# AZ INTRACELLULÁRIS GLIKOGÉN ELEKTRONMIKROSZKÓPOS SZERKEZETE ÉS TOPOGRÁFIAI KAPCSOLATAI

## BARTÓK ISTVÁN

Péterfy Sándor utcai Kórház, Kórbonctani Osztály

Az intracelluláris glikogén megbízható elektronmikroszkópos vizsgálata a vékony metszetek ólomfestésének bevezetése után vált lehetővé. Az előző évtized elején tüzetes, biokémiai módszerekkel is kiegészített elektronmikroszkópos vizsgálatok tisztázták a glikogén finom szerkezetét a sejtben (3, 31). A glikogén és a sima felszínű endoplazmás retikulum sajátos viszonya a májsejtekben már 1959-ben figyelmet keltett (29) és azóta is különböző meggondolások tárgya. A glikogénraktárbetegségek kutatása során derült fény a lizoszómák szerepére a glikogén anyagcserében (12). E kérdések rövid áttekintése az alábbi összefoglalás tárgya.

# A glikogén finomszerkezete elektronmikroszkópos metszetekben.

Festetlen vékony metszetekben a glikogén alig ad kontrasztot és csupán a glikogénben gazdag citoplazma részletekben vehető ki, mint igen halvány pelyhes anyag (31). Ólommal festett metszetekben a glikogén helyén igen erős kontrasztot adó kerekded szemcsék rajzolódnak ki, amelyek a citoplazma alapanyagában szabadon helyezkednek el (3, 5, 10, 31, 32, 36). Az egyes glikogén részecskék [béta részecskék, (6)] átmérője 150–400 Å, és így a 100–150 Å átmérőjű riboszómáktól általában jól elkülöníthetők. Legtöbb szövetben a glikogén szemcsék egymástól elkülönülve helyezkednek el [monopartikuláris glikogén (3) (1. ábra)]. A májsejtekben ezzel szemben az individuális glikogén részecskék 50–200 m $\mu$  átmérőjű, vagy akár nagyobb aggregátumokat alkotnak [alfa részecskék (6); glikogén rosetták (3)] (2. ábra).

Számos vizsgálat igazolta az ólommal festődő részecskék glikogén természetét. Enzimatikus emésztés (diasztáz, amiláz) után a glikogén területén nem jött létre ólomfestődés (3, 5, 32). A glikogén direkt elektronhisztokémiai kimutatásakor (perjódsavas oxidáció után tiokarbohidrazid, majd  $OsO_4$ kezelés) ugyanolyan glikogén szemcsék rajzolódnak ki, mint ólomfestés után; amiláz emésztés a reakciót megszünteti (32, 34). Különböző szövetekből ultracentrifugálással partikuláris glikogént izoláltak. A frakció elektonmikroszkópos vizsgálatra történt beágyazása és ólomfestése után a glikogén a szövet-

MTA Biol. Oszt. Közl. 18, (1975)

#### BARTÓK ISTVÁN

metszetekben láthatókkal azonos küllemű és nagyságú részecskéknek bizonyult (5, 31, 36).

Mindezek alapján a glikogén részecskék ólommal festett metszetekben alakjuk, nagyságuk és denzitásuk alapján elektronmikroszkóppal kellő biztonsággal felismerhetők.

### A glikogén és a sima felszínű endoplasmás retikulum topográfiai kapcsolata

A máj glikogéntartalmában az adott körülményektől függően jelentős különbségek mutatkoznak, sőt a glikogén mennyisége fiziológiás viszonyok közt is ritmikusan változik a nap folyamán (25). Jól táplált állat, vagy ember májában a glikogén nagy citoplazmarészeket foglal el, melyek más organellumokat nem tartalmaznak. Ha azonban a máj kevesebb glikogént tartalmaz, a glikogén szemcsék a sima felszínű endoplazmás retikulum (SER) tubulusai közt helyezkednek el (2, 3 17, 22) (2. ábra). E topográfiai kapcsolat sokkal feltűnőbbé válik olyan hatásokra, amelyek akár a SER, akár a glikogén menynyiségét drasztikusan megváltoztatják. Így pl. 3-metil-diaminoazo-benzol, vagy barbiturát kezelés kísérleti állatok májában a SER tetemes megnövekedését idézi elő. A felszaporodó SER membránok ilyenkor behatolnak a glikogénmezőkbe s elfoglalják azok helyét, miközben a glikogén erősen megkevesbedik, sőt el is tűnhet (3. ábra) (16, 29, 30). A folyamat regressziója alkalmával a glikogén felszaporodásával párhuzamosan a SER visszafejlődik (29).

Éhezéskor a máj glikogéntartalma csökken. Ezzel egyidejűleg a glikogénmezők körül a SER membránjai felszaporodnak és amilyen mértékben csökken a glikogén mennyisége, olyan mértékben foglalják el annak helyét, (16, 19, 20).

Részleges májkiirtás után regenerálódó patkánymájban bizonyos májsejtek nem tartalmaznak glikogént s ezek citoplazmájában a SER-t csupán egy-egy sima felszínű vezikula jelzi. Az első összefüggő SER hálózatok keletkezése időbelileg és topográfiailag egybeesik a glikogén megjelenésével, s az endoplazmás retikulum (ER) membránok felszaporodása és differenciálódása továbbra is a glikogénnel szoros kontaktusban történik (1, 35) (4. ábra).

A glikogén és a SER morfológiai kapcsolata a májsejtekben tény, ennek funkcionális jelentősége azonban nem tisztázott és így többféleképpen interpretálható. Feltételezték, hogy a SER szerepet játszik a glikogén szintézisében vagy lebontásában (29). Ez ellen szól azonban, hogy a SER-ben nem mutatható ki glikogén szintetáz (21) és a foszforiláz is magához a glikogénmolekulához kapcsolódik. (20, 36).

Ismert, hogy a glukóz-6-foszfatáz szerepet játszik a glukóz vérbe juttatásában. Ezt az emzimet a máj ER-a tartalmazza (8, 9). BIAVA (3) számos emberi szövet közül egyedül a májban észlelte a glikogén és a SER topográfiai kapcsolatát, s ebből arra következtetett, hogy e kapcsolat a glukóz vérbe történő kiválasztásának morfológiai tükröződése.

MTA Biol. Oszt. Közl. 18, (1975)



1. ábra. Majom szívizomsejtje. A szarkolemma alatt és a miofibrillumok közt jól látszanak az egyedi glikogénrészecskék (monopartikuláris glikogén). – 45 $000\,\times$ 



2. ábra. Glikogén rozetták fehérpatkány májsejtjében. A rozetták többségében jól kivehetők az egyedi glikogén részecskék. A glikogén rozetták a SER membránjai közt helyezkednek el. – $25~000\,\times$ 



3. ábra. A SER erős felszaporodása fehér patkány májsejtjében. A kompakt SER hálózat területén a glikogén eltünt. – 20 000 ×



4/a



4/c

4. ábra. Fehér patkány májsejtjei parciális hepatectomia után 48 órával (a, b), és 72 órával(c). -a) A májsejt citoplazmája sem összefüggő SER-t, sem glikogént nem tartalmaz, csak 1–1 elszórt SER vezikula látható. ( $\rightarrow$ ) – 28 600 × b) Az első kis összefüggő SER hálózatok a glikogénnel azonos területen jelennek meg. – 56 000 × c) A glikogén és a SER felszaporodása a citoplazma azonos részleteiben és egymással szoros kontaktusban történik. ( $\rightarrow$ ) – 99 00×



5 ábra. Fehér patkány májsejtje parciális hepatectomia után 3 órával. A citoplazmarészletben autofág vakuolumok láthatók, melyek membránokat és glikogént tartalmaznak. – $30~000\,\times$ 

#### AZ INTRACELLULÁRIS GLIKOGÉN ELEKTRONMIKROSZKÓPOS SZERKEZETE

417

A glikogén és a SER morfológiai kapcsolatának más magyarázata is lehet. Regenerálodó máj sejtjeiben az új ER membránok keletkezése a glikogén megjelenését követi, s a glikogénnel mindvégig szoros topográfiai kapcsolatban áll; feltehető, hogy a glikogén energiaforrásul szolgál az új ER membránok szintéziséhez (1, 35). Lehet, hogy az ép máj sejtjeiben raktározott glikogén is energiaforrásként használódik fel olyankor, amikor a májsejt működése nagymennyiségű SER membrán szintézisét igényli (16.)

Újabb vizsgálatok szerint a glikogén és a SER topográfiai kapcsolata nem korlátozódik a májra, hanem harántcsikolt izomban, endomentrium sejtjeiben (36), neutrofil ganulocitákban (11) is megfigyelhető. A hasonló morfológiai kapcsolat az eltérő működésű szervekben és szövetekben nem feltétlenül jelent azonos funkcionális összefüggést. Májban például tükrözheti a vázolt lehetőségek közül az egyiket. Izomban viszont kapcsolatban állhat a foszforiláz-kináz stimulációval, miután az ehhez szükséges kálcium a szarkoplazmás retikulumból\* jut a szarkoplazma alapanyagába, ill. a miofibrillumokhoz (24).

## A glikogén kapcsolata a lizoszómákkal.

A lizoszómák lipoprotein-membránnal határolt citoplazma organellumok, amelyek számos, savanyú pH mellett működő hidrolitikus enzimet tartalmaznak. A lizoszóma-enzimek a sejtbe kívülről bejutó különböző anyagokat és a sejt valamennyi saját anyagát képesek lebontani (7, 12).

A sejt saját anyagainak lebontásakor körülírt citoplazma részek membránnal határolódnak el környezetüktől, majd az így kialakult autofág vakuolumokban a hidrolitikus enzímek hatására megemésztődnek (7, 12, 13, 26, 27, 28). A savanyú hidrolázokat tartalmazó autofág vakuolumok tehát olyan lizoszómák, amelyekben a sejt endogén anyagainak lebontása folyik. Az autofágia a sejtalkotórészek fiziológiás körforgalmának részjelensége, ezért normális sejtben is rendszeresen végbemegy és észlelehető (4, 26, 27, 28). E működés révén a sejt lebonthatja izolált részeit anélkül, hogy azok molekuláris építőköveit elvesztené (28).

Autofág vakuolumok képződésekor egyéb citoplazma alkotórészekkel együtt glikogén is bejut az atutofág vakuolumok üregébe (5. ábra) s azokban a savanyú alfa-glukozidáz hatására lebomlik (12, 13). Ez a lizoszóma enzim a glikogén molekula összes kötéstípusait képes hidrolitikusan hasítani (15). A glikogén szegregációjának mértéke függ az autofágia mértékétől és a citoplazma glikogéntartalmától (26). Egyesek szerint a glikogén lizoszomális lebontását ugyanazok a tényezők befolyásolják, mint a glikogénlebontás foszforolitikus fő útvonalát (18). Kísérleti állatok májában az autofágia foko-

<sup>\*</sup> Az endoplazmás retikulumnak megfelelő organellum az izomszövetben.

#### BARTÓK ISTVÁN

zódásakor, így pl. parciális hepatectómia után (2), D-galaktozamin kezeléskor (33), újszülött patkányok glukagon kezelésekor (18) a glikogén szegregációja erősen megnövekszik s a glikogén lizoszomális lebontása fokozódik (18, 33).

A lizoszomális savanyú alfa-glukozidáz veleszületett elégtelenségének következménye a II. típusú glikogénraktárbetegség. Az enzimdefektus következtében hatalmas mennyiségű glikogén halmozódik fel a működési zavar helyén, azaz autofágvakuolumokba zárva, főként a glikogénben gazdag májban és izomban (12, 13, 14, 23, 37). A glikogénlebontás foszforolitikus útvonala ugyanekkor zavartalan (12, 13).

A glikogén lizoszomális lebontására vonatkozó biokémiai és morfológiai adatok ép és kóros körülmények közt egyaránt összhangban vannak, kölcsönösen kiegészítik és alátámasztják egymást. Éppen ezért ezek az eredmények — sok más mellett — biztató példái a morfológiai és a biokémiai kutatás sikeres együttműködésének, még ha a két kutatási módszer hasonló találkozása a glikogén anyagcsere más területein várat is magára.

#### IRODALOM

- 1. BARTÓK, I., VIRÁGH, Sz.: Z. Zellforsch. 68, 741-754 (1965).
- BARTÓK, I., TOTOVIĆ, V., GEDIGK, P.: Virchows Arch. Path. Anat. 343, 1-19 (1967).
  BIAVA, C.: Lab. Invest. 12, 1179-1197 (1963).

- BRUNI, C., PORTER, K. R.: Armer J. Pathol. 46, 691-755 (1965).
  CHILDRESS, C. C., SACTOR, B., GROSSMAN, W., BUEDING, E.: J. Cell. Biol. 45, 83-90 (1970).
- 6. DROCHMANS, P.: J. Ultrastruct. Res. 6, 141-152 (1962).
- DINOUMARY, T. J. URBERHART, RES. 6, 141-152 (1902).
  DE DUVE, CH.: The Lysosome Concept. In Ciba Foundation Symposium. Lysosones. Ed. A. V. S. de Reuck, M. P. Cameron. J. A. Churchill, London (1963).
  ERNSTER, L., SIEKEVITZ, P., PALADE, G. E.: J. Cell Biol. 15, 541-562 (1962).
  ERNSTER, L., ORRENIUS, S.: Drug Metabolison and Disposition 1, 66-73 (1973).
  FAWCETT, D. W.: An Atlas of Fine Structure. The Cell, Its Organelles and Inclusions.
- Sauders, Philadelphia (1966).
- 11. GARANCIS, J. C., PANARES, B. S., GOOD, T. A., KUZMA, J. F.: Lab. Invest. 22, 468-477 (1970).
- HERS, H. G.: Gastroeneterology 48, 625-633 (1965).
  HERS, H. G., VAN HOFF, F.: The Genetic Pathology of Lysosomes. In Progress in Liver Diseases, vol. III. Ed. H. Popper, F. Schaffner, Grune and Stratton (1970).
- 14. HUG, G., SCHUBERT, K.: Arch. Pathol. 84, 141-152 (1967).
- 15. JEFFREY, P. L., BROWN, D. H., BROWN, B. I.: Biochemistry 9, 1416 (1970).
- 16. JONES, A. L., FAWCETT, D. W.: J. Histochem. Cytochem. 14, 215-232 (1966).
- 17. KARRER, H. E., Cox, J.: J. Ultrastruct. Res. 4, 191-212 (1960).
- KOTOULAS, O. B., PHILLIPS, M. J.: Amer. J. Pathol. 63, 1-22 (1971).
  KUGLER, J. H.: J. Roy. Microscop. Soc. 86, 285-296 (1967).
- 20. LINDBERG, L. A.: Histochemie 33, 107-120 (1973).
- 21. LUCK, D. J. L.: Biophys. Biochem. Cytol. 10, 195-210 (1961).
- 22. MA, H. H., BIEMPICA, L.: Amer. J. Pathol. 62, 353-372 (1971).
- MAR, H. H., DIEMPICA, D.: AIREL J. Flathol. **62**, 935-912 (1911).
  MCADAMS, A. J., WILSON, N. E.: Amer. J. Pathol. **40**, 99-111 (1966).
  MAR, W. G. P., TOMÉ, F. M. S.: Atals of the Ultrastructure of Diseased Human Muscle. Churchill, Livingstone, London (1972).
  MÜLLER, O., JERUSALEM, C., MAYERSBACH, VON, E.: Z. Zellforsch. **69**, 438-451 (1966).
- 26. PFEIFFER, U.: Virchows Arch. Abt. B. Zellpath. 10, 108—117 (1972).
  27. PFEIFFER, U.: Vivhows Arch. Abt. B. Zellpath. 10, 1—3 (1972).
- 28. PFEIFFER, U.: Acta morphol. hung. 20, 247-267 (1972).
- 29. PORTER, K., BRUNI, C.: Cancer Res. 19, 997-1009 (1959).

MTA Biol. Oszt. Közl. 18, (1975)

- 30. REMMER, H., MERKER, J. J.: Klin. Wschr. 41, 267-283 (1963).
- 31. REVEL, J. P., NAPOLITANO, L., FAWCETT, D. W.: J. Biophys. Biochem. Cytol. 8, 575-589 (1960).
- 32. ROSA, F., JOHNSON, F. B.: J. Histochem. Cytochem. 19, 14-20 (1967).
- 33. SCHARENBECK, H., SCHAFFNER, F., KEPPLER, D., DECKER, K.: Exper. Molecul. Pathol.
- 33-36 (1972).
  Seligman, A. M., Hanker, J. S., Wasserkrug, H., Dmochowski, H., Katzoff, L.: J. Histochem. Cytochem. 13, 629-642 (1965).
- 35. VIRÁGH, Sz., BARTÓK, I.: Amer. J. Pathol. 49, 825-839 (1966).
- 36. WANSON, J. C., DROCHMANS, P.: J. Cell Biol. 38, 130-150 (1968).
- 37. ZELLWEGER, H., BROWN, B. I., MCCHROMIC, W. F., TU, J. B.: Acta paediat. 205, 413-437 (1965).