

SBORNÍK
ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

Veterinární medicína

5

ROČNÍK 5 (XXXIII) – PRAHA, KVĚTEN 1960

CENA 10 Kčs

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí redakční rada: akademik Vincenc Jelínek (předseda), gen. MVDr. Vladimír Chládek
 člen korespondent SAV František Nižňanský, MVDr. Jiří Boháč, prof. MVDr. Richard
 Harnach, doc. MVDr. Jaroslav Dražan, prof. MVDr. Karel Šobra, MVDr. Emanuel Král,
 MVDr. Ladislav Zima, MVDr. Ladislav Polák, MVDr. František Lehký. — Vedoucí redak-
 tor František Němec.

© Československá akademie zemědělských věd, Praha 1960

Obsah — Содержание — Content — Inhalt

- Jelínek V. — Černá J.: Nález ložiskových subserózních atypických reakcí
 lymfatické tkáně (nodulární lymfadenopatie) v játrech a plicích u koní a je-
 jich diagnostický význam
 Исследование очаговых подсерозных атипичных реакций лимфатической
 ткани (узелковые лимфаденитные заболевания) в печени и легких лоша-
 дей и их диагностическое значение
 The Finding of Focal Subserous Atypical Reactions of the Lymphatic Tissue
 (*lymphadenopathia nodularis*) in the Liver and Lungs of Horses and Their
 Diagnostical Significance 339
- Novotný E.: Příspěvek k histogenezi jater prasete
 К вопросу гистогенеза печени свиньи
 A Contribution to the Histogenesis of the Pig Liver 353
- Geissel Vl.: Diskuse o teoretických názorech O. B. Lepešinské - příspěvek
 k formulaci buněčné teorie
 Дискуссия по теоретическим взглядам О. Б. Лепешинской — к вопросу
 формулировки клеточной теории
 Discussion concernant les opinions théorétiques de Mme O. B. Lepešinskaja
 — contribution à la formulation de la théorie cellulaire
 The Discussion about O. B. Lepenshinskaja's Theoretical Views — a con-
 tribution to the Formulation of the Cell Theory 357
- Charvát Zd.: Reinervace kožní střelné rány králíka
 Реинервация кожной огнестрельной раны кролика
 The Reinnervation of a Shoot wound in a Rabbit 371
- Šmahel J.: Morfogenezia arteriovenózních anastomóz v boltci králíka
 Морфогенез артериовенозных анастомозов в ушной раковине кролика
 The Morphogenesis of the Arteriovenous Anastomoses in the external Ear
 of the Rabbit 383

Nález ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně (nodulární lymfadenopatie) v játrech a plicích u koní a jejich diagnostický význam

Исследование очаговых подсерозных атипичных реакций лимфатической ткани (узелковые лимфаденитные заболевания) в печени и легких лошадей и их диагностическое значение

The Finding of Focal Subserous Atypical Reactions of the Lymphatic Tissue (*lymphadenopathia nodularis*) in the Liver and Lungs of Horses and Their Diagnostical Significance

Vincenc JELÍNEK, Jitka ČERNÁ

Výzkumný ústav veterinární ČSAZV v Brně, oddělení patologické morfologie a fyziologie, vedoucí akademik Vincenc Jelínek

Došlo dne 3. II. 1960

Věnováno k šedesátým narozeninám
prof. RNDr. et MVDr. Vlastimila Vrtiše

Úvod

Podle rozhodnutí redakční rady a se schválením VII. odboru veterinární medicíny ČSAZV je předloženo tématické číslo z oboru srovnávací morfologie věnováno uctění významného československého veterinárního morfologa a spoluzakladatele československé veterinární morfologie prof. RNDr. et MVDr. Vlastimila Vrtiše u příležitosti jeho šedesátých narozenin.

Široký fylogenetický aspekt na morfologii staví Vrtiše na přední místo v československé srovnávací morfologii. Všem vědeckým pracovníkům, kteří potřebují ve výzkumu vycházet z normální nebo patologické morfologii z fylogenetických poznatků, věnuje Vrtiše obětavě své bohaté zkušenosti. Tak tomu také bylo po objevu ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně a nálezů lymfoidní tkáně i v mesenchymální složce parenchymatózních orgánů, kdy hluboké fylogenetické znalosti Vrtišovy pomohly vysvětlit formální genezi atypických lymfatických reakcí jako patologických procesů.

Po výzkumu ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně u vepřů, skotu a ovcí, provedli jsme v této práci průzkum výskytu a diferenciálně diagnostického významu zmíněných afekcí pro praxi u koní. Zvláště častý nález subserózně lokalizovaných ložiskových afekcí u koní potřebuje přesného diferenciálně diagnostického rozlišení etiologicky pestrých patologických afekcí.

Nocard (20), Wladimiroff (27), Preisz (23), Hutýra (4) a Johné (18) považovali subpleurální ložiskové šedavě zabarvené, průsvitné a fibrózně zvápenatělé afekce v plicích za produkty malleózních afekcí. Proti těmto názorům vystoupili Schütz (25), Olt (22), Angeloff (1), Joest (17) a další, kteří prokázali, že ložiskové subpleurální afekce bývají velmi často parazitárního původu. Rovněž Tscherniak (26) našel a zjistil, že šedavé, obvykle transparentní uzlíčkové afekce jsou většinou parazitárního původu. Joest (17) hodnotí kriticky, jak málo spolehlivá je i pro zkušeného odborníka (patologa) makroskopická diagnostika více nebo méně dubiálních orgánových změn u latentní vozhrivky. Joest (17) podotýká, že i u odborníků specialistů musíme počítat s autosugescí, kdy i patologický morfolog vychází z předpokladu, že koně se sérologicky pozitivní reakcí musí být stíženi malleózní afekcí. Přitom je důležité zjištění pro praxi, že se malleózní a parazitární uzlíčkové afekce mohou vyskytovat vedle sebe.

Srovnávací histogenetické studie parazitárních a malleózních uzlíkových afekcí v subpleurální tkáni, jak je provedl Nieberle (21), jsou pro diferenciální diagnostiku v praxi neobyčejně důležité.

Svěží uzlíčkové afekce parazitární i malleózní se makroskopicky jeví shodně jako šedavé, transparentní, od okolního patologicky nezměněného parenchymu plicního ostře oddělené uzlíčky; svým makroskopickým vzhledem připomínají svěží parazitární i malleózní afekce lymfonodula a nelze je od sebe makroskopicky rozlišit.

Histologicky lze velmi snadno diferencovat subpleurální ložiskové afekce i z hlediska kauzálně genetického.

Svěží malleózní uzlíčky, lokalizované subserózně v plicích, vykazují obraz miliární alveolární pneumonie nebo obraz intersticiálního, proliferativního miliárního ložiska, které má na periférii zánětlivě exsudativní reakční dvorec. V obou případech dochází v centru uzlíčku záhy k charakteristické nekrobiotické karyorhexis - karyotexis.

Svěží parazitární uzlíčky, lokalizované subserózně v plicích, vykazují rovněž obraz miliární exsudativní pneumonie s význačnou eosinofilií a celkem bez účasti červených krvinek ve tkáni. Současně dochází k zánětlivě proliferativním procesům v pojivu v septech. Eosinofilní granulocyty vyplňují alveoly, infiltrují septa a obalují těsně larvální stadia cizopasníků; u dospělých cizopasníků lze často i mezi závitými a kličkami cizopasníků zjistit eosinofilní granulocyty. Ve starším uzlíčku s centrálním zkalením je cizopasník nebo jeho zbytky obdány nekrotickou tkání, a na tuto tkáň následuje zóna granulační tkáně, ve které vedle fibroblastů jsou obrovské mnohoaderné elementy buněčné. Za touto zónou granulační tkáně je uložen reakční val lymfocytů, ve kterém později lze nalézt kolagenní vlákna. V dalším průběhu zánětlivého procesu dochází k uvolnění nekrotických mas v centru uzlíku od demarkační granulační tkáně; nekrotické masy i odumřelí cizopasníci mohou inkrustovat — kalcifikovat vápennými solemi. Kolem uzlíků lze často nalézt pruhy zánětlivě novotvořené tkáně a kanálky s detritem tkáňovým v případě, že došlo k cestování neodumřelých cizopasníků ve tkáni.

Při pokročilejším vývoji patologického procesu lze nejen z histologického popisu parazitárního uzlíku, ale již makroskopicky diferencovat tento patologický proces od nezánětlivé, subserózně lokalizované atypické reakce lymfatické tkáně.

V práci, nadepsané „Reakce lymfatické tkáně v plicích a jejich diagnostický význam“ popsali Jelínek a Jelínková (12) přesný makroskopický a mikroskopický nálezy při subserózních ložiskových atypických reakcích lymfatické tkáně, který dovoluje přesně rozlišit tyto afekce od ložiskových parazitárních patologických

procesů. Subpleurálně se nacházející lymfadenopatie tvoří ložiska sférická nebo ovoidní, velikosti prosa, čočky až hrášku, která jsou ostře ohraničena proti okolnímu plicnímu parenchymu. Ložiska promínají nad okolní tkáň plicní; jsou výraznější svou světlejší šedavou až šedavě červenohnědou barvou, která se zvláště nápadně odlišuje od parenchymu plicního. Ložiska jsou v parenchymu plicním ostře konturována a činí dojem cizí tkáně, vsazené do parenchymu plicního. V některých případech nejsou ložiska tak dobře konturována a jsou zřetelně opouzdřena jen nepatrným lem, který je světlejší barvy než šedočervená barva ložisek. Okrajový lem dosahuje síly maximálně až $\frac{1}{4}$ mm a tvoří hranici mezi šedavým ložiskem homogenní struktury a růžově zbarveným parenchymem plicním u poražených zvířat. Ložiska jsou uložena vždy subserózně (subpleurálně) a pleura je většinou nad ložisky, která prominují nad povrch okolního parenchymu plicního, transparentní, lesklá a hladká. Ložiska, která nápadněji nepromínají, jeví zkalení a nepatrné zesílení pleury. Tato ložiska jsou na pohmat tužší než ložiska, která prominují a mají transparentní pleuru, přes kterou je zřejmá bezstrukturní, homogenní skladba ložiskových afekcí. Makroskopicky zjevné uzlíkové afekce plic, lokalizované subpleurálně, se často vyskytují jako samostatné ložiskové afekce, jindy též společně s jinými, po stránce etiologické i patogenetické rozmanitými plicními patologickými procesy (pneumonie, abscedující, nekrotické, embolicko-mykotické, diseminované i konfluující, bronchopneumonie apod.). Bronchopneumonie konfluující, krupózní i ložiskové pneumonie nekrotické, abscedující, embolicko-mykotické apod. zakrývají a činí téměř nerozpoznatelnými subpleurálně lokalizované lymfadenopatie nodulární, uložené v patologicky pozměněných částech plic. U proběhlých a protrahovaných zánětlivých afekcí plic lze lymfadenopatie nodózní snadno zjistit. Poruchy ve vzdušnosti plic, jako emfyzém nebo atelektázy, nezakrývají lymfadenopatie nodózní.

Makroskopická diferenciální diagnostika ložiskových (nodulárních) parazitárních afekcí lokalizovaných subpleurálně není vždy snadná; zvláště transparentní, zcela svěží subpleurální uzlíčky parazitární lze při makroskopické diagnostice zaměnit za lymfadenopatii nodulární a naopak. Starší parazitární uzlíkové afekce mají zkalené centrum barvy špinavě žluté, nemají homogenní strukturu šedavé a šedavě hnědočervené barvy, jak tomu je u lymfadenopatie nodulární. Starší parazitární uzlíčky jsou opouzdřeny zánětlivě novotvořeným vazivem, které se lameálně formuje a makroskopicky je zřejmé jako bělošedé opouzdření ložiska s nekrotickým špinavě žlutým centrem.

V histogenezi ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně v plicích a játrech popsal Jelínek a Jelínková (12) celkem čtyři vývojové fáze, které mají rozdílnou morfologickou strukturu a které odpovídají různému stádiu těchto afekcí.

Ložiskové subserózní atypické lymfatické reakce v játrech, které popsal a předal již v roce 1955 Jelínek (7) do tisku, nebyly před touto dobou ve světové odborné literatuře zaregistrovány. Podle údajů Jelínkové (16) popsal později jedině Casarosa (3) vedle ložiskových intersticiálních hepatitid atypických parazitárních uzlů se zbytky cizopasníků, lokalizovaných subserózně v játrech, též subserózní ložiskovou reakci lymfatické tkáně. Podle údajů Jelínkové (16) opravňují makroskopické i mikroskopické popisy některých uzlíkových subserózních lymfatických reakcí k domněnce, že Casarosa (3) našel shodné afekce, které poprvé Jelínek (7) důkladně popsal a diferencoval. Jelínek (7) provedl diferenciaci ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně v játrech od nodulárních hepatitid infekčních, toxických a parazitárních. Jelínková (16) kritizuje nedostatky práce Casarovy (3) a vytýká mu, že považuje *hepatitis interstitialis nodosa multiplex* a jiné parazitární uzlíkové afekce

za etiologicky totožné s lokálními subserózně lokalizovanými reakcemi lymfatické tkáně, pro které označuje jediného etiologického činitele, a to *pentostomum denticulatum sive tennoides, linguatula rhinaria* (larvy jazyčnatky), které Joest (17) označil jako „*Linguatulosus hepatis*“, kteréžto afekce se velmi vzácně nalezou u vepřů. Mikroskopicky se dají v uzlech prokázat larvy pentostomů, dosahující velikosti 4 až 6 mm, nebo jejich zbytky.

Také statistické zhodnocení nálezů „*Lymphadenopathia nodularis hepatis*“, jak je provedl Jelínek a Černá (13), svědčí proti názoru, že tyto patologické afekce jsou způsobeny pentostomy. Celkový počet zjištěných lymfadenopatií v játrech, na příklad u poražených vepřů na městských jatkách v Brně, tj. 22,22 %, svědčí proti názoru, že subserózní ložiskové reakce lymfatické tkáně v játrech jsou způsobeny larvami Pentostomu, poněvadž invaze tohoto cizopasníka v játrech u vepřů náleží celkem ke zcela vzácným nálezům. Proti nesprávným názorům, že by subserózní reakce lymfatické tkáně byly pouze parazitárního původu, svědčí dále histogenetické studie subserózních ložiskových atypických reakcí lymfatické tkáně nejen v játrech (jako je popisuje i Casarosa — 3), ale i v plicích (subpleurálně), jak je zjistili ve společné práci Jelínek a Jelínková (12) a dále Jelínek a Černá (14) a Jelínek Karel (15), a které Casarosa (3) patrně vůbec neznal. V práci Jelínek a Jelínková (12) bylo bezpečně prokázáno, že subserózní ložiskové atypické reakce lymfatické tkáně, které se vyskytují nejen subserózně v játrech, ale i subpleurálně, jeví shodnou dynamičnost ve vývoji. Histogenetickými studiemi bylo prokázána shodná morfologická struktura subserózních ložiskových atypických reakcí lymfatické tkáně v plicích a játrech.

Na podkladě důkladných a rozsáhlých experimentálních prací potvrzuje Zendulka (28) v té části práce, která pojednává o lymfadenopatii *nodularis multiplex hepatis suum*, nálezy Jelínkovy a shodně s ním dochází k závěru, že ložiskové subserózní reakce lymfatické tkáně v játrech a plicích jsou polygenetického původu. Při experimentální invazi larválních stadií askarid se nepodařilo Zendulkovi ani v jednom případě prokázat přímou genetickou spojitost mezi invazí larválních stadií askarid a subserózními ložiskovými reakcemi lymfatické tkáně.

Domníváme se, že proti výlučné etiologii parazitárních ložiskových subserózních reakcí lymfatické tkáně svědčí výsledky výzkumu subserózních ložiskových atypických reakcí lymfatické tkáně u ovcí, kterých dosáhl Jelínek Karel (15), který uvádí, že proti výlučné parazitární etiologii ložiskových subserózních reakcí lymfatické tkáně svědčí srovnávací studie o výskytu nodulární lymfadenopatie u ovcí, skotu a vepřového bravu. U ovcí, u kterých se vyskytuje 90 až 99 % parazitárních afekcí v játrech a plicích, je výskyt nodulárních lymfadenopatií dvaapůlkrát menší než u skotu a dokonce dvanáctkrát menší než u vepřového bravu.

Považujeme za důležitý diferenciálně diagnostický symptom zjištění, že ložiskové parazitární afekce a také i specifické a nespecifické granulomy atd. vykazují zánětlivou reakci a jsou produktem zánětlivých procesů. U subserózních ložiskových atypických reakcí lymfatické tkáně v játrech a v plicích jde proti tomu o atypický růst preformované lymfatické tkáně, jak zjistil Jelínek a Jelínková (12) a po nich Jelínek Karel (15). Pokud se etiologie nodulárních lymfadenopatií týká, uvádí Jelínek (8), že lymfatické reakce jsou po stránce kauzálně genetické velmi pestré, a příčiny, vyvolávající atypické reakce lymfatické tkáně, mohou být endogenní (v organismu jsoucí) nebo exogenní povahy. Patologické faktory, které vyvolávají atypické reakce lymfatické tkáně, mohou být povahy fyzikální, chemické a biologické. Podle Jelínka a Černé (14) dochází velmi často k lymfatickým reakcím značného rozsahu ve tkáni plicní při lymfo-

tropních infekcích, při infekcích lipotropními viry a viry lipoidního charakteru, zvláště při některých virových pneumoniích, obrně vepřů apod., jak bylo prokázáno na sanitních porážkách a dále zpracováno Černým a Jelínkem (29) při výzkumu influence vepřů a poruch zákonitosti růstu tkání. Jde v podstatě o reakce organismu na patologické faktory, které může organismus zneškodnit jen produkcí lipolytických fermentů, které se dominantně tvoří v lymfatické tkáni.

Vlastní práce

Pracovní metodika

Úkolem této práce bylo provést výzkum u poražených, popř. uhynulých koní a zjistit, zda se subserózní ložiskové atypické reakce lymfatické tkáně vyskytují u koní, zda jejich formální a kauzální geneze, histopatogeneze a topografie jsou shodné s popsávanými nálezy u vepřového bravu, skotu a ovcí, a zhodnotit, jaký diagnostický význam pro praxi mají eventuálně zjištěné nodulární lymfadenopatie u koní.

Materiál jsme obstarávali při makroskopické prohlídce poražených koní na městských jatcích v Praze a za tuto spolupráci děkujeme správě a veterinárním lékařům těchto jatek. K histologickému vyšetření byly odebírány uzlíkové subserózní afekce z jater a plic, které makroskopickým vzhledem připomínaly ložiskové subserózní atypické reakce lymfatické tkáně. Histologické preparáty byly zhodnoceny sériově a obarveny běžnými laboratorními metodami elektivního a kontrastního barvení. Patohistogenetické studie byly zaměřeny nejen na strukturu subserózních uzlíkových afekcí v sériových řezech, nýbrž současně bylo přihlíženo ke kauzálně — i formálně — genetickému vztahu ložiskových subserózních afekcí s eventuálně zjištěnými patologicko-morfologickými afekcemi v hloubce tkáně plicní a jaterní, a to s přihlédnutím ke stáří zjištěných patologicko-morfologických změn.

Zhodnocení výzkumu subserózních afekcí v játrech a plicích různé etiologie a nodulárních lymfadenopatií u koní

Celkem bylo makroskopicky vyšetřeno 500 kusů koní
 Celkem bylo histologicky vyšetřeno 104 kusů koní

Z celkového počtu . . . 500 koní byly makroskopicky zjištěny subserózní ložiskové afekce v játrech nebo v plicích anebo současně v játrech a plicích, podobající se subserózním lymfatickým reakcím, u 104 koní, tj. 20,8 %.

I.

Celkem makroskopicky diagnostikováno případů subserózních ložiskových afekcí 104		
z toho	počet	%
v játrech celkem	35	33,6
v plicích celkem	76	73,0
pouze v játrech	28	26,92
pouze v plicích	69	66,3
současně v játrech i plicích	7	6,1

Z celkového počtu 500 makroskopicky vyšetřených koní byly nalezeny subserózní ložiskové afekce (makroskopicky podobné nodulární lymfadenopatii) v játrech v 35 případech, tj. 7 % z celkového počtu makroskopicky vyšetřených zvířat; v tomto počtu nejsou zahrnuty makroskopicky vyložené, hlavně subserózně lokalizované fibrózně — inkrustační parazitární afekce, jakož i jiné patologicko-morfologické změny, které neměly charakter ložiskových subserózních afekcí makroskopicky podobných nodulární lymfadenopatii.

II.

Topografické uložení subserózních ložiskových afekcí v játrech		
lokalizace	počet	%
<i>lobus dexter facies diaphragmatica</i>	11	31,43
<i>lobus dexter facies visceralis</i>	6	17,15
<i>lobus sinister facies diaphragmatica</i>	9	25,71
<i>lobus sinister facies visceralis</i>	9	25,71

Shodně s topografickým uložením nodulárních lymfadenopatií u vepřového bravu, skotu a ovcí se vyskytuje rovněž u koní největší počet ložiskových subserózních afekcí různé etiologie na *facies diaphragmatica*.

Z celkového počtu 500 makroskopicky vyšetřených koní byly nalezeny ložiskové subpleurální afekce (makroskopicky podobné nodulární lymfadenopatii) různé etiologie v 76 případech, tj. 15,20 % z celkového počtu makroskopicky vyšetřených zvířat; v uvedeném počtu patologických afekcí u koní nejsou zahrnuty patologické afekce, které neměly podobnou makroskopickou charakteristiku, která je příznačná pro nodulární lymfadenopatii.

III.

Topografické uložení subserózních ložiskových afekcí v plicích		
lokalizace	počet	%
<i>Lobus dexter diaphragmaticus:</i>		
<i>f. mediastin.</i>	3	3,95
<i>f. costalis</i>	20	26,32
<i>Lobus sinister diaphragmaticus:</i>		
<i>f. mediastin.</i>	2	2,63
<i>f. costalis</i>	33	43,41
<i>Lobus dexter diaphragmaticus f. mediastin.</i> }	1	1,31
<i>Lobus sinister diaphragmaticus f. mediastin.</i> }		
<i>Lobus dexter diaphragmaticus f. costalis</i> }	2	2,63
<i>Lobus sinister diaphragmaticus f. costalis</i> }		
<i>Lobus dexter apicalis</i>	4	5,26
<i>Lobus sinister apicalis</i>	10	13,16
<i>Lobus dexter apicalis</i> }	1	1,31
<i>Lobus sinister apicalis</i> }		

Ložiskové afekce subserózní v plicích různé etiologie, které se makroskopicky podobaly nodulární lymfadenopatii, se vyskytují u koní o 8,20 % z celkového počtu poražených koní častěji než v játrech.

Zhodnocení makroskopické a mikroskopické diagnostiky ložiskových subserózních afekcí v plicích a játrech u koní

Z celkového počtu 500 makroskopicky vyšetřených koní byly histologicky vyšetřeny orgány ze 104 koní. Ve srovnání s diagnostikou nodulárních lymfadenopatií u vepřového bravu, skotu a ovcí je nápadné, že u koní byl poměrně největší počet subseróních ložiskových afekcí (v plicích a játrech) zaměněn makroskopicky s nodulární lymfadenopatií.

IV.

Subserózní ložiskové afekce, zaměněné makroskopicky s nodulární lymfadenopatií		
ložisková afekce	zjištěna	
	u počtu koní	% z celkového počtu histologicky vyšetřených koní (104)
Parazitární:	76	73,07
v játrech	28	26,92
v plicích	48	46,15
Ložiskové subserózní nespecifické granulomy:	11	10,57
v játrech	4	3,84
v plicích	7	6,73
Ložisková zbytnění seróz:	8	7,69
v játrech	3	2,89
v plicích	5	4,80
Subserózní ložiskové adenomatózní bujení v plicích	1	0,96

Z uvedeného přehledu je patrné, že u koní bylo 96 případů ložiskových subserózních afekcí různé etiologie zaměněno za nodulární lymfadenopatií. Z přehledu je i dále patrné, že u koní je menší počet ložiskových subserózních afekcí v játrech (o 19,24 % méně) ve srovnání s množstvím ložiskových subserózních afekcí v plicích a ve srovnání s počtem ložiskových subserózních afekcí v játrech u skotu a vepřového bravu.

Naproti tomu bylo zjištěno velké procento (46,15 %) z celkového počtu histologicky vyšetřovaných případů subserózních ložiskových afekcí v plicích, které byly zaměněny v převážné části případů za nodulární lymfadenopatií. Ze 104 mikroskopicky vyšetřovaných případů koní bylo zjištěno 76 případů parazitárních ložiskových afekcí v játrech a plicích, tj. 73,07 % z celkového počtu histologicky vyšetřovaných případů.

Makroskopicky lze snadno ložiskové subserózní parazitární afekce zaměnit za nespecifické subserózně lokalizované granulomy; nespecifické granulomy mají histologickou strukturu podobnou zvláště těm vývojovým stádiím parazitárních ložiskových afekcí, které nemají výraznou centrální nekrózu, bývají homogenní struktury a svou počáteční šedavou barvou mají makroskopický vzhled nodulárních lymfadenopatií.

Srovnáme-li spolehlivost makroskopické diagnostiky ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně u ovcí, skotu, vepřového bravu a koní, pak je

zřejmě, že spolehlivost makroskopické diagnostiky ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně byla tato:

1. u vepřového bravu	téměř 100 %
2. u skotu	31,17 %
3. u ovčí	13,16 %
4. u koní	7,69 %

z počtu makroskopicky diagnostikovaných nodulárních lymfadenopatií.

U koní je z dosavadních vyšetření různých druhů zvířat nejmenší spolehlivost v makroskopické diagnostice ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně. Je tomu tak proto, že u koní se nedají zvláště svěží ložiskové subserózní afekce parazitárního původu makroskopicky odlišit od nodulárních lymfadenopatií.

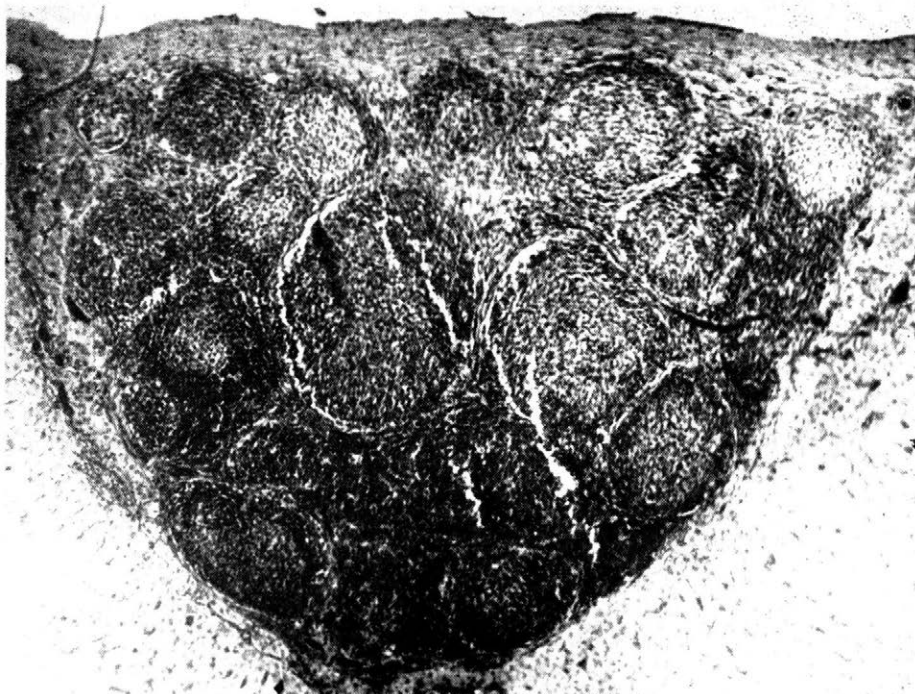
Makroskopicky mají ložiskové subserózní atypické reakce lymfatické tkáně — uzlíčkové afekce — u koní homogenní strukturu, jsou šedobílé barvy, transparentní, řidčeji jako mléčné sklo zabarvené, opaleskující, a dosahující velikosti koprného zrna, čocky až menšího hrášku. Ložiska jsou lokalizována těsně pod pleurou a prominují obvykle nad povrch ostatní tkáně. Od ostatní tkáně se odlišují šedobílou barvou a transparentí. Jsou bezvzdušné a proto jsou na pohmat tužší konzistence než okolní plicní parenchym. Hmatem lze uzlíčkové afekce, diseminované pod pleurou a prominující nad ostatní povrch plic, spolehlivě zjistit ve tkáni plicní i patologicky pozměněné, na příklad překrvené, edematózně infiltrované a podobně.

Histologickým vyšetřením lze velmi snadno diferencovat parazitární ložiskové subserózní afekce od nodulárních lymfadenopatií. U parazitárních uzlíčků jde vždy o ložiskovou zánětlivou afekci proliferativního charakteru. V centru ložiskové subserózní parazitární afekce možno ve většině případů prokázat koagulační nekrózu s detritem tkáňovým a často rozpadající se eosinofilní infiltrát, uprostřed kterého lze často prokázat zbytky odumřelých cizopasníků. Velmi často bývá nekrotické centrum uzlíku ohraničeno vrstvou obrovských mnohojaderných palisádových buněčných elementů, které bývají uloženy cirkulárně. Za zónou gigantocelulární reakce následuje pak vrstva granulační tkáně s výraznou eosinofilií a popřípadě v pozdějším stadiu vazivová demarkace od okolního parenchymu jaterního nebo plicního. Velmi často lze ve tkáni plic nebo jater zjistit eventuálně i další ložiskové parazitární afekce anebo ložiskové reakce, které poukazují na zánětlivý proces, při kterém obvykle v buněčném exsudátu lze zjistit eosinofilní granulocyty a velmi často (zvláště při hyperplasii subpleurálních Arnoldových lymfodulů) reakci lymfatické tkáně, která se často formuje v lymfonodule v peribronchiální, perivaskulární, vzácněji intervalveolární tkáni plic anebo v portobiliárních prostorách tkáně jaterní.

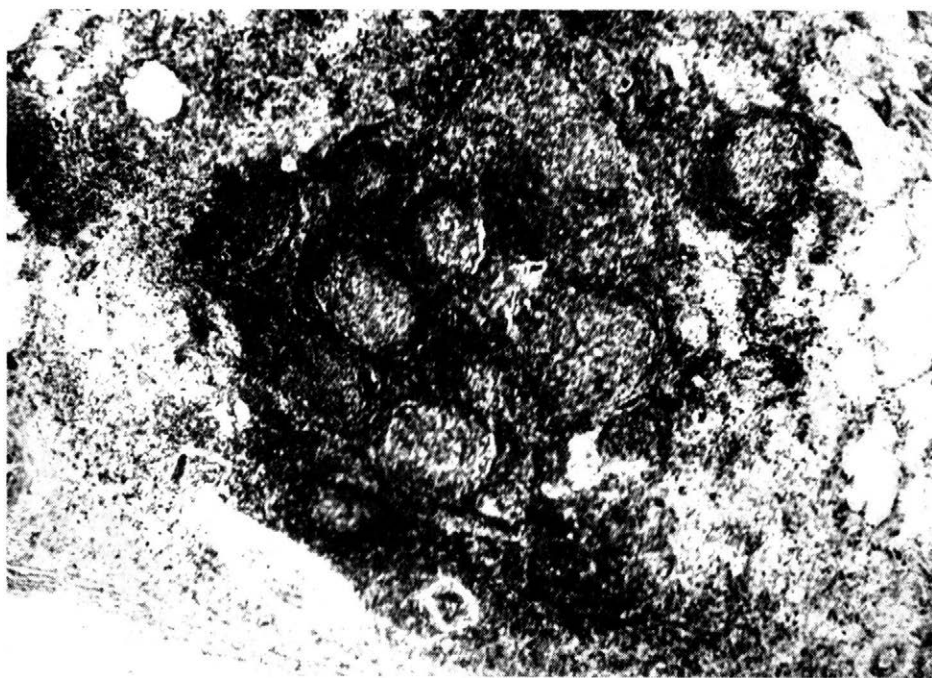
Topografie ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně

I. játra

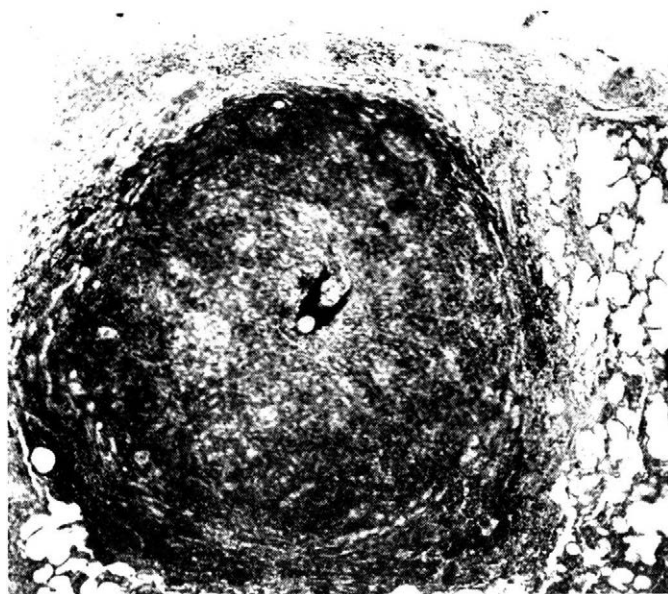
Z celkového počtu 500 makroskopicky vyšetřených koní byly nalezeny ložiskové subserózní atypické reakce lymfatické tkáně v játrech ve čtyřech případech, tj. 0,80 % z celkového počtu makroskopicky vyšetřených koní, a 50 % z celkového množství zjištěných nodulárních lymfadenopatií u koní.



1. Ložiskové subserózní atypické reakce lymfatické tkáně s tvorbou folikulů v játrech u koně. Zvětšeno: objektiv 6, okulár 9 (Meopta)

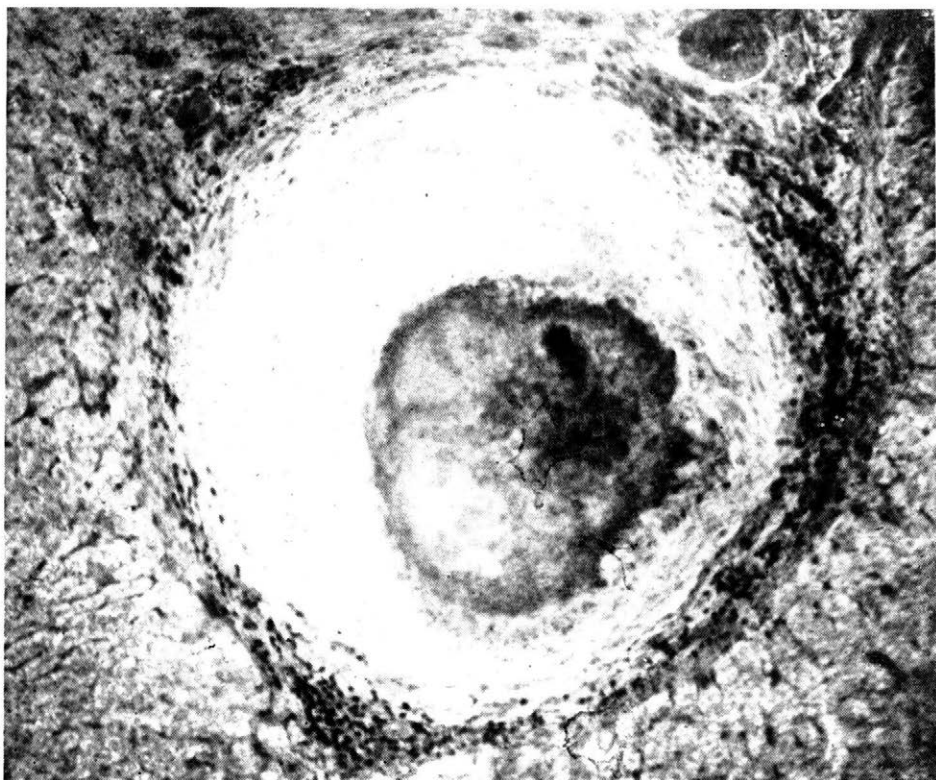


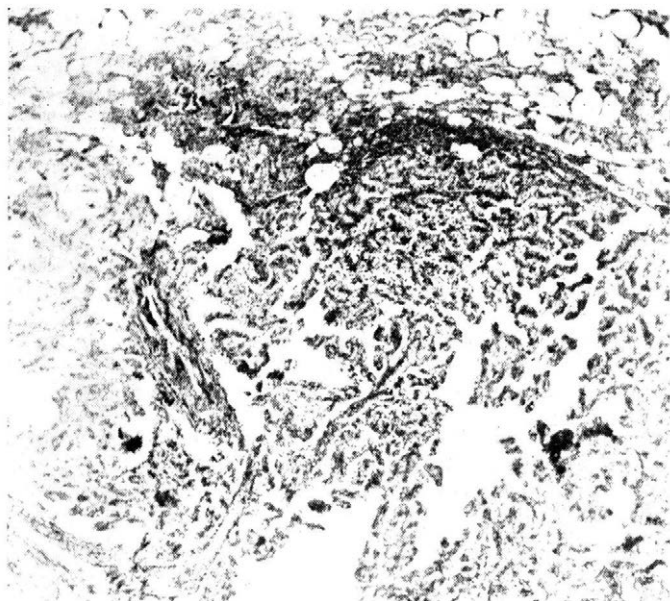
2. Ložiskové subpleurální atypické reakce lymfatické tkáně s tvorbou folikulů v plicích u koně. Zvětšeno: objektiv 6, okulár 9 (Meopta)



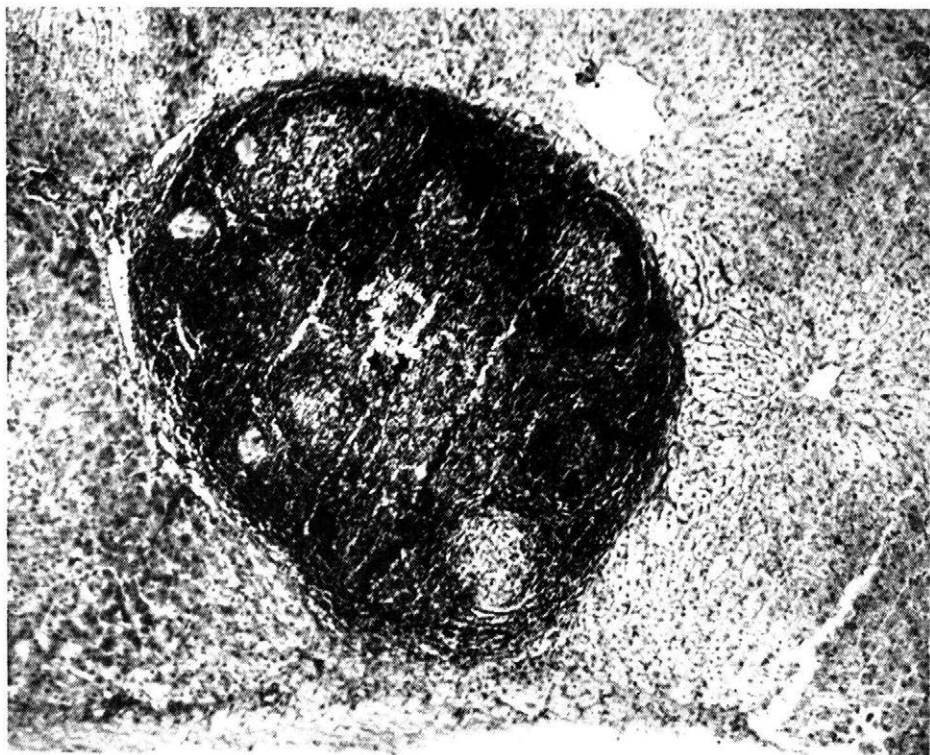
3. Svěží subpleurální ložiskové afekce s larválním stadiem cizopasníka a s tvorbou granulační tkáně v okolí a se zánětlivou demarkací na periférii uzlíku. Zvětšeno: objektiv 6, okulár 9 (Meopta)

4. Starý subserózní parazitární uzlík s hyalinizací detritu tkáňového a zbytku cizopasníka v centru a s lamelárním uspořádáním zánětlivě novotvořeného vaziva kolem nekrotického centra v játrech koně. Zvětšeno: objektiv 6, okulár 9 (Meopta)

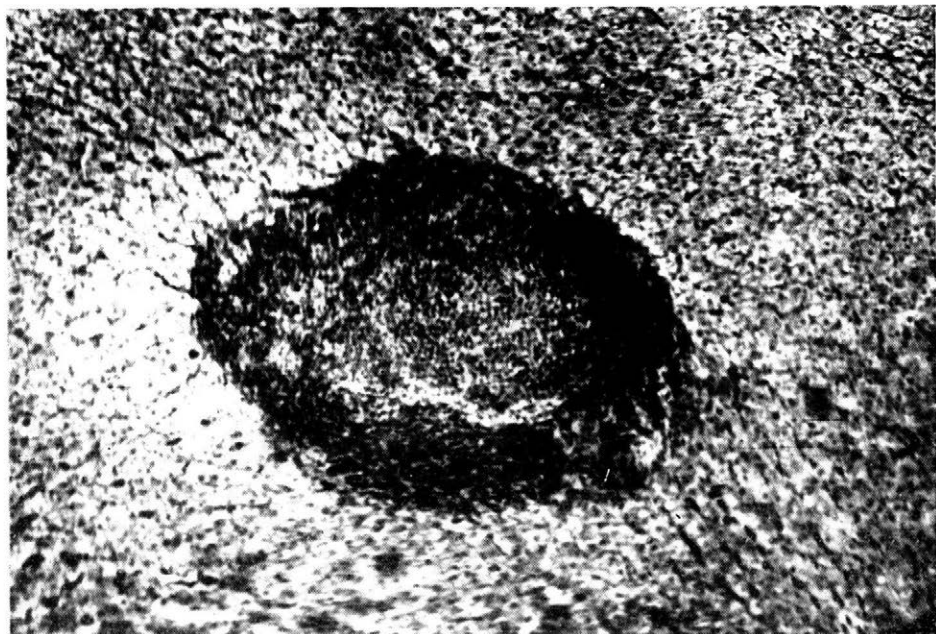




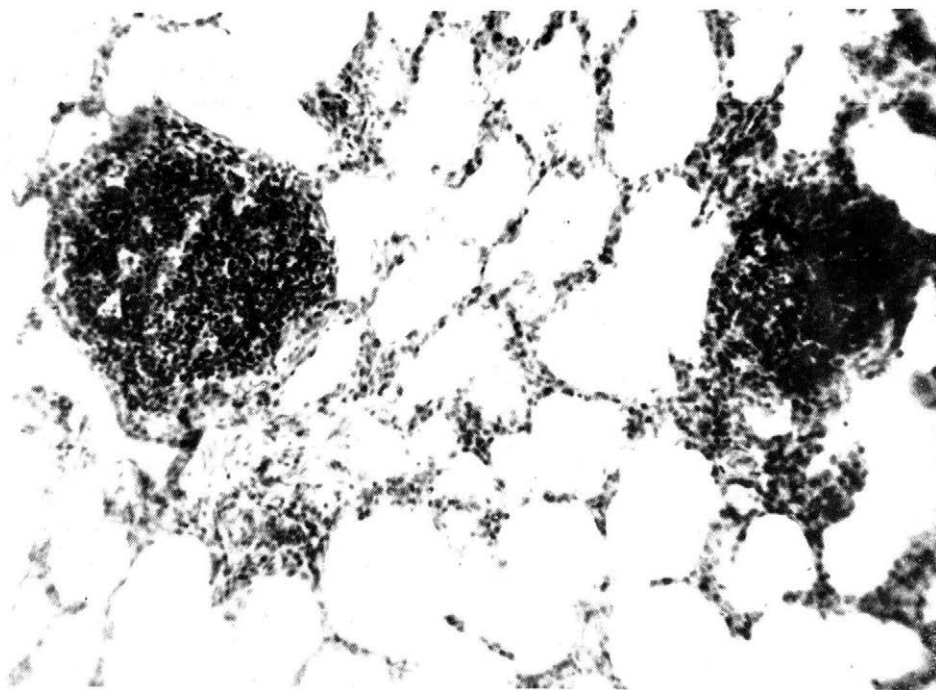
5. Ložiskové adeno-
matózní bujení sub-
serózně v plicích
u koně. Zvětšeno: ob-
jektiv 6, okulár 9
(Meopta)



6. Ložisková subse-
rózní atypická reakce
lymfatické tkáně 2.
vývojové fáze v já-
trech u koně. Zvětše-
no: objektiv 6, okulár
9 (Meopta)



7. Lymfoidní granulom v hloubce tkáně jaterní u koně. Zvětšeno: objektiv 6, okulár 9 (Meopta)



8. Tvorba Arnoldových lymfonodulů v plicní tkáni u koně. Zvětšeno: 120×

Nodulární lymfadenopatie zjištěna v játrech u 4 koní		
lokalizace	případů	% z celkového počtu lymfadenopatií
<i>Lobus sinister facies visceralis</i>	3	37,50
<i>Lobus sinister facies diaphragmatica</i>	1	12,50

Nejčastější nález ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně v játrech u koní je na levém laloku, a to na straně útrobní.

Rovněž u koní předpokládáme, že rozdílný nález nodulární lymfadenopatie na jednotlivých plochách a lalocích jaterních je (podobně jako u vepřového bravu, skotu a ovcí) v souvislosti s anatomickou stavbou, krvením a lymfatickým oběhem v jednotlivých lalocích jaterních.

II. plíce

Z celkového počtu 500 kusů makroskopicky vyšetřených koní byla zjištěna ložisková subserózní atypická reakce lymfatické tkáně (subpleurálně) ve 4 případech, tj. 0,80 % z celkového počtu makroskopicky vyšetřených koní, a 50 % z celkového počtu zjištěných nodulárních lymfadenopatií.

VI.

Nodulární lymfadenopatie zjištěna v plicích u 4 koní		
lokalizace	případů	% z celkového počtu lymfadenopatií
<i>Lobus sinister diaphragmaticus facies costalis</i>	3	37,50
<i>Lobus dexter diaphragmaticus facies costalis</i>	1	12,50

Nejčastějším místem nálezů nodulárních lymfadenopatií v plicích u koní je *lobus diaphragmaticus sinister facies costalis*.

Pro vysvětlení lokalizace uzlíčkových afekcí, složených z lymfoidní a z lymfadenoidní tkáně v hlavních lalocích, slouží morfologické a funkční poměry v plicích a jejich krevní a lymfatické oběhy.

Celkový přehled zjištěných ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně v játrech a plicích u koní

Histologicky mají subserózní ložiskové atypické reakce lymfatické tkáně u koní shodnou strukturu s tou, která byla popsána Jelínkem, Jelínkovou a Černou u vepřového bravu a skotu (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16) a Jelínkem Karlem u ovcí (15). V histogenezi ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně v játrech a v plicích lze sledovat vývojové fáze, které mají rozdílnou morfologickou strukturu a které odpovídají různému stádiu dynamického

VII.

Lokalizace	Procento z celkového počtu			Zjištěno nodulárních lymfadenopatií u koní
	zjištěných nodulárních lymfadenopatií u koní (8)	makroskopicky vyšetřovaných zvířat (104)	mikroskopicky vyšetřovaných případů (114)	
V játrech	50	0,8	3,84	4
V plicích	50	0,8	3,84	4
Celkem	100	1,6	7,69	8

vývoje nodulární lymfadenopatie. U koní se (stejně, jak to bylo prokázáno u vepřového bravu, skotu a ovcí) vyskytují shluky lymfoidní tkáně, popřípadě v časově pozdějším vývoji lymfadenopatie se zřejmou tvorbou lymfatických folikulů (sekundárních folikulů, zárodečných, reakčních center), množením perifolikulární pojivové a retikulární tkáně a interfolikulární lymfatické tkáně. Tak jako je známo při jiném atypickém vývoji lymfoidní tkáně, chybí v uzlovitém i organoidním nahromadění lymfatické tkáně subserózně u koní sinusoidní stavba patognomická pro mízní uzliny. Ve starších ložiskových subserózně lokalizovaných lymfadenopatiích se zřetelnou organoidní strukturou dochází často k pomnožení vazivové tkáně, která nahrazuje jednotlivé lymfonoduly, a v celém ložisku dochází později k pojivové metamorfóze. V této době se zjistí na periférii subserózní nodózní lymfadenopatie i vazivová demarkace. Vazivová demarkace subserózních ložisek vede ke zřetelnějšímu ohraničení ložiska od tkáně jaterní nebo plicní. Zbujelá vazivová tkáň perinodulární a internodulární a vzácněji i vazivo, které opouzdřuje celé ložisko, mohou propadnout v konečné fázi hyalinizaci a sklerotizaci.

U koní byla zjištěna v plicích i játrech nejčastěji třetí vývojová fáze, a to 62,50 % z celkového počtu zjištěných nodulárních lymfadenopatií (celkem pět případů).

Srovnání nálezů ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně u koní, vepřového brava, skotu a ovcí

VIII.

Lokalizace — orgán —	% z celkového počtu vyšetřovaných zvířat			
	ovce	skot	koně	vepřový brav
Pouze v játrech	0,49	3,0	0,80	6,63
Pouze v plicích	0,85	1,0	0,80	10,0
Současně v plicích a játrech	0,24	0,4	—	5,69
Celkem v játrech	0,74	3,4	0,80	12,32
Celkem v plicích	1,11	1,4	0,80	15,64
Celkem případů	1,85	4,8	1,60	27,96

Výskyt ložiskových atypických lymfatických reakcí je nejčastější u vepřů (27,96 %), dále u skotu (4,8 %) a po skotu u ovcí (1,85 %); u koní je výskyt

ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně nejmenší (1,60 %) ze všech dosud vyšetřovaných druhů zvířat.

Diskuse

V předložené práci bylo prokázáno, že se u koní vyskytují ložiskové subserózní atypické reakce lymfatické tkáně (nodulární lymfadenopatie) daleko vzácněji než u všech ostatních dosud vyšetřovaných druhů zvířat.

Pro diferenciální diagnostiku ložiskových subserózních afekcí u koní, hlavně v jateční praxi, považujeme za důležité zjištění, že z počtu 104 makroskopicky diagnostikovaných nodulárních lymfadenopatií u koní bylo histologickým vyšetřením potvrzeno pouze 8 případů jako ložiskové subserózní atypické reakce lymfatické tkáně, tj. pouhých 7,69 % z celkového počtu makroskopicky diagnostikovaných případů.

Statistické zhodnocení výskytu subserózních ložiskových atypických reakcí lymfatické tkáně a jejich jednotlivých vývojových fází, neopravňují — jak jsme v práci uvedli — k definitivnímu závěru o existenci genetické spojitosti subserózních nodulárních lymfadenopatií v játrech a plicích u koní, jak jsme ji prokázali u vepřového bravu (Jelínek, Černá — 14). Je tomu tak proto, že jsme zjistili poměrně malý počet nodulárních lymfadenopatií u celkem 500 vyšetřovaných koní. Variční statistika zhodnocení podle S n e d e c o r a by byla možná až po zpracování nálezů u více tisíců kusů koní právě vzhledem k poměrně vzácnému nálezu nodulárních lymfadenopatií u koní.

Proti výlučně parazitární etiologii ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně svědčí srovnávací studie o výskytu nodulárních lymfadenopatií u vepřového bravu, skotu, ovcí a koní. U koní, u kterých se vyskytuje v daleko větší míře (73,07 %) parazitární afekce v játrech a v plicích, je výskyt nodulární lymfadenopatie třikrát menší než u skotu a šestnáctkrát menší než u vepřového bravu. U ovcí je nález nodulárních lymfadenopatií o 0,25 % vyšší než u koní.

Srovnáme-li spolehlivost makroskopické diagnostiky ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně u koní s diagnostikou nodulárních lymfadenopatií u vepřového bravu, skotu a ovcí, pak je zřejmo, že spolehlivost makroskopické diagnostiky nodulárních lymfadenopatií u koní je nejmenší ze všech dosud vyšetřovaných druhů zvířat. Je tomu tak proto, že u koní dochází k ložiskovým subserózním afekcím parazitární etiologie daleko častěji než u vepřového bravu a skotu, a svěží parazitární uzlíčky lokalizované subserózně se nedají makroskopicky odlišit od nodulárních lymfadenopatií.

Považujeme za důležitý diferenciálně diagnostický příznak, že ložiskové parazitární afekce i zjištěné nespecifické granulomy apod. vykazují zánětlivou reakci a jsou produktem zánětlivých procesů.

U subserózních ložiskových atypických reakcí lymfatické tkáně v játrech a v plicích jde proti tomu o atypický růst preformované lymfatické tkáně, jak zjistili Jelínek a Jelínková (12) a později Jelínek Karel (15).

Souhrn

Subserózní ložiskové atypické reakce lymfatické tkáně v játrech a plicích (*lymphadenopathia nodularis multiplex hepatis et pulmonum*) se vyskytují rovněž

u koní, ale daleko v menším množství než u ostatních druhů zvířat (vepřů, skotu a ovcí).

Z makroskopicky diagnostikovaných ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně u 500 poražených koní bylo zjištěno 104 ložiskových afekcí, které se podobají nodulární lymfadenopatii; z tohoto počtu bylo však histologickým vyšetřením potvrzeno pouze 8 případů jako nodulární lymfadenopatie, tj. 1,60 % z celkového počtu makroskopicky vyšetřených zvířat.

Ze subserózních ložiskových afekcí, které makroskopicky byly zaměněny s ložiskovou subserózní atypickou reakcí lymfatické tkáně, bylo 76 případů, tj. 73,07 % z histologicky vyšetřovaných případů parazitárního původu. V dalších jedenácti případech šlo o ložiskové subserózní nespecifické granulomy v játrech a v plicích, v osmi případech o ložiskové zbytnění seróz a v jednom případě o subserózní ložiskové adenomatózní bujení v plicích.

U koní je z dosavadních vyšetřování různých druhů zvířat nejmenší spolehlivost v makroskopické diagnostice ložiskových subserózních atypických reakcí lymfatické tkáně. Je tomu tak proto, že u koní se nedají zvláště svěží ložiskové subserózní afekce parazitárního původu makroskopicky odlišit od nodulárních lymfadenopatií.

Literatura

1. Angeloff: Archiv für wissenschaftliche und praktische Tierheilkunde, Bd. 34, 1907. — 2. Arnold: Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie, I. Auflage, S. 315, Jahresberichte. — 3. Casarosa: La Clinica Veterinaria, Vol. 78, No. 7, 1955. — 4. Hutýra: Zeitschrift für Tiermedizin, 11, 1908. — 5. Jelínek: Bratislavské lékařské listy — Sborník, vydaný univers. Komenského, Bratislava, 1935. — 6. Jelínek: Zvěrolékařské rozpravy, roč. XVIII, č. 1, 1943. — 7. Jelínek: Sborník ČSAZV, Veterinární medicína, roč. XXIX, č. 1, 1956. — 8. Jelínek: Monatshefte für Veterinärmedizin, Jahrg. 13, 1958. — 9. Jelínek a kolektiv: Soudní veterinární medicína, Praha 1958 — ČSAZV. — 10. Jelínek: Sborník ČSAZV — Veterinární medicína, roč. XXXII, č. 10, 1959. — 11. Jelínek: Veterinární kalendář, Státní zeměděls. nakl. Praha, 1959. — 12. Jelínek, Jelínková: Sborník ČSAZV — Veterinární medicína, roč. XXX, č. 6, 1957. — 13. Jelínek, Černá: Sborník ČSAZV — Veterinární medicína, roč. XXX, č. 9, 1957. — 14. Jelínek, Černá: Sborník ČSAZV — Veterinární medicína, roč. XXXI, 1958, č. 2. — 15. Jelínek Karel: Diplomová práce, vet. fakulta, Brno 1958. — 16. Jelínková: Diplomová práce, vet. fakulta, Brno 1958. — 17. Joest: Zeitschrift für Infektionskrankheiten, Bd. XVIII, s. 428. — 18. John: Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin, 1886. — 19. Nocard: Berliner tierärztliche Wochenschrift, 1896. — 20. Nocard: Bull. de la Soc. centr. de Med. vet., 1896. — 21. Nieberle: Spezielle pathologische Anatomie der Haustiere — Bd. III, 1924, Berlin. — 22. Olt: Archiv für wissenschaftliche und praktische Tierheilkunde, 36 (Suppl. Bd.), 1910. — 23. Preisz: cit. podle Nieberle — (21). — 24. Ribbert: Lubarsch — Ostertag Bd. IV, str. 508. — 25. Schütz: Archiv für praktische wissenschaftliche und praktische Tierheilkunde, Bd. XXI. — 26. Tscherniak: Zeitschrift für Infektionskrankheiten, Bd. XV-XVI, S. 140. — 27. Wladimiroff: cit. podle Nieberle (21). — 28. Zendulka: Docentská habilitační práce — vet. fakulta, Brno, 1958. — 29. Černý, Jelínek: Sborník ČSAZV — Veterinární medicína, roč. XXXII, 1959, č. 1.

Исследование очаговых подсерозных атипичных реакций лимфатической ткани (узелковые лимфаденитные заболевания) в печени и легких лошадей и их диагностическое значение

Подсерозные очаговые атипичные реакции лимфатической ткани в печени и легких (*lymphadenopathia nodularis multiplex hepatis et pulmonum*) встречаются также у лошадей, но в значительно меньшем количестве, нежели у остальных видов животных — свиней, крупного рогатого скота и овец.

На основании макроскопической диагностики очаговых подсерозных атипичных реакций лимфатических тканей у 500 убитых лошадей было обнаружено 104 очаговых афекций, которые походили на нодулярный лимфаденит, однако из этого числа гистологическим исследованием было подтверждено только 8 случаев узелкового лимфаденитного заболевания, т. е. 1,60 % от общего числа макроскопически исследованных животных.

Из подсерозных очаговых афекций, которые макроскопически были замечены очаговой подсерозной атипичной реакцией лимфатической ткани, 76 случаев, т. е. 73,07 % из гистологически исследованных случаев были паразитарного происхождения. В дальнейших 11 случаях вопрос касался очаговой подсерозной неспецифической грануломы в печени и в легких, в 8 случаях — очагового увеличения сероза, в 1 случае — подсерозного очагового аденоматозного разрастания в легких.

Из проведенных до сих пор исследований различных видов животных менее всего надежна макроскопическая диагностика очаговых подсерозных атипичных реакций лимфатических тканей у лошадей. Это происходит потому, что у лошадей не представляется возможным макроскопически отличить, в особенности, свежие очаговые подсерозные афекции паразитарного происхождения от узелковых лимфаденитных заболеваний.

The Finding of Focal Subserous Atypical Reactions of the Lymphatic Tissue (*lymphadenopathia nodularis*) in the Liver and Lungs of Horses and Their Diagnostical Significance

Subserous focal atypical reactions of the lymphatic tissue in the liver and lungs (*lymphadenopathia nodularis multiplex hepatis et pulmonum*) are found also in horses, but in a considerably smaller number than in other kinds of animals, porc, cattle and sheep.

Among macroscopically diagnosticable focal subserous atypical reactions of the lymphatic tissue in 500 slaughtered horses 104 focal affections were found similar to the nodular lymphadenopathy. From their number were histologically confirmend only 8 cases as true nodular lymphadenopathy, t. e. 1,60 % from the total macroscopically examined animals.

Among the subserous focal affections macroscopically diagnosed as focal subserous atypical reactions of the lymphatic tissue 76 cases, i. e. 73,07 % of the histologically examined were of parasitic origin. In further 11 cases there were focal subserous non specific granuloms in the liver and lungs, in 8 cases a focal swelling of the serous membranes and in one case a subserous focal adenomatous growth in the lung.

In horses according to the hitherto performed examinations of different kinds of animals the macroscopic diagnosis of the focal subserous atypic reactions of the lymphatic tissue is the least reliable. It is so because in horses it is impossible to distinguish macroscopically fresh subserous affections of parasitic origin from nodular lymphadenopathy.

Příspěvek k histogenezi jater prasete

К вопросу гистогенеза печени свиньи

A Contribution to the Histogenesis of the Pig Liver

Evžen NOVOTNÝ

Histologicko-embryologický ústav veterinární fakulty v Brně (přednosta doc. dr.
Evžen Novotný)

Věnováno k šedesátým narozeninám profesora RNDr. et MVDr. Vlastimila Vrtiše

Došlo dne 3. II. 1960

Úvod

V rámci výzkumu histogeneze jater prasete (*Sus scrofa dom.*), jímž se zabýváme již delší dobu jako ústřední výzkumnou otázkou našeho pracoviště, vyvstala již při sestavování problémové anotace otázka, kdy a jak vzniká vazivové interstitium v játrech prasete. Při dalším studiu nás zaujala nedůslednost, týkající se časového určování vzniku a vývoje této vazivové složky.

Složení jater z lalůček, které jsou běžně popisovány jako základní stavební jednotka ve všech běžných učebnicích, není všeobecně platným znakem pro játra všech obratlovců. Braus zjišťuje, že tato struktura je poprvé vyvinuta z hlediska fylogeneze u monotremat. Definuje jaterní lalůček jako ostrůvek jaterních buněk, který obklopuje *vena centralis*. Přitom ještě u ježury (*Echidna spec.*) jsou jaterní buňky v tomto ostrůvku uspořádány radiálně. Buněčné trámce zde představují tubuly, ohraničené 3–4 buňkami, jež obklopují lumen. Vačnatci (*Marsupialia*) mají tubuly ohraničené menším počtem buněk. Od placentalií se liší jen tím, že krevní sinusoidy a buněčné trámce jsou uspořádány radiálně.

Jaterní lalůčky koně, skotu, ovce, kozy, psa, kočky i prasete u dospělých i juvenilních jedinců, jejich tvar a velikost popsal Illing. Podle velikosti jaterních lalůček srovnal játra těchto zvířat do řady, v níž na prvním místě jsou játra prasete s největšími lalůčky, za nimi následuje skot a kůň s lalůčky menšími a teprve potom ostatní výše uvedení savci. Všiml si, že se stoupajícím věkem se jaterní lalůčky zvětšují.

Představu o ohraničení jaterních lalůček vazivem zpřesnila Kostorzová, která zdůraznila, že ohraničení lalůček vazivem je u většiny savců neúplné. Výjimku z tohoto pravidla představují medvěd, slon, velbloud a prase. Na množství vaziva, ohraničujícího jaterní lalůčky, má podle ní vliv domestikace. Dále zjistila, že u domácího prasete je interlobulárního vaziva více než v játrech divočka. Peter E. konstatoval naprosto shodu v utváření interlobulárního vaziva jater divočka s játry prasete domácího.

Illing zjistil, že jaterní lalůčky selat jsou o polovinu menší než u dospělých. U ostatních domácích savců je tento rozdíl menší. Důležitý je i další Illingův

poznatek, že jaterní lalůčky nabývají definitivní velikosti teprve u dospělých jedinců. Jeho číselné údaje ukazují, že lalůčky juvenilních prasat nejsou větší než u ostatních juvenilních domácích savců a jsou dokonce menší než lalůčky juvenilních koní.

Masachiko Kutsuno popsal na periférii jaterních lalůček prasete hraniční vrstvu, která má vztah k interlobulárnímu vazivu. Utváření periférie jaterních lalůček prasete věnoval pozornost Rumjančev. Buňky okraje lalůčku nevynikají žádnými zvláštními znaky, jsou však charakteristické svým uložením: mezi interlobulárním vazivem a plošnou perilobulární kapilární sítí. Tato síť, umístěná při běžných popisech do interlobulárního vaziva, je od něj ve skutečnosti oddělena řadou jaterních buněk, které jsou totožné s okrajovou zónou Masachiko Kutsuny.

Peter E. prokázal v interlobulárním vazivu jater prasete také elastická vlákna, jež jsou zvlášť hojná v *capsula fibrosa hepatis* a v okolí cév. Pozoroval — ve shodě s nálezy Ellenbergera a Schacha — v interlobulárním vazivu hladkosvalové buňky. Konstatoval dále výskyt lymfocytů a leukocytů, většinou v okolí cév.

Melnikow uvádí, že vazivo, ohraničující jaterní lalůčky u člověka se skládá výlučně z kolagenních vláken, nevšímá si však jeho vzniku ani vývoje. Daleko více se zabývá studiem vláken elastických, která nalézá v Glissonově pouzdře a v interlobulárních věnách. Játra juvenilních jedinců jsou na elastická vlákna bohatší než játra jedinců dospělých. Velmi jemnou interlobulární síť elastických vláken v játrech novorozenců popisuje Livini. Jemné sítě argyrolilních vláken kolem sinusoid popsal Maresch.

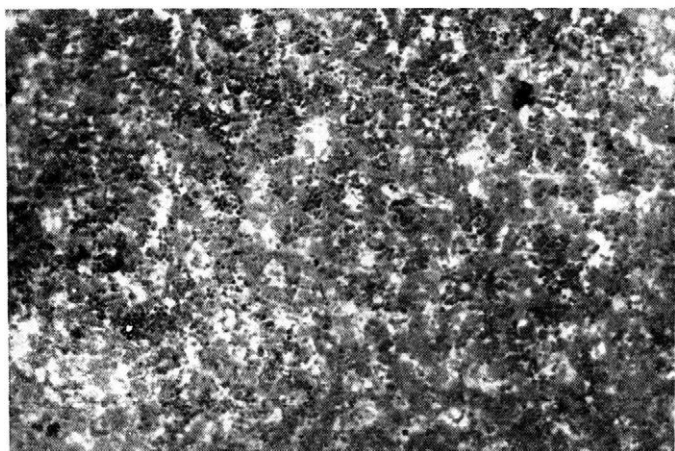
Kretschmer se ve své disertaci věnoval především mikroskopické organometrii jater prasete a zjistil tyto číselné hodnoty, charakterizující jaterní lalůčky prasete. Maximální velikost lalůčku na průřezu je 2142 μ , minimální 1037 μ , průměrná 1573 μ . Maximální velikost jaterních lalůček selat je 1173 μ , minimální 646 μ , průměrná 872 μ . Zjistil dále, že v prvních 14 dnech po narození se lalůčky zvětšují téměř o jednonásobek, zatímco později se růst lalůček zpomaluje. Tento zjev vykládá autor jako ovlivnění výživou a individualitou jedince. Významné je jeho zjištění, že u neonátů nelze interlobulární vazivo nalézt, teprve ve stáří čtyř týdnů je výrazné a velmi vyvinuté je až u dospělých jedinců.

Lippay ve své disertaci konstatuje, že „... vývoj interlobulárního vaziva v postnatálním stadiu nepozoroval“. Jestliže i u člověka uvádějí Toldt a Zuckerkandel vznik lobulární struktury jater do postnatální doby, považovali jsme za účelné přezkoušet na vlastním materiálu protichůdné údaje Kretschmerovy a Lippayovy.

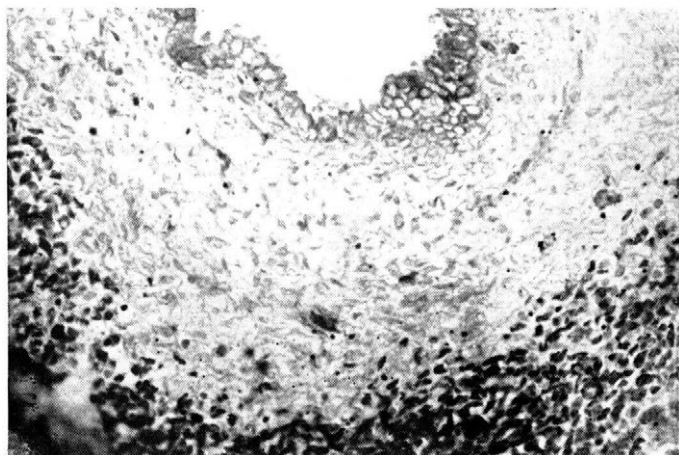
Materiál a metodika

Sledovali jsme přítomnost vaziva v játrech 39 prasečích fetů následujících délek: 11 mm, 18 mm, 24 mm, 26 mm, 27 mm, 31 mm, 32 mm, 33 mm, 34 mm, 35 mm, 45 mm, 50 mm, 55 mm, 60 mm, 74 mm, 85 mm, 86 mm, 90 mm, 97 mm, 99 mm, 100 mm, 104 mm, 105 mm, 108 mm, 115 mm, 116 mm, 125 mm, 135 mm, 145 mm, 150 mm, 163 mm, 170 mm, 183 mm, 190 mm, 199 mm, 201 mm, 203 mm a 205 mm. Vzhledem k tomu, že hřbet fetů je v různém stáří různě zakřivený, nepovažujeme za vhodné udávat délku fetů v přímé tělové vzdálenosti mezi vrcholem hlavy a kořenem ocasu. Udáváme proto skutečně naměřenou obloukovou délku od vrcholu hlavy po zakřivení těla ke kořeni ocasu.

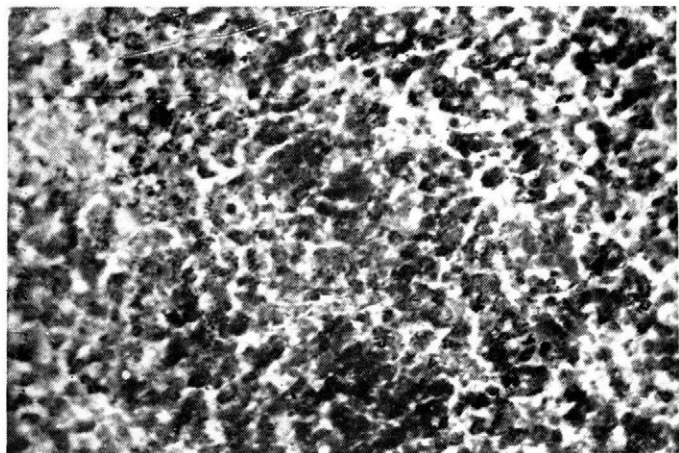
Fety jsme většinou získali při náhodném porážení březích prasnic na brněnských jatcích. Proto není známá přesná rasová příslušnost zkoumaného materiálu



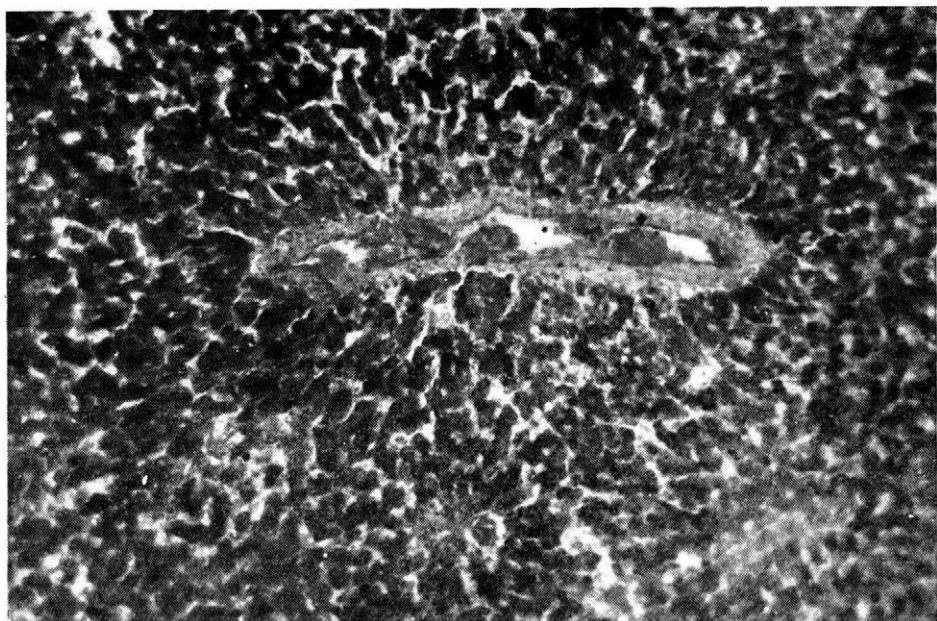
Obr. 1. Játro fetu 31 mm délky, barveno podle Malloryho. Jaterní parenchym bez stop interlobulárního vaziva. (200:1).



Obr. 2. Játro fetu 86 mm délky, barveno podle Malloryho. Vazivo pouze ve stěně cévy, v jaterním parenchymu interlobulární interstitium chybí. (320:1).



Obr. 3. Játro fetu 205 mm délky, barveno podle Malloryho. V jaterním parenchymu není ani stopy po interlobulárním vazivu. (200:1).



Obr. 4. Játra fetu 205 mm délky, barveno podle Malloryho. Hojnost kolagenního vaziva pouze ve stěně cévy. (200:1).



Obr. 5. Játra fetu 205 mm délky, impregnováno podle Papa. Jaterní parenchym s argyrofilními vlákny. (1700:1).

Všechna mikrofota zhotovil promováný veterinární lékař Jaroslav Holman, odborný asistent histologicko-embryologického ústavu.

v zootechnickém smyslu. Březí prasnice byly klinicky zdravé a fety byly odebrány z děloh nejednicí patologické změny. Játra větších fetů byla vypreparována a zpracována v histologické preparáty, menší fety byly řezány a zpracovány *in toto*.

Poněvadž materiál nebyl nikdy čerstvý a v některých případech byl dokonce udržován několik let ve formalínu, promývali jsme jej před zpracováním 24 až 48 hodin v proudící vodě. Po promytí byly vzorky zality běžnou metodou do parafinu. Dlouhá doba fixace způsobila, že se v některých případech žlázová tkáň drtila. Z každého bločku byly pořízeny orientační preparáty, barvené přehledně Mayerovým haematoxylinem a eosinem (Wolf). Přes poměrně značnou dobu, po níž byly vzorky uchovány v 10 % formalínu, neztratila jaterní tkáň na barvitelnosti.

K průkazu vaziva bylo použito barvicích metod, znázorňujících kolagenní a elastické vazivo. Na kolagen jsme použili původní Malloryho metodu (anilinová modř — Oranž G — kyselina šfavelová ve vodním roztoku). Osvědčilo se vystavit odparafinované řezy před barvením vlivu Zenkerovy tekutiny. Kolagenní vazivo se barvilo výrazně modře. Průkaz kolagenu byl ověřen přehledným barvením podle Massona (erytrosin — haematoxylin — šafrán). Osvědčilo se vystavit odparafinované řezy před barvením vlivu 3 % roztoku dvojchromanu draselného. Touto metodou se kolagen barvil žlutě a výsledek byl ještě přesvědčivější než u předcházející metody. Massonova metoda je však také náročná na provenienci erytrosinu „Grübler“ a vyžaduje, aby šafrán nebyl příliš starý.

O průkaz elastických vláken ve vmezeřeném vazivu jsme se pokusili barvením resorcinovým fuchsinem podle Weigerta. Resorcinový fuchsin byl připraven ze substancí vždy čerstvý, protože jsme vyzkoušeli, že roztok ztrácí po krátké době barvicí schopnost. Dodržovali jsme třicetiminutovou lázeň v roztoku barviva.

Argyroliní vlákna jsme impregnovali dusičnanem stříbrným podle Papa, přičemž bylo upuštěno od dodatečného zlacení impregnovaných řezů. Potvrdilo se nám, že tato metoda je velmi spolehlivá, i když jsme se nevyhnuli tomu, aby nebyla impregnována i vlákna kolagenní.

Vlastní nálezy

Vzhledem k tomu, že nález interlobulárního vaziva je v játrech všech 39 zkoumaných prasečích fetů negativní, omezujeme se na ilustrativní popis jater tří fetů různé délky, abychom tak dokumentovali, že negativní nález nebyl náhodný. K této demonstraci volíme fetus velmi mladý — 31 mm, tj. 35 dní, starší — 86 mm, tj. 50 dní, a téměř donošený — 205 mm, tj. 98 dní.

Játra prasečího fetu 31 mm délky (obr. 1) jeví při všech použitých způsobech barvení typickou strukturu fetální jaterní tkáně. Pruhy jaterních buněk jsou protkány mohutně luminizovanými krevními sinusoidami. Parenchym nejeví žádné stopy interlobulárního vaziva.

Játra prasečího fetu 86 mm délky (obr. 2) ukazují typickou fetální strukturu parenchymu s výraznými sinusoidami naplněnými krví. Interlobulární vazivo zcela chybí, nepříliš hojné vazivo lze nalézt ve stěnách velkých cév.

Játra prasečího fetu 205 mm délky (obr. 3 a 4), tj. játra téměř donošeného plodu, nejeví žádné stopy interlobulárního vaziva, které je pro dospělá prasečí játra tak typické. Nápadně hojné je kolagenní vazivo ve stěnách cév.

Barvením na kolagen bylo prokázáno, že vazivo ve stěnách cév je povahy kolagenní. Elastické vazivo jsme neprokázali ani speciálním barvením na elastin.

Stříbřením byla prokázána přítomnost argyrofilních vláken ve všech játrech prasečích fetů, a to ve stěně játerních sinusoid (obr. 5). Vmezežené interlobulární vazivo jsme v játrech fetů prasete nikdy nezjistili. Proto je toto vazivové stroma poměrně mladým histogenetickým výtvozem, vznikajícím až v postnatální době. Typicky nápadné množství interlobulárního vaziva v játrech prasete není důvodem pro jeho časnější vznik.

Diskuse

Literární údaje Kretschmerovy i Lippayovy o vzniku interlobulárního vaziva v játrech prasete byly formulovány velmi kategoricky, avšak ilustracemi jsou podporovány málo přesvědčivě. V Lippayově disertaci ilustrace chybí a v Kretschmerově jsou obrázky kreslené. Jestliže srovnáme tyto literární údaje s našimi nálezy, jež jsou opřeny o přehledné i elektivní barvení na kolagen a elastin a doplněné impregnací argyrofilních vláken, vyplývá z tohoto srovnání, že Kretschmer oprávněně časově umístil tvorbu interlobulárního vaziva do postnatální doby. Do jaké míry je toto časové určení přesné, bude předmětem našeho dalšího zkoumání.

Souhrn

1. Elastická vlákna v játrech prasečích fetů nebyla zjištěna, a to ani jako součást stěny krevních cév.
2. Argyrofilní vlákna jsou jen doprovodnou složkou stěny sinusoid.
3. Kolagenní vlákna byla u prasečích fetů zjištěna pouze ve stěně krevních cév.
4. Vmezežené interlobulární vazivo v játrech fetů prasete nebylo nikdy zjištěno.

Literatura

Braus (1896): Untersuchungen zur vergleichenden Histologie der Leber der Wirbeltiere. — Clara M. (1932): Ztschr. f. mikr. anat. Forsch., Bd. 31. — Ellenberger - Schach: Cit. podle E. Peter. — Illing (1903): Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk., Bd. 29, S. 411-426. — Kon: Arch. f. Entw. d. Org., Bd. 25, S. 429-522. — Kistorz: Anat. Anz., Bd. 83. — Kretschmer (1914): Untersuchungen über die Leberzellen und Leberläppchen des Schweines während des Wachstums. Dresden. — Lippay (1928): Közlemények az Oszeházonlité élet-es Körtan köréből, T. 21, p. 1-8. — Livini (1899): Monitore zool. ital., Vol. 10, p. 12-23. — Maresch: Centralblatt f. allg. Path., Bd. 16, S. 641-649. — Masachiko Kutsuno: podle Clary. — Melnikov - Rasswedenkov (1899): Beitr. z. path. Anat. u. allg. Pathol., Bd. 26, S. 546-588. — Peter E. (1935): Anat. Anz., Bd. 79. — Plenk (1927): Ztschr. f. mikr. anat. Forsch., Bd. 9. — Rumjancev (1927): Ztschr. f. mikr. anat. Forschung, Bd. 9. — Toldt - Zuckerkandl (1875): Sitzber. d. k. k. Akad. in Wien, Bd. 72.

К вопросу гистогенеза печени свиньи

1. Эластические волокна в печени плодов свиней не были нами установлены, а именно даже в составной части стенок кровеносных сосудов.
2. Аргирофильные волокна являются только сопроводительной составной частью стенок синусоидов.
3. Коллагенные волокна в печени плодов свиней были установлены только в стенке сосудов.
4. Промежуточная интерлобулярная соединительная ткань в печени плодов свиней не была нами никогда обнаружена.

A Contribution to the Histogenesis of the Pig Liver

1. Elastic fibres were not found in the livers of swine fetuses, not even as a part of the blood vessel wall.
2. Argyrophil fibres are only an accompanying part of the sinusoid wall present.
3. Collagenous fibres were found in swine fetuses only in the wall of the blood vessels.
4. The interstitial intertubular connective tissue has been never found in the livers of swine fetuses.

Diskuse o teoretických názorech O. B. Lepeshinské - příspěvek k formulaci buněčné teorie

Дискуссия по теоретическим взглядам О. Б. Лепешинской — к вопросу формулировки клеточной теории

Discussion concernant les opinions théorétiques de Mme O. B. Lepeshinskaja — contribution à la formulation de la théorie cellulaire

The Discussion about O. B. Lepeshinskaya's Theoretical Views — a Contribution to the Formulation of the Cell Theory

Dr. Vladimír GEISSEL

Histologicko-embryologický ústav veterinární fakulty v Brně

Došlo dne 1. XII. 1956

Věnováno k šedesátým narozeninám prof. RNDr. et MVDr. Vlastimila Vrtiše

Úvod

Až budou napsány dějiny přírodních věd, zahrnující i dnešní, současné období, pak toto období bude bezpochyby charakterizováno probíjováním dialektické metody v přírodních vědách. A tento hlavní rys dnešního období vývoje přírodních věd vynikne s časovým odstupem tím více, čím více nám v současné době mizí v tématické mnohotvárnosti problémů přírodních věd. Tato mnohotvárnost vyplývá z toho, že přírodní vědy se dnes již rozvinuly v řadu speciálních odvětví, která mají společný pouze předmět zkoumání v nejširším slova smyslu — pohyb hmoty (Engels, 1873).

Úzká specializace dnešních přírodních věd svádí obvykle k tomu, že badatelé studují problémy bez jednotící filosofické koncepce a že dosažené výsledky speciálních výzkumů — tj. objektivně, nezaujatě nashromážděná fakta — nehodnotí, nespojují obecnou jednotící filosofickou koncepcí.

Snaha o důsledné užití dialektické metody v přírodních vědách vede zákonitě k tomu, že celá řada vžitých teoretických názorů v biologii je nyní napadána, rozebírána, kritizována a doplňována nebo nahrazována novými.

V souvislosti s tím je třeba odpovědět na obecnou otázku, jež bývá nadhazována pod dojmem rozvíření řady diskusí sovětskými vědci: Proč k těmto diskusím dochází právě v Sovětském svazu? Tazatelé správně — i když většinou pouze instinktivně — vycítují, že nejde o náhodu. Odpověď na otázku si usnadníme, uvědomíme-li si, že ve vědách společenských byla odpověď na hlavní spornou otázku — co je hybnou silou vývoje lidské společnosti — již dána poznáním prvotnosti materiálního života společnosti a druhotnosti společenského vědomí.

Ve vědách přírodních k tomuto střetnutí zákonitě dochází tam, kde ekono-

mická základna umožňuje rozvoj přírodních věd v zájmu společnosti a zároveň tam, kde nadstavba téže společnosti podporuje růst materialistických ideí ve společenském vědomí.

Je to zvláště biologie, v níž v důsledku nepoměru mezi dosahovanými výsledky sovětské vědy a jejími teoretickými základy a tím povzbuzené snahy o důslednou aplikaci dialektické metody dochází ke střetávání zastánců nového, progresivního, s obhájci starého, přezívaného (Studitskij, 1955).

Nemůže být cílem této studie rozebírat všechna dílčí střetnutí v biologii. Chceme pouze vymezit přínos diskuse o teoretických nározech O. B. Lepešinské ke zpřesnění formulace buněčné teorie. Považujeme za nutné přistupovat k jejím teoretickým názorům z hlediska zevšeobecňujícího, tj. z hlediska filosofického. Domníváme se, že jen tak se lze vyvarovat chyby, že pro stromy neuvidíme les, že totiž pro ilustrující fakta, pro argumenty pro i proti, jež nabývají na přesvědčivosti vhodnou interpretací, nám unikne podstata těchto názorů.

Kromě tohoto možno říci, všeobecného důvodu je ještě jeden důvod, nutící nás k tomu, abychom k rozboru teoretických názorů O. B. Lepešinské přistupovali z filosofické strany: Filozofové z profese tyto názory dosud souhrnně nezhodnotili. — Pokud byly učiněny pokusy o filosofické zhodnocení teoretických názorů O. B. Lepešinské (Alešin a Popov, 1952, O. B. Lepešinskaja, 1953, Pljušč, 1953) považujeme je za neúplné. Nezabývají se výlučně tímto tématem a mají poměrně skrovný rozsah. Práce Pljuščova obsahuje nadto i některé formulace, s nimiž není možno souhlasit.

Historický vývoj názorů na buňku a na živou hmotu

O. B. Lepešinskaja se vědomě hlásí ke Schwannově buněčné teorii. Spojuje však vytvoření buněčné teorie i se jménem Schleidenovým. Budíž v zájmu historické pravdy řečeno, že spojit bezprostředně Schleidena a Schwanna v souvislosti s vytvořením buněčné teorie není na místě. I když se to stalo obecným zvykem, není k tomu věcných důvodů. Že tak činí i O. B. Lepešinskaja, nás však překvapuje. Vždyť v literatuře, kterou cituje, musela najít rigorózní ohrazení proti tomu, aby Schleiden byl označován za spolutvůrce buněčné teorie. Buněčná skladba rostlinných tkání byla známa dříve, než Schleiden publikoval své „Beiträge zur Phytogenesis“ (1838). Heidenhain (1907) proto považuje dokonce za nepochopitelné, že se v mnoha učebnicích mluví o Schleidenovi jako o objeviteli rostlinné buňky.

Živočišné buňky byly objeveny později než buňky rostlinné. Pomineme-li autory, kteří sice mluvili o buněčné struktuře živočišného těla, ale neoprávněně, neboť skutečné buňky vůbec neviděli — jak o tom vcelku shodně mluví Kacnelson (1935), Studnička (1931, 1932) i O. B. Lepešinskaja (1945) — dojdeme k autorovi, jehož prvenství v objevu živočišné buňky nebude, jak se zdá, s naší strany nikdy dost důkladně hájeno a dokazováno. J. E. v. Purkyně popisuje živočišné buňky již v roce 1837. A nejen to; Purkyně zároveň předjímá i podstatný princip buněčné teorie: zásadní shodu živočišných „zrníček“ s „buňkami“ rostlinnými. Studnička (1947) proto žádá, aby na místě Schleidenově byl podle pravdy uváděn Purkyně před Schwannem.

Schwannovi tak zůstává význam tvůrce buněčné teorie, jemuž se dostalo štěstí, že mohl využít poznatků vatislavské Purkyněovy školy a publikovat

své názory v rozsáhlé a na svou dobu bohatě vypravené publikaci (1838/1839), v níž ovšem uplatňuje převážně výsledky práce vatislavské Purkyněovy školy.

Mohla by se vyskytnout připomínka, že objev buňky jako jeden ze tří velkých objevů, „které milovými kroky popohnaly kupředu naše vědomosti o souvislosti přírodních procesů“,*) spojuje se jménem Schleidena a Schwanna Engels (1886b). Na tuto připomínku je snadné odpovědět: Bylo již řečeno, že o Schleidenovi jako o objeviteli rostlinné buňky mluví bezdůvodně mnoho učebnic. Je možno se domnívat, že Engels čerpal materiál pro příslušnou stať „Dialektiky přírody“ z příručky Koellikerovy.

Koelliker (1850 i 1852) sice správně uvádí, že Purkyně znal živočišné buňky ještě před Schwannem, ale nikde neuvádí Purkyně jako prvního, kdo vyslovil princip buněčné teorie. Je proto pochopitelné, že Engels uvádí na podkladě literatury jemu přístupné Schleidena a Schwanna jako zakladatele buněčné teorie.

Nyní ještě k principiálnímu předpokladu buněčné teorie, že elementární součásti organismu jsou buňky.

O. B. Lepešinskaja se odvolává na Koellikera, který „již dávno přistoupil k otázce celistvosti organismu a jeho stavby nejen z buněk, jak tvrdili Schleiden a Schwann“.**) Odvolává se tak na autora, který tuto myšlenku přejímá z druhé ruky. Vždyť již v recenzi Schwannova spisu (1840), kterou Koelliker znal, odmitá Purkyně Schwannovo hledisko, že buňky jsou jedinou skladebnou složkou organismu. — Purkyně je první, kdo má správnou představu o obsahu buněk. Jeho „*vesicula germinativa*“ (zárodečný váček) z r. 1825 je Brownův „*nucleus*“ (jádro) z r. 1831. Pro obsah zrníček (buněk) razí jako první označení protoplazma (1839).

Jestliže O. B. Lepešinskaja bojuje svým dílem za očistění buněčné teorie od mechanistického výkladu — tedy proti Virchowově formulaci buněčné teorie — přiznává tím, že Virchow rozvinul jen to, co bylo nesprávně formulováno již Schwannem. U Virchowa nacházíme jen důsledné uplatňování Schwannovy teze: „Základ výživy a růstu leží nikoli v organismu jako celku, nýbrž v jednotlivých elementárních částech, v buňkách.“***) Virchow jde dále a vytváří celou morfologicky zaměřenou teorii stavebních kamenů (Bausteintheorie) spolu s jejím fyziologickým pendantem — teorií buněčného státu, kterou charakterizoval její odpůrce Heidenhain (1907) jako představu, že „buňky uvnitř těl žijí v sociálním společenství, založeném na dělbě práce“.****)

Engels (1885) o tomto Virchowově počínání říká, že Virchow je „... následkem objevu buňky nucen rozložit jednotu živočišného individua spíše pokrokově (rozuměj liberálně ve smyslu příslušnosti k politické, liberální straně — pozn. V. G.) než přírodovědecky ve federaci buněčných států“.†) Při tom připomeňme, že toto Virchowovo vulgární pojetí, jež má „charakter pouhého srovnání se zařízením lidské společnosti“,††) Engels nikdy neakceptoval. Engels se Virchowovou formulací buněčné teorie podrobněji nezabýval, neboť jak známo, nestihl dokončit „Dialektiku přírody“, v níž měly být filosoficky zpracovány

*) Engels B.: Ludvík Feuerbach a vyústění klasické německé filosofie. V K. Marx-B. Engels: Vybrané spisy ve 2 svazcích, Praha 1950, sv. II., str. 405.

**) O. B. Lepešinskaja: Vznik buněk ze živé hmoty a úloha živé hmoty v organismu. Praha 1952, str. 62.

***). Citováno z ruského překladu T. Švann: „Mikroskopičeskije issledovanija“, publikované ve sborníku Darwinizm I., 1951, str. 355.

****) M. Heidenhain: Plasma und Zelle, Jena 1907, S. 26.

†) B. Engels: Anti-Dühring..., Praha 1949, str. 15.

††) M. Heidenhain: Plasma und Zelle, Jena 1907, S. 27.

teoretické problémy přírodních věd. Přesto však u něho najdeme myšlenku, převzatou z Hegela, která lakonicky odmítá samu možnost pojetí organismu jako útvaru, složeného ze stavebních kamenů: „Organismus není ani jednoduchý, ani složený, i když je sebesložitější.“*)

Virchow na jedné straně převzal a rozvinul to, co bylo ve Schwannově teorii mylně formulováno a na druhé straně potlačil v ní jakýkoliv — byť mlhavý — náznak jejího vývojového pojetí. Jestliže Schwann předpokládá možnost vzniku buněk, pak Virchow (1855) výslovně říká: „Kde by nějaká buňka vznikla, musela by nějaká buňka předcházet.“**)

— — —

Zmínili jsme se již výše, že Purkyně popsal (1839) hmotu uvnitř „zrnček“ (buněk) a označil ji jako „protoplasma“. První, kdo pozoroval obsah buněk, byl Dujardin (1835), jenž však jej označoval jako „sarcodu“. Purkynův název protoplasma se ujal všeobecně.

Pokud byl výskyt protoplazmy vázán výlučně na obsah buňky, nebyl chápán pojem protoplasma v celé šíři. Teprve když byl nashromážděn faktický materiál, dokazující životnost mimobuněčných součástí živočišného organismu, byl pochoopen obecný význam protoplazmy a učení o živé hmotě se stalo zbraní v boji s teorií buněčného státu. Termínu „protoplasma“ bylo obecně užíváno k označení obsahu buněk. Aby zdůraznil, že jde o substanci, která není vázána výlučně na buňky, zavádí Heidenhain (1907) termín „lebende — lebendige Masse“ a Studnicka (1916) užívá termínu „bioplasma“. Že jde o označení jedné a téže substance, plyne ze Studnickovy klasifikace tkání (1929).

Pojetí protoplazmy jako základní součásti organismu muselo být dlouho probíráno proti stoupencům virchowovské koncepce. Tím významnější je, že Engels již v r. 1875/1876 v úvodu k připravované „Dialektice přírody“ říká, „že se protoplasma a buňka... vyskytují také jako samostatně žijící nejnížší organické formy.“***) (Proloženo mnou — Vl. G.)

Všimněme si, že Engels klade tentokrát protoplazmu vedle buňky! Uvážíme-li, že Heidenhain formuluje svou „Einheitstheorie“ podrobně až v r. 1907, vidíme, že ani zdánlivě formální položení obou těchto pojmů vedle sebe není náhodné. Je to příklad Engelsova vědeckého přehledání, jež se dostalo dočasně do rozporu s názory specialistů-histologů, kteří k poznání vztahu protoplazmy a buňky došli teprve později, když nashromáždili dostatečný faktický materiál. Jak Engels měnil v této věci mínění, vidíme z toho, že ještě o několik let dříve (1858) píše přesvědčeně Marxovi: „Vše je buňka. Buňka je Hegelovo ‚bytí o sobě‘ (An-sichsein).“****)

O. B. Lepešinskaja nadepsala jednu kapitolu své knihy „Vznik buněk ze živé hmoty...“ otázkou „Co je živá hmota?“ Rozebírá v ní řadu často protikladných názorů různých autorů a podává na podkladě jejich rozboru tuto definici živé hmoty: „... živá hmota je protoplazmatická masa v nebuněčném stavu, obsahující jadernou hmotu v té či oné podobě, která však není formována v jádra, ale vyskytuje se v protoplazmě v difuzním nebo rozptýleném stavu, pozitivně reaguje na Feulgenovu reakci a na jaderná barviva. Živá hmota musí zároveň být schopnou takové výměny látkové, která je nevyhnutelnou podmínkou k jejímu

*) B. Engels: Dialektika přírody, Praha 1950, str. 182.

**) Citováno z Heidenhain M.: Plasma und Zelle, Jena 1907, S. 20.

***) B. Engels: Dialektika přírody, Praha 1950, str. 31.

****) K. Marx - B. Engels: Vybrané dopisy, Praha 1952, str. 95.

bytí.“*) Jindy modifikuje O. B. Lepešinskaja svou definici takto: „... je to bílkovina, obsahující nukleinové kyseliny v difusním stavu nebo nukleproteidy v rozpuštěné formě, bílkovina schopná látkové výměny a dalšího vývoje ...“**)

Na první pohled vidíme, že O. B. Lepešinskaja nedefinuje živou hmotu (lebendige Masse) Heidenhainovu, ani bioplazmu Studničkova. Nelze ji to vytýkat, vždyť Heidenhainův pojem živá hmota je tak obsažný, že jej nelze vymezit několika větami definice. Bioplazma Studničkova je pojem ještě širší, jak zdůrazňuje sám Studnička (1929). Z tohoto důvodu nenacházíme definici živé hmoty ani u Heidenhaina, ani v té části v. Möllendorffovy „Příručky mikroskopické anatomie člověka“, kterou napsal Studnička.

Živá hmota ve výše uvedené definici O. B. Lepešinské je jen součást živé hmoty (lebendige Masse) Heidenhainovy.

Při rozboru definice živé hmoty, kterou podává O. B. Lepešinskaja, je třeba se zastavit ještě u jedné formulace: „Živá hmota je složitý, bílkovinu obsahující útvar, jehož základní a nezbytnou podmínkou existence je trvalé samoobnovování, tj. biologická výměna látková ... Živá hmota tvoří základní masu organismu, vytvářející jeho buňky ... a nebuněčné struktury.“***) Tato formulace, jejíž autorství je přičítáno O. B. Lepešinské a Krjukovovi, není totožná s dříve citovanou definicí živé hmoty.

Oběma formulacím je společné zdůraznění látkové výměny jako obecné vlastnosti živé hmoty. Definice, formulovaná O. P. Lepešinskou a Krjukovem, přisuzuje jednak živé hmotě větší rozšíření v organismu, jednak nevylučuje, že živá hmota jako základní masa organismu nemusí vždy obsahovat jadernou hmotu.

R y ž k o v (1956) vytýká autorům, že nerespektují ve svém výkladu, že pojem živá hmota má u různých autorů různou náplň.

— — —

Konkrétním studiem organizace živé hmoty se zabýval Studnička. Zabýval se jí mnohem více, než by se zdálo ze zmínek O. B. Lepešinské, zmínek to celkem stručných, i když všeobecně kladně hodnotících.

* Rozebírat Studničkovu pojetí živé hmoty není úkolem této stati. Zmínka o něm na tomto místě budiž chápána jako zdůraznění, že je aktuální studovat odkaz Studničkův v souvislosti se zhodnocováním všeho, čeho bylo v oblasti zkoumání živé hmoty dosaženo.

Při určité jednostrannosti teoretických názorů O. B. Lepešinské — omezila se na studium živé hmoty jakožto substrátu pro vznik a vývoj buněk — ukáže nám teprve studium díla Studničkova, čeho bylo již dosaženo zejména v morfologické charakteristice živé hmoty, formulující se ve tkáni, jejichž klasifikaci Studnička mnohokrát zpřesňoval na podkladě postupně doplňovaných faktických poznatků.

*) O. B. Lepešinskaja: Vznik buněk ze živé hmoty a úloha živé hmoty v organismu, Praha 1952, str. 96.

**) O. B. Lepešinskaja: Razvitije ziznennyh processov v doklětočnom periodě. Priroda, T. 40., No. 7., str. 28.

***) O. B. Lepešinskaja - V. G. Krjukov: „Živoje veščestvo“, Bolšaja sovětskaja enciklopedija, T. 16, str. 88. — K otázce autorství sdělila Olga Borisovna Lepešinskaja v soukromém dopise, adresovaném doc. dr. Churému, že byla mylně označena jako spoluautorka hesla „Živoje veščestvo“ místo své dcery Olgy Pantělejevny Lepešinské, která toto heslo spolu s V. G. Krjukovem napsala. Za informaci vyslovuji na tomto místě doc. dr. Churému povinný dík. — Vl. G.

Hlavní rysy teoretických názorů O. B. Lepešinské, jak je formuluje sama i její stoupenci

O. B. Lepešinskaja předpokládá vznik živé hmoty z hmoty neživé. Tento předpoklad rozvíjí pak na vyšším stupni: Podobně jako vzniká výše organizovaná hmota živá z níže organizované hmoty neživé, tak vzniká buňka, tj. vysoce diferencovaná struktura živé hmoty, z živé hmoty, jež se vyznačuje nižším stupněm diferenciací. Otázku, jak vzniká živá hmota neorganizovaná dosud v buňku, O. B. Lepešinskaja neřeší, neboť odpověď na ni považuje za úkol biochemiků. Ústřední otázky biologie — otázky vzniku života — se dotýká jen nepřímo, svými obecnými názory, a to proto, že jakékoliv morfologické projevy živé hmoty jsou životními projevy této živé hmoty.

Vývoj živé hmoty v buňku považuje O. B. Lepešinskaja za děj složitý, projevující se morfologicky v utváření celé řady dočasných, přechodných stupňů diferenciací. Tyto přechodné stupně pořádá do vzestupné řady. Popisuje jejich bohatou mnohotvarost (vnější — morfologickou i vnitřní — biofyzikální a biochemickou) a vyzvedá kvalitativní povahu jejich rozdílů.

Vznik buněk je pro O. B. Lepešinskou složitý vývojový proces, který vždy začíná v živé hmotě. Říká-li, že se buňky vyvíjejí, nikterak nepopírá skutečnost, že se buňky rozmnožují dělením.

Podstatu dělení formuluje O. B. Lepešinskaja nově: Při dělení začíná nová (tj. dceřiná) buňka svůj vývoj od živé hmoty (1952). Při zevšeobecňování principů vývoje buňky vychází O. B. Lepešinskaja z předpokladu, že každá buňka má svůj začátek, svůj vývoj i svůj konec (1945). V kapitolách III. a IV. své knihy „Vznik buněk ze živé hmoty a úloha živé hmoty v organismu“ rozvádí své názory na onto- a fylogenezi buňky. Dokazuje, že Haeckelův biogenetický zákon (fylogeneze se zkráceně opakuje v ontogenezi) platí nejen v podmínkách vývoje organismu, ale i — a to je její přínos — v podmínkách vývoje buňky z nediferencované živé hmoty.*)

— — —

Ze stoupenců teoretických názorů O. B. Lepešinské Chruščov (1950) uvádí, když popularizuje teoretické názory O. B. Lepešinské, že buňky vznikají jak dělením, tak i novotvořením ze živé hmoty. Řekli jsme již, že u Lepešinské jde v podstatě vždy — i při dělení — o vznik a vývoj buněk ze živé hmoty. Dělení je pro Lepešinskou složitou formou vývoje, která se vyvinula během fylogeneze.

Mluví-li se o buněčném dělení, pak je vždy vyzvedána jeho různotvárnost. Význam dvou hlavních forem dělení — mitózy a amitózy — nebyl dosud uspokojivě zhodnocen. O. B. Lepešinskaja výslovně uvádí, že „přímé dělení je dělení buněk, které se ještě nevyvinuly do normálního stavu“.**)

Dříve bývala amitóza považována za méněcennou formu dělení. Kacnelson (1954), rozvíjeje názor O. B. Lepešinské, dochází k závěru, že jestliže se amitóza vyskytuje v embryogenezi a při regeneraci, pak je stejně hodnotným způsobem dělení jako mitóza.

Obecnou charakteristiku mitózy, která vychází z pojetí onto- a fylogeneze buňky, podává Něstěrov (1955): Mitóza vznikla ve fylogenezi buňky a objevila se poměrně pozdě v jejím historickém vývoji. Přitom Něstěrov konstatuje, že mitóza není nenahraditelnou formou buněčného dělení.

*) Viz též O. P. Lepešinskaja - V. G. Krjukov: Živoje veščestvo i problema stadijnosti. Vestnik AN SSSR, 1951, r. 21., No. 9., str. 47-58.

**) O. B. Lepešinskaja: Vznik buněk ze živé hmoty a úloha živé hmoty v organismu, Praha 1952, str. 238.

Ze stoupenců O. B. Lepešinské, kteří se zabývají filosofickým obsahem jejich teoretických názorů, vystihují Alešin a Popov (1953) logickou souvislost Schwannových názorů s názory O. B. Lepešinské. Aniž by zacházeli do podrobností, docházejí k formulaci vztahu mezi buňkami a organismem: „Ne buňky skládají organismus, nýbrž organismus v průběhu přizpůsobování k podmínkách prostředí se rozčleňuje na buňky.“*)

— — —

K teoretickým názorům O. B. Lepešinské se hlásí značný počet biologů, přestože v poslední době nastal jistý odklon od jejich názorů. Stalo se dokonce módní zvyklostí citovat O. B. Lepešinskou, i když k tomu není věcných důvodů. To, že se autor hlásí k názorům O. B. Lepešinské nebo je jejich odpůrcem, nemůže být ovšem zárukou, že jeho experimentální práce je bez chyb. Na to, že řada prací, zabývajících se vývojem buněk ze živé hmoty, není dostatečně na výši po metodické stránce, upozornil ostatně již Studitskij v roce 1952.

V pracích stoupenců názorů O. B. Lepešinské jsou i chyby v obecných formulacích, což je zvlášť závažné. Možnost, že se takovéto chyby i se svými důsledky vyskytnou, předpokládal Jelisejev (1953), když napsal: „... Na těchto nových cestách vývoje vědy, na cestách hledání, jsou možné i chyby i nesprávné výklady i nepochopení, a někdy i zkomození podstaty nového učení a na tomto podkladě i odmítavý vztah k němu.“***)***)

Příkladem nesprávného výkladu, který může v mysli čtenářů vyvolat zmatek, je výklad mitózy v práci Olgy Pantělejevny Lepešinské a V. G. Krjukova: „Podle údajů O. B. Lepešinské (1951) je na začátku mitotického dělení buňky přechod její živé hmoty ve stav, blízký svými vlastnostmi živé hmotě předbuněčných forem; po tom dochází z něho k vývoji dvou dceřiných buněk, jejichž rozchodem se zakončuje mitóza.“ (Proloženo mrou. — Vl. G.)****) — Ve skutečnosti ve zmíněné práci z r. 1951 O. B. Lepešinskaja píše: „Ze dvou nových buněk je tak jedna buňkou mateřskou, kdežto druhá — buňkou dceřinou.“†) (Proloženo u O. B. Lepešinské. — Vl. G.)

Formulace O. P. Lepešinské a V. G. Krjukova (1951) odporuje samé podstatě teoretických názorů O. B. Lepešinské. Vždyť O. B. Lepešinskaja nejednou ostře odmítá názor, že při mitóze vznikají dvě dceřiné buňky (1945, 1952). Nikdo nepochybuje o tom, že proces buněčného dělení končí rozchodem dvou buněk. O. B. Lepešinskaja se však staví proti tomu, aby tyto dvě buňky byly považovány za rovnocenné.

Vážné chyby se dopouští Pljušč, když charakterizuje živou hmotu takto: „... v organismu, v jeho buňkách vznikají asimilační generativní nebo plastické látky, které právě tvoří živou hmotu, fungující v mezibuněčném prostředí orga-

*) B. V. Alešin a I. D. Popov: Gistologija i fiziologičeskoje učeniye I. P. Pavlova. Arch. anat., gistol. i embriol., 1953, T. XXX, No. 6., str. 36.

**) V. G. Elišeev: Učeniye o živom veščestve i nekotoryye voprosy gistologii. Arch. anat., gistol. i embriol., 1953, T. XXX., No. 5, str. 7.

***) Ponecháváme vůbec stranou hodnocení takových neseriózních příspěvků do diskuse o teoretických názorech O. B. Lepešinské jako je stať kandidáta zemědělských věd N. S. Gordijenkova „K voprosu o vznikovenii kletok“, Vestnik AN Kazachskoj SSR, 1956, 12., No. 4 (133.), str. 61-67. Jde tak daleko, že popírá mitózu a zavádí místo tohoto vžitého, konkrétního a obecně užívaného termínu nový termín „proces vzniku dvoubuněčné formy těla na základě jednobuněčné formy“, při čemž tvrdí, že buňka vzniká nikoliv z živé hmoty, nýbrž výlučně z hmoty neživé.

****) O. P. Lepešinskaja - V. G. Krjukov: Živoje veščestvo i problema stadijnosti. Vestnik AN SSSR, 1951, T. 21., No. 9., str. 56-57.

†) O. B. Lepešinskaja: Kletka i ee proischoždenije, Moskva 1951, str. 18.

nismu a vyvíjející se v buňky.“*) Odvozuje tyto látky, jež blíže nijak necharakterizuje, od buněk již existujících.

Všimněme si konečně chyb v terminologii, s nimiž se u O. B. Lepešinské setkáváme, a to již proto, že sama O. B. Lepešinskaja (1945) zdůrazňuje důležitost užívání správné terminologie. V její stati „Razvitije žiznennych processov v dokletočnom periode“ čteme: „Vycházejíce z těchto úvah, přešli jsme ke studiu vývoje žlutkových koulí ve vajíčkách slepic, kanárů, ryb a prvoků (*Hydra* a *Euglena*).***) Čtenáře, znalého základů zoologické terminologie, překvapí v této větě hned dvě chyby: Vždyť prvoci nemají vajíčka a nezmar (*Hydra*) není prvok.

I když tyto a jim podobné chyby nemohou zmenšit význam teoretických názorů O. B. Lepešinské, stávají se přece impulzem, vyvolávajícím nedůvěru k těmto názorům. Nelze zabránit, aby odpůrci nevyužívali i těchto chyb jako argumentů v diskusi, jež je pak odváděna od principiálních otázek.

Přínos diskuse o teoretických názorech O. B. Lepešinské k formulaci buněčné teorie

Na zasedání leningradského oddělení Vsesvazové společnosti anatomů, histologů a embryologů v r. 1955 sdělil D. A. Ždanov názor presidia Společnosti, že ohlas prací O. B. Lepešinské prošel třemi etapami vývoje: nejdříve byly odmítány, potom nekriticky přijímány a ve třetí etapě podrobovány kritice a diskusi. (Podle referátu K n o r r e h o, 1956.)

Zmínili jsme se již dříve o některých dílčích impulzech, které diskusi v této třetí etapě podnítily. Nebylo by však správné redukovat podstatu diskuse na kritiku metodických nedostatků, jak se o to snaží někteří kritikové. Oprávněně proto vytýká jeden ze stoupenců názorů O. B. Lepešinské, Studitskij (1955), odpůrcům jejích názorů, Ž i n k i n o v i a M i c h a i l o v o v i (1955a, 1955b), že neposuzují současný stav buněčné teorie v celém rozsahu, a to ani z filosofické, ani z faktické stránky a odkazují na to, že tomuto rozsáhlému úkolu by měla být věnována samostatná stať. Snad by se mohlo zdát, že tento názor Studitského je zaujatý, neboť Žinkin a Michajlov široce rozvádějí výsledky těch, kdo opakovali s negativním výsledkem dílčí experimentální práce O. B. Lepešinské a jejích spolupracovníků. Zůstává však nesporným, že se Žinkin a Michajlov omezují na určitá experimentálně získaná fakta a odmítají na podkladě nich teoretické názory O. B. Lepešinské jako celek.

Ve formě tohoto odmítání spatřuje R e v u c k a j a (1954) „symptomy, svědčící o tendencích jednotlivých vědců obrátit nazpět sovětskou cytologii“.***)) Nesporné rovněž je, že Žinkin a Michajlov používají v r. 1955 těchže argumentů, s nimiž vystoupila skupina odpůrců názorů O. B. Lepešinské, vedená C h l o p i n e m, již v r. 1948. Není tedy jejich kritika nová, pokud jde o hledisko, z něhož názory O. B. Lepešinské kritizují.

Ze stoupenců teoretických názorů O. B. Lepešinské Studitskij (1954) ze-

*) L. N. Pljušč: Ob osnovach novoj kletčnoj teorii. Voprosy filosofii, 1953, No. 4., str. 187.

**) Lepešinskaja O. B.: Razvitije žiznennych processov v dokletočnom periode. Izvestija AN SSSR, ser. biol., 1950, No. 5, str. 88. — Český překlad v čas. Sov. věda-biologie, 1951, č. 2, str. 87 je nepřesný, proto překládáme citovaný ruský originál. — Vl. G.

***)) P. S. Revuckaja: O probleme novoobrazovanija kletok i skepticisme nekotorych učenyh. Izvestija AN SSSR, ser. biol., 1955, No. 2, str. 41.

všeobecňuje své vlastní poznatky z dlouholetého výzkumu experimentálně navozené regenerace svalové tkáně ve shodě s teoretickými názory O. B. Lepešinské. Do diskuse zasahuje v r. 1955 polemickou statí, v níž používá jako argumentu svých vlastních nálezů, interpretovaných v duchu teoretických názorů O. B. Lepešinské. Dopouští se přitom téže nedůslednosti jako odpůrci názorů O. B. Lepešinské: Posuzuje a vykládá své nálezy izolovaně od ostatních dosavadních poznatků, jež — jsouce vhodně interpretovány — ukazují teoretickou nedokonalost běžné formulace buněčné teorie.

Množství dosud známých fakt, a to nejen z vlastních výzkumů, která se vymykají z rámce strohého pojetí buněčné teorie, shrnují Chruščov a Studitskij (1956) a přimlouvají se za volnou formulaci buněčné teorie, která by respektovala i existenci takovýchto fakt. — Z jejich rozboru vyplývá, že ani O. B. Lepešinskaja neobsáhla svými teoretickými názory rozsah nedostatků dosavadní formulace buněčné teorie.

Teoretické nedostatky vžitého, konvenčního pojetí buněčné teorie rozebírá další stoupenec teoretických názorů O. B. Lepešinské, Jelisejev (1955). Činí tak s velkým zaujetím pro ujasnění přesné formulace buněčné teorie. Přínosem jeho rozboru je, že na jeho podkladě shrnuje tři hlavní rysy buněčné teorie, jež mají pomoci osvětlit podstatu. Jeho formulace nejsou všechny zcela původní a nejsou ani opřeny výlučně o teoretické názory O. B. Lepešinské, nýbrž i o názory jiných, dřívějších odpůrců strohého pojetí buněčné teorie. Vystihují však hloubku rozdílů mezi očištěnou buněčnou teorií a zkreslující formulací buněčné teorie u Virchowa:

„1. Buňka je jedna z forem existence živé hmoty, vzniká v procesu historického vývoje života na zemi.“*)

„2. Organismus představuje jediný celek, v němž jsou přítomny různotvaré a kvalitativně rozdílné buněčné a nebuněčné struktury.“**)

„3. V organismu spolu s buňkami existují i nebuněčné struktury, které jsou také formami existence živé hmoty.“***) (Proloženo u Jelisejeva.)

Teoretické nedokonalosti dosavadní běžné formulace buněčné teorie je si vědom i Ščelkunov (1958), který výslovně upozorňuje, že „... buněčná teorie v pojetí i jiných badatelů, nesouhlasících s ideí O. B. Lepešinské, je ještě ve značném stupni formální a protimluvná.“****) — Proto — bez ohledu na to, že sám je odpůrcem názorů O. B. Lepešinské — definuje buněčnou teorii slovy: „Buněčná teorie vyjadřuje v obecné formě jednu ze speciálních zákonitostí evoluce organického světa, a to že buněčná skladba (a její vývoj) v určitém úseku evoluce je vlastní rostlinám a živočichům a že zároveň je v detailech nekonečně různotvará v důsledku ustavičné nepřetržité změny organismu.“†) Tato definice neodporuje výše citované charakteristice Jelisejevově. Ščelkunov podává v citované knize mnohastránkový historický přehled vývoje buněčné teorie, který doplňuje rozбором výsledků vlastních výzkumů. Na podkladě toho všeho činí závěr, přijatelný pro všechny, kdo nesouhlasí s tradičním konvenčním pojetím buněčné teorie: Navrhuje, aby buněčná teorie byla formulována tak, aby respektovala skutečnost, že na skladbě těla metazoí se významně podílejí nebuněčné struktury. Nejde ve svém návrhu dále, než

*) V. G. Eliseev: O sovremennoj traktovke kletčnoj teorii. Uspechi sovremennoj biologii, 1955, T. XXXIX., vyp. 3., str. 334.

**) Tamtéž, str. 336.

***) Tamtéž, str. 338.

****) S. I. Ščelkunov: Kletočnaja teorija i učenije o tkanjach, Leningrad 1958, str. 23.

†) Tamtéž, str. 189.

k vlastní úpravě Chlopinova schématu, ilustrujícího vztah mezi přirozeným systémem histologických struktur a morfo-fyziologickou klasifikací tkání.*)

U nás poměrně málo známé Chlopinovo pojetí skladby těla metazoi je jedno z těch, jež se řadí vedle systémů Heidenhainova (1907), Studnickova (1929, 1952) a Huzellova (1941).**)

K logickému zpřesňování terminologie, které je průvodním zjevem diskuse, přispívá Ščelkunov (1958) rozlišením pojmu „buněčná teorie“ a „učení o buňce“. Tyto dva termíny O. B. Lepešinskaja i její stoupenci nahodile zaměňují. Ščelkunov upozorňuje, že pojem učení o buňce odpovídá pojmu „cytologie“ a nelze jím nahrazovat pojem buněčná teorie.

Ve svém druhém vystoupení v diskusi odmítá Jelisejev (1956) rozlišování „staré“ a „nové“ buněčné teorie, je-li jako „nová“ buněčná teorie označován souhrn teoretických názorů O. B. Lepešinské.

Toto Jelisejevovo stanovisko, formulované v úvodním referátu na diskusním zasedání Moskevské vědecké společnosti anatomů, histologů a embryologů v roce 1955, posuzuje Perepelkina (citovaná Afanas'jevem — 1956) jako objektivistické. Jsme přesvědčeni, že právě toto Jelisejevovo stanovisko i jeho přístup k diskutované problematice a jeho hodnocení na zmíněném zasedání je objektivní. Vychází ze skutečnosti, že označení „nová buněčná teorie“ pro teoretické názory O. B. Lepešinské je výrazem posuzování teoretických názorů O. B. Lepešinské, odtrženého od všeho ostatního, čeho bylo dosaženo ještě před jejím vystoupením, díky úsilí o co nejuplněnější formulaci buněčné teorie. Označení „nová buněčná teorie“ je tudíž současně výrazem přecenění podílu O. B. Lepešinské na tomto úsilí.

— — —

Pokud jde o filosofické dedukce, doprovázející diskusi, je třeba konstatovat, že jich je v průběhu celé několikaleté diskuse velmi málo.

Žinkin a Michajlov (1955) spatřují v teoretických názorech O. B. Lepešinské klasický vzor naturfilosofického učení. Savčuk (1956) dochází dokonce k názoru, že koncepce O. B. Lepešinské nese rysy dualismu a virchoviánského mechanicismu.

Všechna taková tvrzení, pokud nejsou zdůvodněna, nejsou diskusi na prospěch, neboť nepomáhají vést spornou otázku k jejímu vyřešení. Stejně málo prospěšné je všeobecné citování Engelsovy „Dialektiky přírody“ a „Anti-Dühringa“. Engelsovy autority se ve svůj prospěch dovolávají všichni účastníci diskuse, ať již jde o O. B. Lepešinskou samu nebo o její stoupence nebo o její odpůrce (např. O. B. Lepešinskaja, 1953, Kaliničenko, 1953, Žinkin a Michajlov, 1955). Přitom způsob, jak je Engels v těchto případech citován, je příkladem zakrývání nedostatků ve vlastních formulacích citací klasika marxismu-leninismu. To se týká zvláště citací oněch pasáží Engelsovy „Dialektiky přírody“, v nichž jsou formulovány Engelsovy názory na kategorii života. Viní-li Žinkin a Michajlov O. B. Lepešinskou z naturfilosofického myšlení, je citace Engelse při této příležitosti nevhodná, neboť je prostředkem, který má umlčet odpůrce. Tuto praxi „věšení etiket“ odmítá ostatně v průběhu diskuse Jelisev (1956).

— — —

*) Viz S. I. Ščelkunov: Kletočnaja teorija i učenije o tkanjach, Leningrad 1958, str. 208.

**) Srovnání těchto systémů není pro pochopení vývoje formulace buněčné teorie bez významu, vybočuje však svým rozsahem z rámce naší stati. — Pozn. VI. G.

Diskuse o práci O. B. Lepešinské není dosud uzavřena. Přes kritické výhrady, týkající se především metodické a faktografické stránky diskutované otázky, zůstává skutečností, že teoretické názory O. B. Lepešinské jsou podnětem pro biologii. Samotná jejich existence obrací zájem k dosud přehlíženým nedostatkům ve formulaci buněčné teorie.

Souhrn

1. O. B. Lepešinskaja uplatňuje ve svých teoretických názorech na živou hmotu důsledně myšlenku vývoje: Živá hmota, která vznikla z hmoty neživé, se vyvíjí ve stále složitější struktury. Nejvyšším stupněm její organizace je buňka. Fylogenetický vývoj živé hmoty v buňku se v dělení, tj. v ontogenezi buňky zkráceně opakuje.

2. Zevšeobecnění úlohy živé hmoty v organismu, jež formuluje O. B. Lepešinskaja, není nové, neboť je jen uplatněním Heidenhainovy „Einheitstheorie“ proti Virchowově „Bausteintheorie“.

3. O. B. Lepešinskaja vytváří teoretické předpoklady pro vyvrácení virchowovského tvrzení, že mitotické dělení je důležitější než amitotické.

4. Teoretické názory O. B. Lepešinské nelze označovat jako „novou buněčnou teorii“. Zaslouhou O. B. Lepešinské je, že probodovala očistu buněčné teorie Purkyňovy a Schwannovy od virchowovské interpretace.

5. Při doplňování dosud přehlížených nedostatků ve formulaci buněčné teorie je třeba více než dosud respektovat poznatky Studničkovy a Heidenhainovy a využívat jich zejména v klasifikaci tkání těla metazoi a ve výkladu pojmu živá hmota.

Literatura

Brown R.: (1831) On the organs and the mode of the fecondation in Orchideae and Asclepiadeae. Trans. Linn. Soc. London 16. — Dujardin F.: (1835) Recherches sur les organismes inférieurs. Annales sc. natur. — Engels F.: (1858) Engels an Marx - 14. Juli 1858. (Přetištěno česky v knize K. Marx - B. Engels: „Vybrané dopisy, Praha 1952, str. 95-96. — (1873) Engels an Marx in Manchester, London 1873, Mai 30., editio Marx-Engels-Gesamtausgabe, (MEGA), III. Abteilung, Bd. 4. (Der Briefwechsel zwischen Marx und Engels 1868-1883), S. 396-398. (Přetištěno česky v knize K. Marx - B. Engels: „Vybrané dopisy“, Praha 1952, str. 250-260.) — (1874) MEGA: Z poznámek 1. svazku, str. 610. — (1875-1876) Úvod k „Dialektice přírody“ z 3. svazku Rukopisů. — (1885) Předmluva ke II. vydání „Anti-Dühringa“. — (1886a) Ludwig Feuerbach und der Ausgang der klassischen deutschen Philosophie. (Český překlad Praha 1949). — (1886b) Naturdialektik. XV. Aus „Ludwig Feuerbach“. Editio Archiv K. Marks a F. Engel'sa, kniha 2-ja, str. 376-381. Moskva-Leningrad 1925. (Český překlad „Dialektika přírody“, vypuštěné místo z Feuerbacha, str. 168-172.) — Heidenhain M.: (1907) Plasma und Zelle, Jena. — Huzella T.: (1941) Die zwischenzellige Organisation auf der Grundlage der Interzellulartheorie und der Interzellularpathologie, Jena. — Chruščov G. A.: (1950) Významný objev v biologii. Pravda, dne 21. září 1950. (Český překlad v čas. Sovětská věda-biologie, sv. 1, str. 35-38. — Koelliker A.: (1850) Mikroskopische Anatomie oder Gewebelehre des Menschen, Leipzig. — (1952) Handbuch der Gewebelehre, Leipzig. — Lepešinskaja O. B.: (1952) Vznik buněk ze živé hmoty a úloha živé hmoty v organismu,

Praha. — Purkyně J. Ev.: (1825) *Symbolae ad ovi avium historiam ante incubationem*. Editio I. Vratislavia - reeditio Opera selecta Joannis Evangelistae Purkyně (Purkinje) in „Opera Facultatis Medicae Universitatis Carolinae Pragensis“. T. I., pag. 1-25, Praha 1948; Editio II. Lipsia 1830 - reeditio Jan Ev. Purkyně: „Sebrané spisy“, sv. I., str. 195-218, Praha 1918. — (1837) Über den Bau der Magendrüsen ... Im „Bericht über die Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Prag im September 1837“ von Sternberg und Krombholz, Prag 1838 - reeditio Jan Ev. Purkyně: „Sebrané spisy“, sv. III., str. 43-45, Praha 1939. — (1839) Über die Analogien in den Struktur-Elementen des thierischen und pflanzlichen Organismus. Uebersicht d. Arbeiten und Veränderungen d. schlesischen Ges. f. vaterländische Cultur im Jahre 1839, S. 81-82, Breslau 1840 - reeditio Jan Ev. Purkyně: „Sebrané spisy“, sv. II., str. 90-91, Praha 1937; Opera selecta Joannis Evangelistae Purkyně (Purkinje) in „Opera Facultatis Medicae Universitatis Carolinae Pragensis“, T. I., pag. 114-115, Praha 1948. — (1840) Mikroskopische Untersuchungen über die Uebereinstimmung in der Struktur und dem Wachstum der Thiere und Pflanzen von Th. Schwann. Jahrbücher für wissenschaftliche Kritik, No. 5, S. 33-38 - reeditio Joannis Evangelistae Purkyně Opera selecta in „Opera Facult. Med. Univ. Carol. Prag.“, T. I., p. 116-120, Praha 1948; J. Ev. Purkyně: Sebrané spisy, sv. V., str. 178-183, Praha 1951. — Schleiden M. J.: (1838) Beiträge zur Phytogenesis. Müller's Archiv f. Anat. u. Physiol. — Schwann T.: (1838-1839) Mikroskopische Untersuchungen über die Uebereinstimmung in der Struktur und dem Wachstum der Tiere und Pflanzen. Berlin. — Studnička F. K.: (1916) Die Reduktion und die Regeneration des Cytoplasmas. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 117, 1918, S. 654-725. — (1929) Die Organisation der lebendigen Masse. In „W. v. Möllendorff's Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen“, Bd. I., S. 421-568, Berlin. — (1931) Z doby před cellulární teorií: Milne Edwards, Dutrochet, Raspail, Purkyně. Biol. listy, sv. XVI., str. 276-277. — (1932) Aus der Vorgeschichte der Zellentheorie. Milne Edwards, H. Dutrochet, F. Raspail, J. E. Purkinje. Anat. Anzeiger, Bd. 73. — (1947) Kterak docházejí uznání zásluhy Jana Ev. Purkyně o objev živočišných buněk, o jejich správnější definici, o objev protoplasmu a o založení buněčné teorie. Thomayerova sbírka přednášek a rozprav z oboru lékařského č. 238, (1), 1947. — (1952) Úvod do plasmatologie (bioplasmatiky), Praha.

Алешин Б. В. и Попов И. Д.: (1952) Гистология и физиологическое учение И. П. Павлова. Архив анат., гистол. и эмбриол., Т. XXX, 1953 г., № 6, ст. 30-41. — Афанасьев Ю. И.: (1956) Дискуссия по докладу проф. В. Г. Елисеєва «О современной трактовке клеточной теории». Архив анат., гистол. и эмбриол., Т. XXXIII, № 2, стр. 73-83. — Елисеєв В. Г.: (1953) Учение о живом веществе и некоторые вопросы гистологии. Архив анат., гистол. и эмбриол., Т. XXX, № 3, стр. 3-17. — (1955) О современной трактовке клеточной теории. Успехи совр. биол., Т. XXXIX, вып. 3, стр. 328-350. — Заключительное слово в прениях по докладу В. Г. Елисеєва «О современной трактовке клеточной теории». Цит. Афанасьев Ю. И.: (1956) Дискуссия по докладу ..., Архив анат., гистол. и эмбриол., Т. XXXIII, № 2, стр. 83. — Жданов Д. А.: (1956) Выступление в прениях о современном состоянии клеточной теории ... Цит. Кнорре А. Г. (1956): Архив анат., гистол. и эмбриол., Т. XXXIII, № 3, стр. 81. — Жинкин Л. Н. и Михайлов В. П.: (1955а) О „новой клеточной теории“. Архив анат., гистол. и эмбриол., Т. XXXII, № 2, стр. 66-71. — (1955б) „Новая клеточная теория“ и ее фактическое обоснование. Успехи совр. биол., Т. XXXIX, вып. 2, стр. 228-244. — Калинин Л. А.: (1953) Некоторые проблемы современной биологии в свете работ О. Б. Лепешинской. В книге «Вопросы мичуринской биологии», Москва, стр. 259-286. — Кацнельсон З. С.: (1935) Клеточная теория в историческом развитии и в современной биологии. Природа № 12. — (1954) Амитоз и его особенности на ранних стадиях эмбрионального развития. Архив анат., гистол. и эмбриол., Т. XXXI, № 3, стр. 3-9. — Кнорре А. Г.: (1956) Дискуссия о со-

временном состоянии клеточной теории в ленинградском Обществе анатомов, гистологов и эмбриологов. Архив анат., гистол. и эмбриол., Т. XXXIII, № 3, стр. 76-81. — Лепешинская О. Б.: (1945) Происхождение клеток из живого вещества и роль живого вещества в организме. Москва-Ленинград. — (1950) Происхождение клеток... 2-е издание, Москва. — Развитие жизненных процессов в доклеточном периоде. Известия АН СССР, сер. биол., № 5, стр. 85-101. — (1951а) Клетка и ее происхождение, Москва. — (1951б) Развитие жизненных процессов в доклеточном периоде. Природа, Т. 40, № 7, стр. 25-33. — (1952) Клеточная теория на новом этапе развития. В книге «Новые данные по проблеме развития клеточных и неклеточных структур живого вещества», стр. 7-16, Москва 1954. — (1953) Творческое значение трудов Маркса, Энгельса, Ленина, Сталина для развития естествознания. Вопросы философии, вып. 2, стр. 121-138; вып. 3, стр. 46-58. — (1952) Письмо доценту д-ру И. Хуры от 10-го июня 1952 г. — (1953) Развитие живого вещества и происхождение клеток. В книге «Учение И. П. Павлова в теоретической и практической медицине», вып. 2-ой, стр. 5-36, Москва. — Лепешинская О. П. и Крюков В. Г.: (1951) Живое вещество и проблема стадийности, Вестник АН СССР, Т. 21, № 9, стр. 47-58. — (1952) Живое вещество. Большая Советская Энциклопедия, Т. 16, стр. 38-90. — Нестеров Н. С.: (1955) Исследования некоторых форм клеточного деления. Известия АН СССР, сер. биол., № 1, стр. 24-31. — Перепелкина Е. А.: (1955) Выступление в прениях по докладу В. Г. Елисея «О современной трактовке клеточной теории». Цит. Афанасьев Ю. И. (1956) Дискуссия по докладу..., Архив анат., гистол. и эмбриол., Т. XXXIII, № 2, стр. 30. — Плющ Л. Н.: (1953) Об основах новой клеточной теории. Вопросы философии, № 4, стр. 134-136. — Ревуцкая П. С.: (1954) О проблеме новообразования клеток и скептицизме некоторых ученых. Известия АН СССР, № 2, стр. 41-58. — Рыжков В. Л.: (1956) Вопросы общей биологии в «Большой Советской Энциклопедии». Бот. журнал, Т. 41, стр. 1038-1042. — Савчук М. П.: (1956) До питания про ранні стадії ембріонального розвитку курчати. Доповіді Академії Наук Української РСР, Т. 18, № 1, стр. 95-101. — Студитский А. Н.: (1952) За творческую разработку учения о живом веществе. Архив анат., гистол. и эмбриол., Т. XXIX, № 4, стр. 3-7. — (1954) Новое в разработке проблемы живого вещества. Вестник Москов-го ун-та, сер. физико-математических и естественных наук, Т. 9, № 6, стр. 31-37. — (1955) В защиту нового направления в разработке клеточной теории. Успехи совр. биол., Т. XL, вып. 1(4), стр. 94-107. — Хрущов Г. К. и Студитский А. Н.: (1955) О биологических основах клеточной теории. Журнал общей биол., год изд. 1956, Т. XVII, № 2, стр. 102-120. — Хлопин Н. Г., Полянский Ю. и др.: (1948) Об одной ненаучной концепции. Мед. работник, № от 7-го июля 1948 г. — Щелкунов С. И.: (1958) Клеточная теория и учение о тканях. Ленинград.

Дискуссия по теоретическим взглядам О. Б. Лепешинской — к вопросу формулировки клеточной теории

1. О. Б. Лепешинская в своих теоретических взглядах на живое вещество последовательно проводит идею развития: живое вещество, которое возникает из неживого, развивается во все более сложные структуры. Наивысшей ступенью его организации является клетка. Филогенетическое развитие живого вещества в клетку, в делении, т. е. в онтогенезе клетки, повторяется в сокращенной форме.

2. Обобщение роли живого вещества в организме, сформулированное О. Б. Лепешинской, не ново, так как оно является только применением „Einheitstheorie“ Гейденгайна, противопоставляемой „Bausteintheorie“ Вирхова.

3. О. Б. Лепешинская создает теоретические предпосылки для опровержения утверждения Вирхова, что митотическое деление является более важным нежели амитотическое.

4. Теоретические взгляды О. Б. Лепешинской нельзя назвать «новой клеточной теорией». Заслуга О. Б. Лепешинской состоит в том, что она добилась очищения теории клетки Пуркиньи и Шванна от интерпретации Вирхова.

5. При восполнении этих недостатков в формулировке клеточной теории, которым раньше не уделялось соответствующее внимание, необходимо больше чем до сих пор учитывать данные Студнички и Гейденгайна и пользоваться ими особенно в отношении классификации тканей тела многоклеточных животных и при объяснении понятия живое вещество.

Discussion concernant les opinions théorétiques de Mme O. B. Lepešinskaja — contribution à la formulation de la théorie cellulaire

1. Mme O. B. Lepešinskaja emploie dans ses opinions théorétiques sur la protoplasma conséquemment l'idée de l'évolution. La protoplasma 'ressortie de la substance non vivante, se développe en structures constamment plus compliquées. L'apogée de son organisation est la cellule. L'évolution phylogénétique de la protoplasma en cellule se repète dans la division d'elle, cela est dans l'ontogenèse de la cellule.

2. La généralisation du devoir de la protoplasma dans l'organisme, comme la formule Mme O. B. Lepešinskaja, n'est pas nouvelle, car elle est seulement valorisation de la théorie de Heidenhain („Einheitstheorie“) contre la théorie de Virchow („Baussteintheorie“).

3. Mme O. B. Lepešinskaja forme les suppositions théorétiques pour nier la constatation de Virchow, que la division mitotique est plus importante que l'amitotique.

4. Les opinions théorétiques de Mme O. B. Lepešinskaja ne peuvent être considérées comme «nouvelle théorie cellulaire». Le mérite de Mme O. B. Lepešinskaja est, qu'elle a lutté pour débarrasser la théorie cellulaire d'après Purkynje et Schwann de l'interprétation d'après Virchow.

5. En complétant les manques jusqu'à présent négligés de la formulation de la théorie cellulaire il faut plus qu'à présent respecter les reconnaissances de Studnička et Heidenhain et les utiliser surtout en classifiant les tissus corporels des metazoaires et en expliquant le sens de la protoplasma.

The Discussion about O. B. Lepeshinskaya's Theoretical Views — a Contribution to the Formulation of the Cell Theory

1. In her theoretical views of living matter, O. B. Lepeshinskaya consistently applies the conception of development: The living matter originated from a non-living substance develops into still more complex structures. The highest stage of its organization is the cell. The phylogenetic development of living matter into the cell is briefly repeated in the mitosis, i. e., during the ontogenesis of cell.

2. The generalization of the part the living matter plays in an organism, as expressed by O. B. Lepeshinskaya, is not new, for it is only the application of Heidenhain's „Einheitstheorie“ versus Virchow's „Baussteintheorie“.

3. O. B. Lepeshinskaya creates theoretical presumptions to refute Virchow's conception that the mitosis is more important than the amitosis.

4. The theoretical views of O. B. Lepeshinskaya cannot be marked as a “new cell theory”. It is O. B. Lepeshinskaya's merit that she brought the fight for the purification of Purkynje and Schwann's cell theory from Virchow's interpretation.

5. When completing the hitherto disregarded shortcomings existing in the formulation of the cell theory, it is important, now more than before, to take into account the information gained by Studnička and Heidenhain and to utilize it particularly in the classification of the tissues of metazoa bodies and in the interpretation of the term living matter.

Reinervace kožní střelné rány králíka

Рейнервация кожной огнестрельной раны кролика

The Reinnervation of a Shoot Wound in a Rabbit

C. Sc. MUDr. Zdeněk CHARVÁT

Technická spolupráce: E. Matějková, J. Zvára. Mikrofotografické práce O. Vašíř
*Katedra histologie s embryologií lékařské fakulty Karlovy university
v Hradci Králové*

Došlo dne 1. XII. 1956

Věnováno k šedesátým narozeninám prof. RNDr. et MUDr. Vlastimila Vrtiše

Úvod

Hojení kožní rány probíhá u různých pokusných zvířat různě. Zásadně jsou dány dvě možnosti: a) Granulační tkáň vzniká z perivaskulární vazivové tkáně dna rány a vyplňuje postupně celý defekt. b) Při zhojení defektu hraje hlavní úlohu granulační tkáň vznikající z vaziva boků defektu a účast granulační tkáně, vzniklé ze dna rány, je malá.

Zhojení rány vyzráváním granulační tkáně, která vznikla ze dna defektu, je typické pro bílou myšku (Bartoš, 1959), pro člověka (Aničkov, 1951) a pro bílou krys (Dévényi — Holczinger, 1954, Charvát — Květiná, 1956).

Naprostojinak je tomu u králíka (Aničkov — Volkova, 1951) kde se kožní defekt hojí vyzráváním granulační tkáně, která vzniká podle mínění Aničkova především z fibrocytů boků rány, takže u králíka se první nově vzniklé kolagenové fibry objevují v povrchných vrstvách hojícího se defektu, kdežto u krys se první nově vzniklé kolagenové fibry objevují v hloubi hojícího se defektu.

Práci o hojivých procesech v kožní ráně je veliké množství, ale jsou to do značné míry práce, které se zabývají jen určitým časovým úsekem nebo určitým problémem hojivého procesu. Někteří autoři se zabývají cytologií hojivého procesu (Makarov — Pokrovskaja, 1942, Chutná — Opatrná, 1954, Bartoš, 1957). Jiní autoři se zabývají studiem regenerace svalových vláken (Studitskij — Ženevskaja — Rumjanceva, 1956, Půža, 1957, 1958, 1959, Hoja 1957, 1959).

Práci, které sledují průběh hojení kožní rány vcelku od způsobení defektu až po jeho úplné zhojení v určitých časových lhůtách, je podle mínění Dévényiho a Holczingera poměrně málo. Práci, které by souběžně s průběhem hojivého procesu sledovaly i reinervaci, je ještě méně.

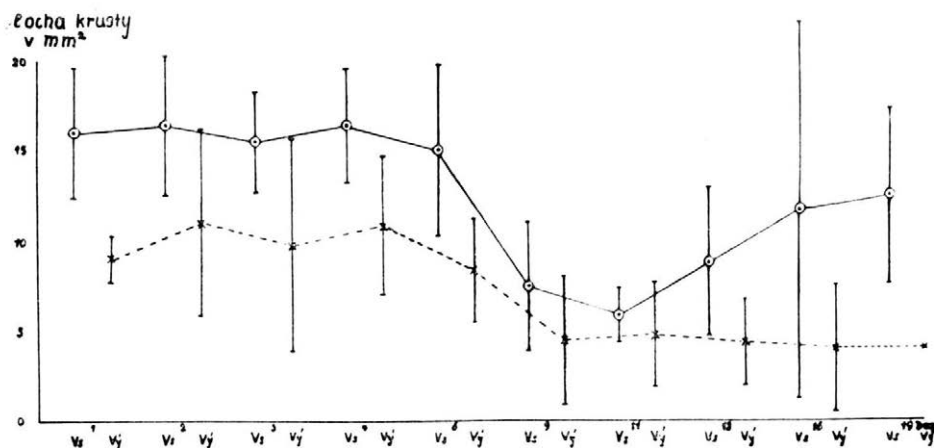
Protože otázka reinervace pokusné střelné rány nebyla dosud řešena, rozhodli jsme se ji experimentálně prozkoumat.

Metodika

K pokusu bylo použito 20 králíků. Střelba byla provedena opakovací pistolí zn. ČZ, ráže 6,35 mm. Byl zkonstruován speciální upínací přístroj pro králíka, který umožnil pevně lehce nadzvednout kožní řasu v hřbetní krajině. Tato byla pak prostřelena ze vzdálenosti dvou metrů. Oblasti vstřelu i výstřelu byly odebírány v následujících časových lhůtách: ihned po provedení zákroku, po 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 a 19ti dnech. Bylo tedy celkem zpracováno 40 tkáňových bloků vstřelů a výstřelů fixovaných v 10% formalínu nebo v Zenkerově tekutině. Bylo použito následujících barvicích metod: hematoxylinu-eosinu, zeleného trichromu vlastní modifikace (Charvát, 1955), Weigertova železitého hematoxylinu-pikrofuchsinu podle van Giesona, Malloryho a impregnační metody pro tlusté zmrazené řezy podle Zváry. (Při impregnaci nervových vláken v kůži králíka jsme měli daleko větší technické potíže než v dřívější své práci [1956] při impregnaci nervových vláken v hojícím se defektu kůže krysy.)

Výsledky pozorování a diskuse

Makroskopické pozorování hojení střelné rány



Pro názornější představu o makroskopickém průběhu hojení střelné kožní rány u králíka uvádíme graf 1. Na tomto grafu je na ose y udána plocha křusty v mm², na ose x časový údaj po zákroku. Vstřely (Vs) jsou označeny kolečkem s tečkou, výstřely (Vý) jsou označeny x. Hodnoty vstřelů jsou spojeny plnou čarou, hodnoty výstřelů čarou přerušovanou. Plošná hodnota vstřelů i výstřelů je zjištěná průměrná plošná hodnota všech vstřelů i výstřelů té které časové etapy. Kromě této průměrné hodnoty byla ještě zjišťována a na grafu udána i standardní odchylka.

Je třeba upozornit na to, že měření plochy krusty dává jen velmi přibližnou představu o velikosti hojící se rány. Nechtěli jsme však rušit histologický průběh hojení, proto jsme nestrhávali nikde krustu a spokojili jsme se tímto nepřesným ukazatelem průběhu hojení defektu.

První skutečnost, které si povšimneme a která je velmi nápadná, je to, že plocha krusty vstřelu je ve všech časových úsecích větší než plocha krusty výstřelu. Obvykle se má zato, že nejdelší průměr výstřelu musí být vždy delší, než kterýkoliv průměr vstřelu (Mueller, 1953), avšak toto pravidlo neplatí vždy. V našem případě byl vstřel vždy pravidelně kulatý a větší, kdežto výstřel, kdy průbojnost projektu byla již menší a jeho poloha ne tak stálá, byl většinou trojúhelníkový nebo i šterbinovitý a plošně menší — projektíl kůži neprobil, ale jen protrhl.

Dále pozorujeme, že plošná velikost krusty střelu i výstřelu se udržuje až do 6. dne po zákroku na přibližně stejné úrovni, mezi 6. až 11. dnem tato hodnota prudce klesá. Je to spojeno se spontánní výměnou krusty. Stará krusta odpadá a je nahrazována novou, menší krustou. U vstřelu jsme pozorovali tuto spontánní výměnu krusty mezi 9. až 14. dnem, u výstřelu mezi 4. až 9. dnem. (Krusta zde odpadá zřejmě dříve pro rychlejší hojení rány, která je menší.) Mikroskopicky odpovídá tato časová etapa vyzrávání granulační tkáně a její přeměně ve vazivo mladého typu a období kompletní epitelisace rány.

Naše pozorování spontánní výměny krusty podporují nálezy Dévényiho a Holczingera (1954), kteří první obrátili pozornost na tento úkaz.

Makroskopická pozorování je nutno ještě doplnit poznámkou, že subkutánní hematomy mizí makroskopicky 3. až 4. dne. (Mikroskopicky, jak uvidíme později, obzvláště v oblasti výstřelu, mizí daleko později.)

Dále je nutno poznamenat, že zvětšení plochy krusty vstřelu mezi 13. až 19. dnem po zákroku je fiktivní, protože tam již nejde o krustu, ale spíše o tlusté olupující se *stratum corneum* novotvořeného epitelu, jak bylo zjištěno mikroskopicky.

Mikroskopické pozorování hojení střelné rány

Pro pohodlnější sledování mikroskopického průběhu hojení střelné rány jsme vytvořili tabulku, v níž ve vodorovných řádcích jsou uvedeny jednotlivé etapy hojivého procesu, ve svislých sloupcích jejich časový průběh. Vstřely jsou označeny kolečkem s tečkou, výstřely x.

Při pozorování tohoto grafu vidíme, že hojivý proces v kůži králíka probíhá ve dvou různých časových etapách. Zhojení epidermis a koria je skončeno poměrně brzy. Úplnou epitelizaci pozorujeme kolem 8. až 12. dne po zákroku, vyzrání novotvořeného vaziva v korigu na pevné kolagenové vazivo pozorujeme kolem 14. dne. Druhá etapa — zhojení kožního svalu a okolního vaziva — probíhá velmi pomalu, ačkoliv první začátky regeneračních pochodů v pahýlech kožního svalu registrujeme už kolem 6. dne po zákroku, není tato regenerace dokončena ani 19. dne po zákroku. Vazivo kolem těchto svalových pahýlů vyzrává kolagenově dříve, kolem 16. dne po zákroku.

Při pozorování tohoto obrazu vidíme, že jednotlivé etapy hojení jak u vstřelu, tak u výstřelu se odehrávají časově přibližně stejně. Určitou výjimku pozorujeme v časovém výskytu krevních výlevů, kdy v okolí pahýlů kožního svalu vidíme v oblasti výstřelu krevní výlevy ještě 8. a dokonce 12. dne po zákroku. Je to způsobeno zřejmě tím, že rotace projektilu ovlivněná překonáváním překážky nedokázala udržet jeho podélnou osu ve směru letu, takže projektíl vyšel z těla poněkud „šikmo“ a kromě toho byl jeho povrch zvětšen „nabalenými“ tkáněmi.

Tab. I.

Den	0		2		4		6		8		10		12		14		16		19	
	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý
1. Hematomy v korigu	○	×	○	×	○	×	○	×												
2. Vyskyt fibrinu			○	×	○	×	○	×		×										
3. Hematomy v okolí kožního svalu	○	×	○	×	○	×		×		×				×						
4. Vznik fibroblastů v okolí kožního svalu				×	○	×	○	×												
5. Vznik fibroblastů v korigu			○		○	×	○	×												
6. Granulační tkáň vyplňuje střelný kanál							○	×												
7. Mladé vazivo vytvořilo trojúhelníkovitý čep na místě střelného kanálu									○	×	○			×						
8. Vyzrávání granulační tkáně v korigu ve vazivu mladého typu											○	×								
9. Vyzrávání granulační tkáně v oblasti kožního svalu ve vazivu mladého typu									○	×										
10. Dokonalé vyzrávání vaziva v korigu															○	×				
11. Dokonalé vyzrávání vaziva v okolí svalových pahýlů																		×	○	
12. Začátek regenerace epidermis					○	×														
13. Úplná epitelizace										×			○							
14. Vznik obrovských vlasových folikulů									○				○		○	×	○	×	○	×
15. Začátek regenerace kožního svalu							○	×												

○ vstřely × výstřely

Při pronikání druhou stranou kožní řasy, zejména kožním svałem, došlo proto nejen k přerušení, ale přímo k přetrhání cévních kmenů na více místech. Tyto krevní výlevy však hojivý proces v oblasti výstřelu naprosto nezpomalily. Je tedy nutno souhlasit s D a v y d o v s k ý m (1952), že krevní výlevy v oblasti střelné rány vzhledem k hojivému procesu jsou prospěšné.

Další odlišnost mezi vstřelem a výstřelem při mikroskopickém sledování hojení střelné rány u králíka vidíme v časových etapách kompletní epitelizace, ke které dochází u výstřelu 8. dne po zákroku a u vstřelu až 12. dne. Tato skutečnost je zřejmě způsobena menším plošným rozměrem v oblasti výstřelu.

Dále jsme pozorovali makroskopicky i mikroskopicky zvláštní jev, jehož popis jsme nenašli ani ve velmi důkladných pracech Aničkova, Volkové a Garšina a Dévényiho—Holczingera. V oblasti vstřelu, v menší míře i v oblasti výstřelu, v nepoškozených částech kůže, došlo ke stimulaci růstu vlasových folikulů a vznikly velmi dlouhé a nápadně tlusté chlupy, které byly někdy makroskopicky odlišné barvy od srsti v ostatním okolí rány (šedé nebo hnědé proti bílým). Vidíme zde určitou časovou diskrepanci mezi hojením v místech vstřelu a výstřelu. V oblasti vstřelu pozorujeme tyto zvětšené vlasové folikuly od 8. dne po zákroku, v oblasti výstřelu až od 14. dne. Domníváme se, že tato stimulace růstu vlasových folikulů v okolí defektu byla způsobena kontuzí, tj. otřesením tkáně při nárazu projektilu, případně též účinkem vstřebaných metabolitů rány nebo stop kovů, setřených s pláště střely. Proto je také podle našeho mínění tato stimulace na straně vstřelu výraznější než na straně výstřelu.

Průběh hojení střelné rány v kůži králíka má celou řadu osobitostí, o kterých nyní promluvíme. Vstřel při kolmém dopadu projektilu (z pistole) hrotem na kůži vzniká tak, že projektil kůži nálevkovitě vchlipuje a po překročení elasticity kůže tuto probíjí otvorem (K r s e k, 1958). Přitom vzniká zhmoždění epidermis a *stratum papillare corii*, takže pozorujeme tzv. dvorec zhmoždění, který zasahuje i nad oblastí nepoškozené jinak kůže (R a j s k i j, 1956). Tento dvorec zhmoždění má pak význam při dalším hojení vstřelu tím, že na jeho místě se vytváří tenká krusta s demarkačním leukocytovým lemem. Protože vazivo pod tuto krustou není příliš poškozené, dochází zde velmi brzy k regeneraci epitelu — už 4. dne po zákroku. Dvorec zhmoždění, ovšem méně výrazný, jsme pozorovali i v oblasti výstřelu.

Regenerace epidermis vychází jak z pahýlů epidermis, tak i z uchránivší se epitelové pochvy vlasových folikulů. Pozorovali jsme při těchto regeneračních pochodech (vstřel, čtyři dny po zákroku) zřetelné mitózy, na rozdíl od Dévényiho a Holczingera (1945), kteří říkají: "No mitoses have been found in the forwardcreeping epithelium."

Při hojení vstřelu se zdá, že epitelové čepy klouzají do hloubi po stěnách střelného kanálu, protože jsme opakovaně pozorovali v oblasti rány vchlipku, vystlanou regenerovanou epidermis (např. 6. dne po zákroku, 16. dne) nebo systém šterbin, vystlaných novotvořeným dlaždicovým rohovatějším epitelem (vstřel 12. dne po zákroku).

Další velmi zajímavý útvar jsme pozorovali v oblasti vstřelu 6. dne po zákroku a v oblasti výstřelu 4. dne po zákroku — totiž dlouhé klkovité výběžky pod vrstvou kožního svalu, jdoucí do hloubi, tvořené fibroblasty nebo i pruhy fibrinu a kryté endoteliformními buňkami. Tyto štíhlé klkaté výběžky jsou přechodnou formací, v pozdějších časových etapách jsme je již nepozorovali.

Co se týče krevních výlevů, nacházíme typické krvácení z kontuze ve tvaru T, v tom smyslu, že krví je naplněn střelný kanál a kolmo na tento krevní výlev nacházíme na straně výstřelu plošně rozsáhlé, ale tenké krevní výlevy v oblasti

kožního svalu, častěji nad ním, ale i pod ním. (Hémorragie en T — Piédelièvre-Désoille, 1939 — citováno podle Muellera, 1953.) Avšak kromě těchto velkých krevních výlevů vidíme i velmi drobné hemoragie ve štěrbinách mezi kolagenovými fibrami koria, a to ve značném množství. Fibrin těchto drobných krevních výlevů stimuluje množení fibroblastů a tak pozorujeme, že je využito „staré“ tkáně koria a že ve štěrbinách mezi fibrami koria vznikají drobná, ale četná ohniska fibroblastů, uložených horizontálně. Při hojení koria nevidíme tedy v našem případě vznik nějaké speciální granulační tkáně. Naše pozorování podporuje tedy údaje Davydovského (1952), který říká:

Спустя несколько дней, а в щелевидных каналах спустя 12—20 часов, мы обнаруживаем многочисленные мостики из цепочек фибробластов, переброшенные через раневой канал. Грануляционной ткани в обычном смысле слова при этом не возникает.

Určité narušení tohoto hojivého procesu ve spodních vrstvách koria způsobují granulomy s obrovskými buňkami z cizích těles, které se tvoří kolem chlupů, jež byly projektilem vneseny do tkáně kůže, jak v oblasti vstřelu, tak i výstřelu.

Vidíme tedy, že hojení střelné rány v kůži králíka probíhá ve dvou časových etapách. V první etapě se zhojí epidermis a corium (do 14. dne po zákroku), ve druhé etapě se pozvolna hojí oblast svalových pahýlů (19. dne po zákroku ještě nejsou plně vyhojeny). Velmi výjimečně při hojení koria je využito „starých“ fiber koria v bezprostřední blízkosti střelného kanálu — něco málo novotvořeného vaziva nacházíme ve štěrbinách mezi těmito fibrami. Střelný kanál buď kolabuje nebo se vyplňuje malým množstvím novotvořeného vaziva (mezi 8. a 10. dnem po zákroku u vstřelu i výstřelu).

Skutečnost, že je využito při regeneraci původních fiber koria, je velmi zvláštní a naprosto odporuje postupu hojení u jiných ran než střelných. Bartoš (1959) upozorňuje na to, že při řezných kožních ranách u bílých myšek se „ranný defekt zahojí jediné zespodu nově vzniklou a zvětšující se tkání granulační. Kolagenní vazivo škáry se tvorby granulace nijak nezúčastní — nebo — granulační tkáň se jeví tedy jako něco úplně nového, stále se zvětšuje až postupně zaplní místo původní škáry, která byla odstraněna“. V našem případě hojení kožní střelné rány u králíka tedy původní škára nebyla vyloučena do krusty, ale využita v průběhu hojivého procesu.

Mikroskopické pozorování degeneračních a regeneračních procesů nervového systému v hojící se střelné ráně v kůži králíka

Práci pojednávajících o přetěti nervu a o následující Wallerově degeneraci je veliké množství. Nejznámější práce o tomto problému napsali Cajal (1909), Marinesco (1904), Boeke (1916), Spielmayer (1922), z našich autorů pak Gutmann (1955). Lavrentěv (1929) zjistil, že není zásadního rozdílu v průběhu Wallerovy degenerace u přerušovaného myelinovaného cerebrospiálního nervového vlákna a u vegetativního nervového vlákna bez myelinové pochvy.

Jedním z prvních příznaků nastupujících degenerativních změn je stadium zvýšené argyrofilnosti nervových vláken. Někteří autoři úmyslně přetětím příslušného nervu tuto zvýšenou argyrofilnost nervových vláken vyvolávali, aby dosáhli plného probarvení nervových vláken a nervových zakončení příslušné pozorované oblasti (Koblov, 1953, Iljina, 1947). My jsme používali utopení morčat k dosažení zvýšené argyrofilnosti nervových vláken a zakončení ve dřeni nad-

Tab. II.

Den	0		2		4		6		8		10		12		14		16		19	
	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý	Vs	Vý
1. Iritační změny nervových vláken v korigu	○	×	○	×	○		○	×												
2. Iritační změny nervových vláken v oblasti kožního svalu	○	×	○	×	○		○	×		×										
3. Iritační změny nervových vláken ve zdravé tkáni	○	×	○	×	○		○	×	○	×										
4. Fragmentace nervových vláken			○			×														
5. Růstové pupeny a Cajalovy koule regenerujících nervových vláken v korigu			○	×	○	×	○	×	○	×		×	○							
6. Začátek regenerace nervových vláken ve svalu						×	○		○	×	○	×	○	×	○					
7. Plně rozvitá regenerace nervových vláken v kožním svalu																×	○	×	○	×

○ vstřel × výstřel

ledvinky morčete (Charvát — Zvára, 1955). Konečně, k dosažení stejného cíle jsme používali i přetětí *n. splachnicus* u morčat při studiu nervových zakončení dřeně nadledvinky (Charvát, 1954). Pospíšil (1956) využil chemického poleptání pokožky králíka ke zvýšení argyrofilnosti pozorovaných nervových vláken. Poláček (1956, 1957, 1958) použil mnoha faktorů k dosažení tohoto efektu: nadměrného vysílení plováním, kyslíkového hladu v podtlakové komoře, snížení tělesné teploty podchlazením nebo umělé hypotermie. Hromada (1958) popisuje vliv praedynu na zvýšení argyrofilnosti opouzďených nervových tělísek některých kloubů krysy.

Po stadiu zvýšené argyrofilnosti nastupují pak iritační změny osových válců, jak je popisuje např. Falin (1954), které pak pokračují do rozpadu osových válců.

Regenerace nervových vláken je charakterisována objevením se Cajalových terminálních kyjů (neboli Cajalových koulí) na konci přefatých vláken (Bielschowsky, 1928), Perronciovými spirálními aparáty a vřetenitými „růstovými“ pupeny v průběhu nervových vláken, které jeví někdy rozvláknění neurofibril — effilochement podle Cajala (cit. podle Bielschowskyho, 1928).

V přehledu na tabulce II (vstřel je označen ☉, výstřel x) vidíme, že regenerace nervových vláken v korigu střelné rány začíná už 2. den po zákroku a pokračuje až do 10. nebo 12. dne, kdy je nervový systém ve zhojené oblasti korigu již vyzrálý. Zároveň pozorujeme iritaci nervových vláken jak v korigu a v blízkosti svalových pahýlů, tak i někdy ve značné vzdálenosti v nepoškozené tkáni. Rozpadání poškozených nervových vláken nacházíme v poměrně krátkém časovém úseku — 2. až 4. dne po prostřelení kůže. Regenerace nervových vláken v oblasti svalových pahýlů začíná později (4. až 6. den po zákroku) a je nevelká — plně rozvinuta je až 16. nebo 19. dne po průstřelu.

Všechny mikrofotografie byly zhotoveny na mikroskopu zn. Lumipan-Zeiss v kombinaci s kamerou Exakta-Varex; nejsou retušovány.

Obr. 1a. (Ok. 10X, obj. 20X). Vstřel: den 6. Osové válce nervových vláken v kmenu z okolí pahýlů kožního svalu jsou význačně argyrofilní a některé jeví známky podráždění

Obr. 1b. (Ok. 10X, obj. 45X). Vstřel: den 6. Nervový kmen v korigu v bočních partiích okolí rány. Některá nervová vlákna mají osový válec velmi nepravidelně zduřelý

Obr. 1c. (Ok. 10X, obj. 45X). Vstřel: den 19. Nervový kmen z okolí svalových pahýlů kožního svalu. Vedle jemných novotvořených vláken nacházíme také vlákna, která dosud jeví degenerační známky. Jedno nervové vlákno končí mohutnou zduřeninou

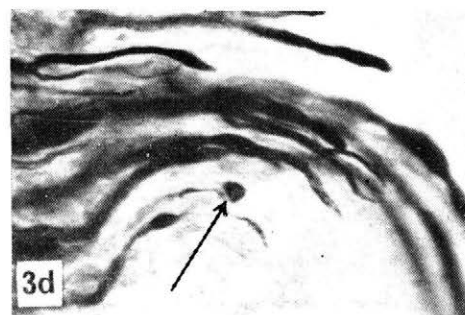
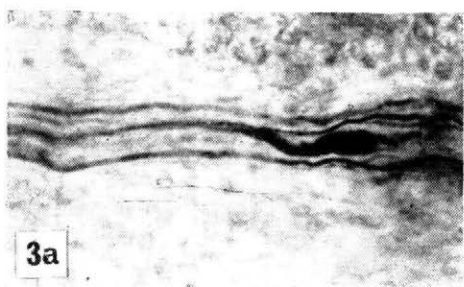
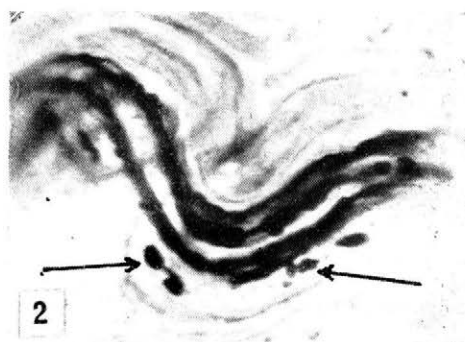
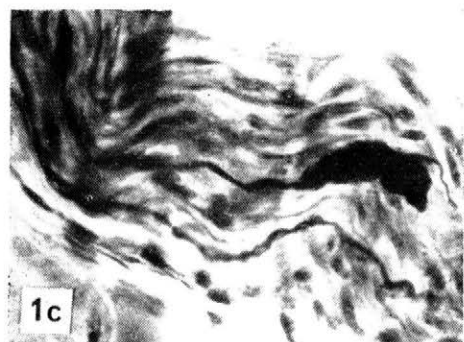
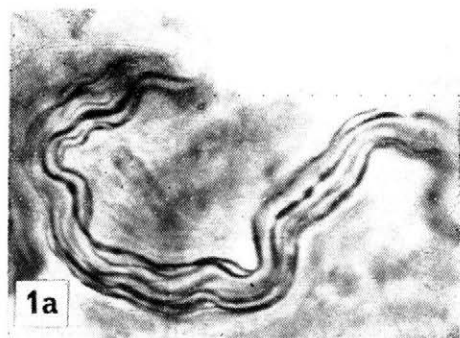
Obr. 2. (Ok. 10X, obj. 45X). Výstřel: den 4. Fragmentace nervového vlákna nervového kmenu v korigu hojící se oblasti výstřelu. (Fragmenty označeny šipkou)

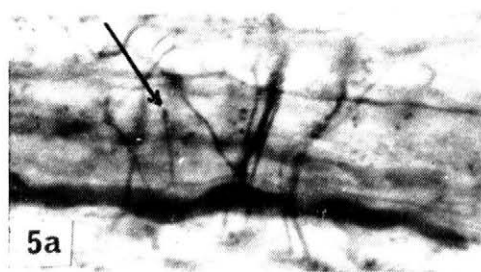
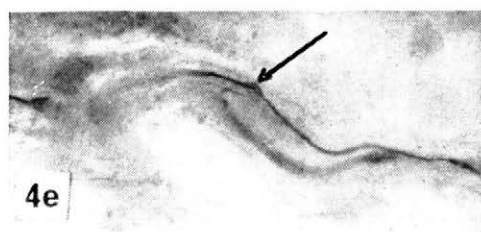
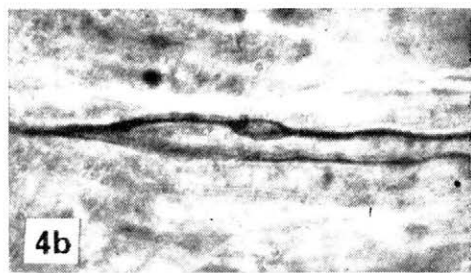
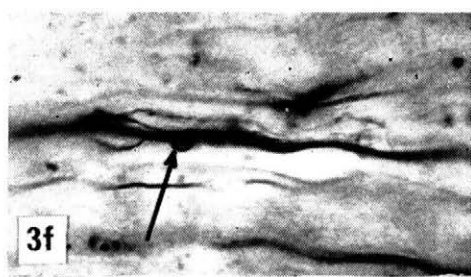
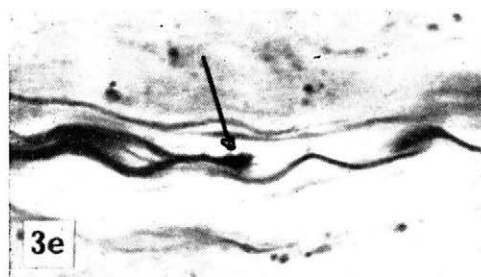
Obr. 3a. (Ok. 10X, obj. 45X). Vstřel: den 4. Ve kmenu jemných novotvořených vláken velká terminální Cajalova koule — známka počínající regenerace

Obr. 3b. (Ok. 10X, obj. 90X, imerze). Vstřel: den 8. Jedno z jemných novotvořených nervových vláken z korigu v oblasti sousedící s hojícím se defektem končí malým terminálním ztlustěním

Obr. 3c. (Ok. 10X, obj. 90X, im.). Vstřel: den 4. Jemná Cajalova koule na regenerovaném nervovém vláknu v oblasti pahýlů kožního svalu

Obr. 3d. (Ok. 10X, obj. 45X). V nervovém kmenu s dosud iritovanými „starými“ nervovými vlákny a s tenkými novotvořenými nervovými vlákny vidíme na konci takového jemného nervového vlákna malou Cajalovu kouli, označenou šipkou





Při mikroskopickém sledování hojení střelné rány jsme viděli, že střelná rána v kůži králíka se hojí ve dvou časových etapách — nejdříve se zhojí epidermis a korium a později teprve pahýly kožního svalu. Tomu také odpovídá regenerace nervového systému. V první fázi do hojícího se koria pronikají regenerující tenká nervová vlákna opatřená růstovými pupeny (pravidelně se opakujícími větvenitými naduřeninami s hladkou konturou) z drobných nervových kmenů z bočních sousedních oblastí nepoškozeného koria. V době, kdy novotvořený nervový systém zhojeného koria je již plně vyzrálý, nastává teprve plně rozvinutý růst a regenerace nervových vláken z velkých nervových kmenů, které se dochovaly v oblasti svalových pahýlů.

Tento dvojetapový průběh hojení se velmi liší od jednorázové reinervace, jak ji popisují Děvénýi — Nagy (1954), který však pozoroval vyrůstání novotvořených nervových vláken u krys až 5. dne po zákroku. U našich králíků jsme pozorovali vyrůstání nervových vláken v oblasti koria už 2. dne. Velmi se liší také průběh reinervace kožní střelné rány u králíka od výsledků, které jsme získali při studiu reinervace kožní rány krysy, vyražené Luerovými kleštěmi, o standardním průměru 1 cm (Charvát — Květiná, 1956). Zde probíhala reinervace koria nikoliv z drobných nervových kmenů z boku rány, ale z velkých nervových kmenů v okolí svalových pahýlů a vyrůstající nervová vlákna v krátké době prorostla z hloubi novotvořeným vazivem defektu až pod regenerovanou epidermis. Vrchol reinervace se odehrával 16. dne po způsobení rány a nervových

Obr. 3 e. (Ok. 10×, obj. 90×, im.). Vstřel: den 6. V malém nervovém kmenu ve spodní části koria v oblasti hojícího se defektu pozorujeme malé terminální ztlustění regenerujícího nervového vlákna s neostrým obrysem (označeno šipkou)

Obr. 3 f. (Ok. 10×, obj. 90×, im.). Vstřel: den 6. V tomtéž kmenu o něco dále nacházíme typické kolečkovité zakončení, dotýkající se tlustšího nervového vlákna a částečně tímto vláknem překryté. (Kolečko označeno šipkou)

Obr. 4 a. (Ok. 10×, obj. 90×, im.). Vstřel: den 8. Typické růstové pupeny z tenkého kmínku, probíhajícího v korigu v oblasti hojícího se defektu. Na růstovém pupenu vlevo můžeme dobře pozorovat prosvětlení a rozvláknění neurofibril

Obr. 4 b. (Ok. 10×, obj. 90×, im.). Vstřel: den 4. Typické větvenitě ztlustění s prosvětlením a s rozvlákněnými neurofibrilami (effilochement podle Cajala), které nacházíme často v průběhu regenerujících, tenkých nervových vláken (tzv. růstový pupen)

Obr. 4 c. (Ok. 10×, obj. 90×, im.). Vstřel: den 10. Růstové pupeny na jemných vlákních v korigu v blízkosti oblasti defektu

Obr. 4 d. (Ok. 10×, obj. 90×, im.). Vstřel: den 10. Růstový pupen z téhož malého nervového kmínku jako na předešlém obrázku

Obr. 4 e. (Ok. 10×, obj. 90×, im.). Vstřel: den 8. Velmi malý růstový pupen na jemném nově vzniklém nervovém vlákně. Neurofibrilly pupenu (označeného šipkou) jsou rozvlákněny do sítky

Obr. 4 f. (Ok. 10×, obj. 90×, im.). Vstřel: den 12. Růstový pupen v tenkém nervovém kmenu v blízkosti regenerované epidermis

Obr. 5 a. (Ok. 10×, obj. 45×). Vstřel: den 6. Drobný nervový kmen ve spodní části koria hojícího se vstřelu s regenerujícími vlákny, spirálně se obtáčeujícími kolem něj (Perroncitovy spirály). Jedno z regenerovaných vláken končí jemným ztlustěním (označeno šipkou)

Obr. 5 b. (Ok. 10×, obj. 45×). Vstřel: den 6. Jemný kmen z tenkých nově vzniklých nervových vláken, táhnoucí se v horní oblasti koria z boku rány až po regenerovanou epidermis. Velmi typické je větvení jemných nervových vláken pod velmi ostrým úhlem

vláken bylo takové množství, že někteří autoři v takovém případě hovoří o hyperneurii.

Je tedy vidět, že způsob hojení kožní rány má rozhodující vliv na reinnervační pochody. Jestliže hojení probíhá ve dvou časových etapách, jako je tomu u střelné rány v kůži králíka, pak reinnervační pochody probíhají také ve dvou časových fázích.

Jestliže granulační tkáň vzniká ze dna rány a postupně vyplňuje defekt, jako je tomu u krysy, pak i reinnervace probíhá v jedné časové fázi.

Popis jednotlivých stadií reinnervace je uveden ve vysvětlivkách k obrázkům.

Souhrn

1. Do kožní rány v hřbetní oblasti králíka byla vypálena střelná rána ze vzdálenosti dvou metrů. K tomu bylo použito opakovací pistole zn. ČZ, ráže 6,35 mm.

Makroskopicky bylo zjištěno, že oblast vstřelu je konstatně i v průběhu hojení větší než oblast výstřelu. V okolí, hlavně vstřelu, ale i výstřelu, byla pozorována stimulace růstu vlasových folikulů — vyrostly dlouhé a tlusté chlupy, někdy barevně odlišné od okolní srsti.

2. Hojení kožní střelné rány u králíka probíhá u vstřelu i výstřelu ve dvou časově odlišných fázích. Nejprve se zhojí epidermis a kórium (do 14. dne po zákroku) a hojení svalových pahýlů kožního svalu probíhá velmi pomalu (ještě 19. dne po zákroku nebylo úplné). Kolagenové *fibrae strati reticularis corii*, hraničící se střelným kanálem, nejsou vyloučeny do krusty (jako je tomu při hojení kožní řezné rány u bílé myšky nebo při hojení kožní rány u krysy, způsobené Luerovými kleštěmi), ale jsou použity při hojivých procesech, probíhajících v kóriu střelné rány u králíka.

3. Průběh hojivého procesu ovlivňuje i průběh regenerace nervového systému. Nejprve regenerují nervová vlákna v oblasti koria (do 12. dne po zákroku), později pak ve druhé fázi (16.—19. dne po zákroku) probíhá plně rozvitá regenerace nervových vláken v oblasti pahýlů kožního svalu. To je naprosto odlišné od poměrů při hojení kožní rány krysy, kdy reinnervace celého defektu probíhá v jedné časové fázi.

Literatura

Aničkov N. N., Volkova K. G., Garšin V. G.: Morfologija zaživlenija ran. Moskva 1951. — Bartoš F.: Cytomorfologie povrchu kožních ran. Sborník prací VLA JEvP 4, 91-98, 1957. — Bartoš F.: Mechanismus hojení kožní rány. Rozhledy v chirurgii, XXXVIII, 1, 4-7, 1959. — Bielschowsky M.: I. Nervengewebe. z Handbuch der mikr. Anatomie des Menschen (Möllendorff W.), 4, J. Springer Berlin, 1928. — Boeke J.: Studien zur Nervenregeneration, Verhandl. d. Konig. akad. u. wetensch. te Amsterdam (Naturwiss. Abt.), 18, 19, 1916-17. — Cajal R.: Studien über Nervenregeneration, Lipsko 1908. — Davydovskij I. V.: Ognestrel'naja rana čeloveka I. Moskva 1952 (citace ze str. 88). — Dévényi I., Nagy J.: Examination of Nerve Regeneration in the Rat's Skin. Acta morphol. Hung. suppl. IV, 30, 1954. — Dévényi I., Holczinger L.: The morphology of wound healing under crusts. Acta morphol. Hung. IV, 4, 447-461, 1954. — Falin L. I.: Nekotoryje spornyje voprosy morfologii i fisiologii vtoričnoj degeneracii periferičeskich nervov. Medgiz, Moskva 1954. — Gutmann E.: Funkční regenerace periferních nervů. ČSAV, Praha 1955. — Hoja Š.: Niektoré cytologické problémy v priečne pruhovalých svaloch po ich

transplantácii. I. K otázke spôsobu delenia svalových jadier. Biológia (Bratislava), XII, 10, 753-764, 1957. — H o j a Š.: Význam sarkolemy pre regeneráciu transplantovaných svalových vlákien. Biológia (Bratislava) XIV, 6, 418-427, 1959. — H r o m a d a J.: Dvě pozorování z inervace pouzdra kloubního: a) vliv Praedynu na receptory kloubní, b) inervace okolí acetabula. Acta Chir. Orthop. Traumatol. Cs. XXV, 2, 118, 1958. — Ch a r v á t Z.: Sensitivní inervace držené nadledvinky u krys a morčat. Cs. morfologie, II, 3, 179-189, 1954. — Ch a r v á t Z., Z v á r a J.: Zvýšená argyrolnost a její význam pro znázornění nervových vláken a zakončení ve dřeni nadledvinky. (Předběžné sdělení.) Sborník prací VLA JEvP, IV, 128, 1955. — Ch a r v á t Z.: Modifikace Goldnerovy trichromové metody, vhodná pro barevné odlišení hladké svaloviny a vaziva. Cs. morfologie, III, 2, 184-186, 1955. — Ch a r v á t Z., K v ě t i n a J.: Experimentálně navozená rána u krys a její hojení. (Přednáška.) IV. vědecká konference VLA JEvP, 1956. — Ch u t n á J., O p a t r n á V.: Hodnocení průběhu hojení rány metodou otiskových preparátů. Cs. biologie, III, 339, 1954. — I l j i n a V. I.: Čuvstvitelnaja innervacija mozgovogo věščestva nadpočeečnika. Sbornik rabot B. I. Lavrenteva i jeho učennikov. Moskva, 135, 1947. — K o b l o v G. A.: Čuvstvitelnaja innervacija korkovogo věščestva nadpočeečnika. Voprosy morfologii (nervnaja sistema). Sborník 2, 90, 1953. — K r s e k H.: Soudní lékařství (Prof. dr. F. Hájek a spolupracovníci). Súdnolekárska traumatologia. Učební texty vysokých škol, Praha, 316-337, 1958. — L a w r e n t j e w B. I.: Experimentell-morphologische Studien über den feineren Aufbau des autonomen Nervensystems. Z. mikr.-anat. Forsch., 18, 233-262, 1929. — M a r i n e s c o M. S.: Sur le dégénérescence des neuro-fibrilles après l'arrachement et la rupture des nerfs. C. r. des séances de la Soc. de biol., 1, 406, 1904. — M u e l l e r B.: Gerichtliche Medizin k) Schußverletzungen. J. Springer, Berlin, 522-567, 1953. — P i é d e l i è v r e, D é s o i l l e: Blessures par coups du feu. Paris, 23, 1939 (cit. podle Muellera 1953). — P o l á č e k P.: Morfologické změny v kloubní inervaci za pokusných podmínek funkčních i patologických u laboratorních zvířat. Acta Chir. Orthop. Traumatol. Cs., XXIII, 6, 236, 1956. — P o l á č e k P., L e d i n s k á N.: Morfologické změny periferního nervového systému při podchlazení a umělé hypotermii u pokusných zvířat. Cs. morfologie, V, 1, 49, 1957. — P o l á č e k P., L e d i n s k á N.: Izmenenija periferičeskoj nervnoj sistemy, vznikajuščije pri ochlaždeniji i iskustvennoj gipotermii u laboratornych životnych. Bjull. exp. biologii i mediciny, 5, 118, 1958. — P o k r o v s k a j a M. P., M a k a r o v M. C.: Cytologija ranevogo eksudata kak pokazatel zaživlenija ran. Moskva 1942 (cit. podle Bartoše 1957). — P o s p í š í l M.: Příspěvek k inervaci králičí kůže. Cs. morfologie, IV, 1, 63, 1956. — P ů ž a V.: Příspěvek k otázce dělení jader při regeneraci kosterního svalu králíků. Cs. biologie, 6, 1, 37-42, 1957. — P ů ž a V.: Otázka vhodnosti aktomyosinu k výplni defektů v kosterním svalstvu a jeho vliv na regeneraci svalové tkáně. Sborník prací VLA JEvP IV, 85-89, 1957. — P ů ž a V.: Pokusy o replantaci rozstříhaných kosterních svalů. Cs. morfologie VI, 4, 415-422, 1958. — P ů ž a V.: Možnost regenerace kosterních svalů savců. Rozhledy v chirurgii, XXXVIII, 1, 43-45, 1959. — R a j s k í j M. I.: Soudní lékařství, Hlava 13, střelná poranění, Orbis, Praha, 167-221, 1956. — S p i e l m a y e r W.: Histologie des Nervensystems, sv. 1. J. Springer, Berlin, 1922. — S t u d i t s k í j A. N., Ž e n e v s k a j a R. P., R u m j a n c e v a O. N.: Osnovy techniki vosstanovlenija myšc posredstvom peresadok izmelčenoj myšečnoj tkani. Cs. morfologie, IV, 4, 331-340, 1956. — Z v á r a J.: Rychlá impregnační metoda pro nervový systém s tvořením amoniakálního stříbra přímo ve tkáni, redukovaného vlastní redukční schopností barvených elementů. Sborník prací VLA JEvP, IV, 137-146, 1955. — Z v á r a J.: Argentnatronová impregnační metoda. Sborník ČSAZV, Veterinární medicína, XXIX, 5, 371-376, 1956.

Рейнервация кожной огнестрельной раны кролика

1. В кожную складку хребтовой области кролика был произведен выстрел. Для этой цели был использован пистолет марки ČZ, калибра 6,35 мм, выстрел был произведен на расстоянии 2 метров.

Макроскопически было установлено, что область входного отверстия пулевой раны осталась константной, а в течение заживания значительно большей, чем область выходного отверстия. Вокруг входного отверстия пулевой раны, а также и в области выходного отверстия наблюдалась стимуляция роста волосанных фолликул — выросли длинные и толстые волосы, иногда отличающиеся по цвету от окружающей их шерсти.

2. Заживание огнестрельной раны в коже у кролика протекает у входного и выходного отверстия в различных по времени фазах. Сначала заживает эпидермис и кориум (через 14 дней после принятия мер), а заживание мускульных культий кожной мышцы проходит очень медленно (через 19 дней после вмешательства полное заживание еще не наступило).

Коллагенные волокна (*fibrae strati reticularis corii*) не выделяются в струпы (как это бывает при заживании кожной раны у белой мыши или крысы), но они используются при процессах заживания, происходящих в кории огнестрельной раны у кролика.

3. Течение процесса заживания оказывает влияние также на процесс регенерации нервной системы. Сначала восстанавливаются волокна нервов в области кории (через 12 дней после вмешательства), позже же, в течение второй фазы (от 16 до 19 дней после вмешательства) происходит вполне развитая регенерация нервных волокон в области культи кожной мышцы. Этот процесс полностью отличается от условий при заживании кожной раны крысы, при котором реиннервация всего дефекта протекает в течение одной фазы.

The Reinnervation of a Shoot Wound in a Rabbit

1. On a skin fold of the back of a rabbit a shoot wound was applied by using a pistol of 6,35 mm calibre from a distance of 2 m.

Macroscopically one could find, that the area of the bullet entrance was constantly during the healing greater than the area of the bullet exit. In the surrounding, especially on the entrance, but also on the exit, there was observed a stimulation of the growth of hair follicles — there grew longer and stronger hairs, sometimes of a different colour in comparison to the surrounding hairs.

2. The healing of the shoot wound of the rabbit passes in two temporarily distinct phases. At first (till the 14th day after intervention) heals the epidermis and corium, but the healing of the cutaneous muscle has a very slow course (even the 19th day after intervention it was not complete).

The collagen fibres of the stratum reticularis corii in the vicinity of the track of the shoot are not excreted into the crust (as is the case during the healing of skin wounds among white mice or rats) but they take part in the healing processes of the corium of the shoot wound in a rabbit.

3. The course of the healing process is influenced also by the course of the healing of the nervous system. At first regenerate the nervous fibres in the region of the corium (till the 12th day after intervention), later on in the second phase (16—19th day after intervention) a complete developed regeneration of the nervous fibres takes place in the region of the cutaneous muscle stumps. That is quite different from the conditions found in the healing of cutaneous wounds in rats, where the reinnervation of the whole defect takes its course during one temporary phase.

Morfogeneza arteriovenózních anastomóz v boltci králíka*)

Морфогенез артериовенозных анастомозов в ушной раковине кролика

The Morphogenesis of the Arteriovenous Anastomoses in the External Ear of the Rabbit

MUDr. Jiří ŠMAHEL

Technická spolupráce E. Matějková

Mikrofotografie zhotovil Oldřich Vašíř

Katedra histologie s embryologií lékařské fakulty Karlovy university v Hradci Králové

Věnováno k šedesátým narozeninám prof. RNDr. et MVDr. Vlastimila Vrtiše

Došlo dne 6. II. 1960

Úvod

Poměrně velmi četná literatura o arteriovenózních anastomózách je shrnuta v Clarově monografii „Die arteriovenösen Anastomosen“ z roku 1939, doplněná a rozšířená v druhém vydání z roku 1956. Největší část Clarovy monografie je věnována morfologii arteriovenózních anastomóz (v dalším textu AVA), které byly nalezeny v mnohých orgánech zvířat a člověka. Menší kapitoly pojednávají o biologii, patologii a inervaci AVA. Po prostudování této monografie i jiných novějších, nám dostupných prací, nezahrnutých již v oné knize, shledáváme, že řešení otázky morfogenezy AVA bylo věnováno jen velmi málo prací (na kterýchto nedostatek poukazuje i autor citované monografie) a že se autoři často rozcházejí v názorech o morfogenezi.

Vastarini Cresi (1903) uvádí, že se mu nepodařilo nalézt AVA v prstech u sedmiměsíčního lidského plodu. Podobné sdělení pochází od Popoffa (1935); ti autoři se domnívají, že se AVA vyvíjejí v prstech teprve po narození. Naproti tomu Masson (1937), Clara (1939), Gasparini-Bucciantie (1950) a Wágner (1952) zjistili AVA v prstech člověka již u pětiměsíčních fetů.

Schumacher (1938), Krompecher (1932) a Rotter (1950) studovali podrobně morfogenézu *glomus coccygicum* u člověka během intrauterinního života. Daniel & Prichard (1956) popsali AVA v boltci lidského novorozence a v boltci a jazyku ovčích fetů.

Ve své práci jsme se snažili přispět k řešení problémů morfogenezy AVA, jejichž vývoj jsme sledovali v dnes již klasickém objektu pro pozorování AVA,

*) Předneseno na III. celostátní konferenci čs. morfologů v Brně dne 24. října 1959.

totiž v boltci králíka, kde jsou AVA velmi četné a poměrně snadno dostupné pozorování. V literatuře jsme našli dvě sdělení, týkající se bezprostředně naší práce.

Vastarini Cresi (1903) uvádí, že se mu nepodařilo nalézt AVA v boltci novorozených králíků. Rossati (1956) ve své práci, věnované novotvoření AVA po poranění, pozoroval AVA v boltci dvoutýdenního králíka, ojedinelé již i u novorozeného.

Materiál a metodika

V uretanové narkóze, po subkutánní aplikaci heparínu, jsme nastříkli ušní boltce celkem 60 králíků různého pohlaví a věku, v různém stáří, od narození až do dospělosti, přičemž jsme se zaměřili zejména na stadia od narození až do 10 týdnů. Jako injekční hmoty jsme použili směsi želatiny s tuší za přísady histamínu, kterou jsme zahřátou injikovali do *arteria carotis communis*. Několik boltců jsme nastříkli vodním roztokem berlínské modři. Po fixaci formalínem jsme odpreparovali kůži a perichondrium z konvexního povrchu chrupavky a za pomoci stereoskopického mikroskopu jsme v této sloupnuté kůži a perichondriu vyhledávali AVA. Potom jsme sloupnutou kůži rozstříhali na malé plátky, obsahující jednotlivé AVA, a zamontovali do glycerínu. Po proměření a ofotografování jsme tyto plátky kůže obsahující sledovanou AVA zbavili glycerínu a zalévali do parafínu, přičemž jsme orientaci plátků kůže v parafínu poznamenávali na fotografiích. Krájeli jsme v sériích po 10 μ a řezy jsme barvili Mayerovým kamencovým hematoxylinem a dobarvovali eoziinem.

Výsledky

Ve své práci jsme se snažili nejprve zjistit, v jakém stáří králíka je možno poprvé v boltci zjistit AVA. Zodpovězení této otázky je nerozlučně spjata s vymezením pojmu AVA, neboť v nejširším slova smyslu může být posléze i každá kapilára vydávána za AVA. Ve své práci jsme přijali jako kritérium vymezení Clarovo, který definuje AVA jako bezprostřední cévní spoje, které umožňují přímé spojení arteriálního a venózního řečiště s vynecháním řečiště kapilárního. Tyto jsou charakterizovány stavebními zvláštnostmi typickými pro AVA, tj. uzávěrovým zařízením, tvořeným svalovými buňkami, probíhajícími cirkulárně i podélně, epiteloidními buňkami a vymizením laminy elastiky interny. AVA mají velmi variabilní stavbu, při které mohou být základní stavební prvky individuálně vyjádřeny v různé míře, minimálně však nutno trvat alespoň na přítomnosti cirkulární svaloviny ve stěně AVA.

Nejmladší stadium, u kterého se nám podařilo takto definované AVA nalézt v boltci králíka, bylo mládě tři týdny staré. AVA zde zjištěné odstupovaly od malých arterií o průřezu 25--60 μ , měly průběh přímý nebo stočený, vzácněji šlo o typy odbočkové nebo rozvětvené. Jejich vzhled byl namnoze typický, tj. zúžení ve středním a rozšíření ve venózním segmentu. (Obr. č. 1. až 3.)

Po stránce histologické jevíly všechny celkem shodnou stavbu. Tunika media byla ve středním segmentu více či méně výrazně ztlustělá. Byla tvořena cirkulárně probíhajícími hladkými svalovými buňkami, ojedinelé jsme mohli pozorovat sva-

lové buňky s podélným průběhem a buňky epiteloidní. Stěna venózního segmentu byla nápadně tenká, tvořená endotelem s malým množstvím vaziva a jen roztroušenými svalovými buňkami. (Obr. č. 4, a—d.)

Kromě AVA shodných po stránce anatomické a histologické s těmi, které jsme právě popsali, mohli jsme v boltci třítýdenního králíčího mláděte, ale také u novorozenech právě tak dobře jako u dospělých králíků, pozorovat spojky v oblasti prekapilár, resp. kapilár, které svým průběhem a namnoze i reliéfem upomínají na AVA. (Obr. 5—8.)

Při histologickém vyšetření byla však zjištěna v těchto spojkách stěna pouze endotelová s malým množstvím vaziva, event. s ojedinělými svalovými buňkami, a proto jsme tyto spojky nepočítali mezi AVA.

Takové spojky v terminální oblasti cévního řečiště byly popsány řadou autorů i v jiných orgánech, jako kapilární, resp. prekapilární spoje a byly také vydávány za AVA. Někteří autoři (Zweifach, 1949, Schröder, 1952) se domnívají, že takové spojky patří ke stavebnímu plánu každého kapilárního řečiště, zatímco Stein (1954) a Clara (1956) takové tvrzení popírají. K tomuto problému můžeme pouze podotknout, že v boltcích králíků různého stáří nebyly tyto spojky častým a obvyklým zjevem. Spatřujeme však v těchto spojkách potenciální vývojová stadia AVA, tj. spojky, které se mohou při formování dospívajícího krevního řečiště histologicky diferencovat v AVA. Jen morfologická práce nemohla nám tu dát úplnou odpověď a těžili jsme proto z experimentální práce Clarkových (1934), kteří pozorovali *in vivo* novotvoření AVA v boltcích dospělého králíka na podkladě kapilárních kliček. Domníváme se, že obdobným způsobem vznikají AVA v boltci králíka i v prvních týdnech po narození. Při formování krevního řečiště se některé z kapilár vyvíjejí v artérie nebo větvy, přičemž většina kapilár ztrácí s nimi přímé spojení. Nicméně u některých z nich spojení perzistuje a fungují zprvu jako spojky prekapilární, při dalším rozvoji cévního řečiště, jako spoje arteriovenózní. Jak ukazují práce Clarkových, probíhá tvorba AVA i v boltci dospělých králíků. Není tudíž vznik AVA vázán na určitou časovou etapu. Z frekvence výskytu AVA, kterou jsme mohli pozorovat v jednotlivých stádiích po narození lze však soudit, že těžiště tvorby AVA leží v prvních týdnech po narození. Skutečnost, že morfogenéza AVA neprobíhá u všech AVA současně, může nám tak do jisté míry vysvětlit značnou variabilitu a individuální rozdíly ve stavbě AVA, které nalézáme v boltci králíka určitého stáří.

Při otázce, proč jsou AVA přítomny až ve 3. týdnu, mohli jsme si povšimnout jisté závislosti. Proměřovali jsme v boltcích králíků 3—10 týdnů starých průřezy artérií, z kterých AVA odstupovaly. Nejčastější průřez byl v rozmezí 30 až 70 μ s extrémními hodnotami 25—120 μ . Velmi obdobný byl výsledek při proměřování artérií v boltcích dospělých králíků, tolíko horní hranice se posunula ke 160 μ . Při histologickém prověřování spojek odstupujících od cév s kalibrem menším než 20 μ , nenalezali jsme u nich typickou stavbu, kterou vyžadujeme pro deklarování cévní spojky za AVA, jak o tom již byla zmínka. Zdá se nám tudíž správný předpoklad, že vydifferentování cévních spojek do typu AVA v boltci králíka je vázáno morfologicky na přítomnost arterií s kalibrem alespoň 25 μ , z kterých spojky odstupují. Ve smyslu tohoto zjištění jsme proměřili artérie u novorozenech až čtrnáctidenních králíků, přičemž jsme brali v úvahu, že AVA odstupují zpravidla teprve od větví druhého až třetího řádu *arteria auricularis ant. et post.* U novorozeneho králíka měřily *arterie auriculares* v místě odstupu boltce okolo 100 μ , větve druhého řádu pod 10—15 μ . U 14-denních králíků měřily *arterie auriculares* v místě odstupu boltce okolo 230 μ , větve druhého řádu 15 až

25 μ . Zdá se nám tudíž logické, že Vastarini-Cresi nemohl pozorovat AVA v boltcích novorozeneých králíků, protože zde není dosud vytvořen morfologický předpoklad pro jejich histologické vydifferentcování do žádoucího stupně, tj. přítomnost arteriol s kalibrem nad 25 μ . S opačným zjištěním Rossatiho nemůžeme polemizovat, protože autor ve své jednovětvé zmínce neuvádí, zda prováděl také histologické prověření.

Poslední otázka, která nás zajímala, byla častost výskytu jednotlivých typů AVA v období od narození do stáří 10 týdnů. Nejčastěji jsme u těchto mláďat našli AVA typu můstku, a to v 60 % případů (obr. č. 9). V 22 % případů jsme našli typ rozvětvený (obr. č. 10). Ve 12 % případů odbočkové AVA (obr. č. 11). V 6 % případů AVA typu přímého přechodu (obr. č. 12).

Obdobný početní poměr jsme našli také v boltcích dospělých králíků, z čehož jsme usoudili, že typ, resp. tvarové zvláštnosti AVA jsou dány v základním rysu již průběhem kapilární spojky a nevytvářejí se teprve během další morfogenezy.

Souhrn

1. Arteriovenózní anastomózy v boltci králíka vznikají na podkladě kapilárních spojek, přičemž průběh této spojky určí v základním rysu typ AVA.

2. K histologickému vydifferentcování těchto spojek do stupně, jaký vyžadujeme pro deklarování takové spojky za AVA dochází tehdy, když arterioly, z kterých spojky odstupují, mají kalibr alespoň 25 μ , což je v boltci králíka v třetím týdnu po narození.

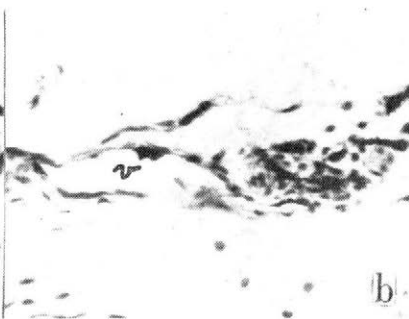
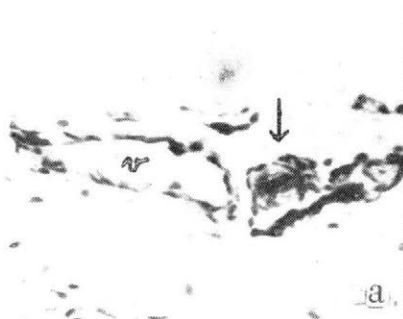
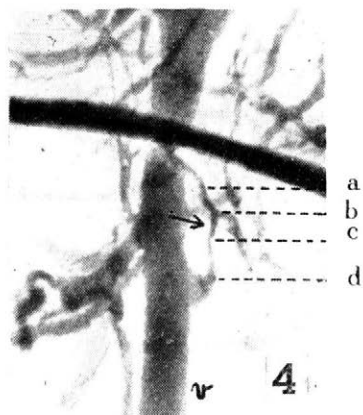
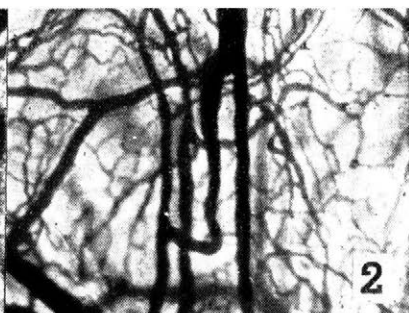
3. Tvorba AVA není vázána na určitou časovou etapu a AVA mohou vznikat i v boltci dospělého králíka. Těžiště tvorby AVA leží však v prvních osmi týdnech po narození.

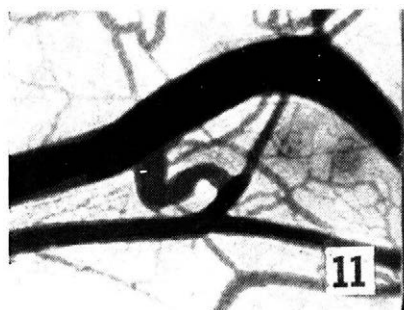
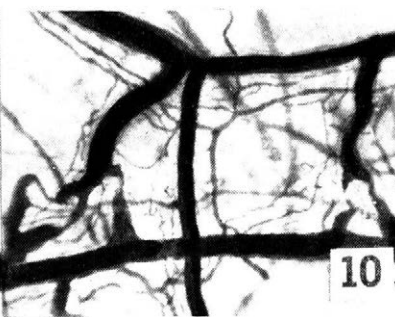
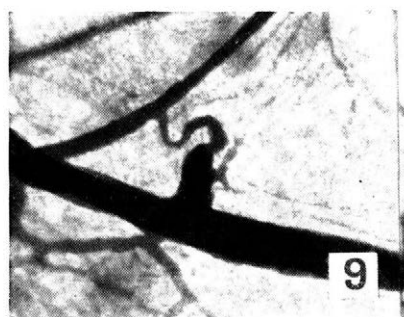
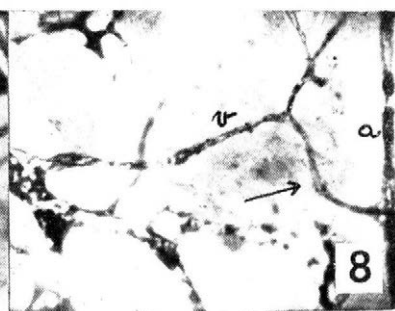
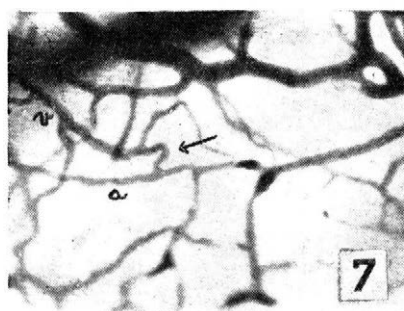
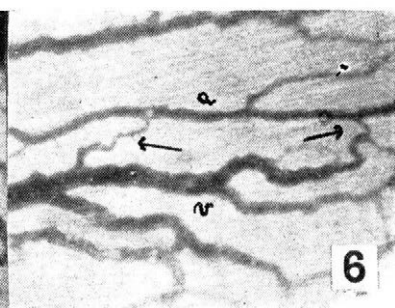
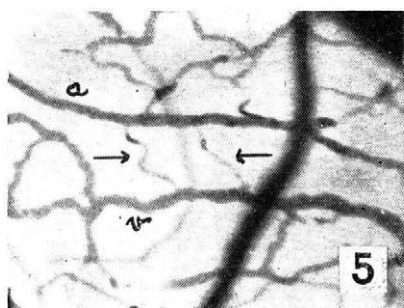
4. Morfogenez AVA neprobíhá u všech anastomóz současně, což nám může do jisté míry vysvětlit variabilitu a individuální rozdíly ve stavbě AVA, které nalézáme v boltci králíka určitého stáří.

C. 1—3. Arteriovenózní anastomózy z boltce třítýdenního králíka. Foto Lumipan, obj. 10, okul. 10

Č. 4. Arteriovenózní anastomóza typu odbočkového z boltce třítýdenního králíka (označena šipkou). Foto Lumipan, obj. 10, okul. 10. Čárkované linie označují roviny následujících sériových řezů (a-d), v-věna

- a — Arteriola po odstupu z hlavního kmene (označena šipkou). v-věna. V lumenech cév zbytky injekční masy
- b — Rozdělení na větvku jdoucí ke kapilárám a vlastní AVA. Je patrné protáhlé šterbinovité lumen, vyplněné injekční masou. Tunika media je tvořena několika málo vrstvami hladké svaloviny, uspořádané cirkulárně
- c — Řez středním úsekem AVA. Nápadné ztlustění tuniky medie, způsobené množšením hladkých svalových buněk, probíhajících cirkulárně, méně často podélně. Ojedinelé epitelooidní buňky
- d — Řez zastihující přechod středního segmentu AVA do venózního a vústění do věny. Výrazné ztenčení tuniky medie, která je tu tvořena endotelem a vazivem s roztroušenými svalovými buňkami





Literatura

Clara M.: Die arteriovenösen Anastomosen. (Anatomie, Biologie, Pathologie.) 2. Aufl., Wien, Springer, 1956. — Clark E. R. & Clark E. L.: Observations on living arteriovenous anastomoses as seen in transparent chambers introduced into the rabbit's ear. *Amer. J. of Anat.*, 54, 229, 1934. — Clark E. R. & Clark E. L.: The new formation of arteriovenous anastomoses in the rabbit's ear. *Amer. J. Anat.*, 55, 407, 1934. — Daniel P. M. & Prichard M. M. L.: Arteriovenous anastomoses in the external ear. *Quart. J. exp. Physiol.*, 41, 107-123, 1956. — Krompecher St.: Histologische und entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über das Glomus coccygicum des Menschen. *Anat. Anz.* 75 (Erg.-Bd.) 1932. — Masson P.: Les glomus neurovasculaires. Paris: Herman et Cie, 1937. — Popoff N. W.: Recherches sur l'histologie des anastomoses arterio-veineuses des extremités et sur leur rôle en pathologie vasculaire. *Bull. d'Hist. Appl.* 12, 156-171, 1935. — Prichard & Daniel: Arteriovenous anastomoses in the human external ear. *J. Anat.*, 90, 3, 309-317, 1956. — Rossati B.: Observations on the blood supply of the rabbit's ear and the experimental newformation of arteriovenous anastomoses. *J. Anat., Cambridge*, 90, 318-328, 1956. — Scullica: Morphologische Untersuchungen über die arteriovenösen Anastomosen des Kaninchenauges. *Acta Anat.*, 34, 4, 269-284, 1958. — Schroeder W.: Zur Physiologie der arteriovenösen Anastomosen. *Verh. dtsch. Ges. Kreisl. forsch.* 18, 289, 1952. — Schumacher S. v.: Über die Bedeutung der arterio-venösen Anastomosen und der epitheloiden Muskelzellen. *Z. mikr. anat. Forsch.* 43, 107, 1938. — Stein E.: Funktionelle Bedeutung der arterio-venösen Anastomosen. *Klin. Wschr.* 32, 943, 1954. — Vastarini - Cresi: Le anastomosi artero-venose nell'uomo e nei mammiferi. *Studio anatomo-istologico.* Naples. F. Sangiovanni, 1903. — Wagner - Rotter: Über die Entwicklung der subungualen Glomera der Zehen. *Arch. Kreisl. Forsch.* 18 1-4, 1952.

*

Výsledky prací: Gasparini-Bucciante (1950), Rotter (1950) a Zweifach (1949) jsem převzal z Clarovy monografie: Die arterio-venösen Anastomosen (1956).

-
- C. 5—8. Spojky v terminálních oblastech krevního řečiště z boltců králíků různého stáří. a-arteriola, v-venula, spojky označeny šipkami. Foto Lumipan, obj. 45, okul. 10
- C. 9—12. Typy arteriovenózních anastomóz z boltců králíků různého stáří. Foto Lumipan, obj. 6, okul. 10
- C. 9. AVA typu můstku s esovitým průběhem
- C. 10. Dvě AVA rozvětvené. AVA v levé polovině obrázku se dělí na 3 raménka, v pravé polovině na 2 raménka
- C. 11. AVA typu odbočkového. Společný arteriální kmen se záhy po odstupu dělí na větévku jdoucí ke kapilárám a vlastní AVA
- C. 12. AVA typu přímého přechodu. Arterie tříramenným, resp. tříkomorovým středním segmentem přechází přímo do vény

Морфогенез артериовенозных анастомозов в ушной раковине кролика

1. Артериовенозный анастомоз AVA в ушной раковине кролика возникает на основе капиллярных соединений, причем ход этого соединения определяет в основных чертах тип AVA.

2. Гистологическая дифференциация этих соединений до той степени, которая требуется для обозначения такого соединения как AVA, происходит в том случае, когда артериолы, от которых соединения отходят, имеют калибр не менее 25 μ , что в ушной раковине кролика образуется в течение третьей недели после рождения.

3. Возникновение AVA не связано с определенным временем, и AVA может образоваться и в ушной раковине взрослого кролика. Однако образование AVA происходит главным образом в течение первых восьми недель после рождения.

4. Морфогенез AVA протекает у всех анастомозов не одновременно, что может до известной степени объяснить изменчивость и индивидуальные различия в структуре AVA, которые наблюдаются в ушной раковине кролика определенного возраста.

The Morphogenesis of the Arteriovenous Anastomoses in the External Ear of the Rabbit

1. The arteriovenous anastomoses (AVA) in the ear of a rabbit develop on the base of capillary junctions, the course of the junction deciding the basal type of the AVA.

2. The histological differentiation of these junctions to a degree to enable their declaration as AVA is possible, when the arterioles, from which the junctions arise, have a calibre of a least 25 μ , that is in the ear of the rabbit 3 weeks after birth.

3. The formation of the AVA is not bound on a certain time and the AVA may originate also in the ear of a mature rabbit. But the main development of the AVA occurs during the first 8 weeks after birth.

4. The morphogenesis of the AVA occurs not in all anastomoses contemporarily and this may in a certain degree explain the variability and the individual differences in the structure of the AVA, which are found in the ear of the rabbit of a certain age.

Využití kyselý černi 10B (amidočerni 10B) k histochemickému důkazu bílkovin*)

Применение кислой черни 10B (амидочерни 10B) для гистохимического
доказательства белков

The Use of Acid-black 10B (Amido-black) for the Histochemical Proof of Albumins

Ilja HRADIL — Milan POSPÍŠIL
Technická spolupráce Eva Solilová

*Katedra histologie s embryologií lékařské fakulty Karlovy university v Hradci
Králové a Vojenský výzkumný a doškolovací ústav J. Ev. Purkyně v Hradci
Králové*

Věnováno k šedesátým narozeninám prof. RNDr. et MVDr. Vlastimila Vrtiše

Došlo dne 3. 11. 1960

Úvod

V současné době jsme svědky značného rozvoje histochemie, která se stává nedílnou součástí morfologického výzkumu. Počet histochemických prací se rok od roku zvětšuje a úměrně s kvantitou roste i kvalita prací. Největší pozornost je v histochemii věnována polycukrům a některým fermentům, zatímco důkaz tuků, pigmentů, anorganických látek a v neposlední řadě i bílkovin je dosti opomíjen. Podle našeho názoru musíme postupně odstraňovat tuto nerovnoměrnost, aby jednostranné zaměření histochemie nebylo jejím dalším rozvoji spíše na škodu než k prospěchu.

Známe dnes celou řadu reakcí k provedení důkazu bílkovin nebo jejich jednotlivých funkčních skupin nebo jejich jednotlivých aminokyselin. Alfa amino-skupiny můžeme dokázat ninhydrinovou reakcí, při níž vzniká modré, dobře odečitatelné zbarvení. Volné aldehydy můžeme při této reakci dokázat Schiffovým zkoumadlem, event. reakcí ninhydrin- resp. alloxan-Schiff. Pro důkaz tyrosinu, tryptofanu, histidinu a látek ze skupiny purinů i pyrimidinů byla doporučována tetrazoniová reakce podle Danielliho. Je to azokopulační reakce benzinu s vhodnou organickou sulfokyselinou, případně jiným substrátem (naftolem), dávajícím barevnou reakci. Protože acetylování ani benzoylování není při této reakci spolehlivé, je výklad reakce dosud sporný. Podobně pro průkaz aminových a hydroxylových skupin je problematická i nitrobenzoylchloridová reakce a Birstone 1955 doporučuje proto provádět místo obou těchto reakcí reakci s 2,4-

*) Předneseno na III. celostátní konferenci čs. morfologů v Brně dne 24. října 1959.

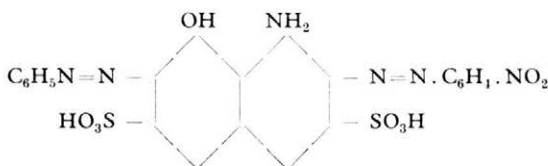
dinitrofluorobenzenem, jejíž výsledky jsou kontrolovatelné inhibičními testy. Dalšími skupinovými reakcemi jsou *Barnett-Seligmanova* reakce k důkazu alfa acylamidogrupin hydrazinem kyseliny 2-hydroxy-3-naftové a reakce *Dixonova* 1959 k důkazu taninofilních bílkovin.

Z jednotlivých aminokyselin lze prokázat tyrosin *Millonovou* reakcí, tryptofan reakcí s naftyletylëndiamidihydrochloridem podle *Bruemerové* a spol. 1957 nebo metodou *Gleener-Lillieho* 1957. Arginin prokazuje některou z modifikací *Sakaguchiho* reakce, např. podle *Carver-Thomas-Browna*, serotonin (5-hydroxytryptamin) dokazujeme azokopulačně podle *Clary* 1937. Z reakcí k důkazu SH a SS skupin se dnes používají jenom dvě reakce, a to: s Di-hydroxy-dinaftyl-disulfidem podle *Barnett-Seligmana* 1954 a se rtuťovou oranží (*Red sulphuryl reagent - RSR*) podle *Bennetta* 1951. Obě reakce jsou selektivní v kombinaci s inhibičními testy a se specifickou aktivací.

Bylo by možné provést ještě hlubší rozbor reakcí určených k histochemickému důkazu bílkovin, ale to není smyslem našeho sdělení. V histochemickém písemnictví jsme se dosud nesetkali s důkazem bílovin amidočerní 10B. Pouze *Puchlerová* a *Leblond* 1958 ji použili k důkazu bílkovin ve střevním epitelu. Vzhledem k unikátnosti tohoto odkazu posuzujeme v této práci amidočerní 10B jako histochemické reagens k důkazu bílkovin v řezech tkání a orgánů.

Vlastní pozorování

Kyselá čern 10B, též amidočern 10B nebo *Naphtolblauschwarz B* patří do skupiny primárních diazobarviv, v nichž dvojnásobně kopulovanou komponentou je H kyselina. Po chemické stránce je tedy kyselá čern tvořena H kyselinou, která dvěma azoskupinami váže dvě molekuly anilinu, z nichž jedna je nitrovaná,

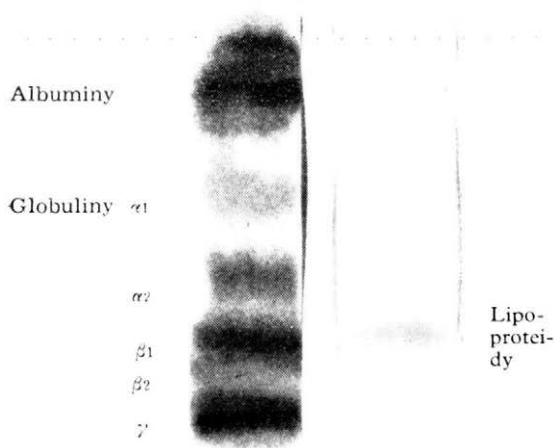


Kyselá čern se hojně používá k barvení elektroforézou rozdělených frakcí bílkovin plazmy na papíře a její použití prvně popsali v r. 1952 *Grassmann* a *Hannig*. Běžným způsobem jsme elektroforézou rozdělili lidskou krevní plazmu na jednotlivé gradienty a ty jsme pak barvili kyselou černí 10B v nasyceném roztoku 10% metanolicke kyseliny octové. Odbarvovali jsme 30% kyselinou octovou a čistým metanolem. Ukázalo se, že kyselá čern barví všechny frakce krevní plazmy. Při modelovém barvení některých bílkovin a aminokyselin kyselou černí 10B jsme shledali, že silně pozitivní reakci dává vaječný bílek, složený hlavně z ovalbuminu, oviglobulinu a ovomukoidu. Také neředitá lidská krevní plazma reaguje výrazně pozitivně. Kasein, cystein, tyrosin a methionin se kyselou černí 10B barví značně méně až nevýrazně. Krevní plazma je barvitelná až do koncentrace 0,06 % (při ředění fyziologickým roztokem).

Všechny modelové reakce bílkovin na papírové podložce jsme současně prováděli také na podložních sklíčkách. Postupovali jsme tak, že jsme sklíčka nejprve potáhli teničkou vrstvou 1 % agaru, na který jsme po zaschnutí nanášeli jed-

PLAZMA KREVNI

Amidočerní 10B Sudanská čerň



Obr. 1.

Obr. 2.

PLAZMA KREVNI

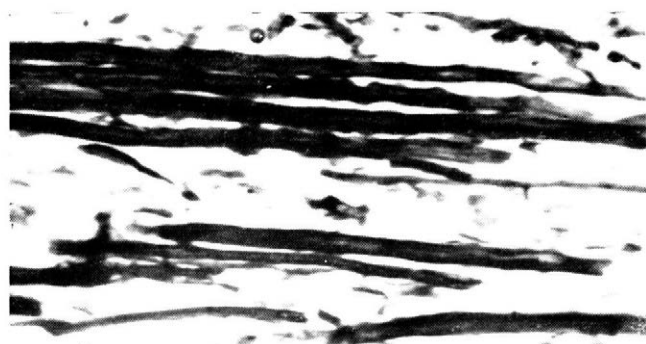
●	Ovalbumin, oviglobulin, ovomukoid	●	100	%
●	Krevní plazma	●	25	%
●	Kasein	●	4,2	%
●	Cystein	●	0,5	%
●	Tyrosin	●	0,1	%
●	Methionin	●	0,06	%
○	Fysiol.	○		

Obr. 3.

Obr. 1. Dva elektroforeogramy bílkovin lidské krevní plazmy. Všechny frakce jsou kyselou černí velmi dobře barvitelné (levý elektroforeogram). Na pravém elektroforeogramu jsou sudanovou černí znázorněny lipoproteidy

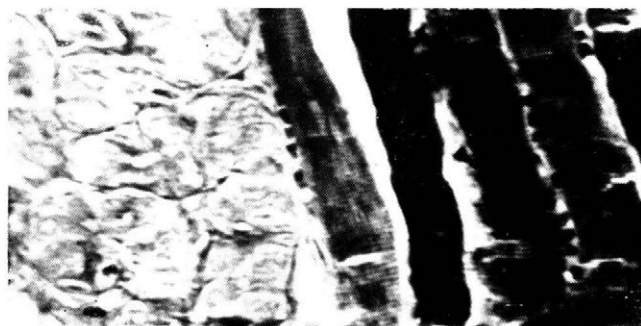
Obr. 2. Zbarvení některých bílkovin a aminokyselin kyselou černí na chromatografickém papíru. Nejzřetelněji se barví vaječný bílek a krevní plazma. Kasein, cystein, tyrosin a methionin se barví již značně méně až nesignifikantně

Obr. 3. Barvení různě koncentrované krevní plazmy, ředěné fyziologickým roztokem, kyselou černí. Při 0,06 % je barvitelnost minimální. Pro srovnání byl poslední vzorek smočen v čistém fyziologickém roztoku



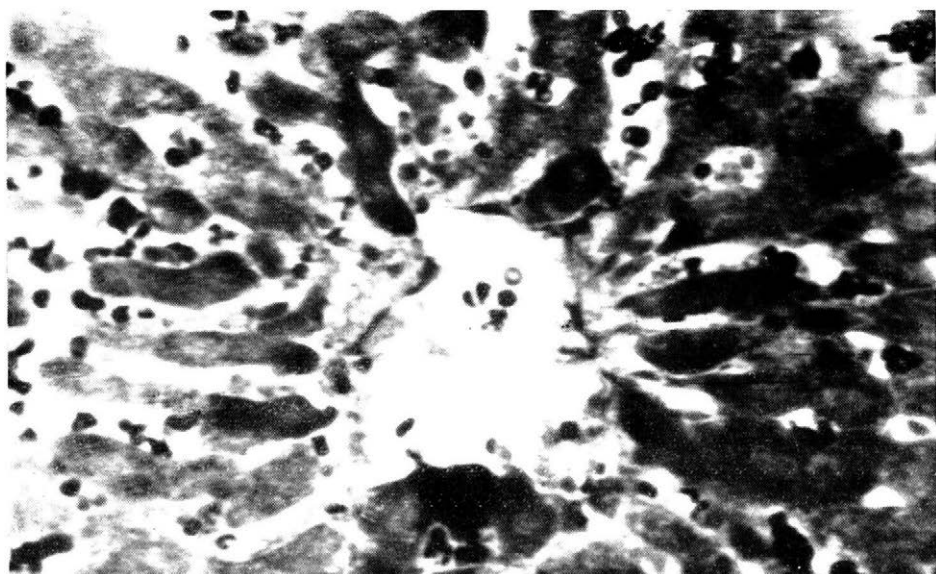
Obr. 4.

Obr. 4. Vznikající žíhaná svalová vlákna v končetině mladého prasečeho zárodku, zastižena řezem podélně. Vybarvení vláken kyselou černí je zcela zřetelné (přehledné zvětšení)

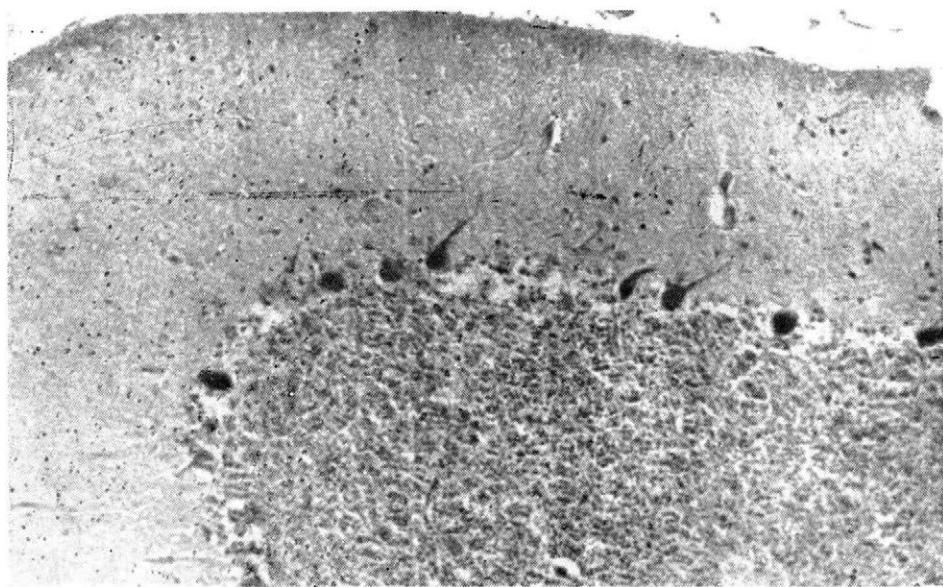


Obr. 5.

Obr. 5. Žíhaná svalovina lidského jazyka spolu s mucinovitou žlázou při velkém zvětšení. Kyselá černí barví intenzivně svalovinu, zatímco mucinovitě tubuly zůstávají nezbarveny



Obr. 6. Lidská játra v oblasti centrální vény při velkém zvětšení. Zbarvení kyselou černí je difuzní, zřetelněji vystupují jen červené krvinky a endotelová výstelka krevních cest



Obr. 7. Mozeček krysy při přehledném zvětšení. Kyselá černá barví poměrně nevýrazně Purkyňovy buňky a buňky ve *stratum granulosum*

notlivé bílkoviny, případně i aminokyseliny smíšené s agarem jako kapky. Ukázalo se, že modelové reakce bílkovin na podložních sklíčkách byly v některých případech zřetelněji pozitivní než na chromatografickém papíru.

V další fázi naší práce jsme přistoupili k vlastnímu barvení histologických řezů roztokem kyselé černi 10B. Řezy, fixované běžnými fixážemi i 1% kyselinou trichloroctovou v 90 % alkoholu, která se nám při důkazu bílkovin nejlépe osvědčila, jsme barvili po zalití do parafinu nasyceným roztokem kyselé černi 10B v 10% metanolicím roztoku kyseliny octové (devět dílů metanolu a jeden díl ledové kyseliny octové). Doba barvení se pohybovala od 1 do 5 minut. Po obarvení jsme řezy vypírali 30 minut v metanolicí kyselině octové a čistém metanolu. Preparáty jsme nijak dále nedobarbovali. Tímto způsobem jsme zpracovali řadu tkání a orgánů: žaludek, střeva, játra, slezinu, ledvinu, jazyk, tracheu, chrupavku, kůži a mozeček. Ukázalo se, že kyselá čern 10B barví spolehlivě žíhanou i hladkou svalovinu, zatímco vazivové složky se barví méně výrazně. Jaterní i ledvinový parenchym i epitely se barvily vcelku difúzně, o něco zřetelněji se barvily Purkyňovy buňky mozečku, ve všech případech se výtečně barvila erytrocytární náplň krevních cest.

Z našich modelových reakcí vysvítá, že kyselá čern 10B není selektivním barvivem k průkazu jednotlivých bílkovin nebo jejich charakteristických skupin (SH a SS skupin). Podle našich dosavadních nálezů lze kyselou černí 10B dokázat albuminy, globuliny alfa, beta a gama, a to ve svazku s lipidy a cukry (tedy jako lipo- a glykoproteidy), dále pak ovalbumin, spolu s oviglobulinem a ovimukoidem a potom kasein. Průzkum alifatických aminokyselin, z nichž jsme sledovali cystein, metionin a z cyklických aminokyselin tyrosin, nelze zatím uzavřít, protože se při zpracování na chromatografickém papíře nebo na sklíčkách většinou vyplavují.

Z praktických zkoušek na tkáňových řezech uzavíráme, že kyselá čern 10B barví spolehlivě hladké svalové buňky i žíhaná svalová vlákna a velmi elektivně barví erytrocytární náplň cév. Elektivní zjišťování funkčně důležitých skupin bílkovin nebo polypeptidů (NH_2 , OH, SH, COOH) event. jednotlivých aminokyselin je však při barvení kyselou černí 10B problematické, nespecifické a podle našeho názoru neproveditelné.

Souhrn

Zkoumali jsme možnost použití kyselé černi 10B (amidočerni 10B) pro histochemický důkaz bílkovin. Kyselá čern 10B barví spolehlivě jen hladké svalové buňky, žíhaná svalová vlákna spolu s erytrocytární náplní krevních cest. Elektivní zjišťování funkčně důležitých skupin bílkovin nebo polypeptidů kyselou černí 10B je nespecifické.

Literatura

- Barnett R. J., Seligman A. M.: Histochemical demonstration of sulphhydryl and disulfide groups of proteins. *J. Nat. Cancer Inst.* 14, 769-803, 1954. — Barnett R. J., Seligman A. M.: Histochemical Demonstration of Protein-Bound Alpha-Acylamido Carboxyl Groups. *J. Biophys. Biochem. Cytol* 4/2, 169-176, 1958. — Bennett H. S.: The demonstration of thiol groups in certain tissues by means of a new colored sulphhydryl reagent. *Anat. Rec.* 110, 231-247, 1951. — Brummer N. C. a spol.: A Tryptophan histochemical method. *J. Histochem. Cytochem.* 5/2, 140-144, 1957. — Clara M. cit. podle Korting A. W. *Arch. Dermat.* 206, 397, 1957. — Dittmer A.: Papierelektrophorese, Fischer, Jena 1956. — Dixon K. C.: Oxi-

dized tannin-azo method for protein in tissues. Amer. J. Path. 35/1, 199-211, 1959. — Glenner G. G.: The histochemical demonstration of indole derivatives by the ro-sindole reaction of E. Fischer. J. Histochem. Cytochem. 5/3, 297-304, 1957. — Grassmann W., Hannig K.: Ein quantitatives Verfahren zur Analyse der Serumproteine durch Papierelektrophorese. Zeitsch. f. physiol. Chem. 290, 1-27, 1952. — Pearse A. G.: Histochemistry Theoretical and Applied, Churchill, London 1954. — Puchtler H., Leblond C. P.: Histochemical analysis of Cell Membranes and Associated Structures as seen in the intestinal Epithelium. Amer. J. Anat. 102/1, 1-31, 1958.

Применение кислой черни 10В (амидочерни 10В) для гистохимического доказательства белков

Авторы изучали возможность применения кислой черни 10В (амидочерни 10В) для гистохимического доказательства наличия белков. Кислая чернь надежно окрашивает только мышечные клетки, полосатые мышечные волокна вместе с эритроцитарным содержимым кровеносных путей. Элективное определение важных в функциональном отношении групп белков или полипептидов при помощи кислой черни 10В не является специфическим.

The Use of Acid-black 10B (Amido-black) for the Histochemical Proof of Albumins

We tried the possibility to use acid-black 10B (amido-black) for the histochemical proof of albumins. The acid-black stains reliably only the smooth muscle cells, the striped muscle fibres together with the erythrocyte content of the blood vessels. The elective determination of albumin groups of functional importance or of polypeptides by means of acid-black 10B is not specific.

Ostrůvkový index skotu a ovce

Островковый индекс у крупного рогатого скота и у овец

Der Inselindex bei Rind und Schaf

MVDr. Rudolf BÖHM, kandidát veterinárních věd

Histologicko-embryologický ústav veterinární fakulty v Brně (vedoucí doc. dr. Evžen Novotný)

Věnováno k šedesátým narozeninám prof. RNDr. et MVDr. Vlastimila Vrtiše

Došlo dne 3. 11. 1960

Úvod a přehled literatury

O ostrůvkovém indexu koně a prasete jsme uveřejnili práci již dříve (Böhm — 1957). Vycházíme z práce Hessovy, který označuje jako funkční index poměr buněk β a α . Podle něho činí tento funkční index u zdravých lidí 8,8, u diabetiků 4,8. Název ostrůvkový index zavedli Kodoušek a Endrys, kteří zjišťují u zdravých lidí průměrný ostrůvkový index 2, u diabetiků 1,1. Rozdíl proti výsledkům Hessovým vysvětlují tím, že počítali buňky na parafinových řezech, kdežto Hess používal řezů ze zmrazovacího mikrotomu. Je tedy u zdravých lidí daleko více buněk β (totiž buněk, které vytvářejí hormon inzulin) než buněk α (které vytvářejí látku s opačným fyziologickým účinkem, zv. glukagon). U diabetiků vzrůstá počet buněk α . Creutzfeld uvádí, že poměr buněk α a β u člověka je 1 : 7, podle Gomoriho 1 : 8, Terbruggen uvádí 1 : 4 s výkyvy 1 : 3 a 1 : 5. Grobety udává poměr buněk A a B jako 23,2 % : 76,8 %, po aplikaci alloxanu (při alloxanové diabetes) se poměr mění na 89,6 % : 10,4 %. Charvát zjistil u samic morčete inzulinární index 3,79, u samců 5,73. Titlbach a Závada doporučují vyjadřovat poměr buněk α a β procentovým zastoupením v průměrném ostrůvku. U králíka zjistili, že průměrný ostrůvek má 77 % buněk β . Vzájemný poměr obou typů buněk u koně a prasete je podle Böhma u koně α : β = 45 % : 55 %, u prasete 11 % : 89 %. Poměr buněk α ku β , vyjádřený jako ostrůvkový index, činí u koně 1,19, u prasete 8,34. Další údaje o ostrůvkovém indexu domácích zvířat v dostupné literatuře není.

Pokud jde o polohu buněk α v ostrůvcích uvádí Ferner, že u dospělého člověka jsou buňky α při okraji ostrůvku, u fetů tvoří buňky α na periférii ostrůvku souvislou vrstvu. V menší míře jsou buňky α jednotlivě uvnitř ostrůvku. Podobně je tomu u psa, kočky, lišky a jiných savců. Rovněž u krysy tvoří buňky α

při okraji ostrůvku vícevrstevný obal. G o m o r i udává, že u psa a morčete jsou buňky α promíchány s buňkami v celém ostrůvku, u krysy a myši na periférii, u koně a kočky leží uprostřed ostrůvku. W o l t e r nepovažuje buňky uprostřed ostrůvku koně za pravé buňky α , protože je nelze impregnovat stříbrem. V těchto buňkách je podle něho obsažen pigment lipochrom. Podle B ö h m a jsou buňky α u prasete jednotlivě uprostřed ostrůvku při větších krevních splavech a v menší míře jednotlivě při periférii ostrůvku. U koně jsou buňky α většinou uprostřed ostrůvku, kde tvoří většinu buněk v buněčných trámčích a pruzích. Buňkami ostrůvků koně se zabývá v disertaci W u c h e r p f e n n i g, práce nám však nebyla dostupná.

Naše práce má za účel prostudovat uložení buněk β a α v Langerhansových ostrůvcích dospělého skotu, telete a ovce a jejich vzájemný poměr. Obsahuje výsledky některých kapitol kandidátské disertační práce (B ö h m — 1958), zaměřené na výzkum pankreatu z hlediska jeho použití jako suroviny k výrobě inzulínu.

Pokud jde o *diabetes mellitus* u domácích zvířat je v literatuře málo údajů. Popisuje ji B r u a C h r i s t e n s e n a S c h a m b y e, nezmiňují se však o změnách v počtu jednotlivých typů buněk.

I. Ostrůvkový index u skotu

Poř. číslo	Čís. zvířete	Nationale	Ostrůvkový index		
			největší	nejmenší	průměrný se stř. úchylnou
1	41	neudáno	26,08	4,18	9,47 ± 2,238
2	42	neudáno	24,78	5,38	12,29 ± 3,902
3	43	kráva B, 6 r., 560 kg	20,18	2,00	6,65 ± 2,360
4	45	jalovice B2, 2 r., 500 kg	29,32	4,73	13,16 ± 3,313
5	46	kráva A, 5 r., 600 kg	22,30	2,06	8,71 ± 2,485
6	47	kráva A, 5 r., 605 kg	29,18	3,52	10,63 ± 2,695
7	48	kráva C, 8 r., 567 kg	28,72	2,83	9,15 ± 2,713
8	50	kráva C, 6 r., 430 kg	16,32	6,50	8,76 ± 2,140
9	51	kráva C2, 12 r., 450 kg	25,13	5,06	9,15 ± 2,417
10	53	kráva D1, 10 r., 400 kg	30,00	4,31	14,18 ± 4,202
11	54	kráva B, 8 r., 534 kg	26,83	5,26	11,73 ± 2,250
12	55	kráva C2, 12 r., 455 kg	29,71	3,01	12,38 ± 3,281
13	57	jalovice A2, 2 r., 455 kg	29,71	4,19	14,75 ± 3,437
14	60	kráva C2, 12 r., 434 kg	24,86	4,05	10,36 ± 2,050
15	61	jalovice B1, 2 r., 390 kg	28,45	5,03	15,62 ± 2,905
16	62	jalovice B2, 2 r., 360 kg	25,38	5,83	11,08 ± 3,524
17	63	kráva A, 6 r., 630 kg	29,57	4,71	10,53 ± 3,015
18	64	kráva C, 8 r., 500 kg	23,83	2,18	13,51 ± 2,435
19	65	býk A 1, 5 r., 624 kg	27,68	3,39	8,53 ± 2,275
20	67	kráva C2, 10 r., 560 kg	25,62	3,59	10,11 ± 3,507
21	68	kráva D1, 8 r., 345 kg	20,39	3,00	11,72 ± 2,882
22	70	býk B 1, 1 r., 301 kg	30,15	4,34	14,34 ± 2,432
23	71	býk B 1, 1 r., 385 kg	30,01	5,38	13,25 ± 2,711
24	72	býk A 2, 2 r., 460 kg	23,54	4,23	14,15 ± 3,348
25	73	býk B 2, 1 r., 377 kg	29,37	3,10	12,83 ± 2,911
26	74	býk B 2, 1 r., 330 kg	25,13	5,74	14,57 ± 4,050
27	75	býk B, 1 r., 330 kg	29,53	4,81	12,56 ± 3,071
28	76	býk D, 1 r., 360 kg	20,17	5,57	11,33 ± 3,151
29	77	býk 5 1, 1 r., 368 kg	26,47	6,46	12,16 ± 3,438
Průměr					11,32 ± 2,935

Materiál a metodika

K výzkumu bylo použito 29 žláz dospělého skotu, 20 žláz telat a 22 žláz ovcí, kromě dalších žláz, použitých k vyzkoušení metodiky, především barvení. Vzorky byly odebírány z hlavy pankreatu, z každé žlázy několik vzorků velikosti hrachu. Vzorky byly fixovány v 10 % formolu, v tekutině podle Bodiana (90 dílů 80 % etylalkoholu, 5 dílů kyseliny octové a 5 dílů 40 % formolu). Dále bylo použito tekutiny „susa“. Po fixaci byly vzorky proprány a zalévány přes benzen do parafínu. Z bločků byly pořízeny sériové řezy o síle 4 až 6 μ . Řezy byly barveny chromovým haematoxylinem a floxinem podle Gomoriho. Touto barvicí metodou se prokazují buňky α jako ohnivé červeně zbarvené elementy, nápadně se lišící od buněk β ostrůvků, které zůstávají nejčastěji nevýrazně bledě růžové. Zbarvení buněk α bylo nejvýraznější u pankreatu skotu, méně u telete a nejméně u ovce. Zejména u preparátů z ovčího pankreatu kolísala barva plazmy buněk α od cihlově červené k oranžově červené.

Buňky α a β byly počítány vždy asi na 10 řezech ostrůvkem. Na jednom řezu bylo počítáno 10 ostrůvků. Z každého vzorku bylo pořízeno pět sklíček sériových řezů. Buňky byly počítány při zvětšení asi 600krát. Počítaly se pouze ty buňky, které měly v dotyčném řezu zachyceno jádro. Zjištěný poměr buněk β : α na jednom ostrůvku je označován jako ostrůvkový index. Průměr ostrůvkových indexů z 10 ostrůvků je označován jako průměrný ostrůvkový index. Kromě toho je podíl obou typů buněk vyjádřen v procentech. Tak na příklad: Má-li ostrůvek 100 buněk β a 20 buněk α , je poměr $100 : 20 = 5$. Ostrůvkový index je tedy 5. V takovém ostrůvku je asi 83 % buněk α a 17 % buněk β . U hodnot průměrných ostrůvkových indexů byl vypočten aritmetický průměr a střední úchylnka. Střední

II. Ostrůvkový index u telete

Poř. číslo	Číslo zví- řete		Ostrůvkový index		
			největší	nejmenší	průměrný se střední úchylnkou
1	30	Telata ve stáří do 1 měsíce, v živé váze kolem 60 kg, pohlaví neurčeno	12,37	4,21	8,05 ± 1,645
2	31		18,32	3,18	6,87 ± 1,373
3	32		8,14	1,56	5,27 ± 1,284
4	33		16,84	4,27	4,52 ± 0,696
5	34		12,64	3,03	8,80 ± 2,184
6	35		19,08	1,35	6,01 ± 1,802
7	36		10,21	3,51	5,44 ± 1,910
8	37		12,05	2,58	6,15 ± 1,995
9	38		15,08	4,14	5,95 ± 1,566
10	39		16,71	5,05	6,80 ± 1,560
11	40		12,50	2,15	7,65 ± 1,377
12	41		11,75	3,06	4,89 ± 1,205
13	42		23,15	4,32	6,74 ± 1,020
14	43		18,00	3,00	5,15 ± 1,445
15	44		12,32	4,32	5,61 ± 1,166
16	45		12,13	1,47	6,36 ± 2,085
17	46		21,23	1,82	5,62 ± 1,420
18	47		16,50	3,32	8,01 ± 1,350
19	50		8,91	3,28	5,59 ± 0,901
20	51		14,09	2,85	8,19 ± 1,954
Průměr					6,43 ± 1,496

III. Ostrůvkový index u ovce

Poř. číslo	Číslo zvířete	Nationale	Ostrůvkový index		
			největší	nejmenší	průměrný se střední úchylnkou
1	10	Všechna zvířata samičího pohlaví, stáří 2—3 roky, váha 50—60 kg	15,08	3,32	5,58 ± 1,160
2	11		15,87	2,73	5,32 ± 1,975
3	12		20,08	1,93	3,75 ± 1,110
4	13		14,38	3,01	4,42 ± 1,882
5	14		12,99	2,83	4,99 ± 1,622
6	15		22,11	3,03	9,03 ± 3,015
7	16		15,80	1,52	5,42 ± 1,955
8	17		19,30	0,81	4,62 ± 2,280
9	18		23,18	2,81	8,47 ± 2,036
10	19		15,80	2,15	7,32 ± 2,072
11	20		20,15	1,80	6,49 ± 2,320
12	21		12,31	1,51	4,06 ± 1,064
13	22		10,30	3,15	5,15 ± 1,050
14	23		18,35	1,80	5,93 ± 1,398
15	24		12,36	3,50	6,32 ± 2,382
16	25		11,50	2,80	6,11 ± 2,206
17	26		7,27	0,78	4,06 ± 1,138
18	27		11,21	2,87	5,69 ± 1,232
19	28		9,35	0,95	4,25 ± 1,090
20	30		9,10	3,50	5,74 ± 1,592
21	31		8,05	4,16	5,47 ± 0,857
22	35		22,11	3,18	5,32 ± 1,620
Průměr					5,63 ± 1,684

úchylka byla vypočtena jako aritmetický průměr všech odchylek od aritmetického průměru všech ostrůvkových indexů. Hodnoty zjištěné propočítáním počtu buněk v ostrůvcích jsou uvedeny v tabulkách I až III a graficky na obrázcích 1, 3 a 5. Mikrofotografie na obrázcích 2, 4 a 6 pořídil odborný asistent ústavu promovány veterinární lékař Jaroslav Holman.

Vlastní práce

1. Buňky α a β a jejich vzájemný poměr v Langerhansových ostrůvcích dospělého skotu

U skotu jsou buňky Langerhansových ostrůvků uspořádány do trámců a pruhů, uložených těsně při sobě, krevní splavy mezi nimi jsou úzké až šterbinovitě. Buňky uprostřed v ostrůvku jsou polyedrické, při okraji jsou často buňky protáhlé až cylindrické. Tyto buňky leží při periférii ostrůvků v jedné řadě a jejich jádra jsou uložena v části buňky přivrácené dovnitř ostrůvků, takže okrajová část buňky je bez jádra.

Po barvení chromovým haematoxylinem a floxinem podle Gomoriho se buňky α barví jasně červeně. Jsou uloženy nejvíce při okraji ostrůvku jednotlivě nebo několik buněk tvoří zřetelnou řadu, jednotlivé buňky α leží uvnitř ostrůvku při krevních splavech. Někdy jsou buňky α nahloučeny v jedné části ostrůvku, zatímco v jiné části téhož ostrůvku nejsou vůbec nebo zcela řídce jednotlivě. Je

proto nutno sledovat buňky α na sériových řezech ostrůvkem. Na některých řezech se jich vyskytuje značné množství, takže mohou být i v převaze nad buňkami β , na jiných řezech jsou pak zcela ojediněle. Výskyt buněk α v ostrůvku skotu je znázorněn na obrázku 2.

Ostrůvkové indexy zjištěné na ostrůvcích skotu jsou značně rozdílné. Nejmenší index (2,00) byl zjištěn u zvířete 3, největší index (30,15) u zvířete 22. Největší množství ostrůvkových indexů se vyskytuje v rozmezí od 9 do 10, ve větším množství kolísají od 4 do 16. Vrcholy sloupců, označujících počet ostrůvkových indexů v každé třídě (na obr. 1), tvoří téměř typickou Gaussovu křivku.

Průměrné ostrůvkové indexy kolísají od $6,65 \pm 2,360$ po $15,62 \pm 2,905$. Prvně uvedený ostrůvkový index byl vypočten u zvířete 3, nejvyšší hodnota průměrného ostrůvkového indexu byla zjištěna u zvířete 15. Hodnoty středních úchylek ukazují, že rozmezí většiny průměrných ostrůvkových indexů není velké. Průměr hodnot všech průměrných ostrůvkových indexů činí podle našich zjištění $11,32 \pm 1,842$.

Počet buněk β v Langerhansových ostrůvcích skotu je tedy asi jedenáctkrát větší než počet buněk α . To říká, že buňky α tvoří asi 9 % z celkového počtu buněk na řezu ostrůvkem.

Zjištěné hodnoty ostrůvkových indexů a průměrných ostrůvkových indexů jsou patrný z tabulky I a z grafu 1.

2. Buňky α a β a jejich vzájemný poměr v Langerhansových ostrůvcích telete

Langerhansovy ostrůvky telete připomínají skladbou popsané ostrůvky dospělého skotu. Buňky ostrůvků jsou uspořádány do pruhů a trámců, tvořících prostorovou síť. V okách sítě jsou krevní splavy, ty jsou však velmi úzké, šterbinovité, takže ostrůvkové buňky jsou nahloučeny většinou těsně při sobě. Chromovým haematoxylinem a floxinem se barví červené buňky α při okraji ostrůvků, kde tvoří často souvislý pruh, složený z jedné nebo více vrstev buněk, další buňky α jsou jednotlivé nebo v malých skupinách v trámcích ostrůvkových buněk uvnitř ostrůvků. Výskyt buněk α v ostrůvku telete je patrný na obr. 4.

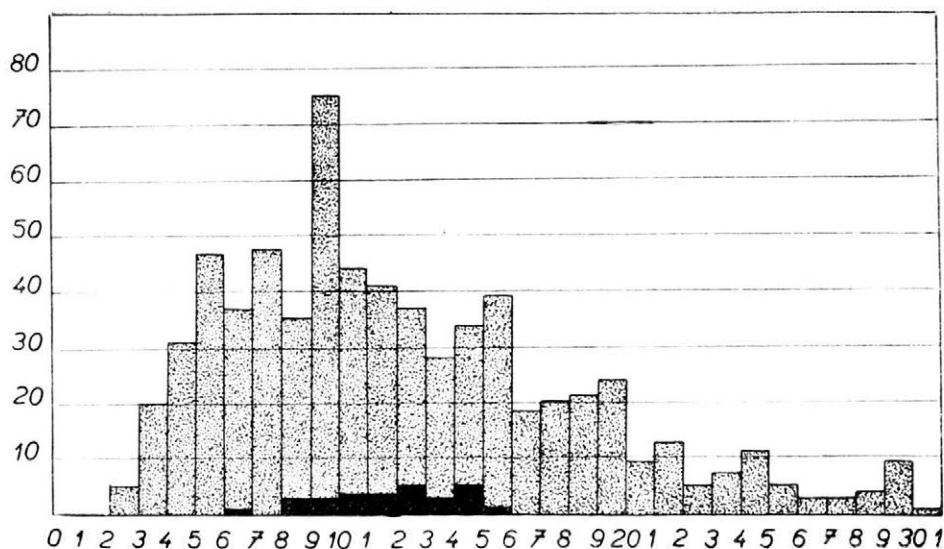
Ostrůvkové indexy zjištěné u všech zkoumaných vzorků pankreatu telat kolísají od 1,35 (u telete 35) až po 23,15 (u telete 42). Graf 3 ukazuje, že největší počet ostrůvkových indexů kolísá mezi 2 až 12, nejvíce ostrůvkových indexů bylo zjištěno v hodnotách 5 a 6. Až do hodnoty 23 se vyskytují ostrůvkové indexy jednotlivě.

Průměrné ostrůvkové indexy kolísají od $4,52 \pm 0,696$ (u telete 33) do $8,80 \pm 2,184$ (u telete 34). Hodnoty středních úchylek se pohybují kolem 1,5, což ukazuje na poměrnou vyrovnanost hodnot průměrných ostrůvkových indexů. Průměr zjištěných průměrných ostrůvkových indexů činí $6,43 \pm 1,496$. Znamená to tedy, že v Langerhansových ostrůvcích telete je buněk β asi 6,4krát více než buněk α . To odpovídá asi tomu, že buňky α v Langerhansových ostrůvcích telete představují asi 15,5 % z celkového počtu buněk v ostrůvcích.

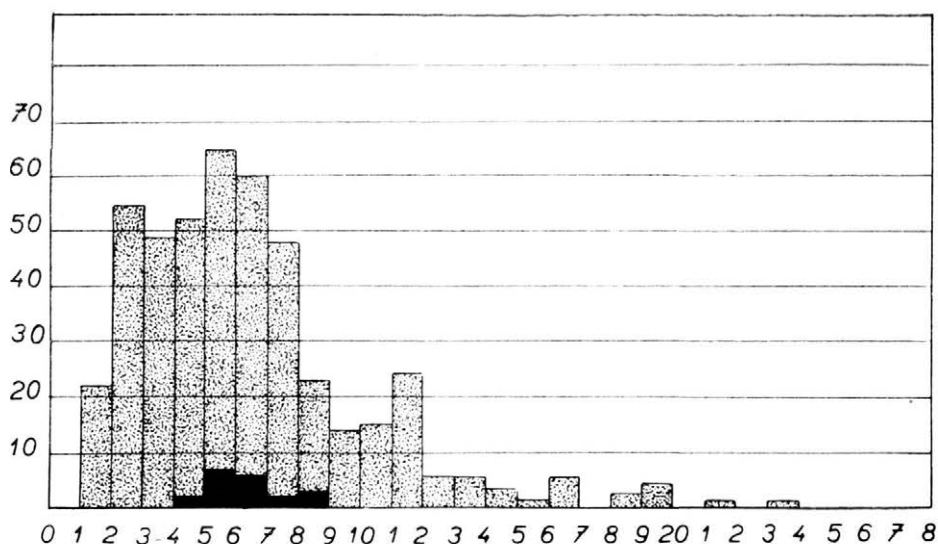
Zjištěné hodnoty ostrůvkových indexů a průměrných ostrůvkových indexů jsou patrný z tabulky II a z grafu 4.

3. Buňky α a β a jejich vzájemný poměr v Langerhansových ostrůvcích ovce

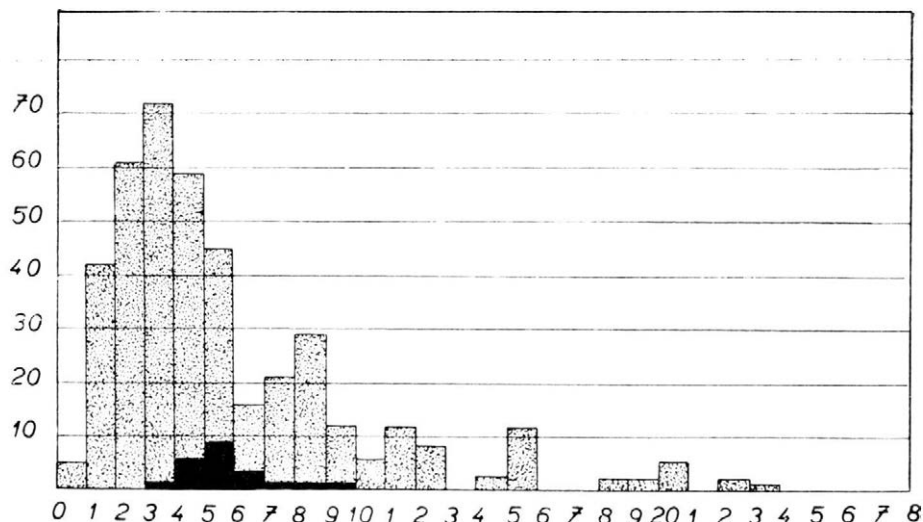
Trámce a pruhly epithelových buněk Langerhansových ostrůvků ovce jsou hustě nahloučeny podobně jako u dospělého skotu a telete. Krevní splavy před-



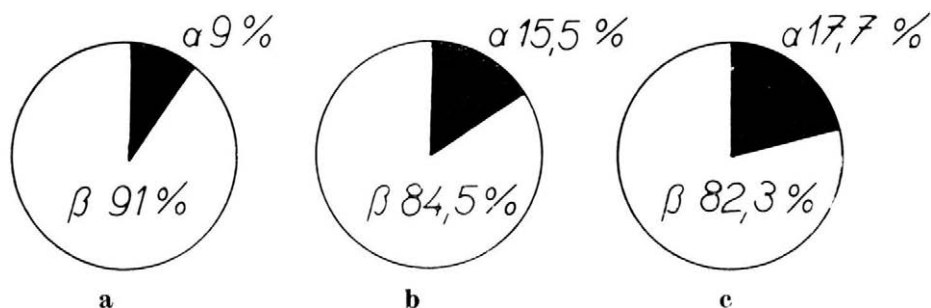
Obr. 1. Častost výskytu ostružkových indexů a průměrných ostružkových indexů různých hodnot u všech zkoumaných ostružek skotu. Hodnoty indexů na horizontále jsou rozříděny do tříd po 1. Na vertikále počet zjištěných ostružkových indexů. Ostružkové indexy vyznačeny tečkovaně, průměrné ostružkové indexy černě



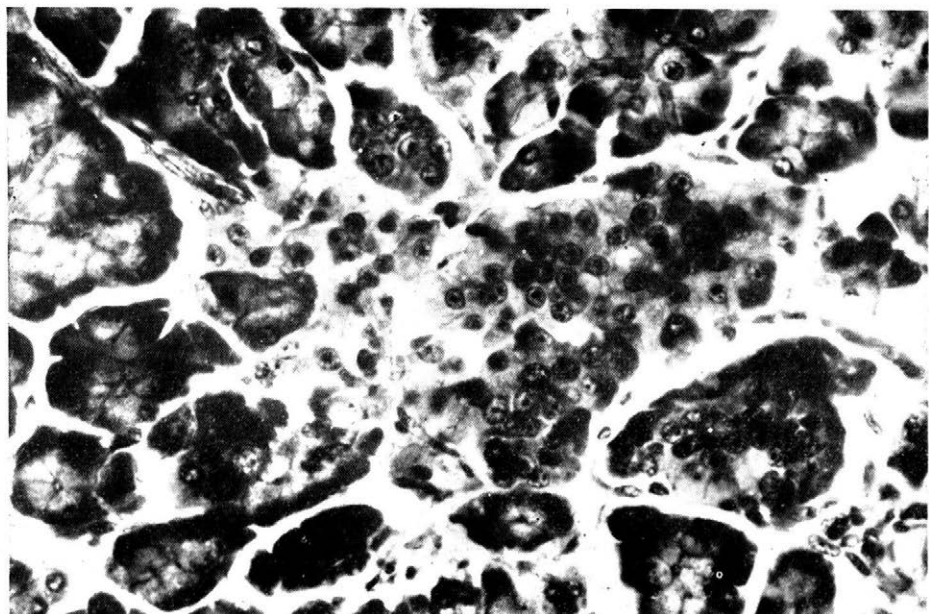
Obr. 3. Častost výskytu ostružkových indexů a průměrných ostružkových indexů různých hodnot u všech zkoumaných ostružek telat. Hodnoty indexů na horizontále rozdělány do tříd po 1. Na vertikále počet zjištěných indexů. Ostružkové indexy vyznačeny tečkovaně, průměrné ostružkové indexy černě



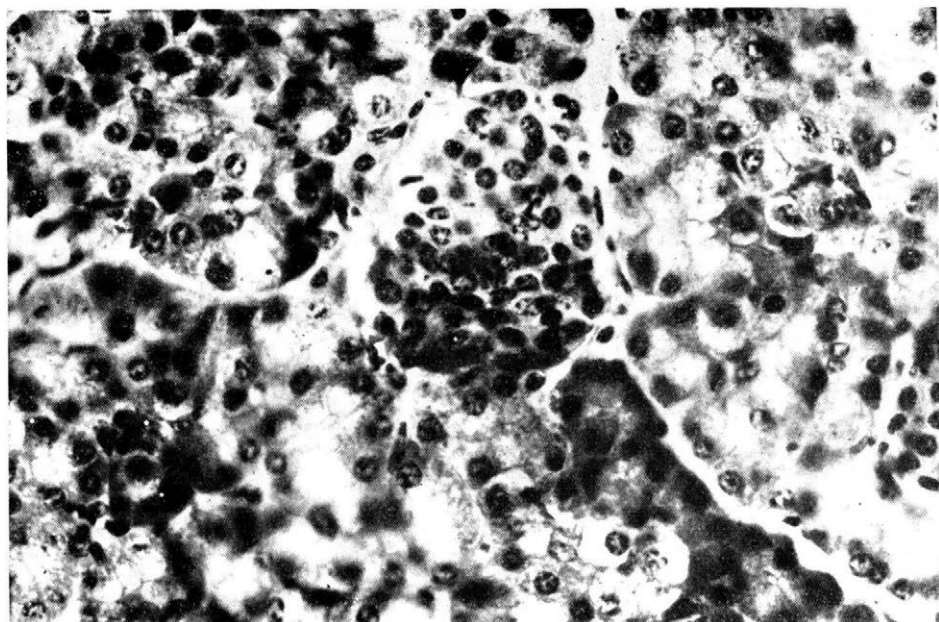
Obr. 5. Častost výskytu ostrůvkových indexů a průměrných ostrůvkových indexů u všech zkoumaných ostrůvků ovci. Hodnoty ostrůvků na horizontále rozděleny do tříd po 1. Na vertikále počet zjištěných indexů. Ostrůvkové indexy označeny tečkovaně, průměrné ostrůvkové indexy černě



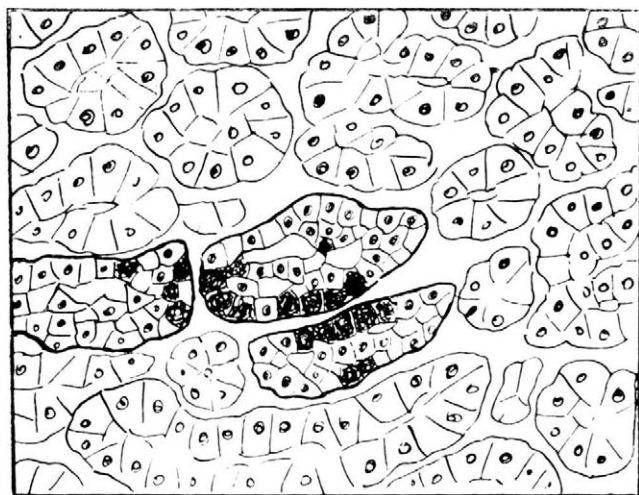
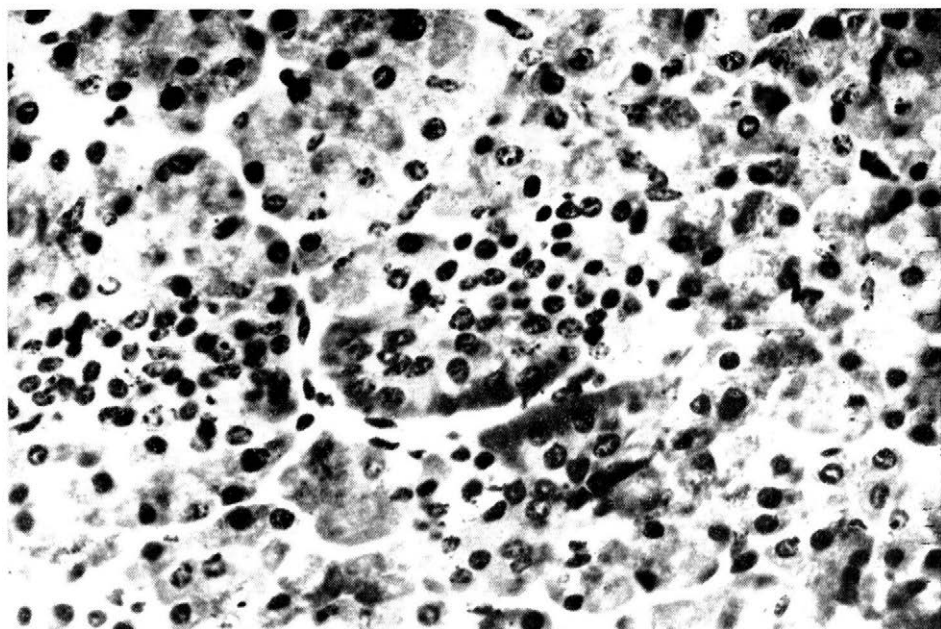
Obr. 7. Schéma vzájemného poměru buněk α a β v ostrůvkách pankreatu skotu (a), telete (b) a ovce (c). Výskyt buněk α černě, buněk β bíle. Procentový poměr obou typů buněk je vyznačen v obraze



Obr. 2. Langerhansův ostrůvek pankreatu skotu (mikrofotografie a schéma). Buňky α tmavě, buňky β světlé. Typické umístění buněk α při periférii ostrůvku. Chromový haematoxylin-floxin. Zvětšení 530 $\times$. Foto J. Holman



Obr. 4. Langerhansův ostrůvek pankreatu tele. Buňky α (tmavé) uloženy při jednom pólu řezu ostrůvkem. Na tomto řezu je zachyceno značně velké množství buněk α . Chrom. haemat.-floxin. Zvětšení asi 600 $\times$. Foto J. Holman



Obr. 6. Langerhansův ostrůvek pankreatu ovce. Tmavé buňky α leží ve všech třech částech ostrůvku při periferii. Naprostá převaha světlých buněk β . Chromový haematoxylin-floxin. Zvětšení 600X. Foto J. Holman

stavují, pouhé úzké štěrby mezi nimi. Ostrůvkové buňky v trámci mají polyedrický tvar. Chromovým haematoxylinem a floxinem se buňky α barví červeně až oranžově. Buňky α leží většinou při povrchu ostrůvků. Některé ostrůvky jsou složeny z více částí, spojených mezi sebou úzkými pruhy epithelových buněk. Buňky α se vyskytují jako souvislý nebo přerušovaný pruh na povrchu těchto částí ostrůvků a často leží v sousedících částech ostrůvků dva takové pruhy buněk α v těsné blízkosti proti sobě. Jednotlivé buňky α se zjistí v trámci ostrůvkových buněk i uvnitř ostrůvků.

Ostrůvkové indexy všech zkoumaných ostrůvků pankreatu ovce kolísají od 0,78 (u ovce 26) po 23,18 (u ovce 18). Je to tedy rozpětí značně veliké. Graf 5 ukazuje, že největší počet ostrůvků má hodnoty od 1 do 9 a že až do hodnoty 23 se vyskytují ostrůvkové indexy roztroušeně.

Průměrné ostrůvkové indexy kolísají od $3,75 \pm 1,110$ (u ovce 3) do $9,03 \pm 3,015$ (u ovce 6). Průměr všech zjištěných průměrných ostrůvkových indexů činí $5,63 \pm 1,684$. Hodnoty průměrných ostrůvkových indexů jsou poměrně vyrovnané, o čemž svědčí i hodnota střední úchylky.

V Langerhansových ostrůvcích pankreatu ovce je tedy asi 5,6krát více buněk β než buněk α . Znamená to, že celkový počet buněk v Langerhansových ostrůvcích činí asi 17,7 % z celkového počtu buněk ostrůvků.

Hodnoty ostrůvkových indexů a průměrných ostrůvkových indexů ovce jsou uvedeny v tabulce III a v grafu 5.

Diskuse

V dřívější práci o poměru buněk β a α v Langerhansových ostrůvcích domácích zvířat (Böhm, 1957) se nepodařilo prokázat buňky α v ostrůvcích zkoumaných přežvýkavců pomocí metody azan, ani metodou Malloryho. Použitím metody chromový haematoxylin—floxin podle Gomoriho se buňky α v ostrůvcích přežvýkavců barví jasně červeně, i když je zřejmý rozdíl v tinci těchto buněk u dospělého skotu, telete a ovce. Toto zjištění souhlasí s názory jiných autorů o tom, že osvědčuje-li se některá metoda k průkazu buněk α u jednoho druhu zvířete, selhává u druhu jiného. Uvedenou Gomoriho metodu lze doporučit k průkazu buněk α v Langerhansových ostrůvcích zkoumaných přežvýkavců. Při popisu výsledků a metodiky se nezmiňujeme o rozdílech, které působí rozdílné druhy použitého haematoxylinu. Pracovali jsme se třemi druhy haematoxylinu, které byly k dispozici v laboratoři ústavu, z nichž pouze jeden dával dobré barvicí výsledky. Považujeme za účelné se aspoň na tomto místě o této okolnosti zmínit. Počet tři použitých haematoxylinů nedává předpoklady k jakýmkoli závěrům.

Číselné výsledky zjištění u dospělého skotu, telete a ovce jsou uvedeny v příslušných tabulkách. Ze srovnání výsledků u dospělého skotu a telete je zřejmé, že tele má v ostrůvcích poměrně více buněk α než dospělý skot. V jedné ze svých prací uvádí F e r n e r, že buňky α jsou nezralé buňky, netvořící ještě inzulin. U novorozenců je v ostrůvcích mnoho buněk α a aby byla zajištěna dostatečná produkce inzulinu, mají mladí jedinci větší počet ostrůvků v pankreatu než dospělí. Kvantitativní studie počtu ostrůvků u telete a ostatních jatečných zvířat (Böhm, 1958), ukazuje, že tomu tak vskutku je, že tele má proti ostatním zkoumaným druhům zvířat daleko větší poměrný počet ostrůvků ve hmotě žlázy.

Podle našich zjištění je ostrůvkový index dospělého skotu $11,32 \pm 1,842$, což znamená, že v ostrůvcích skotu je asi 11,3krát více buněk β než buněk α . Je tedy poměr buněk α k buňkám β v Langerhansových ostrůvcích dospělého skotu 9 % : 91 %. Graficky je tento poměr znázorněn na obr. 7.

Ostrůvkový index telete činí $6,43 \pm 1,496$, je tedy počet buněk β v ostrůvcích telete asi 6,4krát větší než počet buněk α . Vzájemný poměr lze vyjádřit v procentech jako $\alpha : \beta = 15,5 \% : 84,5 \%$.

U ovce je ostrůvkový index $5,63 \pm 1,684$, což znamená, že počet buněk β je asi 5,6krát větší než počet buněk α . Buňky α tvoří v Langerhansových ostrůvcích ovce asi 17,7 % všech buněk, vzájemný poměr buněk α k buňkám β lze vyjádřit jako 17,7 % : 82,3 %.

U skotu se zdá být nápadným ještě jeden výsledek, že totiž ostrůvkový index samčích zvířat je něco vyšší než u zvířat samičího pohlaví. Průměrný ostrůvkový index u samic (18 krav jalovic) je 11,23, u samců (9 býků) 12,63. Charvát zjistil u morčat rovněž vyšší ostrůvkový index u samců, rozdíl je však nápadnější. Z našich výsledků nechceme činit závěr proto, že rozdíl je poměrně málo výrazný a že počet zvířat (zejména samců) je malý a snad se uplatňuje i věk, který je u použitých býků značně nižší než u našich krav a jalovic.

Pokud jde o telata a ovce, není uvedeno nacionálně jednotlivých zvířat. Tato práce měla zjišťovat poměry u jatečných zvířat tak, jak přicházejí na porážku. Rozdíly u ovcí různého stáří by bylo nutno zjišťovat v práci zvlášť k tomuto účelu zaměřené.

Souhrn

U 29 kusů dospělého skotu, 20 telat a 22 ovcí byl zjišťován vzájemný poměr buněk β a α v Langerhansových ostrůvcích pankreatu. Vzájemný poměr buněk je vyjádřen jako ostrůvkový (funkční) index. Buňky α byly znázorněny barvením metodou chromový haematoxylin—floxin podle Gomoriho.

Ostrůvkový index dospělého skotu činí $11,32 \pm 1,842$. Buněk β je v ostrůvcích asi 11,3krát více než buněk α , což odpovídá tomu, že buňky α představují asi 9 % z celkového počtu buněk ostrůvků na řezu.

Ostrůvkový index telete je $6,43 \pm 1,496$. Počet buněk β v ostrůvcích telete je asi 6,4krát větší než počet buněk α . Buňky α tvoří tedy asi 15,5 % z celkového počtu buněk v ostrůvcích telete.

Ostrůvkový index ovce činí $5,63 \pm 1,684$. V ostrůvcích ovce je buněk β asi 5,6krát více než buněk α . Z celkového počtu buněk ostrůvků představují tedy buňky α asi 17,7 %.

U zkoumaných druhů přezvýkavců jsou buňky α uloženy často v jedné vrstvě při okraji ostrůvku a jednotlivě leží i uvnitř ostrůvků.

Literatura

Böhm R.: Poměr buněk β a α v Langerhansových ostrůvcích koně a prasete. Sborník ČSAZV, Veterinární medicína, 2 (30), 249-260, 1957. — Böhm R.: Mikroskopie pankreatu jako jatečné suroviny. Kand. dis. práce, Brno, 1958. — Bru P.: Pankreasdiabetes bei Tieren. Journ. de méd. vét., 1926. Ref. Wiener Tierärztl. Monatsschrift, 14, 462, 1927. — Creutzfeld W.: Zur Histophysiologie des Inselapparates. Z. f. Zellforschung, 34, 28, 1949. — Ferner H.: Die A- und B-Zellen in den Inseln als Entstehungsorte der antagonistischen Wirkstoffe Glukagon und Insulin. Mikro-

skopie (Wien), 6, 1-8, 1951. — Gomori G.: Studies on the cells of the pancreatic islets. *Anat. Record*, 74, 439, 1939. — Gomori G.: The histology of the normal and diseased pancreas. *Bull. of the N. Y. Acad. of Med.*, 21, 99-109, 1945. — Gomori G.: A differential stain for cell types in the pancreatic islets. *Am. Journ. of Path.*, 19, 497-499, 1939. — Grobety J.: Contribution histologique a l'étude du diabète expérimental. I. Le diabète par l'alloxane. *Bull. d'histol. appliquée et de technique micr.*, 25, 8-13, 1948. — Hess W.: Zur histologischen Diabetes-diagnose an den Langerhansschen Inseln. *Schw. Z. f. Path. u. Bakt.*, 9, 46-60, 1946. — Charvát Z.: Insulární index morčete. *Čs. morfologie*, 5, 266-274, 1957. — Christensen N. O. Schambye P.: Om diabetes mellitus hog kvaeg. *Nordisk Veterinär-medicin*, 2, 861-900, 1950. — Kodousek R., Endrys J.: Příspěvek k histologické diagnostice diabetes mellitus. *Časopis lékařů českých*, 91, 10-15, 1952. — Terbrüggen A.: Die Bedeutung der Zelltypen des menschlichen Inselapparates für Inselfunktion und Diabetes mellitus. *Klinische Wochenschrift*, 24-25, 310-311, 1946. — Titlbach M., Zástava V.: Příspěvek k otázce Hessesova funkčního indexu. *Čs. morfologie*, 5, 314-331, 1957. — Wolter J. R.: Die Langerhansschen Inseln des Pferdes mit besonderer Berücksichtigung der Zelltypen. *Z. f. Zellforschung*, 35, 225, 1950. — Wucherpfennig H.: Zur Histologie des Inselorganes beim Pferd. *Diss. Goettingen. Cit. Ant. Anzeiger*, 103, 78, 1956.

Островковый индекс у крупного рогатого скота и у овец

У 29 голов крупного рогатого скота, 20 телят и 22 овец было установлено взаимное отношение между клетками α и β в Лангергансовых островках. Взаимное отношение клеток выражено как островковый (функциональный) индекс. Клетки α были изображены окрашиванием — методом хромовый гематоксилин — флоксин по Гомори.

Островковый индекс у взрослого крупного рогатого скота составляет $11,32 \pm 1,842$. Клеток β в островках у крупного рогатого скота приблизительно на 11,32 раза больше, чем клеток α , что соответствует тому, что клетки α представляют около 9 % общего количество клеток островков на разрезе.

Островковый индекс у телят составляет $6,43 \pm 1,496$. Количество клеток β в островках у телят приблизительно в 6,43 раза больше, чем количество клеток α ; следовательно, клетки α составляют около 15,5 % общего количества клеток в островках у телят.

Островковый индекс у овец составляет $5,63 \pm 1,684$. В островках у овец клеток β приблизительно в 5,63 раза больше, чем клеток α . Следовательно, из общего количества клеток клетки α представляют приблизительно 17,7 %.

У обследованных видов жвачных животных клетки α расположены часто в одном слое на краю части островка, а отдельные клетки лежат внутри островка.

Der Inselindex bei Rind und Schaf

Bei 29 erwachsenen Rindern, 20 Kälbern und 22 Schafen wurde das Verhältnis der β - und α -Zellen der Langerhansschen Inseln studiert. Dieses Verhältnis wird als Inselindex (Funktionsindex) angegeben. Die α -Zellen wurden durch Chrom-Haematoxylin-Phloxin-Färbung nach Gomori dargestellt.

Der Inselindex des Rindes beträgt $11,32 \pm 1,842$. Die β -Zellen kommen in den Langerhansschen Inseln des Rindes etwa 11,32mal häufiger vor als die α -Zellen. Die α -Zellen bilden also 9 % der Gesamtanzahl der Inselzellen im histologischen Schnitte. Der Inselindex des Kalbes wurde als $6,43 \pm 1,496$ bestimmt. Die β -Zellen des Kalbes sind den α -Zellen etwa 6,4 mal überlegen. Die α -Zellen stellen etwa 15,5 % der Gesamtanzahl der Inselzellen.

Der Inselindex des Schafes beträgt $5,63 \pm 1,684$. Die β -Zellen kommen etwa 5,6mal häufiger vor als die α -Zellen. Die α -Zellen beim Schaf bilden ungefähr 17,7 % der Gesamtanzahl der Inselzellen.

Die α -Zellen der untersuchten Wiederkäuer sind oft in einer Schicht am Rande der Inseln und einzeln in der Mitte der Inseln gelegen.

Srovnání spermatogeneze kachny pekingské s vývojem samčího zárodečného epithelu kříženců kachny pekingské s kachnou pižmovou

Сравнение сперматогенеза пекинской утки с развитием зародышного эпителия самца помеси пекинской утки с мускусной уткой

Vergleich der Spermatogenese der Pekingente mit der Entwicklung des männlichen Germinativepithels bei Kreuzungen der Pekingente mit der Moschusente

Jaroslav HOLMAN, prom. vet. lékař

Histologicko-embryologický ústav veterinární fakulty v Brně, přednosta doc. dr.
Evžen Novotný

Věnováno k šedesátým narozeninám prof. RNDr. et MVDr.
Vlastimila Vrtiše

Došlo dne 3. II. 1960

Úvod a účel práce

Za účelem zvýšení výroby kachního masa a peří, jakož i pro dosažení některých lepších chovatelských vlastností kříženců, křížil u nás K a l i n a všeobecně chovanou kachnu pekingskou s kachnou pižmovou. Dosáhl pozoruhodných výsledků, kříženci po kachně pekingské a kačeru pižmovém jsou v jatečné zralosti o 16 % až 35 % těžší než čistokrevná kachňata pekingská, rovněž peří těchto kříženců se vyrovná peří husímu, ba předčí je i kvalitou prachu. Kříženci však jsou neplodní, neboť jde o křížení mezirodové. Kachna pekingská přísluší zoologicky k rodu *Anas*, kdežto kachna pižmová nebo také pižmovka velká (*Cairina moschata* L.) k rodu *Cairina*, obě k podčeledi *Anatinae*, čeledi *Anatidae* a řádu *Anseriformes*.

Úkolem práce je popsat rozdílnou mikroskopicko-anatomickou strukturu samčího zárodečného epithelu kříženců ve srovnání se spermatogenezí čistokrevných kačerů pekingských tak, aby výsledek prospěl dalším výzkumům v chovatelské praxi. Dále práce upozorňuje na některé makroskopické rozdíly, související bezprostředně s rozdílnou funkcí pohlavních žláz, jak se jeví při exenteraci u vyšetřovaných druhů zvířat.

Rozbor literatury

Literární prameny, které popisují výsledky různých křížení domácích ptáků, křížení jak mezi druhy a plemeny v rámci jednoho rodu, tak mezi druhy a plemeny různých rodů, omezují se na konstatování, že kříženci jsou málo plodní nebo vůbec neplodní — Kalina (1958), Pavlovič (1956), Gerencsér (1956), Bose, Tandon a Iyer (1957).

Z morfologických prací se nejobšírněji zabývá spermatogenezí u ptáků Stieve (1920), který sledoval makroskopické i mikroskopické změny varlat houserů v době páření a srovnával je s „klidovým stavem“. Zjišťuje, že v době páření, tj. od konce února do konce dubna, jsou varlata u houserů 25 až 50krát zvětšena, jejich obsah se pohybuje mezi 5000 až 12.000 mm³. Varlata nedospělých houserů se skládají z množství vmezeřeného vaziva, které obklopuje kanálky, vystlané jednou vrstvou spermatogonií. Až do počátku říje se vmezeřené buňky dělí přímo, buňky zárodečné nepřímě. Ve stádiu před říjí dochází k mohutnému množení spermatogonií, vznikají spermatocyty, což má za následek rozšíření a prodloužení kanálků varlete. Rovněž vmezeřené vazivo se zmnožuje. Říje je charakterizována mikroskopicky tím, že se vytvářejí zralé pohlavní buňky-spermie. Kanálky obsahují velké množství pohlavních buněk. Po skončení říje se kanálky varlat stále více zmenšují a až na jednu vrstvu spermatogonií se ostatní vrstvy buněk zárodečného epitelu, ať již ve zralém nebo nezralém stavu odlučují do lumina kanálku. Tím se zárodečný epitel snižá opět na jednu vrstvu spermatogonií, jak tomu bylo před říjí. Rovněž část vmezeřeného vaziva zanikne a část tohoto vaziva se zvětší v důsledku uložení tuku v jeho buňkách. Dochází k ukládání tuku i v buňkách, které se oddělují od zárodečného epitelu. Odloučené buňky, obsahující množství tuku, se z největší části vstřebávají v nadvarleti. Totéž pozoroval Leupold (1921) rovněž u varlat krta. Dokazuje to ta okolnost, že buňky, které obsahuje vývod nadvarlat, mají málo tuku nebo vůbec žádný. Tukové kapky jsou pouze v buňkách, obsažených v luminu kanálku, které se oddělily od zárodečného epitelu. Nikdy nejsou tyto tukové kapky ve spermatogoniích, tvořících jednu řadu na okraji kanálku.

Stieve (1926) našel u dobře krmených houserů v době pohlavního klidu a v době před říjí poruchy ve spermatogenezi. V luminu kanálků jsou mnohoaderné buňky, které se tvoří ze spermatocytů a spermatogonií, s pyknotickými jádry. Takové změny nikdy nenašel u správně krmených houserů v době před říjí a v době říje, ale stejný obraz najdeme na konci říje a po době páření, kdy dochází k přestavbě zárodečného epitelu do tzv. klidového stadia.

Brunn (1884) popisuje spermatogenezi u kohouta, kačera a vrabce. Zjišťuje, že spermatogeneze těchto ptáků se v mnohém podobá spermatogenezi savců. Všímá si podrobně spermatohistogeneze, tj. přeměny kulaté buňky spermatidy ve spermii.

V. la Valette St. George (1867), pokud si všímá spermatogeneze u ptáků, potvrzuje pouze nálezy, které uvádějí Schweigger — Seidel (1885) a Brunn (1884), zvláště v rozdílném utváření přední a zadní poloviny hlavičky spermie u kohouta.

Výsledky křížení a vliv křížení na spermatogenezi popisuje Poll (1910), a to uvnitř čeledí: bažantovití, kachnovití, pěnkavovití a holubovití. Křížence rozděljuje na skupinu, u níž spermatogeneze probíhá (tokonotie), a na skupinu s poruchou spermatogeneze (steironotie). Poruchy ve spermatogenezi u kříženců rozděljuje do tří skupin: 1. U první skupiny jsou v kanálech mitózy spermatogonií a sper-

matocytů I. řádu, mitózy spermatocytů II. řádu chybějí. Dimitotické dělení. 2. U druhé skupiny jsou v epitelu kanálků pouze mitózy spermatogonií. Monomitotické dělení. 3. Třetí skupina je charakterizována úplným vymizením dělení jader buněk zárodečného epitelu. Amitotické dělení. Křížence, vzniklé křížením druhů mezi podčeleděmi *Anatinae*, *Plectropterinae* a *Fuligulinae* v rámci čeledě *Anatidae*, zařazuje podle poruch spermatogeneze do první skupiny s dimitotickým dělením. Vytvořené buňky mitotickým dělením spermatocytů I. řádu podléhají ve velkých masách degeneraci. Jádra se množí a podléhají pyknóze.

Celá řada hlavně experimentálních prací se zabývá vlivem různých faktorů na vývoj samčího zárodečného epitelu.

Falín a Jussín (1930) popisují podrobně mnohojaderné buňky, které také nazývají „teratocyty“. Tyto buňky jsou kulaté, se stran poněkud opolštělé, jejich velikost kolísá mezi 20 až 40 μ . Mohou obsahovat 30 až 40 jader, která jsou uložena většinou ve středu buňky, ale mohou se nacházet rovněž při periférii. Protoplazma buněk je zrnitá, ale může být i homogenní. Jádra mnohojaderných buněk nejsou od případu k případu stejná. Jejich tvar závisí na tom, z jakých buněk mnohojaderná buňka vznikla, zda ze spermatogonií nebo spermatocytů či buněk Sertoliho. Někdy se vyskytují mnohojaderné buňky, jejichž jádra připomínají hlavičky spermií nebo plná jádra spermatid. Jádra těchto buněk s více jádry mohou být změněna. Tak např. nejčastěji se nacházela jádra, jejichž chromatin byl uložen při periférii jádra, zatímco střed jádra byl prázdný. Autorům se nepodařilo najít mnohojadernou buňku, jejíž jádra by pocházela z různých typů buněk zárodečného epitelu. Vznik mnohojaderných buněk vyvolali autoři u krys experimentálně, a to ozařováním varlat modrým a bílým světlem, ochlazením varlat éterem, krmením sušenou štítnou žlázou, traumatizací varlat pomohodněním nebo porušením kanálků varlat pomocí jehly, intratestikulární injekcí xylolu a permanganistanu draselného.

Stieve (1923) zjišťuje, že poruchy spermatogeneze vznikají u myši vlivem zvýšené teploty okolí na 37°C již po 24 hodinách. Vznikají mnohojaderné buňky ze spermatocytů a spermatogonií. Změny však pokračují dále a mezi 6. až 10. dnem se začínají vytvářet v buňkách zárodečného epitelu vakuoly. Mnohojaderné buňky se zvětšují na 30 až 50 μ . Jádra, kterých může být až 100, mají jemně rozptýlený chromatin. Vakuoly se spojují, takže v buňce je jedna velká vakuola, po případě buňka je silně vakuolarizována velkým množstvím malých vakuol a obsahuje, stejně jako jiné od epitelu odloučené buňky, nacházející se v lumen kanálku, veliké množství tuku. Takto porušená spermatogeneze se upraví během 30 až 60 dní po přerušení vlivu teploty na organismus.

Vztah mezi pohlavními žlázami a sekundárními pohlavními znaky u kohoutků studoval Michalowsky (1927). Injekoval do varlat určité množství 5% chloridu zinečnatého, které vyvolalo po určité dávce jistý stupeň změn zárodečného epitelu. Tyto změny srovnává s klasifikací podle Stöppelkyho a Schinze, kterou tyto vypracovali pro atrofické změny zárodečného epitelu člověka: 1. stupeň. Úplně chybí spermie, což je způsobeno tím, že se dále nevyvíjejí spermatidy. 2. stupeň. Ve výstelce chybí spermatidy, lumen kanálků je ohraničeno pouze spermatocyty. 3. stupeň. Výstelka je tvořena pouze Sertoliho buňkami a spermatogoniemi. 4. stupeň. Je charakterizován vymizením spermatogonií. 5. stupeň. Vymizí všechny buňky zárodečného epitelu, *membrana propria* mohutně zesílí a zhyalinizuje se na úkor lumina kanálku, vzniká *fibrosis testis*. U skupiny kohoutů, kde se vyvinuly změny 3. stupně, se ještě objevily zřetelné sekundární pohlavní znaky. Z toho autor dedukuje, že na vývoj sekundárních pohlavních znaků u ko-

houtů mají vliv rovněž Sertoliho buňky a spermatogonie semenoplodných kanálků.

Rovněž *B e l a w e n e t z* (1928) vyvolal experimentálně změny zárodečného epitelu semenoplodných kanálků varlat krysy krmením krysy práškem ze sušených štítných žláz. Zjistil, že tento přírůstek ke krmivu způsobuje větší změny u krysy mladých než dospělých. U nedospělých krysy vznikají v kanálkách varlat změny 4. stupně, kdežto u dospělých vznikají pouze změny 3. stupně. Autor popisuje vznik mnohojaderných buněk, které nejčastěji vznikají ze spermatid, mají pyknotická jádra a jejich plazma je granulovaná.

U nás *K u d l á č a P i v n í k* (1956) prováděli pokusy s Westinkretem a Agostilbenem u kohoutků za účelem hormonální kastrace. Pozorovali dvoj- až trojnásobné zmenšení průřezu semenoplodných kanálků na preparátech. Zárodečný epitel byl změněn tak, že v něm nebyly spermatocyty II. řádu, spermatidy, ani spermie. Tyto buňky se měnily v beztvary pěnovitý detritus.

M a r e k (1958) si ve své práci všímá mnohojaderných buněk z hlediska jejich vzniku. Zjišťuje, že jsou charakteristickým elementem patologicky změněných ejakulátů. Velikostí i tvarem jader shodují se s jádry jednojaderných buněk téhož ejakulátu. Předpokládá proto, že vznikly mnohotným dělením jádra spermatocytů bez odpovídajícího dělení cytoplazmy. Autor nenalezl nic, co by nasvědčovalo tomu, že tyto mnohojaderné buňky vznikly splynutím buněk jednojaderných (spermatid, spermií). Tuto okolnost vylučuje nálezem pravidelného kulatého tvaru cytoplazmy mnohojaderných buněk, tím že nenalezl žádná přechodná stadia a také tím, že jádra v jednom útvaru jsou úplně stejná.

Vznik mnohojaderných buněk vysvětluje dále *S t i e v e* (1925). Opravuje rovněž na experimentálním materiálu názor mnohých autorů (*S p a n g a r o*, *W e g e l i n*, *von L a n z*, *L e h n e r* aj.), kteří tento zjev považují za fagocytózu spermií a jejich vývojových stadií. Nemůže jít o fagocytózu již z toho důvodu, že žádná buňka tohoto buněčného shluku nepoškozuje druhou a všechny společně zanikají.

Z hlediska anatomického si všímají varlat kačera *K o l d a a K o m á r e k* (1958), kteří popisují jejich velikost v době páření. Uvádějí, že varlata dosahují délky až 8 cm, šířky 4,5 cm a síly 4 cm. Jsou barvy nažloutlé, v době páření barvy čistě bílé.

M e n č l (1907) popsal vysoký stupeň hyperplazie varlat u kačera. Kačer byl zabit v létě, levé varle bylo dlouhé 87 mm a široké 58 mm, pravé varle 86 mm dlouhé a 55 mm široké. Histologickým zpracováním orgánu zjistil, že jde o normální orgán, v jehož semenoplodných stočených kanálkách probíhá normální spermatogeneze.

Na tento kasuistický příspěvek odpověděl o rok později *D i s s e l h o r s t* (1908). Objasňuje zvětšení pohlavních žláz tím, že kačer byl zabit v létě v době páření, kdy toto zvětšení pohlavních žláz je u ptáků fyziologické. Uvádí příklad: u vrabce v době páření se zvětší váha varlat pětadvacetkrát, jejich objem čtyřicetkrát, délka semenoplodných stočených kanálků dvanáctkrát.

Materiál a metodika

Vzorky byly odebrány ze 6 pohlavně dospělých kačerů ve stáří mezi 6. a 7. měsícem. Odběr byl proveden koncem února, v období plné aktivity pohlavních žláz, v době, kdy kačeři jeví intenzivní chuť k páření. Vzorky pohlavních žláz byly odebrány z těchto zvířat: 1. Číslo 409, samec čistokrevný pekingský, ž. v. 2,70 kg, vzorek označen PK. 2. Bez čísla, samec čistokrevný pekingský, ž. v. 2,75 kg, vzorek označen 2PK. 3. Číslo 902, samec, kříženec kačera pízmového a

kachny pekingské, ž. v. 3,20 kg, vzorek označen KPŽ. 4. Číslo 911, samec, kříženec kačera pižmového a kachny pekingské, ž. v. 3,25 kg, vzorek označen 2KPŽ. 5. Číslo 793, samec, kříženec kačera pekingského a kachny pižmové, ž. v. 3,15 kg, vzorek označen KPK. 6. Bez čísla, samec, kříženec, kačera pekingského a kachny pižmové, ž. v. 3,20 kg, vzorek označen 2KPK.

Po vypreparování byla varlata změřena v podélné a příčné ose a byla odděleně zvážena. Vzorky byly odebrány z levého i pravého varlete a byly fixovány 10% formalínem, Bodianovou tekutinou č. 2 a fixační tekutinou „Susa“. Ze vzorků byly zhotoveny parafrínové řezy o síle 5 až 10 μ . K barvení řezů bylo použito třech barvicích metod: Haematoxylin-eosin, Weigertův železitý haematoxylin-pikro-fuchsin a železitý haematoxylin Heidenhainův. Zhotoveno a vyšetřeno bylo 2.000 histologických řezů.

Dále byly zhotoveny nátery z řezu varlete na podložní sklíčko a tyto nátery vyšetřovány fázovým kontrastem. Nátery byly rovněž fixovány 10% formalínem a barveny Sudanem III. na tuk a dobarvovány Mayerovým haematoxylinem.

Vlastní práce

A. Makroskopický náález

Není podstatných rozdílů ve váze a rozměrech varlat vyšetřovaných tří skupin zvířat. Varlata skupiny KPK (kříženci po kačeru pekingském a kachně pižmové) jsou o 7 až 10 g lehčí vzhledem k varlatům ostatních dvou skupin. Varlata skupiny PK (čistokrevní kačeři pekingští) jsou ve vztahu k živé váze těžší a větší než je tomu u skupin KPK a KPŽ (kříženci po kačeru pižmovém a kachně pekingské).

Tabulka rozměrů a vah varlat vyšetřovaných zvířat

Zvíře	Ž. v.	Varle pravé		Varle levé	
		váha	rozměry	váha	rozměry
zn.	kg	g	mm	g	mm
PK	2,70	40	65 × 30	35	70 × 25
2PK	2,75	38	60 × 30	35	65 × 30
KPŽ	3,20	37	55 × 35	37	60 × 30
2KPŽ	3,25	40	60 × 30	37	65 × 30
KPK	3,15	31,5	60 × 30	28	60 × 30
2KPK	3,20	21	50 × 20	20	50 × 20

Varlata zvířat všech tří vyšetřovaných skupin se neliší od sebe barvou, konzistencí ani tvarem (obr. 1 a 2). Barvy jsou šedě nažloutlá, pod vazivovým pouzdrém jsou patrné cévy, částečně naplněné krví. Tvar mají fazolovitý, konzistence jsou tuho-elastické.

Chámovody probíhají po stropě dutiny tělní na vnější straně močovodů a vytvářejí ve svém průběhu veliké množství jemných kliček. U skupiny PK jsou chámovody barvy nažloutlé, silně naplněné chámem a jsou z toho důvodu snadno rozlišitelné od souhlasně s nimi probíhajících močovodů. U skupiny KPŽ a skupiny KPK nejsou chámovody světle žluté barvy, neboť neobsahují chám, nýbrž

menší množství rozpadlých buněk zárodečného epitelu varlat. Chámovody mají barvu šedě bílou, rovněž kličky chámovodu nejsou tak zřetelné jako u skupiny PK (obr. 1 a 2).

B. Mikroskopický náález

Skupina PK

Varle je tvořeno souborem stočených semenoplodných kanálků. Tyto kanálky jsou kryty z vnější strany slabou vazivovou vrstvičkou, ve které jsou patrna podlouhlá jádra vazivových buněk. Na tento vazivový obal kanálků nasedá zevnitř zárodečný epitel, který je vytvářen několika vrstvami buněk, jednak buněk pohlavních, jednak podpůrných. Vrstva buněk těsně u vazivové bazální membrány je vrstvou spermatogonií. Tyto buňky jsou průměrně $7,25 \mu$ velké, přičemž jejich jádra jsou $6,48 \mu$ velká a vyplňují téměř celou buňku, takže cytoplazma buněčná je omezena pouze na úzký proužek, uložený kolem jádra. Jádra spermatogonií mají jemně rozptýlený chromatin a v jádře je velmi zřetelné jádro. Mezi těmito buňkami jsou trojúhelníkovitá nebo oválná jádra buněk podpůrných.

Další 3 až 4 vrstvy buněk směrem do lumina kanálku tvoří spermatocyty I. a II. řádu. Jsou to buňky větší než spermatogonie, jejich velikost se pohybuje od $9,88 \mu$ do $8,13 \mu$, jejich jádra, pokud není ještě membrána jaderná rozpuštěna, jsou průměrně $7,45 \mu$ velká. Jádra těchto buněk jeví četné mitózy, mitotické figury jsou zvláště patrné na preparátech, barvených Heidenhainovým železitým haematoxylinem. Nad vrstvami spermatocytů II. řádu jsou 3 až 5 vrstev nejmenších kulatých buněk zárodečného epitelu, spermatidy. Spermatidy jsou průměrně $5,02 \mu$ velké, jádra mají průměrně $3,34 \mu$ velká. Chromatin jader těchto buněk je stejnoměrně rozložen v drobné hrudky. Mezi těmito buňkami nacházíme skupiny spermatozoidů, které jsou svými nitkovitými hlavičkami zanořeny v apikálním konci podpůrných buněk a svými bičíky vyčnívají ze zárodečného epitelu do lumina kanálku (obr. 3). Skupiny jsou tvořeny až 15 spermii. V luminu některých kanálků na preparátě jsou zralé spermie, které se oddělily od zárodečného epitelu.

Podpůrné buňky jsou velmi vysoké a štíhlé buňky, na haematoxylinem-eosinem obarveném preparátě se jejich těla jeví jako slabé růžové proužky, prostupující celou výškou zárodečného epitelu (obr. 4). Jejich jádro má na preparátě tvar vřetenovitě protáhlý nebo oválný. Jádra jsou uložena při bázi podpůrných buněk a v zárodečném epitelu je nacházíme mezi jádry spermatogonií nebo mezi jádry spermatocytů I. řádu, od nichž se svým tvarem snadno rozlišují.

Na náteru z řezné plochy varletem se nacházely pod fázovým kontrastem jednak buňky tvaru kulatého — různá vývojová stadia spermií, jednak buňky tvaru vláknitého — spermie (obr. 5). Buňky náterů, které byly barveny Sudanem III., neobsahovaly žádné tukové kapénky.

Mezi stočenými semenoplodnými kanálky je ve varleti vmezežené vazivo.

Skupina KPŽ a KPK

Obě skupiny budou popsány společně z toho důvodu, že nebylo nalezeno histologického rozdílu ve stavbě zárodečného epitelu obou skupin.

Stavba povrchové vazivové vrstvičky stočených semenoplodných kanálků nejeví rozdílnou skladbu proti stočeným semenoplodným kanálkům varlat skupiny PK.

Spermatogonie, podobně jako u skupiny PK, vytvářejí jednu vrstvu buněk zárodečného epitelu, uloženou bezprostředně při vazivové membráně. Velikostí

i morfologickým utvářením odpovídají spermatogonie spermatogoniím zárodečného epitelu skupiny PK.

Další 3 až 4 vrstvy zárodečného epitelu jsou tvořeny spermatocyty I. řádu (obr. 6). Tyto buňky vykazují četné mitózy a jejich jádra, pokud je můžeme v preparátě sledovat (začátek profáze a konec telofáze), jsou proti jádrům spermatogonií větší o 1,5 až 2,0 μ .

Nad spermatocyty I. řádu nacházíme několik nepravidelných vrstev buněk, které se v zárodečném epitelu skupiny PK nevyskytují. Počet vrstev těchto buněk je 5 až 7. Buňky jsou na průřezu okrouhlého tvaru a jsou různé veliké. Jejich velikost se pohybuje od 5 do 10 μ . Nápadná jsou jádra těchto buněk, jsou rovněž různě veliká a chromatin jaderný je uložen pod jadernou membránou ve formě velmi jemných zrníček, takže střed jádra je prázdný. Jádra těchto buněk se amitoticky dělí, což dokazují nálezy uprostřed ztenčených jader v podobě slabého můstku mezi jednotlivými částmi jádra v četných buňkách (obr. 7). Buňky se přitom zvětšují, ale nedochází k rozdělení jejich cytoplazmy. Nevznikají tedy buňky dvě, nýbrž buňka jedna, která se zvětšuje a obsahuje dvě jádra. To je stadium přechodné, neboť tato jádra podléhají dalšímu amitotickému dělení a tímto způsobem vznikají mnohojaderné buňky.

Mnohojaderné buňky obsahují průměrně 2 až 10 jader, v některých případech i více, a celé buňky dosahují velikosti až 30 μ (obr. 8). S postupujícím amitotickým dělením se jádra mnohojaderných útvarů zmenšují a stávají se pyknotickými. Některé buňky mnohojaderné vznikají z buněk rozdělením jádra přímo na velké množství malých jader, která v počátku amitózy jsou spolu spojena slabými můstky, takže celý tvar vytváří uprostřed zvětšené buňky nápadný paprscitý útvar.

Ze všech buněk, vzniklých ze spermatocytů I. řádu, se nevytvářejí buňky mnohojaderné. Jejich jádra podléhají pyknóze, zmenšují se a jsou nejčastěji uložena v buňce excentricky. Konečně dochází k enukleaci jádra a k jejich rozpadu. V cytoplazmě některých těchto změněných buněk se před jejich rozpadem vytvářejí vakuoly

Mnohojaderné buňky podléhají rovněž vakuolarizaci. Vznikají v nich nejdříve malé vakuoly, které se spojují ve vakuolu velkou a tato vyplňuje podstatnou část buňky (obr. 8). Vakuoly těchto buněk se nebarví Sudanem III., stejně jako vakuoly buněk jednojaderných, neobsahují tedy žádných tukových substancí. Dále dochází k enukleaci jader a k rozrušení mnohojaderných buněk, ze kterých vzniká detritus.

Ve stočených semenoplodných kanálcích se nevytvářejí spermatidy a v důsledku toho ani spermie. Rovněž podpurné Sertoliiho buňky zárodečného epitelu, jelikož se neuplatňují při přeměně spermatogonií ve spermie, jsou nízké a je jich menší množství než v zárodečném epitelu skupiny PK.

Na nátěru z řezné plochy varletem jsme nacházeli pod fázovým kontrastem pouze buňky tvaru kulatého, spermie zde nalezeny nebyly (obr. 9).

Diskuse

Makroskopické nálezy, kterých se práce dotýká, neodpovídají zcela literárním údajům. Že jsme zjistili poněkud menší rozměry varlat, bylo pravděpodobně způsobeno tím, že byli vyšetřováni kačeři poměrně mladí (6 až 7 měs.), kdežto autoři (K o l d a, K o m á r e k, M e n č l) zjišťovali dimenze varlat kačerů starších. Rovněž druhová příslušnost bude mít na rozměry a váhu varlat vliv.

Práce si všímá velikosti a váhy varlat pro srovnání, neboť taková porucha spermatogeneze, jaká se vyskytuje u kříženců, nezpůsobuje ekvivalentní změny ve velikosti a váze varlat. Patrné odchylky můžeme z přiložené tabulky vyčíst zvláště ve vztahu váhy varlat k živé váze zvířete. Není ovšem možné vzhledem k malému počtu materiálu, který nám byl pro tento účel dostupný, dojít ke statisticky hodnotnému závěru.

Poruchy ve spermatogenezi vznikají i fyziologicky, a to v době po říji, kdy zárodečný epitel přechází do tzv. klidového stadia (Stieve). Přitom zárodečný epitel reaguje stejným způsobem jako při poruchách spermatogeneze, vyvolaných experimentálně. Jde zde hlavně o tvorbu mnohojaderných buněk a jejich vakuolarizaci. Je to např. vliv nevhodného krmení v době před říjí a v době říje, vliv zvýšené okolní teploty na organismus (Stieve), vliv některých hormonů (Falín, Belawenetz, Kudláč a Pivník), vliv některých látek chemických (Michalowsky, Falín a Jussin). Konečně poruchy spermatogeneze vznikají u kříženců, a to rovněž v různém rozsahu, jak popisuje Poll. U kříženců uvnitř čeledě *Anatidae* popisuje jako poslední stadium normální spermatogeneze spermatocyt I. řádu, což se shoduje s naším nálezem u kříženců kachny pekingské s kachnou pižmovou. Autor nepopisuje blíže tvar buněk, které vznikají ze spermatocytů I. řádu, které jsou charakteristické uložením chromatinu v jádře pod membránou jadernou, jak jsme je našli v zárodečném epitelu kříženců a jak je také popisují Falín a Jussin v zárodečném epitelu krys po experimentálním zásahu. Poll se dále omezuje na konstatování, že z těchto buněk vznikají buňky mnohojaderné, jejichž jádra podléhají pyknotické degeneraci. Nepopisuje vakuolarizaci těchto buněk a proces, jakým vznikají.

Celá řada autorů popisuje, hlavně na experimentálním materiálu, vakuolarizaci mnohojaderných útvarů samčího zárodečného epitelu jako projev degenerace. Lagerlöf tento proces nazývá hydropickou degenerací. Stieve prokázal v těchto vakuolách tuk. V našem případě se nám nepodařilo tukové látky ve vakuolách mnohojaderných buněk prokázat Sudanem III. Čím jsou vakuoly tvořeny, by bylo třeba řešit z hlediska histochemického použitím speciálních histochemických metod.

U kříženců kachny pekingské s kachnou pižmovou vznikají mnohojaderné buňky amitotickým dělením jader buněk, které vznikly ze spermatocytů I. řádu. Přitom nedochází k rozdělení cytoplazmy, buňky se však zvětšují. Jádra podléhají za současné vakuolarizace mnohojaderné buňky pyknotickým změnám. Rovněž Marek potvrzuje, že mnohojaderné buňky nevznikly splynutím více buněk jednojaderných.

Poruchy spermatogeneze, které nezasahují hlubší vrstvy samčího zárodečného epitelu, spermatogonie a buňky podpůrné, nemají vliv na vnější pohlavní znaky (Michalowsky). U kříženců kachny pekingské s kachnou pižmovou, kde spermatogeneze probíhá normálně do stadia spermatocytu I. řádu, jsou sekundární znaky dobře vyvinuty i chuť k páření je u těchto zvířat plně vyvinuta (Kallina). Neovlivňuje tedy tento stupeň poruchy spermatogeneze funkci varlat jako žlázy endokrinní.

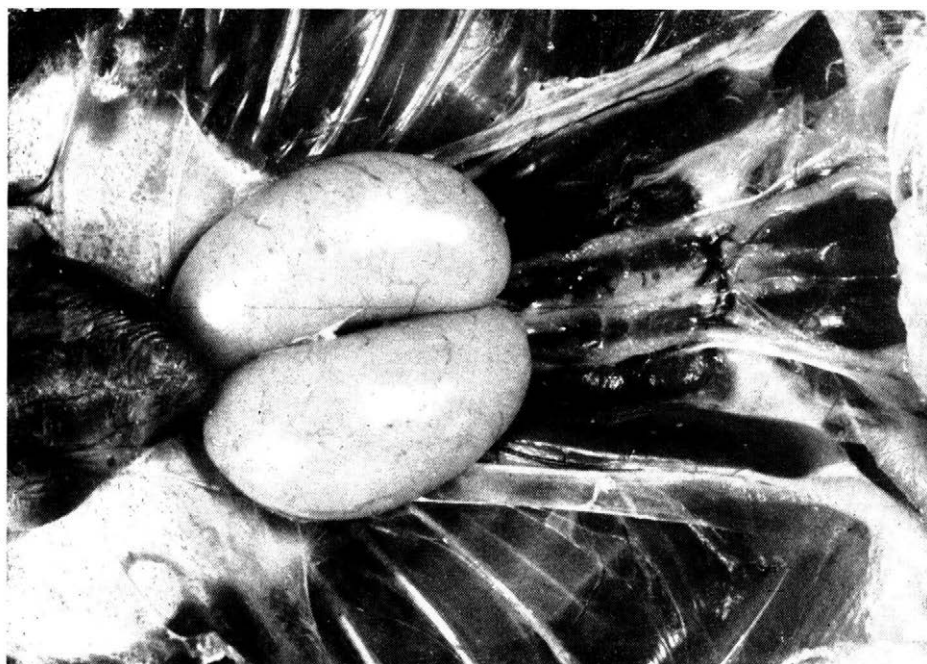
Souhrn

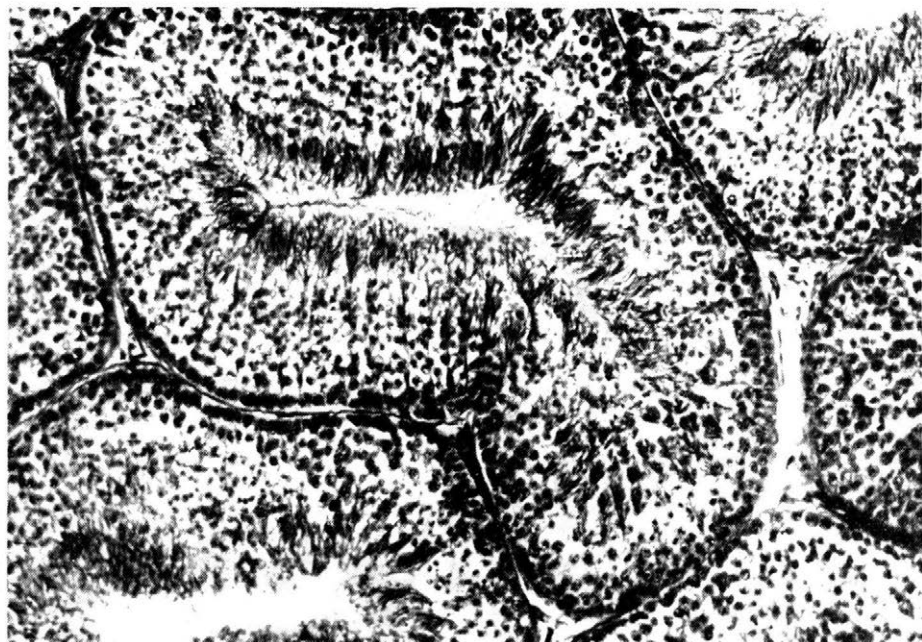
Vývoj samčího zárodečného epitelu kříženců kachny pekingské s kachnou pižmovou se podstatně liší od spermatogeneze čistokrevné kachny pekingské. Není



Obr. 1. Samec, čistokrevný pekingský. Varlata fazolovitého tvaru, pod vazivovým pouzdrém patrný cévy. Chámovody, silně naplněné chámem, vytvářejí ve svém průběhu velké množství klíček

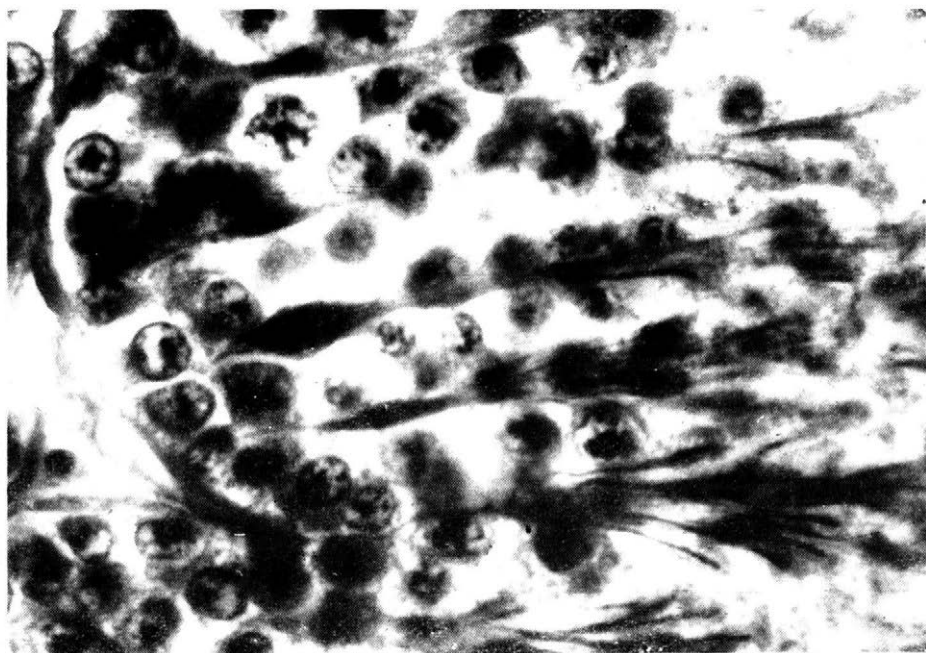
Obr. 2. Samec, kříženec kačera pížmového a kachny pekingské. Varlata fazolovitého tvaru, průběh chámovodů není patrný

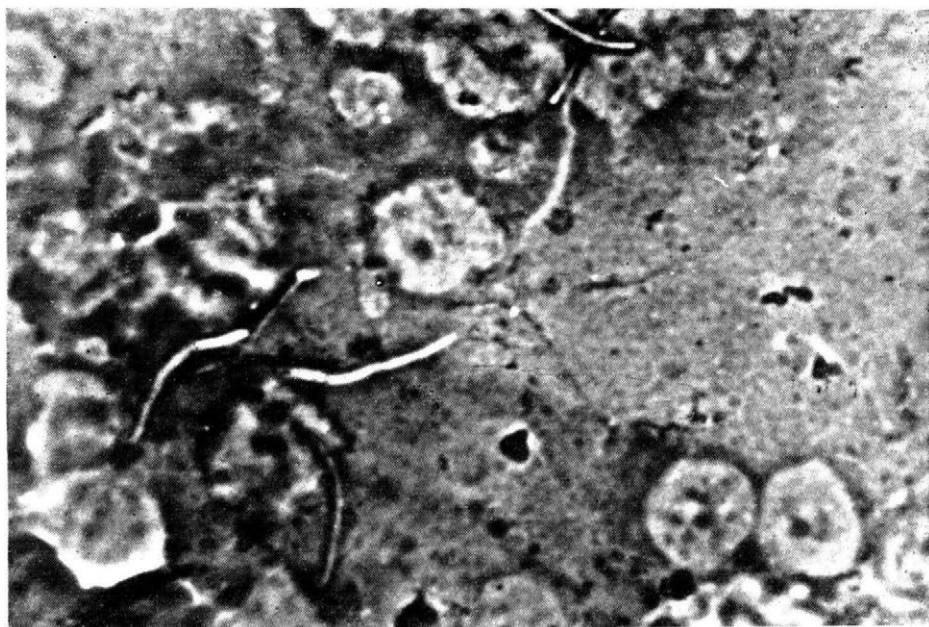




Obr. 3. Samec, čistokrevný pekingský. V semenoplodných stočených kanálcích probíhá spermatogeneze. Povrchová vrstva zárodečného epitelu je tvořena skupinami spermií. Barvení haematoxylin-eosin, 230 : 1

Obr. 4. Samec, čistokrevný pekingský. Podpurné buňky jsou vysoké, jejich jádra jsou vřetenovitěho tvaru. Skupiny spermií jsou zakliněny v jejich apikálních koncích. Mezi podpurnými buňkami jsou vývojová stadia spermií. Barvení haematoxylin-eosin 1200 : 1

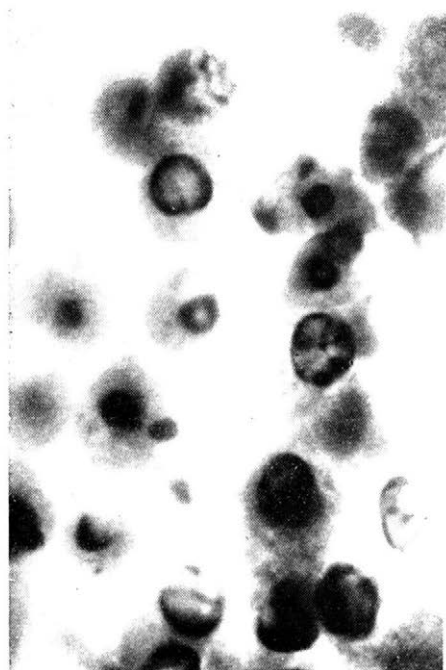




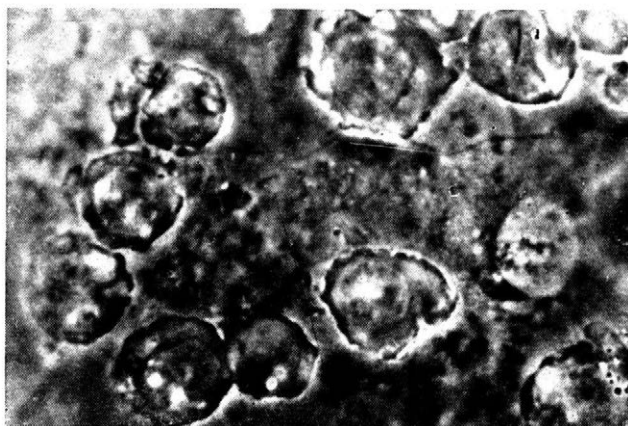
Obr. 5. Samec, čistokrevný pekingský. Nátěr z řezné plochy varletem. V zorném poli jsou vedle spermií (vláknité útvary) i jejich vývojová stadia (kulaté buňky). Nativní preparát, fázový kontrast 1300 : 1

Obr. 6. Samec, kříženec kačera pekingského a kachny pižmové. Porucha spermatogeneze ve stočených semenoplodných kanálcích. V povrchové vrstvě zárodečného epitelu jsou mnohоядерné buňky. Barvení Heidenhainovým haematoxylinem 230 : 1





Obr. 7. Samec, kříženec kačera pižmového a kachny pekingské. Buňky, vznikající ze spermatocytů I. řádu. Jsou charakteristické uložením chromatinu pod jadernou membránou, takže střed jádra je prázdný. V levé dolní části obrázku je zachyceno amitotické dělení jádra takové buňky. Barvení haematoxylin-eosin 1500 : 1



Obr. 8. Samec, kříženec kačera pižmového a kachny pekingské. Mnohojaderná buňka, obsahující velkou vakuolu. Stadium před prasknutím vakuoly a rozrušením celé buňky. Barvení haematoxylin-eosin 1500 : 1

Obr. 9. Samec, kříženec kačera pižmového a kachny pekingské. Nátěr z řezné plochy varletem. V nátěru se vyskytují pouze kulaté buňky s patrnými jádry. Nativní preparát, fázový kontrast 1300 : 1

rozdílu ve vývoji samčího zárodečného epitelu kříženců kačera pižmového s kachnou pekinskou a kříženců kačera pekinského s kachnou pižmovou.

U kříženců končí normální spermatogeneze ve stadiu spermatocyty I. řádu. Ze spermatocytů I. řádu vznikají buňky, charakteristické uložením jaderného chromatinu pod membránou jadernou a prázdným středem jádra. Tyto buňky buď zanikají tím způsobem, že se v jejich cytoplazmě vytvářejí vakuoly, jádro vykazuje pyknotické změny a dochází k jejich rozpadu, nebo z nich vznikají amitotickým dělením jader mnohoaderné buňky. Mnohoaderné buňky dosahují velikosti až $30\ \mu$ a obsahují 2 až 10 jader. Po vytvoření vakuol v cytoplazmě a pyknotických změnách na jádrech dochází k jejich rozpadu v detritus. Tuk vakuoly neobsahují.

Spermatidy a spermie se ve stočených semenoplodných kanálcích varlat kříženců nevytvářejí.

Literatura

1. Belawenetz S.: Über die Wirkung der Thyreokrinfütterung auf die Hoden der weißen Ratten. *Anat. Anz.* 65, s. 155, 1928. — 2. Bose S., Tandon H. P., Iyer S. G.: Studies on Heterosis in Poultry. *Indian Poultry Gaz.*, 40, s. 3, 1957, referát v Referat. *žurnál biol.*, č. 1, s. 269, 1958. — 3. Brunn A.: Beiträge zur Kenntnis der Samenkörper und ihrer Entwicklung bei Säugethieren und Vögeln. *Arch. f. mikr. Anat.*, 23, s. 108, 1884. — 4. Disselhorst R.: Gewichts- und Volumszunahme der männlichen Keimdrüsen bei Vögeln und Säugern in der Paarungszeit; Unabhängigkeit des Wachstums. *Anat. Anz.*, 32, s. 113, 1908. — 5. Falin L., Jusin W.: Die Riesenzellen des Hodens. *Anat. Anz.*, 70, s. 246, 1930. — 6. Gerencsér V.: A keresztezés gazdasági és biológiai előnyei a baromfitenyésztésben. *Magyar tud. akad. absztrakt. osz. közl.*, 10, s. 209, 1956, referát v Referat. *žurnál biol.*, č. 1, s. 269, 1958. — 7. Kalina R.: Křížení kachny pekinské s kachnou pižmovou. *Živočišná výroba*, 3, s. 503, 1958. — 8. Kaupp B. F.: The Anatomy of the Domestic Fowl. Philadelphia and London 1918. — 9. Kolda J., Komárek V.: Anatomie domácích ptáků. Praha 1953. — 10. Kudláč E., Pivník L.: Účinek aplikace některých stilbenových přípravků na druhotné znaky a změny v pohlavních žlázách u kohoutů. *Veterinární medicína*, 1, s. 393, 1956. — 11. Lagerlöf N.: Morphologische Untersuchungen über Veränderungen im Sperma und in den Hoden bei Bullen mit verminderter oder aufgehobener Fertilität. Uppsala 1934. — 12. Marek J.: Nové poznatky o patologických ejakulátech býků. *Veterinární medicína*, 3, s. 613, 1958. — 13. Menčel E.: Über einen Fall von hochgradiger Hyperplasie der Hoden bei einer Ente. *Anat. Anz.*, 31, s. 423, 1907. — 14. Michlowsky I. O.: Die Geschlechtsdrüse und die sekundären Geschlechtsmerkmale beim Hahne. *Anat. Anz.*, 64, s. 144, 1927. — 15. Pavlovič S. S.: Prilog poznavanju chibridizacije živine. *Acta veterin.*, 6, č. 3-4, s. 23, 1956. — 16. Poll H.: Keimzellenbildung bei Mischlingen. *Verhandl. der Anat. Gesellschaft*, 24, s. 32, 1910. — 17. Schweigger-Seidel F.: Über die Samenkörperchen und ihre Entwicklung. *Arch. f. mikr. Anat.*, 1, s. 309, 1865. — 18. Spangaro S.: Über die histologischen Veränderungen des Hodens, Nebenhodens und Samenleiters von Geburt an bis zum Greisenalter, mit besonderer Berücksichtigung der Hodenatrophie, des elastischen Gewebes und des Vorkommens von Kristallen im Hoden. *Anatomische Hefte*, 18, s. 593, 1902. — 19. Stieve H.: Über das interkinetische Ruhestadium der Prä spermatiden. *Anat. Anz.*, 52, s. 540, 1919, 1920. — 20. Stieve H.: Untersuchungen über die Wechselbeziehungen zwischen Gesamtkörpern und Keimdrüsen. *Archiv f. mikr. Anat. u. Entwicklungsmech.*, 52-97, s. 313, 1923. — 21. Stieve H.: Der Einfluß höherer Außentemperatur auf die Keimdrüsen der Hausmaus. *Verhandl. der Anat. Gesellschaft*, 32, s. 38, 1923. — 22. Stieve H.: Samenzellenverklumpung (Spermagglutination) nicht Spermiphagie. *Zeitschrift f. mikroskop.-anat. Forsch.*, 2, s. 598, 1925. — 23. Stieve H.: Untersuchungen über die Wechselbeziehungen zwischen Gesamtkörper und Keimdrüsen. Weitere Untersuchungen und Versuche an männlichen und weiblichen Gänsen sowie an Haushähnen. *Zeitschrift f. mikroskop.-anat. Forsch.*, 5, s. 463, 1926. — 24. V. la Valette St. George: Ueber die Genese der Samenkörper. I. Mittheilung. *Arch. f. mikr. Anat.*, 1, s. 403, 1865. — 25. V. la Valette St. George: Ueber die Genese der Samenkörper. II. Mittheilung. *Arch. f. mikr. Anat.*, 3, s. 264, 1867. — 26. V. la Valette St. George: Ueber die Genese der Samenkörper. III. Mittheilung. *Arch. f. mikr. Anat.*, 15, s. 261, 1878.

Сравнение сперматогенеза пекинской утки с развитием зародышного эпителия самца помеси пекинской утки с муксусной уткой

Развитие зародышного эпителия самца помеси пекинской утки с муксусной уткой в значительной мере отличается от сперматогенеза чистокровной пекинской утки. Не установлено различие в развитии зародышного эпителия самца помеси муксусного селезня с пекинской уткой и помеси пекинского селезня с муксусной уткой.

У помесей нормальный сперматогенез заканчивается в стадии сперматоцита 1 ряда. Из сперматоцитов 1 ряда возникают клетки, характеризованные нахождением хроматина ядрышка под ядерной мембраной и пустой серединой ядра. Эти клетки либо исчезают в результате того, что в их цитоплазме возникают вакуолы, — ядро обнаруживает пикнотические изменения — и происходит их распад, или из них образуются путем amitotического деления ядер многоядерные клетки. Многоядерные клетки достигают размеров до 30μ и содержат от 2 до 10 ядер. После образования вакуол в цитоплазме и пикнотических изменений в ядрах происходит их распад на детрит. Вакуолы не содержат жира.

Сперматиды и спермии не возникают в извитых семенных канальцах семенников помесей.

Vergleich der Spermatogenese der Pekingente mit der Entwicklung des männlichen Germinativepithels bei Kreuzungen der Pekingente mit der Moschusente

Die Entwicklung des Germinativepithels bei Kreuzungen der Peking- und Moschusente unterscheidet sich wesentlich von der Spermatogenese der reinrassigen Pekingente. In der Entwicklung des männlichen Germinativepithels bestehen zwischen Kreuzungsprodukten eines Enterichs der Moschusente mit einer Pekingente und dem Kreuzungsprodukt eines Pekingenterichs mit einer Moschusente keine Unterschiede.

Bei den Kreuzungsprodukten endet die normale Spermatogenese im Stadium der Spermatozyten I. Ordnung. Aus den Spermatozyten I. Ordnung entstehen Zellen, charakterisiert durch ihre Lage des Kernchromatins unter der Zellmembran und die leere Kernmitte. Diese Zellen gehen zugrunde entweder dadurch, daß sich entweder in ihrem Zytoplasma Vakuolen bilden, der Kern pyknotische Veränderungen aufweist, die schließlich zum Zerfall führen, oder mittels amitotischer Teilung der Kerne mehrkernige Zellen entstehen lassen. Diese mehrkernigen Zellen erreichen eine Größe bis zu 30μ und enthalten 2—10 Kerne. Nach Vakuolenbildung im Zytoplasma und nach Eintritt pyknotischer Veränderungen am Kerne zerfallen sie in Detritus. Die Vakuolen enthalten kein Fett.

Die Spermатидen und Spermien werden in den geschlungenen samenbildenden Hodenkanälchen bei Kreuzungsprodukten nicht gebildet.

Pět stříbrících metod pro parafínové řezy

Пять серебрящих методов для парафиновых разрез

Fünf Imprägnationsmethoden mit Silber für Paraffinschnitte

Jaroslav ZVÁRA

Katedra histologie s embryologií lékařské fakulty Karlovy university v Hradci Králové

Věnováno k šedesátým narozeninám prof. RNDr. et MVDr. Vlastimila Vrtiše

Došlo dne 1. XII. 1960

Úvod

Nejemnější struktury centrálního i periferního nervstva nabyly velké důležitosti i v patologicko-anatomickém studiu a diagnostice některých důležitých chorob. Proto jsou věnovány impregnační metodice mé dvě dříve publikované práce, otištěné ve Sborníku prací Vojenské lékařské akademie č. IV/55 a ve Sborníku Čs. akademie zemědělských věd — Veterinární medicína — roč. XXIX-1956, č. 5., na které tímto sdělením navazuji. Obě zmíněné práce o sodíkové a i argentnatronové impregnační metodě se zabývaly stříbřením volných zmrazených řezů.

V následující práci, jež je shrnuta v tomto sdělení, pokusil jsem se o vypracování impregnační metody vhodné pro parafínové řezy, která by vedle požadavku zdařilého obrazu byla pracovně nenáročná a spolehlivá.

Prvním krokem bylo uzpůsobení argentnatronové metody pro parafínové řezy, další pokusy daly odpověď na otázku vhodnosti některých vývojek k účelům impregnační metodiky. Soubor našich pokusů dotvrzuje nepochybně význačný vliv zvolených redukčních činidel na výsledný obraz — na výběr impregnovaných struktur.

Z řady zde uvedených metod je třeba na prvním místě upozornit na metodu s fenyldiazinovým redukčním činidlem v kombinaci s p-dimethylaminobenzyldenrhodaninem (modifikace metody II).

Popis jednotlivých metodik

Převedení argentnatronové metody na materiál parafínových řezů si vyžádalo úpravy vyvíjecí lázně. Původní jednoduché redukční činidlo se 40% hydroxydem sodným a koncentrovaným amoniakem je obohaceno přísadou fenolu, který po určité kvantitativní mez zesiluje redukční účinek.

I. Argentnatronová impregnační metoda s fenolem

Řezy zbavené parafínu v normální odparafinovací řadě převádíme do 40% formalínu, kterýmžto předmořením zesílíme výsledek impregnace. Po krátkém opláchnutí v destilované vodě osušíme podložní sklo až do těsné blízkosti řezu, položíme horizontálně a převrstvíme roztokem AgNO_3 20%, jež nakapeme, aby řez byl roztokem zcela pokryt. Po desetiminutovém působení roztok stříbra slijeme, řez přeneseme do 30% amoniakální vody a odtud do vyvíjející redukční lázně s fenolem, amoniakem a louhem sednávým.

P ř e s n ý n á v o d :

1. Formalin 40% ofic. 5 min.
2. H_2O dest. 30 sec.
3. AgNO_3 20% roztok 10 min.
4. Amoniakální voda (70 ccm H_2O dest. + 30 ccm *liquor ammonii caustici*) 0,5 min.
5. Redukční lázeň (1–5 g fenolu + 100 ccm H_2O dest. + 2 ccm *liquor ammonii caustici* + 8 ccm NaOH 40%) 15 min.
6. Převedení do destilované vody, odvodnění a zamontování.

Předmoření řezů provádíme buď ve formalinu (bod 1 návodu) nebo v nasyceném vodním roztoku kyseliny pikrové (5 minut). V prvním případě (u formolem fixovaného materiálu) má pozadí barvu žlutozelenavou, v druhém případě je pozadí vyznačeno v hnědavém tónu.

R o z b o r ú č i n k ů č i n i d e l :

Amoniak obsažený v amoniakální vodě i redukční lázni odstiňuje pozadí a při překročení jisté meze časové a dávkové bělí.

NaOH 40 % vystupuje zde jako podstatná složka redukční lázně, jež je ovšem sama o sobě k redukci v parafinových řezech slabá.

Fenol po určitou hranici zesiluje redukční účinek lázně. Při překročení koncentrace 5 % uplatňuje se však jako faktor tlumící a při 10 % fenolu utlumíme redukci v lázni úplně.

II. Metoda s fenyhydrazinovou vývojkou

Pokusy s fenyhydrazinem ukázaly eminentní vhodnost této látky jako redukovadla při impregnaci parafinových řezů.

P ř e s n ý n á v o d :

- | | | |
|---|---------|---------------------|
| 1. Nasycený vodní roztok kyseliny pikrové | 10 min. | Pro materiál |
| 2. H_2O dest. | 1 min. | fixovaný formalinem |
| 3. AgNO_3 20 % (nakapat) | 10 min. | |
| 4. Amoniakální voda (100 ccm H_2O dest. + 12 až 16 ccm NH_4OH) | | 0,5 min. |
| 5. Fenyhydrazin (90 ccm alkoholu 96 % s benzolem + 10 ccm fenyhydrazinu) | | 15 min |
| 6. H_2O dest. | | 15 min. |

U materiálu fixovaného Bouinovou fixační tekutinou vypouštíme přípravu v kyselině pikrové (bod č. 1 a 2). Nejlepší výsledky poskytují preparáty fixované pikroformolem.

Proměnnou veličinou u této metody je množství *liquor ammonii caustici* (NH_4OH) v amoniakální vodě. Maximální únosná dávka NH_4OH v této činí asi 25 ccm. Hodnota 16 ccm vyhovuje impregnaci ústředního nervstva, 20 ccm u parenchymatózních orgánů jako je ledvina, 25 ccm u preparátů kůže.

III. Stříbřicí metoda s p-phenylendiaminem

- | | |
|---|----------|
| a) 1. Nasycený vodní roztok kyseliny pikrové | 15 min. |
| 2. H_2O dest. | 2–3 min. |
| 3. AgNO_3 20 % (nakapat) | 10 min. |
| 4. Amoniakální voda (40 ccm H_2O dest. + 60 ccm NH_4OH) | 0,5 min. |
| 5. p-phenylendiamin 10 % (rozpustidlo: 96 % alkohol s benzolem + H_2O dest. — mísíme à—à) | 15 min. |
| 6. H_2O dest. | 15 min. |
| b) Změněny koncentrace roztoků č. 4 a č. 5. | |
| 4. Amoniakální voda (70 ccm H_2O dest. + 30 ccm NH_4OH) | 0,5 min. |
| 5. p-phenylendiamin 5 % (rozpustidlo jako prve) | 15 min. |

Jak patrně můžeme u této metody souběžně měnit koncentraci amoniakální vody s koncentrací redukčního činidla. Tak při aplikaci amoniakální vody 15% a p-phenylendiaminu 2,5% obdržíme výsledek ještě snesitelný.

IV. Stříbřicí metoda s asym. dimethyl-p-phenylendiaminem

- | | |
|---|----------|
| a) 1. Nasycený vodní roztok kyseliny pikrové | 15 min. |
| 2. H_2O dest. | 2–3 min. |
| 3. AgNO_3 20 % (nakapat) | 10 min. |
| 4. Amoniakální voda (40 ccm H_2O dest. + 60 ccm NH_4OH) | 0,5 min. |
| 5. Asym. dimethyl-p-phenylendiamin 10 % (rozpustidlo: 96% alkohol s benzolem + H_2O dest. — mísíme à—à) | 15 min. |
| 6. H_2O dest. | 15 min. |
| b) Změněny koncentrace roztoků č. 4 a č. 5. | |
| 4. Amoniakální voda (70 ccm H_2O dest. + 30 ccm NH_4OH) | 0,5 min. |
| 5. Asym. dimethyl-p-phenylendiamin 5 % (rozpustidlo jako prve) | 15 min. |

Jako u předchozí impregnace s p-phenylendiaminem je možná souběžná změna koncentrací obou agens.

V. Stříbřicí metoda s amidolem

Na rozdíl od předchozích metod ukázalo se zde nevhodným zařazovat amoniakové odstíňovací činidlo. Přísada amoniaku přímo do roztoku amidolu vyvolává chemické změny: modráni — červenání a zákal roztoku. Tato okolnost si vynutila zařazení jiného účinkem podobného a v impregnacích běžného činidla, a to pyridinu.

Přesný návod:

1. Nasycený vodní roztok kyseliny pikrové 5 min.
2. H₂O dest. krátce
opláchnout
3. AgNO₃ 20 % 10 min.
4. Pyridinová voda 60 % (40 ccm H₂O dest. + pyridin
60 ccm)
u materiálu fixovaného Bouin. fixačním roztokem 3 min.
u materiálu fixovaného formalinem 5 min.
5. Roztok amidolu 4 % (4 g amidol + 100 ccm H₂O dest. +
6 ccm pyridin) 15 min.
6. H₂O dest.

Přeměnou veličinou u tohoto postupu je délka pobytu v pyridinové vodě. U poslední metody v okrajových partiích preparátů zbarvených jinak hnědě se rády objevují šedomodré skvrny.

Modifikace metod I. a II.

Během pokusů s předchozími metodami byly provedeny zkoušky s p-dimethylaminobenzylidenrhodaninem. Zprvu šlo o prosté reakce s dusičnanem stříbrným, jež byly — přes barevnost výsledku (rudé zbarvení) — celkem málo úspěšné a vytvořený obraz málo prokreslený. Dobré výsledky byly získány při aplikaci p-dimethylaminobenzylidenrhodaninu k zesílení impregnačního výsledku. Byly vypracovány kombinace s metodou I. a II. Výsledky takto upravených metod jsou kontrastnější než u metod prostých.

Modifikace metody II. (fenylhydrazinová vývojka s p-dimethylaminobenzylidenrhodaninem)

- A: 1. AgNO₃ 20 % 10 min.
2. Amoniakální voda (88 ccm H₂O dest. + 12 ccm *liquor ammonii caustici*) 20 sec.
3. Fenylhydrazinová vývojka (90 ccm alkohol s benzolem + 10 ccm fenylhydrazinu) 15 min. při 30 až 40° C
4. H₂O dest. 5 min.
5. p-dimethylaminobenzylidenrhodanin (nasycený roztok ve 100 % alkoholu s benzolem) 15 min.
6. H₂O dest.
- B: 1. Nasycený vodní roztok kyseliny pikrové 5 min.
2. H₂O dest. 30 sec.
3. AgNO₃ 20 % 10 min.
4. Amoniakální voda (70 ccm H₂O dest. + 30 ccm NH₄OH) 0,5 min.
5. Redukční roztok (100 ccm p-dimethylaminobenzylidenrhodain — 0,02 % roztok alkoholu 100 % + 8 ccm fenylhydrazin) 15 min.
6. H₂O dest.

Modifikace metody I. (Argentnatronová metoda s p-dimethylaminobenzylidenrhodaninem)

Postup je zde naprosto identický s návodem uvedeným pod Modifikace metody II.B (body 1. až 4.) až na redukční roztok, který má následující složení:

5. Redukční roztok: (100 cm p-dimethylaminobenzylidenrhodanin
0,02% roztok v H₂O dest. + 2 ccm *liquor ammonii caustici*
+ 8 ccm NaOH 40%) 15 min.

I v tomto případě převádíme nakonec preparáty do destilované vody.

Výsledky jednotlivých metod

K vypracování jednotlivých metod bylo použito materiálu fixovaného buď formalinem či Bouinovou fixační tekutinou. Zkoušky byly prováděny především na preparátech ústředního nervstva, pouze orientačně přibírány preparáty periferního nervového systému. Většinou byl to materiál lidský. Některé naše metody vyznačují jemné vláknité struktury a pomíjejí struktury jiné, některé navíc dobře znázorňují i těla hrubších gangliových buněk a bohaté větvení dendritů (Purkyňovy buňky mozečku), jež předchozí metody neimpregnují.

U metod p-phenylendiaminových navíc jsou vyznačována jádra buněčná a plasma gangliových buněk fialově — tedy jinobarevně —, což platí zejména pro stříbření a asym. dimethyl-p-phenylendiaminem.

U některých stříbření je zřejmá výhodnost fixace Bouinovou fixační tekutinou, u jiných lze dobrých výsledků dosáhnout u obou fixací.

I. Argentnatronová impregnační metoda s fenolem

Metoda je rázu zřetelně fibrilárního, kromě jemných vláken jsou znázorněna těla gangliových buněk, kdežto silné jejich výběžky (dendrity Purkyňových buněk) jsou naznačeny slabě a neúplně. V gangliových buňkách jsou zřetelně či slaběji vyznačeny intracelulární neurofibrily. Použití pro preparáty periferního nervového systému lze doporučit.

II. Metoda s fenylhydrazinovou vývojkou

Tato metoda se podstatně liší od metody předchozí. Výsledek stříbření je tu mnohem lepší při fixaci pikroformalínem než při fixaci formalínové. Vedle kresby jemných nervových vláken vyznačuje tento postup bohaté větvení dendritů Purkyňových buněk v mozečku až do velice jemných větévek (dendritová metoda). Jádra buněčná se takřka neimpregnují (žlutavá). Intracelulární fibrily jsou nezřetelné nebo jen špatně patrné. Těla gangliových buněk kory mozku jsou nadýchnuta jen bleděžlutě. Prokreslení bílé hmoty je velmi dobré. Metody lze užít i pro preparáty periferního nervového systému (ovšem třeba uzpůsobit — zvýšit — množství amoniaku v amoniakální vodě — podle druhu impregnovaného orgánu).

III. Metoda s p-phenylendiaminem

I u této metody se ukázala výhodnost předmoření řezů fixovaných formalínem v nasyceném vodním roztoku kyseliny pikrové. Je jednou z p-phenylendiaminových metod vyznačujících buněčná jádra a plasmatické okrsky (těla Purkyňových buněk) barvou fialovou (fixace formalín) nebo nafialovělou (Bouin). Jde

o metodu fibrilární a dendritovou, ovšem kresba dendritů není tak dokonalá, zvláště pokud jde o nejjemnější větvení. Intracelulární fibrily nejsou zřetelné.

Kresba bílé hmoty je velmi dobrá, pozadí vyznačeno barvou hnědovou. U preparátů kory mozku v důsledku lehkého fialového zbarvení těl gangliových buněk vystupuje velmi výrazně spleť jemných nervových vláken (Bouinova fixace). Varianta b) této metody s nižšími koncentracemi amoniaku a redukčního činidla je kontrastnější, kresba je tvrdší (včetně kresby dendritů Purkyňových buněk). U obou variant metody se přibarvuje v preparátech periferního nervového systému i pozadí. Kresba nervových vláken je dobrá — zvláště u modifikace b).

IV. Stříbřicí metoda s asym. dimethyl-p-phenylendianinem

Co bylo řečeno o dichromatickém rázu preparátu impregnovaného metodou s p-phenylendianinem platí ještě mnohem více v případě této impregnace. Jádra buněčná vyhlížejí jako po zbarvení Mayerovým kamencovým hematoxylinem, stejný vzhled má i plazma gangliových buněk a bleděfialově je přidýchnuто pozadí, na němž jsou vykreslena nervová vlákna černě. Jde o metodu fibrilární, mohutnější výběžky buněk ustupují do pozadí a jsou nezřetelné nebo nezbarveny vůbec. Pikroformolem fixovaný materiál poskytuje zpravidla kresbu tvrdší. U preparátu periferního nervového systému se nepřibarvují příliš ani kolagen, ani retikulární vlákna a lze tedy očekávat dobré výsledky. Orientační výsledky na kůži (formalín) a ledvině (Bouin) jsou celkem uspokojující (perivaskulární nervová vlákna).

V případě varianty b) u mozku vzrostla tvrdost kresby (Bouin) zvláště hmoty bílé, u preparátů periferního nervového systému silněji vystupuje kolagen a argyrofilní vlákna.

V. Metoda s amidolem

Tato metoda je metodou dendritovou a fibrilární. Kresba dendritů pokračuje v nejjemnější větévce. Jde o metodu spíše monochromatickou, struktury jsou znázorněny v různých odstínech hnědi. Impregnace má poněkud granulózní charakter, jenž je zvláště patrný u nevláknitých struktur (jádra a plazma gangliových buněk). U preparátů periferního nervového systému poměrně značně ruší přibarvení pozadí. Při makroskopickém hodnocení je u preparátů nápadná difference barvy ve světle procházejícím a odraženém (červenohnědá × žlutavě plesnivá).

Modifikace metod I. a II.

Modifikace s p-dimethylaminobenzylidenrhodaninem na našem materiálu fixovaném at formalínem či Bouinovou fixační tekutinou poskytly výsledky velmi dobré, kde kresba byla tvrdší proti výsledkům metod I. a II. bez této složky. Přísada p-dimethylaminobenzylidenrhodaninu nepůsobí ve výsledku změn kvalitativních, rozdíl je proti metodám prostým pouze v intenzitě kresby.

*

Je mojí milou povinností poděkovat na tomto místě všem, kteří mi byli v práci nápomocni, především s. prof. MUDr. Jaroslavu Noskovi za doporučení p-dimethylaminobenzylidenrhodaninu pro impregnační účely, dále s. Evě Solilové a s. Haně Nagyové za pečlivé provádění řady zkoušek při vypracovávání metod.

S o u h r n

Bylo vypracováno pět nových impregnačních metod pracujících se stříbrem. Rozdílnost postupů spočívá především v aplikaci různých redukčních prostředků v impregnační technice dosud neužívaných (natron + fenol, fenylylhydrazin, p-phenylendiamin, asym. dimethyl-p-phenylendiamin, amidol, natron-p-dimethylaminobenzylidenrhodanin, fenylylhydrazin-p-dimethylaminobenzylidenrhodanin). Je zřejmé, že výsledky jednotlivých metod se navzájem liší, někdy podstatně. Nejzákladnějšími protivami zde jsou:

1. Dichromasie (p-phenylendiamin a asym. dimethyl-p-phenylendiamin) a monochromasie u ostatních metod.
2. Vykreslení či nevykreslení dendritů Purkyňových buněk:
impregnační forma dendritová s fibrilární (A),
impregnační forma celkem čistě fibrilární (B).

	dendrity	jádra	intracelul. fibrily
A: 1. s phenylhydrazinem 2. s amidolem	bohaté bohaté	0 granulózní	0 0
přechod 3. s p-phenylendiaminem	chudší	fialová	0
B: 4. s asym. dimethyl-p-phenylen- diaminem	0	silně fialová	0
5. s natronem a fenolem	slabě chudší	hnědavá	zřetelně

3. Vhodnost či menší vhodnost pro preparáty periferního nervového systému (možnost obecného užití):

s natronem a fenolem	+	+
s fenylylhydrazinem	+	+
s asym. dimethyl-p-phenylendiaminem	+	+
s p-phenylendiaminem	+	
s amidolem	+	—

Vypracované metody jsou spolehlivé, výsledky jsou někdy bohatší než u dosavadních metod. Není třeba pro dosažení výsledků impregnaci opakovat (viz Palmgrenova metoda), kresba je zřetelná. Paleta několika metod dává možnost volby podle záměru. Dichromatické zbarvení impregnovaných preparátů způsobené p-phenylendiaminovými vývojkami, jež nejen redukuje, ale i barví, je v impregnaci úplnou novinkou.

L i t e r a t u r a

Z v á r a J.: Rychlá impregnační metoda pro nervový systém s tvořením amoniakálního stříbra přímo ve tkáni, redukovaného vlastní redukcí schopností barvených elementů. (Sodíková impregnační metoda pro silné zmrazené řezy.) Sborník prací

Пять серебристых методов для парафиновых разрезв

Автор разработал пять новых методов импрегнации с применением серебра. Различие приемов заключается прежде всего в применении различных редуционных средств, которые до сих пор не использовались в технике импрегнации (натрон + фенол, фенилгидразин, п-фенилендиамин, асим. диметил-п-фенилендиамин, амидол, натрон-п-диметиламинобензилиденроданин, фенилгидразин-п-диметиламинобензилиденроданин). Совершенно очевидно, что результаты отдельных методов взаимно отличаются иногда в значительной степени. Наиболее контрастными являются:

1. Дихромазия (п-фенилендиамин и асим. диметил-п-фенилендиамин) и монокромазия у остальных методов.
2. Вырисовывание или невырисовывание дендритов клеток Пуркине — форма импрегнации дендритовая с фибриллярной (А) форма импрегнации в общем чисто фибриллярная (В)

	дендриты	ядра	внутри-клеточные фибриллы
А: 1. с фенилгидразином 2. с амидолом	богатые богатые	0 гранулезные	0 0
переход 3. с п-фенилендиамином	более бедные	фиолетовые	0
В: 4. с асим. диметил-п-фенилендиамином	0	сильно фиолетовые	0
5. с натроном и фенолом	несколько более бедные	коричневатые	ясные

3. Пригодность или меньшая пригодность для препаратов периферийной нервной системы (возможность общего применения):

- | | |
|-----------------------------------|----|
| с натроном и фенолом | ++ |
| с фенилгидразином | ++ |
| с асим. диметил-п-фенилендиамином | ++ |
| с п-фенилендиамином | + |
| с амидолом | +— |

Разработанные методы являются надежными, результаты иногда получаются более богатые, чем при применении прежних методов. Для получения результатов нет необходимости повторять импрегнацию (см. метод Палмгрена), рисунок полу-

чается ясный. Наличие нескольких методов предоставляет возможность производить выбор в зависимости от направления. Дихроматическое окрашивание импрегнированных препаратов, вызванное п-фенилендиаминовыми проявителями, которые не только производят редукцию, но и окрашивают, является в импрегнировании чем-то совершенно новым.

Fünf Imprägnationsmethoden mit Silber für Paraffinschnitte

Es wurden fünf neue Imprägnationsmethoden mit Silber ausgearbeitet. Der Unterschied im Vorgang beruht hauptsächlich in der Applikation verschiedener Reduktionsmittel, die bisher in der Imprägnationstechnik nicht zur Anwendung gelangten (Natron + Phenol, Phenylhydrazin, p-Phenylendiamin, assym. Dimethyl-p-phenylenendiamin, Amidol, Natron-p-dimethylaminobenzylidenrhodanin, Phenylhydrazin-p-dimethylaminobenzylidenrhodanin). Es ist klar, daß die Ergebnisse der einzelnen Methoden von einander abweichen, und das manchmal erheblich. Die grundlegenden Gegensätze sind:

1. Die Dichromasie (p-Phenylendiamin und assym. Dimethyl-p-phenylenendiamin) und die Monochromasie bei den anderen Methoden.
2. Dendritenzeichnung der Purkyně-schen Zellen — vorhanden oder nicht.
Dendritische Imprägnationsform mit der fibrillären (A)
Rein dendritische Imprägnationsform (B)

	Dendriten	Kerne	Intracelluläre Fibrillen
A: 1. mit Phenylhydrazin 2. mit Amidol	reichlich reichlich	0 granulös	0 0
Übergang: 3. mit p-Phenylendiamin	gering	violett	0
B: 4. mit assym. Dimethyl-p-phenylen- diamin	merklich geringer	stark violett	0
5. mit Natron + Phenol	0	bräunlich	deutlich

3. Der Grad der Eignung für Präparate des peripheren Nervensystems (Möglichkeit einer allgemeinen Anwendung):

mit Natron und Phenol	++
mit Phenylhydrazin	++
mit assym. Dimethyl-p-phenylenendiamin	++
mit p-Phenylendiamin	+
mit Amidol	+—

Die ausgearbeiteten Methoden sind verlässlich und ihre Ergebnisse sind manchmal reicher als bei den bisherigen Methoden. Um Erfolge zu erzielen ist es nicht nötig, die Imprägnation zu wiederholen (siehe die Methode nach Palmgren). Die Zeichnung ist deutlich. Die Reihe der Methoden ermöglicht es, eine Auswahl je nach dem Zwecke zu treffen. Die dichromatische Färbung der imprägnierten Präparate mittels p-Phenylendiamin-entwicklern, die nicht nur reduzieren, sondern auch färben, ist eine vollständige Neuheit in der Imprägnationstechnik.

Hradil J., Pospíšil H.: Využití kyselý černi 10B (amidočerni 10B) k histochemickému důkazu bílkovin	
Применение кислой черни 10В (амидочерни 10В) для гистохимического доказательства белков	
The Use of Acid-black 10B (Amido-black) for the Histochemical Proof of Albumins	389
Böhm R.: Ostrůvkový index skotu a ovce	
Островковый индекс у крупного рогатого скота и у овец	
Der Inselindex bei Rind und Schaf.	393
Holman J.: Srovnání spermatogeneze kachny pekingské s vývojem samčího zárodečného epithelu kříženců kachny pekingské s kachnou pižmovou	
Сравнение сперматогенеза пекинской утки с развитием зародышного эпителия самца помеси пекинской утки с муксусной уткой	
Vergleich der Spermatogenese der Pekingente mit der Entwicklung des männlichen Germinativepithels bei Kreuzungen der Pekingente mit der Moschusente	403
Zvára J.: Pět stříbrných metod pro parafínové řezy	
Пять серебрящих методов для парафиновых разрезов	
Fünf Imprägnationsmethoden mit Silber für Paraffinschnitte	413

SBORNÍK ČSAZV - VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Kolektiv pracovníků za vedení vědeckého redaktora prof. dr. E. Příbyla připravuje k vydání dvojčíslo 7-8, které svou tematikou patří do oblasti chorob mláďat. Výběr prací, které přispívají k objasnění příčin ztrát mláďat, zejména telat a selat, byl proveden tak, aby obsáhl celou tematiku v současné době úsilí o rozvoj živočišné výroby.

Sborník ČSAZV - VETERINÁRNÍ MEDICÍNA č. 7-8 obsahuje následující články:

M V Dr. Karel Labík: Vliv zdravotního stavu, stáří a dědičnosti rodičovského páru a vliv vnějších podmínek při ztrátách mláďat hospodářských zvířat

M V Dr. Miroslav Dvořák: Hypovitaminémie A u chorob sajících telat

Doc. dr. Tomáš Gdovín: K etiologii strát prasiatok v rannom období postnatálneho života vo svetle klinických pozorování

M V Dr. Miroslav Dvořák: Resorbce železa u sajících selat po perorálním podání železnatých a železitých sloučenin

M V Dr. Jan Černošous: Studie o nakažlivé osutině selat

M V Dr. Jan Nesvadba: Infekční streptokoková meningitis selat

Hubert Schanzel: Nejzávažnější parazitózy mladého skotu

Rostislav Zavadil: Ekonomicky závažné parazitózy mladých prasat

M V Dr. M. Breza: K otázce epizootologického významu karenčno-nutritivnej koprofágie a alotriofágie, najmä pri chorobách mláďat parazitárneho a iného pôvodu

Zdeněk Procházka: Experimentální přezkoušení vlivu dřevoim-pregnační látky 100/2 na zdravotní stav prasat a selat

Sborník ČSAZV - VETERINÁRNÍ MEDICÍNA č. 7-8 stojí Kčs 20,-, celoroční předplatné sborníku je Kčs 120,-, vychází 12krát ročně v rozsahu 80 stran.

Uvedený časopis si můžete objednat u

Československé akademie zemědělských věd,

Praha XII, Slezská 7,

Poštovní novinový úřad,

Brno, tř. Obránců míru 2.