

Samodzielna Pracownia Mikroskopii Elektronowej. Instytut Biologiczno-Morfologiczny.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. Maciej Latański

Maciej LATAŃSKI, Daniela OBUCHOWSKA

**Obserwacje peroksysomów w mięśniu sercowym szczura
w warunkach doświadczalnych**

Исследование пероксисомов в мышце сердца крысы в экспериментальных
условиях

Observation of Peroxisomes in a Rat's Heart Muscle in Laboratory Conditions

W naszych wcześniejszych badaniach (4) stwierdziliśmy obecność pozytywnej reakcji z DAB w mięśniu sercowym królika. Obserwacje te były zgodne z wynikami badań Handa (2). Obecne badania wskazują na to, że dodatni odczyn z DAB występuje również w mięśniu sercowym szczura. Znane jest stymulujące działanie clofibratu na organelle komórkowe wątroby zawierające katalazę, określane jako peroksysomy (5, 8). Stwierdzono, że clofibrat przy krótkim czasie działania (5) powoduje wzrost ilościowy peroksysomów, a przy dłuższym podawaniu (8) także powiększenie tych organelli i zmiany w ich budowie wewnętrznej. W naszej pracy chcieliśmy prześledzić wpływ clofibratu na przeobrażanie się peroksysomów w mięśniu sercowym szczura.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Obserwacje wykonano na szczurach białych, samcach o ciężarze 200—250 g. Zwierzętom podawano sondą żołądkową clofibrat w roztworze oleju w dawce 20 mg/kg (w objętości 2—2,5 ml). Wycinki mięśnia sercowego pobierano po 15 i 24 godz. od podania leku. Szczury kontrolne otrzymywały w takiej samej ilości olej bez clofibratu.

Materiał do badań mikroskopowo-elektronowych przygotowywano w sposób standardowy. Do badań cytochemicznych wycinki mięśnia sercowego utrwalano w 2,5% aldehydzie glutarowym w buforze kakodylowym o pH 7,2 przez 3 godz. Skrawki inkubowano wg metody Grahama i Karnowskiego (1). Inkubację przeprowadzano w temp. 37°C przez 1,5 godz. w płynie inkubacyjnym o pH 9. Po inkubacji materiał dotrwalano przez 1 godz. w 1% OsO₄ z buforem Michaelisa o pH 7,4. Po odwodnieniu skrawki zatapiano w Eponie 812. Zdjęcia wykonywano w mikroskopie elektronowym Tesla BS 613 (CSSR).

WYNIKI BADAŃ

W mięśniu sercowym szczurów nie otrzymujących clofibratu organelle wykazujące produkt reakcji z DAB występowały Nielicznie między miofibrillami. Charakteryzowały się one niewielkimi rozmiarami oraz wydłu-

zonym lub owalnym kształtem. Otaczała je pojedyncza błona. Wnętrze tych struktur wypełniał jednorodny, elektronowo gęsty materiał. Produkt reakcji był drobnoziarnisty (ryc. 1).

Po 15 godz. od podania leku obserwowano w mięśni sercowym szczurów nieznaczny wzrost ilości organelli z pozytywnym odczynem na DAB. Ich wielkość, kształt i budowa wewnętrzna nie odbiegały od kontrolnych (ryc. 2). Natomiast po 24 godz. działania clofibratu, oprócz małych organelli, jak opisane wyżej, obserwowano również twory o dużych rozmiarach, wykazujące dodatnią reakcję z DAB. Twory te otaczała pojedyncza błona. Produkt reakcji z DAB był w nich gruboziarnisty. Ponadto we wnętrzu opisywanych struktur widoczne były obszary pozbawione produktu reakcji (ryc. 3). Na zdjęciach skrawków, na których nie wykonywano reakcji z DAB, organelle te przypominały swym wyglądem lizosomy (ryc. 4).

DYSKUSJA

Wyniki przeprowadzonych przez nas obserwacji świadczą o obecności struktur określanych mianem peroksysomów w mięśni sercowym szczura. Zważywszy fakt, że inkubację skrawków przeprowadzaliśmy w warunkach odpowiadających cytochemicznemu wykrywaniu katalazy (7), należy przypuszczać, że dodatnia reakcja z DAB w badanym narządzie jest wynikiem obecności tego enzymu.

Badania cytochemiczne Legga i wsp. (5) oraz Svobody i wsp. (8) nad wpływem clofibratu na komórki wątroby wskazują na to, że lek ten przy krótkotrwałym działaniu powoduje wzrost ilości, a przy dłuższym działaniu także zmiany w wielkości i budowie wewnętrznej organelli wykazujących pozytywną reakcję z DAB. Obecność pozytywnej reakcji w tych organellach autorzy wiążą z obecnością katalazy, a wspomniane struktury nazywają peroksysomami. Kritchevsky (3) podaje, że wzrost liczby i rozmiarów peroksysomów w wątrobie szczura pod wpływem clofibratu zachodzi równolegle ze zwiększeniem aktywności katalazy i spadkiem zawartości oksydazy moczanowej we wspomnianym narządzie.

Nasze obserwacje dotyczące działania clofibratu na mięsień sercowy szczura wykazały, że po 15 godz. działania preparatu wystąpiło zwiększenie ilości organelli z dodatnim odczynem z DAB, a po 24 godz. także zmiany w ich strukturze wewnętrznej. Obserwowane po 24 godz. duże twory z dodatnią reakcją z DAB swoim wyglądem przypominały lizosomy. Novikoff i wsp. (6) sugerują możliwość występowania niewielkich ilości produktu reakcji z DAB w pewnych lizosomach i wiążą to z obecnością lipofuscyny. Mimo to nie sądzimy, aby opisywane przez nas struktury można określić mianem lizosomów. Jesteśmy skłonni przyjąć je za pe-

roksysomy bądź też mikroperoksysomy, tak jak to określiliśmy we wcześniejszych naszych badaniach u królika (4). Za takim poglądem może przemawiać również to, że badane przez nas struktury zachowują się pod wpływem clofibratu tak, jak peroksysomy w hepatocytach (8).

PIŚMIENNICTWO

1. Graham R. C., Karnovsky M. J.: J. Histochem. Cytochem. **14**, 291—302, 1966.
 2. Hand A. R.: J. Histochem. Cytochem. **22**, 206—209, 1974.
 3. Kritchevsky D.: [w] Drill's Pharmacology in Medicine, Mc Graw-Hill Book
 4. Latałski M., Obuchowska D.: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **88**, 491—496, 1974.
Comp. Ae Blakiston Public. 1971.
 5. Legg P. G., Wood R. L.: J. Cell Biol. **45**, 118—129, 1970.
 - 6. Novikoff A. B., Goldfischer S.: J. Histochem. Cytochem. **16**, 507—511, 1968.
 7. Roels F., Wise E., de Prest B., van der Meulen J.: Histochemistry **41**, 281—312, 1975.
 8. Svoboda D. J., Azarnoff D. L.: J. Cell Biol. **30**, 442—450, 1966.
- Otrzymano 9 VI 1976.

OBJAŚNIENIA RYCIŃ

Ryc. 1. Grupa kontrolna. Reakcja z DAB w mięśniu sercowym szczura. Ca 30 000×

Ryc. 2. 15 godz. po podaniu clofibratu. Reakcja z DAB w mięśniu sercowym szczura. Ca 30 000×

Ryc. 3. 24 godz. po podaniu clofibratu. Reakcja z DAB w mięśniu sercowym szczura. Ca 30 000×

Ryc. 4. 24 godz. po podaniu clofibratu. Mięsień sercowy szczura. Ca 30 000×

РЕЗЮМЕ

В мышце сердца крысы установлено присутствие структур, проявляющих позитивную реакцию с ДАВ. Под влиянием препарата clofibrat (Polfa) количество этих структур увеличивается, а введение этого препарата в продолжение длительного времени вызывает изменения во внутренней структуре пероксисомов. Подобным образом реагируют пероксисомы в клетках печени под влиянием препарата clofibrat.

SUMMARY

In a rat's heart muscle the presence of structures that show a positive reaction with DAB were ascertained. Under the influence of clofibrat (Polfa) the number on these structures increased while as the result of a longer administration of this preparation, changes in their internal structure occurred. Peroxisomes in hepatocytes react in a similar way.

EXPLANATIONS OF FIGURES

Fig. 1. Control group. Reaction with DAB in a rat heart muscle. Ca 30 000×

Fig. 2. 15 hr administration of clophibrat. Reaction with DAB in a rat heart muscle. Ca 30 000×

Fig. 3. 24 hr administration of clophibrat. Reaction with DAB in rat heart muscle. Ca 30 000×

Fig. 4. 24 hr administration of clophibrat. Heart muscle of a rat. Ca 30 000×



