

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. VIII, 8.

SECTIO C

27.XI.1953

Z Zakładu Histologii i Embriologii Akademii Medycznej w Lublinie
Kierownik: prof. kontr. doc. dr med. Stanisław Grzycki

Stanisław GRZYCKI

Badania doświadczalne nad udziałem systemów sferoidalnych strefy czynnościowej Golgiego, kwasów nukleinowych, fosfatazy kwaśnej i fosfatazy zasadowej w produkcji wydzieliny komórek gruczołowych

Экспериментальные исследования по участию сфероидальных систем функциональной зоны Гольджи, нуклеиновых кислот, кислой и щелочной фосфатаз в продукции секретов железистых клеток

Experimentale Untersuchungen über die Teilnahme der sphäroidalen Systeme der dynamischen Golgi felder, Nukleinsäuren, wie auch saurer und alkalischer Phosphatasen in den Drüsenzellensekretionsprozessen

Fizykochemiczne procesy odbywające się w komórce w obrębie pola Golgiego w okresie tworzenia się systemów sferoidalnych i powstawania wydzieliny były rozpatrywane przez Bungenberg de Jonga (1936), a następnie Kirkmana i Severinghausa (1938). Bungenberg de Jong wprowadza pojęcie koacerwacji i koacerwatów. Koacerwaty powstają przez skupianie się cząsteczek koloidalnych, tworzą budowę nierwałą, a przy tym zmieniają swój skład chemiczny skutkiem wchłaniania substancji z otoczenia. W koacerwatach więc odbywają się nieustannie reakcje syntezy i rozpadu. Systemy Golgiego miałyby być zatem koacerwatami syntetyzującymi i produkującymi, a to nie wskazuje jeszcze jakie substancje są zużywane przez system Golgiego i jakie substancje są potrzebne do wytworzenia wydzieliny komórkowej.

Kirkman i Severinghaus natomiast sądzą, że obserwowany w komórkach aparat Golgiego jest zgęszczoną błoną powstałą przez skupianie się kropelek albo ziarenek substancji rozsianych po całej cytoplazmie (np. lipoidy, śluz, pig-

ment, białko, olej, tłuszcze, żółć, hormony, materiały budulcowe itp.). Nie bierze on zatem udziału w syntezie, a tylko czynny jest w procesie przeróbki wydzieliny.

Badania Bourne'a (1933 — 1935), Tonuttiego (1937 — 1938), Koehringa (1930), Kedrowskyego (1931 — 1947) i innych nad zjawiskami adsorpcji czterotlenku osmu, srebra, złota, żelaza, kwasu askorbinowego itp., wskazują na bezpośredni udział aparatu Golgiego w procesach przemiany materii komórek. Hirsch (1939), Kedrowsky (1947), Dustin (1947) i Grzycki (1949 — 1951) uważają nawet układ Golgiego za strefę czynnościową komórki, w której odbywa się synteza i przeróbka produktu wydzieliny. Grzycki zaś dodaje, że umiejscowienie, wielkość i struktura strefy czynnościowej Golgiego mogą być miernikiem wartości wydzielniczej komórki, oraz wskaźnikiem dynamizmu przemian toczących się w obrębie strefy.

Wyszukanie odpowiednich metod, któreby pozwoliły przeprowadzić barwną analizę cytochemiczną nad polem Golgiego w komórce żywej albo utrwalonej nie jest zbyt łatwe i wymaga dalszych prób i ulepszeń. Pierwsze kroki w tym kierunku stawiane przez Golgiego, Weigla, Hirscha i innych, a następnie prace Ciaccio, Dietricha, Parata i Painlewego dotyczące umiejscowienia lipidów i lipoproteinowych struktur w strefie Golgiego zasługują na szczególną uwagę. Także prace Nasonowa, Tarao, Worleya i Gatenby wprowadzające przyżyciowo barwniki do wybarwienia systemu Golgiego, oraz mikroinjekcje Parata wykazujące kwaśny odczyn (około $\text{pH}=6$) strefy Golgiego i zwracające uwagę na możliwości procesów oksydacyjno-redukcyjnych odbywających się właśnie w polu Golgiego, są ważnym postępowaniem w dziedzinie badań czynnościowych.

Nie mniej cenne w badaniach żywych komórek okazały się barwne metody Ludforda, Lasfarguesa i Di Fine (1950), które umożliwiły prześledzenie czynności odbywających się w polu Golgiego, w różnych warunkach fizjologicznych. Postępując według tych metod mógł Grzycki (1951) zabarwiać w cytoplazmie dużych komórek nerwowych zwojów mózgowych u ślimaków *Helix* i *Limnaea* specjalną strefę przyjądrową, którą utożsamiał z polem Golgiego. Trójmetyl tionina bowiem w roztworze 0,001% i 0,0001% okazywała wybitne powinowactwo wyłącznie do pola Golgiego, jako też do wszystkich struktur cytoplazmatycznych bezpośrednio z nim związanych. Mogłoby to zatem być jednym z dowodów, że aparat i strefa Golgiego są układem dynamicznym. Cytochemicznym potwierdzeniem tego są również badania Süllmanna (1947), Dorfmana i Epstejna (1950), Jacoby i Martina (1949), Bodanskyego (1949), Rabinowitscha, Junqueira i Fajera (1949), Chèvremontai Firketa (1949), Gerebtzoffa, Ninane i Firketa (1949) nad występowaniem i umiejscowieniem w komórkach fosfatazy kwaśnej i zasadowej, a następnie prace Rossa i Ely (1949), Gomoriego (1949) oraz Ohlmeyera (1950), które omawiają zależność czynności fosfataz od kwasu rybonukleinowego cytoplazmy i kwasu dezoksyrybonukleinowego jądra. Badania więc tych autorów zwracają uwagę na to, że w komórkach, w których zwiększona jest synteza białek, a zatem w komórkach rosnących i wydzielających ilość kwasu nukleinowego i fosfataz pozostaje w ścisłej zależności. Fosfatazy prawdopodobnie defosforylują kwasy nukleinowe, a także mają mieć zdolność katalizacyjną w procesach chemicznych zachodzących w cytoplazmie. Być więc może,

że potwierdzeniem tych czynności są również wyniki doświadczeń Emmela (1945), Deane i Dempsey (1945), którzy wykazali obecność dużej ilości fosfatazy zasadowej w strefie Golgiego komórek nabłonka jelitowego ptaków i ssaków. Są to też, tak ważne czynności, jak synteza, wydzielanie i wytwarzanie enzymów przypisuje się aparatowi Golgiego. Zagadnienie to jednak pozostaje jeszcze nierozwiązane.

Opracowane przez Gomoriego w 1939 i 1949 metody wykazywania fosfatyz zostały przez radzieckich badaczy Dorfmana i Epsztejna (1950) zmienione i ułatwione w wykonaniu dzięki zamianie soli kobaltu na sole żelaza, których histochemiczne wykrycie nie natrafia na większe trudności. W tym czasie także Menten, Junge i Green (1944) oraz Martin i Jacoby (1949) wprowadzili pewne modyfikacje do metody Gomoriego. Kabat i Furtha, zmieniając czas inkubacji, temperaturę i skład mieszanin podstawowych. Wszystkie te metody wskazują na obecność i umiejscowienie fosfatazy w cytoplazmie komórek, zwykle w niewielkiej odległości od jądra i aparatu Golgiego. Należałoby więc zastanowić się, czy strefa enzymatyczna komórki jest polem czynnościowym specjalnym w obrębie cytoplazmy, a więc polem nie związanym ze strefą dynamiczną Golgiego, czy jest ona tylko obrazem jednej z czynności systemu Golgiego, a zatem jest ściśle związana z fazami rytmu pracy tego systemu.

Przeglądając bardzo bogatą literaturę dotyczącą systemu Golgiego, mitochondriów i wydzieliny komórkowej, można zauważyć cztery zasadnicze zagadnienia, które zajmują się nie tylko morfologicznym, ile fizjologicznym związkiem pomiędzy produktem komórkowym w okresie i procesie jego wytwarzania, a systemem Golgiego, chondriomem i jądrem.

Pierwsze zagadnienie dotyczy udziału systemu Golgiego w produkcji wydzieliny typu exoerdon względnie endoerdon (Aoyama 1931, Nasonow 1923—1926, Bowen 1926, Beams-King 1933, Lever 1947—1948, Kedrowsky 1947, Sluiter 1948—1949, Polenow 1950, Hirsch 1931—1939, Chodnik 1947—1948, Sajner 1948, Grzycki 1949—1951). Drugie stara się być odpowiedzią na pytanie, jaki jest udział chondriomu w produkcji wydzieliny (Aunap 1931, Beams 1928—1931, Beams-Goldsmith 1930, Howen 1912, Schultze 1911, Laguesse 1924, Roskin 1926, Ma Wen Chao 1928, Ries 1937, Hosselet 1927, Hirsch 1931—1939, Tschassownikow 1929, Carter 1928, Grzycki 1949—1951). Trzecie natomiast omawia stosunek systemu Golgiego do mitochondriów (Deineka 1912, Jordan 1921, Parat 1925, Hirsch 1931—1939, Hosselet 1927, Carter 1928, Poluszyński 1929, Hirschler 1927—1928), a czwarte wreszcie zachowanie się i udział jądra komórkowego w procesie wydzielniczym (Maziarski 1911, Kurashige 1930, Ahara 1933, Kurkiewicz 1931, Pawlikowski 1935—1938, Grzycki 1951, Caspersson 1939—1947, Brachet 1947, Guberniew i Kowyrew 1949, Guberniew i Ilina 1950, Polenow 1950, Skalska-Vorbrodt 1951).

Na czynnościowe połączenie pomiędzy jądrem a systemem Golgiego zwracali uwagę Kurashige i Ahara, nie podali oni jednak jakiego rodzaju jest to połączenie. Thomas (1948) opisuje odtransportowywanie ziarenek cytoplazmatycznych i ciałek sferoidalnych z cytoplazmy do jądra komórki i wskazuje na

współzależność pomiędzy jądrem a produktem Golgiego. Nie brak również zapartywań, że proces wydzielniczy komórki jest ściśle związany z pracą jądra i jąderka. Maziarski wyraził przypuszczenie, że nie tylko jądro bierze czynny udział w procesie wydzielniczym i uczestniczy bezpośrednio w tworzeniu wydzieliny, ale także i jąderko, które dostarcza materiału do produkcji wydzieliny. Spostrzeżenia swoje opiera on na jednakowej barwliwości jąderka i ziarenek wydzieliny znajdujących się w cytoplazmie, oraz na obecności jąderek wewnątrz wakuoli wyprodukowanych przez jądro, a przede wszystkim na zmianach ich objętości i barwliwości w przebiegu cyklu wydzielniczego.

Także Kurkiewicz przeprowadzając badania nad udziałem jądra komórkowego w procesie wytwarzania adrenaliny uważa, że dodatni odczyn chromowy w obrębie jądra może być dowodem udziału jego w procesach wydzielniczych. Podobnie i Pawlikowski pracując nad komórkami adrenalinogennymi w nadnerczu kręgowców obserwował dodatni odczyn Henle-Kurkiewicza w obrębie jądra komórkowego, oraz zwrócił uwagę na istnienie polimorfizmu jąder, co mogłoby wskazywać na czynny ich udział w produkcji wydzieliny.

Należy jeszcze wspomnieć o pracach Casperssona, Bracheta, Dustina i Skalskiej-Vorbrodt, którzy na podstawie uzyskanych wyników badań cytochemicznych nad zachowaniem się kwasu rybonukleinowego i kwasu dezoksyrybonukleinowego wnioskują o bezpośrednim udziale jądra w procesie wydzielniczym komórki. Skalska-Vorbrodt (1951) nawet wyraźnie podkreśla, że w okresie procesu wydzielniczego mogła obserwować w jądrach komórek gruczołów ślinowych przemieszczenie kwasu dezoksyrybonukleinowego na obwód, a przy dłuższym działaniu pilokarpiny ubytek chromatyny związanej z jąderkiem. Po podaniu atropiny natomiast zauważyła rozproszenie kwasu dezoksyrybonukleinowego po całym jądrze pod postacią drobniotkich ziarenek łącznie z wybitnym nagromadzeniem chromatyny przyjąderkowej.

Szubnykowa (1947) badając cykl życiowy w komórce pierwotniaka (*Paramecium*) stwierdziła, że kwas rybonukleinowy skupia się podczas koniugacji, a w okresie głodzenia obserwuje się przestawienie kwasu rybonukleinowego na bieguny komórki. Lewynson i Kanarskaja (1947) oraz Lewynson i Łachowa (1949) starali się przebadać umiejscowienie kwasów nukleinowych w okresie kariokinezy komórki, wychodząc z założenia, że kwas dezoksyrybonukleinowy jest prawdopodobnie pochodnym kwasu rybonukleinowego, o czym zresztą wspominają już w swoich doniesieniach Brachet (1947) i Kedrowsky (1951). Roskin (1949), Roskin i Struwe (1947) starali się rozwiązać zagadnienie przemiany materii i wymiany materii pomiędzy jądrem a cytoplazmą podczas mitozy. Przemiany kwasu rybonukleinowego podczas podziału komórki nie są odosobnione od innych przemian chemicznych i łączą się ze zmianami kwasu dezoksyrybonukleinowego oraz jonów Ca i Mg. Wszystkie więc cytofizjologiczne i cytochemiczne przemiany wskazują na zawilość procesów odbywających się w cytoplazmie, w których nie tylko kwasy nukleinowe, ale i inne chemiczne składniki cytoplazmy i jądra biorą czynny udział.

Na podstawie naszych poprzednich badań doświadczalnych (Grzycki 1951) doszliśmy również do przekonania, że w czasie wzmożonego procesu wydzielniczego

odbywa się stopniowe rozładowywanie się jądra z kwasu dezoksyrybonukleinowego. Rozładowanie się jądra wyrażało się zmniejszeniem ilości grudek dezoksyrybonukleoproteidów, które oprócz tego, że miały wygląd grubych ziaren umiejscowionych tuż przy błonie jądrowej okazywały słabszy odczyn barwny Schiffa-Feulgena-Rossenbecka i znikaly prawie całkowicie w strefie przyjąderkowej.

Biorąc więc pod uwagę fazy rytmu pracy i stałą dynamikę systemu Golgiego, które są wyrazem stanu dynamicznego, stanu czynnego, produkcyjnego komórki, należało rozpatrzyć fizjologiczny związek pomiędzy tym systemem a jądrem, ściśle mówiąc pomiędzy umiejscowieniem, wielkością i strukturą aparatu Golgiego a rozmieszczeniem i ilością kwasu dezoksyrybonukleinowego w jądroplazmie, oraz kwasu rybonukleinowego w cytoplazmie i jąderku. Należałoby również odpowiedzieć na pytanie, czy strefa enzymatyczna komórki, podobnie jak strefa i system sferoidalny Golgiego może ulegać zmianom umiejscowienia, wielkości i struktury w okresie fizjologicznych faz produkcyjnych, a także pod wpływem czynników farmakologicznych (pilokarpina).

Materiał doświadczalny i metodyka badań

Badania przeprowadzono nad gruczołami kury domowej (*Gallus gallus domesticus* Brehm). Wszystkie gruczoły (gl. maxillaris monostomatica, gl. palatinae laterales, gl. palatinae mediales, gl. sphenopterygoidae) należą do typu gruczołów śluzowych, a zatem do gruczołów o bardzo żywej przemianie materii, w których procesy wytwórcze odbywają się stale.

Materiał do badań pobierano: 1) z ptaków głodzonych przez 48 godzin, nawet bez podawania wody do picia, 2) z ptaków karmionych w 1—3 godziny po jedzeniu i 3) z ptaków głodzonych przez 24 godziny, którym wstrzyknięto podskórnie roztwór 0,01% pilokarpiny w ilości 2 ccm, przy czym wycinki sporządzano po upływie 3 godzin od chwili zastrzyku.

Każdy wycinek błony śluzowej podniebienia dzielono na trzy części, przy czym jedną utrwalono i srebrzono według uranowo-srebrowej metody Ramona y Cajala, drugą utrwalano w sublimacie 6% z kwasem octowym, a także w płynach Carnoy i Krälingera, podczas gdy skrawki z tych wycinków grubości 5—10 mikronów barwiono leukofuksyną Schiffa według Feulgena, oraz według metody Unny Pappenheima barwnikami zieleni metylowej i pyroniny. Metoda Feulgena-Rossenbecka polega na hydrolizie 1/n kwasem solnym ogrzanym w ultratermostacie Höpplera do +60°C i następnie na działaniu roztworem leukofuksyny Schiffa tzn. fuksyny odbarwionej kwasem siar-

kowym. Wskutek hydrolizy powstają po odszczepieniu zasad purynowych (adeniny i guaniny) wolne grupy aldehydowe w dezoksyrybozie, które posiadają zdolność przywrócenia czerwonej barwy odbarwionej fuksynie. W ten sposób wszystkie miejsca w komórce, w których znajduje się kwas dezoksyrybonukleinowy zabarwiają się na kolor karminowo-czerwony względnie czerwono-fioletowy.

Zabarwienie preparatów zielenią metylową i pyroniną według metody Unny-Pappenheima dało obraz różowej cytoplazmy oraz niebiesko-zielonych jąder. Vercauteren (1949), który przeanalizował wyniki barwienia otrzymane właśnie przy użyciu tej metody, podkreślił, że zielen metylowa posiada wybitne powinowactwo do kwasu dezoksyrybonukleinowego, ale kwasu wysoko spolimeryzowanego, nie barwi natomiast kwasu zdepolimeryzowanego. Powinowactwo spolimeryzowanego kwasu dezoksyrybonukleinowego do zieleni metylowej jest bardzo silne. Pyronina zaś barwi niskie polimery kwasów nukleinowych. Zastosowanie metody Unny-Pappenheima pozwala zatem na określenie wartości jądra w odniesieniu do kwasu dezoksyrybonukleinowego, a częściowo także na określenie wartości cytoplazmy w odniesieniu do kwasu rybonukleinowego. Stopień zasadochłonności cytoplazmy bowiem uzależniony jest z jednej strony od ilości kwasu rybonukleinowego, a z drugiej strony od intensywności biochemicznych i fizjologicznych procesów odbywających się w komórce. Kwas rybonukleinowy biorąc udział w biosyntezie białek jest ściśle związany z procesami przemiany materii komórki, a przede wszystkim z procesami i przemianami wydzielniczymi cytoplazmy.

Trzecią część skrawka błony śluzowej podniebienia utrwalano przez 24 godziny w oziębionym acetonie i zatapiało w parafinie. Skrawki 8—10 mikronów grubości po odparafinowaniu umieszczano na 30 minut w termostacie w temperaturze 35°C w płynie podstawowym Gomoriego z 2% glicerofosforanem sodowym i 2% luminalem sodowym (Ph = 9,4). Zamiast azotanu kobaltu użyto 1% azotanu srebrowego. Fosfataza zasadowa występowała w postaci brunatnych lub czarno-brunatnych drobnutkich ziarenek. Używając natomiast płynu podstawowego o Ph = 4,8—5,0 wykazywano czarne lub brunatno czarne ziarenka fosfatazy kwaśnej.

Badania i wyniki własne

Obserwowana w komórkach gruczołowych rytmiczna fazowość czynności aparatu Golgiego charakteryzuje się występowaniem czterech okresów cyklu sekrecyjnego. Okres I — s p o c z y n k o w y, bardzo krótki, w którym zwiększa się ilość mitochondriów. Okres II — c z y n n y, w którym następuje przeorganizowanie mitochondriów i wytworzenie zdefiniowanego w kształcie i strukturze układu Golgiego. Okres III — jest okresem w y t w ó r c z y m, w którym aparat Golgiego ulega przerostowi i dalszej zmianie struktury, oraz następuje właściwa organizacja i wzrost ciałek sferoidalnych będących przedwstępem wydzieliny. Okres IV — w y d z i e l n i c z y, jest to okres wytwarzania się pęcherzyków wydzieliny, rozpad systemu Golgiego i odbudowa mitochondrialnych ziarenek w komórce.

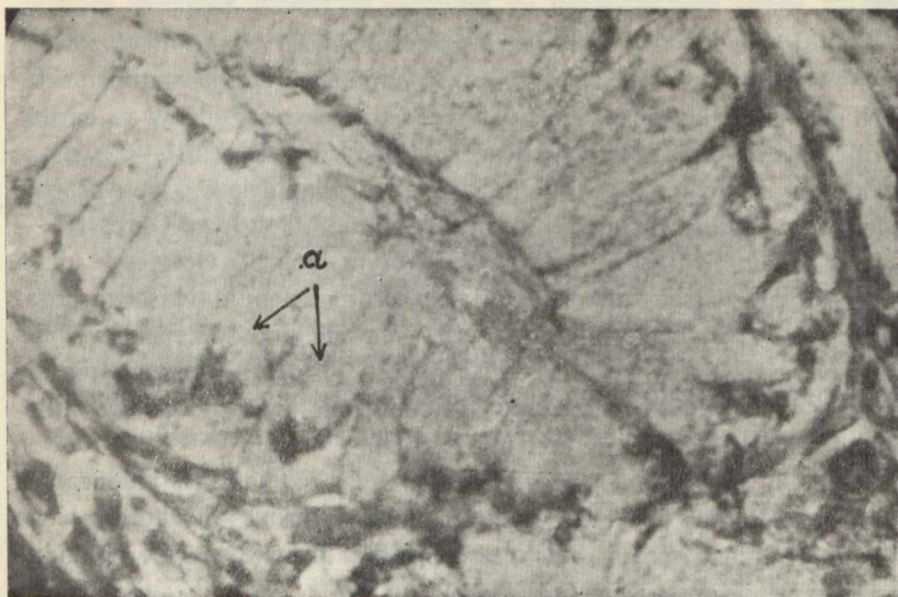
Okresy pracy komórki gruczołowej były na naszych preparatach wyraźne, a biorąc pod uwagę uniejszczenie, formę i strukturę całego układu Golgiego można było przeprowadzić prawie zawsze dokładne różnicowanie okresu czynności.

I.

Ptaki głodzone przez 48 godzin, bez podawania wody do picia i jedzenia. Gruczoły podniebienne badano według metody Ramona y Cajala, Feulgena-Rossenbecka, Unny-Pappenheima i Gomoriego.

Komórki gruczołowe wysokie, jądro w $\frac{1}{3}$ dolnej części komórki, okrągłe lub owalne, w protoplazmie można spotkać szczególnie w górnym, wydzielniczym biegunie, drobne, pojedyncze pęcherzyki wydzieliny śluzowej. Aparat Golgiego znajdował się pomiędzy dolnym biegunem jądra a podstawą komórki. Utworzony on był z krótkich lub długich, cienkich lub grubych pałeczek względnie niteczek, które czerniły się według metody uranowo-srebrzej na kolor ciemno-brunatny (mikrofot Nr 1).

Niteczki te zbudowane były z ziarenek ściśle obok siebie ułożonych. Można było także oglądać aparat Golgiego oplatający dolny biegun jądra albo nawet całe jądro (mikrofot. nr 1 „a“). Nić jednak tej siatki była zawsze gruboziarnista, różańcowata. Formy pośrednie pomiędzy jednym typem aparatu, a drugim typem pozwalały przypuszczać, że aparat od podstawy komórki przesuwa się ku górze w okolicę jądra, przy czym nitka jego i ziarna stają się grubsze i pełniejsze.

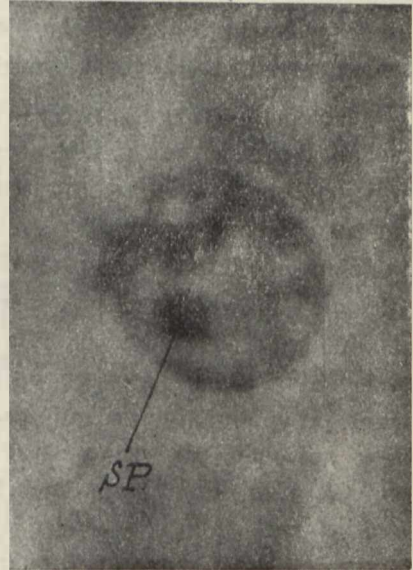
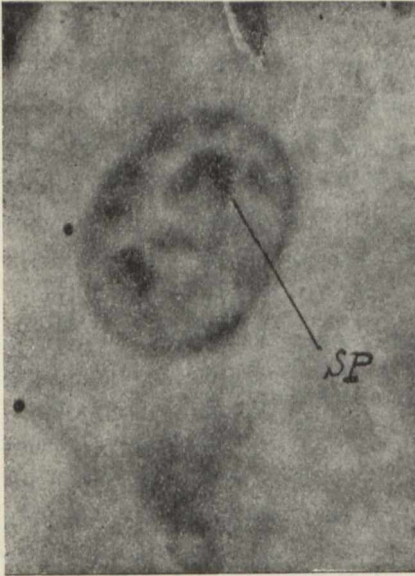


Mikrofit. Nr 1. Komórki gruczołowe podniebienia kury głodzonej przez 48 godzin. Aparat Golgiego znajduje się u podstawy komórki względnie obejmuje dolny biegun jądra (a). Uranowo-srebrowa metoda R. y Cajala.

Microphot. Nr 1. — Drüsenzellen vom Gaumen eines 48 Stunden lang gehungerten Huhnes. Der Golgiapparate befindet sich an der Basis der Zelle, beziehungsweise umfasst er den unteren Pol des Kernes (a). Urannitrat Methode von R. y Cajal.

Ten mniej lub więcej ścisły morfologiczny związek pomiędzy jądrem a elementami aparatu Golgiego obserwowany już niejednokrotnie przez nas nie tylko w komórkach gruczołów ślinowych, ale także w komórkach chromochłonnych nadnerczy kręgowców (S t a s z y c 1952) i komórkach pęcherzyków tarczycy (K o b u s ó w n a 1952), zwrócił moją uwagę na możliwość istnienia także związku fizjologicznego, tym bardziej, że wielkość aparatu Golgiego i wielkość pola dynamicznego protoplazmy pozostawały i w obecnych i poprzednich moich doświadczeniach zwykle w stosunku odwrotnie proporcjonalnym do ilości kwasu dezoksyrybonukleinowego w jądrze i prawdopodobnie w stosunku wprost proporcjonalnym do ilości kwasu rybonukleinowego w protoplazmie.

Kwas dezoksyrybonukleinowy w komórkach gruczołowych z ptaków głodzonych wykazywałem za pomocą odczynu barwnego Feulgena-Rossenbecka. Znajdował się on w naszych preparatach tylko w jądrach i miał wygląd różnej wielkości grudek i ziarenek swobodnie rozrzuconych po jądroplazmie. Grudki większe zajmowały raczej miejsce na



Mikrofot. Nr 2. Jądra komórek gruczołowych podniebienia kury głodzonej przez 48 godzin. Grudki kwasu dezoksyrybonukleinowego rozrzucone po jądroplazmie, grudki większe skupione przy błonie jądrowej i dokoła jąderka. Strefa przyjąderkowa szeroka (SP). Odczyn Feulgena—Rossenbecka. Powiększenie ca 3000 x.

Microphot Nr 2. — Kerne von Drüsenzellen des Gaumens eines 48 Stunden lang gehungerten Huhnes. Krümelchen von Desoxyribonukleinsäure auf der Kernplasma zerstreut, grössere Krümelchen an der Kernhaut und ringsherum des Kernchens angehäuft. Die Beikernchenzone breit (Sp.). Reagenz von Feulgen-Rossenbeck.

Vergrosserung ca 3000 x.

obwodzie jądra pod błoną jądrową i w bezpośredniej bliskości jąderka, a to stwarzało pojęcie strefy przyjąderkowej. Strefa przyjąderkowa w różnych komórkach jednak była różnej szerokości, przy czym była ona wyraźnie zabarwiona i szeroka. (Mikrofot. Nr 2).

Stopień zabarwienia leukofuksyną Schiffa dużych grudek kwasu dezoksyrybonukleinowego był znacząco większy w porównaniu z ziarenkami i grudkami drobnymi. Te ostatnie dokładnie wypełniały pęcherzyk jądra nadając mu słabo czerwono-fioletowe zabarwienie. Nie zauważyłem by ziarenka większe miały stałe umiejscowienie w jądrze, wszystkie bowiem jądra różniły się między sobą tak pod względem umiejscowienia grudek kwasu dezoksyrybonukleinowego, jak i pod względem ich ilości.

Powierzchnia zewnętrzna błony jądrowej była gładka, robiła wrażenie napiętej i wyraźnej linii odcinającej się od otaczającej cytoplazmy.

Zieleń metylowa również zabarwiła w jądrach komórkowych drobne ziarenka rozsypane po całej jądroplazmie i ziarenka większe przypominające grudki umiejscowione pod błoną jądrową i dookoła jąderka. Nierównomierność rozmieszczenia grudek kwasu dezoksyrybonukleinowego w jądrach zauważona w poprzednich preparatach była całkowicie potwierdzona po zabarwieniu ich zielenią metylową. W cytoplazmie natomiast widoczna była delikatna siateczka utworzona z drobnych ziarenek zabarwionych na kolor różowy. Ziarenka te wielkością swoją przypominały tzw. mikrosomy i granula kwasu rybonukleinowego opisane przez Bracheta. Najgęstsza siateczka w obserwowanych przeze mnie komórkach była na biegunie wydzielniczym i dookoła aparatu Golgiego. Barwliwość siateczki w otoczeniu jąder była zawsze słaba, a skoro przyjmujemy z wielką jedyną ostrożnością, że ziarenka i siateczka wykazane przeze mnie w cytoplazmie barwnikiem pyroniną są obrazem rozmieszczenia kwasu rybonukleinowego, wówczas można mówić o zmniejszonym skupieniu kwasu rybonukleinowego w strefie przyjądrowej, i o zwiększonym skupieniu w strefie Golgiego oraz na biegunie wydzielniczym. Stopień zasadochłonności cytoplazmy uzależniony jest z jednej strony od ilości kwasu rybonukleinowego, a z drugiej strony od intensywności biochemicznych i fizjologicznych procesów odbywających się w komórce. Obecność i ilość kwasu rybonukleinowego w cytoplazmie, jak wynika z badań Casperssona, są związane z procesem przemiany materii komórki, a przede wszystkim z jej stanem czynnościowym. Komórki wyspecjalizowane, pozbawione zdolności mnożenia się lub produkcji białka zawierają mało kwasu rybonukleinowego, podczas gdy w komórkach embrjonalnych, nowotworowych oraz gruczołowych, w których kwas rybonukleinowy może być uważany za tworzywo przyszłej wydzieliny, jest jego zwykle

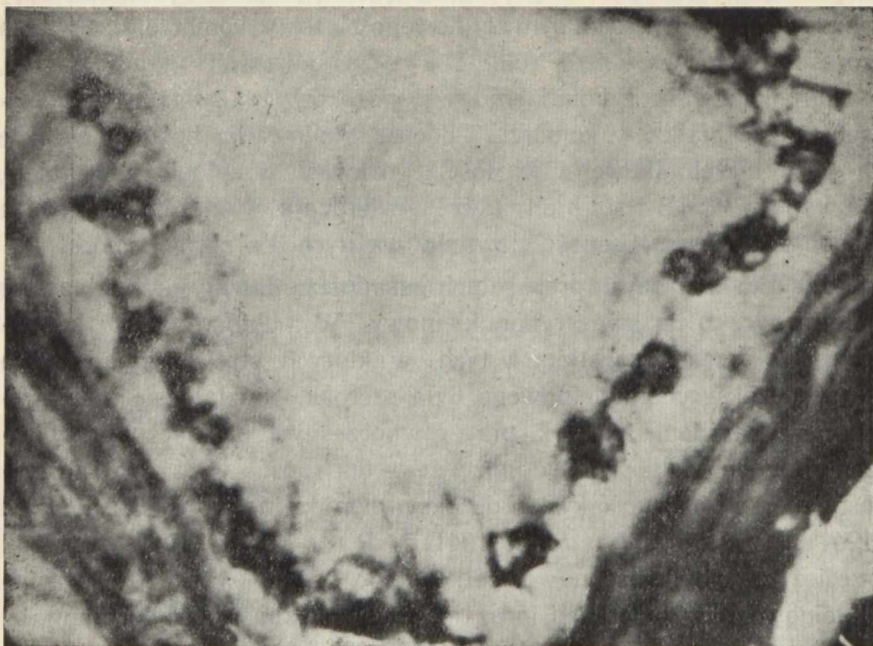
bardzo dużo. Caspersson zatem uważa, że kwas rybonukleinowy związany jest z procesem syntezy nowego białka w komórce, i że w tych procesach odgrywa ważną rolę. Davidson nawet wyraził pogląd, że ziarenka kwasu rybonukleinowego pozostają w związku z gromadzeniem się białka w komórce. Podczas głodowania bowiem a także na diecie małowiałkowej zawartość tego kwasu w cytoplazmie maleje. Bensley i Brachet także stwierdzają w ziarenkach kwasu rybonukleinowego obecność enzymów ważnych dla życia komórki.

Jąderka w naszych preparatach zasadniczo dawały prawie zawsze dodatni odczyn na kwas rybonukleinowy. W niektórych tylko komórkach, a to przede wszystkim w tych, w których strefa przyjąderkowa kwasu dezoksyrybonukleinowego była szeroka, widziało się fioletowozielone zabarwienie jąderek, przy równoczesnym nieznacznym zwiększeniu się ich wielkości. Być może, że w ten sposób wyrażone są czynność jąderka i obecność kwasu dezoksyrybonukleinowego. Brachet (1941), Caspersson (1941) i Roskin (1945) wskazali przecież na możliwość nawet całkowitego braku kwasu dezoksyrybonukleinowego w jąderkach, oraz na współzależność zasadochłonności jąderka od obecności w nim kwasu rybonukleinowego.

Dodatni odczyn na fosfatazę zasadową był najwyraźniejszy w strefie aparatu Golgiego, a więc w niewielkiej odległości od jądra, jednak i na biegunie wydzielniczym komórek można było zauważyć rozsypane drobniutkie brunatne ziarenka. Umieszczenie strefy enzymatycznej w okolicy aparatu Golgiego było charakterystyczne niemal dla wszystkich komórek gruczołowych, podczas gdy na biegunie wydzielniczym tych komórek wahania były największe. Optimum wykazania fosfatazy uzyskano po 30 minutowej inkubacji w termostacie w ciepłocie 35°C. Próby nad skróceniem tego czasu dawały zawsze wyniki ujemne, a nad przedłużeniem do 1 godziny odpowiadały zwykle wynikom uzyskanym po 30 minutach. Nie było także różnic pomiędzy obrazami otrzymanymi po zastosowaniu 1% azotanu kobaltu i 1% azotanu srebrowego, dlatego też w dalszych doświadczeniach posługiwałem się wyłącznie tym ostatnim.

II.

Okres twórczy systemu Golgiego obserwowany w gruczołowych komórkach ptaków karmionych w 1—3 godziny po jedzeniu wyrażał się przede wszystkim wybitnym przerostem całego układu równocześ-



Mikrofot. Nr 3. Komórki gruczołowe podniebienia kury w 3 godzinie po nakarmieniu. Przerosły aparat Golgiego znajduje się na górnym biegunie jądra. Widoczne zgrubienia ziarenek systemowych Golgiego. Uranowo-srebrowa metoda R. y Cajala.

Microphot. Nr 3. — Drüsenzellen vom Gaumen eines Huhnes 3 Stunden nach der Fütterung. Der überwachsene Golgiapparat befindet sich auf dem oberen Pole des Kernes. Eine Verdickung von Systemkörnchen von Golgi ersichtlich. Urannitrat Methode von R. w Cajal.

nie z przesunięciem się go na górny biegun jądra, albo w $\frac{1}{3}$ górną część komórki. Pole systemu odcinało się wyraźnie od otaczającej cytoplazmy. (Mikrofot. Nr 3).

Siatkowane sploty układu miały w jednych komórkach wygląd delikatnych, drobnoziarnistych, w drugich zaś były grube, masywne, obfitujące w duże ziarna. Ziarenka te występowały w niewielkiej ilości, znajdowały się zawsze lub prawie zawsze w górnych terytoriach pola Golgiego i ilość ich zwiększała się w miarę przesuwania się siateczki ku górnemu biegunowi jądra lub komórki. Ziarenka te zidentyfikowaliśmy ze sferoidem Golgi—Thomasa (mikrofot. Nr 4 i 5), wyraźna w nich bowiem była otoczka zewnętrzna i wodniczka wewnętrzna. Sfe-

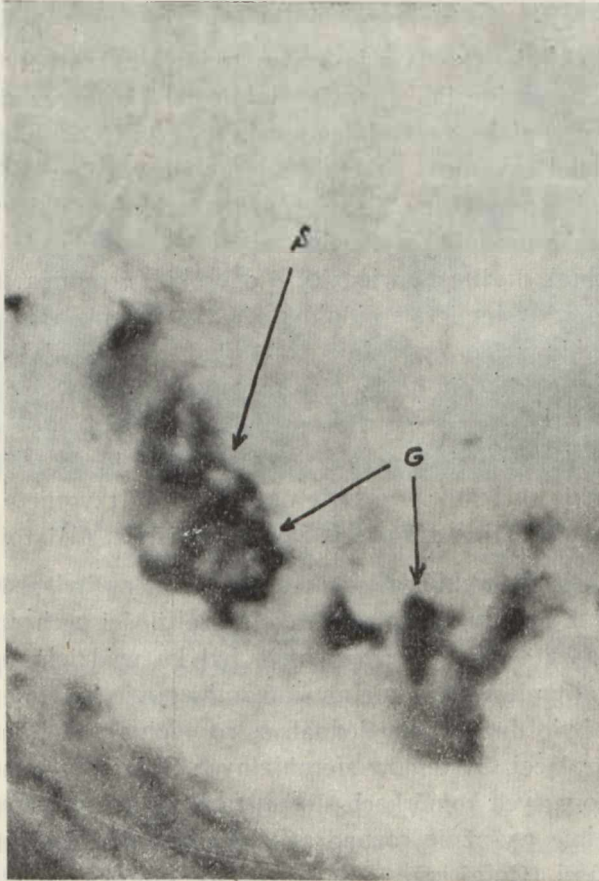
roidy zatem powstają przez wzrost drobnych ziarenek nitki Golgiego. Uwalniają się one z zespołu siateczki i następnie przez organizację wodniczki wewnętrznej (Golgi — Internum) i otoczki zewnętrznej (Golgi — Externum), oraz przez wzrost wodniczki wewnętrznej, która jak wykazały dotychczasowe badania, jest zawiązkiem przedwydzieliny, przekształcają się w pęcherzyki dojrzałej wydzieliny.

Sferoid Golgi—Thomasa jest więc architektoniczną, morfologiczną i czynnościową jednostką aparatu Golgiego. Fazy przemian jakie są obserwowane w siateczce Golgiego wskazują na to, że bierze ona bezpośredni udział czynny w procesie wydzielniczym komórki, a tym samym stanowi dynamiczne pole cytoplazmy, w którym dokonuje się synteza i przeróbka produktu wydzielniczego typu exoerdon lub endoerdon. Niewiele jednak można powiedzieć o sposobie organizacji wodniczki wewnętrznej w systemie sferoidalnym. Wykazywanie w niej podanego kwasu askorbinowego względnie barwnika wskazuje tylko na możliwość przechodzenia ich przez otoczkę zewnętrzną. Pytanie więc czy wodniczka wewnętrzna ma dostarczone z cytoplazmy produkty już dojrzałe, czy jeszcze nie dojrzałe, które muszą ulec przeróbce na dojrzałe w obrębie systemu, pozostaje nadal nierozstrzygnięte, bo i extrasomalna i intrasomalna droga jest zawsze możliwa. (Mikrofot Nr 4).

W komórkach, w których proces wydzielniczy był zaawansowany i widoczne już były w mniejszej lub większej ilości pęcherzyki wydzieliny, cały aparat Golgiego przesunięty był ku wydzielniczemu biegunowi, a nawet umiejscawiał się na samym biegunie. — Pole zajmowane przez niego było duże, mniej jednak ostro odcinało się ono od cytoplazmy otaczającej. Systemów sferoidalnych Golgi—Thomasa i dużych ziarenek było w tych komórkach stosunkowo już nie wiele, widziało się jednak zupełnie wyraźnie rozpad substancji srebrzonej na segmenty różnej długości (Golgi rest — Hirsch), które wciśnięte pomiędzy pęcherzyki wydzieliny w miarę jej nagromadzania się były razem z cytoplazmą i jądrem spychane ku przeciwległemu biegunowi komórki.

Hirsch jest zdania, że pozostałość substancji Golgiego przepada całkowicie i razem z wydzieliną zostaje wyrzucona z komórki. Kurashige (1930) i Sluiter (1944) natomiast obserwują odradzanie się z resztek Golgiego nowego systemu. W poprzednich moich doświadczeniach (Grzycki 1951) zauważyłem jednak, że w okresie wydzielniczym, gdy cytoplazma i jądro były zepchnięte ku podstawie

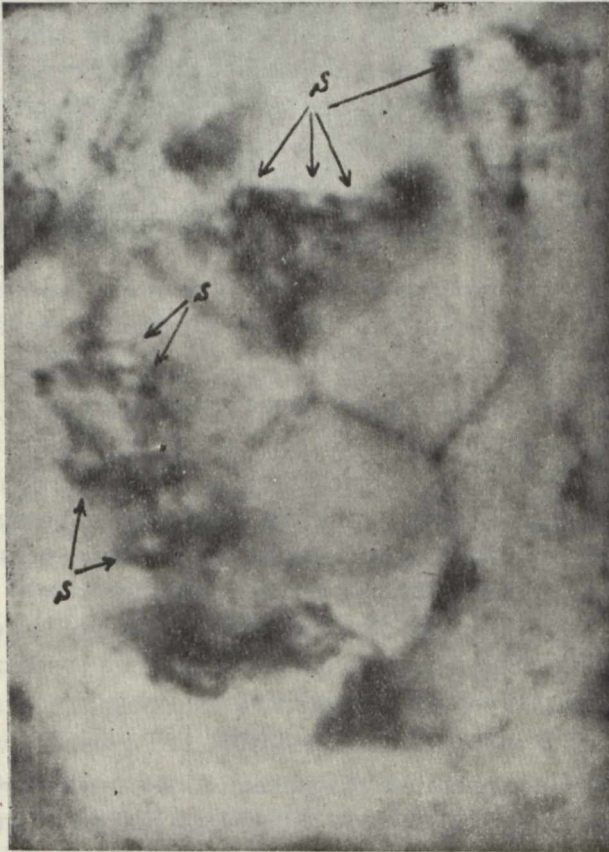
komórki przez nagromadzone pęcherzyki wydzieliny, a resztek Golgiego ani samego aparatu Golgiego nie można było wykazać, mitochondria wystąpiły w dużej ilości tuż przy jądrze. Być może, że reszta Golgiego po pewnych nieznanych jeszcze bliżej przemianach chemicznych upo-



Mikrofol. Nr 4. Aparat Golgiego w komórkach gruczołowych podniebienia kury. Zgrubiała nitka aparatu posiada wyraźną budowę ziarnistą, powiększone ziarenka systemowe (G) i ciała sferoidalne (S). Uranowo-srebrowa metoda R. y. Cajala. Powiększenie ca 2500 \times .

Microphot. Nr 4. — Der Golgiapparat in den Drüsenzellen des Gaumens eines Huhnes. Der verdickte Faden des Apparates besitzt einen deutlichen Körnerhaften Bau, vergrößerte Systemkörnchen (G) und Sphaeroidale Körperchen (S) Urannitrat Methode von R. y. Cajal. Vergrößerung ca 2500 \times

dobniła się do substancji, z której zbudowane są mitochondria, a tym samym wskazała na możliwość istnienia wspólnoty fizjologicznej pomiędzy aparatem Golgiego, a chondriomem komórki. Mitochondria bowiem ulegając daleko idącym przemianom fizykochemicznym mogą tworzyć w wyniku tych przemian układ systemowy Golgiego.



Mikrofoto. Nr 5. Aparat Golgiego komórek gruczołowych podniebienia kury w III okresie czynnościowym. Dużo ciałek sferoidalnych (S) z dobrze widoczną osłonką zewnętrzną (Golgi Externum) i wodniczką wewnętrzną (Golgi Internum). Przekrój skośny. Uranowo srebrna metoda R. y Cajala. Powiększenie ca 2500 x.

Microphot. Nr 5. -- Der Golgiapparat der Drüsenzellen von Gaumen eines Huhnes in der III Aktionsphase. Viel Sphaeroidalkörperchen (S) mit gut sichtbaren äusserlichen Hüllchen (Golgi Externum) und einer innerlichen Vacuole (Golgi Internum), Schräger Querschnitt, Urannitrat Methode von R. y Cajal.

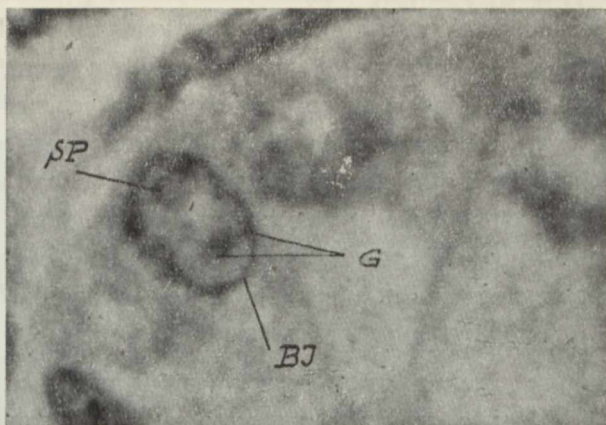
Vergrößerung ca 2500 X

Aparat Golgiego w komórkach gruczołowych obserwowanych przez nas nie miał stałego umiejscowienia. Wędrował on więc od podstawy komórki do jej bieguna wydzielniczego. Zmianie umiejscowienia towarzyszyły zwykle zmiany kształtu i struktury, przy czym dawał się zawsze zauważyć wybitny przerost całego układu. (Mikrofot. Nr 5).

Jądra komórkowe w okresie zdecydowanej czynności aparatu Golgiego i czynności wydzielniczej całej komórki były okrągłe lub owalne, oraz większe w porównaniu z jądrami komórek głodzonych. Leukofuksyna Schiffa wg metody Feulgena—Rossenbecka wybarwiła w nich ziarenka i grudki kwasu dezoksyrybonukleinowego na kolor fioletowo-czerwony. Prawie wszystkie grudki układały się pod błoną jądrową albo w niewielkiej odległości od niej, przy czym większe grudki (chromocentra) barwiły się intensywniej, mniejsze zaś miały wygląd niedobarwionych. (mikrofot. Nr 6). Ilościowo przeważały jednak te ostatnie, i jak można było zauważyć były one zlepkiem drobnych ziarenek rozsypanych zwykle po jądroplazmie.

W strefie przyjąderkowej natomiast widziało się zazwyczaj kilka (3—5) drobnych grudek dających dodatni odczyn Feulgena—Rossenbecka, w niektórych zaś komórkach strefę tą tworzyła cieniutka, pozornie jednolita fioletowo-czerwona linijka, zgrubiała różańcowato w kilku miejscach. Obserwowałem więc wyraźne zmniejszenie się strefy przyjąderkowej przy równoczesnym zwiększeniu się wielkości i prawdopodobnie ilości grudek kwasu dezoksyrybonukleinowego. Grudki te gromadząc się przeważnie tuż pod błoną jądrową mogą świadczyć o przeszerogowaniu kwasu dezoksyrybonukleinowego w jądrze, co wydaje się być spowodowane procesem czynnościowym komórki.

Po zabarwieniu preparatów barwnikami Unny można było również stwierdzić przemieszczenie zielono zabarwionych ziarenek kwasu dezoksyrybonukleinowego na obwód jądra na niekorzyść strefy przyjąderkowej, samo zaś jądro miało wygląd przejrzystego pęcherzyka niebarwiącego się względnie lekko zabarwionego na kolor zielony, dzięki nielicznym, bardzo drobnym rozsypanym w nim ziarnistościom. W komórkach, w których widoczne już były pęcherzyki wydzieliny i aparat Golgiego miał wygląd raczej posegmentowany, kwas dezoksyrybonukleinowy wyłącznie był zgrupowany przy błonie jądrowej. Jąderka nie posiadały wówczas strefy dającej odczyn dodatni kwasu dezoksyrybonukleinowego. (Mikrofot. Nr 6).



Mikrofol. Nr 6. Jądra komórek gruczołowych w okresie wydzielniczym. Zmniejszenie ilości grudek kwasu dezoksyrybonukleinowego i strefy przyjąderkowej (SP). Kwas dezoksyrybonukleinowy (G) umiejscowiony przy błonie jądrowej (BJ), pod postacią grudek różnej wielkości i różnego stopnia zabarwienia. Metoda Unny-Pappenheima. Powiększenie ca 2500 \times .

Microphot. Nr 6. — Kerne von Drüsenzellen in der III Ausscheidungsperiode. Eine Verringerung der Anzahl von Krümelchen der Desoxyribonukleinsäure und der Beikernchenzone. (Sp.). Die Desoxyribonukleinsäure (G) an der Kernhaut lokalisiert (BJ) unter Form von Krümelchen verschiedener Grössen und verschiedenen Grades der Färbung. Methode von Unna Pappenheim.

Vergößerung ca 2500 \times

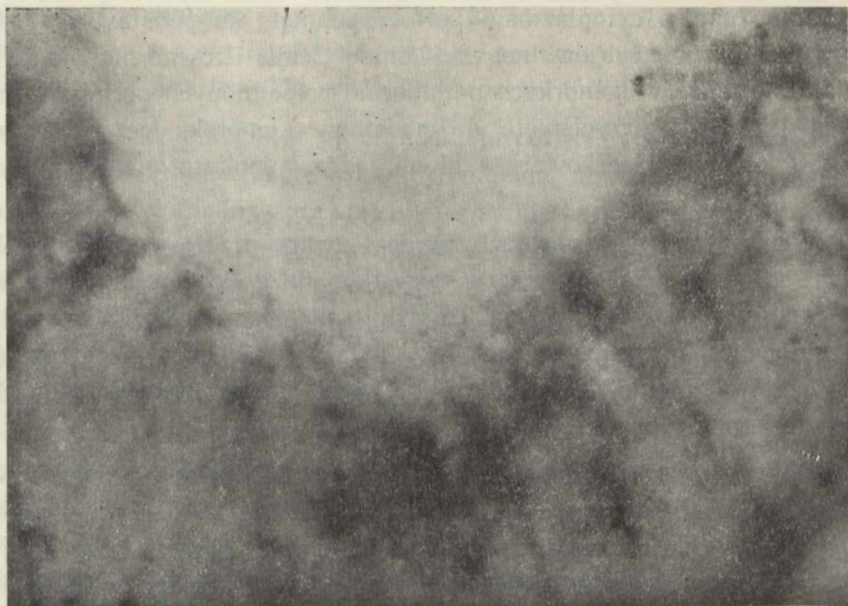
Cytoplazma i jąderka barwiły się pyroniną na kolor różowy, przy czym należy zaznaczyć, że jąderka we wszystkich preparatach posiadały odczyn barwny słabszy w porównaniu z zabarwieniem cytoplazmy, oraz w porównaniu z jąderkami komórek poprzednich preparatów. Również dokoła jądra barwliwość cytoplazmy była słaba, największą zaś pyroninochłonność okazała cytoplazma na biegunie wydzielniczym i w obrębie pola Golgiego. W tych miejscach widziało się nawet różnice w zabarwieniu drobniutkich ziarenek, a nawet w niektórych komórkach zwracało na siebie uwagę układanie się ciemno-czerwonych ziarenek w siateczkę przenikającą pomiędzy pęcherzyki wydzieliny i w pole Golgiego. W niektórych komórkach wreszcie różowo-czerwone ziarenka można było widzieć w małej ilości także w dolnej (podstawowej) części komórki, tu jednak rozrzucone one były bezładnie.

Skoro przyjęliśmy, z wielką jednakże ostrożnością, że struktury zabarwione wg metody Unny—Pappenheima na kolor różowy lub różowoczerwony wskazują na obecność kwasu rybonukleinowego, nie będzie z naszej strony błędu, jeśli powiemy, że w komórkach będących w II i III okresie wydzielniczym kwas rybonukleinowy nagromadza się w strefie najbardziej czynnej tzn. w polu Golgiego i w jego najbliższym otoczeniu. Zwiększonej ilości kwasu rybonukleinowego w cytoplazmie odpowiada zwykle ubytek tego kwasu w jąderkach i w strefie przyjądrowej, a także przemieszczenie kwasu dezoksyrybonukleinowego na obwód jądra i zmniejszenie strefy przyjądrowej.

Przetrzymywanie skrawków mikrotomowych w temperaturze 35°C nawet do 2 godzin w płynie podstawowym Gomoriego o $\text{Ph} = 9.4$ dawało wyniki prawie zawsze niezadowolające. W nielicznych tylko komórkach wyczerniły się ziarenka fosfatazy zasadowej w strefie jądrowej. Można więc przyjąć, że komórki gruczołów śluzowych w okresie produkcji wydzieliny prawdopodobnie nie posiadają fosfatazy zasadowej, badania jednak w tym kierunku są prowadzone przeze mnie w dalszym ciągu.

Zastosowano także płyn podstawowy Gomoriego o $\text{Ph} = 4.8-5.0$ i działano nim na skrawki również w temperaturze 35°C, ale przez 6—10 godzin.

Brunatne i brunatnoczarne drobne ziarenka fosfatazy kwaśnej wystąpiły w dużej ilości przeważnie w biegunie wydzielniczym komórki, a zatem prawie dokładnie w tych miejscach, w których znajdowało się pole Golgiego i nagromadzony był kwas rybonukleinowy (Mikrofot Nr 7). W niektórych komórkach jednak ziarenek fosfatazy było mało, w innych zaś rozrzucone były one po całej cytoplazmie względnie dokoła jądra. Te różne obrazy rozmieszczenia fosfatazy mogły wskazywać nie tylko na udział jej w procesie wydzielniczym, ale także na morfologiczny i fizjologiczny związek pomiędzy kwasem rybonukleinowym i czynnościowym polem Golgiego, wyrażający się stosunkiem wprostproporcjonalnym. Obrazy te wskazywały również na niestalość umiejscowienia pola enzymatycznego w komórce gruczołowej wydzielającej, zagadnienie to naszym zdaniem wymaga dalszych doświadczeń i cytochemicznych obserwacji.



Mikrofot. Nr 7. Pole enzymatyczne fosfatazy kwaśnej komórek gruczołowych podniebienia kury w III okresie czynnościowym. Wyczernione ziarenka odpowiadają umiejscowieniem polu czynnościowemu Golgiego. Metoda Gomoriego. objaśnienia w tekście.

Microfot. Nr 7. — Ein Enzymfeld von saurer Phosphatase der Drüsenzellen vom Gaumen eines Huhnes in der III Aktionsperiode. Die ausgeschwärzten Körnchen entsprechen der Lokalisierung des Aktionsfeldes von Golgi. Methode von Gomori. Erklärungen im Text.

III.

Roztwór 0,01% pilokarpiny był jednorazowo wstrzyknięty w ilości 2 ccm podskórnice ptakom głodzonim przez 24 godzin. Materiał do badań wycięto w 3 godziny po zastrzyku. Zastosowano uranowo-srebrową metodę Ramon y Cajala dla wykazania aparatu Golgiego, oraz metodę Gomoriego dla wyczernienia fosfataz kwaśnej i zasadowej. Wycinki utrwalano także w sublimacie z kwasem octowym albo w płynie Carnoya, a skrawki mikrotomowe barwiono wg metody Feulgena (hydroliza + leukofuksyna) i metody Unny (zieleń metylowa + pyronina).

Komórki badanych gruczołów były wysokie, wypełnione pęcherzykami śluzu, a cytoplazma i jądro zepchnięte ku podstawie. Jądra były duże okrągłe lub owalne, a ich błona cienka i równo napięta. Widziało się także w komórkach nadmiernie wypełnionych pęcherzykami wydzieliny jądra przyciśnięte do podstawy komórek, lecz wówczas kształt ich był pałeczkowy a błoną jądrową pokurczona i pofalowana.

We wszystkich preparatach zwracał uwagę przerost aparatu Golgiego, który wyrażał się przede wszystkim dużą ilością ciałek sferoidalnych powiązanych drobnoziarnistymi niteczkami. Siatka aparatu zajmująca $\frac{2}{3}$ górne części komórki, była luźna, oczka sieci zawsze wrzecionowate, nitki delikatne, długie, zwisające od bieguna wydzielniczego komórki prawie do dolnego bieguna jądra.

Obraz aparatu Golgiego nie ulegał wyraźnej zmianie nawet wówczas, gdy na górnym biegunie komórki zjawily się pęcherzyki wydzieliny. W miarę zwiększania się ich ilości całe pole Golgiego przesuwało się tylko nieco ku dołowi i granice pomiędzy właściwą wydzieliną a siatką aparatu stawały się mniej wyraźne. Można bowiem było obserwować pęcherzyki wydzieliny ułożone obok systemów sferoidalnych względnie w oczkach sieci aparatu Golgiego, a nawet widziało się nieznaczne pęcherzyki otoczone cieniutką czarną otoczką substancji Golgiego.

Szczególne uwagę zwróciłem na jądra komórkowe, których obraz różnił się od jąder obserwowanych w komórkach pierwszej grupy doświadczalnej (ptaki głodzone). Podobne one były do prawie pustych pęcherzyków i tylko kilka fioletowo-czerwonych grudek kwasu dezoksyrybonukleinowego przylegało do błony jądrowej. Grudki te miały nieregularne obrysy, co mogło dowodzić, że są one skupieniem ziarenek mniejszych. W niektórych komórkach także strefa przyjąderkowa dawała delikatny dodatni odczyn Feulgena, jednak ziarenek, nawet najdrobniejszych, w tej strefie nie udało się zauważyć.

Po zabarwieniu preparatów barwnikami Unny-Pappenheima można było również stwierdzić zmniejszenie się ilości kwasu dezoksyrybonukleinowego do kilku zaledwie ziarenek (grudek), samo zaś jądro miało wygląd przejrzystego pęcherzyka niebarwiącego się względnie lekko zabarwionego na kolor zielony dzięki słabo widocznym drobnym ziarenkom. Ten wyraźny spadek kwasu dezoksyrybonukleinowego

w jądrze przy równoczesnym przeroście i nadczynności aparatu Golgiego był znamieny dla wszystkich komórek i może być sprawdzianem istnienia związku fizjologicznego pomiędzy jądrem a aparatem Golgiego w okresie cyklu wydzielniczego komórki.

Zabarwienie struktur pyroninochłonnych na tych preparatach wypadło bardzo słabo. Wprawdzie cytoplazma miała delikatny odcień różowy, jąderka jednak prawie całkowicie nie barwiły się. Nieco wyraźniejsze zabarwienie miała cytoplazma w dolnym biegunie jądra i u podstawy komórki, w tych miejscach nawet można było obserwować małe ziarenka. Odnosiło się więc wrażenie, że regeneracja kwasu rybonukleinowego w komórce gruczołowej w okresie wydzielania zaczyna się od podstawy komórki, a zatem od tej części cytoplazmy, która pozornie nie bierze bezpośredniego udziału w procesie czynnym i wytwórczym. Ciekawe dla mnie jest to, że gdy porównam obecnie uzyskane wyniki z wynikami moich poprzednich prac, w których zajmowałem się udziałem chondriomu w procesie wydzielniczym oraz stosunkiem pomiędzy chondriomem a aparatem Golgiego, widzę zawsze lokalizacyjne podobieństwo rozmieszczenia kwasu rybonukleinowego i chondriomu w cytoplazmie komórki, oraz wprost proporcjonalny stosunek ilościowy i barwny jednego i drugiego.

W komórkach poddanych działaniu pilokarpiny, a znajdujących się w III i IV okresie nadmiernego procesu wydzielniczego nie udało się wyczernić ziarenek fosfatazy zasadowej i fosfatazy kwaśnej. Od ostatecznego jednak stwierdzenia nieobecności wstrzymujemy się do czasu wykonania dalszych prób przy użyciu płynów Gomoriego o różnych punktach izoelektrycznych.

Omówienie wyników badań

Udział kwasów nukleinowych w czynnościach tkanek i komórek rozwijających się i rozwiniętych był rozpatrywany przez licznych autorów, a przede wszystkim przez Bracheta, Casperssona, Hydena, Wiślockiego, Dempseya, Lewynsona i Utynę, Lewynsona i Platonową, Guberniewa i Iline, Guberniewa i Kowyrewa, Kedrowskiego i ostatnio przez Skarżyńskiego, Blicharskiego i Skalską-Vorbrodt. Materiał doświadczalny jako też drogi badań cytochemicznych prze-

prowadzane przez wspomnianych autorów były różne, zwykle jednak odczyn barwny Schiffa—Feulgena dla kwasu dezoksyrybonukleinowego, oraz odczyn barwny Unny z zielenią metylową i pyroniną dla kwasów dezoksyrybonukleinowego i rybonukleinowego zajmują jedne z najważniejszych pozycji.

Wartość tych odczynów jest poparta badaniami absorpcji promieni UV o długości fali 2630 Angstr. (Caspersson, Larionow, Brumberg) oraz zastosowaniem enzymów depolimeryzujących, jak np. rybonukleazy (Dubos, Brachet, Kunitz, Turchini).

Wymienione sposoby cytochemiczne pozwoliły na stwierdzenie obu kwasów nukleinowych, a zatem kwasu dezoksyrybonukleinowego w jądrach i kwasu rybonukleinowego w cytoplazmie i jąderkach. Stosunek obu tych kwasów do siebie wyrażony był umiejscowieniem, ułożeniem i ilością, a także zmiennością odczynu barwnego. Zbadanie więc tego stosunku w komórkach gruczołowych w różnych okresach wydzielania doprowadziło do wniosku, że kwasy nukleinowe biorą czynny udział w procesach życiowych komórki, a między innymi także w wewnątrzkomórkowej syntezie białka. Caspersson wyraził przypuszczenie, że główny impuls do syntezy idzie od jądra, a przede wszystkim od chromatyny przyjąderkowej, która bierze udział w produkowaniu histonów wchodzących w skład jąderka. Stąd dyfundują one ku błonie jądrowej i na zewnątrz błony jądrowej powodują intensywną syntezę nukleotydów rybozowych. Brachet natomiast ześrodkowuje całą syntezę kwasów nukleinowych w cytoplazmie i uważa, że kwasy nukleinowe jądra są wytworami późniejszych przemian. Zauważył on bowiem, że w czasie rozwoju jaja jeżowca ubywa kwasu rybonukleinowego w cytoplazmie, a przybywa ilość kwasu dezoksyrybonukleinowego w jądrze, podczas gdy ogólna ich suma pozostaje bez zmian. Podobnie Guberniew i Kowyrerw pobudzając ślinianki pilokarpiną do wydzielania obserwowali w jądrze wzrost kwasu dezoksyrybonukleinowego, który następnie ulegał przemianie na kwas rybonukleinowy.

Ten odwrotnie proporcjonalny stosunek pomiędzy kwasami dezoksyrybonukleinowym i rybonukleinowym można było obserwować i na preparatach komórek gruczołowych, które wydzielały w warunkach fizjologicznych i pod wpływem podania pilokarpiny. I w jednym i drugim przypadku zmniejszeniu ilości kwasu dezoksyrybonukleinowego

w jądrze odpowiadało zwiększenie kwasu rybonukleinowego w cytoplazmie. Te naprzemienne wahania kwasów nukleinowych w komórce związane z jej cyklem wydzielniczym wskazują na możliwości udziału jądra komórkowego w procesie wytwórczym cytoplazmy i współpracy kwasu rybonukleinowego z systemem Golgiego.

Fazom rytmu pracy systemu Golgiego, począwszy od I fazy, poprzez II i III towarzyszyła wybitna pyroninochłonność pola Golgiego przy równoczesnej ucieczce kwasu dezoksyrybonukleinowego z jądra i kwasu rybonukleinowego z jąderka. W fazie IV natomiast komórka znajdowała się już u szczytu procesu i wypelniona była pęcherzykami dojrzałej wydzieliny, widziało się nie tylko rozładowanie jądra, ale także ubytek kwasu rybonukleinowego w cytoplazmie. Prawdopodobnie więc kwas dezoksyrybonukleinowy przy udziale pewnych enzymów poprzez granula i mikrosoma kwasu rybonukleinowego i aparatu Golgiego przyczynia się do wytworzenia końcowego produktu przemiany, przy czym oba te kwasy zostają zużywane i ilość ich maleje.

Hyden przekonał się, że wyczerpanie mięśniowe u świnek morskich powodowało znaczny spadek ilości białek i kwasów nukleinowych w cytoplazmie komórek zwojowych rogów przednich rdzenia kręgowego. Również i analiza spektroskopowa wykazała, że ilość białek i kwasów nukleinowych w tych komórkach była około 5 razy mniejsza w porównaniu z komórkami zwierząt pozostających w spoczynku. Także Deschin zauważył ubytek kwasu rybonukleinowego w komórkach przysadki mózgowej po podrażnieniu ich pilokarpiną względnie prądem elektrycznym. Biorąc więc pod uwagę wyniki własne i wyniki uzyskane przez Casperssona, Bracheta, Hydena, Deschina i Skalską-Vorbrodt można przypuszczać, że kwas dezoksyrybonukleinowy jądra posiada zdolność przechodzenia w kwas rybonukleinowy cytoplazmy, oraz że oba kwasy biorą czynny udział w przemianach przetwórczych i wytwórczych komórki.

W przemianach komórki biorą również udział enzymy z grupy monoesterazy, a więc fosfataza zasadowa i fosfataza kwaśna, które różnią się między sobą optymalnym stężeniem jonów wodorowych. I jedną i drugą fosfatazę wyczerniliśmy na naszych preparatach według metod Gomoriego, przy czym zawsze tworzyły one w komórce wyraźne pole enzymatyczne odpowiadające umiejscowieniem polu czynnościowemu aparatu Golgiego i największemu skupieniu kwasu rybonukleinowego.

W komórkach głodzonych, w których procesy wydzielnicze były zwolnione uzyskano dodatni odczyn na fosfatazę zasadową przede wszystkim w strefie Golgiego i w niewielkiej odległości od jądra, w mniejszym stopniu zaś na biegunie wydzielniczym. W komórkach natomiast, które znajdowały się w II i III okresie wydzielniczym, i w których aparat Golgiego był przerosły i nadczynny, a kwas rybonukleinowy skupiał się właśnie w polu Golgiego nastąpiło prawdopodobnie przemianowanie wartości chemicznej cytoplazmy, bo odczyn na fosfatazę zasadową był ujemny a na fosfatazę kwaśną wybitnie dodatni. W komórkach wreszcie poddanych działaniu pilokarpiny, a zatem w komórkach zmuszonych do nadprodukcji wydzieliny – pól enzymatycznych nie można było, w naszych doświadczeniach, wykazać. Uzyskane wyniki wskazują zatem nie tylko na morfologiczną, ale także i na fizjologiczną współzależność pomiędzy fosfatazami a kwasami nukleinowymi i przemianami odbywającymi się w polu Golgiego. Oprócz współzależności można także domyślać się istnienia między fosfatazami a białkami i kwasami nukleinowymi chemicznej współpracy, w wyniku której zachowana jest ciągłość przemian cytoplazmatycznych. Zagadnienia te pozostają jednak nadal niewyjaśnione mimo licznych już dzisiaj prac biochemików i histochemików. Próby podjęte przez B o d i a n a i M e l l o r s a, K a b a t h a i F u r t h a, W i s ł o c k i e g o i D e m p s e y a, O h l m e y e r a, D u B o i s i P o t t e r a oraz C o r n e r a są zaledwie początkiem rozwiązywania wielkich zjawisk dynamiki przemian komórkowych.

Wnioski

1. Rozmieszczenie, struktura i wielkość aparatu Golgiego są obrazem pola dynamicznego komórki, w którym dokonuje się synteza i przeróbka produktu wydzielniczego. Pole dynamiczne Golgiego jest stale zmienne i uzależnione od postępu przemiany materii.
2. Fazom rytmu pracy aparatu Golgiego towarzyszy stopniowe rozładowywanie się jądra z kwasu dezoksyrybonukleinowego i jąderka z kwasu rybonukleinowego, przy równoczesnym nagromadzeniu się kwasu rybonukleinowego w strefie Golgiego. Rozładowywanie się jądra w okresie czynnym komórki może być dowodem udziału jęgo w procesie wytwórczym cytoplazmy.

3. Przerostowi i nadczynności aparatu Golgiego odpowiada ubytek kwasu dezoksyrybonukleinowego w jądrze. Istnieje zatem pomiędzy kwasem dezoksyrybonukleinowym a aparatem Golgiego odwrotnie proporcjonalny stosunek, który można było spostrzegać w II, III i IV fazie procesu wydzielniczego, i który może być, jak wydaje się, wyrazicielem współzależności fizjologicznej pomiędzy jednym a drugim.
4. Pole enzymatyczne komórki gruczołowej odpowiada umiejscowieniem polu czynnościowemu aparatu Golgiego i największemu skupieniu kwasu rybonukleinowego.
5. Można dopatrywać się chemicznej współpracy i czynnościowej współzależności pomiędzy fosfatazami a białkami i kwasami nukleinowymi w cytoplazmie komórki.

P I S M I E N N I C T W O

1. Beams H. W. — Studies on the vacuome and the Golgi — apparatus in the acinar cells of the pancreas of the Rat. *Anat. Record*. Vol. 45. str. 137—161. 1930.
2. Bodansky O. — The influence of magnesium and cobalt on the inhibition of phosphatases of bone, intestine, and osteogenic sarcoma by amino-acids. *Journ. Biol. Chem.* Vol. 179. str. 81—102. 1949.
3. Bodian D., Mellors R. C. — The regenerative cycle of motoneurons, with special reference to phosphatase activity. *Journ. Exper. Med.* Vol. 81. str. 469—472. 1945.
4. Bourne G. — The distribution of alkaline phosphatase in various tissues. *Quart. Journ. Exper. Physiol.* Vol. 32. str. 1—17. 1943.
5. Bowen R. H. — The Golgi—apparatus, its structure and functional significance. *Anat. Record* Vol. 32. 151—194. 1926.
6. Bowen R. H. — Golgi apparatus and vacuome. *Anat. Record* Vol. 35. str. 309—336. 1927.
7. Brachet J. — Le role et la localisation des acides nucleiques au cours du developpement embryonnaire. *C. R. Soc. Biol. Paris*. Vol. 132. str. 1241—1254. 1948.
8. Brasze Z. — Nukleinowyje kisloty w kletke i w zarodysze. *Sbornik statej. Nekotoryje problemy sowremennoj embryofizjologii*. Izd. Innostran. Liter. Moskwa, 1951. str. 255—277.
9. Caspersson T. — On the role of the nucleic acids in the cells. *Proc. Ser. Intern. Genet. Congr. Edinbourgh*. Vol. 85. 1939.
10. Caspersson T. — Die Untersuchung der Nukleinsäureverteilung im Zellkern. *Zeitsch. f. wissenschft. Mikrosk. u. f. mikr. Techn.* Vol. 53. str. 403—419. 1936.

11. Casperson T., Schultz J. — Ribonucleic acids in both nucleus and cytoplasm and the function of the nucleolus. Proc. Nat. Acad. Scien. Vol. 26. str. 507—509. 1940.
12. Chèvremont M., Firket H. — Phosphatase alcaline dans les cellules cultivées in vitro. Cpt. rend. Seanc. Soc. Biol. Paris. Vol. 143., str. 731—734. 1949.
13. Chodnik K. S. — Cytology of the glands associated with Alimentary Tract of Domestic Fowl (*Gallus domesticus*). Quart. Journ. micr. Scien. Vol. 89. str. 75—87. 1948.
14. Corner G. W. — Alkaline phosphatase in the ovarian follicles and corpora lutea. Science. Vol. 100. str. 270. 1944.
15. Deane H. W., Dempsey E. W. — The localization of phosphatases in the Golgi region of intestinal and other epithelial cells. Anat. Record. Vol. 93. str. 401—412. 1945.
16. Dorfman W. A., Epsztejn S. M. — Histochemia embrionalnoj dyfferencirovki. Gradient aktywnosti szczelocznoy fosfatazy w swiazi z dyfferencyrowkoj nerwnej trubki. Dokl. Akad. Nauk SSSR. Vol. 72. str. 1187—1189. 1950.
17. Dustin P. — Ribonucleic acid and the vital staining of cytoplasmic vacuoles in animal cells. Symp. Soc. Exper. Biol. Cambridge. At the Univers. Press. No 1. str. 114—126. 1947.
18. Emmel V. M. — Alkaline phosphatase in the Golgi zone of absorbing cells of the small intestine. Anat. Record Vol. 91, str. 39—45. 1945.
19. Gatenby J. B. — Study of Golgi apparatus and vacuolar system of *Cavia*, *Helix* and *Abraxus* by intra-vital methods. Proc. Roy. Soc. London (B). Vol. 104. str. 302—321. 1929.
20. Gatenby J. B., Leslie Ellis J. — The vertebrate neurone, the pituitary and sudan black. A short summary. La Cellule. Vol. 54. str. 151—160. 1951.
21. Gerebtzoff M. A., Ninane G., Firket H. — Mise en évidence de phosphatase alcaline au niveau des annexes du système nerveux et notamment des plexus choroides. C. R. Soc. Biol. Paris. Vol. 143. 1949.
22. Grzycki St. — The Golgi-Thomas spheroidal system in the glandular cells. Bull. d. l. Acad. Pol. Classe Math. Nat. Ser. II. B. str. 289—302. 1949.
23. Grzycki St. — System sferoidalny Golgi—Thomasa w komórkach gruczołowych. Sprawozd. Pol. Akad. Umiej. Kraków. Vol. 50. str. 313—315. 1949.
24. Grzycki St. — Badania doświadczalne nad rozmieszczeniem, budową i czynnością systemów sferoidalnych Golgi-Thomasa i ziarenek wydzielniczych (mitochondriów) w komórkach gruczołowych. Annales UMCS. Sectio D. Vol. 6. str. 297—322. 1951.
25. Grzycki St. — Wpływ temperatury na układ sferoidalny Golgi-Thomasa i ziarenka neurosekrecyjne w komórkach nerwowych zwojów mózgowych ślimaków (*Limnaea stagnalis* L.). Annales UMCS. Sectio D. Vol. 6. str. 223—249. 1951.
26. Grzycki St. — O tak zwanym polu czynnościowym Golgiego w komórkach zwojowych ślimaków ze szczególnym uwzględnieniem zagadnienia neurosekrecji. Annales UMCS. Sectio D. Vol. 6. str. 285. 1951.

27. Grzycki St., Staszyc J. — System sferoidalny i pole Golgiego w komórkach zwojowych ślimaków. *Annales UMCS. Sectio D. Vol. 6.* str. 251—269. 1951.
28. Grzycki St. — Cytochemical investigations of the nucleus and nucleolus of the glandular cell in various periods of the secretory activities with special reference to the secretory cycle of the Golgi apparatus. *Bull. d. l. Acad. Pol. Classe Sc. Math. Nat. Ser. B. II.* 1951.
29. Guberniew M. A., Kowyrw J. H. — O koliczestwennom izmenenii nukleinowych kislot w sljunnych zelezach sobaki pri sekrecji. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR. Vol. 65.* str. 49—52. 1949.
30. Guberniew M. A., Ilina L. I. — Skorost obnowlenia fosfora•nukleoproteidow pischczewaritelnych zelezow. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR. Vol. 71.* str. 351—353. 1950.
31. Guberniew M. A., Kowyrw J. H. — O koliczestwennom izmenenii nukleinowych kislot w podzeludocznoj zelezie i peczeni sobaki pri sekrecji. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR. Vol. 68.* str. 889—891. 1949.
32. Hirsch G. C. — Form und Stoffwechsel der Golgi Körper. *Protoplasma Monographien. Vol. 18.* Berlin. Borntraeger. str. 1—269. 1939.
33. Hirsch G. C. — Dynamik der Sekretions — Systeme. *Verhandl. d. Deutsch. Zoolog. in Kiel 1948.* str. 226—232. Akad. Verlagsgesellschaft. Geest u. Portig K. G. in. Leipzig.
34. Hirschler J. — Appareil de Golgi — vacuome au cours de la spermatogenese chez *Macrothylaxis rubi* L. *C. R. Soc. Biol. Paris. Vol. 98.* str. 145—146. 1928.
35. Hosselet C. — Etude du chondriome et du vacuome des glandes salivares des Phryganides. *C. R. Soc. Biol. Paris. Vol. 97.* str. 450—453. 1927.
36. Hoven H. — Contribution a l'etude du fonctionnement des cellules glandulaires. Du role du chondriome dans le secretion. *Arch. f. Zellforsch. Vol. 8.* str. 555—611. 1912.
37. Hyden H. — Protein and nucleotide metabolism in the nerve cells under different functional conditions. *Symp. Soc. Exper. Biol. Cambridge. 1947.* str. 162—169.
38. Jacoby F., Martin B. F. — The histochemical test for alkaline phosphatase. *Nature. Vol. 163.* str. 875—876. 1949.
39. Kabat E. A., Furth J. — A histochemical study of the distribution of alkaline phosphatase in various normal and neoplastic tissues. *Amer. Journ. Pathol. Vol. 17.* str. 303—318. 1941.
40. Kedrowsky B. W. — Wnutrikletocznyj aparat Goldży. *Usp. Sowr. Biol. Vol. 23.* str. 375—404. 1947.
41. Kedrowsky B. W. — Ribonukleinowaja kislota i ee rol w razwitii i funkcii kletki. *Usp. sowr. Biol. Vol. 31.* str. 38—56. 1951.
42. Kirkman H., Severinghaus A. E. — A review of. the Golgi apparatus. I. *Anat. Record. Vol. 70.* str. 413—431. 1938.
43. Kirkman H., Severinghaus A. E. — A review of the Golgi apparatus II. *Anat. Record. Vol. 70.* str. 557—573. 1938.

44. Kirkman H., Severinghaus A. E. — A review of the Golgi apparatus III. *Anat. Record*. Vol. 71. str. 79—103. 1938.
45. Kobusówna B. A. Wpływ alkoholi niskoprocentowych na proces wydzielniczy komórek gruczołowych tarczycy, ze szczególnym uwzględnieniem systemu sferoidalnego Golgi-Thomasa, chondriomu i kwasów nukleinowych. *Annales UMCS. Sectio D.* w druku.
46. Kurkiewicz T. — Sur le participation du noyau cellulaire a la production d'adrenaline. *Bull. Assoc. Anat. Varsovie*. str. 152—255. 1931.
47. Lasfargues E., Di Fine J. — Colorations vitales en culture de Tissus et physiologie de l'appareil de Golgi. *Bull. Histol. Appl.* Vol. 27. str. 25—34. 1950. •
48. Lever J. — On the position of the Golgi — apparatus in the thyroidcell under normal and experimental conditions. *Proc. Kon. Nederl. Akad. v. Wetensch.* Vol. 50. str. 1365—1369. 1947.
49. Lewynson L. B., Platonowa G. N. — O swiazi między bazofilnymi wieszczestwami komórki i nowrosekrecji. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR.* Vol. 58. str. 1769—1772. 1947.
50. Lewynson L. B., Platonowa G. N. — Nowrosekretornyje komórki medonosnej pszczoły. *Dokl. Akad. Nauk SSSR.* Vol. 60. str. 129—132. 1948.
51. Lewynson L. B., Utyna I. A. — Cytologia nowrosekretornego procesu u bezkręgowców amfibiów. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR.* Vol. 66. str. 269—272. 1949.
52. Lewynson L. B., Kanarskaja Z. P. — Zawieranie ribonukleinowej kwasoty w komórce w czasie dzielenia. *Dokl. Akad. Nauk SSSR.* Vol. 58. str. 2067—2070. 1947.
53. Lewynson L. B., Łahowa N. D. — Wzajemność między kwasoty nukleinowych kwasoty przy mitozie w procesie rozwoju organizmu. *Dokl. Akad. Nauk SSSR.* Vol. 65. str. 547—550. 1949.
54. Łarionow L., Brumberg E. — Ultra-violet absorption in living and dead cells. *Nature*. Vol. 158. str. 4019. 1946.
55. Ma Wen Chao. — The relation of mitochondria and other cytoplasmic constituents to the formation of secretion granules. *Amer. Journ. Anat.* Vol. 41. str. 51—63. 1928.
56. Maziariski St. — Recherches cytologiques sur les phenomenes secretoires dans les glandes filieres des larves des Lepidopteres. *Arch. f. Zellforsch.* Vol. 6. str. 397—442. 1911.
57. Nassonow D. N. — Das Golgische Binnenetz und seine Beziehungen zu der Sekretion. Morphologische und experimentelle Untersuchungen an einigen Säugtierdrüsen. *Arch. f. mikr. Anat.* Vol. 100. str. 433—472. 1923.
58. Ohlmeyer P. — Experimentelle Bindung von Eiweisskörpern an Zellkerne und Nukleinsäuren (kurze Mitteilung). *Biochim. Biophysiol. Acta.* Vol. 4. str. 229—231. 1950.
59. Parat M. — Contribution a l'etude morphologique et physiologique du cytoplasme, chondriome, vacuome (appareil de Golgi), enclaves etc. Ph. oxydases, Rh de la cellule animale. *Arch. d. Anat. micr.* Vol. 24. str. 73—357. 1928.

60. Parat M., Painleve J. — Role du vacuome (appareil de Golgi) et du chondriome dans la formation des grains de secretion. C. R. Soc. Biol. Vol. 92. str. 65—66. 1925.
61. Pawlikowski T. — Unaczynienie istoty rdzennej nadnercza psa w związku z czynnością gruczołową komórek adrenalinogennych. IV. Aparat siateczkowy wewnętrzny Golgi-Kopscha. Fol. Morphol. Vol. 2. str. 218—238. 1937.
62. Pawlikowski T. — Z badań nad tkanką chromochłonną adrenalinogenną nadnerczy kręgowców. Pozn. Tow. Przyj. Nauk. Vol. 5. str. 189—316. 1938.
63. Polenow A. L. — Morfologia newrosekretornych kłetek hypotalamusa i wopros a swiazi etich kłetek z gondadotropnoj funkciej hypofiza u sazana i zerkalnowo karpa. Dokł. Akad. Nauk. SSSR. Vol. 73. str. 1025—1028. 1950.
64. Poluszyński G. — Vacuome et appareil de Golgi au cours de la spermatogenese chez la Panorpe (*Panorpe communis* L.). C. R. Soc. Biol. Paris. Vol. 100, str. 780—782. 1929.
65. Rabinowitch M., Junqueira L. C., Fajer A. — A chemical and histochemical study of the technic for acid phosphatase. Stain Tech. Vol. 24. str. 147—156. 1949.
66. Ross H. M., Ely J. O. — Alkaline phosphatase activity and desoxyribonucleic acid. Journ. Cell. Comp. Physiol. Vol. 34. str. 71—95. 1949.
67. Roskin G. J., Struwe M. E. — Cytochemiczne izmenenia ribonukleinoj kisłoty i arginina w procesie delenia kłetek. Dok. Akad. Nauk SSSR. Vol. 58. str. 2071—2073. 1947.
68. Roskin G. J. — W woprosu ob obmene weszczestw meźdu jadrom i cytoplazmój wo wremia mitoza. Dokł. Akad. Nauk. SSSR. Vol. 69. str. 585—587. 1949.
69. Sajner J. — Mitochondrie a Golgiho aparat. Biol. Listy. Vol. 28. str. 186—193. 1947.
70. Sluiter J. W. — On the function of the Golgi-apparatus in the exocrine pancreas cell. I.: Structural variability of the Golgi apparatus. Proc. Kon. Nederl. Akad. Wetensch. Vol. 51. str. 353—357. 1948.
71. Sluiter J. W. — Das Restitutionsproblem in der Pankreaszelle. I. Die Bedeutung des Golgi-Apparates. Zeitsch. f. Zellforsch. Abt. A. Vol. 33. str. 187—224. 1944.
72. Sluiter J. W. — On the function of the Golgi-apparatus in the exocrine pancreas. II. Experimental quantitative etudy on the relationship between Golgi-vacuoles and pro-enzyme granules. Proc. Kon. Nederl. Akad. Wetensch. Amsterdam. Vol. 51. str. 503—512. 1948.
73. Skalska-Vorbrodt J. — Badania doświadczalne nad udziałem jądra komórkowego w procesie wydzielniczym gruczołów ślinowych. Annales UMCS. Sectio D. Vol. VII. 1952.
74. Słaszyc J. — Badania doświadczalne nad wpływem wyciągów tylnego płata przysadki mózgowej na system sferoidalny Golgi-Thomasa i mitochondria komórek chromochłonnych nadnerczy. Annales UMCS. Sectio D. Vol. VII. 1952.
75. Szubnykowa E. — Ribonukleinowaja kisłota w cykle ژیżni protozojnoj kłetki. Dokł. Akad. Nauk. SSSR. Vol. 55. str. 521—524. 1947.

76. T a r a o S. — Microchemical studies on the Golgi apparatus using proteasensile blue sulphate techniques. Journ. Facul. Scien. Hekkaide. Vol. 7. Ser. VI. str. 1—28. 1939.
 77. T h o m a s O. L. — A study of the spheroid system of sympathetic neurones with special reference to the problem of neurosecretion. Quart. Journ. Microsc. Scien. Vol. 89. str. 333—350. 1948.
 78. T s c h a s s o w n i k o w N. — Die Beziehung der Golgi-Netze zum Protoplasma der Drüsenzellen und die Bedeutung der Zentralkörperchen für die Sekretionsprozesse. Arch. Russ. Anat. Histol. u. Physiol. Vol. 8. str. 7—23 i 87—100. 1929.
 79. V e r c a u t e r e n R. — La signification cytochimique de la coloration d'Unna-Pappenheim. Arch. Intern. d. Physiol. Vol. 57. str. 214—219. 1949.
 80. W i s l o c k i G. B., D e m p s e y E. W. — Observations on the chemical cytology of normal blood and hemopoietic tissues. Anat. Record. Vol. 96. str. 249—253. 1946.
 81. W i s l o c k i G. B., D e m p s e y E. W. — The chemical histology and cytology of the pineal body and neurohypophysis. Endocrinology. Vol. 42. str. 56—72. 1948.
 82. W i s l o c k i G. B., D e m p s e y E. W. — Histochemical reactions of the endometrium in pregnancy. Amer. Journ. Anat. Vol. 77. str. 325. 1945.
 83. W o r l e y L. G. Studies of vitally stained Golgi apparatus. III. The methylene blue technique and some of its implications. Journ-Morphol. Vol. 75. str. 261—280. 1944.
 84. W o r l e y L. G. — The Golgi apparatus. An interpretation of its structure and significance. Annal. New. York Acad. Scien. Vol. 47. str. 1—56. 1946.
-

РЕЗЮМЕ

Участие нуклеиновых кислот в деятельности тканей развивающихся и уже развитых клеток было изучаемо многими авторами, но прежде всего Брашето, Касперссоном, Гиденом, Вислоцким, Демпсеем, Левинсоном и Утиной, Левинсоном и Платоновой, Губерневым и Илиной, Губерневым и Ковыревой, Кедровским и за последнее время Скаржинским, Блехарским и Скальской-Форбротт. Экспериментальный материал, а равно методы цитохимических исследований, производимых упомянутыми выше авторами, разные, однако красящий реактив Шиффа-Фейлгена для дезоксирибонуклеиновой кислоты, а также красящий реактив Унны с метиловой зеленью и пиронином для дезоксирибонуклеиновой и рибонуклеиновой кислот занимают одно из самых важных мест.

Ценность этих реактивов подкреплена исследованиями абсорбции лучей UV о длине волны 2630 Angstr. (Касперссон, Ларионов, Брумберг), а также применением деполимеризирующих энзимов, как напр. рибонуклеазы (Дибос, Браше, Куниц, Турхини).

При помощи указанных выше цитохимических методов удалось обнаружить обе нуклеиновые кислоты, а именно дезоксирибонуклеиновую кислоту в ядрах, и рибонуклеиновую кислоту в цитоплазме и ядрышках. Взаимоотношения обеих этих кислот выразились в их локализации, расположении и количестве, а также в изменчивости красящего реактива. Изучение этого взаимоотношения в железистых клетках в разные стадии секреции привело к заключению, что нуклеиновые кислоты принимают активное участие в жизненных процессах клетки, а между прочим во внутриклеточном синтезе белков. Касперссон выдвинул предположение, что главным возбудителем синтеза является ядро, в особенности околядрышковый хроматин, принимающий участие в выработке гистонов, входящих в состав ядрышка. Оттуда гистоны диффундируют в направлении к ядерной оболочке и вне ее

вызывают интенсивный синтез рибонуклеотидов. По мнению Брашета, весь синтез нуклеиновых кислот сосредоточивается в цитоплазме. Он считает, что нуклеиновые кислоты являются продуктом позднейших перемен, так как заметил, что во время развития яйца морского ежа, уменьшается количество рибонуклеиновой кислоты в цитоплазме, а возрастает количество дезоксирибонуклеиновой кислоты в ядре, в то время как общее количество этих кислот остается неизменным. Аналогично, Губернев и Ковырева, побуждая слюнные железы к выделению при помощи пилокарпина наблюдали в ядре возрастание количества дезоксирибонуклеиновой кислоты, которая затем подвергалась превращению на рибонуклеиновую кислоту.

Это обратно пропорциональное отношение между дезоксирибонуклеиновой и рибонуклеиновой кислотами можно было наблюдать также и на препаратах железистых клеток, которые выделяли свой секрет в физиологических условиях под влиянием введенного пилокарпина. И в одном и в другом случае уменьшению количества дезоксирибонуклеиновой кислоты в ядре соответствовало увеличение рибонуклеиновой кислоты в цитоплазме. Эти попеременные балансирования нуклеиновых кислот в клетке, связанные с ее секреторным циклом, указывают на возможность участия ядра в продуктивном процессе цитоплазмы и в сотрудничестве рибонуклеиновой кислоты с аппаратом Гольджи.

Период ритма работы аппарата Гольджи, начиная с первой фазы, через II и III сопровождался очень сильной поглощаемостью пиронина полем Гольджи при одновременном убытке дезоксирибонуклеиновой кислоты в ядре и рибонуклеиновой кислоты в ядрышке. В четвертой же фазе, когда процесс секреции достигал своего максимума и клетка была заполнена пузырьками вполне зрелого продукта, наблюдалось не только разгружение ядра, но также убыток рибонуклеиновой кислоты в цитоплазме. Следовательно дезоксирибонуклеиновая кислота, повидимому, при участии некоторых энзимов через гранулы и микросомы рибонуклеиновой кислоты, а также и аппарат Гольджи содействуют образованию конечного продукта обмена, причем обе эти кислоты израсходуются и их количество уменьшается.

В процессах обмена веществ в клетке участвуют также энзимы из группы моноэстераз, именно щелочная и кислая фосфатазы, которые отличаются между собой оптимальным на-

сыщением водородными ионами. И одна, и другая фосфатаза на наших препаратах окрашивалась в черный цвет по методу Гомори, причем эти ферменты образовали в клетке ясно выраженное энзиматическое поле, соответствующее локализации функциональному полю аппарата Гольджи и наибольшему нагромождению рибонуклеиновой кислоты.

В клетках, моренных голодом, в которых выделительные процессы были замедлены, получено положительную реакцию на щелочную фосфатазу прежде всего в ближайшем соседстве аппарата Гольджи и на небольшом расстоянии от ядра, в гораздо меньшей степени на выделительном полюсе. В тех же клетках, которые находились во II и III выделительных фазах и в которых аппарат Гольджи был очень сильно развит и функционировал сверх меры, а рибонуклеиновая кислота скоплялась именно в поле аппарата Гольджи, наступило, по-видимому, изменение химических свойств цитоплазмы, так как реакция на щелочную фосфатазу оказалась отрицательной, а на кислую фосфатазу сильно положительной. Наконец, в клетках подвергнутых действию пилокарпина, следовательно в клетках принужденных к гиперпродукции секрета, нельзя было в наших экспериментах обнаружить энзиматических полей. Полученные результаты указывают не только на морфологическую, но и на физиологическую зависимость между фосфатазами, а нуклеиновыми кислотами и изменениями, происходящими в поле аппарата Гольджи. Кроме выше упомянутой зависимости можно еще догадываться существования химического содействия, между фосфатазами а белками и нуклеиновыми кислотами, благодаря которому сохраняется непрерывность цитоплазматических перемен. Однако эти проблемы остаются все еще невыясненными, несмотря на многочисленные уже в настоящее время работы био- и гистохимиков, посвященные этим вопросам. Работы Бодиа на и Меллорса, Кабата и Фурта, Вислоцкого и Демпсея, Олмейера, Ди Буа и Поттера а также Корнера являются лишь первой попыткой разрешения великих явлений динамики перемен, происходящих в клетках.

В ы в о д ы

1. Размещение, структура и величина аппарата Гольджи составляют изображение динамического поля клетки, в котором происходят синтез и переработка выделительного продукта.

Динамическое поле аппарата Гольджи постоянно изменяется и зависит от обмена веществ клетки.

2. Фазам ритма работы аппарата Гольджи сопутствует постепенная утрата ядром дезоксирибонуклеиновой кислоты, и ядрышком рибонуклеиновой кислоты, причем нагромождается одновременно рибонуклеиновая кислота в зоне аппарата Гольджи. Эта утрата ядром дезоксирибонуклеиновой кислоты в период активности клетки может служить доказательством участия его в продуктивном процессе цитоплазмы.

3. Переросту и гиперфункции аппарата Гольджи соответствует убыток дезоксирибонуклеиновой кислоты в ядре. Следовательно между дезоксирибонуклеиновой кислотой и аппаратом Гольджи существует обратно пропорциональное отношение, которое можно было наблюдать во II, III и IV фазах выделительного процесса и которое, как кажется, может выражать физиологическую зависимость между упомянутой кислотой и аппаратом Гольджи.

4. Энзиматическое поле железистой клетки соответствует своей локализацией функциональному полю аппарата Гольджи и наибольшему скоплению рибонуклеиновой кислоты.

5. Можно выдвинуть предположение, что между фосфатазами а белками и нуклеиновыми кислотами в цитоплазме клетки существуют химическое содействие и функциональная зависимость.

ОБЪЯСНЕНИЯ К МИКРОФОТОГРАФИЯМ

- Микрофот. 1. Железистые клетки неба курицы, моренной голодом 48 часов. Аппарат Гольджи расположен у основания клетки или вокруг нижнего полюса ядра (а). Ураново-серебрянный метод *R. y Cajal*.
- Микрофот. 2. Ядра железистых клеток неба курицы, моренной голодом 48 часов. Зерна дезоксирибонуклеиновой кислоты рассеяны в ядерной плазме: большие скопления зерен видны вблизи ядерной оболочки и вокруг ядрышка. Околоядрышковая зона широка (*SP*). Реакция Фейлгена-Россенбека. Увеличение около 3000 х.
- Микрофот. 3. Железистые клетки неба курицы в 3 часа после кормления. Сильно увеличенный аппарат Гольджи находится на верхнем полюсе ядра. Заметны утолщения зернышек аппарата Гольджи. Ураново-серебрянный метод *R. y Cajal*.
- Микрофот. 4. Аппарат Гольджи в железистых клетках неба курицы. Утолщенная нить аппарата Гольджи имеет ясно выраженную зернистую структуру. Увеличены зернышки аппарата (*G*) и сфероидальные тельца (*S*) Ураново-серебрянный метод *R. y Cajal*. Увеличение около 2500 х.
- Микрофот 5. Аппарат Гольджи в железистых клетках неба курицы во время III-ей функциональной стадии. Большое количество сфероидальных телец (*S*) с хорошо заметными *Golgi externum* и *Golgi internum* Разрез наискось. Ураново-серебрянный метод *R. y Cajal*. Увеличение около 2500 х.
- Микрофот. 6. Ядра железистых клеток во время III-го выделительного периода. Уменьшение количества зерен дезоксирибонуклеиновой кислоты и околоядрышковой зоны (*SP*). Дезоксирибонуклеиновая кислота (*G*) локализована вблизи ядерной оболочки (*BJ*) в виде зерн различной величины и разной степени окраски. Метод Унны-Паппенгейма. Увел. ок. 2500 х
- Микрофот. 7. Энциматическое поле кислой фосфатазы железистых клеток неба курицы во время III-ей функциональной стадии. Окрашенные в черный цвет зернышки соответствуют локализацией функциональному полю аппарата Гольджи. Метод Гомори. Объяснение в контексте.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Teilnahme von Nukleinsäure in der Tätigkeit des Gewebes und der sich entwickelnden und entwickelten Zellen ist schon von vielen Autoren erörtert worden und vor allem von Brachet, Caspersson, Hyden, Wislocki, Dempsey, Lewynson und Utyna, Lewynson und Platonowa, Guberniew und Ilina, Guberniew und Kowyrew, Kedrowski und zuletzt von Skarzyński, Blicharski und Skalska-Vorbrodt.

Das Versuchsmaterial sowie die Versuchsrichtungen von cytochemischen Untersuchungen, welche von den oben erwähnten Autoren durchgeführt wurden, waren verschieden, gewöhnlich aber nimmt die Farbreegenz von Schiff-Feulgen für Desoxyribonukleinsäure und die Farbreegenz von Unna mit Methylgrün und Pyronin für Desoxyribonuklein und Ribonukleinsäure eine der wichtigsten Stellungen ein.

Der Wert dieser Reagenzen ist durch Absorbtionsexperimente der UV Strahlen von Wellenlänge 2630 Angstr. (Caspersson, Larrisonow, Brumberg) und durch Anwendung von depolimerisierenden Enzymen, wie zum Beispiel, von Ribonuklease (Dubos, Brachet, Kuntz, Turchini) behauptet worden.

Die oben erwähnten cytochemischen Untersuchungen stellen das Vorhandensein der beiden Nukleinsäuren fest, damit auch der Desoxyribonukleinsäure in den Kernen und Ribonukleinsäure in der Zytoplasma und den Kernchen.

Das Verhältniss dieser beiden Säuren zueinander wurde durch Lokalisierung, Anordnung, Anzahl und auch durch Veränderlichkeit der Farbreegenz ausgedrückt.

Die Überprüfung also dieses Verhältnisses in den Drüsenzellen in verschiedenen Sekretionsperioden führte zum Schlusse, dass Nukleinsäuren einen aktiven Anteil in den Lebensprozessen der Zellen und unter anderen auch in der innerzelligen Syntese des Eiweisses nehmen. Caspersson stellte die Vermutung auf, dass der Hauptimpuls der Syntese vom Kern ausgeht und vor allen Dingen aus dem Beikernchenchromatin, welches einen aktiven Anteil in der Produktion von Histonen, die zu dem Kernchen zugehörig sind, nimmt.

Von hier aus difundieren sie zur Zellhaut und verursachen ausserhalb der Zellhaut eine intensive Synthese von ribozowischen Nukleotiden.

Brachet dagegen konzentriert die ganze Nukleinsäuresynthese in der Zytoplasma und ist der Meinung, dass die Nukleinsäuren des Kernes ein Produkt von späteren Umwandlungen sind.

Er hatte nämlich beobachtet, dass in der Entwicklungsperiode des Eies des Seeigels Ribonukleinsäure in der Zytoplasma abnimmt und die Menge von Desoxyribonukleinsäure im Kern zunimmt, wobei ihre ganze Menge ohne Veränderung bleibt.

Auf ähnliche Weise haben Guberniew und Kowjrew, indem sie die Speicheldrüsen mit Pilokarpin zur Sekretion anreizen, im Kern einen Zuwachs von Desoxyribonukleinsäure beobachtet, welche nachher einer Umwandlung in Ribonukleinsäure unterlag.

Dieses umgekehrt proportionale Verhältniss zwischen Desoxyribonuklein und Ribonukleinsäuren hat man auch an Präparaten von Drüsenzellen beobachten können, welche in physiologischen Bedingungen und unter Einfluss von Pilokarpineingabe auschieden.

In einem und dem anderen Falle entsprach der Verminderung der Anzahlmenge von Desoxyribonukleinsäure im Kern, eine Vergrösserung von Ribonukleinsäure in der Zytoplasma.

Die Wechselschwankungen von Nukleinsäure in der Zelle, welche mit ihrem Sekretionszyklus verbunden sind, zeugen von der Möglichkeit einer Anteilnahme des Zellkernes im Produktionsprozess der Zytoplasma und einer Mitarbeit von Ribonukleinsäure mit dem Golgisystem.

Den Phasenrhythmus der Arbeit des Golgisystems ab I. Phase an, durch II und III Phase hindurch begleitete eine ausgezeichnete Pyrolineinsaugung des Golgifeldes bei gleichzeitiger Flucht von Desoxyribonukleinsäure aus dem Kern und Ribonukleinsäure aus dem Kernchen.

In der IV Phase dagegen, als die Zelle sich schon in ihrem Prozessgipfel befand und mit Bläschen von reifem Sekret ausgefüllt war, sah man nicht nur das Entladen des Kernes, aber gleichfalls eine Abnahme von Ribonukleinsäure in der Zytoplasma.

Höchstwahrscheinlich also trägt die Desoxyribonukleinsäure, bei Anteilnahme von gewissen Enzymen vermittels Granula und Microsoma von Ribonukleinsäure und mit Anteilnahme des Golgiapparates zur

Produktion von Endprodukten von Umwandlungen bei, wobei beide Säuren verbraucht werden und ihre Menge sich dadurch verringert.

In der Zellenumwandlung nehmen auch Enzyme der Monoestere-azegruppe, also alkalische Phosphatase und saure Phosphatase, welche sich untereinander durch eine optimale Konzentration von Wasserstoffionen unterscheiden, teil.

Die eine und die andere Phosphatase haben wir in unseren Präparaten nach der Methode von Gomori ausgeschwärzt, wobei sie immer ein klares enzymatisches Feld in der Zelle bildeten, welches der Lokalisierung des Aktionsfeldes des Golgiapparates und der grössten Anhäufung von Ribonukleinsäure entsprach.

In Zellen, die gehungert wurden und in welchen Sekretionsprozesse verlangsamt wurden, erhielt man positive Reagenz auf alkalische Phosphatase vor allem in der Umgebung von Golgi und in kleinem Abstand vom Kern, aber in kleineren Masse auf dem Ausscheidungspol.

In den Zellen dagegen, welche sich in der II und III. Sekretionsperiode befanden und in welchen der Golgiapparat überwachsen und überaktiv war, die Ribonukleinsäure aber gerade im Felde von Golgi angehäuft war, entstand höchstwahrscheinlich eine Umwandlung des chemischen Wertes der Zytoplasma, denn die Reagenz auf alkalische Phosphatase war negativ und auf saure Phosphatase ausgezeichnet positiv.

In den Zellen schliesslich, welche einer Aktion von Pilocarpin unterworfen worden waren, folglich in Zellen, welche zur Sekretüberproduktion gezwungen worden waren, konnte man in unseren Forschungen die Enzymfelder nicht anzeigen.

Die erlangten Ergebnisse weisen nicht nur auf eine morphologische aber auch auf eine physiologische Mitabhängigkeit zwischen Phosphatasen und Nukleinsäuren und auf ihre Umwandlungen, welche sich im Golgifelde abspielen, hin.

Ausser der Mitabhängigkeit kann man auch die Mutmassung aufstellen, dass zwischen den Phosphatasen und dem Eiweiss und sogar den Nukleinsäuren eine chemische Mitarbeit besteht, in Folge welcher eine Dauerhaftigkeit von zytoplasmatischen Umwandlungen erhalten bleibt.

Die Probleme bleiben, ungeachtet der heute schon zahlreichen Nachforschungen von Bio — und Histochemikern, immernoch weiterhin unaufgeklärt.

Die von Bodian und Mellors, Kabath und Furth, Wislocki und Dempsey, Ohlmeyer, Du Bois und Potter, und Corner unternommenen Proben sind kaum ein Anfang der Lösung von grossen Erscheinungen der Zellenumwandlungsdynamik.

Folgerungen

1) Die Dislokation, die Struktur und die Grösse des Golgiapparates sind ein Abbild vom dynamischen Felde einer Zelle, in welcher die Syntese und die Umwandlung des Sekretionsproduktes stattfindet. Das dynamische Golgifeld ist stets veränderlich und von dem Fortschritt der Materialumwandlung abhängig.

2) Die Phasen des Arbeitsrythmuses des Golgiapparates begleitet eine stufenweise Ausladung des Kernes von der Desoxyribonukleinsäure und des Kernchens von Ribonukleinsäure bei gleichzeitiger Ansammlung von Ribonukleinsäure in der Golgizone.

Der Ausladungsprozess des Kernes in der aktiven Periode der Zelle kann ein Beweis für seine Anteilnahme im Produktionsprozess der Zytoplasma sein.

3) Dem Überwuchs und der Überaktivität des Golgiapparates entspricht eine Abnahme von Desoxyribonukleinsäure im Kern. Es besteht also zwischen der Desoxyribonukleinsäure und dem Golgiapparat ein umgekehrt proportionelles Verhältniss, welches man in der II, III und IV Phase des Ausscheidungsprozesses bemerken konnte und welches, wie es scheint, ein Darsteller einer physiologischen Mitabhängigkeit zwischen dem einen und dem anderen sein kann.

4) Das Enzymfeld der Drüsenzelle entspricht einer Lokalisierung des Aktionsfeldes des Golgiapparates und einer grössten Ansammlung von Ribonukleinsäure.

5) Man kann einer chemischen Arbeitsanteilmahme und einer aktiven Mitabhängigkeit zwischen Phosphatasen und Eiweiss und den Nukleinsäuren in der Zytoplasma der Zelle gewahr werden.

