

GENOWEFA ŚLÓSAREK

*Zakład Biofizyki Molekularnej  
Wydział Fizyki  
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza  
Umultowska 85, 61-614 Poznań  
e-mail : leonardo@amu.edu.pl*

## ODKRYCIE STRUKTURY KOMÓRKOWEJ TKANKI NERWOWEJ\*

### WPROWADZENIE

W 1906 r. nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny i fizjologii przyznano włoskiemu uczonemu Camillo Golgiemu oraz hiszpańskiemu badaczowi Santiago Ramon y Cajalowi. Wyróżniono w ten sposób pionierskie prace dotyczące struktury tkanki nerwowej. Był to pierwszy przypadek, gdy nagroda została podzielona pomiędzy dwóch uczonych. Najważniejszym osiągnięciem Golgiego było opracowanie efektywnej metody barwienia preparatów tkanki nerwowej, natomiast Cajal zasłynął bardzo szczegółowym opisem komórek tej tkanki, które po raz pierwszy można było zaobserwować jako rozdzielne elementy strukturalne.

Teoria komórkowa ogłoszona w latach 1838-1839 przez Matthiasa J. Schleidena (1804-1881) oraz Theodora Schwanna (1810-1882) nie dotyczyła układu nerwowego (patrz MAZZARELLO 1999). Przyczyną były trudności z rozpoznaniem struktury komórkowej za pomocą mikroskopów optycznych, które w owym czasie były dostępne biologom. Mikroskop, jako przyrząd naukowy, pojawił się na przełomie XVI i XVII w. Spośród najwcześniejszych najczęściej opisywany jest mikroskop Antoniego van Leeuwenhoek (1632-1723) zbudowany w roku 1668 r. Za pomocą tego prostego aparatu van Leeuwenhoek odkrył istnienie bakterii. Zajmował się również analizą tkanki nerwowej, lecz nie uzyskał istotnych wyników ze względu na

trudności z przygotowaniem dobrego preparatu z miękkiej tkanki. Pewien przełom przyniosła w tym względzie metoda mrożenia tkanki mózgowej zaproponowana przez Francesco Gennari'ego pod koniec XVIII w. (patrz GLICKSTEIN 2006). Postęp jednak był niewielki. Za pomocą prostych mikroskopów o małej rozdzielczości można było obserwować jedynie nieznacznie zróżnicowane obszary tkanki, bez szczegółowej analizy ich struktury wewnętrznej. Camillo Golgi, dzięki opracowanej przez siebie metodzie barwienia preparatów, jako pierwszy obserwował wyróżnione formy strukturalne tkanki nerwowej. Uznał jednak, że oglądane przez niego obrazy przedstawiają układ rozgałęzionych włókien nerwowych i opowiedział się za słusznością teorii siatkowej (ang. reticular theory). Według tej teorii układ nerwowy jest zespójnią (ang. syncytial system) zbudowaną z włókien nerwowych, przez które w sposób dyfuzyjny przesyłane są impulsy nerwowe. Analogiczne obserwacje prowadzone przez Santiago Ramon y Cajala doprowadziły natomiast do sformułowania teorii komórkowej tkanki nerwowej. Teorię tą nazwano doktryną neuronową. Warto przyjrzeć się bliżej mechanizmom, jakie leżą u podstaw tworzenia tej doktryny, która, wspólnie z postulatem o lokalizacji funkcjonalnej, stanowi do dzisiaj podstawę nauki o strukturze i funkcji układu nerwowego.

\*Rozszerzona wersja referatu wygłoszonego podczas konferencji „Fizyka a umysł”, Poznań 23-24 listopada 2007).

## ADWERSARZE

Camillo Golgi (1843–1926) urodził się w wiosce górskiej Corteno, niedaleko Brescia, w północnych Włoszech (BENTIVOGLIO 1998b). Studiował medycynę na Uniwersytecie w Pawii. W trakcie studiów pracował w laboratorium patologii eksperymentalnej prowadzonym przez Giulio Bizzozero (1846–1901). Tam zapoznał się z podstawami badań naukowych i najważniejszymi metodami stosowanymi wówczas w histologii. Początek kariery naukowej Golgiego przypada na 1869 r., gdy opublikował pracę na temat chorób psychicznych wywołanych uszkodzeniem układu nerwowego. Praca powstała pod kierunkiem Cesare Lombroso (1835–1909), dyrektora Instytutu Psychiatrii na Uniwersytecie w Pawii. Golgi szybko porzucił jednak badania psychiatryczne na rzecz eksperymentów histologicznych.

W 1872 r., z powodów finansowych, Golgi musiał przerwać swoją karierę akademicką i podjął pracę w szpitalu dla przewlekle chorych w Abbiategrosso. Tam przystosował dla siebie niewielkie pomieszczenie kuchenne i prowadził prace nad efektywnymi metodami barwienia preparatów tkanki nerwowej. Za pomocą prostych mikroskopów o małej rozdzielczości można było bowiem obserwować jedynie nieznacznie zróżnicowane obszary tkanki, bez szczegółowej analizy ich struktury wewnętrznej. Pierwszą, efektywną metodę barwienia preparatów tkanki nerwowej, którą nazywa się też czarną reakcją (wł. *reazione nera*), opracował Camillo Golgi w 1872 r. (stąd metodę tą nazywa się także metodą Golgiego). Przepis na uzyskanie dobrego preparatu był następujący:

- 1) umieść (na 2 dni) fragment tkanki nerwowej (10 x 5 mm) zakonserwowany w formaldehydzie w wodnym 2% roztworze dwuchromianu potasu ( $K_2Cr_2O_7$ ),
- 2) osusz preparat za pomocą papieru,
- 3) umieść preparat (na 2 dni) w wodnym 2% roztworze azotanu srebra ( $AuNO_3$ ),
- 4) przygotuj wycinki grubości  $20 \div 100 \mu m$ ,
- 5) osusz przygotowane preparaty za pomocą etanolu.

Komórki są barwione w wyniku mikrokryształizacji chromianu srebra na błonie lipidowej. Cechą charakterystyczną tej metody, do dzisiaj do końca nie wyjaśnioną, jest fakt, że wybarwieniu podlegają pojedyncze, przypadkowo rozłożone w preparacie komórki nerwowe i że barwienie obejmuje zawsze

całą komórkę. Możliwe było zatem obserwowanie pojedynczych komórek na tle tkanki nerwowej.

Owoce opisanych tu badań była praca „Sulla struttura della sostanza grigia del cervello” opublikowana w *Gazzetta Medica Italiana* w 1873 r. (GOLGI 1873). Pierwsze wyniki uzyskane za pomocą własnej metody barwienia opisał Golgi w publikacji z roku 1875. W 1875 r. powrócił na Uniwersytet w Pawii, a od 1881 r. objął katedrę patologii ogólnej. Zorganizował wówczas laboratorium, które stało się szybko bardzo prężnym ośrodkiem badań histologicznych układu nerwowego. Pracowali tam między innymi Norweg Fridtjof Nansen (1861–1930), laureat pokojowej Nagrody Nobla z 1922 r., Adelchi Negri (1876–1912), który odkrył struktury wewnątrz-neuronowe zwane obecnie ciałkami Negriego, oraz Emilio Veratti (1872–1967), który jako pierwszy opisał retikulum sarkoplazmatyczne w komórkach mięśniowych.

Posługując się opracowaną przez siebie techniką barwienia, Golgi dokonał szeregu odkryć naukowych dotyczących struktury układu nerwowego. Opisał między innymi dwa ważne rodzaje komórek nerwowych: neurony Golgiego typu I (o wydłużonych aksonach rozciągających się daleko od ciała komórki; dzisiaj nazwane neuronami projekcyjnymi) oraz neurony Golgiego typu II (o aksonach rozgałęziających się w pobliżu ciała komórki; nazywane obecnie interneuronami).

Do najbardziej znanych odkryć Golgiego zalicza się odkrycie organelli znanej obecnie pod nazwą aparatu Golgiego. Golgi opisał tę strukturę jako wewnętrzny „aparat siateczkowy” występujący w ciele komórki nerwowej, zwykle w pobliżu jądra komórkowego. Zakładał, że funkcja biologiczna „aparatu siateczkowego” jest związana ze szlakiem metabolicznym. Swoje obserwacje przedstawił na spotkaniu Towarzystwa Medyczno-Chirurgicznego Pavii w 1898 r. (BENTIVOGLIO 1998c). Wielu uczonych nie uznawało jednak istnienia takiej struktury i uważali, że obserwacje opisane przez Golgiego dotyczą artefaktu pojawiającego się w procesie barwienia preparatu. W 1913 r. Nusbaum nadał omawianej strukturze wewnątrz-komórkowej nazwę „aparat Golgiego”. Istnienie aparatu Golgiego zostało potwierdzone dopiero w latach 50. XX w. podczas analizy struktury

ralnej wnętrza komórek za pomocą mikroskopu elektronowego (DALTON i FELIX 1954, SJÖSTRAND i HANZON 1954, POLLISTER i POLLISTER 1957). Prace Golgiego opublikowano wspólnie w dziele „Opera Omnia” wydanym w 1903 r.

Santiago Ramon y Cajal (1852–1934) urodził się we wsi Petilla w Aragonii (BENTIVOGLIO 1998a). Jego ojciec był miejscowym chirurgiem. W późniejszym okresie (od 1870 r.) rodzina przeniosła się do Saragossy, a ojciec podjął pracę na miejscowym uniwersytecie. W dzieciństwie Santiago pragnął zostać artystą malarzem. Zdolność przenoszenia oglądanych obrazów na rysunki stała się bardzo ważnym elementem jego późniejszej kariery naukowej. Ukończył medycynę na Uniwersytecie w Saragossie. Wkrótce potem został wcielony do armii i służył jako lekarz wojskowy w jednostkach hiszpańskich na Kubie.

Karierę naukową rozpoczął w 1875 r. jako profesor pomocniczy anatomii na Uniwersytecie w Saragossie. W późniejszych latach pracował jako profesor anatomii opisowej na uniwersytecie w Walencji (1883–1886) oraz jako profesor histologii i anatomii patologicznej na uniwersytecie w Barcelonie (1887–1892). Podobne stanowisko zajmował też na uniwersytecie w Madrycie, gdzie pracował do końca życia (1892–1922).

W 1877 r. z własnych oszczędności zakupił stary mikroskop optyczny i rozpoczął badania naukowe. Początkowo zajmował się strukturą włókien mięśniowych. Punktem przełomowym w karierze Cajala było poznanie nowej techniki barwienia preparatów tkanki nerwowej. Zapoznał się z tą metodą w 1887 r. za pośrednictwem psychiatry, entuzjasty badań histologicznych, Luisa Simarro Lacabry (GLICKSTEIN 2006). Była to metoda opracowana przez Golgiego 14 lat wcześniej, lecz w owym czasie bardzo słabo rozpowszechniona. Badania układu nerwowego prowadzone przez Cajala dotyczyły siatkówki oka, mózdzku oraz rdzenia kręgowego.

W październiku 1889 r. Cajal udał się na Kongres Niemieckiego Towarzystwa Anatomicznego, by tam przedstawić wyniki swoich badań. Cajal był przeciwny hipotezie wysuwanej przez Josepha von Gerlacha (1820–1896) i Camillo Golgiego, iż układ nerwowy jest siecią ciągłych elementów (nie podzielonych na mniejsze elementy składowe – komórki). Był natomiast przekonany, że układ nerwowy jest zbudowany z miliardów rozłącznych

komórek nerwowych. Wielkie poparcie dla swoich hipotez uzyskał Cajal ze strony niemieckiego anatoma Wilhelma Waldeyera-Hartza (1836–1921), którego uważa się za twórcę doktryny neuronowej. Zasadnicze zręby nowej teorii Waldeyer-Hartz opublikował w kilku pracach z 1891 r. (patrz DEFELIPE 2002). W tekście tych prac pojawiło się między innymi określenie „neuron” jako nazwa komórki. Ramon y Cajal opisał natomiast swoje obserwacje i hipotezy w dziele „Textura del Sistema Nervioso sel Hombre y los Vertebrados” (w trzech tomach 1897, 1899 i 1904). Znalazły się tam między innymi liczne ilustracje przygotowane przez Cajala na podstawie obserwacji prowadzonych za pomocą mikroskopu. Dodatkowo w dziele tym Cajal opisał prawo dynamicznej polaryzacji komórek nerwowych, wskazujące na kierunek przepływu impulsów w każdej pojedynczej komórce.

Cajal do końca życia walczył o uznanie wysuwanych przez siebie tez i hipotez dotyczących struktury układu nerwowego. Jedną z kwestii spornych była struktura dendrytów (patrz GLICKSTEIN 2006). Cajal zaobserwował istnienie kolczastych wypustek na dendrytach, które Golgi i inni, wśród nich Rudolf Kölliker, uznali za artefakty powstałe w czasie barwienia preparatu. Cajal udowodnił istnienie wypustek, posługując się zmodyfikowaną metodą barwienia Golgiego oraz metodą Ehrlicha (EHRlich 1886). Kolejna kontrowersja łączy się z problemem plastyczności neuronów (patrz STAHNISCH i NITSCH 2002). Pojawił się on w pracach Cajala dotyczących degeneracji i regeneracji komórek nerwowych (RAMON Y CAJAL 1907, 1914–1915). Pojęcie „plastyczności neuronów” zostało zaproponowane początkowo przez rumuńskiego naukowca Ioana Minea (1878–941). Cajal posłużył się nim w odniesieniu do komórek obwodowego układu nerwowego, a później rozszerzył je na komórki centralnego układu nerwowego: mózgu i rdzenia kręgowego. Uczeń niemieccy Max Bielschowsky (1869–1940) oraz Walther Spielmeier (1880–1939) przedstawili zastrzeżenia co do zasadności takiego rozszerzenia. Wskazywali przy tym na dogmat, który przewidywał niezmiennosc układu nerwowego w dojrzałym organizmie. W swych początkowych pracach na ten temat Cajal nie odrzucał jednak znanego dogmatu. Wskazywał natomiast, na podstawie kolejnych obserwacji, na możliwość regeneracji uszkodzonych komórek.

## NAGRODA

Już w 1901 r. Rudolf Albert Kölliker (1817–1905) przedstawił kandydaturę Golgiego do Nagrody Nobla w dziedzinie medycyny i fizjologii (GRANT 2007). Kandydaturę tą popierał też w 1902 roku i przez kolejne lata Gustaf Retzius (1842–1919), który jednak później wskazywał na kandydaturę Cajala lub proponował przyznanie wspólnej nagrody dla Golgiego i Cajala. Podobne propozycje wysuwali też C. M. Fürst (1854–1935), Th. Ziehen (1862–1950) i E. Holmgren (1866–1922). Ostatecznie przyznano obu kandydatom Nagrodę Nobla w 1906 r.

Golgi i Cajal spotkali się tylko raz na uroczystości wręczenia nagród. Uroczystość odbyła się 10 grudnia 1906 r. Następnego dnia wykład noblowski pt. „La Doctrine du Neurone” wygłosił w języku francuskim Caillo Golgi. Kolejnego dnia, tj. 12 grudnia, wykład noblowski pt. „Structure et connexions des Neurones”, również w języku francuskim, wygłosił Santiago Ramon y Cajal.

Wykład przedstawiony przez Golgiego wywołał konsternację. Zamiast oczekiwanego podsumowania prac na temat struktury układu nerwowego, Golgi przedstawił krytykę powszechnie już wówczas uznawanej doktry-

ny neuronowej. Na wstępie przedstawił trzy zasadnicze postulaty doktryny neuronowej :

- neuron jest jednostką embrionalną,
- w swojej dojrzałej formie neuron jest pojedynczą komórką,
- neuron jest jednostką fizjologiczną.

Następnie poddał te tezy krytyce, wskazując na znacznie lepszą interpretację wyników, jaką można uzyskać w oparciu o model aparatu siateczkowego.

Wykład wygłoszony przez Cajala dotyczył głównie różnych procesów fizjologicznych tkanki nerwowej. Już na wstępie wskazał na trzy postulaty fizjologiczne, jakie wynikają z założeń o strukturze neuronowej:

- impulsy nerwowe są przesyłane z jednej komórki nerwowej do drugiej na drodze krótkiej indukcji lub przez rodzaj oddziaływania przez przestrzeń,
- ciało komórki nerwowej, dendryty i akson stanowią rodzaj przewodników,
- kierunek przepływu sygnału jest zdefiniowany od ciała komórki, wzdłuż aksonu, ku połączeniu z kolejną komórką.

Dalsza część wykładu poświęcona była omówieniu doświadczeń przemawiających za słusznością tych postulatów.

## ZAKOŃCZENIE

Trudno jest pisać zakończenie dla historii, która otwierała nowy rozdział badań w zakresie fizjologii i cytologii. Za prekursora tych badań uznano Santiago Ramon y Cajala. Nie tylko przyczynił się on do sformułowania doktryny neuronowej, ale wskazał na postać połączenia pomiędzy neuronami. Dopiero w 1897 r. Charles S. Sherrington (1857–1952)

nadał temu połączeniu nazwę „synapsa” i przyczynił się do rozwoju badań nad fizjologią tkanki nerwowej. Pierwsze, dość szczegółowe dane na temat struktury synapsy pojawiły się jednak dopiero w połowie XX w. W 1959 r. George Gray (1924–1999) przedstawił nowe wyniki badań, posługując się mikroskopem elektronowym (GUILLERY 2000).

## DISCOVERY OF A CELLULAR STRUCTURE OF THE NERVOUS TISSUE

## Summary

A great breakthrough in development of biological sciences was the cell theory formulated in the first half of the 19<sup>th</sup> century. It permitted a reduction of the studies of a huge diversity of living organisms to analysis of a single animal or plant cell. Till the end of the 19<sup>th</sup> century the nervous tissue was not described in terms of this theory, because a simple optical microscope was an insufficient instrument when applied in the studies of such complex but fascinating structure. The implementation of the new method of staining pro-

posed by Golgi – *reazione nera*, opened the possibility of structural investigation of the nervous tissue. Camillo Golgi and Santiago Ramon y Cajal were the first to apply this method in cytological studies. They worked separately, on the same set of data, but the interpretations presented by each of them led to substantially different conclusions. The work of Cajal has become fundamental for development of the neuron theory, which – together with the postulate of the functional localization – is basic for the current knowledge of the struc-

ture and function of the nervous system. Therefore, Santiago Ramon y Cajal has been recognized as the precursor of the research discipline known as neuroscience.

## LITERATURA

- BENTIVOGLIO M., 1998a. *Life and Discoveries of Santiago Ramon y Cajal*. <http://nobelprize.org>.
- BENTIVOGLIO M., 1998b. *Life and Discoveries of Camillo Golgi*. <http://nobelprize.org>.
- BENTIVOGLIO M., 1998c. 1898: *The Golgi apparatus emerges from nerve cells*. Trends Neurosci. 31, 195-200.
- DALTON A. J., FELIX M. D., 1954. *Cytologic and cytochemical characteristics of the Golgi substance of epithelial cells of the epididymis – in situ, in homogenates and after isolation*. Am. J. Anat. 94, 171-208.
- DEFELIPE J., 2002. *Sesquicentenary of the birthday of Santiago Ramon y Cajal, the father of modern neuroscience*. Trends Neurosci. 25, 481-484.
- EHRlich P., 1886. *Über die Methylenblaureaction der lebenden Nervensubstanz*. Deutsche Medizinische Wochenschrift 12, 49-52.
- GLICKSTEIN M., 2006. *Golgi and Cajal: The neuron doctrine and the 100<sup>th</sup> anniversary of the 1906 Nobel Prize*. Curr. Biol. 16, R147-R151.
- GOLGI C., 1873. *Sulla struttura della sostanza grigia del cervello*. Gazz. Med. Ital. Lombardia 33, 244-246.
- GRANT G., 2007. *How the 1906 Nobel Prize in Physiology or Medicine was shared between Golgi and Cajal*. Brain Res. Rev. 55, 490-498.
- GUILLERY R. W., 2000. *Early electron microscopi observations of synaptic structures in the cerebral cortex: a view of the contributions made by George Gray (1924-1999)*. Trends Neurosci. 23, 594-598.
- POLLISTER A.W., POLLISTER P. F., 1957. *The structure of the Golgi apparatus*. Int. Rev. Cytol. 6, 85-106.
- RAMÓN Y CAJAL S. R., 1907. *Regeneracion de los Nervios*. Moya.
- RAMÓN Y CAJAL S. R., 1913-1914. *Estudios sobre la degeneracion del sistema nervioso*, Moya.
- SJÖSTRAND F. S., HANZON V., 1954. *Ultrastructure of Golgi apparatus of exocrine cells of mouse pancreas*. Exp. Cell. Res. 7, 415-429.
- STAHNISCH F. W., NITSCH R., 2002. *Santiago Ramón y Cala's concept of neuronal plasticity: the ambiguity lives on*. Trends Neurosci. 25, 589-591.