskim jest nabłonek krezki, któremu przypisuje się nie tylko odrębność morfologiczną, ale także według niektórych badaczy, spełniać on może szczególnie ważne czynności fizjologiczne. Komórki nabłonka krezki poddano obserwacjom w mikroskopie elektronowym.

MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono na świeżej krezce myszy białej (*Mus musculus alb.*) hodowli wsobnej, wagi około 15 g. Małe skrawki krezki wielkości około 0,5 mm³, pobrano bezpośrednio po zabiciu zwierzęcia. Materiał utrwalono w temperaturze 0°C przez okres pół godziny w 1% czterotlenku osmu, buforowanym do pH około 7,4 buforem octanowo-weronalowym (Palade 1952) z dodatkiem 7,2% cukrozy jako osłony (Caulfield 1957). Utrwalony materiał odwadniano w etanolach o różnym stężeniu i zatapiano w metakrylanie n-butylu z dodatkiem 1% nadtlenku benzoilu jako katalizatora. Polimeryzowano w temperaturze 45°C przez okres 14—20 godzin. Ultracienkie skrawki sporządzano nożem szklanym na ultramikrotomie Sitte OmU (S. Reichert Wiedeń). Elektromikrofotogramy wykonywano przy użyciu mikroskopu elektronowego Elmi D2 (C. Zeiss Jena).

BADANIA WŁASNE I OMÓWIENIE WYNIKÓW

Obserwacje nasze dotyczyły komórek płaskich tworzących powierzchowną warstkę krezki. Miały one kształt wielobocznych płytek, pooddzielanych od siebie albo wyraźną przestrzenią międzykomórkową (Pm), albo delikatną pojedynczą błonką (Bm). Grubość tej błonki nie przekraczała grubości jednej z błon cytoplazmatycznych, a jej gestość elektronowa odpowiadała gęstości tych błon. Może więc wydawać się, że nabłonek tworzy zespólnia komórek płaskich, których odgraniczenie przy użyciu metod histologicznych może natrafić niejednokrotnie na poważne trudności (ryc. 1). Należy podkreślić, że w przestrzeniach międzykomórkowych (Pm), szerokości średnio około 1650 Å znajdowały się liczne ziarenka nieco większe od ziarenek Palada, posiadające różną gestość elektronowa. Przestrzeń międzykomórkową odgraniczała cienka pojedyncza błona cytoplazmatyczna, przy czym jak wskazuje ryc. 1 (strzałka) może ona rozgałęziać się w punktach zetkniecia się ze soba kilku komórek. Może ona również zweżać się do przekroju 580 Å, a następnie przechodzić bezpośrednio w pojedynczą błonę cytoplazmatyczną, grubości 510 Å, rozdzielającą sąsiadujące komórki (Bm). W niektórych miejscach zespolenie obu komórek było tak wyraźne, że zatracała się granica międzykomórkowa i gdyby nie to, że pomiędzy nimi przebiegała pojedyncza błona, można by sądzić o komórce wielojądrowej.

Mitochondria (M) w zależności od ich przekroju miały wygląd sferoidalny, względnie kształt krótkich lub długich, prostych lub zagiętych pałeczek. Poza tym miały one strukturę i budowę klasyczną. Grzebienie mitochondrialne długie i liczne stwarzały wygląd poprzecznego prążkowania mitochondriów. Rozmieszczone one były w różnych miejscach cytoplazmy, zwykle jednak w częściach obwodowych komórki. Dokoła mitochondriów zgromadzone były drobne ziarenka przypominające ziarna Palada. Ziarenka te również spostrzegało się dokoła ciałek lipoidopodobnych (L) i w wolnych przestrzeniach między błonami cytoplazmatycznymi (RE). Tego rodzaju obraz może potwierdzić przypuszczenie, że substancję podstawową cytoplazmy tworzą, oprócz błon cytoplazmatycznych, także drobne ziarna przypominające ziarna Palada.

Ciała lipoidopodobne **(L)** miały zawsze kształt różnej wielkości kulek albo sferoidów. Wypełnione one były jednorodną, elektronowo gęstą substancją. Rozmieszczenie ciałek lipoidopodobnych, a także ich ilość były różne w różnych komórkach, zawsze jednak występowały zespołowo w miejscach, w których kanaliki błon cytoplazmatycznych nadmiernie rozszerzały się, tworząc niejednokrotnie wielokształtne struktury pęcherzykowe. Oprócz ciałek lipoidopodobnych można było zauważyć także obecność różnej wielkości typowych okrągłych lub owalnych tworów, elektronowo pustych, ale otoczonych cienką błonką (Cn). Niektóre z tych ciałek na razie nie rozpoznanych (Cn) posiadały drobnoziarnistą strukturę. Wydaje się, że mogą one należeć do struktur Golgiego i być pęcherzykami Golgiego (Golgi vesicles) względnie, że są one oddzielonymi rozszerzeniami kanałów błon cytoplazmatycznych.

Cytoplazmę podstawową obserwowanych komórek tworzyły występujace w dużej ilości błony cytoplazmatyczne (ryc. 1, 2 i 3). Błony te utworzone były z podwójnych blaszek, grubości 200-220 Å każda, oddzielonych od siebie wąskim kanalikiem szerokości od około 100 do około 500 Å, przy czym kanalik ten w niektórych miejscach mógł sie lekko rozszerzać, tworząc jak gdyby pęcherzykowate twory (ryc. 1 i 2). Rozszerzenia te miały wówczas wygląd wakuoli wypełnionych jednorodną substancją, a miejsca, w których się one znajdowały – zwakuolizowanych. Umiejscowienie dużych pęcherzyków, powstałych przez rozszerzenie się przestrzeni międzyblaszkowej błony cytoplazmatycznej, w bliskości z ciałkami lipoidopodobnymi pozwala sądzić, że ciałka te mogą tworzyć się z tych pęcherzyków przez odpowiednie zmiany morfologiczne i chemiczne. Obserwowane pecherzykowate rozszerzenia, które były dalszym ciągiem błon cytoplazmatycznych, nie stanowiły jednak odmiennej pęcherzykowej i kanalikowej struktury, którą obserwowali Porter i Kallmann (1952) w komórkach hodowli tkankowej.

Do powierzchni zewnętrznej blaszek przyczepione były drobne ziarna Palada, których gestość elektronowa była nieco wieksza od gestości blaszek. Ziarenka te, jak wskazują badania Heitza (1957) oraz Palade i Siekevitza (1956), są małymi cząsteczkami rybonukleoproteidów. Błony cytoplazmatyczne układały się warstwowo i okrężnie dokoła jądra komórkowego, bardzo dokładnie otaczając mitochondria i inne elementy komórki (ryc. 1, 2 i 3). W związku z tym przestrzeń oddzielająca błony cytoplazmatyczne w jednych wypadkach mogła być węższa, w innych szersza. Należy zaznaczyć, że błony cytoplazmatyczne dokładnie wypełniały wszystkie wolne przestrzenie przekroju ciała komórki (ryc. 3). Rysunek nakreślony ich przebiegiem w każdej komórce bardzo przypominał przebieg listewek skórnych opuszki palca. Charakterystyczne jest również to, że błony cytoplazmatyczne miały przebieg ciągły, nie ulegały przerwaniu, a nawet dochodząc do błony jądrowej mogły do niej przylegać (ryc. 1). Na elektrofotogramach obserwowano miejsca, w których całkiem wyraźnie widać było, że błona cytoplazmatyczna otaczała jądro, stając się dla niego błoną jądrową (Nm), względnie bardzo ściśle przylegała do błony jądrowej (ryc. 1). Podobny pogląd, że błona jądrowa jest dalszym nieprzerwanym ciągiem błony (kanału) siatki endoplazmatycznej (RE) wyrazili Marinos (1960) oraz Whaley, Mollenhauer i Leech (1960), którzy dokonywali obserwacji na komórkach roślinnych, a także Watson (1959), który prowadził badania na komórkach zwierzęcych.

PIŚMIENNICTWO

- 1. Caulfield J. B.: Effects of Varying the Vehicle of OsO₄ in Relation to Electron Microscope. J. Biophys. Biochem. Cytol. 3, 827, 1957.
- Heize E.: Über Plasmastrukturen bei Antirrhinum majus and Zea mays.
 Z. Naturforsch. 12 b, 579-580, 1957.
- 3. Marinos N. G.: The Nuclear Envelope of Plant Cells. J. Ultrastruct. Res. 3, 323-333, 1960.
- Palade G. E.: Studies on the Endoplasmic Reticulum. Simple Dispositions in Cells in situ. J. Biophys. Biochem. Cytol. 1, 567-582, 1955.
- Palade G. E., Siekevitz P.: Liver Microsomes. An Integrated Morphological and Biochemical Study. J. Biophys. Biochem. Cytol. 2, 171-200, 1956.
- Porter K. R.: The Endoplasmic Reticulum: some Current Interpretations of its Forms and Function. Biol. Structure and Function. Academic Press Inc. London. 1, 127-155, 1962.
- 7. Sjöstrand F. S.: The Ultrastructure of Cells as Revealed by the Electron Microscope. Intern. Rev. Cytol. 5, 456-533, 1956.

OBJAŚNIENIA DO RYCIN

Ryc. 1. Komórki krezki. Na elektromikrofotogramie widoczne: jąderko (Nucl), jądro (Nu), błona jądrowa (Nm), przestrzeń międzykomórkowa (Pm), błonka międzykomórkowa (Bm), błony endoplazmatyczne z ziarenkami Palada (RE), mitochondria (M) ciałka lipoidopodobne (L) i ciałka nierozpoznane (Cn). Błony endoplazmatyczne wypełniają całe komórki. Strzałka wskazuje miejsce połączenia się trzech sąsiadujących komórek i przejścia przestrzeni międzykomórkowej w błonę międzykomórkową. Mikroskop elektronowy Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Powiększenie około 10 000 \times .

Ryc. 2. Komórki krezki. Strzałki wskazują punkty zetknięcia się błonek międzykomórkowych (Bm) czterech sąsiadujących komórek. Ścisłe połączenie sąsiadujących komórek stwarza w pojęciu histologicznym zespólnię komórkową. Dalsze objaśnienia jak na ryc. 1. Mikroskop elektronowy Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Powiększenie około 10 000 \times .

Ryc. 3. Mały wycinek komórki krezki. Równoległy i dokołajądrowy przebieg błon endoplazmatycznych. Dalsze objaśnienia jak na ryc. 1. Mikroskop elektronowy Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Powiększenie około $15\,000 \times$.

4

РЕЗЮМЕ

С помощью электронного микроскопа проведены исследования ультратонких срезов клеток мезентерия белых мышей. Особенное внимание было обращено на размещение эндоплазматических оболочек (RE), которые состоят из двойных слоев, каждый толщиной около 200 Å. Эти слои разделены канальцем, ширина которого колеблется в пределах 100—500 Å. Эти канальцы в некоторых местах цитоплазмы расширялись, образуя полые пузырьки. Эндоплазматические оболочки вместе с зернистостями Палада характеризовались слоистым параллельным и околоядерным расположением. В различных участках цитоплазмы были заметны митохондрии (М), липоидоподобные вещества (L) и неизвестные образования (Сп).

Рис. 1. Клетка мезентерия. На электромикрофотограмме видны: ядрышко (Nucl), ядро (Nu), ядерная оболочка (Nm) межклеточное пространство (Pm), межклеточная мембрана (Bm), эндоплазматические оболочки с зернистостями Палада (RE), митохондрии (M), липоидоподобные тельца (L) и неизвестные образования (Cn). Эндоплазматические оболочки заполняют все клетки. Стрелкой обозначено место, в котором соединяются три клетки а также переход межклеточного пространства в межклеточную оболочку. Электронный микроскоп Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Увеличение около 10 000 х.

Рис. 2. Клетки мезентерия. Стрелками обозначены точки соприкосновения межклеточных мембран (Bm) четырех смежных клеток, образующий в гистологическом отношении клеточную совокупность. Остальные объяснения те же, что и на рис. 1. Электронный микроскоп Elmi D2 (С. Zeiss, Jena). Увеличение около 10 000 х.

Рис. 3. Маленький срез клетки мезентерия. Заметно параллельное и околоядерное расположение эндоплазматических оболочек. Дальнейшие объяснения те же что и на рис. 1. Электронный микроскоп Elmi D2 (С. Zeiss, Jena). Увеличение около 15000 х.

SU M M A R Y

An examination of ultrathin sections of the cell of the white mouse mesenterium was carried out by an electron microscope. Special attention was paid to the arrangement and distribution of endoplasmic membranes (RE) which were formed by double membranes of about 200 Å thick each. These membranes were separated from each other by a canaliculus the breadth of which ranged from 100 to 500 Å. In some parts of the cytoplasm the canaliculi bulged out and formed electron empty vesicles. Endoplasmic membranes and Palade's granules had a parallel and perinuclear arrangement. In various parts of the cytoplasm mitochondria (M), lipoid-like bodies (L) and some unrecognizable bodies were visible (Cn).

EXPLANATION OF FIGURES

Fig. 1. Cells of the mesenterium. The electrophotomicrogram shows the nucleolus (Nucl), the nucleus (Nu), nuclear membrane (Nm), the internuclear area (Pm), the internuclear membrane (Bm), endoplasmic membranes with Palade's grains (RE), mitochondria (M), lipoid-like bodies (L), unrecognizable bodies (Cn). Endothelial membranes fill up the whole of the cell. The arrow shows the spot in which three neighbouring cells join together and the intercellular area passes into intercellular membrane. Electron microscope Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Magn. about 10 000 \times .

Fig. 2. Cells of the mesenterium. Arrows show spots in which the intercellular membranes (Bm) of four neighbouring cells join together. Close connection of the neighbouring cells makes up the syncytium. Explanation as in Fig. 1. Electron microscope Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Magn. about. 10 000 \times .

Fig. 3. A small section of the cell of the mesenterium. Parallel and perinuclear arrangement of endoplasmic membranes. Explanation as in Fig. 1. Electron microscope Elmi D2 (C. Zeiss, Jena). Magn. about 15 000 \times .

Û

Papier druk. sat. III kl. 80 g.Format 70×100Druku str. 6 + 3 tab.Annales UMCS Lublin 1963LZGraf. im. PKWN, Lublin, Unicka 4Zam. 3571. 24.X.63800 + 50 egz. R-4Manuskrypt otrzymano 24.X.64Data ukończenia 29.VIII.64



Ryc. 1



Ryc. 2



Ryc. 3