

МАЙОРОВА О. Ю.¹, ПРОКОП'ЯК М. З.¹, МІЩУК Н. Й.¹, ЗАГРИЧУК О. М.², ГРИЦАК Л. Р.¹, ДРОБИК Н. М.¹

¹Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Україна, 46027, м. Тернопіль, ORCID: 0000-0002-1927-4621, 0000-0002-2846-4208, 0000-0001-5964-3228, 0000-0002-2872-5201, 0000-0002-8927-8687

²Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, Україна, 46001, м. Тернопіль, ORCID: 0000-0003-0260-4740

ВАЛЬТЕР ФЛЕММІНГ: ЖИТТЄВИЙ ШЛЯХ ТА НАУКОВИЙ ДОРОБОК

У статті розглянуто основні етапи життя та діяльності Вальтера Флеммінга (нім. Walther Flemming; 21.04.1843–4.08.1905) – відомого німецького біолога, анатома, одного з найвідоміших гістологів XIX ст., основоположника цитогенетики. Медицину В. Флеммінг вивчав у чотирьох відомих університетах Німецької імперії – у Геттінгені, Тюбінгені, Берліні та Ростові. Після захисту дисертації з 1868 р. він викладав анатомію та гістологію у Вюрцбурзькому, Амстердамському, Ростовському університетах у Німеччині та Карлово-Фердинандовому університеті – в Чехії. Упродовж останніх 25 років життя був професором анатомії в університеті Крістіана Альбрехта в Кілі (Німеччина) і очолював один з його підрозділів – анатомічний інститут.

На початку наукової діяльності дослідження В. Флеммінга здебільшого стосувалися гістології та анатомії, а також розробки гістологічних методів і фіксації мікроскопічних препаратів. Проте, основні праці вченого присвячені дослідженню процесу поділу клітин та розподілу хромосом у дочірніх ядрах. Він першим ввів

поняття «мітоз», який вивчав на забарвлених мікропрепаратах, використовуючи як джерело біологічного матеріалу епітеліальні клітини саламандри. В. Флеммінг описав процеси в ядрі, розрізнув «прогресивну» і «регресивну» фази поділу клітин. Продемонстрував, що клітини містять ділянки, які поглинають базofilні барвники. Ці ділянки пізніше були названі хроматином; інші структури залишалися за таких умов незабарвленими, і тому були названі ахроматином. В. Флеммінг досліджував будову та функції веретена під час поділу клітини, а також вивчав полярну структуру і назвав її центріоль. Учений виявив, що непрямий поділ зазвичай має місце не лише у хребетних, але й у безхребетних і протистів. Встановив, що під час сперматогенезу відбуваються два послідовних, морфологічно відмінних ядерних поділи, у результаті яких відбувається розподіл хроматину на дві дочірні клітини. Таким чином, В. Флеммінг своїми дослідженнями сприяв розвитку клітинної біології та її галузей.

Ключові слова: Вальтер Флеммінг, історична особистість, цитогенетика, мітоз, хроматин.

Наукою, яка вивчає структурні одиниці клітини, що детермінують ознаки та властивості організмів, їх передачу під час вегетативного та статевого розмноження, є цитогенетика. На цитогенетичних дослідженнях базуються уявлення про матеріальні основи спадковості та мінливості [1]. Основний предмет досліджень цитогенетики – хромосоми, їх морфологія, структурна і хімічна організація, функції і поведінка в клітинах під час поділу. Завданням цитогенетичного аналізу є виявлення патологічного каріотипу. Основоположником цитогенетики вважається німецький біолог Вальтер Флеммінг, 180 років від дня народження якого минуло цього року.



© МАЙОРОВА О. Ю., ПРОКОП'ЯК М. З., МІЩУК Н. Й., ЗАГРИЧУК О. М., ГРИЦАК Л. Р., ДРОБИК Н. М.

Тому, метою нашої роботи є аналіз життєвого і наукового шляху В. Флеммінга, оцінка його внеску у розвиток цитогенетики як науки.

Вальтер Флеммінг народився 21 квітня 1843 р. у Заксенберзі (нині Шверін – адміністративний центр федеральної землі Німеччини Мекдленбург-Передня Померанія) у багатодітній сім'ї Карла Фрідріха Флеммінга та Огюст Вінтер.

Шкільну освіту Вальтер отримує у місцевій гімназії, після завершення якої, не зважаючи на свою любов до філології, вирішує вивчати медицину. Своє навчання В. Флеммінг розпочинає в Геттінгенському університеті, далі продовжує у Тюбінгенському та Берлінському і завершує його у Ростокському університеті.

Наприкінці 1868 р. В. Флеммінг захищає дисертацію про сполучні речовини та судинну стінку молюсків і стає приват-доцентом (академічним викладачем). Два роки він викладає анатомію та гістологію у Вюрцбурзькому та Амстердамському університетах. Під час франко-пруської війни 1870–1871 рр. В. Флеммінга призивають на службу військовим лікарем. У 1871 р. йому пропонують посаду прозектора (керівника розтинів тіл тварин та виготовлення анатомічних препаратів) у рідній alma mater у Ростокці. Окрім займаної посади, в університеті він викладає гістологію та порівняльну анатомію. Студенти захоплювались талантом В. Флеммінга до малювання. У своїх рисунках Вільгельм ніби на дошці оживляє клітини, органи чи організми. Усі публікації ученого в подальшому були власноруч проілюстровані витонченими детальними рисунками.

На формування наукового світогляду В. Флеммінга мали вплив такі вчені, як професор Берлінського університету, гістолог, основоположник патологічної анатомії та клітинної теорії Рудольф Вірхов, професор Ростокського університету, зоолог Франц Ейльхард Шульце, професор Вюрцбурзького університету зоолог Карл Готтфрід Земпер, професор Амстердамського університету, фізіолог та гістолог Віллі Кюне, учень видатного зоолога, анатома та гістолога, одного з перших «клітинних біологів» Макса Шульце [2].

У 1872–1875 рр. В. Флеммінг працює викладачем у Карлово-Фердинандовому університеті в Чехії (нині Празький університет). Після повернення до Німеччини у 1876 р., він стає професором анатомії в університеті Крістіана Альбрехта в Кілі і займає посаду директора анатомічного інституту. На цій посаді вчений пере-

буває до 1901 р., залишивши з цього року і викладання. Сучасники В. Флеммінга описують його як неконфліктну і миролюбну людину, професійного викладача, якого поважають студенти та активного керівника, який постійно дбає про розширення матеріальної бази та покращення умов для продуктивного навчання студентів-медиків.

У 1879 р. В. Флеммінг обраний членом академії Леопольдіна — товариства дослідників природи з 1652 р., яке в 2007 р. перейменовано на Німецьку академію наук. Обрання академіком Леопольдіни є найвищою академічною почесною Німеччини.

У п'ятдесятилітньому віці у В. Флеммінга виявляють важке неврологічне захворювання, через яке він змушений був піти у відставку. Помер видатний вчений 4 серпня 1905 року у віці 62 років в м. Кіль.

Анатомічний інститут університету Крістіана Альбрехта в Кілі, яким керував упродовж 25 років Вальтер Флеммінг, довгий час залишався провідним дослідницьким центром з порівняльної анатомії, гістології, цитології, і, зокрема, з вивчення мітозу [2].

На початку своєї наукової кар'єри (1868 р.) Вальтер Флеммінг, чийі знання з гістології здебільшого базувалися на зоологічних об'єктах, цікавиться органами чуття молюсків. Він також вивчає жирову тканину і чітко окреслює її належність до сполучної тканини. До цього жирова тканина вважалася окремим органом. Учений також аналізує ліпідні краплі як продукти клітинного метаболізму, інволюцію жирової тканини, тонку структуру волокон сполучної тканини та їх набряк під час обробки кислотами.

Оскільки, у той час не існувало загального переліку гістологічних методів, В. Флеммінг, щоб полегшити свої спостереження, значну частину часу витрачає на їх розробку [3, 4]. Він експериментує з різними кислотами, щоб знайти відповідний фіксатор для збереження дрібної (мікроскопічної) структури, яку він бачить у живих клітинах. І, зрештою, з цією метою він використовує суміш хромової, осмієвої та льодяної оцтової кислот. Ця суміш згодом отримує визнання колег-гістологів і стає відомою як «розчин Флеммінга». Вчений досліджує в якості барвників гематеїн і гематоксилін, з'ясовує, що додавання до середовища дуже низьких концентрацій пікринової, оцтової або мурашиної кислоти сприяє найкращій фіксації структури ядерного скелета і протоплазми.

Вивчаючи рани і шрами, В. Флеммінг зі своїми учнями виявляють у цих тканинах скупчення клітин, які діляться, і роблять висновок про те, що тканини та органи здатні до регенерації шляхом поділу клітин [5].

У 1873 р. А. Шнайдером [6] були описані основні етапи поділу клітин. В. Флеммінг у 1874–1876 рр. деталізує ці етапи [7–9]. На противагу А. Шнайдеру [6], який постулював, що ядро піддається деформації під час розмноження клітини, В. Флеммінг показує, що структури всередині ядра трансформуються в «нитки», які потім розділяються на дві групи. Ці дві групи утворюють окремі скупчення, у яких знову з'являється ядерний каркас. Так, у статті про ембріональний розвиток прісноводних мідій (головним чином *Anodonta piscinalis*) В. Флеммінг розглядає поведінку та зміни ядер під час поділу клітин [8]. Це було важливо, оскільки на той час поширеною була думка, що поділ клітин відбувається шляхом простого поділу (прямого поділу) [10].

Вальтер Флеммінг першим припустив, що ядра клітин походять з іншого ядра попередника (*omnis nucleus e nucleo*). Вчений вперше змістовно описує поділ клітин і ядер у тварин [2]. У 1878–1879-их рр. В. Флеммінг публікує дві важливі статті [11, 12]. У публікації 1889 р. використовує термін «непрямий ядерний поділ». Вчений зауважує, що трансформація ядерного вмісту має відбутися до завершення його поділу. Розщеплення ядра та протоплазми, яке до того часу вважалося загальноприйнятим, було названо «прямим поділом ядра». Саме В. Флеммінг вводить термін «мітоз» (грец. *mitos* – нитка). Незважаючи на те, що В. Шлейхер [13] запропонував назвати цей процес каріокінезом, В. Флеммінг використовує точніший термін і називає зміни в ядрі каріомітозом, що означає ниткоподібний метаморфоз ядра.

Можливо В. Флеммінг не був першим дослідником, який спостерігав та вивчав мітоз, однак був першим, хто привернув увагу до хромосом як до важливих частин клітини. У ході спостереження В. Флеммінг описує ядерні зміни під час поділу клітини з використанням нових анілінових барвників [14] та зазначає зміну інтенсивності кольору хромосом на різних стадіях ядерної активності. Він демонструє ділянки в клітині, які поглинають базифільні барвники і називає їх хроматином («забарвлюваний матеріал»). Деякі інші незабарвлені структури були названі ахроматином. Структуру ядерних ниток В. Флеммінг назвав «*Mitosen*». Лише згодом, у

1888 р. Г. Вальдейєр [15] вводить термін «*Chromosomen*» («хромосоми», що означає нефарбовані тіла) і використовує цей термін для позначення так званих «ядерних ниток Флеммінга».

В. Флеммінг розрізняє «прогресивну» та «регресивну» фази поділу клітин. Прогресивна фаза починається з появи ниток в ядрі материнської клітини і продовжується до розташування ниток у центрі клітини. Регресивна фаза, навпаки, починається з поділу ниток на дві групи і закінчується повторною появою дочірніх ядер [2].

Свідченням майстерності В. Флеммінга як спостерігача можна знайти у його описі профазы, коли він вказує на дволанцюговість хроматину. Адже це надзвичайно важко помітити навіть досвідченому спостерігачеві з використанням сучасного обладнання. Варто відзначити те, що, хоча В. Флеммінгу й вдалося спостерігати та описати більшу частину клітинного циклу [11, 14], такі терміни, як профаза, метафаза та анафаза ним не використовувалися. Поведінку хромосом під час мітозу з дивовижною точністю В. Флеммінг описав в матеріалах 1882 р. під назвою «*Cell substance, nucleus and cell division*» [14].

Хоча В. Флеммінг мав правильну ідею того, що мережа хроматину в «спокійному» ядрі перетворюється на нитки (хромосоми) і таким чином забезпечує безперервність ядерного матеріалу, у нього не було засобів та обладнання, щоб довести це. Лінзи об'єктива його мікроскопа були з різним індексом заломлення, що призводило до порушень, зокрема, хроматична аберація часто відображалася у вигляді структури з кольоровими ореолами. Крім того, освітлення було ще не дуже яскравим і якість досліджень залежала від інтенсивності денного світла. Не зважаючи на це, малюнки В. Флеммінга чітко показують правильні обриси апарату веретена. У 1891 р. В. Флеммінг публікує статтю [16], в якій описує залишки веретена до повного розщеплення. Він називає це «*Mittelkörper*» або «середня частина тіла» і вважає його прототипом клітинної пластинки у рослинній клітині. Вчений був переконаний, що ниткоподібна структура веретена поділу в мітозі відповідає за транспорт ниток, але не зміг довести це. Його делікатні спостереження над поведінкою волокон веретена були підтвердженні пізніше електронною мікроскопією.

В. Флеммінг досліджував також полярне тільце. Цю структуру незалежно один від одно-

го дослідили Е. Бенеден та Т. Бовері і припустили, що вона утворюється заново під час поділу клітин. Однак, у своїй публікації у 1891 р. В. Флеммінг [17] однозначно доводить, що це тільце не формується заново, а зберігається впродовж усього клітинного циклу. В. Флеммінг, для позначення цієї структури, вживає термін «*Zentralkörperchen*» (центральне тільце) або «*Zentriol*» (центріоль) [2].

Саме В. Флеммінг виявив, що непрямий поділ зазвичай має місце не лише у ссавців та інших хребетних, але й у безхребетних і протистів. Науковець встановив, що під час цього процесу хроматин стає ниткоподібним. Це дало змогу продовжити подальші дослідження і встановити, що під час сперматогенезу відбуваються два послідовні, морфологічно відмінні ядерні поділи [18]. В. Флеммінг вважав, що в метакинезі або раніше, нитки хроматину розділяються поздовжньо. Він також припустив, що половина цього матеріалу призначена для однієї дочірньої клітини, а друга половина – для іншої [2]. Ці дослідження заклали основу для детального вивчення мейозу. Клітинні біологи та

цитогенетики справедливо вважають Вальтера Флеммінга головним дослідником мітозу та мейозу.

Дослідження хромосом В. Флеммінгом і Е. Страсбургером викликали значні дебати навколо питання про чисельність хромосом та постійність їхнього складу. Дослідники визнавали важливість хромосом, однак не було відомо, чому вони важливі та яку функцію виконують. Своїми дослідженнями В. Флеммінг продемонстрував, що кількість хромосом в епідермісі саламандри (рис.) є постійною – 24 [19]. В. Флеммінг обрав об'єктом дослідження саламандру, оскільки їхні хромосоми великі за розміром; розмір геному (гаплоїдного) може бути приблизно в 10 разів більшим, ніж у людини, оскільки він містить велику кількість повторюваних ДНК. За часів В. Флеммінга великі клітини з великими хромосомами були очевидною перевагою. Великі хромосоми клітин, таких як тонкі епітеліальні клітини легенів тритона, виявилися надзвичайно продуктивними для вивчення стадій мітозу [20, 21].

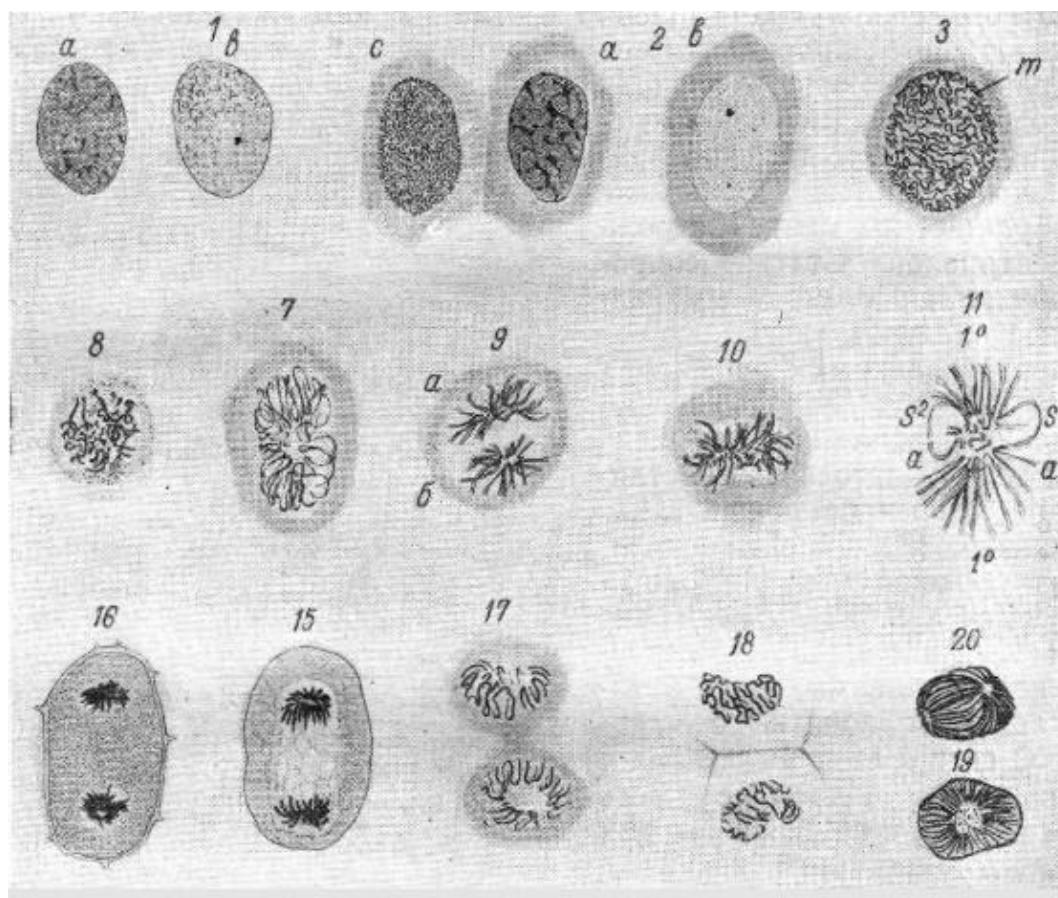


Рис. Каріокінетичний поділ клітин личинки саламандри, за Флеммінгом (з оригіналу, 1879). 1–10 – поділ епітеліальних клітин; 11 – клітина ендотелію; 20 – червона кров'яна клітина.

Важливо, що більшість робіт В. Флеммінга були виконані до відкриття (1900 р.) генетичних законів Г. Менделя. В. Флеммінг нічого не знав про ДНК, яка була відкрита як нуклеотидна послідовність у 1869 р. біохіміком Ф. Мішером, і набагато пізніше ідентифікована як генетичний матеріал О. Евері [22].

Дослідження В. Флеммінга дали поштовх до розвитку різних наукових напрямків, а саме: дослідження мітозу та його фаз; вивчення будови хромосом та їхніх функцій. Поєднання знань про мітоз із селекційними дослідженнями та менделівською спадковістю зумовили розвиток генетики та цитогенетики, які, у свою чергу, привели до поглиблення дослідження генів, розвитку генетичної терапії, вивчення мутаційних процесів і розшифрування генетичного коду, пояснення «неконтрольованого» росту ракових клітин та регуляції клітинного циклу. Дослідження В. Флеммінга також опосередковано привели до вивчення запрограмованої клітинної смерті, яка починається з різких змін у ядерній структурі і регуляції клітинного циклу. Науко-

вий канал (*Science Channel*) назвав відкриття В. Флеммінга про мітоз і хромосоми одним із 100 найважливіших наукових відкриттів усіх часів і одним із 10 найважливіших відкриттів у клітинній біології [23]. Ім'я Вальтера Флеммінга вшановано медаллю Німецького товариства клітинної біології (*Deutsche Gesellschaft für Zellbiologie*) [24].

Висновки. Вальтер Флеммінг – відомий німецький біолог, анатом, основоположник цитогенетики. На початкових етапах наукової діяльності дослідження В. Флеммінга стосувалися в основному гістології та анатомії, а також розробки гістологічних методів фіксації мікроскопічних препаратів. Проте, основні праці вченого присвячені дослідженню поділу клітин та розподілу хромосом в дочірніх ядрах. Він першим ввів поняття «мітоз», який вивчав у забарвлених препаратах, використовуючи, як джерело біологічного матеріалу епітеліальні клітини саламандри. Результати дослідження В. Флеммінга стали основою для розвитку клітинної біології та її галузей.

References

1. Karatieieva O. I. Tsytohenetyka: kurs lektzii. Mykolaiv: MNAU, 2014. 119 s. [in Ukrainian]
2. Paweletz N. Walther Flemming: pioneer of mitosis research. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2001. Jan. 2(1). P. 72–75. doi: 10.1038/35048077.
3. Flemming W. Über das *E. Hermannsche* Kernfärbungsverfahren. *Arch. mikrosk. Anat.* 1881. Vol. 19. P. 317–330.
4. Flemming W. Über die Wirkung von Chrom-Osmium-Essigsäure auf Zellkerne. *Arch. mikrosk. Anat.* 1895. Vol. 45. P. 162–166.
5. Flemming W. Studien über Regeneration der Gewebe. *Aus dem Anatomischen Institut Kiel.* Bonn, 1885. P. 4–22, 23–42, 60–65, 76–102.
6. Schneider A. Untersuchungen über Plathelminthen. *Jahrb. Oberhess. Ges. Naturwiss. Heilk.* 1873. Vol. 14. P. 69–81.
7. Flemming W. Über die ersten Entwicklungserscheinungen am Ei der Teichmuschel. *Arch. Mikrosk. Anat.* 1874. Vol. 10. P. 257–292.
8. Flemming W. Studien in der Entwicklungsgeschichte der Najaden. *Sitzungsber. Kaiserl. Akad. Wiss.* 1875. Vol. 71. P. 81–212.
9. Flemming W. Beobachtungen über die Beschaffenheit des Zellkerns. *Arch. mikrosk. Anat.* 1876. Vol. 13. P. 693–717.
10. Hardy P. A., Zacharias H. Walther Flemming on histology in medicine 1878: A newly discovered letter to his father. *Annals of Anatomy – Anatomischer Anzeiger.* 2009. Vol. 191, Issue 2. P. 171–185. doi: 10.1016/j.aanat.2009.01.002.
11. Flemming W. Zur Kenntnis der Zelle und ihrer Theilungs-Erscheinungen. *Schr. naturwiss. Verein Schleswig-Holstein.* 1878. Vol. 3. P. 23–27.
12. Flemming W. Ueber das Verhalten des Kerns bei der Zellteilung und über die Bedeutung mehrkerniger Zellen. *Arch. Pathol. Anat.* 1879. Vol. 77. P. 1–28.
13. Schleicher W. Die Knorpelzellteilung. Ein Beitrag zur Lehre der Teilung von Gewebszellen. *Arch. Mikrosk. Anat.* 1879. Vol. 16. P. 248–300.
14. Flemming W. Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung. Leipzig: Verlag von F.C. Vogel, 1882. 424 p.
15. Waldeyer H. W. Über Karyokinese und ihre Beziehungen zu den Befruchtungsvorgängen. *Arch. Mikrosk. Anat.* 1888. Vol. 32. P. 1–22.
16. Flemming W. Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle. *Arch. Mikrosk. Anat.* 1891. Vol. 37. P. 685–751.
17. Flemming W. Attraktionssphären und Zentralkörperchen in Gewebsund Wanderzellen. *Anat. Anz.* 1891a. Vol. 6. P. 78–86.
18. Flemming W. Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle. *Arch. Mikr. Anat.* 1887. Vol. 29. P. 389–463.
19. Wilson J. W. The Search for Human Chromosomes: A History of Discovery. Springer International Publishing, 2015. 179 p. doi 10.1007/978-3-319-26336-6.
20. Rieder C. L., Hard R. New lung epithelial cells: Cultivation, use, and advantages for biomedical research. *Int. Rev. Cytol.* 1990. Vol. 122. P. 153–220.
21. Mitsuhiro Ya. The Role of Model Organisms in the History of Mitosis Research. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014. Vol. 6. P. a015768. doi: 10.1101/cshperspect.a015768.

22. Avery O. T., Macleod C. M., McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *J. Exp. Med.* 1944. Vol. 79. P. 137–158.
23. Science, Carnegie (28 March 2005). "100 Greatest Discoveries: Carnegie Institution for Science". carnegiescience.edu. Retrieved 10 June 2016.
24. "Zellbiologie.de / Scientific awards". zellbiologie.de. Retrieved 10 June 2016.

MAYOROVA O. YU.¹, PROKOPIAK M. Z.¹, MISHCHUK N. Y., ZAGRYCHUK O. M.², HRYTSAK L. R.¹, DROBYK N. M.¹

¹*Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University, Ukraine, 46001, Ternopil,*

M. Kryvonosa str., 2

²*I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ukraine, 46001, Ternopil, Maidan Voli, 1*

WALTHER FLEMMING: LIFE PATH AND SCIENTIFIC LEGACY

The main stages of Walther Flemming life and activity are considered in the article. Walther Flemming (21.04.1843–4.08.1905) is German biologist, anatomist, one of the most famous histologists of the 19th century and the founder of cytogenetics. He studied medicine at four famous universities of the German Empire – in Göttingen, Tübingen, Berlin and Rostock. After defending his thesis, in 1868 he started teaching anatomy and histology at Würzburg, Amsterdam and Rostock universities, Germany and Charles Ferdinand University, the Czech Republic. During the last 25 years of his life, he was a professor of anatomy at the Christian Albrecht University in Kiel, Germany and headed one of its departments – the anatomical institute.

At the beginning of W. Flemming scientific activity, his research mostly concerned histology and anatomy, as well as the development of histological methods and fixation of microscopic specimens. However, the main works of the scientist are devoted to study cell division process and the chromosomes distribution in daughter nuclei. He firstly introduced the concept of “mitosis”, which he studied on stained microscopic preparations, using salamander epithelial cells as a source of biological material. W. Flemming described the processes in the nucleus, distinguished “progressive” and “regressive” phases of cell division. He demonstrated that the cells contain areas that absorb basophilic dyes. These areas were later called chromatin; other structures remained unstained under such conditions and were therefore called achromatin. W. Flemming studied the structure and functions of the spindle during cell division, and he also studied the polar structure, which he called centriole. The scientist found that indirect division usually occurs not only in vertebrates, but also in invertebrates and protists. He established that two successive, morphologically distinct divisions of nuclear occur during spermatogenesis, resulting in the division of chromatin into two daughter cells. Thus, W. Flemming’s research contributed to the development of cell biology and its branches.

Key words: Walther Flemming, historical personality, cytogenetics, mitosis, chromatin.