

MILAN ČABRIĆ

Filozofski fakultet, OUR Prirodoslovno-matematičke znanosti u Splitu

NIGEL T. JAMES

Department of Anatomy and Cell Biology, University of Sheffield, England

Izvorni znanstveni članak

UDK 591.86

Primljeno 16. 11. 1983.

ADAPTIVNE PROMENE NA MITOHONDRIJALNOM APARATU SKELETNIH MIŠIĆA U TOKU TROMESEČNE KOMPENZATORNE HIPERTROFIJE

/ skeletni mišić / mitohondrija / sterološka analiza / eksperiment na životinjama /

Primenjeno eksperimentalno opterećenje, koje je bilo kirurški potstaknuto, iniciralo je povećanje površinske frakcije («površinske gustine») mitohondrija u oba tipa mišićnih vlakana (tip I i tip II vlakana). Međutim, dobijene razlike između kontroliranih i eksperimentalnih životinja bile su statistički značajne samo kod centralnih zona mišićnih vlakana tipa I.

1. UVOD

Mitohondrijalni aparat je, s obzirom na njegovu ulogu u staničnoj energetici, odavno predmet interesovanja brojnih istraživača. Stoga je sasvim razumljivo da su ove «tvornice» ATF-a bile među prvim staničnim substrukturama kojima su se pozabavili i autori koje je zanimala funkcionalna morfologija fizičkog napora. Krajem pedesetih i početkom šezdesetih godina objavljen je niz značajnih radova u ovoj oblasti. Spomenimo samo neka istraživanja kao što su Hearn i Wainio (10), Holl-oszy (13), Gollnick i King (7) i dr. Ovaj interes za izučavanjem mitohondrija ne jenjava ni danas. U poslednjih petnaestak godina objavljen je veliki broj istraživanja mitohondrijalnog aparata kako skeletnih tako i srčanog mišića u toku različitih tipova opterećenja. Tako su se Meerson (27, 28, 29), Bylund et al. (3), Hoppe-ler et al. (14), Howald (15), Kiessling et al. (18), Trendafilov i Tanushev (38) bavili promenama u ovom aparatu za vreme opterećenja tipa izdržljivosti, Yakovlev (41) u toku anaerobnog napora, MacDougall et al. (25) za vreme opterećenja tipa snage, Heilig i Pette (11), Salmons i Henriksson (36) u toku elektrostimulacije, Krieger et al. (23) i Max (26) u toku hipokinezije i dr.

U ovom ispitivanju, koje predstavlja neku vrstu kontinuiteta gore navedenih istraživanja, pokušali smo uz pomoć kvantitativnih morfoloških metoda da odredimo nivo adaptivnih promena na mitohondrijalnom aparatu za vreme tzv. kompenzatorne hipertrofije skeletnih mišića. Pri tome smo pošli od modela koji su predložili James i Meek (17), tj. pokušali smo da utvrdimo distribuciju mitohondrija u pojedinim segmentima (zonama) mišićnog vlakna.

2. METODIKA ISPITIVANJA

2.1 Eksperimentalne životinje

Ispitivani uzorak, koji je bio sastavljen od 12 laboratorijskih miševa težine oko 30g, muškog spola, odabran je po principu slučajnog uzorka.

2.2 Eksperimentalni postupak

Dvanaest laboratorijskih miševa nasumice je podeljeno u kontrolnu i eksperimentalnu grupu. Svaka od ovih grupa brojala je po šest životinja. Eksperimentalne životinje su, pod sterilnim uvjetima i anestezizirane eterom, podvrgnute operaciji. Napravljen je longitudinalni rez, približno iznad m. tibialis anterior. Tetiva m. tibialis anterior-a bila je presečena približno 1 mm iznad margine extensor retinaculuma. Istovremeno su presečeni nervi i arterijski krvni sudovi. Duboka, proksimalna vaza mišića bila je presečena i mišić odstranjen. Posebno je, pri tome, vođeno računa da se ne povredi m. extensor digitorum longus. Rana je nakon operacije zašivena i prekrivena Nebecutanom.

Prvih sedam dana postoperativnog perioda eksperimentalne životinje su držane u malim, individualnim boksovima, a zatim prebačene u zajednički boks dimenzija 45x60 cm. Temperatura u prostoriji, u kojoj su se nalazili boksovi, iznosila je 20-22°C, a osvetljenje je bilo dnevno. Hrana, sastavljena od granulisanog koncentrata, kao i voda, bile su na raspolaganju životinjama ad libitum.

Eksperimentalne (kao i kontrolne) životinje su 90 dana nakon izvršene operacije dekapitirane.

2.3 Biopsija i priprema tkiva

Neposredno pre dekapitacije, a uz pomoć potpune anestezije eterom, životinjama je izvađen longitudinal-

nom incizijom komadić mišićnog tkiva (približne težine od 30 mg) iz središnjeg dela m. extensor digitorum longusa.

Tkivo je odmah nakon biopsije fiksirano, u toku tri sata, u 3% gluteraldehidu ($C_5H_8O_2$) rastvorenom u 0,1 M fosfatnom buferu pri pH 7,4. Nakon toga tkivo je post-fiksirano u 2% vodenom rastvoru osmium tetroksida (OsO_4) u toku jednog sata i pri temperaturi od 4°C, dehidrirano u alkoholu (od 25-100%) i ukalupljeno u Araldit.

Za potrebe elektronske mikroskopije sečene su ultratanke kriščiće mišićnog tkiva, približne veličine od 250 Å, koje su, zatim, kontrastovane u toku 15 minuta sa 3% uranil acetatom, a nakon toga 3 minuta u olovo citratu (Palade, 32).

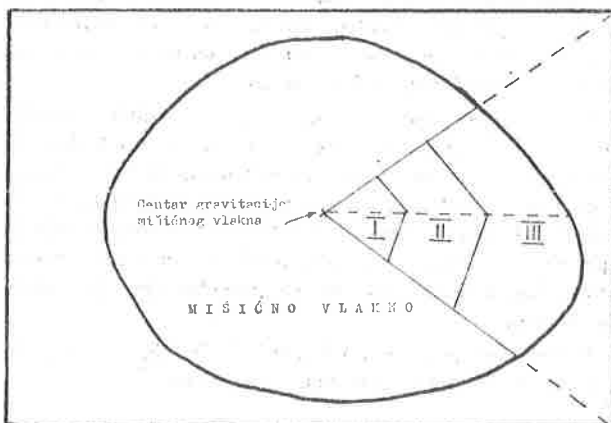
2. 4 Stereološka tehnika

Za određivanje površinske frakcije (areal fraction) mitohondrija $[(A_A)_{Ma}]$ korišćena je formula koju je predložio Underwood (39):

$$(A_A)_{Ma} = (P_T) / (P_T)$$

pričemu (P_T) predstavlja ukupan broj test tačaka stereološke matrice na poprečnom preseku mišićnog tkiva, a (P_T) broj poentiranih tačaka stereološke rešetke na mitohondrijama.

Prethodno je napravljeno, za svaki tip mišićnog vlakna, po 50 mikrografija poprečnog (kosog) preseka mišićnog tkiva pri finalnom uvećanju od 22500 puta. S obzirom da se radilo na mikrografijama velikih dimenzija bilo je potrebno izvršiti montažu, tj. od 2-6 mikrografija montirati potrebni segment mišićnog vlakna. Nakon montaže izvršeno je, uz pomoć »MOP Amo 3« analizatora, određivanje centra gravitacije svakog mišićnog vlakna. Od centra gravitacije povučene su, pod približno istim kutom, dve linije do sarkoleme. Dobljeni segmenti su podeljeni u tri zone, prema metodici koju su predložili James i Meek (17). Vrednost $(A_A)_{Ma}$ određivana je za svaku od tri zona ponaosob, kao i za sve tri zone zajedno. Raspored zona je prikazan na slici 1.



Slika 1. Shematski prikaz rasporeda pojedinih zona na kosom preseku mišićnog vlakna

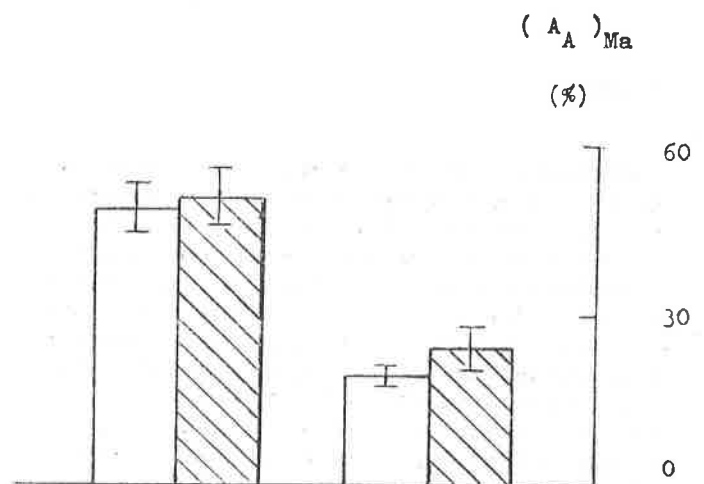
U svim slučajevima kada su korišćene stereološke matrice određena je i relativna standardna greška (R. S. E.) prema formuli koju je postavio Hally, loc. cit. Aherne i Dunnill (1):

$$(R. S. E.) = \sqrt{\frac{1 - (V_V)}{n}} = 0,05,$$

gde (V_V) predstavlja prvobitno određenu vrednost na malom pilot istraživanju, a vrednost n broj preseka na stereološkoj matrici. Pri tome je uzeto kao zadovoljavajuće da relativna standardna greška iznosi 5% ili manje.

3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

Kao što se može zapaziti na Tabeli 1 i 2, odnosno Slici 2, »površinska gustina« mitohondrija iznosila je kod kontrolnih miševa u mišićnim vlaknima tipa I u zoni 1: $12,58 \pm 2,22$, u zoni 2: $20,73 \pm 1,99$, u zoni 3: $30,33 \pm 3,30$ i ukupno u sve tri zone: $25,28 \pm 2,36$, dok je kod operisanih životinja bila u zoni 1: $20,61 \pm 2,54$, zoni 2: $18,90 \pm 2,32$, u zoni 3: $32,21 \pm 3,72$ i u sve tri zone $26,50 \pm 2,69\%$.



Slika 2. Grafički prikaz površinske frakcije mitohondrija u sve tri zone mišićnih vlakana tipa I i tipa II kod kontroliranih i eksperimentalnih životinja (išrafinana polja).

Razlika između kontrolnih i operisanih (eksperimentalnih) životinja iznosila je u zoni 1: 63,9% povećanja ($P < 0,05$), u zoni 2: 9,6%, zoni 3: 6,3% i u sve tri zone 0,4% (navedene razlike nisu statistički značajne).

»Površinska gustina« mitohondrija iznosila je u pojedinim zonama mišićnih vlakana tipa II kod kontrolnih miševa: zona 1: $4,16 \pm 1,17$, zona 2: $2,35 \pm 0,79$, zona 3: $7,03 \pm 1,27$ i u sve tri zone: $5,16 \pm 0,89\%$, dok je kod operisanih životinja bila u zoni 1: $1,86 \pm 1,18$, zoni 2: $5,00 \pm 2,07$, zoni 3: $9,55 \pm 2,32$ i u sve tri zone: $7,14 \pm 1,92\%$. Dobljene razlike u zoni 1 iznose: 8,9%, zoni 2: 15%, zoni 3: 36,7% i u sve tri zone: 52,7% (sve dobijene razlike nisu statistički značajne).

4. DISKUSIJA

Ispitivanje »površinske gustine« mitohondrija u po jedinim zonama oba tipa mišićnih vlakana (tip I i II) izvršeno je na mišićnom materijalu, čija je hiperfunkcija kirurški potstaknuta. Dobijeni rezultati su uspoređeni sa vrednostima dobijenim kod kontrolnog uzorka.

Kod mišićnih vlakana tipa I dobijeno je značajno povećanje »površinske gustine« mitohondrija samo u zoni 1, tj. centralnom delu mišićnog vlakna. Kod vlakana tipa II registrovano je dosta veliko povećanje (od 8,9—150%) »površinske gustine« mitohondrija, međutim ono nije bilo statistički značajno. Ipak, može se zapaziti tendencija ka povećanju broja mitohondrija u ovom tipu mišićnih vlakana. Razlog tome je, verovatno, činjenica da je u slučaju kompenzatorne hipertrofije mišić protagonist u većoj mjeri opterećen statički, odnosno da su u većem stepenu angažovana mišićna vlakna tipa II. Sem toga je i vrsta opterećenja bila više anaerobno-aerobnog nego aerobnog tipa, što je, po našem mišljenju, i rezultiralo relativno manjim kvantitativnim promenama mitohondrijalnog aparata.

Veći broj mitohondrija raspoređen je u perifernim delovima mišićnog vlakna. Međutim, u toku mišićnog naprezanja registrovali smo izrazitu tendenciju migracije mitohondrija prema centralnim regijama mišića, što su potvrdila i istraživanja James i Meeka (17). Ovu sposobnost mitohondrija da migriraju iz jednog u drugi deo mišićnog vlakna odavno je primetio Frank (5), koji je u toku jednog od svojih eksperimenata, snimajući seriju fotografija u relativnom kratkom razdoblju, veoma lepo zabeležio ovaj fenomen.

Još je Haldane (9) izrekao misao da se adaptacija može manifestovati ne samo na fonu promena funkcionisanja pojedinih sistema organizma, već i putem adaptacije tkiva na nedostatak kisika. Ova pretpostvka je potvrđena višegodišnjim ispitivanjima Barbašove loc. cit. (22), Meersona (27, 28, 29) i mnogih drugih. Danas je u potpunosti dokazano da se jedan od glavnih faktora, koji obezbeđuju stanični nivo adaptacije, tj. normalnu resintezu ATF-a u toku fizičkog naprezanja, ostvaruje povećanjem sposobnosti mitohondrijalnog aparata. Ovo se, uglavnom, postiže aktivacijom sinteze nukleinskih kiselina i proteina mitohondrija, čime se, zahvaljujući procesima replikacije, povećava kako broj tako i masa mitohondrija.

U jednom eksperimentu, koji su sproveli Kiessling et al. (18), dobijeno je kod dobro treniranih ljudi povećanje broja mitohondrija, u odnosu na netrenirane, od 20—25%. Međutim, isti autori nisu uspjeli da zabeleže povećanje broja mitohondrija kod starijih ljudi nakon tromesečnog treninga. U ovom, kao i u drugim istraživanjima Kiessling et al. (19, 20) nisu uzimali u obzir razlike koje postoje unutar pojedinih tipova mišićnih vlakana, tj. nisu razgraničavali dobijena povećanja broja mitohondrija u odnosu na tip vlakana. Howald (15) je, ispitujući gustinu mitohondrija kod treniranih i netreniranih subjekata, zabeležio kod ovih prvih, u odnosu na druge, povećanje gustine perifernih mitohondrija za 3,2 puta (gustina mitohondrija je bila za oko 1,4 puta veća kod muškaraca u odnosu na žene), od-

nosno povećanje gustine centralnih mitohondrija za oko 50%. U istom istraživanju nije registrovano povećanje dimenzija mitohondrija između trenirane i netrenirane grupe, kao ni između muškaraca i žena. Gollnick i King (7) su kod pacova, koji su opterećivani trčanjem na pokretnoj traci ili plivanjem, zabeležili povećanje, u odnosu na kontrolnu grupu životinja, broja mitohondrija na 100 sarkomera od, u proseku, 34,7. Navedeni autori, međutim, smatraju da opterećenje tipa izdržljivosti pogoduje i povećanju volumena mitohondrija. S ovim se slažu Holloszy et al. (12), kao i Holloszy (13).

Veliki broj istraživača, spomenimo samo neke: Morgan et al. (31), Rasch (34), Peter (33), Barnard et al. (2), Lange (24), Gori et al. (8), Hoppeler et al. (14), Gollnick et al. (6) i mnogi drugi, detektovali su povećanje broja mitohondrija u toku povećanja fizičke aktivnosti skeletne muskulature. U svim navedenim istraživanjima eksperimentalno opterećenje je bilo pretežno tipa izdržljivosti.

Ingjer (16) je ustanovio tesnu korelaciju između gustine kapilara i koncentracije mitohondrija u mišićnom tkivu, Sjöström et al. (37) između gustine mitohondrija i mitohondrijalnih enzima, dok su Wenger et al. (40), uz pomoć biokemijskih metoda, registrovali u treniranim mišićima povećanje sinteze mitohondrijalnih proteina.

Niz autora je kao posledicu intenzivne fizičke aktivnosti registrovao pojavu nabuhavanja mitohondrija, odnosno prosvjetljavanja njihovog matriksa (Rouiller — 35, Mitjušin et al. — 30, Kondalenko et al. — 21). Mi smo ovu pojavu (Čabrić i James — 4), kao i destruktivnu mitohondrijalnih kristi, zapazili kod mitohondrija životinja koje su nakon duže hipokinezije bile podvrgnute jednokratnom opterećenju »do otkaza«. Stoga smo spremni da verujemo da se tu radi više o destruktivnim nego adaptivnim promenama.

Relativno malo povećanje površinske frakcije mitohondrija, koju smo dobili u ovom radu, verovatno se može objasniti činjenicom da su eksperimentalne životinje bile podvrgnute aerobno-anaerobnom naporu smanjenog obima, kao i činjenicom da je istraživanje vršeno na dosta malom uzorku.

5. ZAKLJUČAK

Istraživanje je izvršeno na 12 laboratorijskih miševa, težine oko 30 g, muškog spola, koji su nasumce bili podijeljeni na kontrolnu i eksperimentalnu grupu.

Miševi eksperimentalne grupe operirani su tako da je učinjen longitudinalni rez približno iznad m. tibialis anterior, te je mišić, nakon presijecanja tetiva, živaca i arterijskih krvnih sudova, izvađen. Posebno se vodilo računa da se ne povrijedi m. extensor digitorum longus.

Nakon postoperativnog perioda svi su miševi bili smješteni u zajedničkom boksu, pod istim uvjetima ishrane, osvjetljenja, temperature i aktivnosti. Nakon 90 dana biopsijom je uzet komadić mišićnog tkiva iz središnjeg dijela m. extensor longusa. Tkivo je fiksirano, post-fiksirano, sečeno u krišćice i kontrastirano procedurom prema Palade, 1952.

Za svaki tip mišićnog vlakna (tip I i tip II) napravljeno je po 50 mikrografija poprečnog presjeka mišićnog tkiva (pri povećanju od 22500 puta). Određen je centar gravitacije svakog mišićnog vlakna i na temelju spoja tog centra i sarkoleme određeni segmenti, koji su prema metodici Jamesa i Meeka, 1979, podijeljeni u tri zone.

Dobijeno je povećanje »površinske gustine« mitohondrija u oba tipa mišićnih vlakana. Međutim, dobijene razlike između eksperimentalne i kontrolne grupe bile su značajne samo kod centralnih zona mišićnih vlakana tipa I.

Tabela 1

»Površinska gustina« mitohondrija kod kontrolnih i eksperimentalnih životinja u pojedinim zonama mišićnih vlakana tipa I

No	Mišićna vlakna tipa I							
	Kontrolne životinje				Eksperimentalne životinje			
	$(A_A)_{Ma}$ (%)				$(A_A)_{Ma}$ (%)			
	Zona 1	Zona 2	Zona 3	Σ zona	Zona 1	Zona 2	Zona 3	Σ zona
1	12,06	15,78	26,05	21,26	11,62	15,65	17,20	15,98
2	12,50	28,03	36,84	31,61	25,00	13,04	29,26	23,61
3	15,00	18,60	31,01	25,19	27,27	29,41	36,20	33,00
4	11,53	16,86	18,07	16,94	15,15	17,20	30,00	24,12
5	20,58	19,78	41,02	31,67	25,00	17,64	44,18	33,12
6	3,84	25,33	29,00	25,00	19,64	20,47	36,44	29,16
\bar{X}	12,58	20,73	30,33	25,28	20,61	18,90	32,21	26,50
$S\bar{x}$	2,22	1,99	3,30	2,36	2,54	2,32	3,72	2,69

Tabela 2

»Površinska gustina« mitohondrija kod kontrolnih i eksperimentalnih životinja u pojedinim zonama mišićnih vlakana tipa II

No	Mišićna vlakna tipa II							
	Kontrolne životinje				Eksperimentalne životinje			
	$(A_A)_{Ma}$ (%)				$(A_A)_{Ma}$ (%)			
	Zona 1	Zona 2	Zona 3	Σ zona	Zona 1	Zona 2	Zona 3	Σ zona
1	4,16	2,70	4,00	3,58	0,00	0,00	2,63	1,51
2	11,11	0,00	11,32	7,52	0,00	14,28	17,46	14,51
3	3,44	3,65	7,23	5,70	0,00	4,16	4,13	3,72
4	0,00	0,00	5,35	2,95	0,00	3,77	7,92	5,66
5	0,00	3,00	4,16	3,33	5,26	1,66	12,24	7,90
6	6,25	4,76	10,10	7,86	5,88	5,94	12,94	9,83
\bar{X}	4,16	2,35	7,03	5,16	1,86	5,00	9,55	7,14
$S\bar{x}$	1,71	0,79	1,27	0,89	1,18	2,07	2,32	1,92

6. LITERATURA

- Aherne, W. A. i Dunnill, M. S. (1982): Morphometry. Edward Arnold Publ., London.
- Barnard, R. J., Edgerton, V. R., Furukawa, T. i Peter, J. B. (1970) Histochemical, biochemical and contractile properties of red, white and intermediate fibers. Amer. J. Physiol., 220: 410-418.
- Bylund, A. C., Bjurö, T., Cederbald, G., Holm, J., Lundholm, K., Sjöström, M., Angquist, K. A. i Schersten, T. (1977) Physical training in man. Skeletal muscle metabolism in relation to muscle morphology and running ability. Eur. J. Appl. Physiol., 36:151-169.
- Čabrić, M. i James, N. T. (1983): Promena na mitohondrijalnom aparatu skeletnih mišića nakon jednokratnog trčanja »do otkaza«, a posle dugotrajne hipokinezije. Kineziologija.
- Frank, G. U. (1982) Biofizika živog kletki. Izabrane trudi. Nauka, Moskva.
- Gollnick, P. D., Armstrong, R. B., Saltin, B., Saubert IV, C. W., Sembrowich, W. L. i Shepherd, R. E. (1973) Effect of training on enzyme activity and fiber composition of human skeletal muscle. J. Appl. Physiol., 34: 107-111.
- Gollnick, P. D. i King, D. W. (1969) Effect of exercise and training on mitochondria of rat skeletal muscle. Amer. J. Physiol., 216: 1502-1509.
- Gori, Z., Pellegrino, C. i Pollera, M. (1969): The hypertrophy of levator ani muscle of rat by testosterone: an EM study. Exp. molec. Path., 10: 199-218.
- Haldane, J. (1927): Acclimatization to high altitudes. Physiol. Rev., 7, 363.
- Hearn, G. R. i Wainio, W. W. (1956): Succinic dehydrogenase activity of heart and skeletal muscle of exercised rats. Amer. J. Physiol., 185: 348-350.
- Heilig, A. i Pette, D. (1980): Changes induced in the enzyme activity pattern by electrical stimulation of fast-twitch muscle. U: Pette, D. (ed.) Plasticity of Muscle. Berlin-New York, Walter de Gruyter, 409-420.
- Holloszy, J. O., Hooth, F. W. i Winer, W. (1975) Biochemical Adaption of skeletal Muscle to Prolonged Physical Exercise. U: Metabolic adaptation to prolonged physical exercise. Hovald, H. i Pootmans, J. R. (eds) Birkhäuser Verlag, Basel.
- Holloszy, J. O. (1967): Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory activity in skeletal muscle. J. Biol. Chem., 242: 2278-2282.
- Hoppeler, H., Lüthi, P., Claassen, H., Weibel, E. R i Howald, H. (1973): The ultrastructure of the normal human skeletal muscle. A morphometric analysis on untrained men, women and welltrained orienteers. Pflügers Arch., 344: 217-232.
- Howald, H. (1975): Ultrastructural Adaptation of Skeletal Muscle to Prolonged Physical Exercise. U: Metabolic adaptation to prolonged physical exercise. Howald, H. i Pootmans, J. R. (eds). Birkhäuser Verlag, Basel.
- Ingjer, F. (1979): Effects of endurance training of muscle fiber ATPase activity, capillary supply and mitochondrial content in man. J. Physiol., 294: 419-432.
- James, N. T. i Meek, G. A. (1979): Stereological analyses of the structure of mitochondria in pigeon skeletal muscle. Cell Tiss. Res., 202: 493-503.
- Kiessling, K.-H., Pilström, L. i Bylund, A.-Ch. (1975) Morphometry and Enzyme Activities in Skeletal Muscle from Middle-Aged Men After Training and From Alcoholics. M: Metabolic adaptation to prolonged physical exercise. Birkhäuser Ver., Basel.
- Kiessling, K.-H., Piehl, K. i Lindquist, C. G. (1971) The effect of physical training on ultrastructural features in human skeletal muscle. U: Metabolism

- During Exercise. Parnow, L. i Saltin, B (eds) Plenum Press, New York.
20. Kiessling, K.—H., Pilström, L., Karlsson, J. i Piehl K. (1973): Mitochondrial volume in skeletal muscle from young and old physical untrained and trained healthy men and from alcoholics. *Clin. Sci.*, 44: 547—554.
 21. Kondalenko, V. F., Sergeev, J. P. i Hristoforov, V.S. (1979): Uljtrastruktura miokarda i skeletnoj mišci kris pri povtornih fizičeskijh nagruskah, primenenih v različnih fazah poslerabočego perioda. U: Molekuljarnie i subkletečnie mehanizmi adaptacii k sportivnoj dejatel'nosti. VNIIFK, Moskva.
 22. Kovalenko, E. A. i Gurovskij, N. N. (1980): Gipo-kinezija. »Medicina«, Moskva.
 23. Krieger, D. A., Tate, Ch. A., McMillin-Wood, J. i Booth, F. W. (1980): Populations of rat skeletal muscle mitochondria after exercise and immobilization. *J. Appl. Phösiol.*, 48: 23—28.
 24. Lange, A. K. (1971): Physiologische Aspekte der Anpassung an körperliches Training. *Z. Phys. Med.*, 2: 342—355.
 25. MacDougall, J. D., Sale, D. G., Elder, G.C.B. i Sutton, J. R. (1982): Muscle ultrastructural characteristics of elite powerlifters and bodybuilders. *Eur. J. Appl. Occup. Physiol.*, 48: 117—126.
 26. Max, S. R. (1972): Disuse atrophy of skeletal muscle: loss of functional activity of mitochondria. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 46: 1394—1398.
 27. Meerson, F.Z. (1968): Giperfunkcija, gipertrofija, nedostatočnost serca. »Medicina«, Moskva.
 28. Meerson, F.Z. (1973) Obščij mehanizm adaptacii i profilaktiki. »Medicina«, Moskva.
 29. Meerson, F. Z. (1967): Plastičeskoe obespečenie funkcij organizma. »Nauka«, Moskva.
 30. Mitjušin, V. M. (1968): Rolj jadernoj membrani vo bnutrikletečnom transporte veščestv. *Biofizika*, 2: 373—378.
 31. Morgan, T. E., Cobb, L. A., Short, F. A. Ross, R. i Gunn, D. R. (1971): Effects of long term exercise on human muscle mitochondria. U: *Muscle Metabolism During Exercise.* Plenum Press, London, 87—95.
 32. Palade, G. E. (1952): A study of fixation for electron microscopy. *J. Exp. Med.*, 95, 285.
 33. Peter, J. B. (1971): Histochemical, Biochemical, and Physiological Studies of Skeletal Muscle and its Adaptation to Exercise. U: *Contractility of Muscle Cells and Related Processes.* Podolsky, R. J. (ed), Prentice-Hall, New Jersey.
 34. Rasch, P. J. (1969) Some aspects of muscular movement: a review. *Amer. Correct. Ther. J.*, 23: 151—153.
 35. Rouiller, C. (1960): Physiological and pathological changes in mitochondrial morphology. *Int. Rev. Cytol.*, 9: 227—292.
 36. Salmons, S. i Henriksson, J. (1981): The adaptive response of skeletal muscle to increased use. *Muscle Nerve.*, 4: 94—105.
 37. Sjöström, M., Ångquist, K.—A., Bylund, A.—C, Fridén, J., Gustavsson, L. i Scherstén, T. (1982): Morphometric analyses of human muscle fiber types. *Muscle Nerve.*, 5: 538—553.
 38. Treandafilov, B. i Tanushev, M. (1981): Morphometrische Untersuchungen an Skelettmuskeln von Wettkämpfern im Rudern. *Med. Sport.*, 21: 264—268.
 39. Underwood, E. E. (1970): *Quantitative Stereology.* Addison-Wesley, Massachusetts.
 40. Wenger, H. A., Wilkinson, J. G., Dallaire, J., Nihei, T. (1981) Uptake of ³H-leucine into different fractions of rat skeletal muscle following acute endurance and sprint exercise. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.*, 47: 83—92.
 41. Yakovlev, N. N. (1977): *Sportbiochemie. Sportmedizinische Schriftenreihe.* Nr. 14., Leipzig, Joh Ambrosius Barth.

ČABRIĆ, M.; JAMES, N. T.:

THE ADAPTIVE CHANGES ON THE MITOCHONDRIAL APPARATUS OF THE SKELETAL MUSCLE DURING A THREE-MONTH COMPENSATORY HYPERTROPHY

mitochondria / skeletal muscle

The study was carried out on 12 lab mice, weighing about 30 grams, divided at random into the control and the experimental group.

The mice in the experimental group were operated on in such a way that a longitudinal section was made approximately above the m. tibialis anterior and the muscle was removed after cutting through the tendon, nerves and arteries. Care was taken not to damage the m. extensor digitorum longus.

Following the post-operative period, all the mice were put in a compartment together, under the same regime of nourishment, light, temperature and activity. After 90 days biopsy was performed and a piece of muscle tissue from the middle part of the m. extensor longus was taken. The tissue was fixed, post-fixed, cut into sections and contrasted according to Palade, 1952.

For each type of muscle tissue (type I and type II) 50 micrographs were made of the cross-section of the muscle tissue (enlarged 22500 times). The centre of gravitation of each muscle was determined and on the basis of connection of that centre and the sarcolemma, segments were determined and divided into three zones after the method of James and Meek, 1979.

An increase of the »surface density« of mitochondria was the result in both types of muscle fibers. However, the obtained differences between the experimental and the control group were significant only in the central zones of muscle fibers of type I.

Милан Чабрич, Нигел Т. Джеймс

АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НА МИТОХОНДРИАЛЬНОМ АПАРАТЕ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЕЦ В ТЕЧЕНИЕ ТРЕХМЕСЯЧНОЙ КОМПЕНСАТОРНОЙ ГИПЕРТРОФИИ

Исследование проведено на 12 лабораторных мышах мужского пола, вес которых был около 30 граммов и которые по случайному выбору были распределены в экспериментальную и контрольную группы.

На мышцах экспериментальной группы проведена операция, таким образом, что сделан продольный разрез сверх *m. tibialis anterior*, а потом, так как было перерезано сухожилие, нерв и артериальные сосуды, мышца была отстранена. Особое внимание было уделено тому, чтобы не повредить *m. extensor digitorum longus*.

После постоперативного периода все мышцы размещены в общее помещение с общими условиями питания, освещения, температуры и возможности движения. Через 90 дней сделана биопсия и взят кусочек мышечной ткани из центральной части *m. extensor longus*. Ткань была фиксирована, пост-фиксирована, разрезана на ломтики и контрастирована методом Палады, 1952.

Для каждого типа мышечных тканей (тип I и тип II) проведено 50 микрографий поперечного разреза ткани (при увеличении на 225000 раз). Определен центр гравитации каждого мышечного волокна и на основании соединения этого центра и сарколемы определены участки, которые (согласно методу Джеймса и Мейка, 1979) разделены на три зоны.

Получено повышение «поверхностной плотности» митохондрий в обоих типах мышечных волокон. Но полученные различия между экспериментальной и контрольной группой были достоверны лишь в центральных зонах мышечных волокон типа I.