

# Přínos Jana Evangelisty Purkyně k mikroskopii a histologii. Pronikání hranic obyčejného vidění

*Je to badatelův duch, který přináší pokrok a objevy ve vědě;  
technické přístroje, pomůcky a další vybavení mají význam podružný.  
Celá příroda staniž se úplně průhlednou oku i rozumu.*

Jan Evangelista Purkyně

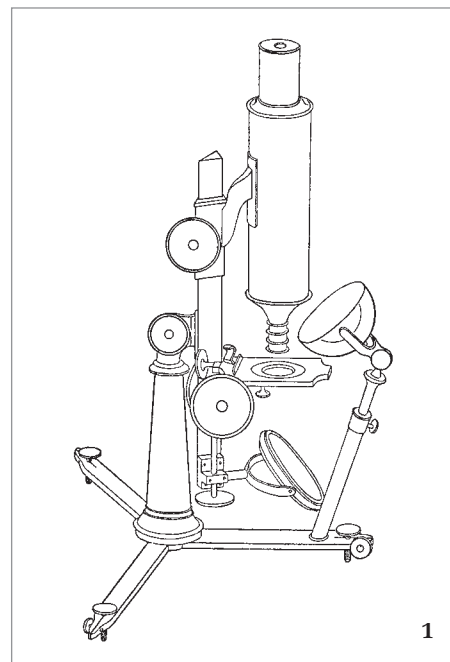
Jan Evangelista Purkyně (1787–1869) díky nadání, pracovitosti, mimořádné invenci a neuvěřitelné mnohostrannosti významně obohatil řadu přírodovědných disciplín: medicínu, fyziologii, psychologii, farmakologii, botaniku, zoologii, anatomii, embryologii, histologii, mikroskopickou techniku. Povšimněme si nyní blíže dvou oborů – histologie a mikroskopie. Po získání profesury fyziologie na lékařské fakultě univerzity ve Vratislavi v r. 1823 Purkyně se svými žáky bohatě využíval ke studiu histologie rostlin, živočichů i člověka mikroskopickou techniku a další přístroje, k jejichž vylepšení nebo zkonstruování díky své technické erudici sám významně přispěl.

Pravděpodobně již během studií na piaristickém gymnáziu v Mikulově v letech 1800–04 měl J. E. Purkyně příležitost seznámit se s jednoduchým mikroskopem, dnes uloženým v tamním muzeu. Rovněž je možné, že jeho budoucí tchán, berlínský profesor anatomie Karl Asmund Rudolphi, výtečný mikroskopik a histolog, mohl Purkyněho inspirovat k využití mikroskopu k výzkumu. V Purkyněově pozůstalosti se údajně nacházely dva mikroskopy. První byl kružítkový (skřipcový), jehož jedno rameno neslo pozorovaný objekt a druhé lupu; rozevíráním ramen se obraz zaostřoval. Snad bylo možné pro různá zvětšení kombinovat několik čoček sešroubováním. Druhým mikroskopem byl dřevěný aparát – objektiv tvořila bikonvexní čočka a okulár se skládal ze dvou jednoduchých bikonvexních čoček. Nejlepší obraz dával při stonásobném zvětšení. Tento přístroj podle popisu zřejmě pocházel z druhé poloviny 18. století z Norimberka. Zajímavostí byl nápis na okuláru Johannes Ew. Purkynje Med Univ Studiosus, který můžeme číst buď jako zkratku titulu MUDr. (doktor veškeré medicíny) – tento titul byl však udílen až od r. 1872 – nebo jako „univerzitní student medicíny“. Je pravděpodobné, že nápis představuje dodatečně vyhotovený padělek. Tento mikroskop je od r. 1945 neznámý. Existuje také zmínka z r. 1929 o dalším dřevěném mikroskopu, který měl Purkyně zpočátku používat, ale údajně zjistil, že přístroj sice silně zvětšuje, avšak vzhledem k chromatické a sférické vadě (barevnému lemování obrazu způsobenému závislostí ohniskové vzdálenosti objektivu na vlnové délce světla) dává horší obraz. Pro úplnost ještě uvedme, že podle některých údajů si Purkyně v r. 1850 do Prahy z Vratislavi přivezl achromatický mikroskop (s odstraněnou barevnou vadou kombinací čoček z různých materiálů) berlínského optika Friedricha Wilhelma Schiecka. Tento přístroj se

nyní nachází v Ústavu experimentální botaniky Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity.

Morfologická pozorování, kterými se Purkyně začal zabývat záhy po příchodu do Vratislavi, zprvu konal s pomocí lupy. V r. 1825 vypracoval pojednání pro pamětní spis k padesátiletému výročí doktorátu nestora německých přírodovědců prof. Johanna Friedricha Blumenbacha. Téma se týkalo vývoje slepičího vejce. A tak během tří měsíců doslova spotřeboval 22 slepic – nejdříve k pitvám a následně k jídlu. Ke zkoumání byl tehdy vyzbrojen pouze silnou lupou. Po letech na tuto práci vzpomínal: „Také jsem některé nepatrné věci vynalezl, kterými jsem si žaludek pokazil. Jal jsem se totiž bádání o prvotním vzniku ptačího vejce a tu, kde kterou slepici jsem koupil, rozřezal, vaječník prozkoumal a pak ji moje manželka uvařila. To jsem dělal tři měsíce. Manželka už nemohla slepici cítit, když se vařila. Nu a já jsem prvněkrát popsal a vyobrazil měchýřek zárodkový, který nyní pod mým jménem jest znám po světě. To tedy víte, ale také ještě víte, že tento náález pokazil celé mojí rodině žaludek.“

Později Purkyně poznamenal: „... dobrý jednoduchý drobnohled dávno postačí při dvaceti- až dvěstěnásobném zvětšení pro většinu prací“. Po velkém úsilí se mu až počátkem r. 1832 podařilo získat kvalitní, mechanicky dokonalý mikroskop od vídeňského optika Simona Plössla za 200 pruských tolarů, který v té době převyšoval vše, co bylo zkonstruováno. Purkyně si sám určil vybavení a příslušenství. Dne 12. dubna 1832 Purkyně mikroskop podrobně demonstroval Učené slezské vlastenecké společnosti. Mikroskop na třech skládacích nohách byl mosazný, zaostřování se pohybovalo na ocelové prizmatické tyči (hranolu s rovnoběžnými bočními stěnami). Objektiv se dal sestavit vzájemným sešroubováním až 7 achromatických aplanačních čoček v různých kombinacích.



1 Schéma mikroskopu podle popisu podobného Purkyněovu Plösslovu přístroji. Převzato a upraveno podle: I. Kubišta a V. Švarc Purkyně ve Vratislavi (Státní pedagogické nakladatelství, Praha 1959)

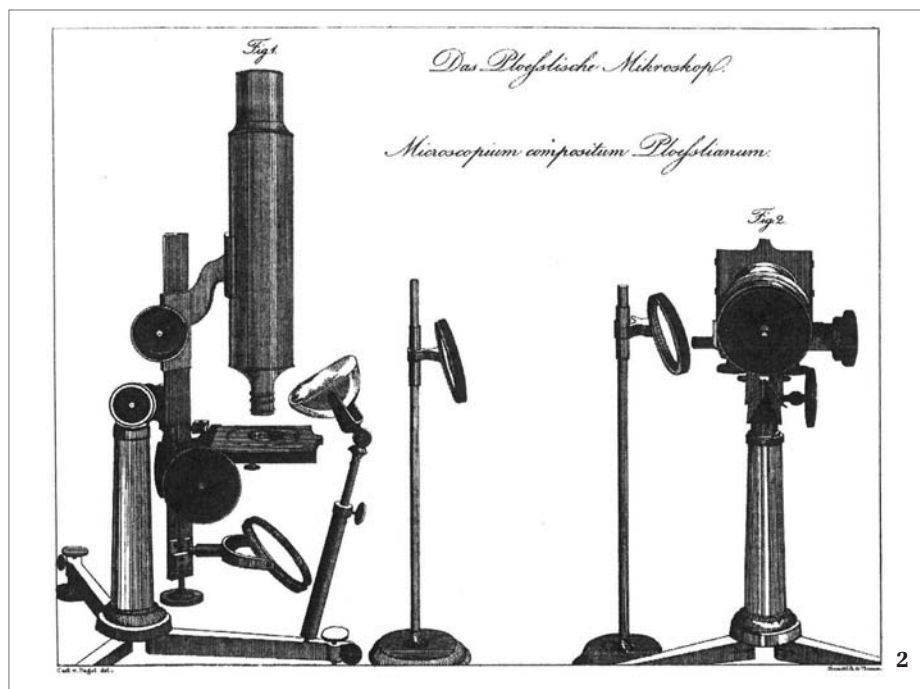
Okulárů měl pět, každý sestavený z jednoduché čočky a složených skel. V ohnisku objektivu č. 2 byl kříž z pavučinového vlákna k mikrometrickému použití. Stolek mikroskopu nepostrádal klipsy k uchycení pozorovaného objektu. Dva šrouby sloužily k posouvání objektu všemi směry. Pod stolek se nacházelo otáčivé konkávní zrcátko pro prosvětlování. Neprůhledné objekty bylo možné osvětlit z horní strany Selligueovým hranolem, upevněným na stojanu na předním ramenu podstavce. K tomuto zařízení náležela velká lupa na mosazném stojanu, koncentrující světlo pro hranol. Součástí mikroskopu byl Fraunhoferův mikrometr, sklíčka pro pozorování v tekutině, jehla pro fixaci objektu na stolku, mosazná pinzeta, aplanační lupa a další vybavení. Mikroskop zvětšoval 20krát až 1080krát. Přístroj s veškerým vybavením byl uložen v leštěné skřínce z ořechového dřeva. Jeho vyobrazení se nedochovalo a současný osud není znám.

Konečně tedy byly vytvořeny podmínky pro histologická bádání s řadou originálních výsledků a objevů. Pocity nad získaným Plösslovým mikroskopem Purkyně popsal: „I dostal jsem výborný toho druhu nástroj. Tím mně příležitost dána, ano jakási povinnost uložena dobrým užitím tak vzácného prostředku vědě i učení prospěchy získati. [...] Jen dost povrchní vzhled na stav histologie poučil mne, jak mnoho leží tu ještě půdy nevzdělané, ano že při tak značném zdokonalení mikroskopu ouplná reforma těmto naukám nastává“. Příteli Rudolfu Wagnerovi vyjádřil svou radost: „S akvisicí Plösslova mikroskopu počala v létě 1832 v mé fyziologické činnosti nová epocha. Každý, kdo mikroskop vážně použil, ví, že oko naše jest potencionáno tou měrou, že veškeré hranice obyčejného vidění proniká a všude nové světy odkrývá. S pravým vlčím hladem

propátral jsem všechny obory histologie zvířecí i rostlinné a nabyl jsem přesvědčení o nevyčerpatelnosti nově nabyté látky. Skoro každý den přinesl nová odkrytí a cítil jsem potřebu stupňovaného svého oka popřáti i jiným, abych se mohl radovati z radosti patření jiných. Rovněž použití jsem chtěl příležitosti, abych veřejný a živý doklad ukázal, v jakém způsobu ústav fyziologický získáním nových pracovníků vědě se užitečným může státi. Tak vznikla řada fyziologických disertací, které na tomtéž přístroji v mém domě od doktorandův lékařství byly pracovány a jimiž zejména poznání částic elementárních organismů ve mnohém směru bylo přispíváno. Sám jsem doznal povzbuzení mladými kruhy a podařil se mi tak mnohý šťastný nález...“

Purkyně se zabýval také otázkou, jaké vlastnosti má mít mikroskopik. Za nevhodnější považoval barvu očí světlehnědou nebo zelenkavou, méně vhodné jsou prý oči černé nebo modré a šedé, protože se snadněji unaví. Za jistou výhodu považoval mírnou krátkozrakost (myopii), protože myopické oko musí vždy volit maximální fokální (ohniskovou) vzdálenost, čímž se tato vada spíše zmenšuje. Při dalekozrakosti jsou poměry obrácené, a tak práce s mikroskopem hypermetropii spíše zhoršuje. Mikroskop označoval jako „uměle potencované oko“. K prohlížení v mikroskopu dodává: „I když je oko sebelépe konstituováno, patří přece jen k mikroskopii podstatně pohotovost a umění – ano talent – vidět, vlastní pohled. Nestačí jen vidět, je nutno umět se dívat; ze smyslově daných elementů se musí vytvořit objektivní živý názor, jenž není jen věcí jednoho smyslu, nýbrž celé duševní schopnosti, celého člověka se všemi jeho dobrými i špatnými vlastnostmi. – Je dále nutno oprostit se od všech sofistických, předpojatých názorů. A konečně je potřeba k vědecké práci klidu. Jsou nešťastné dny, kdy pořádně nevidíme; pak je lépe toho nechat, zvláště když jsme jinými vlivy nějak rozrušeni. Nic není čistě vědeckosti škodlivější, než bouřlivý veřejný život. Jako ona sama (věda) je abstrakcí, tak se může její pěstování dařit jen v momentální izolaci. – Jinou pro bádání nepříznivou okolností je, jestliže se mezi badatelem a předmětem ještě nevytvořil vnitřní milostný vztah. Předmět musí mít jistou individualitu, jeho části musí kvalitativně i kvantitativně cítit k jistému celku. Musí obsahovat vnitřní nekonečnost, která jej činí schopným, aby sloužil jako orgán nekonečné svobody a pohyblivosti ducha. Neboť duch se raduje jen z duchovního, v tom spočívá podstata každé pravé lásky, a tak také v přírodovědě. Jen tak zaručuje předmět duchovní svobodu a dostává sám charakter osobnosti, jejíž podstatou je svoboda.“

Při posuzování mikroskopu Purkyně doporučoval hodnotit jasnost zorného pole, čistotu a jasnost obrazu, velikost zorného pole, ohniskovou vzdálenost, stupeň zvětšení a účelnost mechanismu. Po návratu do Prahy v r. 1850 dal popud k výrobě mikroskopů u nás, které se ujal pražský optik Ferdinand Durst. Mikroskopy měly dva okuláry a dva objektivy s achromatickými čočkami (jeden objektiv byl rozkládací, složený ze čtyř čoček s možností jejich



kombinování), zvětšovaly až 450krát. Purkyně s Durstem také mikroskopy upravovali pro výukové potřeby, aby do jednoho mohlo současně nahlížet více okuláry několik pozorovatelů. Při práci Purkyně zprvu používal různé pinzety, nožičky, háčky, drátky, štětečky, štětiny a žíně. Postupně zavedl řadu nových pomůcek a přístrojů. Objevil myšlenku mikromanipulátoru, mikrodynamometru, refraktometru, sestrojil kompresorium (mikroskopické tlačidlo), mikrometrické nůžky a mikroskopický goniometr (úhломěr). Zavedl pozorování v tmavém poli, mikrofotografii a promítání mikroskopických obrazů na bílou plochu.

Mimořádně rozsáhlý a plodný je Purkyněův přínos do histologické techniky – přípravy tkání ke zhotovení a prohlížení mikroskopických preparátů. Tkáně bylo napřed nutné fixovat (vytvrdit). Purkyně vyzkoušel vaření ve vodě, dále kamenec, kreozot, chlorid sodný nebo draselný. Nejvíce se mu osvědčil alkohol, kyselina octová a sublimát. Tvrdá tkáň kostí a zubů se musela napřed odvápněním změkčit – k tomu používal zředěnou kyselinu chlorovodíkovou nebo dusičnou. Poté nožem či jemnou pilkou z hodinového perka nakrájel tenké plátky a dále do tenka vybrušoval. Ve výbrusu prohlížel také vaječné skořápky. K nakrájení tkáněových řezů tenkých několik mikrometrů se zprvu používaly nože nebo břitva. Purkyně s asistentem Adolfem F. Oschatzem v r. 1841 k tomuto účelu nechal ústavním mechanikem Rösseltem zkonstruovat moderní mikrotom, jehož princip se užívá dodnes. Zavedl dále zhotovování a prohlížení sériových řezů. Řezy v mikroskopu prohlížel buď nebarvené, nebo je barvil např. inkoustem, indigem, jodovou tinkturou, chromovými solemi, případně pomocí rostliny mořený barvířské (*Rubia tinctorum*). Rovněž zavedl umělé natrávení mikroskopických preparátů v tekutině z výtazku sušeného hovězího žaludku s kyselinou chlorovodíkovou. Mikroskopické preparáty uchovával sušené či vlhké. Sušené ukládal buď volně na vzduchu, nebo v olejích, kanadském balzámu, laku kopálovém, jantaro-

2 Plösslův mikroskop podle popisu nejvíce odpovídající Purkyňovu. Vlevo ve svislé poloze s konvexní čočkou a hranolem pro pozorování průsvitných a neprůsvitných objektů, vpravo ve vodorovné poloze, jak se používal pro pozorování neprůsvitných objektů. Vyobrazení z monografie Ch. J. Berrese (1837)

vém apod. Vysušené preparáty vyjasňoval terpentýnovým nebo olivovým olejem. Vlhké uchovával stejně a před vyschnutím je chránil lakem nebo krycím sklíčkem zarámovaným asfaltovým či kopálovým lakem.

Své originální myšlenky a objevy Purkyně přednášel studentům, na různých sjezdech, psal o nich v krátkých článkách a mnoho zanechal ve svých poznámkách (dnes nezvěstných). Při širokém záběru, překypujících nápadech a neutuchající invencí nepřekvapuje, že se nikdy nedostal k sepsání souborného díla „nemaje prostě ducha k podnikům takovým [...] on přemýšlel vždy do posledního kousku na hobliny rozstrouhal, svým posluchačům sděloval, co na nich vidět jest a pak vždy do nové práce se pouštěl. Posluchači sbírali třísky a svět se divil, co oni mu z těch hoblin hlásali“.

Řadu histologických nálezů prezentoval sám, mnohé jsou uloženy v latinsky psaných doktorských disertacích jeho žáků, které vznikly v letech 1833–45. Tyto práce konal se studenty zprvu ve svém vřatislavském bytě, až od r. 1839 v nově zřízeném fyziologickém ústavu. Uvádíme je zde i s jejich autory: O lidské pokožce (A. Wendt 1833), Příspěvky k výzkumu savčího vejce před oplodněním (A. Bernhardt 1834), Vnitřní složení kostí (K. Deutsch 1834), Vnitřní složení lidských zubů (M. Fraenkel 1834), Vývoj savčích zubů (I. Raschkow 1835), Složení tepen a žil (F. Rüschele 1836), Vnitřní složení chrupavek (M. Meckauer 1836), Vývin rodidel u ženského zárodka (A. Hanuschke 1837), O plenách obalujících míchu (O. Luening 1839), O buněčných útvarech v čívech a jiných částech živočiš-



ného těla (J. Rosenthal 1839), O složení srdečního svalstva (B. Palicki 1839), O vláknité stavbě neobtěžkané dělohy (G. Kasper 1840), Počet a drobnohledné rozměry vláken centrální nervové soustavy (D. Rosenthal 1845).

Dále uvedme alespoň stručný název hlavních Purkyňových (převážně samostatných) histologických prací: 1825 – o vzniku vajíčka v těle slepice, o mikroskopické stavbě rostlin; 1834 – studium pohybu řasinek na epitelu; 1836 – rozlišení tří struktur v nervovém systému (červenosedá vlákna, nervová vlákna holá a v obalech, gangliová zrna, tedy nervové buňky, neurony), objev kmitajících řasinek v komorách mozku u embryí savců, studium plexu chorioideu; 1837 – nález škrobovitých tělísek v mozku (corpora amylacea), o žlázách ve sliznici žaludku, popis osového válce nervu (axonu), popis „tělísek tvaru plodu fíkového“ v kůře mozečku (Purkyňovy buňky); 1838 – stavba nervových vláken zviditelněných kyselinou octovou; 1839 – objev pletení nervových vláken v různých orgánech a tkáních, objev vláken v srdci ovce (Purkyňova vlákna převodního systému).

V r. 1837 Purkyně na základě histologických pozorování dospěl k vlastní formulaci

buněčné teorie poukázáním na shodu základních stavebních jednotek těla živočišného i rostlinného. Tuto myšlenku lze vysledovat k r. 1759 u Caspara F. Wolffa, r. 1809 u Lorenze Okena nebo r. 1824 u Henriho Dutrocheta, kteří již uvažovali o jednotné stavbě těla živočichů a rostlin, ačkoli živočišná buňka nebyla ještě známa. Teprve Purkyně našel pravé buňky živočichů, které označoval jako zrníčka (Körnchen) s centrálním jádrem. Hmotu zrníček nazval protoplazma. O své teorii se Purkyně okrajově zmínil na sjezdu lékařů a přírodopvců v září 1837 v Praze během své přednášky O stavbě žláz žalu-dečních a o povaze procesu trávení. Podotkl, že „tím způsobem uvede se konečně zvířecí organismus na tři hlavní prvotní útvary: zrnitý, tekutý a vláknitý. Zrnitý útvar základní ukazuje na analogii s rostlinou, která jak známo skoro celá ze zrn neboli buněk se skládá“. Při této příležitosti upozornil na podobná zrnka s jádry, která nalezl asi ve 20 jiných orgánech. Buněčnou teorii pak systematicky zformuloval botanik Matthias Jacob Schleiden (1838) a následně ji zobecnil Theodor Schwann (1839). Schwann ve své knize uvádí 26 různých tkání, u většiny z nich ale jmenuje předcházející výzkumy Purkyňovy nebo

jeho žáků. Po zveřejnění publikace podává Purkyně námitky; akceptoval sice Schwannovu prioritu, ale zdůrazňoval svůj podíl a zejména terminologické rozlišení Zellenlehre a Körnchentheorie, neboť označení zrníčkové struktury pro živočišné tkáně lépe odpovídá empirii.

Je-li za tvůrce nauky o tkáních označován Marie F. X. Bichat, který ve své knize *Traité sur les membranes* v r. 1800 popsal 21 druhů tkání, plným právem pozdější vřatislavský fyziolog a histolog Rudolf Heidenhain označil Purkyňův fyziologický ústav za kolébku histologie.

*Jaké ohromné peníze vydávají se na udržování diplomatických poměrů, na vedení války, zřízení policie, na stálé vojsko, na byrokracii, na panující církev! Kdyby jen část toho, dokud příjmy státu dovolují, vynaložena byla na politiku lásky, bylo by mnoho získáno.*

Jan Evangelista Purkyně

Seznam použité literatury je uveden na webové stránce Živy. K dalšímu čtení např. Živa 2011, 5: 198–218 a 227–237; 2019, 4: 153–162.

Otakar Brázda

## Jan Horbaczewski – profesor chemie z Ukrajiny

V minulém roce uplynulo 80 let od smrti Jana Horbaczewského, profesora chemie na lékařské fakultě české univerzity v Praze. Horbaczewski byl Ukrajinec, který v Praze žil od svých 30 let a v Čechách našel druhý domov. V r. 1926 děkuje prezidentu T. G. Masarykovi za jeho laskavou náklonnost ukrajinské vědě a kultuře, pro kterou byly vytvořeny mimořádně příznivé podmínky v zemi bratrského českého národa. To je další důvod, proč připomínáme J. Horbaczewského v těchto dnech, kdy Česká republika opět poskytuje pomoc a podporu napadené a válkou těžce postižené Ukrajině.

Horbaczewski přichází do Prahy na pozvání profesorského sboru české lékařské fakulty, aby se ujal katedry lékařské chemie v r. 1883. V tomto roce zahajuje výuku na české lékařské fakultě na základě zákona z r. 1882, jímž byla pražská univerzita – původně Karlova, po Bílé hoře Karlo-Ferdinandova – rozdělena na českou a německou část. Rozdělení univerzity zakončilo dlouholeté snahy povolit v Praze na univerzitě přednášky v češtině. Vyučovací jazykem byla totiž němčina, která za školských reforem Marie Terezie a Josefa II. v r. 1784 nahradila na všech rakouských univerzitách středověkou latinu. Po r. 1848 sílí národní uvědomění v mnohonárodnostní habsburské monarchii, a s tím souvisí i přání přednášet na univerzitách národními jazyky. Polákům se podaří prosadit polštinu na univerzitě v Krakově, Maďarům maďarštinu v Pešti. V Praze se

však české přednášky na lékařské fakultě prosazují obtížně, i když na pražské technice se vyučovalo oběma jazyky již od 60. let. Vleklé jednání dostalo pozitivní impulz, když po volbách čeští poslanci ukončili období pasivní rezistence a vstoupili opět do vídeňského parlamentu. Nově zvolený ministerský předseda hrabě Eduard Taaffe potřeboval získat jejich podporu, a tak se záležitost češtiny na univerzitě v Praze rychle dostala na pořad jednání. Z několika navrhovaných možností vybral nakonec císař František Josef I. řešení rozdělující pražskou univerzitu na část českou a německou. To vyhlásil svým Nejvyšším rozhodnutím, prováděcí nařízení pak vydalo ministerstvo školství v únoru 1882.

Vyučování v obou jazycích na dosavadních ústavech nebylo průchodné, a tak bylo rozhodnuto postavit pro české teoretické obory novou budovu – byl vybrán volný pozemek v Kateřinské ulici, místo dosavadních dobytých trhů. Stavba byla zahájena v dubnu 1883 poté, co na pozemku skončil poslední trh, a předána již v říjnu téhož roku. Profesorský sbor české lékařské fakulty se sešel v červnu 1883, a na doporučení prof. Arnolda Spiny byl na místo profesora lékařské chemie pozván Jan Horbaczewski, asistent prof. Ernesta Ludwiga ve Vídni. Tento mladý vědec se proslavil svou třetí publikací, ve které v r. 1881 popsal syntetickou přípravu kyseliny močové. Prof. Spinu na něj upozornil pravděpodobně Čech, profesor vídeňské univerzity Eduard Albert. Spina ujišťoval



1 Jan Horbaczewski (1854–1942), „profesor medicínské lučby“ na české univerzitě. Podle fotografie kreslil Jan Vilímek. Z obrazového týdeníku pro zábavu a poučení, umění a písemnictví Světozor (1886, 20, sešit 25b, str. 797)

své kolegy, že Horbaczewski, původem Ukrajinec, bude schopen přednášet česky. České přednášky skutečně zahájil, ale češtinu se musel urychleně doučit.

Chemický ústav měl k dispozici čtyři místnosti v druhém poschodí budovy v Kateřinské ulici 32, jednoho asistenta a jednoho zřízence. Horbaczewski musel získané prostory vybavit nábytkem a potřebné chemikálie zpočátku objednával na úvér. V těchto skromných podmínkách zahájil výuku chemie v letním semestru