ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE - SKŁODOWSKA
LUBLIN – POLONIA
VOL. VI, 15. SECTIO D 1951

Z Zakładu Histologii i Embriologii Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Lublinie
Kierownik: Prof. kontr. Doc. dr med. Stanisław Grzycki

Stanisław GRZYCKI

O tak zwanym polu czynnościowym Golgiego w komórkach zwojowych ślimaków ze szczególnym uwzględnieniem zagadnienia neurosekrecji

О так называемой функциональной зоне Гольджего в ганглиозных клетках улиток с особенным учтением вопроса нейросекреции

Some observations on the so-called Golgi dynamic area in the ganglion cells of the snails with special reference to the problem of neurosecretion

Brodersen (1915), Nassonow (1923—1926), Koehring (1942), Hirsch (1931—1939), Tanaka (1932), Ludford (1935), Bourne (1942), Worley (1944—1946), Gatenby, Tohamy i Moussa (1948) oraz inni posługując się barwnikami kwaśnymi i zasadowymi w przyżyciowych badaniach nad aparatem Golgiego zwrócili uwagę nie tylko na morfologię i strukturę aparatu, ale także na jego fizjologię. Rozmieszczenie, wielkość i struktura aparatu Golgiego, jak podajemy w naszych pracach (1949—1951), są obrazem pola dynamicznego komórki, w którym dokonuje się synteza i przeróbka produktu wydzielniczego. Pole dynamiczne zatem jest stale zmienne i uzależnione od postępu przemiany materii w komórce.

Emmel (1945), Tarao (1939), Takamatsu (1939), Kabat i Furth (1941), Deane i Dempsey (1945) oraz inni wykorzystując w badaniach cytologicznych metodykę Golgiego

i jej modyfikacje znajdowali w polu Golgiego fosfatazę kwaśną albo zasadową. Zmieniło to całkowicie dotychczasowe pojęcie o aparacie Golgiego, który stał się strukturą czynnościową, ściśle mówiąc ośrodkiem czynności enzymatycznej. Także Lasfargues i Di Fine (1950) barwiąc azurem B, przyżyciowo, w hodowli fibroblasty kurczęcia i fibroblasty 8-letniego doświadczalnego nowotworu (sarcoma) myszy, mogły wykazać w tych komórkach odmienne zabarwienie strefy Golgiego, co wskazywało nie tylko na specyficzność tej strefy, ale także na czynnościowy charakter aparatu Golgiego.

Rozpracowując zagadnienie neurosekrecji komórek zwojowych u ślimaków postanowiliśmy więc użyć do badań barwnika trójmetyl tioniny (azur B) i przeprowadzić obserwacje nad neuronami żywymi. Wydawało się nam bowiem, że na tej drodze można będzie prześledzić udział systemu Golgiego w procesie neurosekrecji.

Materiał doświadczalny i metodyka badań

Cytologiczne obserwacje były przeprowadzone nad żywymi komórkami nerwowymi zwojów mózgowych ślimaków *Helix pomatia* L. i *Limnaea stagnalis* L. Neurony ruchowe Hanströma były wypreparowywane z postcerebrum przy użyciu lupy stereoskopowej i oglądane w 0,7% wodnym roztworze chlorku sodowego z dodatkiem 10% chlorku wapnia w ilości 0,2%. Neurony miały przeważnie wygląd komórek jednobiegunowych, których wypustka osiowa po krótkim przebiegu dzieliła się drzewkowato.

Po odsączeniu przy pomocy bibuły filtracyjnej nadmiaru płynu fizjologicznego z preparatu, nalewano 1/1000 oraz 1/10000 roztwór trójmetyl tioniny. Barwnik ten otrzymaliśmy z błękitu metylenowego i z błękitu toluidyny według przepisu Lasfargues i Di Fine. Po 2—10 minutach barwienia preparat opłukiwano dokładnie płynem fizjologicznym i nakrywano szkiełkiem przykrywkowym. Preparaty oglądano natychmiast po zabarwieniu, ponieważ okazało się, że już po 50 i dalszych minutach cytoplazma komórek mętniała, pole Golgiego zaś początkowo nieznacznie powiększało się, a następnie odbarwiało się niemal całkowicie.

Badania własne

Po 2—3 minutach wynik barwienia 0,0001% i 0,001% trójmetylem tioniny był słaby, niemniej jednak cytoplazma niektórych neuronów w okolicy stożka aksonowego miała słabe niebiesko-różowe zabarwienie. Było ono najznaczniejsze w strefie przyjądrowej, oraz okazywało drobnoziarnistą i wodniczkową strukturę, przy czym ziarenka były zawsze wyraźniej zabarwione w porównaniu z wodniczkami. Mitochondria, jądro, jąderko i inne struktury cytoplazmatyczne były niezabarwione. Przedłużenie czasu barwienia preparatów do 4, 5 i 6 minut wzmocniło stopień wybiórczego zabarwienia ograniczonego pola w niepodbarwiającej się cytoplazmie. Umiejscowienie i struktura tych pól obserwowana pod dużym powiększeniem, były prawie zawsze jednakowe we wszystkich komórkach, podczas gdy wielkość ich różniła się nie tylko u *Helix* i *Limnaea,* ale także w jednym i tym samym zwoju mózgowym. Barwienie przez 7, 8, 9 i 10 minut nie wprowadziło wyraźniejszych zmian w nasileniu wysycenia odczynu barwnego w obrębie pola Golgiego. W 9—10 minucie najczęściej widziało się już delikatne podbarwienie cytoplazmy i jądra na kolor niebiesko-fioletowy z równoczesnym zjawieniem się dużych, niebieskich wodniczek na obwodzie niektórych komórek. Wodniczki te nie okazywały zdolności do zgrupowywania się w stożku aksonowym, a umiejscowieniem, wielkością i sposobem barwienia się raczej nie zdradzały swojej przynależności do pola Golgiego.

Porównując preparaty neuronów *Helix* i *Limnaea,* a także *Planorbis* i *Paludina,* w których wykazano azotanem uranu układ aparatu Golgiego, z preparatami neuronów żywych barwionych trójmetylem tioniny zauważyliśmy, że niebiesko-różowo zabarwiona cytoplazma występowała właśnie w tym miejscu, w którym znajdowały się ciałka sferoidalne Golgi—Thomasa oraz ziarenka systemowe Golgiego. Doszliśmy więc do przekonania, że użyty barwnik, w zetknięciu z żywymi komórkami, okazywał powinowactwo do strefy Golgiego i struktur cytoplazmatycznych znajdujących się w obrębie tego pola, a zatem posiadał on specyficzne powinowactwo tylko do pewnych struktur będących prawdopodobnie wyrazem procesów czynnościowych odbywających się w cytoplazmie. Zabarwione pole utożsamiliśmy więc z aparatem Golgiego biorąc pod uwagę nie tylko jego umiejscowienie, ale także strukturę.

Ten sam barwnik natomiast użyty do barwienia neuronów utrwalonych podbarwiał tylko całą protoplazmę i jądro, nie wykazując żadnych pól specjalnych i struktur cytoplazmatycznych.

Umiejscowienie pola Golgiego

Odczyn barwny w żywych neuronach *Helix* i *Limnaea* zawsze wykreślał wyraźne pole, które umiejscowione było przeważnie na osiowym biegunie jądra, albo otaczało wąskim paskiem obwód jądra. Były więc widoczne dwa zasadnicze typy pola Golgiego: przyjądrowe i biegunowe.

Strefa przyjądrowa zawsze półksiężycowata, rzadziej pierścieniowata, w jednych neuronach wąska, w innych szersza, przylegała mniej lub więcej ściśle na krótszej lub dłuższej przestrzeni do zewnętrznego obwodu niezabarwionego pęcherzyka jądra. Wydawało się nawet niejednokrotnie, że jądro i strefa Golgiego są ze sobą złączone nie tylko morfologicznie, ale może nawet i czynnościowo, tym bardziej, że stopień zabarwienia tuż przy jądrze był o wiele wyraźniejszy, a ilość drobnych ziarenek większa. Mogłoby to więc wskazywać na bezpośredni udział jądra w procesie wytwarzania ciał, które dopiero w cytoplazmie dają dodatni odczyn barwienia. W ten sposób zostają potwierdzone badania Maziarskiego (1911), Kurkiewicza (1931) i Pawlikowskiego (1938) nad udziałem jądra komórkowego w procesach wydzielniczych. Dodatni odczyn w obrębie jądra komórkowego jest wynikiem udziału jądra w procesach wytwórczych.

Różnice w nasileniu zabarwienia można było obserwować przede wszystkim w biegunowym polu Golgiego, które nakładało się zwykle pod postacią hełmu na osiowy biegun jądra. Pas przyjądrowy dawał zawsze silniejszy odczyn barwny, podczas gdy dalsze odcinki odczyn słabszy, a czasem tak słaby, że trudno było przeprowadzić zewnętrzną granicę pomiędzy polem Golgiego a niezabarwioną cytoplazmą. Wysokość strefy była różna, przeważnie jednak szczytem swoim dosięgała albo wnikała do stożka aksonowego. W kilku neuronach u *Helix* udało się nam zauważyć przedłużenie zabarwionego pola w kierunku wypustki neuronu.

W każdym razie umiejscowienie pola Golgiego w dużych komórkach nerwowych ślimaków *Helix* i *Limnaea* nie jest stałe, i to nie tylko w różnych komórkach tego samego zwoju, ale nawet i w tej samej komórce. Oglądane pola Golgiego u *Helix* przez czas pewien na naszych

preparatach, zmieniały się w każdej chwili mniej lub więcej wyraźnie, mogły się bowiem zwiększać, oddalać nieznacznie od jądra, a nawet kurczyć się i dokładniej odgraniczać od otaczającej cytoplazmy. Wskazywałoby to nie tyle na pewną zdolność statyczną, ile raczej na odbywające się w strefie Golgiego procesy przemiany materii, które tworzą w obrębie pola zabarwionego trójmetylem tioniny dynamiczny układ cytoplazmatyczny.

Wielkość pola Golgiego

Określenie wielkości pola Golgiego zabarwionego trójmetylem tioniny w neuronach żywych nie należało do rzeczy łatwych, albowiem cechowała się ona zmiennością, a więc prawdopodobnie zależnością od stanu czynnościowego. Krótszy lub dłuższy, węższy lub szerszy niebiesko-różowy rąbek przylegający do powierzchni jądra wzrastał i miał wygląd hełmu nasadzonego zwykle na aksonowy biegun jądra. Była to strefa Golgiego przerosła. Z tego typu strefą spotykaliśmy się na naszych preparatach mało, niemniej jednak nie należała ona do rzadkości. Spontanicznego wzrostu strefy malej na przerostową nie obserwowaliśmy, być więc może, że warunki naszych badań były nieodpowiednie. Zwiększanie się strefy Golgiego w mniejszym lub większym stopniu obserwowaliśmy w dużych neuronach u *Helix*, a przeważnie u *Limnaea*. Miało to raczej charakter pulsowania, które nie pozwalało na zrobienie obliczeń powierzchniowych, oraz na wyciąganie odpowiednich wniosków. Niewątpliwie jednak pole Golgiego może wzrastać, zwiększać swoją powierzchnię i objętość.

Nie można było na podstawie naszych obserwacji odpowiedzieć na pytanie, czy wzrost pola Golgiego odbywa się kosztem cytoplazmy, jądra, czy wreszcie powstaje on w wyniku syntezy, przemian, względnie jest on spowodowany zwiększeniem się ilości punktów produkcji wydzieliny. Nie potrafiliśmy także odpowiedzieć, czy wielkość pola Golgiego może być miernikiem wartości wydzielniczej komórki, względnie czy jest ona tylko wskaźnikiem dynamizmu przemian toczących się w obrębie strefy. Wydaje się nam, że i jedno i drugie może być dyskutowane i że wartość wydzielnicza pozostaje w wprost proporcjonalnym stosunku i w bezpośredniej współzależności do dynamizmu przemian toczących się w jądrowo-cytoplazmatycznej strefie Golgiego.

Budowa pola Golgiego

Przeglądając preparaty pod dużym powiększeniem (1600 x) zauważyliśmy, że niebiesko-różowo zabarwione pole utworzone było z bardzo drobnych ziarenek ułożonych ściśle obok siebie. Jedne z nich miały wygląd przejrzystych, połyskujących, inne zaś matowych. Ziarenka różniły się pomiędzy sobą wielkością, przy czym w neuronach *Limnaea* można było dokładnie obserwować przejścia szeregu wielkościowego ziarenek, prowadzące do małych, średnio wielkich i dużych wodniczek. Wodniczki barwiły się nieco słabiej, dlatego też łatwe były do odróżnienia. Ilość wodniczek pozostawała przeważnie w stosunku odwrotnie proporcjonalnym do ziarenek, a także stanowiły one prawdopodobnie dalszy ciąg przemian ziarenek czynnościowych, tym bardziej, że ilość wodniczek, jak wydawało nam się, w niektórych komórkach ulegała zwiększeniu. Ziarenka i wodniczki znajdowały się w ciągłym ruchu powolniejszym lub szybszym, obraz więc rozmieszczenia jednych względem drugich zmieniał się stale, dzięki czemu był on jednym z najciekawszych momentów obserwacji żywych neuronów. Ziarenka i wodniczki nie okazywały zdolności do łączenia się, a różnice w przejrzystości ich zabarwienia, jak wydaje się nam, były raczej spowodowane stanem czynnościowym, a zatem zmiennością procesów odbywających się w ich obrębie, względnie procesów w wyniku których one powstawały. Procesy te muszą być szybkie, dynamiczne i pulsujące, a to, że ograniczają się one do specjalnych pól w cytoplazmie, może świadczyć o ich specyficzności i ważności. Oceną wartości tych procesów może być prawdopodobnie ilość i wielkość ziarenek oraz wodniczek obserwowanych w barwiących się trójmetylem tioniny miejscach cytoplazmy.

Omówienie wyników badań

Badania Emmela, Deane i Dempseya, którzy wykazali zasadową fosfatazę w strefie Golgiego w komórkach chłonnych jelita cienkiego u ptaków i zwierząt, zwróciły uwagę nie tylko na szczególnie ważne własności czynnościowe tej strefy cytoplazmy, ale także na przypuszczalną zdolność katalizacyjną zasadowej fosfatazy w procesach chemicznych zachodzących w cytoplazmie, i to nie gdzieindziej, jak tylko w polu Golgiego. Również pod kontrolą fosfataz ma się od-

bywać udział kwasu nukleinowego w syntezie białek, przy czym kwasy nukleinowe mają być defosforylizowane właśnie przez fosfatazy. Czy procesy te są równoznaczne i w innych komórkach, na razie powiedzieć nie można, a Emmel wyraźnie zastrzega się, że nie udało mu się wykazać zasadowej fosfatazy w strefie Golgiego innych komórek. Nie zmienia to jednak charakteru strefy czynnościowej Golgiego obserwowanej w innych komórkach, a zagadnienie koacerwatów i koacerwacji Bungenberg de Jonga i może prace Kirmana i Severinghausa (1938) nabierają szczególnego znaczenia, przede wszystkim jeśli bierze się pod uwagę fizykochemiczne procesy odbywające się w komórce.

Badania nad wyszukaniem odpowiednich metod, któreby pozwoliły przeprowadzić analizę cytochemiczną nad polem Golgiego w komórce żywej nie są jeszcze ukończone i wymagają dalszych prób. Pierwsze kroki w tym kierunku stawiane przez Golgiego, Weigla, Hirscha i innych mogą jednak skierowywać cytochemiczne badania czynnościowe na właściwe tory. Właśnie prace Ciaccio, Dietricha, a przede wszystkim Parata i Painlevégo, dotyczące umiejscowienia lipoidów i lipoproteinowych struktur w strefie Golgiego, zasługują na szczególną uwagę. Także prace Nassonowa, Kedrowskiego, Tarao, Worleya i Gatenby wprowadzające przyżyciowe barwniki do wybarwiania systemu Golgiego oraz mikroinjekcje Parata wykazujące kwaśny odczyn (około pH 6) strefy Golgiego i zwracające uwagę na możliwości procesów oksydacyjno-redukcyjnych odbywających się właśnie w polu Golgiego, są ważnym postępem w dziedzinie badań czynnościowych. Nie mniej cenne w badaniach żywych komórek okazały się metody Ludforda, Lasfargues i Di Fine, które umożliwiły prześledzenie czynności odbywających się w polu Golgiego w różnych warunkach fizjologicznych. Postępując więc według wskazówek tych badaczy mogliśmy zabarwiać w cytoplazmie dużych komórek nerwowych zwojów mózgowych u ślimaków *Helix* i *Limnaea* specjalną strefę przyjądrową, którą utożsamiliśmy z polem Golgiego. Trójmetyl tionina bowiem w roztworze 0,001% i 0,0001% okazywała wybitne powinowactwo wyłącznie do pola Golgiego, jakoteż do wszystkich struktur cytoplazmatycznych bezpośrednio z nim związanych. Jądro i inne struktury metaplazmatyczne i paraplazmatyczne pozostawały niezabarwione mimo przedłużania czasu barwienia. Dzięki więc takiemu działaniu użyty barwnik

posiada szczególną wartość dla badań cytofizjologicznych, pozwala on bowiem wykazać na żywych komórkach umiejscowienie, wielkość i strukturę czynnościowej strefy Golgiego. Mimo tego nie udało nam się wystarczająco prześledzić neurosekrecji, nie mniej jednak obserwowane duże wodniczki, które gromadziły się przeważnie w stożku aksonowym, uważamy za niedojrzałą jeszcze wydzielinę komórki albo typowe ciałka sferoidalne Golgi—Thomasa, w których proces wytwórczy nie został jeszcze całkowicie ukończony. Są to prawdopodobnie te same wodniczki, które mieliśmy możność obserwować w żywych i utrwalonych neuronach u *Limnaea, Paludina* i *Planorbis* w poprzednich badaniach doświadczalnych. W każdym razie badania porównawcze dotyczące umiejscowienia, wielkości i ilości wypadają na ich korzyść. Ilość zatem wodniczek znajdujących się w strefie Golgiego świadczy nie tylko o zdolności wydzielniczej komórki, ale także określa fazy rytmu pracy układu Golgiego.

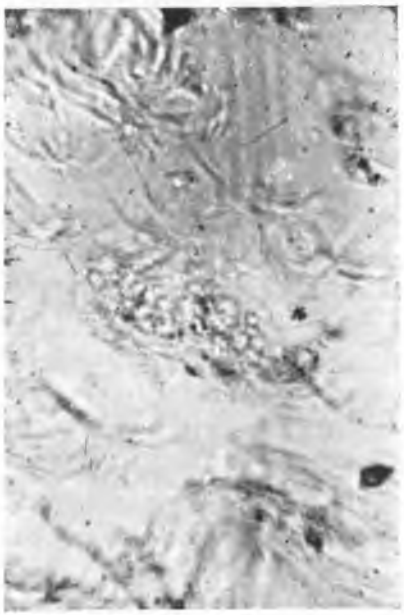
Wnioski

Cytologiczne obserwacje przeprowadzone były nad żywymi neuronami zwojów mózgowych ślimaków *Helix pomatia* L. i *Limnaea stagnalis* L. Komórki nerwowe po odosobnieniu barwiono przez 2—10 minut 0,001% i 0,0001% roztworem trójmetyl tioniny sporządzonej z błękitu metylenowego i błękitu toluidynowego według przepisu Lasfargues i Di Fine.

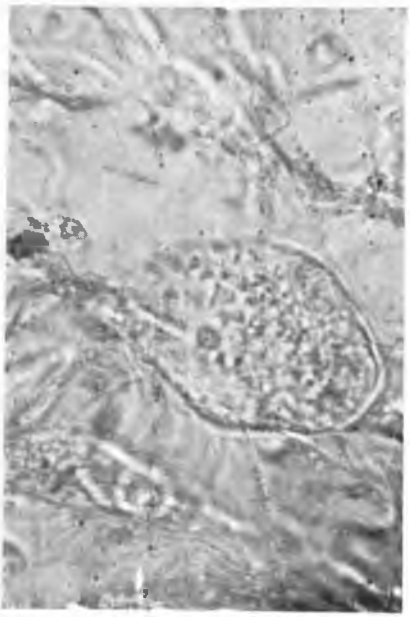
Na podstawie dokonanych spostrzeżeń można powiedzieć, że:

1. Trójmetyl tionina w zetknięciu z żywymi komórkami okazywała powinowactwo do strefy Golgiego i struktur cytoplazmatycznych znajdujących się w obrębie tego pola. Strefa Golgiego barwiła się na kolor niebiesko-różowy, podczas gdy jądro, cytoplazma i inne struktury pozostawały niezabarwione. Barwnik ten więc posiadając specyficzne powinowactwo tylko do pewnych struktur nadaje się do badań cytologicznych i to szczególnie dla prześledzenia zachowania się komórki w różnych warunkach fizjologicznych.
2. Umiejscowienie strefy czynnościowej Golgiego nie było stałe i to nie tylko w różnych komórkach tego samego zwoju, ale nawet i w tej samej komórce. Wskazuje to, że w obrębie strefy Golgiego nie istnieje układ statyczny, ale układ dynamiczny, który jest wykładnikiem odbywających się w cytoplazmie przemian.

3. Wielkość strefy czynnościowej Golgiego była różna nie tylko w różnych komórkach tego samego zwoju, ale nawet i w tej samej komórce. Pole Golgiego wzrastało a przy tym zwiększało swoją powierzchnię i objętość. Wydaje się, że wielkość pola Golgiego jest miernikiem wartości wydzielniczej komórki oraz wskaźnikiem dynamizmu przemian toczących się w obrębie strefy.
4. Strefa czynnościowa Golgiego utworzona była z bardzo drobnych ziarenek ułożonych ściśle obok siebie, pomiędzy którymi znajdowały się różnej wielkości wodniczki barwiące się mniej intensywnie. Ziarenka i wodniczki znajdowały się w ciągłym ruchu, nie okazywały zdolności do łączenia się, a różnice w przejrzystości ich barwienia były raczej spowodowane zmiennością procesów odbywających się w nich, względnie procesów, w wyniku których one powstawały.
5. Ilość i wielkość ziarenek znajdujących się w strefie czynnościowej Golgiego może być oceną wartości czynności neurosekrecyjnej komórki nerwowej.

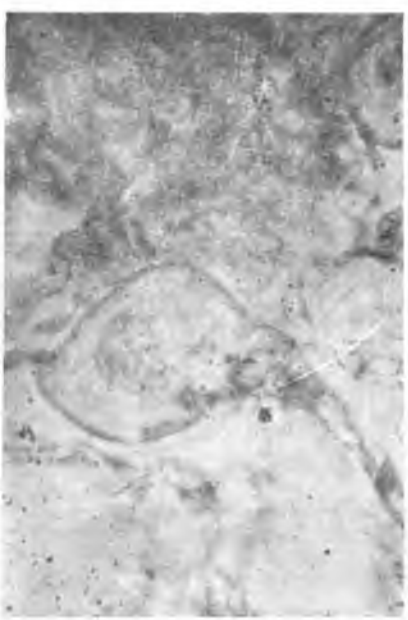


Mikrofotografia Nr 1



Mikrofotografia Nr 2

Mikrofotografia Nr 3



Mikrofotografia Nr 4

OBJAŚNIENIA DO MIKROFOTOGRAFII:

Mikrofot. Nr 1. *Limnaea stagnalis* L. Izolowana, żywa, niebarwiona komórka nerwowa zwoju mózgowego. Liczne drobne ziarenka i duże, połyskujące wodniczki prawdopodobnie neurowydzieliny są nieregularnie rozrzucone po całej cytoplazmie. Największe jednak nagromadzenie materiału ziarnistego można zauważyć w stożku aksonowym. Filtr zielony. Powiększenie duże.

Mikrofot. Nr 2. *Helix pomatia* L. Odosobniona, żywa, niebarwiona komórka nerwowa zwoju mózgowego. Materiał wydzielniczy zgrupowany w bezpośredniej bliskości jądra i stożka aksonowego. Filtr zielony. Powiększenie duże.

Mikrofot. Nr 3. *Limnaea stagnalis* L. Odosobniona, żywa komórka nerwowa zwoju mózgowego, barwiona przez 3 minuty 0,0001% roztworem trójmetyl tioniny. W okolicy jądra i stożka aksonowego widoczne jest zciemnienie cytoplazmy (*), które na preparacie wyrażone było niebiesko-różowym zabarwieniem. Jądro, jąderko, mitochondria i inne struktury cytoplazmatyczne nie zabarwione (porównaj mikrofot. nr 1). Filtr żółty. Powiększenie duże.

Mikrofot. Nr 4. *Helix pomatia* L. Odosobniona, żywa komórka nerwowa zwoju mózgowego barwiona przez 6 minut 0,0001% roztworem trójmetyl tioniny. W okolicy stożka aksonowego, a nawet częściowo w wypustce zciemnienie cytoplazmy, pośród którego wyraźnie wystąpiły drobne ziarenka i wodniczki (*), tworzące strefę czynnościową Golgiego. Objaśnienia w tekście. Jądro, mitochondria nie zabarwione (porównaj mikrofot. nr 2). Filtr żółty. Powiększenie duże.

PIŚMIENNICTWO

1. Bourne G. — Cytology and cell physiology. Chapter IV. Mitochondria and Golgi Apparatus. Oxford. At the Clarendon Press. Ed. I. 1942. Reprint 1945, str. 99—138.
2. Bungenberg de Jong H. G. — Actual. Scien. Industr. Vol. 1, str. 397—402, 1936.
3. Ciaccio C. — Anat. Anz. Vol. 35, str. 17—31, 1910.
4. Deane H. W. & Dempsey E. W. — Anat. Record, Vol. 93, str. 401—412, 1945.
5. Emmel V. M. — Anat. Record, Vol. 91, str. 39—45, 1945.
6. Gatenby J. B., Tohamy A., Moussa A. — Nature. Vol. 162, str. 736, 1948.
7. Grzycki St. — Bull. Acad. Pol. Cl. Math. Nat. Ser. B., str. 289—302, 1949.
8. Hirsch G. C. — P. Kon. Akad. v. Wetenschap. Amsterdam. Vol. 40, str. 614—624, 1937.
9. Hirsch G. C. — Arch. f. Entwickl. Mech. Vol. 123, str. 792—821, 1931.
10. Hirsch G. C. — P. Kon. Akad. v. Wetensch. Amsterdam. Vol. 40, str. 725—735, 1937.

11. Hirsch G. C. — Protoplasma Monograph. Vol. 18, str. 1—268. Borntraeger. Berlin, 1939.
12. Kabat E. A., Furth J. — Amer. Journ. Pathol. Vol. 17, str. 303—313, 1941.
13. Kedrowski B. W. — Usp. Sowr. Biol. Vol. 23, str. 375—404, 1947.
14. Kirkman H., Severinghaus A. E. — Anat. Rec. Vol. 70, str. 413—431. 1938.
15. Kirkman H., Severinghaus A. E. — Anat. Rec. Vol. 70, str. 557—573, 1938.
16. Kirkman H., Severinghaus A. E — Anat. Rec. Vol. 71, str. 79—103, 1938.
17. Koehring V. — Journ. Morphol. Vol. 49, str. 45—137. 1930.
18. Kurkiewicz T. — Bull. Assoc. Anat. Varsovie. str. 252—255, 1931.
19. Lasfargues E., Di Fine J. — Anat. Rec. Vol. 106, str. 29—32, 1950.
20. Lasfargues E., Di Fine J. — Bull. Histol. Appliq. Vol. 27, str. 25—34, 1950.
21. Ludford R. J. — Biol. Revue. Vol. 8, str. 357—369, 1933.
22. Ludford R. J. — Arch. Exper. Zellforsch. Vol. 17, str. 339—359, 1935.
23. Maziarski St. — Arch. Zellforsch. Vol. 6, str. 397—442, 1911.
24. Nassonow D. — Zeitsch. Zellforsch. u. mikr. Anat. Vol. 3, str. 472—502, 1926.
25. Nassonow D. — Arch. mikr. Anat. Vol. 100, str. 433—472, 1923.
26. Takamatsu H. — Trans. Jap. Path. Soc. Vol. 29, str. 492—508, 1939.
27. Tarao S. — Journ. Facul. Scien. Hokkaido. Vol. 7. Ser. VI., str. 1—28, 1939.
28. Parat M. — Cpt. rend. Assoc. Anat. Nancy. No 3, str. 383—388, 1928.
29. Parat M. — Arch. d. Anat. Micr. Vol. 24, str. 73—357, 1928.
30. Parat M., Painlevé J. — Cpt. rend. Acad. Scien. Vol. 179. str. 844—846, 1924.
31. Parat M., Painlevé J. — Cpt. rend. Acad. Scien. Vol. 180, str. 1134—1138, 1925.
32. Parat M., Painlevé J. — Bull. Histol. Appl. Vol. 2, str. 33—38. 1925.
33. Parat M., Painlevé J. — Cpt. rend. Biol. Soc. Vol. 92. str. 65—66, 1925.
34. Pawlikowski T. — Cpt. rend. Soc. Biol. Vol. 120, str. 469, 1935.
35. Pawlikowski T. — Fol. Morphol. Vol. 2, str. 218—238, 1937.
36. Pawlikowski T. — Pozn. Tow. Przyj. Nauk. Vol. 5, str. 189—316, 1938.
37. Worley L. G. — Journ. Morphol. Vol. 75, str. 261—280, 1944.
38. Worley L. G. — Annal. New York Acad. Scien. Vol. 47, str. 1—56, 1946.

РЕЗЮМЕ

Цитологические исследования проведено на живых клетках нервных ганглиев мозговых улиток *Helix pomatia* L. и *Limnaea stagnalis* L. Изолированные клетки нервные окрашивались через 2—10 минут 0,001—0,0001% раствором триметил тионина.

На основани этих исследований автор сделал следующие выводы:

1) Триметил тионин при соткновении с живыми клетками оказывал сродство к зоне Гольджего и цитоплазматических структур находящихся в пределах этого поля. Зона Гольджего окрашивалась на голуборозовый цвет, ядро же, цитоплазма и прочие структуры оставались неокрашеными.
2) Расположение функциональной зоны Гольджего не было постоянным и то нетолько в разных клетках этого самого ганглия, но даже и в этой самой клетке. Указывалобы это, что в границах зоны Гольджего не существует статическая система но уклад динамический, который является показателем протекающих в цитоплазме изменений.
3) Величина функциональной зоны Гольджего была различная не только в разных клетках этого самого ганглия, но даже и в той самои клетке. Стрефа Гольджего розрасталась, а при этом увеличала свою поверхность и объем. Кажется, что величина стрефы Гольджего является показателем выделительной ценности клетки, а также указателем динамизма происходящих изменений в пределах зоны.
4) Функциональная зона Гольджего образована была из очень мелких зерен, тесно прилегающих, между которыми находятся разной величины вакуоли, окрашивающиеся менее интенсивно. Зерна и вакуоли находились в постоянном движении и не проявляли способности к объединению, а разница в отчетливости их окраски была причиной изменящихся процессов в них протекающих или процессов, в следствие которых они образовались.
5) Число и величина зернышек и вакуолей, находящихся в функциональной зоне Гольджего может быт указателем ценности нейросекреционной функции нервной клетки.

ОБЪЯСНЕНИЯ К МИКРОФОТОГРАФИЯМ

Микрофот 1. *Limnaea stagnalis* L. Изолированная, живая неокрашенная нервная клетка мозгового ганглия. Многия, мелкия зерна и большие блестящие вакуоли, вероятно нейровыделения, рассеяны нерегулярно в целой цитоплазме. Наибольшое однако скопление зернистого материала можно наблюдать в аксоновом конусе. Фильтр зеленый. Увеличение большое.

Микрофот 2. *Helix pomatia* L. Изолированная, живая неокрашенная нервная клетка мозгового ганглия. Выделение сгрупированное в непосредственной близости ядра и аксонового конуса. Фильтр зеленый. Увеличение большое.

Микрофот. 3. *Limnaea stagnalis* L. Изолированная живая, нервная клетка мозгового ганглия, окрашена через 3 минуты 0,0001% раствором триметил тионина. В окрестности ядра и аксонового конуса видно затемнение цитоплазмы (*), которое на препарате изображено было голубо-розовым окрашением. Ядро, ядерко, митохондрии и прочие цитоплазматические структуры не окрашены (сравни микрофот. 1). Фильтр желтый. Увеличение большое.

Микрофот. 4. *Helix pomatia* L. Изолированная, живая, нервная клетка мозгового ганглия окрашена через 6 минут 0.0001% раствором триметил тионина. В окрестности аксонового конуса, а даже частично в отростке затемнение цитоплазмы, в котором отчетливо выступали мелкие зернышка и вакуоли (*), образующие функциональную зону Гольджего. Объяснения в тексте. Ядро, митохондрии не окрашены (сравни микрофот. 2). Фильтр желтый. Увеличение большое.

SUMMARY

Cytological investigations were conducted on living neurons of ganglia cerebralia of *Helix pomatia* L. and *Limnaea stagnalis* L. Isolated nerve cells were stained for 2—10 minutes with 0,001—0,0001 per cent solution of thionin threemethylene.

On the basis of these investigations the author reached the following conclusions:

1. Thionin threemethylene in contact with living cells exhibited an affinity to the Golgi zone and cytoplasmic structures present within the limits of the Golgi area. The colour of the Golgi area was bluepink, while the nucleus, cytoplasm, and other structures remained unstained. The stain then, characterized by specific affinity only towards certain structures, is suitable for cytological investigations and particularly for the examination of the cell in various physiological conditions.
2. The localization of the Golgi dynamic zone was various not only in the various cells of the same ganglion, but even in the same cell. This indicates that within the Golgi zone there is no static system, but a dynamic one, which is an index of the processes taking place in the cytoplasm.
3. The size of the Golgi dynamic zone was various not ony in the various cells of the same ganglion, but even in the same cell. The Golgi area increased, whereby its surface and volume was increased. It appears that the size of the Golgi area is a measure of the cell's secretory value and an indicator of the dynamism of metabolic processes taking place within the sphere.
4. The Golgi dynamic area was formed by minute aggregated granules, between which there were vacuoles of various size not so intensely stained. The granules and vacuoles were in constant motion, and did not show any tendency to join together; the differences of translucency in their staining were caused by the changeability of processes taking place in them, or processes, as the result of which they originated.
5. The number and size of the granules and vacuoles present in the Golgi dynamic area can be an expression of the value of the neurosecretory process of the nerve cell.

EXPLANATION OF MICROPHOTOGRAPHS

Fig. 1. *Limnaea stagnalis* L. Isolated, living, not stained nerve cell of the cerebral ganglion. Numerous small granules and large, glistering neurosecretory vacuoles can be seen dispersed irregularly throughout the cytoplasm. The largest accumulation, however, of the granular material can be seen in the axonal hillock. Green filter. High power.

Fig. 2. *Helix pomatia* L. Isolated, living, not stained nerve cell of the cerebral ganglion. The secretory material is grouped in direct proximity of the nucleus and axonal hillock. Green filter. High power.

Fig. 3. *Limnaea stagnalis* L. Isolated, living nerve cell of the cerebral ganglion, stained for 3 minutes with 0,0001 per cent solution of thionin threemethylene. In the region of the nucleus and axonal hillock is seen a darkening of the cytoplasm (*), which on the preparations was expressed by blue-pink staining. The nucleus, nucleolus, mitochondria and other cytoplasmic structures not stained. (Compare microphot. Nr 1). Yellow filter. High power.

Fig. 4. *Helix pomatia* L. Isolated, living nerve cell of the cerebral ganglion stained for 6 minutes with 0,0001 per cent solution of thionin threemethylene. In the region of the axonal hillock and even in the process a darkening of the cytoplasm, among which there appeared distinctly very small granulations and vacuoles (*) forming the Golgi dynamic zone. Explanations in the text. The nucleus, mitochondria and mature neurosecretory material not stained. (Compare microphot. Nr 2) Yellow filter. High power.

Papier druk. sat. III kl. 90 g. Format 70 x 100 Ark. druku 1.
Annales U. M. C. S. Lublin 1952. Lub. Druk. Prasowa Lublin, ul. Kościuszki 4. Zam. Nr 585 28.III.52.
1200 egz. A-3-10660. Data otrzymania manuskryptu 28.III.52. Data ukończenia druku 7.VI.52.